

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP AKTIVITAS
ENZIM KATALASE PADA HATI TIKUS
YANG DIINDUKSI PARASETAMOL**



Oleh:

**Rahmat Rudianto
20144126A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP AKTIVITAS
ENZIM KATALASE PADA HATI TIKUS
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:
Rahmat Rudianto
20144126A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Dengan judul:

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP AKTIVITAS
ENZIM KATALASE PADA HATI TIKUS
YANG DIINDUKSI PARASETAMOL**

Oleh:
Rahmat Rudianto
20144126A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 28 Juni 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama,

Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping,

Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt

Penguji:

1. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt
2. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt
3. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt
4. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

PERNYATAAN

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 sepengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan 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, 5 Juli 2018

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Rahmat Rudianto', with a stylized, flowing script.

Rahmat Rudianto

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM KATALASE PADA HATI TIKUS YANG DIINDUKSI PARASETAMOL”**. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat dan koreksi pada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Terima kasih bapak, ibu, dan semua keluarga atas do'a, dukungan dan semangat yang diberikan.
7. Terima kasih kepada satu tim saya (Trimida, Putri) atas bantuan, semangat, arahan, dan ide-ide dalam penyelesaian skripsi ini.
8. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, 5 Juli 2018

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, overlapping loops and strokes, positioned above the word 'Penulis'.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
 BAB I PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 6
A. Tanaman Bawang Dayak.....	6
1. Sistematika bawang dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.).....	6
2. Nama lain	6
3. Deskripsi tanaman.....	7
4. Khasiat tanaman	7
5. Kandungan kimia	7
5.1 Alkaloid. Alkaloid ya.....	7
5.2 Flavonoid.	8
5.3 Saponin	8
5.4 Tanin	9

B. Simplisia	9
1. Definisi simplisia.....	9
2. Pengumpulan simplisia.....	9
3. Pengeringan	9
C. Ekstrak.....	10
1. Pengertian ekstrak	10
2. Metode ekstraksi.....	10
2.3 Refluks.	12
2.4 Soxhletasi.	12
3. Pelarut.....	12
D. Kelainan Hati Akibat Obat	13
E. Radikal Bebas	15
1. Definisi dan sumber radikal bebas	15
1.1 Sumber radikal bebas endogen.	16
1.2 Sumber radikal bebas eksogen	16
2. Tahapan reaksi pembentukan radikal bebas	17
3. Parasetamol sebagai penginduksi radikal bebas.....	18
F. Antioksidan.....	21
1. Pengertian antioksidan	21
2. Antioksidan endogen dan antioksidan eksogen.....	21
2.1 Antioksidan endogen.	21
2.2 Antioksidan eksogen.....	21
3. Antioksidan berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya	21
3.1 Antioksidan primer.	21
3.2 Antioksidan sekunder.....	22
3.3 Antioksidan tersier.	23
4. Antioksidan berdasarkan sumbernya.....	23
4.1 Antioksidan sintetik.	23
4.2 Antioksidan alami.	23
5. Curcuma®	23
G. Enzim Katalase	24
H. Hewan Percobaan	26
1. Sistematika tikus putih	26
2. Karakteristik utama tikus putih	27
3. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji	27
4. Cara pemberian obat dan volume pemberian	28
5. Cara pemegangan dan penandaan hewan uji.....	28
6. Pengorbanan hewan uji	29
7. Perlakuan hewan uji pasca bedah	29
I. Landasan Teori	30
J. Hipotesis	32
 BAB III METODE PENELITIAN	 33
A. Populasi dan Sampel.....	33
B. Variabel Penelitian	33
1. Identifikasi variabel utama	33

2.	Klasifikasi variabel utama	33
3.	Definisi operasional variabel utama	34
C.	Bahan, Alat, dan Hewan Uji	34
1.	Bahan	34
1.1	Bahan sampel.	34
1.2	Bahan kimia	34
2.	Alat	35
3.	Hewan Uji	35
D.	Jalannya Penelitian	36
1.	Determinasi bawang dayak	36
2.	Pengambilan sampel	36
3.	Pembuatan serbuk umbi bawang dayak	36
4.	Penetapan karakteristik simplisia	36
4.1	Penetapan susut pengeringan.	36
4.2.	Penetapan kadar abu total.	37
4.3.	Penetapan kadar abu tidak larut asam.	37
4.4	Penetapan kadar sari larut air.	37
4.5	Penetapan kadar sari larut etanol.	37
5.	Pembuatan ekstrak etanol umbi bawang dayak	38
6.	Identifikasi senyawa kimia berdasarkan reaksi warna	38
6.1	Flavonoid.	38
6.2	Tanin	38
6.3	Alkaloid	38
6.4	Saponin.	39
7.	Penentuan dosis	39
7.1	Dosis Curcuma®	39
7.2	Dosis parasetamol.	39
7.3	Dosis ekstrak etanol bawang dayak.	39
8.	Pembuatan larutan uji	39
8.1	Larutan suspensi Na CMC 0,5%	39
8.2	Larutan Curcuma®.	40
8.3	Larutan parasetamol	40
8.4	Pembuatan sediaan uji	40
9.	Perlakuan hewan uji	40
10.	Penetapan aktivitas enzim katalase	41
10.1	Pembuatan homogenat hati tikus.	41
10.2	Pengukuran aktivitas katalase.	41
E.	Analisis Data	41
F.	Skema Penelitian	42
G.	Penetapan Aktivitas Enzim Katalase	43
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	44
A.	Hasil Penelitian Umbi Bawang Dayak	44
1.	Hasil determinasi bawang dayak	44
2.	Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk umbi bawang dayak	44

3.	Hasil penetapan karakteristik simplisia umbi bawang dayak..	45
4.	Hasil penetapan susut pengeringan umbi bawang dayak	46
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanol umbi bawang dayak	47
6.	Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak umbi bawang dayak	47
7.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak	48
B.	Hasil Penetapan Aktivitas Enzim Katalase	49
1.	Hasil penetapan aktivitas enzim katalase pada hati tikus	49
1.1	Persiapan hewan uji	49
1.2	Penetapan dosis	49
1.3	Hasil aktivitas enzim katalase pada hati tikus.....	49
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
A.	Kesimpulan.....	54
B.	Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Tanaman dan umbi bawang dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)	6
Gambar 2. Mekanisme biotransformasi parasetamol (Lee 1995).	19
Gambar 3. Diagram proses anion superoksida.....	25
Gambar 4. Mekanisme reaksi enzim katalase.	25
Gambar 5. Skema prosedur penelitian.	42
Gambar 6. Prosedur pengukuran aktivitas enzim katalase.....	43
Gambar 7. Grafik perbandingan rata-rata aktivitas katalase tiap kelompok.	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen umbi bawang dayak	44
Tabel 2. Hasil perhitungan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam	45
Tabel 3. Hasil perhitungan kadar sari larut air	45
Tabel 4. Hasil perhitungan kadar sari larut etanol	46
Tabel 5. Persentase penetapan susut pengeringan serbuk umbi bawang dayak....	46
Tabel 6. Hasil persentase rendemen serbuk umbi bawang dayak.....	47
Tabel 7. Persentase penetapan susut pengeringan ekstrak umbi bawang dayak...	47
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol umbi bawang dayak.....	48
Tabel 9. Hasil aktivitas enzim katalase pada hati tikus.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Ethical Clearance	64
Lampiran 2. Surat determinasi	65
Lampiran 3. Hasil perhitungan rendemen serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak.....	68
Lampiran 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak	69
Lampiran 5. Hasil penetapan karakteristik simplisia umbi bawang dayak.....	70
Lampiran 6. Berat badan tikus.	72
Lampiran 7. Dosis pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak.....	73
Lampiran 8. Aktivitas enzim katalase pada hati tikus.	77
Lampiran 9. Penentuan data outlier dengan <i>Dixon Test</i>	78
Lampiran 10. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk.	80
Lampiran 11. Alat dan bahan.	81
Lampiran 12. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak umbi bawang dayak.	83
Lampiran 13. Penetapan karakteristik umbi bawang dayak.....	84
Lampiran 14. Hasil analisis statistik aktivitas enzim katalase.	85

INTISARI

RUDIANTO R., 2018, PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM KATALASE PADA HATI TIKUS YANG DIINDUKSI PARASETAMOL, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Produksi radikal bebas berlebih dapat menyebabkan kerusakan oksidatif dan menimbulkan penyakit degeneratif. Enzim katalase merupakan salah satu enzim antioksidan endogen intrasel dapat mengalami penurunan aktivitas akibat stres oksidatif. Umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) berpotensi sebagai antioksidan oksigen yang dapat membantu enzim antioksidan mengatasi radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak dan dosis yang dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase.

Penelitian ini menggunakan sampel 30 ekor tikus putih jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan \pm 200 gram yang dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol normal, kontrol negatif (Na CMC), kontrol positif (Curcuma®), ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 40,5 mg/kg BB, 81 mg/kg BB, dan 162 mg/kg BB, perlakuan dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke 14 tikus diinduksi menggunakan parasetamol dengan dosis 2,5 g/kg BB. Pada hari ke 15 tikus dimatikan dan diambil organ hati untuk dianalisa aktivitas enzim katalase. Semua data hasil pengukuran aktivitas enzim katalase dianalisa dengan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas data, kemudian dianalisis dengan uji *One Way ANOVA* yang kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey HSD.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 40,5 mg, 81 mg, dan 162 mg/kg BB dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol. Pada dosis 162 mg/kg BB mempunyai kemampuan paling tinggi dalam meningkatkan aktivitas enzim katalase pada hati tikus.

Kata kunci : katalase, ekstrak umbi bawang dayak, antioksidan

ABSTRACT

Rudianto R., 2018, THE EFFECT OF EXTRACT ETHANOLIC OF DAYAK ONION BULBS (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TOWARDS CATALASE ENZYM ACTIVITY ON THE RATS LIVER WHICH INDUCED BY PARACETAMOL. ESSAY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

The production of over abundance free radical can cause oxidative damage and inflict degenerative disease. Catalase enzyme which are one of intracell endogenous antioxidant enzyme will experience activity decrease because of oxidative stress. Dayak onion bulbs (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) have the potential as oxygen antioxidant which can help antioxidant enzyme overcome free radical. The purpose of this research are to discover the effect of dayak onion bulbs and it's dose, which can increase the activity of catalase enzyme.

This research was using sample of 30 white tailed male rat aged 2-3 months with body weight of ± 200 grams which were separated in 6 groups. These are normal control, negative control (Na CMC), positive control (Curcuma®), the ethanol extract of dayak onion bulbs with the dose of 40,5 mg/kg BB, 81 mg/kg BB, and 162 mg/kg BB, for 14 days. In day 14th, the rat would be paracetamol induced with the dose of 2,5 g/kg BB. In day 15th, the rat would be euthanized and it's liver would be taken out to analyzed it's catalase enzyme level. All of the result of catalase enzyme level measurement data were analyzed with Shapiro-Wilk to discover data normality. Later it's analyzed with One Way ANOVA test and later continued with Tukey HSD test.

The results of the research showed that ethanol extract of dayak onion bulbs with the dose of 40,5 mg/kg BB, 81 mg/kg BB, and 162 mg/kg BB could ncreased catalase enzyme activity of paracetamol induced male wistar rat. The dose of 162 mg/kg BB have the highest ability to increased catalase enzyme activity in rats liver.

Keywords: catalase, dayak bulbs extract, antioxidant

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Radikal bebas merupakan senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian terluar orbitnya, sehingga memiliki kecenderungan menarik elektron dari senyawa lain menyebabkan radikal bebas yang bersifat sangat reaktif (Murray *et al.* 2009). Pembentukan radikal bebas terjadi terus-menerus dalam tubuh. Hal ini terjadi melalui proses metabolisme sel normal, proses peradangan, kekurangan nutrisi, maupun sebagai respon adanya radiasi sinar gama, ultraviolet (UV). Ditambahkan Winarti (2010), faktor yang menyebabkan timbulnya radikal bebas dalam tubuh antara lain sinar x, asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna sintetik, residu peptisida, dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia termasuk obat-obatan.

Efek merugikan dari radikal bebas yang menyebabkan kerusakan biologis dikenal dengan nama stres oksidatif (Kovacic dan Jatinho 2001). Stres oksidatif merupakan suatu keadaan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan, dimana jumlah radikal bebas lebih banyak dibandingkan dengan antioksidan. Menurut Kevin *et al.* (2006) dan Valko *et al.* (2007), stres oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas yang berimplikasi pada berbagai kondisi patologis, yaitu kerusakan sel, jaringan, dan organ seperti hati. Salah satu penyebab terjadinya radikal bebas yaitu konsumsi obat-obatan tertentu yang dapat menyebabkan kerusakan hati seperti parasetamol. Menurut Manatar *et al.* (2013) pemberian parasetamol dengan dosis 2,5 g/kg BB pada hewan uji dapat menyebabkan hepatotoksitas. Hepatotoksitas parasetamol diperantarai oleh metabolit reaktif toksik *N-asetil-p-benzoquinon* dan radikal bebas yang dibentuk dari senyawa induk oleh sistem oksidasi fungsi campuran sitokrom P450 yang banyak terdapat di daerah V. sentralis (area sentrolobuler), sehingga kerusakan pada struktur mikroskopis hepar terutama terjadi di area sentrolobuler. Perubahan yang terjadi pada struktur mikroskopis hepar akibat parasetamol dosis toksik

menunjukkan adanya degenerasi hepatoseluler sampai nekrosis (Isselbacher *et al.* 2000).

Radikal bebas yang merusak tubuh dapat dinetralisir oleh senyawa antioksidan (Sasikumar *et al.* 2009). Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid (Dalimartha dan Soedibyo 1999). Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun antioksidan alami. Antioksidan dibagi menjadi antioksidan enzimatik dan antioksidan non enzimatik. Antioksidan enzimatik antara lain *catalase* (Cat), *superoksid dismutase* (SOD) dan *glutathione peroksidase* (GPx) merupakan antioksidan yang bekerja secara langsung (Kohen dan Nyska 2002). Katalase termasuk dalam golongan enzim hidroperoksidase yang dapat mengkatalis substrat hidrogen peroksida (H_2O_2) dan peroksida organik sehingga mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel dan bekerja sebagai pengikat radikal bebas (Kohen dan Nyska 2002). Enzim ini dapat ditemui dalam darah, sumsum tulang, membran mukosa, ginjal, dan hati (Cotran *et al.* 1999).

Tubuh manusia dapat menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan, dengan mekanisme pertahanan antioksidan endogen. Bila antioksidan endogen tidak mencukupi, tubuh membutuhkan antioksidan dari luar. Berbagai tanaman maupun obat sintesis dapat berperan sebagai antioksidan, antara lain bawang-bawangan, spirulina, dan *N-acetyl-cysteine* (NAC) (Werdhasari 2014). Tetapi saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena ternyata dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*) ternyata dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik. Oleh karena itu industri makanan dan obat-obatan beralih mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan alami baru (Takashi dan Takayuni 1997).

Salah satu sumber antioksidan adalah golongan umbi-umbian, dari sekian banyak umbi yang berkhasiat obat, terdapat tujuh jenis umbi yang paling

bermanfaat, diantaranya umbi bawang dayak, umbi bawang putih, umbi bawang merah, umbi bawang bombai, umbi sarang semut, umbi bidara upas, dan umbi keladi tikus (Utami 2013). Bawang dayak merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah. Tanaman ini sudah secara turun temurun dipergunakan masyarakat Dayak sebagai tanaman obat (Yuniar dan Galingging 2009). Adapun senyawa bioaktif yang terdapat dalam umbi bawang dayak terdiri dari senyawa alkaloid, steroid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, dan tanin (Galingging 2007). Kandungan flavonoid dalam bawang dayak inilah yang mendorong dilakukannya suatu usaha yang dapat mengoptimalkan pemanfaatan tanaman tersebut sebagai antioksidan untuk mengatasi stres oksidatif.

Antioksidan dapat didefinisikan sebagai suatu substansi yang dapat menunda, mencegah, atau menghilangkan kerusakan oksidatif pada molekul target seperti protein, lipida, dan DNA (Halliwell dan Gutteridge 2007). Ekstrak bawang dayak memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 32,77 ppm dengan pelarut etanol 96% (Windari 2015). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Molyneux 2004). Menurut penelitian (Rohmatin 2015), umbi bawang dayak juga dapat mencegah kerusakan sel hepar tikus yang diinduksi karbon tetraklorida. Ekstrak umbi bawang dayak dapat menghambat peningkatan kadar AST dan ALT dengan variasi dosis 40,5 mg/kg BB, 81 mg/kg BB, 162 mg/kg BB tikus yang diinduksi isoniazid dan rifampisin (Wulandari 2016). Kandungan kimia dari ekstrak umbi bawang dayak yang diduga berperan sebagai antioksidan adalah flavonoid. Menurut Middleton *et al.* (2000), flavonoid merupakan senyawa aktif yang termasuk dalam jenis intermediet antioksidan yang berperan sebagai antioksidan hidrofilik dan lipofilik. Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antioksidan yang telah banyak diteliti belakangan ini, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga anti radikal bebas (Giorgio 2000). Berdasarkan hasil isolasi senyawa flavonoid dari ekstrak umbi bawang dayak diperoleh dua senyawa yang diduga senyawa flavonoid

golongan flavon dengan gugus 5-OH pada cincin A dan senyawa diduga senyawa flavonoid golongan flavon 4-OH pada cincin B dan 6,7-di OH (Napitupulu 2011).

Senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan didapatkan dengan cara ekstraksi. Cara ekstraksi yang dipilih adalah maserasi disebabkan senyawa aktif dalam umbi bawang dayak tidak tahan terhadap suhu tinggi karena dapat menurunkan jumlah kapasitas antioksidan, kestabilan oksidatif, total fenol, dan kadar vitamin C (Nur dan Astawan 2011). Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana dan tidak membutuhkan suhu tinggi sehingga tidak mempengaruhi senyawa yang terkandung dalam umbi bawang dayak. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena bersifat universal dan selektif terhadap metabolit sekunder, selain itu pelarut etanol akan menyari senyawa aktif dalam ekstrak simplisia dengan nilai kapasitas antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan pelarut heksan, metanol, dan air (Nur dan Astawan 2011). Selain itu flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi mudah rusak pada suhu tinggi. Beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula. Ikatan glikosida akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Sa'adah *et al.* 2017).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol umbi bawang dayak untuk melindungi tubuh dengan jalan menstimulasi aktivitas katalase sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas dalam jumlah banyak yang dapat menyebabkan kerusakan sel atau jaringan, salah satunya kerusakan pada jaringan hati akibat induksi dosis toksik parasetamol .

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka permasalahan yang terjadi dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak berpengaruh terhadap aktivitas enzim katalase pada hati tikus yang diinduksi parasetamol ?

Kedua, berapakah dosis terbaik ekstrak etanol umbi bawang dayak yang dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas enzim katalase pada hati tikus yang diinduksi parasetamol ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak terhadap aktivitas enzim katalase pada hati tikus yang diinduksi parasetamol.

Kedua, untuk mengetahui dosis terbaik ekstrak etanol umbi bawang dayak yang dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas enzim katalase pada hati tikus yang diinduksi parasetamol.

D. Manfaat Penelitian

Pertama, pemanfaatan ekstrak umbi bawang dayak sebagai antioksidan alami untuk mencegah terjadinya hepatoksisitas akibat paparan radikal bebas yang berasal dari obat-obatan.

Kedua, memberikan kontribusi nyata dalam dunia kesehatan dengan memanfaatkan bawang dayak sebagai antioksidan yang telah terbukti dapat mencegah terjadinya kerusakan hati.

Ketiga, sebagai dasar penelitian bagi yang memanfaatkan umbi bawang dayak sebagai antioksidan secara luas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Bawang Dayak

1. Sistematika bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Bangsa : Liliales
Suku : Iridaceae
Marga : Eleutherine
Jenis : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr. (Depkes 2001).



Gambar 1. Tanaman dan umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)

2. Nama lain

Tanaman bawang dayak memiliki beberapa sinonim antara lain *Eleutherine americana*, *E. bulbosa*, *E. subaphylla*, *E. citriodora*, *E. guatemalensis*, *E. latifolia*, *E. longifolia*, *E. plicata* dan *E. anomala* (Daryono 2016), dan mempunyai nama daerah nama daerah seperti di Sumatera (bawang kapal), Kalimantan (bawang hantu atau bawang makkah), Jawa (brambang sabrang,

bawang siyem, lulupan sapi, teki sabrang, bebawangan beureum) (Galingging 2007).

3. Deskripsi tanaman

Ciri spesifik dari tanaman ini adalah umbinya yang berwarna merah menyala dengan permukaan yang sangat licin, letak daun berpasangan dengan komposisi daun bersirip ganda dan bunganya berwarna putih. Tipe pertulangan daunnya sejajar dengan tepi daun licin dan bentuknya seperti pita bergaris (Galingging 2007).

4. Khasiat tanaman

Tanaman bawang dayak memiliki banyak manfaat yaitu sebagai anti radang, menghentikan perdarahan dan antitumor. Pada umumnya bagian tanaman yang digunakan yaitu umbi dan daun (Hidayah *et al.* 2015). Flavonoid merupakan antioksidan polifenol yang mampu memperkuat dinding sel darah merah dan mengatur permeabilitasnya, mengurangi kecenderungan thrombolisis dan menghambat oksidasi LDL (Dalimartha 2007). Polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang sangat mudah larut dalam air dan lemak yang mempunyai aktivitas antioksidan. Antioksidan fenolik biasanya digunakan untuk mencegah kerusakan akibat reaksi pada makanan, kosmetik dan farmasi (Hernani dan Raharjo 2004). Flavonoid dapat memberi efek antioksidan dengan mencegah pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*), dengan menangkap langsung ROS atau secara tidak langsung terjadi peningkatan antioksidan endogen (Parwata 2016).

5. Kandungan kimia

Umbi bawang dayak mengandung senyawa bioaktif yang terdiri dari senyawa alkaloid, steroid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, dan tanin (Galingging 2007) dan kuinon (Nawawi *et al.* 2007).

5.1 Alkaloid. Alkaloid yang terandung dalam bawang dayak adalah suatu golongan senyawa organik yang memiliki paling sedikit satu atom nitrogen. Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu, tidak berwarna dan bersifat basa. Alkaloid dapat ditemukan di berbagai tumbuh-tumbuhan seperti pada biji, daun, ranting, dan kulit batang. Hampir semua

alkaloid mempunyai efek biologis tertentu, ada yang beracun ada juga yang sangat berguna sebagai obat. Nitrogen merupakan senyawa yang mudah mengalami dekomposisi terutama oleh sinar, dengan adanya oksigen diakibatkan oleh kebiasaannya (Lenny 2006).

5.2 Flavonoid. Flavonoid diketahui terdistribusi secara luas pada tanaman. Peranan senyawa ini di tanaman cukup beragam, mulai dari memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, atau biru pada bunga, hingga sebagai penangkal terhadap mikroba dan insekta. Senyawa ini memiliki struktur dasar yang dibangun oleh 15 atom C ($C_6-C_3-C_6$) (Andarwulan dan Faradila 2012). Flavonoid merupakan turunan dari 2-fenilbenzopiren yang mengandung 3 cincin (A,B,C). Struktur dasar ini merupakan 2 cincin benzena (A dan B) yang dihubungkan dengan cincin heterosiklik di tengah (C) (Simanjuntak 2012). Secara umum flavonoid dapat dibagi ke dalam tiga jenis berdasarkan perbedaan struktur C_3 yang mengikat dua gugus benzena. Ketiga jenis tersebut adalah kalkon, auron, dan flavonoid. Lebih lanjut, berdasarkan posisi cincin B terhadap cincin C pada flavonoid, senyawa flavonoid dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu flavonoid (2-fenilbenzopiran), isoflavonoid (3-benzopiran), dan neoflavonoid. Berdasarkan tingkat oksidasi dan kejenuhannya pada cincin C pada flavonoid, flavonoid dapat dibagi menjadi delapan jenis, yaitu flavan, flavanon, flavon, flavonol, dihidroflavonol, flavan-3-ol, flavan-4-ol, flavan-3,4-diol (Andarwulan dan Faradila 2012). Flavonoid telah diteliti memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antikanker, antiviral, antiinflamasi, mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler dan penangkap radikal bebas. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH pada flavonoid, maka aktivitas antiradikalnya semakin tinggi. Adanya gugus *orto*-katekol (3'4'-OH) pada cincin B flavonoid merupakan faktor penentu kapasitas antioksidan yang tinggi (Amic *et al.* 2003).

5.3 Saponin. Saponin adalah suatu glikosida yang terdapat pada banyak macam tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan sebagai bentuk penyimpanan

karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan dan sebagai pelindung terhadap serangan serangga (Sirait 2007).

5.4 Tanin. Tanin merupakan serbuk berwarna putih, kuning sampai kecoklatan dan berubah menjadi coklat tua jika terkena sinar matahari. Tanin terdiri dari tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi berasal dari reaksi polimerisasi (kondensasi) antar flavonoid. Tanin terhidrolisis terbentuk dari esterifikasi gula dengan asam fenolat sederhana (Heinrich 2009).

B. Simplisia

1. Definisi simplisia

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia dibagi menjadi tiga jenis, yang pertama simplisia segar adalah bahan alam segar yang belum dikeringkan, yang kedua simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Ketiga yaitu serbuk simplisia nabati bentuk serbuk dari simplisia nabati, dengan derajat kehalusan tertentu. Sesuai dengan derajat kehalusannya, dapat berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus, dan sangat halus (DepKes 2008).

2. Pengumpulan simplisia

Tanaman ini banyak terdapat di daerah antara 600 sampai 1500 m di atas permukaan laut. Penanamannya mudah dibudidayakan, tidak tergantung musim dan dalam waktu 3 hingga 4 bulan setelah tanam dapat dipanen (Hoesen 2010).

3. Pengeringan

Tujuan pengeringan simplisia untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga mencegah penurunan waktu penyimpanan atau simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktifnya berubah. Pengeringan dapat dilakukan dengan dua macam cara yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan secara alamiah dilakukan dengan cara menjemur simplisia di bawah sinar matahari langsung dan sangat tergantung cuaca atau diangin-anginkan di udara terlindung dari sinar

matahari langsung. Cara ini terutama digunakan untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga, daun dan sebagainya. Pengeringan secara buatan dilakukan menggunakan mesin pengeringan seperti pemanas (oven) bertenaga listrik atau diesel. Panas yang dihasilkan mesin lebih stabil sehingga pengeringan lebih terkontrol, waktu pengeringan tidak tergantung cuaca, proses pengeringan lebih cepat dan kualitas yang dihasilkan lebih baik. Hal-hal yang perlu diperhatikan saat pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan (Sudewo 2009).

C. Ekstrak

1. Pengertian ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia edisi IV, ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DepKes 1995).

2. Metode ekstraksi

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu (Sarker *et al.* 2006). Ekstraksi serbuk kering jaringan tumbuhan dapat dilakukan secara maserasi, refluks, atau soxhletasi dengan menggunakan pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda (Putra *et al.* 2014).

2.1 Maserasi. Maserasi merupakan metode yang sederhana, tetapi masih digunakan secara luas. Prosedur dilakukan dengan merendam bahan tanaman (simplisia) dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup pada suhu kamar. Metode ini sesuai baik untuk ekstraksi pendahuluan konsentrasi metabolit dalam ekstrak dan dalam bahan tanaman. Setelah ekstraksi, residu bahan tanaman (maserat) harus dipisahkan dari pelarut. Kelemahan utama dari maserasi adalah

prosesnya cukup memakan waktu yang lama, dapat berlangsung beberapa jam sampai beberapa minggu. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut dan berpotensi dapat hilangnya metabolit. Selain itu, beberapa senyawa tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut dalam temperatur kamar. Dilain pihak, dikarenakan ekstraksi dilakukan pada temperatur kamar, maserasi tidak menyebabkan degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas, pengadukan sekali ataupun secara konstan (dengan menggunakan alat pengocok mekanik untuk menjamin kehomogenan) dapat meningkatkan ekstraksi (Ditjen POM 2000).

2.2 Perkolasi. Istilah perkolasi berasal dari kata '*percolare*' yang artinya penetesan. Merupakan ekstraksi yang dilakukan penetesan cairan penyari dalam wadah silinder atau kerucut (perkolator), yang memiliki jalan masuk dan keluar. Bahan ekstraksi yang dimasukkan secara kontinyu dari atas mengalir lambat melintasi simplisia yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui pembaharuan terus-menerus bahan pelarut berlangsung sesuai suatu maserasi banyak tingkat. Jika pada maserasi sederhana suatu ekstraksi sempurna dari simplisia tidak terjadi, karena kesetimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan di sekelilingnya dapat diatur, maka pada perkolasi melalui pemasukan bahan pelarut yang ekstraksi total secara teoritis adalah mungkin berkaitan dengan perbedaan konsentrasi pada posisi yang baru, secara praktek diperoleh sampai 96% bahan yang terekstraksi. Sebelum perkolasi dilakukan, simplisia terlebih dahulu direndam menggunakan pelarut dan dibiarkan membengkak agar mempermudah pelarut masuk ke dalam sel. Pembengkakan ini juga dapat menyebabkan pecahnya wadah itu sendiri. Dalam pengisian simplisia tidak boleh terdapat ruang rongga. Hal ini akan mengganggu keteraturan cairan dan menyebabkan berkurangnya hasil ekstraksi, namun suatu pengisian yang kompak dapat menghambat aliran pelarut atau malah menghentikannya (Voight 1994). Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan perkolat) sampai diperoleh ekstrak (DepKes 2000).

2.3 Refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya dalam jangka waktu tertentu dimana pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu. Ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Kekurangan yang utama dari metode ini adalah terdegradasinya komponen yang tidak tahan panas (Ditjen POM 2000).

2.4 Soxhletasi. Soxhletasi adalah ekstraksi kontinu menggunakan alat soxhlet dimana pelarut akan terkondensasi dari labu menuju pendingin, kemudian jatuh membasahi sampel dan mengisi bagian tengah alat soxhlet. Tabung sifon juga terisi dengan larutan ekstraksi dan ketika mencapai bagian atas tabung sifon, larutan tersebut akan kembali ke dalam labu (Ditjen POM 2000). Pada ekstraksi ini, bagian tanaman yang sudah digiling halus dimasukkan ke dalam kantong berpori (*thimble*) yang terbuat dari kertas saring yang kuat dan dimasukkan ke dalam alat soxhlet untuk dilakukan ekstraksi. Pelarut yang ada dalam labu akan dipanaskan dan uapnya akan mengembun pada kondensor. Embunan pelarut ini akan mengalir turun menuju kantong berpori yang berisi bagian tanaman yang akan diekstrak. Kontak antara embunan pelarut dan bagian tanaman ini menyebabkan bahan aktif terekstraksi. Ketika ketinggian cairan dalam tempat ekstraksi meningkat hingga mencapai puncak kapiler maka cairan dalam tempat ekstraksi akan tersedot mengalir ke labu selanjutnya. Proses ini akan berlangsung terus-menerus dan dijalankan sampai tetesan pelarut dari pipa kapiler tidak lagi meninggalkan residu ketika diuapkan. Keuntungan proses ini jika dibandingkan dengan proses lainnya yaitu dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak walaupun menggunakan pelarut yang lebih sedikit (Endarini 2016).

3. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam proses pemisahan ekstrak harus selektif yaitu pelarut yang digunakan mampu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan untuk peraturan. Beberapa faktor penting yang dapat dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut adalah mudah diperoleh dan murah, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral (Depkes 1986).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena bersifat universal dan selektif terhadap metabolit sekunder, selain itu pelarut etanol akan menyari senyawa aktif dalam ekstrak simplisia dengan nilai kapasitas antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan pelarut heksan, metanol, dan air (Nur dan Astawan 2011). Pelarut etanol 96% mampu mengekstraksi senyawa fenol dan flavonoid lebih baik daripada pelarut heksan (Yuswi 2017). Menurut Wypych (2001) pelarut polar seperti metanol dan etanol mampu mengekstrak senyawa fenol lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etilasetat, heksan, dan air. Pelarut metanol dan etanol memiliki gugus hidroksil yang dapat membentuk ikatan dengan gugus fenol yang ada dan meningkatkan kelarutannya.

Menurut Markham (1988), aglikon flavonoid adalah aglikon yang mempunyai sifat kimia senyawa fenol. Flavonoid adalah salah satu golongan fenol alam terbesar, karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfoksida, dimetil formamida, air dan lain-lain.

D. Kelainan Hati Akibat Obat

Hati yang letaknya di persimpangan antara saluran cerna dan bagian tubuh lainnya memiliki fungsi yang sangat berat untuk dapat mempertahankan homeostatis tubuh. Fungsi tersebut termasuk mencakup mengolah asam amino, karbohidrat, lemak, dan vitamin dari makanan membentuk protein serum serta mendetoksifikasi dan mengeluarkan produk sisa endogen dan *xenobiotic* polutan ke dalam empedu. Penyakit hati memiliki konsekuensi yang luas karena organ lain sangat bergantung pada fungsi metabolik hati (Cotran *et al.*1999). Hati merupakan pusat metabolisme tubuh yang mempunyai fungsi sangat kompleks dan menempati sebagian besar kuadran kanan atas abdomen (Puspitasari 2010; Indahsari 2017).

Salah satu zat yang dimetabolisme di hati yaitu obat. Obat diserap dari usus melalui sirkulasi portal untuk mencapai sasaran. Sebagian besar obat mengalami biotransformasi di dalam sel hati sebelum dikeluarkan oleh tubuh.

Biotransformasi sangat penting untuk menghasilkan metabolik yang aktif namun kadang hasil metabolit tersebut secara langsung ataupun tidak langsung dapat menimbulkan efek toksik pada hati ataupun organ lainnya. Reaksi terhadap obat mempunyai berbagai manifestasi dalam skala luas. Ada berbagai cara dimana obat dapat menyebabkan terjadinya lesi di hati diantaranya obat atau metabolit obat langsung merupakan racun terhadap hati, obat dapat menurunkan daya imunologi tubuh, serta obat atau metabolitnya dapat berubah menjadi hapten sehingga merangsang reaksi imunogenik. Kerusakan hati oleh obat dibagi menjadi dua yaitu hepatotoksitas yang merupakan reaksi yang dapat diprediksi dan terjadi pada setiap individu, berhubungan dengan dosis. Contohnya kloroform, CCl_4 , parasetamol, dan aspirin. Kerusakan hati lainnya yang disebabkan oleh obat yaitu yang bersifat hipersensivitas yang merupakan suatu keadaan yang jarang dapat diprediksi serta biasanya terjadi setelah pemberian 3 minggu. Reaksi yang terjadi dapat berupa hepatitis virus yang berat serta dapat disertai dengan nekrosis (Purnomo 2016).

Dalam mekanisme biotransformasi dibagi ke dalam dua jenis utama yaitu reaksi fase I yang melibatkan reaksi oksidasi, reduksi dan hidrolisis serta reaksi fase II yang merupakan produksi suatu senyawa melalui konjugasi toksikan atau metabolit dengan suatu metabolit endogen. Berbagai reaksi oksidasi berlangsung pada organ hati dan dikatalis oleh enzim sitokrom P-450 yang kadarnya paling tinggi terdapat dalam organ hati. Reaksi oksidasi yang sebagian besar terjadi di hati memicu terjadinya stres oksidatif dimana intermediat dibentuk termasuk superoksida dan hidrogen peroksida serta produksi secara luas radikal oksigen yang toksik serta dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan proses dirupsi metabolisme. Hal tersebut berakibat pada akumulasi lemak di hati terjadi gangguan metabolisme protein maupun karbohidrat hingga dapat menyebabkan nekrosis ataupun degenerasi lemak dalam hati (Frank 2010).

E. Radikal Bebas

1. Definisi dan sumber radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki elektron tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan dalam senyawa radikal memiliki kecenderungan untuk mencari pasangan. Caranya dengan menarik atau menyerang elektron dari senyawa lain, apabila elektron yang terikat oleh senyawa radikal bebas tersebut bersifat ionik, dampak yang timbul tidak akan terlalu berbahaya, akan tetapi bila elektron yang terikat pada radikal bebas bersifat kovalen akan sangat berbahaya karena ikatan digunakan secara bersama-sama pada orbital luarnya. Umumnya senyawa yang memiliki ikatan kovalen adalah molekul-molekul besar (biomakromolekul) seperti lipid, protein maupun DNA. Reaktivitas radikal bebas merupakan upaya untuk mencari pasangan elektron. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak, maupun DNA) di dalam tubuh (Winarti 2010). Sebagai dampak kerja dari radikal bebas tersebut akan terbentuk radikal bebas yang baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya (Winarsi 2007). Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan untuk kesehatan, fungsi radikal bebas dalam tubuh adalah untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur otot polos dalam organ dan pembuluh darah. Akan tetapi radikal bersifat merusak dan sangat berbahaya (Sayuti dan Yenrina 2015). Hal ini akan mempermudah terjadinya penyakit-penyakit degenerasi antara lain, diabetes militus, penyakit jantung koroner, katarak, kanker, stroke, demensia, dan lain-lain (Valko *et al.* 2007)

Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dengan tiga cara yaitu (Sayuti dan Yenrina 2015):

- a. Peroksidasi komponen lipid dari membrane sel dan sitosol, menyebabkan serangkaian reduksi asam lemak (otokatalisis) yang mengakibatkan kerusakan membran dan organ sel.
- b. Kerusakan DNA, kerusakan DNA ini dapat mengakibatkan mutasi DNA bahkan dapat menimbulkan kematian sel.

- c. Modifikasi protein teroksidasi oleh karena terbentuknya *cross linking* protein, melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti sistein, metionin, lisin, dan histidin.

Radikal bebas dapat terbentuk melalui 2 cara yaitu secara endogen (sebagai respon normal proses biokimia intrasel maupun ekstrasel) dan secara eksogen (polusi, makanan, serta injeksi ataupun absorpsi melalui kulit).

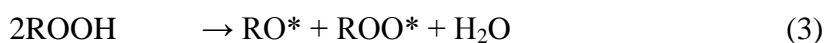
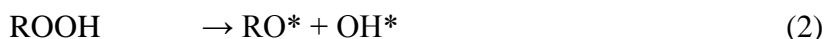
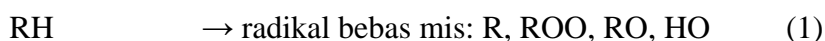
1.1 Sumber radikal bebas endogen. Radikal bebas endogen berasal dari proses metabolisme yang normal dalam tubuh manusia. Radikal endogen terbentuk dari sisa proses metabolisme protein, lemak, dan karbohidrat pada mitokondria, reaksi antara logam transisi dalam tubuh, proses inflamasi atau peradangan, fagosit, xantinoksidase, peroksisom, maupun kondisi iskemia. Proses metabolisme dapat menghasilkan lebih 90% oksigen dengan cara yaitu melalui berbagai proses diantaranya adalah sejumlah obat yang memiliki efek oksidasi pada sel dan menyebabkan produksi radikal bebas; proses oksidasi makanan dalam menghasilkan energi di mitokondria yang disebut dengan *electron transport chain* akan memproduksi radikal bebas *superoxide anion*; reaksi yang melibatkan besi dan logam lain; sel darah putih seperti neutrofil secara khusus memproduksi radikal bebas yang digunakan dalam pertahanan untuk menghancurkan patogen; olahraga dengan latihan yang lebih lama dan lebih intensif akan mengkonsumsi oksigen lebih banyak. Walaupun oksigen penting untuk memproduksi energi, akan tetapi terdapat juga oksigen yang akan membentuk radikal bebas (Sayuti dan Yenrina 2015).

1.2 Sumber radikal bebas eksogen. Radikal bebas eksogen dapat bersumber dari minuman, radiasi, ozon, polutan, berbagai macam makanan, obat-obatan, dan pestisida. Seorang perokok mempunyai risiko lebih tinggi mengidap berbagai penyakit akibat dari asap rokok yang mengandung radikal bebas. Begitu juga bagi yang bekerja dalam lingkungan bahan kimia yang bersifat volatil seperti bensin, cairan pembersih atau lingkungan yaitu udara yang terkontaminasi oleh asap kendaraan bermotor. Tempat diproduksi radikal bebas adalah di dalam sel oleh lisosom, peroksisom, mitokondria, *endoplasmic reticulum*, membran plasma, dan inti sel (Sayuti dan Yenrina 2015).

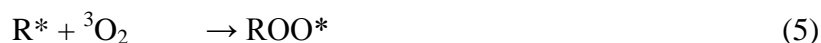
2. Tahapan reaksi pembentukan radikal bebas

Tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi dengan mekanisme kerja sebagai berikut (Sayuti dan Yenrina 2015).

1. Tahap inisiasi, merupakan awal pembentukan radikal bebas. Pada tahap ini radikal bebas mulai terbentuk yang diproduksi oleh beberapa proses. Suhu tinggi, proses ekstruksi dan tekanan pada proses pemotongan bahan polimer dapat menghasilkan radikal alkil. Setelah oksidasi dimulai, menyebabkan konsentrasi hidroperoksida menjadi besar. Dekomposisi hidroperoksida menjadi sumber utama inisiator radikal. Pada tahap inisiasi asam lemak (RH) bereaksi dengan oksigen triplet, dan membentuk radikal lemak (R^*) dan radikal peroksida (HOO^*) dengan inisiator cahaya atau panas.



2. Tahap propagasi, merupakan awal pemanjangan rantai radikal atau reaksi, dimana radikal-radikal bebas akan diubah menjadi radikal-radikal yang lain. Pada tahap propagasi terjadi oksigenasi radikal lemak (R^*) membentuk radikal peroksida (ROO^*). Proses oksigenasi ini terjadi sangat cepat dengan aktivitas energi hampir mendekati nol, sehingga konsentrasi ROO^* yang terbentuk jauh lebih besar. Konsentrasi R^* dalam sistem makanan, dimana oksidasi berada kemudian radikal peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan asam lemak lain dan membentuk hidroperoksida dan radikal lemak baru (R^*). Reaksi propagasi dapat terjadi beberapa kali sebelum terjadi pemutusan oleh radikal peroksi non radikal. Dekomposisi homolitik hidroperoksida dihasilkan oleh reaksi propagasi sehingga meningkatkan tingkat inisiasi oleh produksi radikal. Laju reaksi dari molekul oksigen dengan radikal alkil membentuk peroksi radikal (reaksi 5) jauh lebih tinggi jika dibandingkan laju reaksi radikal peroksi dengan atom hidrogen dari substrat (reaksi 6).



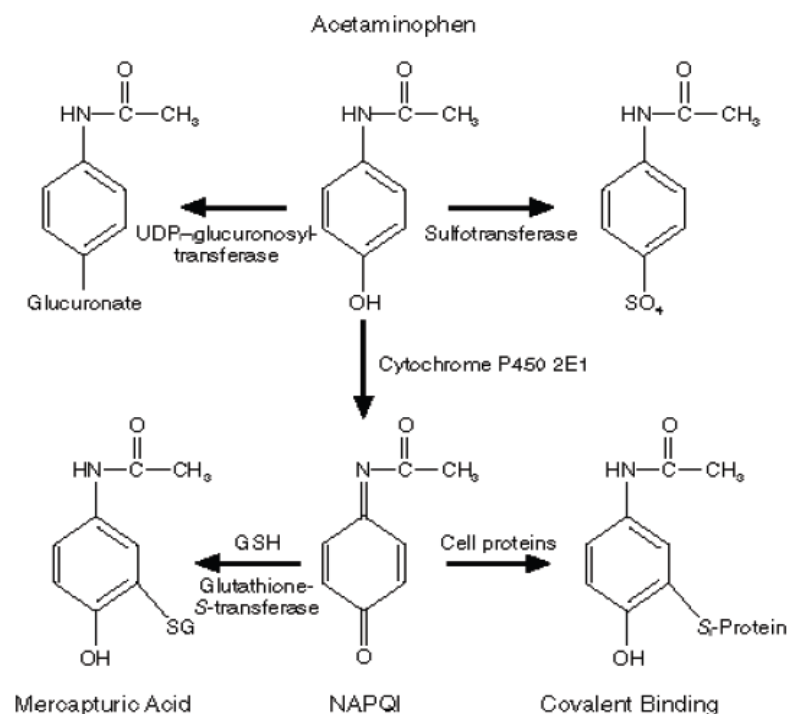
3. Tahap terminasi, yaitu senyawa radikal yang bereaksi dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah. Konversi radikal peroksi dan alkil ke non radikal mengakhiri reaksi propagasi, sehingga mengurangi perpanjangan rantai kinetik. Reaksi terminasi (reaksi 7 dan 8) yang signifikan terjadi ketika konsentrasi oksigen sangat rendah. Kombinasi radikal alkil (reaksi 7) menyebabkan *cross linking*, yang mengakibatkan peningkatan viskositas dan berat molekul.



Pada tahap terminasi, akan terbentuk spesies non radikal karena radikal bebas yang bereaksi satu sama lain. Sedangkan hidroperoksida akan terdekomposisi menjadi produk alkohol, asam keton, dan substrat yang lebih stabil.

3. Parasetamol sebagai penginduksi radikal bebas

Parasetamol (asetaminofen) merupakan metabolit aktif dari fenasetin yang mempunyai efek analgesik dan antipiretik (Goodman dan Gilman 2008). Efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus aminobenzen (Katzung 2002). Obat ini tidak mempunyai efek anti inflamasi yang bermakna, tetapi banyak digunakan sebagai analgesik ringan jika nyeri tidak mempunyai komponen inflamasi. Pemberian parasetamol secara oral dengan penyerapan yang cepat dan hampir sempurna di saluran pencernaan. Penyerapan dihubungkan dengan tingkat pengosongan lambung, dan konsentrasi dalam plasma mencapai puncak dalam 30-60 menit (Katzung 2002). Waktu paruh dalam plasma 1 sampai 3 jam setelah dosis terapeutik dengan 25% parasetamol terikat protein plasma dan sebagian dimetabolisme enzim mikrosom hati (Wilmana dan Gunawan 2007).



Gambar 2. Mekanisme biotransformasi parasetamol (Lee 1995).

Parasetamol dalam rentang dosis terapi, dimetabolisme oleh hepatosit melalui tiga mekanisme yaitu 52,57% melalui mekanisme *glucoronidation* dikatalisasi oleh enzim UGTs (UDP-glucuronosyltransferase) menjadi APAP (acetyl-*para*-aminophenol)-*gluc*, 30-44% melalui mekanisme *sulfation* oleh sulfotransferase menjadi APAP *sulfate* (APAP-SO₄), kedua metabolit tersebut terbentuk di hepatosit diekskresikan melalui urin. Sebagian kecil parasetamol, 5-10% dimetabolisme menjadi metabolit aktif *N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine (NAPQI) oleh enzim sitokrom P450 mikrosomal hati diekskresikan melalui urin dan kurang dari 5% diekskresikan dalam bentuk tidak berubah (Widagdo *et al.* 2016). Apabila parasetamol dalam jumlah tinggi dikonsumsi, maka sisa parasetamol akan mengalami biotransformasi dengan sistem P450 (Mason dan Fischer 1986).

Metabolisme melalui sitokrom P450 membuat parasetamol mengalami N-hidroksilasi membentuk senyawa antara NAPQI yang sangat elektrofilik dan reaktif. Pada keadaan normal, senyawa antara ini dieliminasi melalui konjugasi dengan *glutathione* (GSH) yang berikatan dengan gugus sulfhidril dan kemudian dimetabolisme lebih lanjut menjadi suatu asam merkapturat yang selanjutnya

diekskresi ke dalam urin. Ketika terjadi overdosis, kadar GSH dalam sel hati menjadi sangat berkurang yang berakibat kerentanan sel-sel hati terhadap cedera oleh oksidan dan juga memungkinkan NAPQI berikatan secara kovalen pada makromolekul sel, yang menyebabkan disfungsi berbagai sistem enzim (Goodman dan Gilman 2008).

Rangkaian metabolisme minor parasetamol ini dapat menyebabkan efek merugikan. Pengurangan GSH secara tidak langsung dapat menimbulkan terjadinya stres oksidatif akibat penurunan proteksi antioksidan endogen (antioksidan enzimatis), yang juga dapat menyebabkan peroksidasi lipid (Maser *et al.* 2002). Peroksidasi lipid merupakan proses yang bersifat kompleks akibat reaksi asam lemak tak jenuh jamak, berkemampuan sebagai penyusun fosfolipid membran sel dengan senyawa oksigen reaktif (ROS), kemudian membentuk hidroperoksida. Pertama, ROS ialah senyawa turunan oksigen yang lebih reaktif dibandingkan oksigen pada kondisi dasar (*ground state*). Kedua, ROS tidak hanya terdiri atas molekul oksigen tanpa pasangan elektron seperti radikal hidroksil, radikal superoksida, dan nitrit oksida, tetapi juga molekul reaktif yang memiliki elektron berpasangan. Molekul oksigen yang memiliki elektron berpasangan tersebut diantaranya hidrogen peroksida (H_2O_2), asam hipoklorus (HOCL), dan anion peroksinitrit ($ONOO^-$). Ketiga, target utama peroksidasi oleh ROS adalah asam lemak tak jenuh majemuk (PUFA) dalam lipid membran (Retno *et al.* 2012) Peroksidasi lipid menyebabkan steatosis, berlanjut hepatitis kronik akhirnya sirosis (Widagdo *et al.* 2016).

Toksisitas parasetamol menurut Manatar (2013) dosis yang dapat menyebabkan hepatotoksisitas adalah 2,5 g/kg BB, selain itu berdasarkan penelitian Sujono *et al.* (2012) yang diambil dari penelitian Donatus (1983) dan Rosnalini (1995) hepatotoksisitas parasetamol terhadap tikus yaitu 2,5 g/kg BB yang dilakukan pada hari ke 7 setelah pemberian infusa bunga rosella selama 7 hari. Akibat dosis toksik yang paling serius adalah nekrosis hati. Sekitar 10% pasien mengalami keracunan yang tidak mendapatkan penanganan khusus mengalami kerusakan hati yang parah, 10-20% diantaranya meninggal karena kegagalan fungsi hati (Goodman dan Gilman 2008).

F. Antioksidan

1. Pengertian antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dengan cara menghambat aktivitas senyawa oksidan sehingga dapat menghambat proses oksidasi (Winarti 2010). Antioksidan adalah suatu substansi yang pada konsentrasi rendah dapat mencegah atau memperlambat proses oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat. Senyawa ini memiliki berat molekul yang kecil tetapi mampu mengaktivasi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan pada umumnya terdapat secara alami pada tanaman dan memiliki peranan penting bagi perlindungan kesehatan tubuh. Senyawa ini dapat mencegah kerusakan oksidatif dan mengurangi resiko penyakit (Dimitrios 2006).

2. Antioksidan endogen dan antioksidan eksogen

2.1 Antioksidan endogen. Kerusakan atau kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen diantaranya adalah enzim katalase yang berikatan dengan Fe, *glutathione peroxidase* dan *glutathione S-transferase* yang berikatan dengan Se, *superoxide dismutase* yang berikatan dengan Cu, Zn, dan Mn, akan tetapi jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh atau melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk (Reynertson 2007).

2.2 Antioksidan eksogen. Dibagi dalam 2 kelompok lagi yaitu antioksidan larut lemak, seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin. Antioksidan larut air, seperti asam askorbat dan protein pengikat logam (Sayuti dan Yenrina 2015).

3. Antioksidan berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya

3.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi

radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk awal (Sayuti dan Yenrina 2015). Antioksidan primer adalah antioksidan yang sifatnya sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang bisa bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan mengubahnya menjadi produk-produk yang lebih stabil. Suatu molekul dapat beraksi sebagai antioksidan primer jika dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal lipid dan radikal yang berasal dari antioksidan ini lebih stabil daripada radikal lipidnya, atau diubah menjadi produk-produk lain yang stabil. Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx), katalase, dan protein pengikat logam. SOD dan GPx disebut juga dengan antioksidan enzimatis yaitu antioksidan endogenus yang melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas oksigen seperti anion superoksida, radikal hidroksil, dan hidrogen peroksida. Antioksidan enzimatik berperan sebagai sistem pertahanan dari serangan stres oksidatif. Enzim-enzim tersebut merupakan metaloenzim yang aktivitasnya sangat tergantung adanya ion logam. Aktivitas SOD tergantung adanya Cu, Zn, dan Mn, sedangkan katalase bergantung pada Fe, dan GPx bergantung pada selenium. Katalase dan Gpx menunjukkan potensinya dengan mengubah H_2O_2 menjadi H_2O sedangkan SOD mengkatalis reaksi dismutase radikal anion superoksida. Peranan katalase sebagai “peroksidase khusus” adalah mengoksidasi satu molekul hidrogen peroksida menjadi oksigen dan secara simultan mereduksi molekul hidrogen peroksida kedua menjadi air (Sayuti dan Yenrina 2015).

3.2 Antioksidan sekunder. Pertahanan antioksidan barisan kedua bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai prooksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai, senyawanya antara lain *Glutathione* (GSH), vitamin C, asam urat, albumin, bilirubin, vitamin E (α -tokoferol), karotenoid dan flavonoid (Gupta dan Sharma 2006). Potensi antioksidan ini dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya (*scavenger free radical*) sehingga radikal bebas tidak bereaksi dengan komponen seluler (Sayuti dan Yenrina 2015). Antioksidan

sekunder bekerja dengan satu atau lebih mekanisme seperti memberikan suasana asam pada medium, meregenerasi antioksidan utama, mengkelat atau mendeaktifkan kontaminan logam prooksidan, menangkap oksigen, dan mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen.

3.3 Antioksidan tersier. Antioksidan baris ketiga adalah golongan enzim untuk memperbaiki kerusakan DNA, protein, oksidasi lemak dan peroksida serta menghentikan rantai propagasi pada peroksid lipid. Enzim-enzim ini adalah lipase, protease, enzim yang memperbaiki DNA, transferase dan *methionine sulphoxide reductase* (Gupta dan Sharma 2006).

4. Antioksidan berdasarkan sumbernya

4.1 Antioksidan sintetik. Antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetik antara lain *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *propyl gallate* (PG), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) (Kiselova *et al.* 2006).

4.2 Antioksidan alami. Antioksidan hasil ekstraksi bahan alami. Beberapa contoh antioksidan alami adalah vitamin E, keratenoid, vitamin A, vitamin C, antosianin, dan selenium (Sayuti dan Yenrina 2015). Banyak bahan pangan yang bisa menjadi sumber antioksidan alami, diantaranya rempah-rempah, teh, kakao, biji-bijian, sereal, buah-buahan, sayur-sayuran dan tumbuhan alga. Bahan pangan ini mengandung jenis senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan diantaranya asam amino, melanoidin, tokoferol, tanin, karotenoid, dan golongan flavonoid (Trilaksani 2003). Senyawa flavonoid diketahui lebih berpotensi sebagai antioksidan dibandingkan vitamin C dan E (Riceevans *et al.* 1995). Flavonoid memberikan kontribusi pada aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan cara flavonoid mengikat ion-ion metal seperti Fe dan Cu. Ion-ion metal seperti Cu dan Fe ini dapat mengkatalisis reaksi yang akhirnya memproduksi radikal bebas (Muchtadi 2000).

5. Curcuma®

Curcuma® mengandung serbuk rhizoma curcuma 200 mg yang diindikasikan untuk membantu pengobatan gangguan fungsi hati dan memelihara kesehatan. Rhizoma curcumin (*Curcuma xanthorrhiza*) mengandung kurkumin

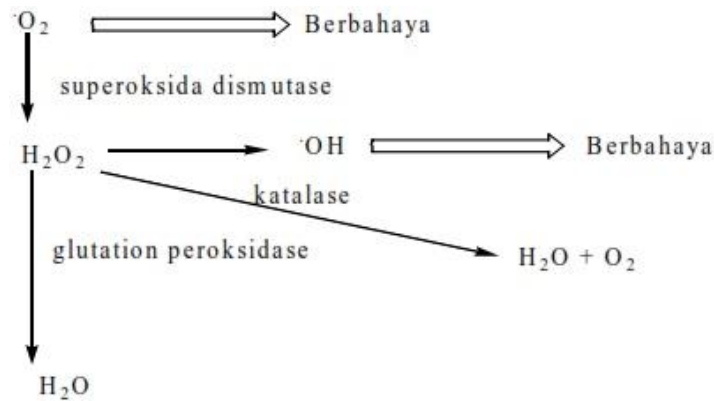
yang memiliki potensi besar dalam perannya sebagai antioksidan. Selain memiliki aktivitas sebagai antioksidan kurkumin juga berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri, antijamur, antihepatotoksik, antikolesterol, antikanker, dan imunomodulator yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit. Kurkumin memiliki mekanisme antioksidan hampir sama dengan antosianin karena mempunyai gugus fenolik yang merupakan gugus penting sebagai antioksidan. Mekanisme antioksidan kurkumin mempunyai dua fungsi. Fungsi utamanya adalah pemberian atom hidrogen kepada radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan tersebut lebih stabil dibandingkan dengan radikal lipida. Fungsi kedua yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan penubahan radikal ke bentuk lebih stabil (Limantara dan Rahayu 2008). Radikal-radikal antioksidan yang terbentuk pada reaksi relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru lagi. Radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal (Martosupono dan Purba 2009).

Penelitian ini menggunakan serbuk curcuma rhizoma sebagai kontrol positif. Jenis serbuk rhizoma curcuma yang digunakan berupa sediaan obat produksi industri Soho yaitu Curcuma® yang mengandung zat aktif kurkumin dan minyak atsiri. Bentuk sediaan tablet Curcuma® 200 mg dengan aturan pemakaian 1-3 kali sehari 1 tablet untuk dewasa.

G. Enzim Katalase

Pada tahun 1818, Thenart, penemu hidrogen peroksida (H_2O_2), menyatakan bahwa H_2O_2 dapat diuraikan oleh suatu enzim. Hal ini dibuktikan oleh Jacobson pada 1892. Loew menamai enzim itu pada 1901 sebagai katalase, salah satu nama trivial enzim yang tetap bertahan hingga kini. Pada tahun 1937 Summer dan Dounce untuk pertama kalinya berhasil mengkristalkan katalase dari hati sapi (Sadikin 2002). Enzim katalase adalah bagian terbesar *bodyguard*

mahluk hidup dalam melindungi tubuh dari bahaya radikal bebas anion superoksida, suatu hasil metabolisme lemak dan karbohidrat (Walsh 1979).

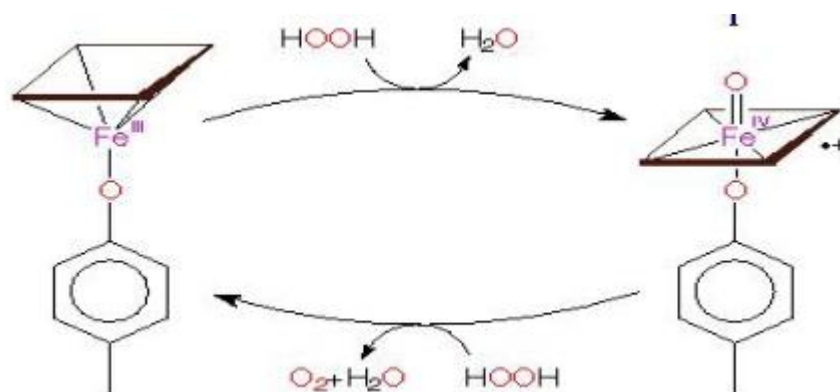


Gambar 3. Diagram proses anion superoksida.

Gambar di atas memperlihatkan bahwa enzim superoksida dismutase (SOD) adalah garis pertama yang melawan radikal bebas anion superoksida yang diubah menjadi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida masih bersifat racun untuk sel. Katalase adalah jawaban untuk mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang sama sekali tidak berbahaya bagi tubuh, dimana pada reaksi ini hidrogen peroksida direduksi dan dioksidasi (Luck 1974).

Mekanisme reaksi katalisasi dari katalase dianggap sebagai proses dua langkah, yaitu:

1. Satu molekul hidrogen peroksida direduksi menjadi air dan katalase dioksidasi menjadi kompleks I.
2. Satu molekul hidrogen peroksida dioksidasi menjadi oksigen dan kompleks I direduksi menjadi katalase.



Gambar 4. Mekanisme reaksi enzim katalase.

Katalase merupakan salah satu dari antioksidan endogen selain SOD dan GPx yang berfungsi untuk menekan atau mencegah pembentukan radikal bebas di dalam sel. Katalase memecah H_2O_2 menjadi molekul yang tidak berbahaya yaitu H_2O dan O_2 (Ighodaro dan Akinloye 2017). Struktur enzim katalase yang sebagian besar mengandung protein dapat dengan mudah rusak oleh beberapa faktor seperti suhu dan keasaman. Suhu yang panas dapat membuat protein dalam enzim dapat mengalami denaturasi sehingga kerja enzim menjadi menurun. Selain suhu, aktivitas keasaman juga mempengaruhi kerja enzim. Enzim dapat bekerja baik pada $pH \pm 7$ (Murray *et al.* 2009).

H. Hewan Percobaan

Dalam pelaksanaan penelitian, peneliti harus membuat dan menyesuaikan protokol dengan standar yang berlaku secara ilmiah dan etik penelitian kesehatan. Etik penelitian kesehatan secara umum tercantum dalam *World Medical Association*, yaitu: *respect* (menghormati hak dan martabat makhluk hidup, kebebasan memilih dan berkeinginan, serta bertanggung jawab terhadap dirinya, termasuk di dalamnya hewan coba), *beneficiary* (bermanfaat bagi manusia dan makhluk lain, manfaat yang didapatkan harus lebih besar dibandingkan dengan resiko yang diterima), dan *justice* (bersikap adil dalam memanfaatkan hewan percobaan) (Ridwan 2013).

1. Sistematika tikus putih

Sistematika tikus menurut Depkes (2009), sebagai berikut :

Dunia	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Sub Classis	: Plasentalia
Orde	: Rodentia
Familia	: Murindae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvergicus</i>

2. Karakteristik utama tikus putih

Tikus laboratorium jantan jarang berkelahi seperti mencit jantan. Jika dipegang dengan cara yang benar, tikus-tikus ini tenang dan mudah ditangani di laboratorium. Pemeliharaan dan makanan tikus lebih mahal daripada mencit tetapi tikus dapat berbiak sebaik mencit. Karena hewan ini lebih besar dari paada mencit, maka untuk beberapa macam percobaan, tikus lebih menguntungkan. Berat badan tikus laboratorium pada umur empat minggu beratnya 35-40 g, dan berat dewasa rata-rata 200-250 g, tetapi bervariasi tergantung pada galur. Tikus jantan tua dapat mencapai 500 g tetapi tikus betina jarang lebih dari 350 g. Ada beberapa galur tidak berhenti tumbuh selama hidupnya. Walaupun sudah dewasa tikus tersebut akan tumbuh terus dengan sangat lambat. Ada dua sifat yang membedakan tikus dari hewan percobaan lain, yaitu bahwa tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lambung, dan tikus tidak mempunyai kandung empedu (Smith dan Mangkoewidjojo 1988).

3. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji

Menempatkan hewan pengerat di laboratorium sesuai dengan lingkungannya akan mengoptimalkan kesejahteraan hewan dan merupakan hal penting yang perlu dipertimbangkan. Pengaturan perkandangan yang ideal harus mempertimbangkan aspek sosial, alat gerak, fisiologis, dan persyaratan perilaku spesies tertentu. Luas lantai kandang untuk sekelompok tikus dengan jumlah hingga lima ekor tikus dengan berat badan 250-300 gram adalah 1500 cm² dan sebaiknya 1800 cm² (Patterson dan Kane 2002). Ketinggian bagian atas kandang tikus dengan berat 250-300 gram adalah 22 cm. Kandang tikus harus dibuat dari plastik (misalnya *polypropylene*, *polycarbonate*, *polysulphone*, *poly etherimide*), lantai dan dinding bak dengan *wire mesh* pada puncaknya kecuali kandang untuk tujuan khusus seperti kandang dengan filter pada bagian atas kandang atau berventilasi. Suhu ruangan kandang direkomendasikan berkisar antara 20-26°C dengan kelembaban udara berkisar 40-70%. Semua hewan harus disediakan air segar dan pakan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang optimal. Diet dengan nutrisi yang memadai harus disediakan untuk tikus. Pakan dan air minum

harus disediakan secara *ad libitum* kecuali izin khusus telah diperoleh dari Komisi Etik Hewan. Pola makan nokturnal dari tikus harus diperhitungkan dalam desain penelitian terutama bila diberikan obat dalam pakan (Balitbangtan 2016).

4. Cara pemberian obat dan volume pemberian

Cara pemberian senyawa pada hewan coba yang lazim adalah per-oral, namun yang paling tepat adalah mempertimbangkan kemungkinan cara pemberian senyawa tersebut pada manusia. Pemberian zat kimia melalui oral secara cepat akan diabsorpsi oleh saluran cerna, zat kimia akan dimetabolisme di hati sesuai dengan kadar yang tertelan dan hal ini tidak terjadi pada jalur pemberian lainnya. Cairan obat diberikan menggunakan sonde oral. Sonde oral ditempelkan pada langit-langit mulut atas tikus, kemudian perlahan dimasukkan sampai ke eksofagus dan cairan obat dimasukkan (Danneman *et al.* 2013).

5. Cara pemegangan dan penandaan hewan uji

Penanganan dan pengendalian merupakan prosedur yang penting bagi petugas yang bekerja dengan tikus. Petugas kandang harus memahami bagaimana cara yang benar dalam menangani hewan, meminimalisasi rasa takut dan tertekan. Tikus dipegang dengan lembut dengan memegang seluruh tubuh secara tegas serta meminimalkan gerakan hewan. Memegang tikus terlalu kuat dapat mengganggu pernapasan dan akan menyebabkan sianosis. Untuk memegang tikus harus dilakukan dengan lembut dimulai dari memegang di sekitar bahu. Ibu jari petugas ditempatkan di bawah mandibula tikus, untuk mencegah gigitan, dan *hindlimbs* tikus dapat didukung dengan sisi lain. Cara memegang tikus harus tegas tapi tidak terlalu ketat karena hal ini akan menghambat respirasi hewan (Balitbangtan 2016).

Tujuan dari pemberian tanda pada hewan coba disamping untuk mencegah kekeliruan hewan dalam sistem pembiakannya juga untuk mempermudah dalam percobaan. Berbagai macam cara yang dipakai dalam identifikasi tergantung kepada selera dan lama tidaknya hewan tersebut dipelihara. Beberapa penandaan hewan uji diantaranya *marking*, *ear puching*, *too clipping*, *ear tags*, *tattocing*, dan *coat colors* (Sulaksono 1992).

6. Pengorbanan hewan uji

Seperti diketahui bahwa percobaan dengan hewan akan sering memerlukan pembunuhan hewan untuk mendapatkan jaringan untuk penelitian *in vitro* pada akhir atau selama penelitian, untuk menilai bagaimana efeknya. Selain itu pada akhir percobaan, hewan akan mengalami nyeri hebat, penderitaan, rasa tidak enak, cacat yang tidak dapat disembuhkan, harus dilakukan “*euthanasia*”, hewan harus dibunuh dengan cara yang layak. Istilah “*euthanasia*” dipergunakan untuk melukiskan proses dengan cara bagaimana seekor hewan dibunuh dengan menggunakan teknis yang dapat diterima secara manusiawi. Hal ini berarti bahwa hewan dapat mati dengan mudah (*easy death*), sehingga mati dengan perasaan tenang, tanpa adanya rasa sakit, rasa takut atau gelisah. Pada dasarnya *euthanasia* dapat dilakukan secara fisik, dengan pemakaian zat farmakologis non-inhalasi, anestesi perinhalasi, dengan pemberian gas non-anestetik, zat-zat transkuiser, zat-zat bentuk kurare, striknin dan nikotin sulfat (Isbagio 1992).

Eter dapat digunakan untuk anestesi waktu singkat, eter diletakkan diatas kapas dan dimasukkan dalam suatu wadah tertutup kedap, kemudian hewan ditempatkan dalam wadah tersebut dan ditutup. Didalam menggunakan eter sebaiknya petugas menggunakan masker untuk mencegah eter terhirup. Saat hewan sudah kehilangan kesadaran, hewan dikeluarkan. Untuk menjaga dalam keadaan anestesi dapat diberikan dengan bantuan kapas yang dibasahi eter. Pengorbanan selanjutnya dilakukan dengan cara dislokasi leher. Ekor tikus dipegang kemudian ditempatkan pada permukaan yang bisa dijangkau, tikus dibiarkan meregangkan badan. Tengukuk ditekan tangan kiri kemudian ekor ditarik dengan tangan kanan dengan keras sampai bunyi krek sehingga lehernya terdislokasi dan tikus terbunuh (Stevani 2016).

7. Perlakuan hewan uji pasca bedah

Penghancuran bangkai hewan pada umumnya dilakukan dengan insinerasi (pembakaran), rendering atau kombinasi dari dua kegiatan tersebut. Penghancuran bangkai hewan dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis tungku. Alat pembakaran bangkai yang kecil memiliki ruang pembakaran sederhana tanpa agitasi efektif. Fasilitas yang lebih besar dapat menggunakan

rotary kiln untuk membantu agitasi dan pemecahan bangkai. Secara umum, pembakaran bangkai utuh lebih sulit. Pembakaran di tungku lebih terkendali jika prosesnya menggunakan *maceration*, *grinding* atau teknik lainnya (KLHK 2015).

I. Landasan Teori

Hati memiliki fungsi yang sangat berat untuk dapat mempertahankan homeostatis tubuh. Fungsi tersebut termasuk mengolah asam amino, karbohidrat, lemak, dan vitamin dari makanan membentuk protein serum serta mendetoksifikasi dan mengeluarkan produk sisa endogen dan *xenobiotic* polutan ke dalam empedu. Penyakit hati memiliki konsekuensi yang luas karena organ lain sangat bergantung pada fungsi metabolik hati (Cotran *et al.* 1999). Salah satu penyebab kerusakan hati adalah terjadinya stres oksidatif akibat paparan radikal bebas.

Radikal bebas yaitu senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian terluar orbitnya, sehingga memiliki kecenderungan menarik elektron dari senyawa lain menyebabkan radikal bebas yang bersifat sangat reaktif (Murray *et al.* 2009). Suatu kondisi dimana jumlah antioksidan lebih rendah dibandingkan radikal bebas disebut stres oksidatif, menyebabkan terjadinya kerusakan pada asam basa nukleus, lemak dan protein yang mempengaruhi kondisi kesehatan sel dan viabilitasnya atau menginduksi terjadinya berbagai macam respon seluler melalui pembentukan senyawa reaktif sekunder dan akhirnya kematian sel oleh karena nekrosis atau apoptosis (Dalle *et al.* 2006).

Salah satu obat yang dapat menginduksi kerusakan hati adalah parasetamol. Pada kondisi normal, parasetamol yang diabsorpsi oleh tubuh dikonjugasi dengan asam glukoronat dan asam sulfat, sebagian kecil dihidroksilasi dengan sitokrom P-450 menjadi metabolit NAPQI. Metabolit NAPQI ini oleh glutathione hati diubah menjadi metabolit sistin dan merkapturat yang kemudian dibuang melalui urin (Wilmana dan Gunawan 2007).

Penggunaan antioksidan sendiri telah secara luas diketahui dapat mencegah terbentuknya radikal bebas. Secara umum, antioksidan dibedakan

menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik yang disebut juga antoksidan pencegah terdiri dari *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathione peroxidase*. Antioksidan non enzimatik disebut juga pemutus rantai dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan larut lemak seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon dan bilirubin serta antioksidan larut air seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme (Winarsi 2007). Katalase merupakan enzim yang mengkatalis dismutase hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Ketika radikal bebas dirubah menjadi air dan oksigen maka tidak akan menimbulkan stres oksidatif pada sel atau jaringan.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antioksidan dari luar adalah bawang dayak. Bawang dayak berasal dari daratan Amerika dan telah dibudidayakan di Indonesia. Bawang dayak banyak dijumpai di Sumatera, Jawa dan Kalimantan (Elisa 2009). Bawang dayak merupakan tanaman perdu dan termasuk dalam famili Iridaceae, memiliki banyak manfaat salah satunya sebagai antioksidan. Ekstrak umbi bawang dayak memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 32,77 ppm dengan pelarut etanol 96% (Windari 2017). Menurut Galingging (2007) antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menetralkan suatu radikal bebas. Umbi bawang dayak mengandung alkaloid, steroid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, tanin. Beberapa tahun belakangan ini, telah dibuktikan bahwa flavonoid memiliki potensi besar melawan penyakit yang disebabkan oleh penangkap radikal (Middleton *et al.* 2000; Amic *et al.* 2003). Flavonoid dapat menambah fungsi kerja antioksidan endogen dengan berpartisipasi terhadap sistem penghasil radikal (Simanjuntak 2012). Enzim katalase merupakan salah satu antioksidan endogen yang akan terpengaruh terhadap adanya radikal bebas yang masuk sebagai bentuk pertahanan dan antioksidan eksogen yang secara tidak langsung akan meningkatkan aktivitas enzim katalase.

J. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dalam penelitian ini dapat disusun hipotesa sebagai berikut :

Pertama, pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak berpengaruh dalam peningkatan aktivitas enzim katalase pada hati tikus yang diinduksi parasetamol.

Kedua, dosis terbesar ekstrak etanol umbi bawang dayak 162 mg/kg BB merupakan dosis terbaik dalam peningkatan aktivitas enzim katalase pada hati tikus yang diinduksi parasetamol.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bawang dayak yang diperoleh dari Samarinda, Kalimantan Timur.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bawang dayak dari Samarinda yang dipilih secara acak dengan kondisi masih segar dan tidak busuk.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak umbi bawang dayak yang diperoleh dari hasil remaserasi dengan pelarut etanol 96%.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak dan ekstrak kering bawang dayak.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah peningkatan aktivitas enzim katalase pada hati tikus putih galur wistar setelah perlakuan dengan ekstrak dan sediaan ekstrak kering bawang dayak dengan berbagai variasi dosis.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji yang

meliputi berat badan, lingkungan hidup, jenis kelamin, galur, kondisi percobaan, laboratorium, dan peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, umbi bawang dayak adalah umbi dari tanaman bawang dayak yang segar dan tidak rusak yang diperoleh dari Samarinda, Kalimantan Timur.

Kedua, ekstrak umbi bawang dayak adalah ekstrak kental yang dihasilkan dari metode ekstraksi berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia berupa remaserasi dengan 10 bagian pelarut etanol 96% selama 2 hari, kemudian hari ke-3 dengan 5 bagian pelarut etanol 96%.

Ketiga, dosis ekstrak umbi bawang dayak adalah dengan berbagai variasi dosis ekstrak umbi bawang dayak 40,5 mg/kg BB, 81 mg/kg BB, dan 162 mg/kg BB tikus yang diberikan kepada hewan uji.

Keempat, dosis efektif ekstrak umbi bawang dayak sebagai antioksidan alami dari luar dalam mempengaruhi aktivitas enzim katalase pada hati tikus.

Kelima, parasetamol adalah obat yang digunakan untuk menginduksi terjadinya radikal bebas akibat pemberian dosis berlebih 2,5 gram/kg BB tikus selama satu hari.

Keenam, peningkatan aktivitas enzim katalase adalah aktivitas enzim katalase yang ditetapkan dari data supernatan hati.

C. Bahan, Alat, dan Hewan Uji

1. Bahan.

1.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bawang dayak yang diperoleh dari Samarinda, Kalimantan Timur.

1.2 Bahan kimia. Pelarut yang digunakan untuk membuat ekstrak etanol umbi bawang dayak adalah etanol 96%. Bahan yang digunakan untuk kontrol normalnya adalah makanan dan minuman, kontrol positif yang digunakan adalah Curcuma®, kontrol negatif yang digunakan adalah Na CMC 0,5%, dan penginduksi yang digunakan adalah parasetamol. Bahan kimia untuk analisis katalase yaitu *Phosphat Buffer Saline* (PBS), KCl (Merck), KH_2PO_4 (Merck), K_2HPO_4 (Merck), dan H_2O_2 (Merck).

2. Alat

Alat untuk membuat simplisia seperti pisau dan blender. Alat untuk maserasi antara lain, gelas ukur, corong kaca, gelas beker, kain flanel, dan botol berwarna gelap, timbangan tikus, jarum suntik, neraca analitik, dan alat-alat gelas. Alat untuk pengujian kadar katalase terdiri dari, mikropipet, spektrofotometer, botol, tabung reaksi, dan *microsentrifuge*.

3. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar dengan jenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 g. Semua tikus mendapat diet dan ukuran kandang yang sesuai temperatur $30 \pm 10^\circ\text{C}$. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman harus selalu terkontrol agar mencegah kematian tikus. Besarnya jumlah sampel tikus yang akan digunakan ditentukan dengan rumus Federer :

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

Dengan (t) adalah jumlah kelompok perlakuan, dan (n) adalah jumlah ulangan pada masing-masing kelompok.

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

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

$$n \geq 4$$

Dari perhitungan di atas, dibutuhkan jumlah sampel minimal sebanyak 4 ekor tikus untuk tiap kelompok. Karena pada penelitian ini menggunakan 6 perlakuan, maka jumlah sampel seluruhnya adalah 24. Sampel ditambah 25% untuk menjaga kemungkinan *drop out* sehingga jumlah sampel seluruhnya adalah 30.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi bawang dayak

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil agar menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Dalam penelitian ini menggunakan sampel bawang dayak yang akan dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Ilmu Pertanian (FIP) Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel umbi bawang dayak dilakukan pada umbi yang segar dari daerah Samarinda, Kalimantan Timur. Umbi bawang dayak dipisah dari daun dan akar dengan memotongnya, kemudian dibersihkan dan dikupas dari kulitnya untuk membersihkan dari kotoran dan debu yang menempel pada umbi.

3. Pembuatan serbuk umbi bawang dayak

Umbi bawang dayak yang telah dibersihkan dari kotoran atau bahan asing yang menempel, kemudian dijemur di bawah sinar matahari dalam keadaan utuh selama satu hari. Umbi dirajang dengan ukuran yang dikehendaki dan dikeringkan dengan suhu 30°C sampai 45°C (Depkes 1985). Pengeringan bertujuan mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu lama. Kemudian, diserbuk dan diayak menggunakan ayakan mesh 60 dihitung persentase bobot kering terhadap bobot basah (BPOM RI 2011).

4. Penetapan karakteristik simplisia

4.1 Penetapan susut pengeringan. Penetapan susut pengeringan serbuk umbi bawang dayak dengan cara menimbang serbuk bawang dayak sebanyak 2 g dalam wadah yang ada pada alat *moisture balance*. Ditunggu hingga bobot akhir konstan kurang lebih 10 menit alatakan secara otomatis berhenti dan muncul angka (dalam satuan %) (Hanifa *et al.* 2014). Susut pengeringan ekstrak yaitu, ekstrak ditimbang kemudian dimasukan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan dalam botol timbang, dengan menggoyangkan botol hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm

sampai 10 mm. Jika ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, ratakan dengan bantuan pengaduk. Kemudian dimasukan ke dalam ruang pengering, buka tutupnya, keringkan pada suhu 105°C selama 30 menit, dikeluarkan, lalu dimasukan ke dalam desikator kemudian ditimbang. Perlakuan diulangi sampai didapatkan bobot yang konstan. Jika ekstrak sulit kering dan mencair pada pemanasan, ditambahkan dengan satu gram silica pengering yang telah ditimbang seksama setelah dikeringkan dan disimpan dalam desikator pada suhu kamar. Silika dicampur secara merata pada ekstrak pada saat panas, kemudian dikeringkan kembali pada suhu penetapan hingga bobot tetap (DepKes RI 2000).

4.2. Penetapan kadar abu total. Penetapan kadar abu total serbuk umbi bawang dayak dengan cara menimbang sebanyak 2 g bahan uji yang telah dihaluskan dan dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam %b/b (Kemenkes RI 2011).

4.3. Penetapan kadar abu tidak larut asam. Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer P selama 5 menit, bagian yang tidak larut asam dikumpulkan, kemudian disaring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam %b/b (DepKes RI 2000).

4.4 Penetapan kadar sari larut air. Penetapan kadar sari larut air serbuk umbi bawang dayak dengan cara menimbang sebanyak 5 g serbuk dan dimasukkan ke dalam labu bersumbat dengan menambahkan 100 ml air jenuh kloroform, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring dan diuapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105°C. Dihitung kadar dalam % sari larut air. Air jenuh kloroform: 2,5 ml CHCl_3 + aquadest ad 100 ml (Kemenkes RI 2011).

4.5 Penetapan kadar sari larut etanol. Penetapan kadar sari larut etanol serbuk umbi bawang dayak dengan menimbang sebanyak 5 g serbuk dan dimasukkan ke dalam labu bersumbat dengan menambahkan 100 ml etanol, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dibiarkan selama 18 jam. Disaring

cepat untuk menghindarkan penguapan etanol, diuapkan 10 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105°C. Dihitung kadar dalam % sari larut etanol (Kemenkes RI 2011).

5. Pembuatan ekstrak etanol umbi bawang dayak

Ekstraksi serbuk umbi bawang dayak dilakukan dengan metode remaserasi, serbuk umbi bawang dayak sebanyak 800 g dimasukkan dalam botol coklat dengan menambahkan 8000 ml pelarut etanol 96%. Proses perendaman dilakukan selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam dan terlindung dari cahaya. Setelah 18 jam maserat disaring dengan kain flanel. Ampas dilakukan maserasi kembali dengan cara yang sama yaitu ditambah 4000 ml pelarut etanol 96%. Semua maserat dikumpulkan, kemudian diuapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental. Menghitung rendemen yang diperoleh dihitung persentase bobot (b/b) antara rendemen dan bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan (DepKes RI 2011).

6. Identifikasi senyawa kimia berdasarkan reaksi warna

6.1 Flavonoid. Sejumlah tertentu ekstrak ditambahkan dengan 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit, disaring dan diambil filtratnya 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk magnesium secukupnya, 1 ml asam klorida dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Terbentuknya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan positif flavonoid (Sarker *et al.* 2006).

6.2 Tanin. Untuk pengujian tanin sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia disari dengan 10 ml air suling, disaring lalu filtratnya diencerkan dengan air ssuling sampai tidak berwarna. Diambil 2 ml larutan lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Apabila timbul warna biru atau kehitaman berarti menunjukkan positif (+) adanya tanin. Akan tetapi apabila warna biru atau kehitaman tidak muncul, maka sampel menunjukkan hasil negatif (-) untuk senyawa tanin (DepKes 1995).

6.3 Alkaloid. Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditimbang kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas

penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut:

- a. Diambil 3 tetes filtrat lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer
- b. Diambil 3 tetes filtrat lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat
- c. Diambil 3 tetes filtrat lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff

Apabila terjadi endapan paling sedikit dua dari tiga percobaan di atas, maka positif (+) mengandung senyawa alkaloid, akan tetapi apabila endapan tersebut tidak muncul, maka sampel menunjukkan hasil negatif (-) untuk senyawa alkaloid (DepKes 1995).

6.4 Saponin. Sebanyak 0,05 g ekstrak ditambah air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Larutan disaring dan filtratnya dikocok kuat-kuat. Timbulnya buih yang stabil selama 10 menit setelah pengocokan menunjukkan terdapatnya saponin (Depkes 1995).

7. Penentuan dosis

7.1 Dosis Curcuma®. Dosis Curcuma® yang digunakan pada manusia adalah 1 tablet (200 mg/70 kgBB) untuk 1 kali minum 1-3 kali sehari. Faktor konversi manusia berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Maka dosis untuk tikus 200 g adalah 18 mg/kg BB.

7.2 Dosis parasetamol. Dosis toksik parasetamol yang akan digunakan adalah 2,5 g/kg BB tikus untuk satu kali pemberian (Fahlevi 2015).

7.3 Dosis ekstrak etanol bawang dayak. Dosis sediaan yang diberikan berdasarkan penelitian Wulandari (2016) dengan dosis efektif 81 mg/kg BB, dosis tersebut diorientasikan terlebih dahulu dengan 3 variasi, yaitu ½x lipat, 1x lipat, dan 2x lipat.

8. Pembuatan larutan uji

8.1 Larutan suspensi Na CMC 0,5%. Larutan suspensi Na CMC dibuat dengan menimbang serbuk Na CMC sebanyak 500 mg kemudian dimasukkan ke dalam cawan penguap dan ditambah sedikit aquadest, kemudian dipanaskan hingga mengembang dan dimasukkan ke dalam mortir dan ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit sampai 100 ml, diaduk hingga homogen.

8.2 Larutan Curcuma®. Larutan Curcuma® untuk dosis 18 mg/kg BB dibuat dengan menimbang 1 g Curcuma® kemudian dilarutkan dengan 100 ml Na CMC 0,5%.

8.3 Larutan parasetamol. Larutan parasetamol untuk dosis 2,5 g/kg BB dibuat dengan menimbang 10 g parasetamol kemudian dilarutkan dengan 100 ml Na CMC 0,5%.

8.4 Pembuatan sediaan uji. Pembuatan sediaan uji ekstrak dibuat dengan menimbang 500 mg Na CMC kemudian ditaburkan ke dalam cawan penguap yang telah berisi air panas dan diaduk hingga mengembang. Ekstrak umbi bawang dayak ditimbang 40,5 mg, 81 mg, 162 mg, masing-masing dilarutkan ke dalam 5 ml mucilago Na CMC lalu digerus dalam mortir dengan tujuan untuk mengecilkan partikel setelah itu ditambahkan mucilago Na CMC dan diaduk sampai homogen.

9. Perlakuan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih yang diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Pusat Antar Studi Gajah Mada Yogyakarta. Tikus yang telah beradaptasi dengan lingkungannya kemudian ditimbang, tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor secara acak dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus, sebelum perlakuan tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 16-18 jam. Kelompok perlakuan diberi ekstrak umbi bawang dayak setiap hari selama 14 hari. Pemberian induksi parasetamol 2,5 g/kg BB pada hari ke-14 untuk semua kelompok uji kecuali kelompok normal. Pada hari ke-15 tikus dianastesi dan dibedah untuk diambil organ hatinya, kemudian diuji aktivitas enzim katalase.

Kelompok 1 : Kontrol normal (hanya diberi makan dan minum)

Kelompok 2 : Kontrol negatif (Na CMC 0,5%) sebanyak 1 ml

Kelompok 3 : Kontrol positif (Curcuma®) dengan dosis 18 mg/kg BB

Kelompok 4 : Ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 40,5 mg/kg BB

Kelompok 5 : Ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 81 mg/kg BB

Kelompok 6 : Ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 162 mg/kg BB

10. Penetapan aktivitas enzim katalase

10.1 Pembuatan homogenat hati tikus. Hati tikus sebanyak 1,25 g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 ml larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCl, kemudian disentrifugasi dengan *microsentrifuge* kecepatan 4000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C sehingga diperoleh supernatan jernih (homogenat). Homogenat ini digunakan untuk analisis aktivitas enzim antioksidan meliputi enzim katalase (Singh *et al.* 2002; Untari *et al.* 2014).

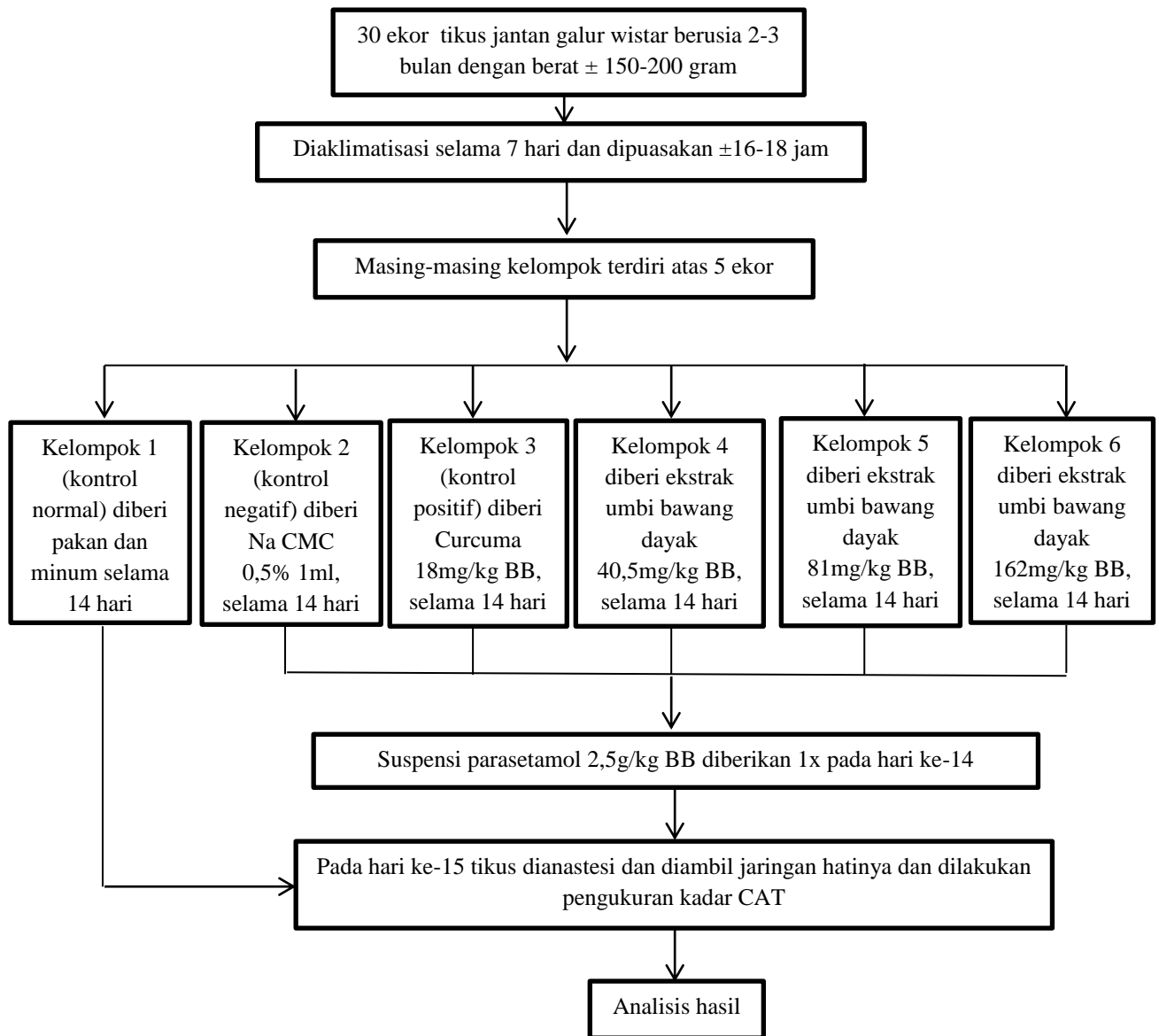
10.2 Pengukuran aktivitas katalase. Pengukuran dilakukan dengan mengikuti prosedur dari Iwai *et al.* (2002) dan Prangdimurti *et al.* (2006). Aktivitas katalase diukur berdasarkan besarnya reduksi hydrogen peroksida. Supernatan jernih hati tikus sebanyak 0,5 ml ditambahkan ke dalam 2 ml buffer kalium fosfat 50 mM (pH 7) yang mengandung 10 mM H₂O₂. Perubahan absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada λ 240 nm, dicatat setiap 15 detik selama 1 menit. Aktivitas katalase dihitung dengan menggunakan data kemiringan (*slope*) kurva absorbansi larutan sampel (SL) maupun (SLb) mengikuti rumus sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas katalase (U/ml)} = \frac{(SL - SLb)}{0,0436} \times \frac{2,5}{0,5}$$

E. Analisis Data

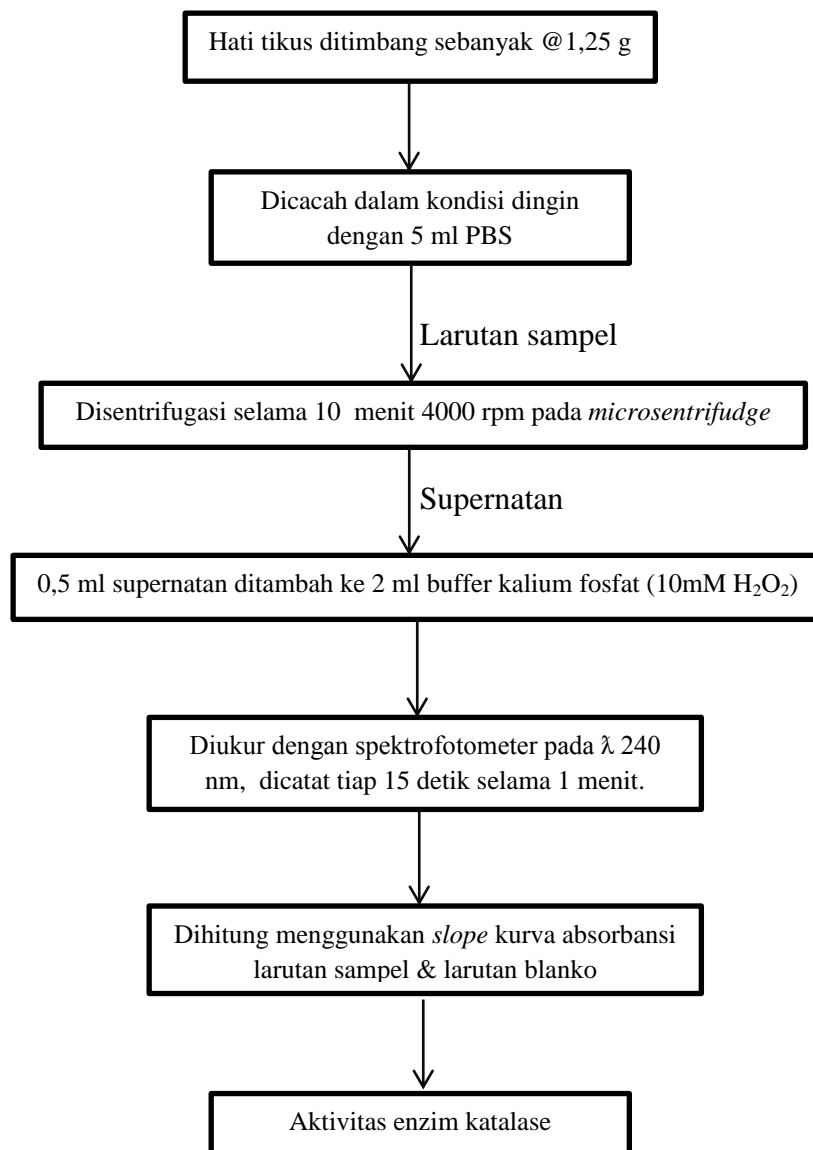
Analisis statistik yang digunakan pertama dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji distribusi normal dengan uji *Saphiro Wilk*, mengingat jumlah data <50. Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (*One Way ANOVA*) untuk mengetahui perbedaan yang nyata diantara perlakuan. Jika hasil uji *One Way ANOVA* terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dan uji homogenitas varians melalui uji *Levene Statistic* menunjukkan adanya homogenitas varians ($p > 0,05$), selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk melihat peningkatan aktivitas enzim katalase yang efektif diantara kelompok perlakuan. Namun, jika hasil uji distribusi tidak normal ($p < 0,05$), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *Mann-Whitney U* dilanjutkan dengan uji beda antar perlakuan dengan uji *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$).

F. Skema Penelitian



Gambar 5. Skema prosedur penelitian.

G. Penetapan Aktivitas Enzim Katalase



Gambar 6. Prosedur pengukuran aktivitas enzim katalase.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian Umbi Bawang Dayak

1. Hasil determinasi bawang dayak

Determinasi bawang dayak dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui tanaman yang diambil adalah benar-benar tanaman yang digunakan dalam penelitian dengan mencocokkan ciri morfologis tanaman. Berdasarkan surat keterangan hasil determinasi nomor 729/A.E-I/LAB.BIO/I/2018, dinyatakan bahwa sampel tersebut adalah umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dengan sinonim *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr., *Eleutherine plicata* Herb., *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb., *Sisyrinchium bulbosum* Mill., *Galatea bulbosa* (Mill.) Britton. Surat keterangan hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

2. Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk umbi bawang dayak

Umbi bawang dayak dalam penelitian ini diperoleh dari petani di daerah Samarinda, Kalimantan Timur pada bulan November 2017. Bagian akar dan daun dipisahkan dari umbi, setelah itu bagian umbi yang tersisa dicuci dan dirajang tipis. Umbi yang telah diiris di oven dengan suhu 30 °C sampai 45°C, suhu dijaga konstan, karena jika suhu terlalu tinggi dapat merusak simplisia, pengeringan dilakukan selama tiga hari untuk menghilangkan kadar air agar umbi bawang dayak tidak mudah ditumbuhi jamur dan atau bakteri yang dapat mengakibatkan proses pembusukan. Berat umbi bawang dayak yang setelah dikeringkan adalah 1900 g. Kemudian umbi bawang dayak yang telah dikeringkan tersebut dihitung bobot kering terhadap berat basah sehingga diperoleh rendemen umbi bawang dayak adalah 49,35%. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen umbi bawang dayak

Berat basah (kg)	Berat kering (kg)	Rendemen (%)
3,85	1,9	49,35

Umbi bawang dayak yang telah kering dibuat serbuk dengan menggunakan mesin giling dan kemudian diayak menggunakan ayakan nomor 60. Tujuan simplisia dibuat serbuk adalah untuk memperbesar luas permukaan kontak serbuk dengan pelarut pada saat ekstraksi, sehingga senyawa aktif akan terekstrak lebih banyak dan prosesnya lebih cepat.

3. Hasil penetapan karakteristik simplisia umbi bawang dayak

Suatu simplisia tidak dapat dikatakan bermutu jika tidak memenuhi persyaratan mutu yang tertera dalam monografi simplisia. Persyaratan mutu yang tertera dalam monografi simplisia antara lain susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan kandungan kimia simplisia (Depkes 2008).

Tabel 2. Hasil perhitungan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam

No	Sebelum di oven	Berat serbuk		Kadar abu total (%)	Kadar abu tidak larut asam (%)
		Sesudah dioven			
		Abu total	Abu tidak larut asam		
1	2,00	0,056	0,0068	2,7	0,34
2	2,00	0,057	0,0072	2,8	0,36
3	2,00	0,078	0,0279	3,8	1,30
Rata-rata±SD				3.1±0.608	0.60±0.548

Penentuan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang terdapat pada bahan, untuk menentukan baik tidaknya proses pengolahan dan gambaran kemurnian dari kontaminan berupa senyawa anorganik seperti logam alkali (Na, Kalium, Lithium), logam alkali tanah (Ca, Ba), dan logam berat (Fe, Pb, Hg). Dari hasil didapat rata-rata kadar abu total 3,1% dan memenuhi syarat kadar abu total yaitu $\leq 4,41\%$ (Banjarnahor 2010). Sedangkan kadar abu tidak larut asam merupakan proses lanjutan dari kadar abu total untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi biasanya berupa silikat yang tidak larut asam.

Tabel 3. Hasil perhitungan kadar sari larut air

No	Berat serbuk (g)	Berat sesudah di oven(g)	Kadar sari larut air (%)
1	5,00	0,535	10
2	5,00	0,665	13
3	5,00	0,215	4
Rata-rata±SD			9±4,58

Tabel 4. Hasil perhitungan kadar sari larut etanol

No	Berat serbuk (g)	Berat sesudah dioven(g)	Kadar sari larut etanol(%)
1	5,00	0,52	10,4
2	5,00	0,50	10,0
3	5,00	0,54	10,8
Rata-rata \pm SD			10,4 \pm 0,4

Penetapan kadar sari adalah metode kuantitatif untuk jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang dapat tersari pelarut tertentu. Penetapan ini dapat dilakukan dengan dua cara yaitu kadar sari yang larut dalam air dan kadar sari yang larut dalam etanol. Kedua cara ini didasarkan pada kelarutan senyawa yang terkandung dalam simplisia. Penentuan kadar sari juga dilakukan untuk melihat hasil dari ekstraksi, sehingga dapat terlihat pelarut yang cocok untuk dapat mengekstraksi senyawa tertentu. Pada penentuan kadar sari larut air, 5 g serbuk umbi bawang dayak dimaserasi dengan 100 ml air kloroform P (DepKes RI 2000), karena apabila maserasi hanya menggunakan air saja kemungkinan ekstrak akan rusak karena air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba atau ditakutkan akan terjadi proses hidrolisis yang akan merusak ekstrak sehingga menurunkan mutu dan kualitas dari ekstrak tersebut. Sementara pada penentuan kadar sari larut etanol tidak ditambahkan kloroform, karena etanol sudah memiliki sifat antibakteri sehingga tidak perlu ditambahkan kloroform.

Dari percobaan yang telah dilakukan didapatkan hasil kadar sari larut air dari umbi bawang dayak adalah 9% dan 10,4% untuk kadar sari larut etanol. Kadar sari larut etanol yang didapat lebih besar dibandingkan dengan kadar sari larut air. Hal ini karena air bersifat polar dibandingkan etanol yang lebih non polar. Jadi etanol bisa menarik senyawa yang bersifat polar dan non polar dibandingkan air yang hanya bisa menarik senyawa yang polar saja, oleh karena itu etanol biasa disebut pelarut universal.

4. Hasil penetapan susut pengeringan umbi bawang dayak

Tabel 5. Persentase penetapan susut pengeringan serbuk umbi bawang dayak

Replikasi	Serbuk umbi bawang dayak (g)	Susut kering(%)	Pustaka (%)
Replikasi I	2	7	≤ 10
Replikasi II	2	8	
Replikasi III	2	8	
Rata-rata \pm SD	2	7,6 \pm 0,577	

Susut pengeringan adalah kadar bagian yang menguap dari suatu zat. Di dalam penetapan kadar susut pengeringan yang dihitung adalah zat-zat yang menguap yang ada dalam simplisia termasuk air. Suhu penetapan susut pengeringan adalah 105°C kecuali dinyatakan lain. Pada suhu ini air akan menguap, dan senyawa-senyawa yang mempunyai titik didih yang lebih rendah dari air akan ikut menguap juga. Tujuan dari susut pengeringan adalah memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

Presentase rata-rata susut pengeringan dalam serbuk umbi bawang dayak adalah $7,6 \pm 0,8$. Hal ini menunjukkan bahwa susut pengeringan serbuk umbi bawang dayak telah memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10%. Hasil perhitungan presentase rata-rata susut pengeringan serbuk umbi bawang dayak terlampir pada Lampiran 4.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol umbi bawang dayak

Pembuatan ekstrak etanol umbi bawang dayak menggunakan metode remaserasi dengan perbandingan serbuk dan pelarut adalah 1:10. Serbuk umbi bawang dayak yang digunakan adalah 800 gram dengan pelarut etanol 96% sebanyak 8 liter. Maserat yang diperoleh kemudian pelarutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak cair, penguapan dilanjutkan di atas *waterbath* pada suhu terjaga 50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Tabel 6. Hasil persentase rendemen serbuk umbi bawang dayak

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
800	83	10,37

Tabel 6 menunjukkan presentase rendemen dari ekstrak umbi bawaang dayak sebesar 10,37% dan perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3.

6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak umbi bawang dayak

Tabel 7. Persentase penetapan susut pengeringan ekstrak umbi bawang dayak

Replikasi	Serbuk umbi bawang dayak (g)	Kadar susut (%)	Pustaka (%)
Replikasi I	2	17	≤ 10
Replikasi II	2	17	
Replikasi III	2	17	
Rata-rata \pm SD	2	17 ± 0	

Presentase susut pengeringan dalam ekstrak umbi bawang dayak adalah 17 ± 0 . Hal ini menunjukkan bahwa kadar susut pengeringan ekstrak umbi bawang dayak belum memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10%. Hasil perhitungan presestase rata-rata susut pengeringan serbuk umbi bawang dayak terlampir pada Lampiran 4.

7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak

Kandungan senyawa fitokimia yang dimiliki tanaman bawang dayak antara lain alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid, dan tanin (Galingging 2007). Penelitian lain yang dilakukan oleh Nur (2011) menunjukkan hasil analisa uji kualitatif fitokimia dari umbi bawang dayak meliputi senyawa alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, flavonoid, dan glikosida. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol umbi bawang dayak dilakukan dengan menggunakan metode uji tabung. Hasil dari metode tabung dapat dilihat secara kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil identifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol umbi bawang dayak dapat dilihat pada Tabel 8. Berdasarkan pengujian tersebut ekstrak etanol umbi bawang dayak mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin (Lampiran 12). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa kimia ekstrak etanol umbi bawang dayak sesuai dengan penelitian Banjarnahor (2010). Berdasarkan hasil isolasi senyawa flavonoid oleh Napitupulu (2011) diperoleh dua senyawa yang diduga senyawa flavonoid golongan flavon dengan gugus 5-OH pada cincin A dan senyawa diduga senyawa flavonoid golongan flavon 4-OH pada cincin B dan 6,7-di OH. Flavonoid telah diteliti memiliki berbagai aktivitas biologis seperti kanker, antiviral, antiinflamasi, mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler dan penangkap radikal bebas (Amic *et al.* 2003)

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol umbi bawang dayak

No.	Kandungan kimia	Hasil	Pustaka (Banjarnahor (2010)	Keterangan
1	Flavonoid	Jingga pada lapisan amil alkohol	Merah/kuning/ jingga pada lapisan amil alkohol	(+)
2	Tanin	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	(+)
3	Alkaloid	Jingga kemerahan	Jingga kemerahan	(+)
4	Saponin	Timbul buih	Timbul buih stabil 10 menit	(+)

Hasil identifikasi kandungan senyawa alkaloid, saponin, dan tanin pada Tabel 7 menunjukkan hasil yang positif.

B. Hasil Penetapan Aktivitas Enzim Katalase

1. Hasil penetapan aktivitas enzim katalase pada hati tikus

1.1 Persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar dengan berat badan 178 gram sampai 214 gram sebanyak 30 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Pusat Antar Studi Gajah Mada Yogyakarta.

1.2 Penetapan dosis. Dosis yang digunakan berdasarkan dosis efektif ekstrak umbi bawang dayak sebesar 81 mg/kg BB (Wulandari 2016). Pada kelompok 1 (kontrol normal) tidak diberikan perlakuan dosis, kelompok 2 (kontrol negatif) diberikan Na CMC 0,5% 1 ml, kelompok 3 (kontrol positif) diberikan Curcuma® 18 mg/kg BB, kelompok 4 diberikan ekstrak umbi bawang dayak 40,5 mg/kg BB, kelompok 5 diberikan ekstrak umbi bawang dayak 81 mg/kg BB, dan untuk kelompok 6 diberikan ekstrak umbi bawang dayak dengan dosis 162 mg/kg BB. Dosis toksik parasetamol sebesar 2,5 g/kg BB diberikan pada hari ke 14 atau hari terakhir pengujian. Pemberian sediaan uji diberikan sesuai berat badan setiap hewan uji. Perhitungan dosis terdapat pada Lampiran 7.

1.3 Hasil aktivitas enzim katalase pada hati tikus. Pengukuran aktivitas enzim katalase dilakukan parameter biokimia yang sesuai dengan metode yang diterangkan oleh (Iwai *et al.* 2002).

Tabel 9. Hasil aktivitas enzim katalase pada hati tikus

Kelompok perlakuan	Rata-rata aktivitas katalase (U/mL)
I Kelompok normal	6,67±0,006 ^{bc}
II Kelompok negatif (Na CMC 0,5%)	1,63±0,04 ^{ac}
III Kelompok positif (Curcuma® 18 mg/kg)	5,75±0,08 ^{ab}
IV Ekstrak umbi bawang dayak 40,5 mg/kg BB	1,90±0,04 ^{abc}
V Ekstrak umbi bawang dayak 81 mg/kg BB	2,02±0,09 ^{abc}
VI Ekstrak umbi bawang dayak 162 mg/kg BB	2,83±0,06 ^{abc}

Keterangan

- a = Berbeda signifikan terhadap kelompok normal ($p < 0,05$)
- b = Berbeda signifikan terhadap kelompok negatif ($p < 0,05$)
- c = Berbeda signifikan terhadap kelompok positif ($p < 0,05$)

Uji normalitas data dengan menggunakan *shapiro wilk* karena sampel yang akan dianalisis kurang dari 50 sampel yaitu 30 sampel. Hasil dari analisis *shapiro wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal (Lampiran 14), sehingga analisis dapat dilanjutkan dengan analisis variansi (ANOVA).

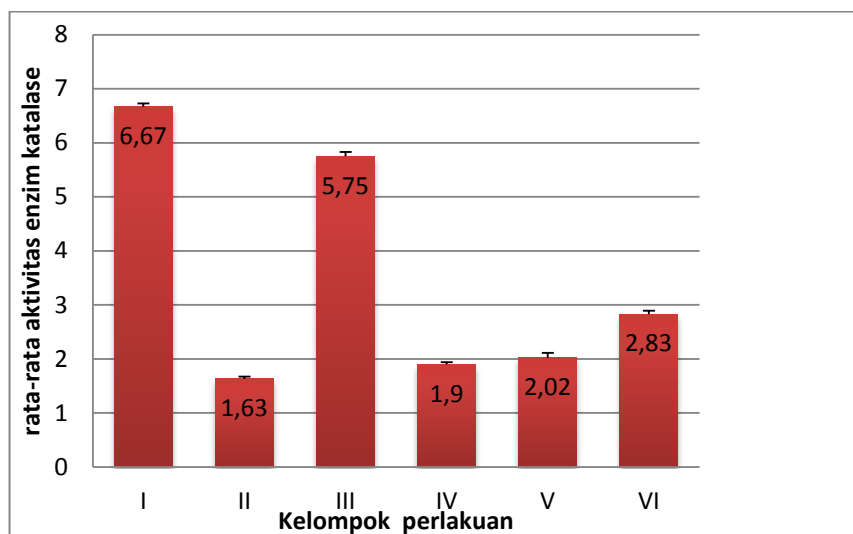
Hasil analisis dengan uji *homogeneity of variance* nilai signifikansi yang didapatkan adalah 0,095 ($p > 0,05$) maka H_0 diterima atau dari semua kelompok pengujian mempunyai varians yang sama. Kemudian, dari analisis *post hoc* didapatkan nilai $p = 0,00$ ($p < 0,05$) yang berarti menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada hasil aktivitas enzim katalase pada semua kelompok perlakuan.

Kelompok normal memiliki aktivitas enzim katalase yang signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif, positif dan perlakuan ekstrak umbi bawang dayak. Kelompok normal hewan uji tidak diberikan perlakuan, hanya diberikan pakan hewan uji saja. Kelompok normal dilakukan pengukuran aktivitas enzim katalase untuk mengetahui aktivitas enzim katalase normal sehingga saat dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain untuk mengetahui aktivitas normal enzim katalase hewan uji normal yang tidak diinduksi antioksidan maupun oksidan.

Pada kelompok kontrol negatif dapat dilihat aktivitas enzim katalase 1,63 U/mL sangat berbeda nyata dengan aktivitas enzim katalase pada kontrol positif sebesar 5,75 U/mL. Aktivitas enzim katalase yang sangat berbeda nyata antara kelompok negatif dan positif karena kelompok negatif hanya diberikan Na CMC 0,5% dan parasetamol pada hari ke 14. Berdasarkan hasil penelitian pemberian parasetamol dalam dosis tinggi dapat menyebabkan penurunan aktivitas katalase pada hati tikus. Dimana menurut Manatar (2013) pemberian parasetamol dengan dosis 2,5 g/kg BB pada hewan uji dapat menyebabkan hepatotoksisitas. Pada keadaan tidak overdosis, senyawa NAPQI akan dieliminasi melalui metabolisme dengan glutathion yang berikatan dengan gugus sulfhidril menjadi asam merkapturat, bersifat non-toksik yang akan diekskresi dalam urin. Kadar glutathion dalam sel hati pada kondisi overdosis parasetamol akan menjadi sangat berkurang dan mengakibatkan kerusakan sel hati akibat terpapar oksidan dan ikatan kovalen yang terbentuk antara NAPQI dengan makromolekul lipid, protein,

dan DNA. Reaksi tersebut akan memacu terjadinya *Ractive Oxygen Species* (ROS) yang menimbulkan stres oksidatif dan munculnya radikal bebas baru. Banyaknya jumlah radikal mengakibatkan menurunnya enzim katalase, karena enzim katalase merupakan antioksidan primer yang termasuk lini pertama dalam menetralkan adanya radikal bebas. Tanpa adanya tambahan antioksidan dari luar maka tidak ada kenaikan enzim katalase yang cukup signifikan.

Pada kelompok positif hewan uji diberikan antioksidan eksogen berupa Curcuma® dengan dosis 18 mg/kg BB. Curcuma® mengandung serbuk temulawak yang mengandung kurkumin yang memiliki mekanisme antioksidan dengan dua fungsi. Fungsi utamanya adalah pemberian atom hidrogen kepada radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil. Fungsi kedua yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan ke bentuk lebih stabil (Limantara dan Rahayu 2008). Aktivitas enzim katalase kelompok positif sebesar 5,75 U/mL. Adanya induksi antioksidan dari luar (eksogen) berupa senyawa kurkumin berpengaruh secara tidak langsung terhadap aktivitas enzim katalase. Mekanisme antioksidan dari curcuma mempunyai dua fungsi, fungsi utamanya adalah pemberian atom hidrogen. Senyawa antioksidan dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibandingkan radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal ke bentuk lebih stabil (Purba dan Martosupono 2009). Aktivitas enzim katalase yang dihasilkan pada kelompok kontrol positif digunakan sebagai parameter pembandingan pada aktivitas aktivitas enzim katalase terhadap kelompok perlakuan lain.



Gambar 7. Grafik perbandingan rata-rata aktivitas katalase tiap kelompok.

Keterangan

- I = Kelompok normal
- II = Kelompok negatif (Na CMC 0,5%)
- III = Kelompok positif (Curcuma® 18 mg/kg)
- IV = Ekstrak umbi bawang dayak dengan dosis 40,5 mg/kg BB
- V = Ekstrak umbi bawang dayak dengan dosis 81 mg/kg BB
- VI = Ekstrak umbi bawang dayak dengan dosis 162 mg/kg BB

Kelompok perlakuan merupakan kelompok yang diberi ekstrak etanol umbi bawang dayak dan induksi parasetamol. Terdapat tiga kelompok dosis berbeda yang digunakan yaitu IV (40,5 mg/kg BB), V (81 mg/kg BB), VI (162 mg/kg BB). Ketiga dosis menunjukkan dapat berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas aktivitas enzim katalase. Senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol umbi bawang dayak berkhasiat sebagai antioksidan sekunder non enzimatik yang bekerja sebagai (*radical scavenger*) atau penangkap radikal bebas dengan cara transfer elektron atau atom hidrogen yang dimilikinya kepada ROS. Berdasarkan hasil isolasi senyawa flavonoid diperoleh dua senyawa yang diduga senyawa flavonoid golongan flavon dengan gugus 5-OH pada cincin A dan senyawa diduga senyawa flavonoid golongan flavon 4-OH pada cincin B dan 6,7-di OH (Napitupulu 2011). Setiap gugus dari flavonoid mempunyai kapasitas yang baik sebagai antioksidan. Gugus flavon dan katekin mempunyai aktivitas tertinggi untuk mencegah tubuh dari serangan radikal bebas. Senyawa flavonoid yang dikonsumsi. Flavonoid dapat menambah fungsi kerja antioksidan endogen dengan

berpartisipasi terhadap sistem penghasil radikal yang berbeda yaitu sebagai pembersih langsung radikal, flavonoid dapat mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Pembersihan langsung radikal bebas oleh flavonoid menghasilkan zat yang stabil (Simanjuntak 2012). Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH pada flavonoid, maka aktivitas radikalnya semakin tinggi (Amic *et al.* 2003). Hasil reaksi antara flavonoid dengan ROS ialah radikal flavonoid yang bersifat stabil, sehingga pada kelompok perlakuan IV, V, VI terjadi peningkatan aktivitas enzim katalase dibandingkan pada kontrol negatif. Ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 162 mg/kg BB merupakan dosis terbaik yang berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas aktivitas enzim katalase dibandingkan ekstrak etanol umbi bawang dayak dosis 40,5 mg/kg BB dan 81 mg/kg BB.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, ekstrak etanol umbi bawang dayak berpengaruh dalam peningkatan aktivitas enzim katalase pada hati tikus yang diinduksi parasetamol.

Kedua, dosis ekstrak etanol umbi bawang dayak yang terbukti paling baik dalam peningkatan aktivitas enzim katalase pada hati tikus yang diinduksi parasetamol adalah dosis 162 mg/kg BB.

B. Saran

Pertama, penelitian lebih lanjut dengan menggunakan fraksi dari ekstrak etanol umbi bawang dayak.

Kedua, penelitian lebih lanjut dengan menyertakan semua parameter aktivitas enzim antioksidan endogen Superoksidase (SOD), Glutathion Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT)] serta produk akhir reaksi Malondialdehid (MDA).

DAFTAR PUSTAKA

- Amic D, Amic DD, Beslo D, Trinasjstic N. 2003. Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids. *Croatia Chem Acta* 76(1):55-61.
- Andarwulan N dan Faradilla RHF. 2012. *Senyawa Fenolik Pada Beberapa Sayuran Indigenous Dari Indonesia*. Bogor: Seafast Center.
- Balitbangtan. 2016. *Penggunaan dan Penanganan Hewan Coba Rodensia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.
- Banjarnahor E. 2010. Isolasi dan karakterisasi senyawa triterpenoid dari umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbus*) [Bahan Seminar]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2011. *Acuan Sediaan Herbal*. Ed ke-1. Jakarta: Deputi Bidang Pengawasan Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen.
- Cotran RS, Kumar V, Collins T. 1999. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia. W.B. Saunders Co Pp.
- Buck DF. 1991. Antioxidants. Didalam: J. Smith, editor. *Food Additive User's Handbook*. UK: Blackie Academic & Profesional Glasgow.
- Dalimartha S dan Soedibyo M. 1999. *Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*. Jakarta: Trubus Agriwidya. hlm. 36-40.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 52:601–23.
- Danneman PI. 2013. *The Laboratory Mouse*. Second Edition. United States: Taylor and Francis Group.
- Daryono BS, Rahmadani WD, Sudarsono. 2016. Identificaton of bawang sabrang (*Eleutherine Americana* Merr. Ex K. Heyne) in Indonesia based on chromosome characters. *Indonesian J. Pharm* 24(1): 22-29.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Ed ke-1. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 2*. Jakarta: Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Pedoman Pengendalian Tikus Khusus di Rumah Sakit*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dimitrios B. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology* 17(9): 505-512.
- [Ditjen POM] Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 10-11.
- Elisa. 2009. Pengaruh penambahan bahan pengisi dari agar-agar dan variasi konsentrasi ekstrak bawang tiwai terhadap mutu permen bawang tiwai [Skripsi]. Samarinda: Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman.
- Endarini LH. 2016. *Farmakognosi dan Fitokimia*. Jakarta: Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fahlevi AA. 2015. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah kurma ajwah (*Phoenix dactylifera*) pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan parasetamol [Skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Frank C. Lu. 2010. *Toksikologi Dasar*. Volume ke-2. Nugroho E, Bustami ZS, Damansjah I, penerjemah. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Basic Toxicology*.
- Galingging RY. 2007. *Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) Sebagai Tanaman Obat Mulutifungsi*. Warta Penelitian dan Pengembangan 15(3):2-4.
- Giorgio P. 2000. Flavonoid an Antioxidant. *Journal National Product* (63) 1035-1045.

- Goodman LS dan Gilman A. 2008. Dasar Farmakologi Terapi. Volume 2. Tim Alih Bahasa Farmasi ITB, penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Manual of Pharmacology and Therapeutics*.
- Gupta VK dan Sharma SK. 2006. Plants as natural antioxidant. *Natural product radiance* 5(4): 326-334.
- Halliwell B dan Gutteridge JMC. 2007. *Free Radicals In Biology and Medicine*. Ed ke-4. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Hanifa IR, Suhartinah, Saptarini O. 2014. Pemanfaatan daun belimbing wuluh (*Averrho blimbi* L) dalam bentuk infusa dan sediaan celup terhadap penurunan berat badan. *Jurnal Farmasi Indonesia* 11(2):101-108
- Heinrich M, Barner J, Gibbons S, Williamson EM. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Syarief WR, penerjemah; Hadinata AH, editor. Jakarta: Penerbit EGC: Buku Kedokteran. hlm.183-184.
- Hidayah AS, Mulkiya K, Purwanti L. 2015. Uji aktivitas antioksidan umbi bawang dayak (*Eleutherine Bulbosa* Merr.). Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba (Kesehatan dan Farmasi; Prodi farmasi FMIPA Universitas Islam Bandung. Bandung: Universitas Islam Bandung. hlm. 397-404.
- Hoesen DSH. 2010. Tehnik budidaya *in vitro* bawang sabrang (*Eleutherine sp*). *J.Tek.Ling* Vol. 11 (11): 341-351.
- Ighodaro OM dan Akinloye OA. 2017. First line defence antioxidants-superoxida (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. hlm 1-176.
- Indahsari NK. 2017. Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi dengan parasetamol dosis toksik pasca pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal Kimia Riset* 2(2): hlm. 123-130.
- Isselbacher, Braunwald, Wilson, Martin, Kasper. *Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam*. Asdi AH, editor. Ed ke-13 vol 4. Jakarta: EGC. 2000:1165.
- Isbagio DW. 1992. *Euthanasia Pada Hewan Percobaan*. Media Litbangkes 11(01): 18-24.
- Iwai K, Nakaya N, Kawasaki Y, Matsue H. 2002. Antidative function of natto, a kind of fermented soybeans: effect on ldl oxidation and lipid metabolism in cholesterol-fedrat. *Journal of Africultural and Food Chemistry* 50(12): 3597-3601.

- Katzung BG. 2002. *Farmakologi: Dasar dan Klinik Buku 2*. Ed ke-I. Jakarta: Salemba Medika.
- Karadeniz F, Burdurlu HS, Koca N, Soyer Y. 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agricultural and Forest* 89: 297–303.
- Kevin C, Kregel, Hannah JZ. 2006. An integrated view of oxidative stress in aging.: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: 18-36.
- Kiselova Y *et al.* 2006. Correlation between the *in vitro* antioxidant capacity polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytother Res* 20: 961-965.
- [KLHK] Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan. 2015. Penghancuran Bangkai Hewan. [Artikel]. <http://sib3pop.menlhk.go.id>. Diakses pada 18 April 2018.
- Kohen R dan Nyska A. 2002. Oxidation of biological system: oxidative stress phenomena, antioxidant, redox reaction and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology* 30: 620-650.
- Kovacic P dan Jacintho JD. 2001. Mechanisms of carcinogenics: focus on oxidative stress and electron transfer. *Current Medicinal Chemistry* 8: 773-796.
- Lee WM. 1995. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 349: 474-485.
- Lenny S. 2006. Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida [Skripsi]. Medan: FMIPA Universitas Sumatera Utara.
- Limantara L, Rahayu P. 2008. Prospek Kesehatan Pigmen Alami. *Prosiding Sains dan Teknologi Pigmen Alami*. Salatiga: Seminar Nasional Pigmen 2008 MB UKSW.
- Luck H. 1974. *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU, Gawehin KE, editor. New York: Academic. Hlm 885-894.
- Manatar AF, Wangko S, Keseke MM. 2013. Gambaran histologik hati tikus wistar yang diberi virgin coconut oil dengan induksi parasetamol. *Jurnal Biomedik* 5(1): 60-67.
- Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Kosasih P, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Techniques of Flavonoids Identifications*.
- Martosupono M dan Purba ER. 2009. Kurkumin sebagai senyawa antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IV*. Fakultas sains

- dan Matematika UKSW, 13 Juni 2009. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana. hlm. 607-621.
- Maser RL, Vassmer D, Magenheimer BS, Calvet JP. 2002. Oxidant stress and reduced antioxidant enzyme protection in polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 13: 991-999.
- Mason RP dan Fischer V. 1986. Free radicals of acetaminophen: their subsequent and toxicological significance. *Fed Proc* 45(10).
- Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacology Review* 52: 673-751.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Science and Technology*. 26(2): 211-219.
- Muchtadi H. 2000. Sayur-Sayuran, Sumber Serat dan Antioksidan Mencegah Penyakit Degeneratif. Di dalam: Winarsi H, editor. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius. hlm 122-228.
- Murray RK, Granner DK., Mayes PA dan Rodwell VW. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Ed ke-28. New York: McGraw Hill. hlm 111-121.
- Nawawi A, Rachmawati W, Aryadi A. 2007. *Isolasi dan identifikasi senyawa kuinon dari simplisia umbi bawang sabrang (Eleutherine Americana Merr.)*. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
- Napitupulu RM. 2011. Isolasi dan karakterisasi senyawa flavonoid umbi dari tumbuhan bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) [Skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Nur AM, Astawan M. 2011. Antioxidant capacity of bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*) in fresh, simplisia and chips form on nonpolar, semipolar and polar solvent [Skripsi]. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Pertanian Bogor.
- Patterson dan Kane EG. 2002. Cage size preference in laboratory rats. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 5(1): 63-72.
- Prangdimurti E, Muchtadi D, Astawan M, Zakaria FR. 2006. Aktivitas antioksidan ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia* N.E. Brown). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 7(2): 79-86.
- Purnomo J. 2016. *Metabolisme Obat*. Yogyakarta: Pustaka Belajar.

- Parwata IMO. 2016. *Antioksidan*. Jimbaran: Program Pasca Sarjana Universitas Udayana.
- Puspitasari I. 2010. *Jadi Dokter Untuk Diri Sendiri*. Yogyakarta: B First.
- Putra AAB, Bogoriani NW, Diantarini NP, Sumadewi NLU. 2014. Ekstraksi zat warna alam dari bonggol tanaman pisang (*Musa paradiasciaca L.*) dengan metode maserasi, refluks, dan soxhletasi. *Jurnal Kimia* 8(1): 113-119.
- Retno T, Widyastuti SK, Suarsana N. 2012. Pengaruh pemberian isoflavon terhadap peroksidasi lipid pada hati tikus normal. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(4): 483-491.
- Reynertson KA. 2007. *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit*. [Dissertation]. New York: The City University of New York.
- Riceevans *et al.* 1995. The relative antioxidants activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic research* 22(4): 375-383.
- Ridwan E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Journal Indonesian Medical Association* 63: 112-115.
- Rohmatin AR. 2015. Kerusakan sel hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbontetraklorida (CCl₄) setelah diberi ekstrak etanol bawang dayak (*Eleutherine palmifolia Merr.*) [Skripsi]. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Sa'adah H, Nurhasnawati H, Permatasari V. 2017. Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia (L.) Merr.*) dengan metode spektrofotometri. *Jurnal Borneo Journal of Pharmascientech* 01(01): 1-9.
- Sadikin M. 2002. *Biokimia Darah*. Jakarta: Widia Medika.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Jakarta: Humana Press. Hlm. 30-32, 340-342.
- Sasikumar JM, Maheshu V, Jayadev R. 2009. In vitro antioxidant activity of methanolic extracts of berberis tinctoria lesch. root and root bark. *India Journal of Herbal Medicine and Toxicology* 3(2): 53-58.
- Sayuti K, Yenrina R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Universitas Andalas.
- Simanjuntak K. 2012. Peran antioksidan dalam meningkatkan kesehatan. *Bina Widya* 23(3): 135-140.

- Singh RP, Murthy KNC, Jayaprakasha GK. 2002. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extract using *in vitro* model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 81-86.
- Sirait M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB Press.
- Smith JB, Mankoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press. Hlm. 37-38.
- Stevani H. 2016. *Praktikum Farmakologi*. Jakarta: Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Sudewo B. 2009. *Buku Pintar Hidup Sehat Cara Mas Dewo*. Jakarta: Media Pustaka. hlm. 119-120.
- Sujono TA, Widiatmoko YW, Karuniawati H. 2012. Efek infusa bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) paa serum glutamate piruvat transaminase tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik. *Pharmacon* 13(2): 65-69.
- Sulaksono ME. 1987. *Peranan Pengelolaan dan Pengembangan Hewan Percobaan*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI.
- Takashi M dan Takayumi S. 1997. Antioxidant activities of natural compound found in plants. *J. Agric. Food. Chem* 45: 1819-1822.
- Trilaksani W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor. hlm. 1-12.
- Utami P. 2013. *Umbi Ajaib Tumpas Penyakit Kanker, Diabetes, Hipertensi, Stroke, Kolesterol, dan Jantung*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Valko M *et al.* 2007. Review: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem Cell Biol* 39 (1): 44-84.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: *Lehrbuch der Pharmaceutischen Technologie*.
- Walsh C. 1979. *Enzymatic Reaction Mechanisms*. San Fransisco: W.H. Freeman & Co. Oxford.
- Werdhasari A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* 3: 59-68.

- Widagdo CT, Naibaho P, Jayadi T, Danu SS. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak curcuma longa dengan tingkat toksisitas parasetamol pada gaster, hepar, dan renal mencit jantan galur wistar. *Berkala Ilmiah Kedokteran Duta Wacana* 01(2): 109-120.
- Wilmana PF dan Gunawan S. 2007. Analgesik-antipiretik Analgesik Anti-inflamasi Nonsteroid Dan Obat Gangguan Sendi Lainnya. Di dalam: Gunawan SG, editor. *Farmakologi dan terapi*. Ed ke-5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarti S. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Windari T. 2017. Peranan ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*) sebagai agen anti tukak lambung (*peptic ulcer*) pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi etanol. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 5(1): 61-70.
- Wypych George, editor. 2001. *Handbook of Solvents*. Toronto: ChemTec Publishing.
- Wulandari KN. 2016. Uji aktivitas ekstrak bawang dayak (*Eleutherine americana* Merr.) dalam menghambat peningkatan kadar AST dan ALT pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi isoniazid dan rifampisin [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Yuniar R dan Galingging. 2009. Bawang dayak (*Eleutherine Palmifolia*) sebagai tanaman obat multi fungsi. *Warta Penelitian dan Pengembangan* 15(3).
- Yuswi NCR. 2017. Ekstraksi antioksidan bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*) dengan metode ultrasonic bath (kajian jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 5(1): 71-79.

L

A

M

P

7

R

A

N

Lampiran 1. Ethical Clearance



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)

Health Research Ethics Committee

FAKULTAS KEDOKTERAN

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Faculty of Medicine Universitas Muhammadiyah Surakarta

Komplek kampus 4 UMS Gonilan Kartasura, Telp.(0271)716844, Fax.(0271)724883 Surakarta 57102, email:kepk@ums.ac.id

ETHICAL CLEARANCE LETTER

Surat Kelaikan Etik

No. 1235/A.1/KEPK-FKUMS/VI/2018

Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FK UMS, setelah menelaah rancangan penelitian yang diusulkan menyatakan bahwa:

Health Research Ethics Committee Faculty of medicine of Universitas Muhammadiyah Surakarta, after reviewing the research design, state that:

Penelitian dengan judul:

The research proposal with topic:

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP KADAR ENZIM KATALASE PADA HATI TIKUS YANG DIINDUKSI PARASETAMOL

Peneliti:

The researcher:

Nama/ Name : RAHMAT RUDIANTO

Alamat/ Address : JL. GANGGGENG TIMUR NO.150 RT 05/09 MERTASINGA CILACAP

Institusi/ Institution : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Telah memenuhi deklarasi Helsinki 1975 dan Pedoman nasional etik penelitian kesehatan Departemen Kesehatan RI 2004

Has met the declaration of Helsinki 1975 and national health research ethics Department of Health of the Republic of Indonesia in 2004

dan dinyatakan lolos etik

and ethically approve

Surakarta, 04 Juni 2018
Ketua/Chairman,

Prof. Dr. dr. EM. Sutrisna, M,Kes.

Lampiran 2. Surat determinasi



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA

Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura Surakarta 57102. Telp. (0271) 717417 ext 171

SURAT KETERANGAN

No: 729/A.E-I/LAB.BIO/I/2018

Yang bertanda tangan di bawah ini atas nama Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta menerangkan bahwa:

No	Nama	Nim
1.	Trimida	20144104A
2.	Rahmat Rudianto	20144126A
3.	Putri Rinda Pratiwi	20144113A

Program Studi : S1 Farmasi
 Fakultas : Farmasi
 Perguruan Tinggi : Universitas Setia Budi
 Keperluan : Skripsi

Menyatakan bahwa mahasiswa tersebut telah mendeterminasikan Tanaman **Bawang Dayak/Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)** dengan sinonim :

1. *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.
2. *Eleutherine plicata* Herb.
3. *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.
4. *Sisyrinchium bulbosum* Mill.
5. *Galatea bulbosa* (Mill.) Britton.

Pendeterminasian dilakukan pada:

Hari : Senin
 Tanggal : 15 Januari 2018
 Tempat : Laboratorium Biologi

Demikian surat keterangan ini kami buat, harap dipergunakan dengan semestinya.

Surakarta, 15 Januari 2018

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Biologi,

Penanggung jawab determinasi,



Rina Astuti, M.Pd
NIK: 110.1653

Siti Kartika Sari, M.Pd.

Bawang Dayak/Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)

Kunci Determinasi :

1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10a, 92b, 100b, 103b, 105b, 106b, 107a, 67b, 69b, 70b, 71b,
72b, 73b, 76b, 77b, 79a, 80a, ... → Familia : Iridaceae
1a, 2a, 3b, 4a, 5a, → Genus : Eleutherine
1, → Species : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.

Klasifikasi :

Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Classis : Monocotyledoneae
Ordo : Liliiflorae/ Liliales
Familia : Iridaceae
Genus : Eleutherine
Species : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.

Sinonim : *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.
: *Eleutherine plicata* Herb.
: *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.
: *Sisyrinchium bulbosum* Mill.
: *Galatea bulbosa* (Mill.) Britton.

Tabel Deskripsi tanaman *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.:

Keterangan	Deskripsi
Akar	Tumbuhan herba tinggi 30 – 60 cm dengan umbi lapis yang tertanam di dalam tanah yang memiliki sistem perakaran serabut.
Batang	Batang tidak terlihat dikarenakan susunan daun yang membentuk roset akar.
Daun	Dalam satu umbi lapis biasanya terdiri dari 3 – 4 helai daun tunggal yang tersusun roset, pertulangan sejajar, apex runcing, bangun elips memanjang sampai bangun pita, tepi rata, berwarna hijau,

	permukaan mengkilap terlapis lapisan lilin, daun lentur dan tidak mudah sobek.
Bunga	Bunga majemuk dengan bonggol tersusun dalam malai yang tidak beraturan dengan dilindungi satu daun pelindung yang menyerupai helaian daun, setiap 3 – 4 kuntum bunga yang muncul bersamaan bracktea yang agak keras bentuk membulat yang menutupi kumpulan bunga juga dilindungi 2 brachtea yang terletak di pangkal dan saling bertangkup berwarna hijau yang memiliki panjang ± 2 cm dengan panjang tangkai penopang bunga dalam bonggol ± 7 cm, bunga trimer dengan 6 tepala berwarna putih, stigma 3 bentuk garis berwarna kuning muda, bakal buah tenggelam, stamen 3 berwarna orange cerah, cymes atau tidak berbatas, aktinomorf,
Buah	Buah beruang 3, bentuk peer membulat atau kapsul dengan ukuran ± 6 mm.
Biji	Biji berwarna coklat gelap dengan ukuran ± 2 mm.
Umbi	Umbi lapis dengan bagian luar berwarna merah gelap yang memiliki kandungan minyak atsiri yang beraroma khas, bentuk elips.
Manfaat	Sering dimanfaatkan sebagai tanaman obat.

Sumber :

Becker, D.Sc , C.A. and Van den Brink Jr, PH.D., R.C. Bakhuizen. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes only)* Vol III. Groningen-The Netherlands: Wolters-Noordhoff N.V.

Flora Malesiana data portal. *Eleutherine palmifolia*. Content of synonymy.

Iridaceae of North America Update, database (version 2010). Updated for ITIS by the Flora of North America Expertise Network, in connection with an update for USDA PLANTS (2007-2010).

Steenis, C.G.G.J. van. 2005. *Flora*. Jakarta : PT. Pradnya Paramita.

Tjitrosoepomo, G. 2007. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta : UGM Press.

Lampiran 3. Hasil perhitungan rendemen serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak.

Simplisia	Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
Umbi bawang dayak	3,85	1,9	49,35

Perhitungan rendemen

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat kering serbuk}}{\text{berat basah serbuk}} \times 100\% \\ \text{Rendemen} &= \frac{1,9 \text{ kg}}{3,85 \text{ kg}} \times 100\% \\ &= 49,35 \%\end{aligned}$$

Hasil perhitungan rendemen ekstrak umbi bawang dayak

Berat serbuk (g)	Etanol (ml)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
800	12000	83	10,37

Perhitungan rendemen

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\ \text{Rendemen} &= \frac{83 \text{ g}}{800 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 10,37 \%\end{aligned}$$

Lampiran 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak.

	Berat (g)	Kadar susut (%)	Pustaka (%)
Serbuk	2,00	7,0	≤ 10
	2,00	8,0	
	2,00	8,0	
	Rata-rata \pm SD	7,6 \pm 0,577	
Ekstrak	2,00	17,0	
	2,00	17,0	
	2,00	17,0	
	Rata-rata \pm SD	17,0 \pm 0,00	

Serbuk umbi bawang dayak

- Replikasi 1 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 7,0%
- Replikasi 2 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 8,0%
- Replikasi 3 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 8,0%

Maka didapatkan hasil rata-rata susut pengeringan umbi bawang dayak sebesar 7,6%

Ekstrak umbi bawang dayak

- Replikasi 1 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 17,0%
- Replikasi 2 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 17,0%
- Replikasi 3 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 17,0%

Maka didapatkan hasil rata-rata susut pengeringan umbi bawang dayak sebesar 17,0%

Lampiran 5. Hasil penetapan karakteristik simplisia umbi bawang dayak.

Hasil perhitungan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam

No	Berat serbuk			Kadar abu total (%)	Kadar abu tidak larut asam (%)
	Sebelum di oven	Sesudah dioven			
		Abu total	Abu tidak larut asam		
1	2,00	0,056	0,0068	2,7	0,34
2	2,00	0,057	0,0072	2,8	0,36
3	2,00	0,078	0,0279	3,8	1,30
Rata-rata±SD				3,1±0,608	0,60±0,548

$$\% \text{ perhitungan} = \frac{\text{berat serbuk sesudah dioven}}{\text{berat serbuk sebelum dioven}} \times 100\%$$

1. Kadar abu total

- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,056}{2,010} \times 100\%$

$\% \text{ perhitungan} = 2,7\%$

- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,057}{2,007} \times 100\%$

$\% \text{ perhitungan} = 2,8 \%$

- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,078}{2,039} \times 100\%$

$\% \text{ perhitungan} = 3,8 \%$

2. Kadar abu tidak larut asam

- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,0068}{2,010} \times 100\%$

$\% \text{ perhitungan} = 0,34 \%$

- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,0072}{2,007} \times 100\%$

$\% \text{ perhitungan} = 0,36 \%$

- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,0279}{2,039} \times 100\%$

$\% \text{ perhitungan} = 1,3 \%$

Hasil perhitungan kadar sari larut air

No	Berat serbuk (g)	Berat sesudah dioven(g)	Kadar sari larut air (%)
1	5,00	0,535	10
2	5,00	0,665	13
3	5,00	0,215	4
Rata-rata \pm SD			9 \pm 4,58

$$\% \text{ perhitungan} = \frac{\text{berat serbuk sesudah dioven}}{\text{berat serbuk sebelum dioven}} \times 100\%$$

1. Kadar sari larut air

- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,535}{5} \times 100\%$
 $\% \text{ perhitungan} = 10\%$
- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,665}{5} \times 100\%$
 $\% \text{ perhitungan} = 13\%$
- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,215}{5} \times 100\%$
 $\% \text{ perhitungan} = 4 \%$

Hasil perhitungan kadar sari larut etanol

No	Berat serbuk (g)	Berat sesudah dioven(g)	Kadar sari larut etanol(%)
1	5,00	0,52	10,4
2	5,00	0,50	10,0
3	5,00	0,54	10,8
Rata-rata \pm SD			10,4 \pm 0,4

$$\% \text{ perhitungan} = \frac{\text{berat serbuk sesudah dioven}}{\text{berat serbuk sebelum dioven}} \times 100\%$$

1. Kadar sari larut etanol

- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,52}{5} \times 100\%$
 $\% \text{ perhitungan} = 10,4\%$
- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,50}{5} \times 100\%$
 $\% \text{ perhitungan} = 10\%$
- $\% \text{ perhitungan} = \frac{0,54}{5} \times 100\%$
 $\% \text{ perhitungan} = 10,8 \%$

Lampiran 6. Berat badan tikus.

No	Kode	29-Jan-18	05-Feb-18	12-Feb-18	19-Feb-18	20-Feb-18
		BB (gram)	BB (gram)	BB (gram)	BB (gram)	BB (gram)
1	N.1	180	186	193	200	202
2	N.2	193	199	206	212	214
3	N.3	199	206	212	221	220
4	N.4	197	203	211	219	219
5	N.5	187	196	203	210	211
6	(-).1	183	190	197	204	203
7	(-).2	180	186	194	201	201
8	(-).3	193	201	209	216	214
9	(-).4	188	195	202	209	210
10	(-).5	186	194	200	207	208
11	(+).1	180	188	195	201	201
12	(+).2	187	193	199	208	208
13	(+).3	192	198	206	213	212
14	(+).4	196	202	210	217	216
15	(+).5	188	194	202	208	209
16	BD 40,5.1	182	189	197	203	204
17	BD 40,5.2	187	193	201	209	209
18	BD 40,5.3	179	185	194	199	200
19	BD 40,5.4	192	199	207	213	211
20	BD 40,5.5	180	187	193	202	202
21	BD 81.1	184	190	198	205	205
22	BD 81.2	181	187	193	200	201
23	BD 81.3	178	184	190	199	198
24	BD 81.4	186	192	199	206	204
25	BD 81.5	183	190	198	203	203
26	BD 162.1	182	190	199	205	204
27	BD 162.2	186	192	201	207	207
28	BD 162.3	191	196	203	211	209
29	BD 162.4	189	198	204	213	213
30	BD 162.5	190	197	202	210	210

Lampiran 7. Dosis pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak.

05-Feb-18				12-Feb-18			19-Feb-18	
	Curcuma	Bawang Dayak	Sonde	Curcuma	Bawang Dayak	Sonde	Parasetamol Suspensi	
Kode	18mg / Kg	mg / Kg	1ml/200gr	mg / Kg	mg / Kg	1ml/200gr	gr / Kg	1ml/200gr
	Mg	Mg	ml	mg	mg	ml	gr	ml
N.1	-	-	-	-	-	-	-	-
N.2	-	-	-	-	-	-	-	-
N.3	-	-	-	-	-	-	-	-
N.4	-	-	-	-	-	-	-	-
N.5	-	-	-	-	-	-	-	-
(-).1	-	-	0,95	-	-	0,99	0,510	1,02
(-).2	-	-	0,93	-	-	0,97	0,503	1,01
(-).3	-	-	1,01	-	-	1,05	0,540	1,08
(-).4	-	-	0,98	-	-	1,01	0,523	1,05
(-).5	-	-	0,97	-	-	1,00	0,518	1,04
(+).1	3,38	-	0,94	3,51	-	0,98	0,503	1,01
(+).2	3,47	-	0,97	3,58	-	1,00	0,520	1,04
(+).3	3,56	-	0,99	3,71	-	1,03	0,533	1,07
(+).4	3,64	-	1,01	3,78	-	1,05	0,543	1,09
(+).5	3,49	-	0,97	3,64	-	1,01	0,520	1,04
BD 40.1	-	7,65	0,95	-	7,98	0,99	0,508	1,02
BD 40.2	-	7,82	0,97	-	8,14	1,01	0,523	1,05
BD 40.3	-	7,49	0,93	-	7,86	0,97	0,498	1,00
BD 40.4	-	8,06	1,00	-	8,38	1,04	0,533	1,07
BD 40.5	-	7,57	0,94	-	7,82	0,97	0,505	1,01
BD 81.1	-	15,39	0,95	-	16,04	0,99	0,513	1,03
BD 81.2	-	15,15	0,94	-	15,63	0,97	0,500	1,00
BD 81.3	-	14,90	0,92	-	15,39	0,95	0,498	1,00
BD 81.4	-	15,55	0,96	-	16,12	1,00	0,515	1,03
BD 81.5	-	15,39	0,95	-	16,04	0,99	0,508	1,02
BD162.1	-	30,78	0,95	-	32,24	1,00	0,513	1,03
BD162.2	-	31,10	0,96	-	32,56	1,01	0,518	1,04
BD162.3	-	31,75	0,98	-	32,89	1,02	0,528	1,06
BD162.4	-	32,08	0,99	-	33,05	1,02	0,533	1,07
BD162.5	-	31,91	0,99	-	32,72	1,01	0,525	1,05

1. Larutan Na CMC

Larutan stok Na CMC 0,5%

$$\frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 5 \text{ mg/ml}$$

Volume pemberian untuk tikus dengan larutan Na CMC 0,5% adalah 1 ml untuk 200g bb tikus

2. Parasetamol

Parasetamol sebagai penginduksi dengan dosis toksis untuk tikus adalah 2,5 g/kg bb,

Pemakaian untuk 1 hari = $1 \times 2,5 = 2,5 \text{ g/kg bb}$

Dosis tikus = $2,5 \text{ g/kg bb}$
 = $0,5 \text{ g/200 g bb}$
 = 500 mg/200 g bb

Larutan stok = 15 g/30 ml
 = $\frac{15}{0,5} \times 0,599 \text{ g}$
 = $17,97 \text{ g}$
 = $17,97 \text{ g/30 ml}$
 = $0,599 \text{ g/ml}$

Dosis peroral tikus (200g) = $\frac{500 \text{ mg}}{15000 \text{ mg}} \times 30 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$

3. Curcuma®

Curcuma® sebagai kontrol positif dengan dosis pada manusia adalah 200mg/tablet 1-3 kali sehari, konversi dosis dari manusia dengan berat badan 70 kg terhadap tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018

Pemakaian untuk 1 kali pakai = $1 \times 200 \text{ mg} = 200 \text{ mg}$

Dosis tikus = $0,018 \times 200 \text{ mg/70 kg bb}$
 = $3,6 \text{ mg/200 g bb}$
 = 18 mg/kg bb

$$\begin{aligned}
 \text{Larutan stok} &= 18 \text{ mg/5 ml} \\
 &= \frac{18 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 423 \text{ mg} \\
 &= 38 \text{ mg/5 ml}
 \end{aligned}$$

$$\text{Dosis peroral tikus (200g)} = \frac{3,6 \text{ mg}}{18 \text{ mg}} \times 5 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

4. Dosis ekstrak umbi bawang dayak

Dosis yang digunakan berdasarkan dosis dari penelitian sebelumnya yang dilakukan Wulandari (2016), dosis ekstrak etanol umbi bawang dayak sebesar 121,5 mg/kg BB tikus mampu menghambat peningkatan kadar AST dan ALT pada tikus yang diinduksi rifampisin dan isoniazid. Maka, dosis yang akan diberikan pada tikus untuk penelitian jangka panjang adalah sebesar 40,5 mg/kg BB, 81 mg/kg BB, 162 mg/kg BB

1. Bawang dayak 40,5 mg/kg BB

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis tikus} &= 40,5 \text{ mg/kg BB} \\
 &= 8,1 \text{ mg/200g BB}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Larutan stok} &= 40,5 \text{ mg/5 ml} \\
 &= 8,1 \text{ mg/ml}
 \end{aligned}$$

$$\text{Dosis peroral tikus (200g)} = \frac{8,1 \text{ mg}}{8,1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml/ 200g}$$

2. Bawang dayak 81 mg/kg

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis tikus} &= 81 \text{ mg/kg BB} \\
 &= 16,2 \text{ mg/200g BB}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Larutan stok} &= 81 \text{ mg/5 ml} \\
 &= 16,2 \text{ mg/ml}
 \end{aligned}$$

$$\text{Dosis peroral tikus (200g)} = \frac{16,2 \text{ mg}}{16,2 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml/200g}$$

3. Bawang dayak 162 mg/kg

$$\begin{aligned} \text{Dosis tikus} &= 162 \text{ mg/kg BB} \\ &= 32,4 \text{ mg/200g BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok} &= 162 \text{ mg/5 ml} \\ &= 32,4 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

$$\text{Dosis peroral tikus (200g)} = \frac{32,4 \text{ mg}}{32,4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml/200g}$$

Lampiran 8. Aktivitas enzim katalase pada hati tikus.

No	Kode	Abs	CAT (nmol/gr)
1	N.1	0,581	6,66
2	N.2	0,590	6,67
3	N.3	0,578	6,63
4	N.4	0,575	6,59
5	N.5	0,568	6,51
Rata-rata \pm sd			6,67 \pm 0,06
6	(-).1	0,153	1,75
7	(-).2	0,142	1,63
8	(-).3	0,145	1,66
9	(-).4	0,140	1,61
10	(-).5	0,147	1,69
Rata-rata \pm sd			1,63 \pm 0,04
11	(+).1	0,499	5,72
12	(+).2	0,501	5,75
13	(+).3	0,508	5,83
14	(+).4	0,515	5,91
15	(+).5	0,512	5,87
Rata-rata \pm sd			5,75 \pm 0,08
16	BD 40.1	0,170	1,95
17	BD 40.2	0,166	1,90
18	BD 40.3	0,164	1,88
19	BD 40.4	0,172	1,97
20	BD 40.5	0,165	1,89
Rata-rata \pm sd			1,90 \pm 0,04
21	BD 81.1	0,189	2,17
22	BD 81.2	0,176	2,02
23	BD 81.3	0,184	2,11
24	BD 81.4	0,168	1,93
25	BD 81.5	0,181	2,08
Rata-rata \pm sd			2,02 \pm 0,09
26	BD162.1	0,241	2,76
27	BD162.2	0,247	2,83
28	BD162.3	0,238	2,73
29	BD162.4	0,235	2,69
30	BD162.5	0,245	2,81
Rata-rata \pm sd			2,83 \pm 0,06

Lampiran 9. Penentuan data outlier dengan *Dixon Test*.

No	Kelompok normal	Kelompok negatif	Kelompok positif	Dosis 40,5 mg/g BB	Dosis 81 mg/kg BB	Dosis 162 mg/kg BB
1	6,51	1,61	5,72	1,88	1,93	2,69
2	6,59	1,63	5,75	1,89	2,02	2,73
3	6,63	1,66	5,83	1,90	2,08	2,76
4	6,66	1,69	5,87	1,95	2,11	2,81
5	6,77	1,75	5,91	1,97	2,17	2,83
< 0,642	0,625	0,429	0,105	0,222	0,25	0,143
Kesimpulan	Semua data dapat diterima					

Rumus : jika jumlah sampel perkelompok 5 dan nilai signifikasi level 5% adalah 0,642

$R_{10} = (X_1 - X_2) / (X_K - X_1)$ (jika data terkecil dicurigai)

$R_{10} = (X_K - X_{K-1}) / (X_K - X_1)$ (jika data terbesar dicurigai)

Keterangan :

X_1 = data terkecil

X_2 = data setelah X_1

X_K = data terbesar

Contoh :

Data kelompok normal diurutkan dari terkecil ke terbesar (6,51; 6,59; 6,63; 6,66; 6,67)

Selisih data terkecil = $X_2 - X_1 = 6,59 - 6,51 = 0,08$

Selisih data terbesar = $X_K - X_{K-1} = 6,67 - 6,66 = 0,01$

Karena selisih terbesar (0,01) yang didapatkan pada data terbesar (6,67) maka data ini dicurigai dan rumus yang dipakai adalah $R_{10} = (X_K - X_{K-1}) / (X_K - X_1)$







$R_{10} = (X_K - X_{K-1}) / (X_K - X_1)$

$$R_{10} = (6,67 - 6,66)/(6,67 - 6,51)$$





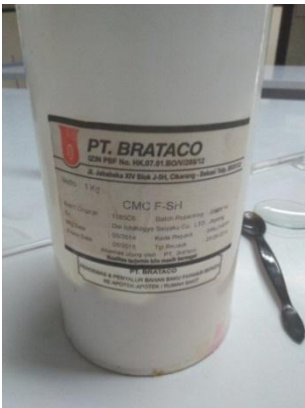

$$R_{10} = (0,01)/(0,16)$$






$$R_{10} = 0,625 < 0,642 \text{ (data diterima)}$$

Lampiran 10. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk.

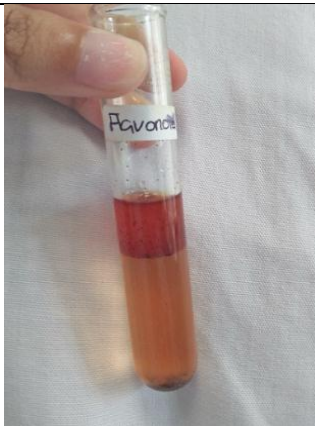
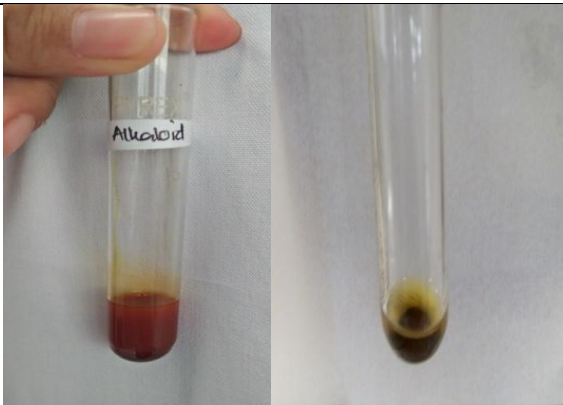
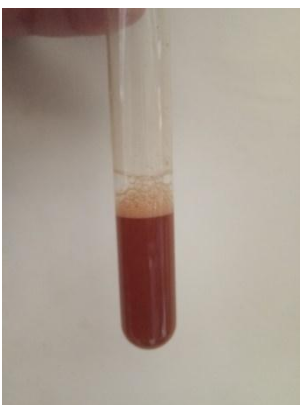

	
<p>Tanaman bawang dayak</p>	<p>Umbi bawang dayak segar</p>
	
<p>Perajangan umbi bawang dayak</p>	<p>Pengeringan umbi bawang dayak</p>
	
<p>Serbuk umbi bawang dayak</p>	<p>Ekstrak umbi bawang dayak</p>

Lampiran 11. Alat dan bahan.

	
Moisture balance	Evaporator
	
Tikus wistar dan kandang	Pakan hewan uji
	
Na CMC	Curcuma®

	
Parasetamol	Umbi bawang dayak segar
	
Alat sentrifuge	Homogenaizer
	
Spektrofotometer	

Lampiran 12. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak umbi bawang dayak.

	
Flavonoid	Alkaloid
	
Saponin	Tanin

Lampiran 13. Penetapan karakteristik umbi bawang dayak.

	
Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam	
	
Kadar sari larut air dan etanol	

Lampiran 14. Hasil analisis statistik aktivitas enzim katalase.

1. Uji normalitas

Tujuan : untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis :

Jika probabilitas $> 0,05$, H_0 diterima = data terdistribusi normal

$< 0,05$, H_0 ditolak = data terdistribusi tidak normal

Tests of Normality							
KELOMPOK		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CATALASE	1	.185	5	.200 ⁺	.986	5	.966
	2	.158	5	.200 ⁺	.957	5	.788
	3	.196	5	.200 ⁺	.944	5	.697
	4	.275	5	.200 ⁺	.879	5	.305
	5	.178	5	.200 ⁺	.981	5	.940
	6	.189	5	.200 ⁺	.962	5	.823

a. Lilliefors Significance Correction

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

Kesimpulan :

Nilai probabilitas dari semua kelompok pada uji *shapiro-wilk* adalah $>0,05$, disimpulkan data tersebut mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis variansi (ANOVA).

2. Uji homogenitas atau *levane statistic*

Tujuan : untuk mengetahui semua data memiliki varian yang sama atau tidak

Hipotesis :

Jika nilai probabilitas $>0,05$, H_0 diterima= semua data memiliki varians yang sama

$<0,05$, H_0 ditolak = semua data memiliki varians yang tidak sama

Test of Homogeneity of Variances

CATALASE

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.792	5	24	.566

Kesimpulan :

Nilai probabilitas yang dihasilkan pada uji *levene* adalah $0,95 > 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima perlakuan mempunyai varians yang sama

3. Uji ANOVA

Tujuan : untuk menunjukkan adanya perbedaan atau tidak dari keseluruhan data

Keterangan :

Jika nilai probabilitas $> 0,05$, H_0 diterima = semua data tidak menunjukkan adanya perbedaan
 $< 0,05$, H_0 ditolak = semua data menunjukkan adanya perbedaan

ANOVA

CATALASE

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	118.193	5	23.639	4468.526	.000
Within Groups	.127	24	.005		
Total	118.319	29			

Kesimpulan :

Nilai probabilitas yang dihasilkan pada uji ANOVA adalah $0,00 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti kelima perlakuan mempunyai perbedaan yang nyata.

4. Uji Tukey dan Bonferroni

Tujuan : untuk mencari grup/subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda signifikan.

Keterangan : Jika ada tanda * ada di angka *Mean Difference*, maka perbedaan tersebut signifikan

Jika tidak ada tanda *, maka perbedaan tidak signifikan

Multiple Comparisons

CATALASE

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	4.96400 [*]	.04600	.000	4.8218	5.1062
	3	.81600 [*]	.04600	.000	.6738	.9582
	4	4.71400 [*]	.04600	.000	4.5718	4.8562
	5	4.57000 [*]	.04600	.000	4.4278	4.7122
	6	3.86800 [*]	.04600	.000	3.7258	4.0102
2	1	-4.96400 [*]	.04600	.000	-5.1062	-4.8218
	3	-4.14800 [*]	.04600	.000	-4.2902	-4.0058
	4	-.25000 [*]	.04600	.000	-.3922	-.1078
	5	-.39400 [*]	.04600	.000	-.5362	-.2518
	6	-1.09600 [*]	.04600	.000	-1.2382	-.9538
3	1	-.81600 [*]	.04600	.000	-.9582	-.6738
	2	4.14800 [*]	.04600	.000	4.0058	4.2902
	4	3.89800 [*]	.04600	.000	3.7558	4.0402
	5	3.75400 [*]	.04600	.000	3.6118	3.8962
	6	3.05200 [*]	.04600	.000	2.9098	3.1942
4	1	-4.71400 [*]	.04600	.000	-4.8562	-4.5718
	2	.25000 [*]	.04600	.000	.1078	.3922
	3	-3.89800 [*]	.04600	.000	-4.0402	-3.7558
	5	-.14400 [*]	.04600	.046	-.2862	-.0018
	6	-.84600 [*]	.04600	.000	-.9882	-.7038
5	1	-4.57000 [*]	.04600	.000	-4.7122	-4.4278
	2	.39400 [*]	.04600	.000	.2518	.5362
	3	-3.75400 [*]	.04600	.000	-3.8962	-3.6118
	4	.14400 [*]	.04600	.046	.0018	.2862
	6	-.70200 [*]	.04600	.000	-.8442	-.5598
6	1	-3.86800 [*]	.04600	.000	-4.0102	-3.7258
	2	1.09600 [*]	.04600	.000	.9538	1.2382
	3	-3.05200 [*]	.04600	.000	-3.1942	-2.9098
	4	.84600 [*]	.04600	.000	.7038	.9882
	5	.70200 [*]	.04600	.000	.5598	.8442

Multiple Comparisons

CATALASE

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	4.96400 [*]	.04600	.000	4.8218	5.1062
	3	.81600 [*]	.04600	.000	.6738	.9582
	4	4.71400 [*]	.04600	.000	4.5718	4.8562
	5	4.57000 [*]	.04600	.000	4.4278	4.7122
	6	3.86800 [*]	.04600	.000	3.7258	4.0102
2	1	-4.96400 [*]	.04600	.000	-5.1062	-4.8218
	3	-4.14800 [*]	.04600	.000	-4.2902	-4.0058
	4	-.25000 [*]	.04600	.000	-.3922	-.1078
	5	-.39400 [*]	.04600	.000	-.5362	-.2518
	6	-1.09600 [*]	.04600	.000	-1.2382	-.9538
3	1	-.81600 [*]	.04600	.000	-.9582	-.6738
	2	4.14800 [*]	.04600	.000	4.0058	4.2902
	4	3.89800 [*]	.04600	.000	3.7558	4.0402
	5	3.75400 [*]	.04600	.000	3.6118	3.8962
	6	3.05200 [*]	.04600	.000	2.9098	3.1942
4	1	-4.71400 [*]	.04600	.000	-4.8562	-4.5718
	2	.25000 [*]	.04600	.000	.1078	.3922
	3	-3.89800 [*]	.04600	.000	-4.0402	-3.7558
	5	-.14400 [*]	.04600	.046	-.2862	-.0018
	6	-.84600 [*]	.04600	.000	-.9882	-.7038
5	1	-4.57000 [*]	.04600	.000	-4.7122	-4.4278
	2	.39400 [*]	.04600	.000	.2518	.5362
	3	-3.75400 [*]	.04600	.000	-3.8962	-3.6118
	4	.14400 [*]	.04600	.046	.0018	.2862
	6	-.70200 [*]	.04600	.000	-.8442	-.5598
6	1	-3.86800 [*]	.04600	.000	-4.0102	-3.7258
	2	1.09600 [*]	.04600	.000	.9538	1.2382
	3	-3.05200 [*]	.04600	.000	-3.1942	-2.9098
	4	.84600 [*]	.04600	.000	.7038	.9882
	5	.70200 [*]	.04600	.000	.5598	.8442

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

Homogeneous Subsets

CATALASE

Tukey HSD^a

KELOMPOK	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
2	5	1.6680					
4	5		1.9180				
5	5			2.0620			
6	5				2.7640		
3	5					5.8160	
1	5						6.6320
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Kesimpulan :

Hasil dari uji *Tukey* dan *Banferroni* dengan *Homogeneous Subsets* menunjukkan semua kelompok perlakuan mempunyai perbedaan nyata, karena ada tanda * dan tidak berada dalam satu subset