

**EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR
(*Moringa oleifera* Lamk.) TERHADAP KADAR ALT DAN AST
PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**



Oleh:
Aprilya Dewi Kumala Sari
19133984A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR
(*Moringa oleifera* Lamk.) TERHADAP KADAR ALT DAN AST
PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**



SKRIPSI

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

**Oleh:
Aprilya Dewi Kumala Sari
19133984A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.) TERHADAP KADAR ALT DAN AST PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI PARASETAMOL

Oleh:

Aprilya Dewi Kumala Sari
19133984A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 5 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi,



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Dra. Yul Mariyah, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

Dra. Suhartinah, M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Dr. Jason Merari P, MM, M.Si, Apt
2. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
3. Iswandi, S.Si., M.Farm., Apt
4. Dra. Yul Mariyah, M.Si., Apt.

The image shows four horizontal dotted lines, each with a blue ink signature written above it, corresponding to the list of examiners.

HALAMAN PERSEMBAHAN



“Sesungguhnya Allah tidak mengubah keadaan suatu kaum sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri ” (QS. Ar-Ra’du: 1)

“Allah akan mengangkat orang-orang yang beriman di antara kalian dan orang-orang yang berilmu beberapa derajat” (QS. Al-Mujadilah: 21)

“Dan katakanlah: Wahai Rabbku, tambahkanlah ilmu padaku”

(QS. Thaha: 114)

Karya ini kupersembahkan kepada:

- ❖ Allah SWT dan Rasul-Nya, atas rahmat dan ridho-Nya untukku.
- ❖ Ibu dan bapakku yang sangat aku cintai, kalian adalah hidupku.
 - ❖ Adik dan teman-temanku yang kusayangi.
 - ❖ Almamater, agama, bangsa dan negaraku.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 5 Juni 2017



Aprilya Dewi Kumala Sari

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.) TERHADAP KADAR ALT DAN AST PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI PARASETAMOL”**, guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) dalam ilmu kefarmasian di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat umum dan bagi ilmu pengetahuan bidang obat tradisional khususnya. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabat.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan motivasi bimbingan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tuaku Bapak Sukono dan Ibu Ristiani Puji As Tuti tercinta atas doa, kasih sayang, semangat dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc, Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

4. Dra. Yul Mariyah, M.Si., Apt., selaku pembimbing utama yang telah bersedia memberi dukungan, nasehat, pengarahan, dan petunjuk sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Dra. Suhartinah, M.Sc., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah bersedia juga memberikan bantuan, dorongan, nasehat, bimbingan, dan masukan yang maksimal kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Tim penguji skripsi yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan kepada peneliti untuk penyempurnaan skripsi ini.
7. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Seluruh Staf Perpustakaan, Staf Laboratorium, Karyawan dan Karyawati Universitas Setia Budi, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.
8. Adikku tercinta Arie Wulandari terimakasih atas dukungan, semangat, kasih sayang dan doanya.
9. Saudaraku Mita Anggy Prameswari terimakasih atas dukungan, semangat, kasih sayang dan doanya.
10. Teman temanku: Teman - teman teori 5 2013 dan FKK 4 2013 serta teman-teman Universitas Setia Budi yang lainnya
11. Teman – teman kos Syafa; Nofika, Sella, Yuli, Lutfi, Lovi, Ella, Fauziyyah, Silvia, Tina, Dinda, Alin, Puput, Andany, Emilda terimakasih atas bantuan dan dukungan serta doanya.
12. Teman – teman KKN: Regena, Hendri, Andri, Fristy, Dika, Nani, Hilda, Jessi
13. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu telah membantu penulisan.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Wabillahittaufik walhidayah wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surakarta, 5 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xvi
INTISARI.....	xvii
<i>ABSTRACT</i>	xviii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 4
A. Tanaman Daun Kelor.....	4
1. Sistematika tanaman	4
2. Nama lain.....	4
3. Morfologi tanaman	4
4. Kandungan daun kelor.....	5
4.1.Saponin	5
4.2.Fenol	5
4.3.Tanin	5
4.4.Alkaloid	5
4.5.Flavonoid	6
5. Khasiat dan kegunaan tanaman	6

B. Simplisia	6
1. Pengertian simplisia.....	6
1.1.Simplisia nabati	7
1.2.Simplisia hewani.....	7
1.3.Simplisia pelika atau mineral	7
2. Perajangan	7
3. Pengeringan simplisia	8
4. Penyimpanan	9
C. Metode penyarian	9
1. Pengertian penyarian	9
2. Ekstraksi	10
2.1.Maserasi.....	10
2.2.Perkolasi	10
2.3.Soxhletasi.....	10
2.4.Refluks	11
2.5.Infudasi	11
3. Pelarut etanol.....	11
D. Hati	11
1. Pengertian Hati.....	11
2. Gambaran histologi hati	13
2.1.Lobulus.....	13
2.2.Parenkim hati	13
2.3.Kabakuli biliaris	13
2.4.Sinusoid hati	13
2.5.Triad portal.....	13
3. Kerusakan hati	13
4. Klasifikasi kerusakan hati	14
4.1.Perlemakan hati	14
4.2.Nekrosis	14
4.3.Kolestatis.....	14
4.4.Sirosis	14
4.5.Hepatitis	15
4.6.Fribosis hati.....	15
E. ALT dan AST	15
F. Hepatotoksik dan Hepatoprotektor	16
1. Hepatotoksik	16
1.1.Hepatotoksisitas Intriksik (tipe A, dapat diprediksi).....	16
1.2.Hepatotoksisitas Intriksik (tipe B, dapat diprediksi).....	16
2. Hepatoprotektor	16
G. Paracetamol	17
1. Farmakodinamik	17
2. Farmakokinetik	17
3. Indikasi	18
4. Efek samping	18
5. Dosis toksik	18
6. Mekanisme kerusakan sel hepar akibat induks pemikiran	19

H. Hewan Percobaan	20
1. Sistematika hewan uji	20
2. Biologi hewan uji	20
3. Jenis kelamin	20
4. Karakteristik hewan uji	21
5. Teknik memegang dan penanganannya	21
6. Pemberian oral	21
7. Pengambilan darah	22
I. Landasan Teori	22
J. Hipotesis	24
K. Kerangka pemikiran	25
BAB III METODE PENELITIAN.....	26
A. Populasi Sampel	26
B. Variabel Penelitian	26
1. Identifikasi variabel utama	26
2. Klasifikasi variabel utama	26
3. Definisi operasional variabel utama	27
C. Alat dan Bahan	28
1. Alat	28
2. Bahan.....	28
2.1. Bahan sampel	28
2.2. Bahan kimia	28
2.3. Hewan uji	28
D. Jalannya Penelitian	29
1. Identifikasi dan deskripsi daun kelor.....	29
2. Identifikasi makroskopis daun kelor	29
3. Pengambilan bahan.....	29
4. Pembuatan serbuk daun kelor	29
5. Penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor	29
6. Pembuatan ekstrak etanol daun kelor.....	30
7. Penetapan kadar lembab daun kelor	30
8. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun kelor ...	30
8.1. Identifikasi saponin	30
8.2. Identifikasi tanin.....	30
8.3. Identifikasi fenol	30
8.4. Identifikasi flavonoid	30
8.5. Identifikasi alkaloid	30
9. Penetapan dosis	31
9.1. Dosis ekstrak daun kelor	31
9.2. Dosis parasetamol	31
9.3. Dosis curcuma®	32
10. Pembuatan sediaan uji	32
10.1. Larutan suspensi parasetamol	32
10.2. Larutan stock	32
10.3. Pembuatan larutan CMC Na 1%	32
10.3. Pembuatan larutan curcuma®	32

11. Perlakuan hewan uji	32
12. Pengambilan darah dan pengumpulan serum	35
13. Penetapan kadar ALT dan AST.....	35
E. Analisa data	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
A. Tanaman Kelor	36
1. Hasil determinasi daun kelor	36
2. Hasil pengambilan daun kelor	36
3. Hasil pembuatan serbuk daun kelor.....	37
4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor	37
5. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% daun kelor.....	37
6. Hasil penetapan kandungan lembab	38
7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor	38
B. Hasil Pembuatan Sediaan Uji	40
1. Dosis pemberian dan perlakuan.....	40
2. Hasil penetapan kadar ALT dan AST.....	40
2.1. Hasil penetapan kadar enzim ALT	40
2.2. Hasil penetapan kadar enzim AST	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
A. Kesimpulan	47
B. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema kerangka pemikiran	25
2. Skema prosedur pengujian hewan uji	34
3. Grafik rata-rata kadar ALT pada T_{awal} dan T_{akhir}	42
4. Grafik persen penurunan kadar ALT	42
5. Grafik rata-rata kadar AST pada T_{awal} dan T_{akhir}	44
6. Grafik persen penurunan kadar AST.....	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Prosedur pengambilan larutan reagen dan serum.....	35
2. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah daun kelor	36
3. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering	37
4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor.....	37
5. Rendemen berat ekstrak terhadap berat serbuk daun kelor.....	38
6. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun kelor	38
7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor	39
8. Hasil rata-rata kadar enzim ALT(U/I).....	41
9. Hasil rata-rata kadar enzim AST(U/I).....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan determinasi tanaman kelor	53
2. Surat keterangan hewan uji	54
3. Surat keterangan reagen ALT	55
4. Surat keterangan reagen AST.....	57
5. Surat keterangan zat aktif parasetamol	59
6. Gambar tanaman kelor, daun kelor basah dan daun kelor kering	60
7. Bahan uji	61
8. Hewan uji tikus putih galur wistar	62
9. Peralatan dan perlengkapan dalam penelitian	63
10. Perlakuan hewan uji dan pengambilan darah	65
11. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor	66
12. Hasil persentase rendemen daun kering terhadap daun basah daun kelor	67
13. Hasil penetapan susut kering serbuk daun kelor	68
14. Hasil persentase rendemen ekstrak maserasi daun kelor	69
15. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun kelor	70

16. Perhitungan dosis	71
17. Hasil penimbangan berat badan tikus dan volume pemberian obat	73
18. Hasil statistik data penetapan kadar ALT	75
19. Hasil statistik data penetapan kadar AST.....	76
20. Hasil analisa statistik kadar enzim ALT pada T_{awal}	77
21. Hasil analisa statistik kadar enzim ALT pada T_{akhir}	83
22. Hasil analisa statistik kadar AUC ALT.....	86
23. Hasil analisa statistik persen penurunan AUC ALT	88
22. Hasil analisa statistik kadar enzim AST pada T_{awal}	90
23. Hasil analisa statistic kadar enzim AST pada T_{akhir}	97
24. Hasil analisa statistik kadar AUC AST	102
23. Hasil analisa statistik persen penurunan AUC AST	99

DAFTAR SINGKATAN

ALT	: <i>Alanin Amino Transferase</i>
AST	: <i>Aspartemen Amino Transferase</i>
Depkes	: Departemen Kesehatan
GSH	: Gugus Sufihidril
NAPQI	: <i>N-asetil- p benzenqinone-imine</i>
ROS	: <i>Radical Oxygen Species</i>
TAS	: <i>Total Antioksidant Status</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamat Piruvat Transaminase</i>

INTISARI

SARI, APRILYA D. K., 2017. EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.) TERHADAP KADAR ALT DAN AST PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI PARASETAMOL., SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun kelor merupakan tanaman tradisional yang diketahui dapat mengobati hati. Daun kelor merupakan tanaman perdu yang telah terbukti dapat melindungi hati pada penelitian yang telah dilakukan oleh Syahrin *et al.* 2016 membuktikan bahwa daun kelor berkhasiat sebagai hepatoprotektor pada hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek hepatoprotektif ekstrak etanol daun kelor pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol dengan parameter ALT dan AST dan untuk mengetahui dosis yang paling efektif ekstrak etanol daun kelor yang dapat memberikan efek hepatoprotektif pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih jantan galur wistar yang dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol normal merupakan kelompok normal yang hanya diberikan makan dan minum secara peroral. Kontrol negatif diberikan CMC Na 1%. Kontrol positif diberikan Curcuma® 3,6 mg/200 kgBB. Kelompok perlakuan I, II, dan III diberikan ekstrak etanol daun kelor dosis berturut-turut 90, 180, 360 mg/kgBB tikus. Semua kelompok perlakuan diberikan parasetamol 1,35 g/kgBB untuk diinduksikan tikus putih jantan galur wistar kecuali kelompok normal.

Hasil yang didapatkan dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak etanol daun kelor yang diberikan secara peroral selama 7 hari dengan diinduksi parasetamol memiliki efek dalam menghambat kenaikan aktivitas kadar ALT dan AST. Dosis ekstrak etanol daun kelor yang paling efektif dalam penelitian ini adalah 360 mg/kgBB.

Kata kunci : Daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.), ALT, AST, Hepatoprotektif

ABSTRACT

SARI, APRILYA D. K., 2017. HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT MORINGA LEAF (*Moringa oleifera* Lamk.) ALT AND AST LEVEL OF PARACETAMOL INDUCED WHITE MALE MICE WISTAR STRAIN, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Moringa leaf is a traditional plant which is known to treat liver disease. Moringa leaf is empirically which has been proven to protect liver is previous experiment by Syahrin *et al.* 2016 has been conducted research to see hepatoprotective effects on the liver. The aimed of this study is to find hepatoprotective effect of ethanol extract moringa leaf paracetamol induced white male mice wistar strain parameter with ALT and AST, and to find the most effective dose of ethanol extract moringa leaf which can provide hepatoprotective effect on white male mice wistar strain which paracetamol induced.

This study were used 30 white male mice wistar strain which divided into 6 group of normal control is normal group which only given feed and drink orally. Negative control was given CMC Na 1%. Positive control was given Curcuma® 3,6mg/200 kgBB. Treatment group I, II, III were given ethanol extract of moringa leaf in respective doses 90, 180, 360 mg/kg BB. All treatment group were given paracetamol 1,35 mg/kgBB to induce white male mice wistar strain except the normal group.

Result obtained from this study were ethanol extract moringa leaf given only orally for 7 day with induced paracetamol the effect by inhibiting the increase ALT and AST. Dose ethanol extract moringa leaf which possess most effective in this study was 360 mg/kgBB.

Keywords: Moringa Leaf (*Moringa oleifera* Lamk.), ALT, AST, Hepatoprotective

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hati adalah organ metabolik terbesar dan terpenting di tubuh. Perannya dalam sistem pencernaan adalah sekresi garam empedu, yang membantu pencernaan dan penyerapan lemak. Kerusakan hati disebabkan oleh beberapa hal diantaranya oleh senyawa kimia, makanan, obat, infeksi virus, bakteri, dan parasit. Beberapa jenis kerusakan hati adalah perlemakan hati, nekrosis hati, kolestatis, sirosis, dan hepatitis (Sherwood 2011).

Salah satu jenis kerusakan hati adalah nekrosis hati. Nekrosis hati adalah kematian hepatosit, nekrosis dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) atau masif, biasanya nekrosis bersifat akut. Nekrosis hati merupakan suatu manifestasi toksis yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis karena hati mempunyai kapasitas pertumbuhan kembali yang luar biasa. Beberapa zat kimia telah dibuktikan menyebabkan nekrosis hati seperti karbon tetraklorida, kloroform, tetrakloroetan, karbon tetrabromida, bromobenzen, isoniazid, iproniazid dan asetaminofen (Lu 1995).

Parasetamol merupakan obat analgesik dan antipiretik yang apabila digunakan pada dosis berlebihan atau dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan efek toksik pada hati. Mekanisme toksisitas parasetamol terjadi akibat diaktifkan oleh enzim sitokrom P450 menjadi metabolit reaktif, yaitu *N-acetyl-p-benzoquinon imine* (NAPQI) yang relative sehingga menekan glutathion hepar kemudian berikatan kovalen dengan protein. Ikatan kovalen ini berhubungan dengan toksisitas parasetamol yang mengakibatkan kerusakan hepar (James et al, 2003).

Dua macam enzim transaminase yang berhubungan dengan kerusakan sel hati adalah GPT (*Glutamat Piruvat Transaminase*) dan GOT (*Glutamat Oksaloasetat Transaminase*). GPT merupakan enzim yang diproduksi oleh hepatosit, jenis sel yang banyak terdapat di organ hati. Kadar SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*) dalam darah akan meningkat seiring dengan

kerusakan pada sel hepatosit yang bisa terjadi karena infeksi virus hepatitis, alkohol, dan obat-obat yang menginduksi terjadinya kerusakan hepatosit. GOT merupakan enzim yang banyak dijumpai pada otot jantung, kemudian sel-sel hati, otot tubuh, ginjal, dan pankreas. Saat sel-sel organ tersebut mengalami kerusakan, maka GOT akan dilepaskan dalam darah. Kadar SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*) dalam darah akan meningkat seiring dengan kerusakan pada sel-sel organ tersebut (Lu, 1995).

Hepatoprotektif adalah senyawa obat yang memiliki efek terapeutik, untuk memulihkan, memelihara, dan mengobati kerusakan dari fungsi hati. Beberapa tanaman obat yang telah diteliti dan diakui bersifat sebagai hepatoprotektif adalah tanaman kunyit, sambiloto, dan temulawak. Ketiga tanaman tersebut diketahui mengandung antioksidan yang sangat tinggi, dimana antioksidan ini sangat diperlukan dalam menangkal radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab kerusakan hati (Armansyah 2010).

Salah satu jenis tanaman obat tradisional yang banyak tumbuh dan dimanfaatkan di Indonesia adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). Kelor memiliki zat-zat yang terkandung didalamnya antara lain saponin, tanin, fenol, alkaloid dan flavonoid (Rahmawati 2014). Senyawa fenol memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antikoagulan, antioksidan, serta peningkat sistem imun (Arukwe *et al.* 2012). Aktivitas farmakologi dari senyawa flavonoid adalah sebagai antialergi, antiviral, antiinflamasi, hepatoprotektif, antioksidan, antitrombotik, vasodilator dan antikarsinogenik (Seyoum *et al.* 2006). Pada hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Rahmawati 2014) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak sari segar daun kelor dengan pelarut aquadest dosis 0,036 g/kgBB selama 7 hari memberikan efek proteksi lebih baik pada hepar tikus yang terinduksi parasetamol daripada perbandingan pemberian kombinasi ekstrak sari segar daun kelor dan buah tomat, sedangkan pada penelitian ini pemberian ekstrak daun kelor menggunakan pelarut etanol pada tikus jantan galur wistar yang terinduksi parasetamol.

Berdasarkan penelitian Hasanah *et al.* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki aktivitas antioksidan berupa vitamin E yang memiliki IC₅₀

4,91 ppm yang termasuk dalam aktivitas antioksidan yang kuat. Adanya aktivitas antioksidan dari daun kelor diharapkan dapat menghambat terjadinya oksidasi dari parasetamol. Maka dari itu, penulis ingin meneliti tentang efek hepatoprotektif ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol dengan parameter ALT dan AST.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dengan dosis 90, 180 dan 360 mg/kg BB dapat memberikan efek hepatoprotektif pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi dengan parasetamol dengan parameter ALT dan AST?
2. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang dapat memberikan efek hepatoprotektif terhadap kerusakan sel hepar pada tikus yang diinduksi parasetamol?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efek hepatoprotektif ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dengan dosis 90, 180, dan 360 mg/kg BB pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol dengan parameter ALT dan AST.
2. Untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang dapat memberikan efek hepatoprotektif pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan menambah ilmu pengetahuan masyarakat khususnya bagi pengembangan daun kelor sebagai obat alternatif dan memberikan informasi yang bermanfaat bagi masyarakat khususnya bagi pengembangan daun kelor sebagai hepatoprotektif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.)

1. Sistematika tanaman

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, tanaman kelor dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Super Divisi	: Angiospermae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Brassicales
Famili	: Moringaceae
Genus	: <i>Moringa</i>
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lamk. (Rahmawati 2014)

2. Nama lain

Tanaman *Moringa oleifera* Lamk umumnya di Indonesia dikenal dengan nama Kelor. Selain itu, di beberapa daerah dikenal juga dengan nama Kelor (Jawa Tengah, Sunda, Bali, Melayu), Murong (Aceh), Munggal (Minangkabau), Kilor (Lampung), Marongghi (Madura), Parongge (Bima), Karowana (Sumba), Kirol (Bur), Kelo (Ternate dan Tidore) (Depkes 2001).

3. Morfologi tanaman

Kelor merupakan tumbuhan yang memiliki tinggi ± 8 m, memiliki batang berkayu, bulat, bercabang, berbintik hitam, putih kotor, daun majemuk panjang 20-60 cm, anak daun bulat telur, tepi rata, ujung berlekuk, menyirip ganjil, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, letak di ketiak daun, panjang 10-30 cm, daun kelopak hijau, benang sari dan putik kecil, mahkota putih. Buah berbentuk

panjang, panjang 20-45 cm, berisi 15-25 biji, coklat kehitaman. Biji bulat, bersayap tiga, hitam. Akar tunggang, putih kotor (Anonim 2001).

4. Kandungan daun kelor

Secara umum tumbuh-tumbuhan dalam famili yang sama mengandung zat-zat yang daya kerja dan rumus bangun kimianya sama, tetapi ada pula perkecualiannya. Akar, daun dan kulit batang kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) mengandung saponin dan fenol, selain itu kelor juga mengandung tannin, alkaloid dan flavonoid (Depkes 2001).

4.1. Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada saat konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Pada beberapa tahun terakhir ini saponin tertentu menjadi sangat penting karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan (Robinson 1995). Saponin tidak larut dalam pelarut nonpolar, paling cocok diekstraksi memakai etanol atau metanol panas 70-96% kemudian lipid dan pigmen disingkirkan dari ekstrak dengan memakai benzen (Harbone 1987).

4.2. Fenol. Fenol merupakan salah satu dari sekian banyak zat yang terkandung dalam tanaman. Biasanya terjadi diwaktu ekstraksi. Fenol bersifat larut dalam alkohol, cairan basa dan tidak larut dalam air. Zat ini tidak terdapat dalam jaringan tumbuhan yang hidup tetapi terbentuk pada waktu jaringan tersebut mati atau pengaruh udara dan kelembaban (Anonim 2000).

4.3. Tanin. Tanin merupakan sejenis kandungan tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin terhidrolisis biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam air (terutama air panas) membentuk larutan koloid bukan larutan sebenarnya. Makin murni tanin makin kurang kelarutannya dalam air dan makin mudah diperoleh dalam bentuk kristal (Robinson 1995).

4.4. Alkaloid. Alkaloid adalah senyawa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dengan sistem siklik. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung 1 atau lebih atom nitrogen, biasanya

dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid terdapat dalam tumbuhan suku Angiospermae (Harborne 1987).

4.5. Flavonoid. Flavonoid merupakan suatu golongan metabolit sekunder yang terdapat pada semua bagian tumbuhan seperti daun, akar, kayu, buah, dan biji. Flavonoid mudah mengalami peruraian karena panas, kerja enzim, adanya air dan pH. Flavonoid larut dalam air, methanol, etanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan dimetilformamid (Noviyati 2016).

5. Khasiat dan Kegunaan tanaman

Kelor pada masyarakat pada umumnya sering digunakan sebagai pagar karena kelor dapat berkembang biak dengan baik di daerah yang memiliki ketinggian tanah 300-500 m dpl. Kelor juga pada umumnya digunakan sebagai sayur dan obat, salah satunya adalah sebagai hepatoprotektif (Seafast 2012). Berbagai penelitian yang menunjukkan daun dan bunga kelor dalam menjaga kesehatan hati hepatoprotektif (Kumar *et al.* 2004).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rahmawati (2014) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak sari segar daun kelor dosis 0,036 g/kgBB selama 7 hari memberikan efek proteksi lebih baik pada hepar tikus yang terinduksi parasetamol daripada perbandingan pemberian kombinasi ekstrak dan kelor dan buah tomat.

Syahrin *et al.* (2016) juga melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis 100 mg/hari selama 5 hari mempunyai efek hepatoprotektif pada tikus yang terinduksi karbon tetraklorida (CCl₄). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Suryaningrum (2012) menunjukkan bahwa pemberian daun kelor selama 28 hari dapat memberikan efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hepar akibat obat isoniazid pada tikus wistar.

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan baku alami yang digunakan untuk membuat ramuan obat tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun terkecuali

proses pengeringan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Anonim 1985).

Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahap yaitu mulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, dan penyimpanan (Gunawan dan Mulyani 2004).

Mutu simplisia dipengaruhi oleh derajat kematangan dan juga dipengaruhi oleh keragaman derajat kematangan. Derajat kematangan bukan sekedar mempengaruhi mutu, tetapi membawa konsekuensi terhadap biaya dan tenaga pada waktu pembersihan dan sortasi sehingga ketidak seragaman tingkat kematangan dapat menurunkan rendemen yang diperoleh. Berdasarkan hal tersebut simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu berupa simplisia nabati, hewani, dan pelikan atau mineral.

1.1 Simplisia nabati. Simplisia nabati adalah yang berupa tanaman utuh, pada bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lainnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Depkes, 1995).

1.2 Simplisia hewani. Simplisia hewani adalah simplisis yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Depkes, 1995). Misalnya adalah minyak ikan (*Oleum iecoris asseli*) dan madu (*Mel depuratum*) (Gunawan dan Mulyani, 2004).

1.3 Simplisia pelikan atau mineral. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes, 1995). Misalnya adalah serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan & Mulyani, 2004).

2. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan, perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, atau

alat mesin perarajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Depkes, 1986). Tujuan dari perajangan adalah untuk memperluas permukaan bahan baku karena semakin luas permukaan maka bahan baku akan cepat kering (Gunawan & Mulyani, 2004).

3. Pengeringan simplisia

Pengeringan adalah untuk menghilangkan cairan dari bahan menggunakan panas dan dilakukan dengan pemindahan cairan dari permukaan kedalam fase uap yang belum jenuh. Sisa air yang terdapat didalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Simplisia dinilai cukup aman bila kadar air kurang dari 10% (Anonim 1985).

Cara pengeringan simplisia dilakukan menggunakan sinar matahari atau menggunakan alat pengering. Hal – hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Dalam proses pengeringan hal tersebut harus diperhatikan sehingga diperoleh hasil simplisia yang kering dan tidak mudah mengalami kerusakan saat penyimpanan. Suhu yang digunakan untuk pengeringan simplisia dalah 30° C sampai 90° C, akan tetapi suhu yang paling baik adalah tidak melebihi 60° C (Anonim 1985).

Tujuan dilakukan pengeringan bahan tanaman adalah untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh cendawan atau bakteri, agar bahan tahan lebih lama (Wijayakusuma dan Dalimartha 1995), disamping itu juga memudahkan pada proses selanjutnya (ringkas dan mudah disimpan). Proses pengeringan adalah faktor penting untuk simplisia karena kadar air yang cukup tinggi dapat menyebabkan tumbuhnya jamur, bahkan zat berkhasiat yang terkandung dapat menurun akibat terjadinya proses metabolisme dalam simplisia karena aktivitas enzim (Mursito 2002). Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembapan udara, ketebalan bahan yang dikeringkan, sirkulasi udara, dan luas permukaan bahan (Anonim, 1985). Simplisia yang berupa rimpang dikeringkan dengan cara rimpang dirajang dan dijemur di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam

untuk menghindari penguapan terlalu cepat yang menurunkan mutu minyak atisiri dalam bahan (Anonim, 1985).

4. Penyimpanan

Proses penyimpanan simplisia perlu diperhatikan beberapa hal, seperti cara pengepakan, pembungkusan, dan pewadahan, persyaratan tempat gudang simplisia, cara sortasi, cara pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya. Penyebab utama kerusakan dari simplisia adalah air dan kelembaban. Kadar air simplisia yang disimpan perlu diperhatikan dan dijaga. Karena apabila kadar air pada simplisia tinggi akan mengakibatkan tumbuhnya kapang atau mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan perubahan kimia pada senyawa aktif dan menurunkan mutu simplisia tersebut (Depkes, 1985).

C. Metode Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Sistem penyarian yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya bagi unsur yang tidak diinginkan. Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infudasi, meserasi, perkolasi dan penyarian berkesinambungan (Depkes 1985).

Cairan penyari yang dipilih harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria-kriteria: murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, dan selektif, yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986). Etanol dapat dipilih sebagai cairan penyari karena mempunyai sifat mampu mengekstraksi senyawa polar maupun nonpolar, tidak toksik, tidak ditumbuhi mikroba serta mudah diuapkan. Keuntungan lainnya adalah sifatnya mengendapkan bahan putih telur dan menghambat kerja enzim serta menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotornya sebagian kecil larut dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1994).

2. Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan kering, kental, cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Anief 2000). Ekstrak berdasarkan konsistensinya dibedakan menjadi tiga, yaitu ekstrak cair, ekstrak kental, ekstrak kering. Ekstrak cair merupakan sediaan cair hasil dari penyarian simplisia. Ekstrak kental merupakan sediaan kental yang dibuat dari simplisia kemudian diuapkan pelarutnya. Ekstrak kering merupakan sediaan yang berbentuk bubuk yang dibuat dari hasil tarikan simplisia yang diuapkan dengan pelarut hingga kering (Voigt 1994).

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

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

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

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

2.5. Infudasi. Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati (Depkes 1986). Infundasi adalah proses penyarian menggunakan pelarut air dan dilakukan pada suhu air mendidih (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes 2000).

3. Pelarut etanol

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

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

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

D. Hati

1. Pengertian Hati

Hati merupakan kelenjar tubuh yang paling besar, beratnya antara 1000-1500 gram, kurang lebih 25% berat badan orang dewasa dan merupakan organ pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang kompleks dan rumit. Hati terdiri dari dua lobus utama, kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi menjadi segmen interior dan posterior. Lobus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamentum

falsiformis yang dapat dilihat dari luar (Noer 1996). Hati adalah organ terbesar dalam tubuh, merupakan organ lunak lentur yang tercetak oleh struktur disekitarnya. Hati terletak di bawah kubah kanan diafragma dan sebagian kubah kiri. Bagian bawah hati terbentuk cekung dan merupakan atap dari ginjal kanan, lambung, pancreas dan usus. Hati memiliki lobus utama yaitu kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi menjadi segmen anterior dan posterior oleh fisura segmentalis kanan yang tidak terlihat dari luar. Lobus kiri terbagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamentum falsiformis yang terlihat dari luar (Price dan Wilson 2006).

Hati merupakan salah satu organ tubuh yang bertugas mengelola berbagai fungsi vital dalam tubuh diantaranya sebagai pelindung infeksi dengan membuang bakteri dan bahan beracun dari darah, kolesterol, hormone, enzim-enzim, sebagai pintu masuknya obat ke dalam jaringan dan sebagai tempat metabolisme. Hati rentan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh toksikan yang tertelan setelah diabsorpsi dari saluran cerna. Toksik dalam konsentrasi besar akan masuk ke hati melalui vena porta sehingga secara teoritis hati rentan terhadap efek samping obat tetapi hanya 9,5% dari kasus reaksi obat yang merugikan organ ini (Donatus 2000).

Hati mudah rusak oleh bagian-bagian toksik yang diserap. Hati penting untuk mempertahankan kadar gula darah. Sel mengambil gula darah dan menyimpannya sebagai glikogen, juga dibentuk dari bahan lain seperti asam laktat dan asam piruvat. Hati penting dalam metabolisme lipid, karena lipid diangkat di dalam darah sebagai lipoprotein dan lipoprotein ini dibentuk di dalam hati. Hati juga menyimpan vitamin A dan B dan heparin (dihasilkan dari sel mast). Hati mengekskresi garam empedu ke dalam system biliaris dan fibrinogen (faktor anti anemia) dan albumin plasma ke dalam darah. Hati juga mensintesis kolesterol, mengeluarkan pigmen empedu dari uraian hemoglobin sel darah merah yang rusak dan menghasilkan urea (hasil samping metabolit protein). Hati dapat menawarkan berbagai bahan toksik dalam peredaran darah (Lesson 1996).

2. Gambaran Histologi Hati

Secara histologi menurut Lesson (1996) hati terdiri atas:

2.1. Lobulus. Lobulus-lobulus merupakan satu unit fungsional. Pembagian lobulus hati zona satu, zona aktif sel-sel yang paling dekat dengan pembuluh darah, akibat zona ini yang pertama kali dipengaruhi oleh perubahan darah yang masuk. Zona dua, zona intermedia sel-selnya memberi respon kedua terhadap darah zona tiga, zona pasif aktifitas sel-selnya rendah dan tampak aktif apabila kebutuhan meningkat.

2.2. Parenkim hati. parenkim hati merupakan sel hati yang berbentuk polygonal dengan enam atau lebih permukaan, berukuran 20-35 μ m dan mempunyai membran sel yang jelas. Inti bulat atau lonjong dengan permukaan teratur dan besarnya bervariasi dengan satu lebih anak inti.

2.3. Kanakuli biliaris. Kanakuli biliaris berbentuk jala-jala tiga dimensi diantara sel-sel hati yang secara bertahap diganti dengan sel kecil jernih dengan inti gelap dan organel-organel tidak sempurna. Sel-sel ini disebut sel-sel dustus.

2.4. Sinusoid hati. Sinusoid hati merupakan celah yang terdapat diantara sel-sel hati yang terdiri atas sel-sel endotel bertingkat membentuk lapisan tidak utuh. Sel endotel dipisahkan dengan hepatosit oleh celah-celah subendotel yang disebut spatium disse.

2.5. Triad portal. Triad portal merupakan tempat bertemunya tiga atau lebih unit lobulus. Triad portal mengandung cabang dari vena porta, arteri hepatica dan ductus biliaris.

3. Kerusakan hati

Kerusakan hati dapat disebabkan oleh adanya toksikan di dalam organel sel hati. Hati sering menjadi organ sasaran, akibatnya dapat terjadi kematian sel (Lu, 1995). Mekanisme kematian sel hati meliputi apoptosis dan nekrosis. Apoptosis adalah proses fisiologis yang terjadi apabila sel rusak atau sel yang sudah tua, sedangkan nekrosis merupakan kematian sel yang patologis dengan penyebab utama kegagalan sintesis ATP oleh mitokondria. Sel yang mengalami nekrosis dapat dilihat dari perubahan intinya yaitu adanya piknotik. Kematian sel atau nekrosis sel biasanya ditandai dengan adanya inti piknotik ini dengan ciri, inti sel

yang matai itu menyusut, batasnya tidak teratur, dan berwarna gelap. Proses ini dinamakan piknosis, sedangkan intinya disebut inti piknotik (Pamungkas, 2008).

4. Klasifikasi kerusakan hati

4.1. Perlemakan hati. perlemakan hati terjadi bila penimbunan lemak melebihi 5% dari berat atau mengenai lebih dari separuh jaringan hati. perlemakan hati sering berpotensi sebagai penyebab kerusakan hati dan sirosis hati. Mekanisme yang paling umum mendasari perlemakan hati adalah rusaknya pelepasan trigliserid hati ke plasma karena trigliserid hati hanya diekskresikan bila dalam keadaan tergabung dengan lipoprotein (Lu 1995).

4.2. Nekrosis. Nekrosis adalah kematian hepatosit, nekrosis dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Beberapa zat kimia telah dibuktikan atau dilaporkan menyebabkan nekrosis hati seperti karbon tetraklorida, kloroform, tetrakloroetan, karbon tetrabromida, bromobenzen, isoniazid, iproniazid dan asetaminofen (Lu 1995).

4.3. Kolestatis. Kolestatis merupakan keadaan akibat kegagalan memproduksi atau mengeluarkan empedu. Lamanya menderita kolestatis dapat menyebabkan gagalnya penyerapan lemak dan vitamin A, D, E, K oleh usus juga adanya penumpukan asam empedu bilirubin dan kolesterol dihati (Cotran *et al.* 2007).

4.4. Sirosis. Sirosis adalah penyakit hati kronis yang bercirikan dengan distorsi arsitektur hati yang normal oleh lembar-lembar jaringan ikat dan nodul-nodul regenerasi sel hati yang tidak berikatan dengan vaskulator normal. Nodul-nodul regenerasi ini dapat berukuran kecil atau besar. Sirosis dapat mengganggu sirkulasi darah intra hepatica dan pada kasus lanjut menyebabkan kegagalan fungsi hati secara bertahap (Prince & Wilson 2006). Sirosis berasal dari nekrosis sel tunggal karena kurangnya mekanisme perbaikan sehingga menyebabkan aktifitas fibroblastic dan pembentukan jaringan parut. Sirosis terjadi dihati sebagai respon cedera sel secara berulang dan reaksi peradangan yang ditimbulkan. Penyebab dari sirosis antara lain infeksi misalnya hepatitis, obstruksi saluran empedu dan cedera hepatosit akibat toksin (Corwin 2009).

4.5. Hepatitis. Hepatitis merupakan peradangan hati yang disebabkan oleh infeksi atau oleh toksin misalnya alkohol yang dijumpai pada kanker hati. Gejala dan tanda masing-masing jenis hepatitis serupa, namun cara penularan dan hasil akhirnya mungkin berbeda (Corwin 2009).

4.6. Fribosis hati. Fibrosis hati adalah keadaan aptologis yang terjadi pada proses perbaikan lesi penyakit hati kronik oleh berbagai sebab, ditandai dengan produksi berlebih dan penumpukan matriks seluler jaringan hati. kelainan ini terjadi kerusakan arsitektur hati, gangguan fungsi hati dan pembentukan nodul regenerasi (Prince & Wilson 2006).

E. ALT dan AST

Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hati. SGOT atau AST adalah enzim sitosolik, sedangkan SGPT atau ALT adalah enzim mikrosomal. Kenaikan enzim-enzim tersebut meliputi kerusakan sel-sel hati karena virus, obat-obatan atau toksin yang menyebabkan hepatitis, karsinoma metastatik, kegagalan jantung dan penyakit hati granulomatus dan yang disebabkan oleh alkohol. Kenaikan kembali atau bertahannya nilai transaminase yang tinggi biasanya menunjukkan berkembangnya kelainan dan nekrosis hati. Maka perlu pemeriksaan secara serial untuk mengevaluasi perjalanan penyakit hati (Noer 1996).

Dua macam enzim transaminase yang berhubungan dengan kerusakan sel hati adalah GPT (*Glutamat Piruvat Transaminase*) dan GOT (*Glutamat Oksaloasetat Transaminase*). GPT merupakan enzim yang diproduksi oleh hepatosit, jenis sel yang banyak terdapat di organ hati. Kadar SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*) dalam darah akan meningkat seiring dengan kerusakan pada sel hepatosit yang bisa terjadi karena infeksi virus hepatitis, alkohol, obat-obat yang menginduksi terjadinya kerusakan hepatosit, dan sebab lain seperti adanya shok atau keracunan obat. GOT merupakan enzim yang banyak dijumpai pada organ jantung, hati, otot rangka, pankreas, paru-paru, sel darah merah dan sel otak. Saat sel-sel organ tersebut mengalami kerusakan, maka GOT akan dilepaskan dalam darah. Kadar SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat*

Transaminase) dalam darah akan meningkat seiring dengan kerusakan pada sel-sel organ tersebut. Pengukuran konsentrasi enzim di dalam darah dengan uji SGPT dan SGOT dapat memberikan informasi penting mengenai tingkat gangguan fungsi hati (Lu 1995). Pada tikus kadar normal ALT berkisar 24-53 U/L, sedangkan kadar normal AST pada tikus berkisar 30,2-45,7 U/L (Pujiyati 2016).

F. Hepatotoksik dan Hepatoprotektor

1. Hepatotoksik

Hepatotoksik yaitu suatu zat yang mempunyai efek toksik pada hati dengan dosis berlebih atau alam jangka waktu lama. Hepatotoksik dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu hepatotoksik intrinsik dan hepatotoksik idiosinkratik (Aslam *et al.* 2003)

1.1. Hepatotoksisitas Intrinsik (tipe A, dapat diprediksi).

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

1.2. Hepatotoksisitas Idiosinkratik (tipe B, tidak dapat diprediksi).

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

2. Hepatoprotektor

Hepatoprotektif adalah istilah terhadap hati, sedangkan hepatoprotektor adalah senyawa obat yang memiliki efek terapeutik, untuk memulihkan, memelihara, dan mengobati kerusakan hati (Armansyah 2010).

Hepatoprotektor alami bisa menghindari efek samping yang berasal dari obat-obatan yang bersifat toksik di dalam tubuh. Sekitar 600 sediaan obat herbal dengan aktivitas hepatoprotektor secara komersial telah diperjual belikan di seluruh dunia. Sebanyak 170 unsur fitokimia yang diisolasi dari 110 tumbuhan yang termasuk dalam 55 famili dilaporkan memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor (Girish *et al.* 2009). Beberapa tanaman obat yang telah diteliti dan diakui bersifat hepatoprotektor adalah tanaman kunyit, sambiloto, dan temulawak. Ketiga tanaman tersebut diketahui mengandung antioksidan yang sangat tinggi, dimana antioksidan ini sangat diperlukan dalam menangkal radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab kerusakan hati (Armansyah 2010).

G. Parasetamol

Asetaminofen merupakan metabolit aktif fenasetin dan bertanggung jawab atas analgesiknya. Obat ini adalah penghambat COX-1 dan COX-2 yang lemah pada jaringan perifer dan tidak memiliki efek antiinflamasi yang bermakna (Katzung 2010). Asetaminofen di Indonesia lebih dikenal dengan nama parasetamol, dan tersedia sebagai obat bebas. Walau demikian, laporan kerusakan fatal hepar akibat takar lajak akut perlu diperhatikan (Gunawan 2009).

1. Farmakodinamik

Efek analgesik parasetamol serupa dengan salisilat yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Parasetamol menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga juga berdasarkan efek sentral seperti salisilat. Efek anti-inflamasinya sangat lemah, oleh karena itu parasetamol tidak digunakan sebagai antireumatik. Parasetamol merupakan penghambat PG yang lemah. Efek iritasi, erosi dan pendarahan lambung tidak terlihat, demikian juga gangguan pernafasan dan keseimbangan asam basa (Gunawan 2009).

2. Farmakokinetik

Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Konsentrasi tertinggi dari plasma dicapai dalam waktu $\frac{1}{2}$ jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam. Obat ini tersebar ke seluruh cairan tubuh. Dalam plasma, 25 % parasetamol terikat protein plasma. Parasetamol dimetabolisme oleh enzim

mikrosom hati. Sebagian parasetamol (80%) dikonjugasi dengan asam glukoronat dan sebagian kecil lainnya dengan asam sulfat. Obat ini diekskresi melalui ginjal, sebagian kecil sebagai parasetamol (3%) dan sebagian besar dalam bentuk terkonjugasi (Gunawan 2009).

3. Indikasi

Khasiat analgetik dan antipiretik, tetapi tidak antiradang. Efek analgetisnya diperkuat oleh kodein dan kafein (Tjay dan Raharja, 2002). Obat ini berguna untuk nyeri ringan sampai sedang seperti sakit kepala, myalgia, nyeri persalinan, dan keadaan lain dimana aspirin efektif sebagai analgesik. Parasetamol tidak efektif untuk mengatasi inflamasi seperti artritis reumotoid, meskipun dapat dipakai sebagai obat tambahan analgetik dalam terapi antiinflamasi. Parasetamol lebih disukai daripada aspirin pada pasien dengan hemophilia atau dengan riwayat ulkus peptikum dan juga pada mereka yang mengalami bronkospasme yang dipicu akibat aspirin (Katzung, 2002).

4. Efek Samping

Efek samping yang sering terjadi antara lain reaksi hipersensitivitas dan kelainan darah (Tjay dan Raharja, 2002). Efek merugikan paling serius akibat overdosis asetaminofen akut berupa nekrosis hati yang fatal. Hepatotoksitas dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15gram (200-250 mg/kg BB) parasetamol. Selain itu over dosis dapat menimbulkan antara lain mual, muntah dan anoreksia.

5. Dosis Toksik

Toksitas akut akibat dosis toksik yang paling serius adalah nekrosis hati, nekrosis tubulus renalis serta hipoglikemik dapat juga terjadi. Hepatotoksik dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15gram (200-250 mg/kg BB) parasetamol. Gejala pada hari pertama keracunan akut parasetamol belum mencerminkan bahaya yang mengancam. Anoreksia, mual dan muntah serta sakit perut terjadi dalam waktu 24 jam pertama dan dapat berlangsung selama seminggu atau lebih. Gangguan hepar dapat terjadi pada hari kedua, dengan gejala peningkatan aktivitas serum transaminase, laktat dehidrogenase kadar bilirubin serum serta pemanjangan masa protrombin. Kerusakan hati dapat meningkatkan

ensefalopati, koma dan kematian. Kerusakan hati yang tidak berat pulih dalam beberapa minggu sampai beberapa bulan (Gan 2007).

6. Mekanisme Kerusakan Sel Hepar Akibat Induksi Parasetamol

Hepatotoksisitas tidak terjadi sebagai akibat langsung dari parasetamol, tetapi melalui metabolitnya, yaitu N-acetyl-p-benzoquinone-imine (NAPQI). Parasetamol dimetabolisme oleh konjugasi dengan glukoronat dan sulfat. Sebagian kecil dioksidasi menjadi NAPQI oleh aktivitas sitokrom P450. NAPQI didetoksifikasi oleh glutathione (GSH) yang kemudian membentuk konjugasi parasetamol-GSH. Ketika terjadi dosis toksis parasetamol, glutathione hepar total menurun hingga 90%. Akibatnya metabolit parasetamol tersebut berikatan kovalen dengan sistein. Ikatan metabolit antar metabolit parasetamol dan protein menyebabkan sel kehilangan fungsi atau aktivitasnya bahkan terjadi kematian sel dan lisis. Target organel sel utamanya adalah mitokondria yang berperan dalam produksi energi serta kontrol ion selular, sehingga terjadi transisi permeabilitas mitokondria. Akibatnya adalah penurunan Adenosine Triphosphate (ATP), peningkatan Ca^{2+} yang bersifat oksidan, aktivitas protease dan endonuklease, serta kerusakan rantai DNA (James *et al.*, 2003).

Aktivitas sitokrom P450 serta transisi permeabilitas mitokondria menyebabkan terbentuknya superoksida, suatu *Radical Oxygen Species* (ROS). Pembentukan superoksida yang meningkat menyebabkan reaksi hidrogen peroksida dan peroksidasi melalui mekanisme tipe Fenton. Pada dosis toksik parasetamol terjadi pembentukan NAPQI yang berlebihan, sementara konsentrasi glutathione di sel sentrilobular sangatlah rendah, sehingga glutathione peroksidase terhambat dan terjadi deplesi glutathione. Terjadinya deplesi glutathione maka NAPQI akan berikatan dengan ikatan kovalen pada makromolekul hepar yang memacu terjadinya kerusakan makromolekul sehingga terjadi kerusakan sel hepar dan menyebabkan terjadinya nekrosis sel hepar.

Kandungan utama daun kelor yang berperan dalam mencegah kerusakan hati akibat pemberian parasetamol dosis toksik adalah antioksidan. Senyawa kimia utama yang tergolong dalam antioksidan dan dapat ditemukan pada daun kelor adalah flavonoid dan fenol. Antioksidan tersebut mampu memberikan

elektron pada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya stress oksidatif. Di dalam tubuh, antioksidan meningkatkan *Total Antioxidant Status (TAS)*, yang menunjukkan peningkatan kapasitas dan aktivitas total antioksidan dalam tubuh yang menghambat kerusakan sel hepar yang memacu terjadinya nekrosis sel hepar.

H. Hewan Percobaan

1. Sistematika hewan uji

Taksonomi hewan percobaan tikus putih dalam penelitian ini memiliki sistematika sebagai berikut (Sugiyanto 1995):

Kelas	: Mamalia
Sub kelas	: Placentalia
Filium	: Chordata
Sub filium	: Vertebrata
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: Rattus
Jenis	: <i>Rattus norvergus</i>

2. Biologi hewan uji

Lama hidup tikus jantan dan betina yaitu antara 2-3 tahun, dapat hidup sampai 4 tahun. Pada umur 35-40 hari tikus jantan dan betina dapat dikatakan dewasa. Berat tikus jantan dewasa antara 300 – 400gram dan tikus betina dewasa 200-250 gram. Aktivitas tikus biasanya dilakukan pada malam hari. Pada umumnya tikus mulai kawin pada umur 8-9 minggu tetapi biasanya lebih baik jika tikus dikawinkan sebelum umur 10-12 minggu (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

3. Jenis Kelamin

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

4. Karakteristik hewan uji

Hewan yang digunakan sebagai percobaan dalam analisis ini adalah tikus (*Rottus norvergicus*). Tikus putih merupakan hewan yang cerdas dan relatif resisten terhadap infeksi, umumnya mudah ditangani, tidak begitu bersifat fotofobia seperti halnya mencit dan kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Meskipun mudah ditangani, kadang tikus menjadi agresif terutama saat diperlakukan kasar atau mengalami defisiensi nutrisi (Sugiyanto 1995). Tikus lebih besar daripada mencit, maka untuk beberapa percobaan, tikus lebih menguntungkan. Keuntungan lain adalah tikus merupakan binatang menyusui, banyak gen tikus yang relatif mirip dengan manusia, kemampuan berkembang biak tikus sangat tinggi, cocok untuk digunakan dalam eksperimen. Tipe bentuk badan tikus kecil, mudah dipelihara dan obat yang dioleskan dibadannya akan relatif cepat termanifestasi.

5. Teknik memegang dan penanganannya

Tikus ditempatkan di kandang dengan cara membuka kandang, mengangkat tikus dengan tangan kanan dan meletakkan diatas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakkan di punggung tikus. Kepala tikus diselipkan diantara ibu jari dan jari tengah, jari manis dan kelingking disekitar perut tikus sehingga kaki depan kiri dan kanan terselip diantara jari-jari. Tikus juga dapat dipegang dengan cara menjepit kulit pada tengkuknya (Harmita & Maksum 2005).

6. Pemberian oral

Pemberian obat per oral merupakan pemberian oral paling umum dilakukan karena relative mudah dan praktis serta murah. Kerugiannya ialah banyak faktor dapat mempengaruhi bioavaibilitas (faktor obat, faktor penderita,

interaksi dalam absorpsi di saluran cerna). Intinya absorpsi dari obat mempunyai sifat-sifat tersendiri. Beberapa diantaranya dapat diabsorpsi dengan baik pada suatu cara penggunaan, sedangkan yang lainnya tidak (Ansel 1989).

7. Pengambilan darah

Jika volume darah yang dibutuhkan hanya sedikit dapat dilakukan pengambilan darah dengan memotong ujung ekor, namun cara ini tidak baik untuk pengambilan berulang. Untuk mendapatkan volume darah yang cukup banyak dapat diperoleh melalui sinus orbitalis tetapi cara ini memerlukan keterampilan khusus karena harus tepat pengambilan darahnya agar tidak mengakibatkan kebutaan dan pengambilan darah menggunakan pipa kapiler (Sugianto 1995).

I. Landasan Teori

Hati merupakan salah satu organ yang sangat penting perannya dalam mengatur metabolisme tubuh, yaitu dalam proses anabolisme atau sintesis bahan-bahan yang penting untuk kehidupan manusia seperti sintesis protein dan pembentukan glukosa sedangkan dalam proses katabolisme dengan melakukan detoksifikasi bahan-bahan seperti ammonia, berbagai jenis hormon dan obat-obatan. Disamping itu hati juga berperan sebagai gudang penyimpanan bahan-bahan seperti glikogen dan beberapa vitamin, dan memelihara aliran normal darah splanknikus. Oleh karena itu apabila terjadi kerusakan sel-sel parenkim hati akut maupun kronik yang berat, fungsi-fungsi tersebut akan mengalami gangguan atau kekacauan (Noer 1996).

Hepatotoksik dalam penelitian ini menggunakan parasetamol dosis tunggal 10-15 gram parasetamol (Gunawan 2009). Dosis toksik yang akan dipakai pada penelitian ini adalah 15 gram/70 kg BB manusia. Berdasarkan penelitian Rini *et al.* 2012 tentang nefroprotektor, induksi parasetamol menggunakan dosis toksik 1,35 g/kg BB tikus. Menurut Hartono *et al.* 2005 tentang hepatoprotektif, induksi parasetamol dosis toksik 1,35 g/kg BB tikus mampu memberikan efek kerusakan

pada hepar tikus putih. Parasetamol adalah salah satu obat yang dapat menyebabkan kerusakan hati. Apabila parasetamol dikonsumsi dalam dosis berlebih maka sisa produk parasetamol akan teroksidasi menjadi *N-asetil-p-benzenquinone-imine* (NAPQI) suatu senyawa yang toksik dan reaktif. Senyawa radikal ini berikatan dengan gugus sulfhidril dari glutathione (GSH) pada protein membran menyebabkan nekrosis sel dan peroksidasi lipid akibat penurunan glutathione (GSH) dalam hati sebagai penyebab hepatotoksitas (Murungesh *et al.* 2005).

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar ALT dan AST. Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hati. AST adalah enzim sitosolik, sedangkan ALT adalah enzim mikrosomal. Kenaikan enzim-enzim tersebut meliputi kerusakan sel-sel hati karena virus, obat-obatan atau toksin yang menyebabkan hepatitis, karsinoma metastatik, kegagalan jantung dan penyakit hati granulomatous, adanya shock atau keracunan obat dan yang disebabkan oleh alkohol (Noer 1996).

Berdasarkan penelitian, zat-zat yang terkandung didalam daun kelor adalah saponin, tanin, fenol, flavonoid dan alkaloid (Mustofa 2003). Berdasarkan penelitian yang menunjukkan daun bunga kelor dalam menjaga kesehatan hati (hepatoprotektif) (Kumar *et al.* 2004). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh (Rahmawati 2014) daun kelor mempunyai efek hepatoprotektif yang ditunjukkan pada pemberian ekstrak sari segar daun kelor selama 7 hari memberikan efek proteksi lebih baik pada tikus terinduksi parasetamol. Menurut penelitian yang dilakukan Syahrin *et al.* (2016) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor selama 5 hari mempunyai efek hepatoprotektif pada tikus yang terinduksi karbon tetraklorida (CCl₄). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh (Suryaningrum 2012) menunjukan bahwa pemberian daun kelor selama 28 hari dapat memberikan efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hepar akibat obat isoniazid pada tikus wistar.

Berdasarkan kandungan kimia yang terkandung dalam daun kelor, didapatkan kegunaan daun kelor sebagai hepatoprotektif. Adanya aktivitas antioksidan dari daun kelor diharapkan dapat menghambat terjadinya oksidasi dari parasetamol.

Antioksidan ini sangat diperlukan dalam menangkal radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab kerusakan hati (Armansyah 2010).

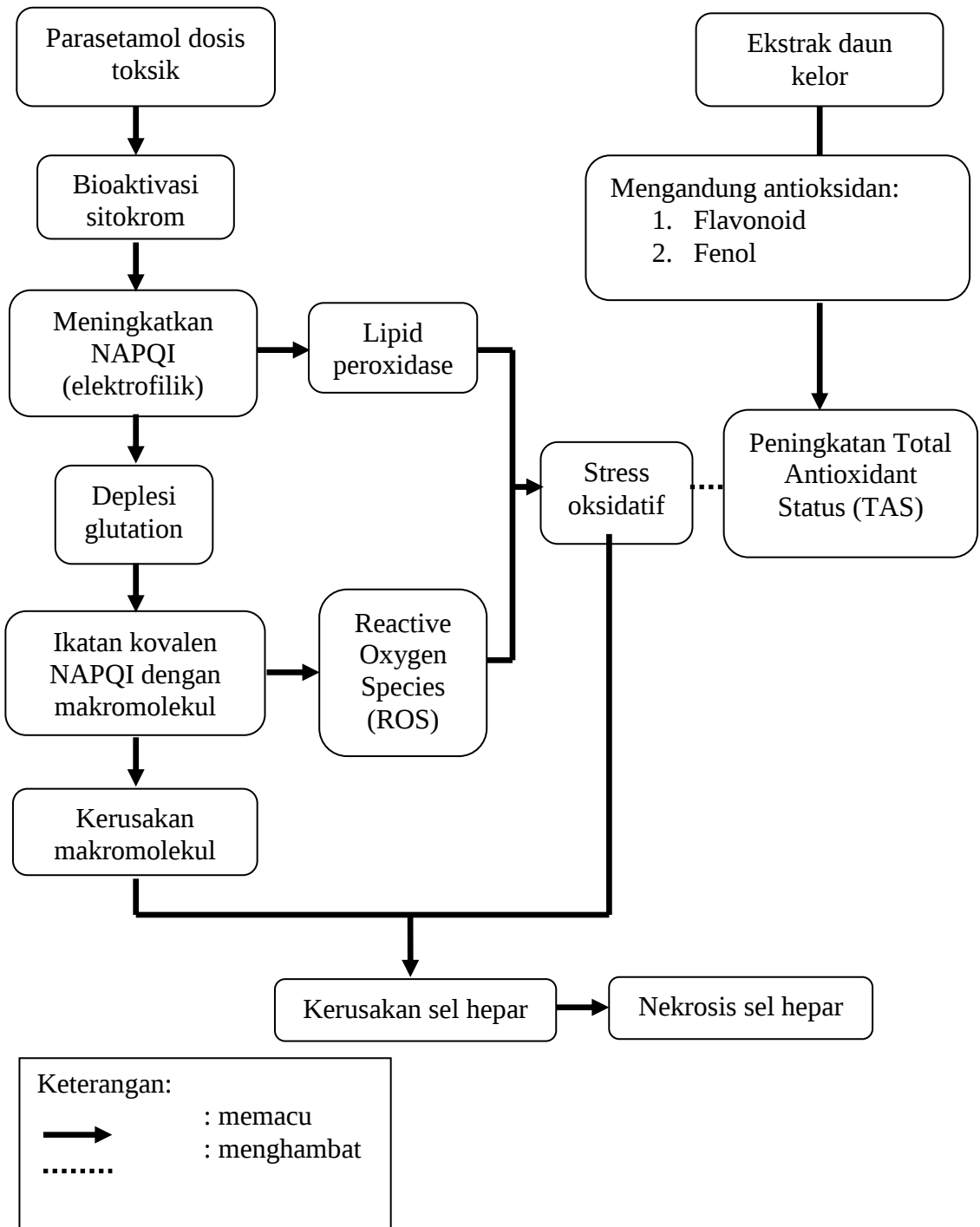
J. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah dan tujuan penelitian dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

Pertama, ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dosis 90, 180, dan 360 mg/kg BB mempunyai efek hepatoprotektif terhadap tikus jantan galur wistar setelah diinduksi parasetamol dengan parameter ALT dan AST.

Kedua, dosis efektif ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dapat memberikan efek hepatoprotektif terhadap kerusakan sel hepar pada tikus yang diinduksi parasetamol.

K. Kerangka pemikiran



Gambar 1. Kerangka Pemikiran

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi Sampel

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Dalam penelitian ini populasi yang digunakan adalah daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang diperoleh dari Desa Mantren, Magetan, Jawa Timur.

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor yang masih segar, berwarna hijau dan masih muda

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kelor yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol. Variabel utama kedua adalah parasetamol yang diinduksikan pada tikus putih jantan. Variabel utama ketiga adalah penurunan kadar ALT dan AST tikus putih jantan. Variabel utama keempat adalah tikus putih jantan galur wistar yang dikondisikan hepatotoksik setelah diinduksi parasetamol.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun kelor yang diuji sebaga hepatoprotektif.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dari penelitian ini adalah parameter – parameter yang diamati pada penurunan kadar ALT dan AST dengan uji hepatoprotektif dari daun kelor pada tikus jantan.

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

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kelor adalah tanaman yang diperoleh dari Desa Mantren, Magetan, Jawa Timur.

Kedua, daun kelor yang akan digunakan dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk, yang kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa kotoran yang masih tersisa, setelah itu dikeringkan dalam lemari pengering bersuhu 40°C, dihaluskan, dibuat serbuk dan diayak.

Ketiga, ekstrak etanol daun kelor adalah ekstrak daun kelor yang diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Keempat, hewan percobaan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar dalam kondisi sehat. Tikus yang akan digunakan berumur 2-3 bulan dan umumnya memiliki berat badan 200-250 gram, ditempatkan dalam kandang dengan kondisi laboratorium standar, diberi air secukupnya, dan diberi pakan tikus yang dijual komersial.

Kelima, parasetamol adalah penginduksi reaksi yang dioralkan pada tikus putih jantan, kemudian diukur kadar ALT dan AST.

Keenam, efek hepatoprotektif adalah senyawa obat yang memiliki efek terapeutik, untuk memulihkan, memelihara, dan mengobati kerusakan hati dari ekstrak daun kelor dengan parameter penurunan kadar ALT dan AST pada tikus putih jantan.

Ketujuh, efek hepatoprotektif daun kelor dilihat dari adanya penurunan kadar ALT dan AST pada tikus putih jantan setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol positifnya.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini antara lain adalah peralatan maserasi yaitu botol gelas yang berwarna gelap ukuran 1000 ml tertutup, kain flannel, corong gelas, oven, alat penimbang digunakan timbangan listrik AEG-120 Shimadzu.

Alat yang digunakan untuk pengambilan darah dan pengumpulan serum yaitu pipa kapiler, mikrosentrifuge, tabung reaksi, dan spektrofotometer. Peralatan yang digunakan untuk penentuan kadar AST dan ALT total serum yaitu sentrifuge, tabung reaksi, fotometer, klinipet, yellow tip.

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

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan untuk pembuatan sediaan instan yaitu kompor, wajan, pengaduk/sutil dan saringan nomor 18.

2. Bahan

2.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang diperoleh dari Desa Mantren, Magetan, Jawa Timur. Obat hepatotoksik yang digunakan adalah parasetamol (Acetaminophen). Sedangkan hepatoprotektor yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini adalah Curcuma®.

2.2. Bahan Kimia. Yang digunakan dalam penelitian ini antara lain air, etanol 96%, parasetamol, CMC Na 1% sebagai *suspending agent*, pereaksi ALT dan AST siap pakai tanpa pengenceran.

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

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi daun kelor

Tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel daun kelor dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dengan acuan buku, serta dibuktikan di Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah

2. Identifikasi makroskopis daun kelor

Daun kelor merupakan bagian dari pohon kelor, tanaman dari keluarga Moringaceae, memiliki tinggi ± 8 m, memiliki batang berkayu, bulat, bercabang, berbintik hitam, putih kotor, daun majemuk panjang 20-60 cm, anak daun bulat telur, tepi rata, ujung berlekuk, menyirip ganjil, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, letak di ketiak daun, panjang 10-30 cm, daun kelopak hijau, benang sari dan putik kecil, mahkota putih. Buah berbentuk polong, panjang 20-45 cm, berisi 15-25 biji, coklat kehitaman. Biji bulat, bersayap tiga, hitam. Akar tunggang, putih kotor (Anonim 2001).

3. Pengambilan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor adalah daun tanaman yang diperoleh dari daerah desa Mantren, Magetan, Jawa Timur

4. Pembuatan serbuk daun kelor

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

5. Penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor

Penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance* dengan cara menimbang dengan seksama daun kelor sebanyak 2 gram, kemudian diukur susut pengeringan dengan menggunakan *Moisture Balance*, waktu yang diperlukan dalam pengukuran

adalah 30 menit dan ditunggu sampai muncul angka dalam satu persen. Catat hasil pengukuran, setelah menit ke empat.

6. Pembuatan ekstrak etanol daun kelor

Ekstrak etanol daun kelor dibuat dengan cara maserasi. Serbuk daun kelor diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1,0:7,5. Ekstraksi dilakukan pada botol kaca kedap cahaya selama 5 hari sambil diaduk tiap harinya. Setelah 5 hari, campuran tersebut diserkai sarinya dan diperas ampasnya, kemudian hasil maserasi dievaporasi dengan alat evaporator dengan suhu 45-50°C.

7. Penetapan kadar lembab daun kelor

Penetapan kadar lembab dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance* dengan cara menimbang serbuk sebanyak 2 gram, kemudian ditimbang dengan menggunakan *moisture balance*, kemudian alat *moisture balance* ditutup dan ditunggu ± 15 menit sampai memberikan tanda dan bunyi. Kadar air yang memenuhi persyaratan kadar air suatu serbuk adalah kurang dari 10% (Depkes 1979).

8. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun kelor

7.1. Identifikasi Saponin. Sepuluh milliliter air panas dalam tabung reaksi didinginkan kemudian ditambahkan ekstrak segar dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan HCL 2N buih tidak hilang (Anonim 1997).

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

7.3. Identifikasi Fenol. Fenol dapat diidentifikasi dengan ekstrak daun kelor yang telah di saring di tambah dengan larutan FeCl_3 . Apabila terjadi warna hijau, ungu, biru, sampai hitam menunjukkan adanya senyawa fenolit terutama fenol-fenol bebas (Harborne 1987).

7.4. Identifikasi Alkaloid. Ekstrak kental ditimbang 500 mg dilarutkan dalam 100 ml air panas lalu dipanaskan selama 15 menit, didinginkan dan

disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Dimasukan larutan A sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 1,5 ml asam klorida 2%, larutan dibagi 3 sama sebanyak dalam tabung reaksi yang lain. Tabung reaksi yang pertama untuk pembanding dan tabung reaksi kedua ditambah 2 tetes reagent Dragendrof, reaksi positif ditunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat. Tabung ketiga ditambah 2-4 tetes Mayer, reaksi positif ditunjukkan adanya putih kekuningan (Robinson 1995).

7.5. Identifikasi Flavonoid. Pertama, 1 ml larutan ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 10 tetes HCL pekat P, jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Kedua, 1 ml larutan ditambah 0,5 g serbuk Zn P dan 2 ml HCl 2N didiamkan selama satu menit kemudian ditambah 10 tetes HCl pekat. Jika dalam waktu 2-5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid. Ketiga, larutan diuapkan hingga kering, sisa dibasakan dengan etanol 70% dipanaskan hati-hati diatas penangas air dan hindari pemmanasan yang berlebihan, sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 ml tetes P, diamati dengan sinar UV 366 nm berflouresensi kuning intensif, menunjukkan adanya flavonoid (Depkes 1989).

9. Penentuan dosis

9.1. Dosis ekstrak daun kelor. Pemberian dosis ekstrak daun kelor didasarkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rahmawati (2016) yang membuktikan dosis efektif sebesar 0,036 g/200 g BB, tetapi digunakan dalam bentuk ekstrak sari segar dengan pelarut aquadest. Secara sistematis dosis ini setara dengan 180 mg/kgBB. Dalam penelitian ini dosis tersebut dijadikan dosis tengah, dengan menggunakan tiga peringkat dosis yaitu dosis ekstrak etanol daun kelor terendah sebesar 90 mg/kgBB tikus, dosis tengah sebesar 180 mg/kgBB tikus, dan dosis tertinggi sebesar 360 mg/kgBB tikus. Dosis ini merupakan dosis orientasi.

9.2. Dosis Parasetamol. Hepatotoksik dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15 gram parasetamol (Gunawan 2009). Dosis toksik yang akan dipakai pada penelitian ini adalah 15 gram/70 kg BB manusia, maka dosis parasetamol untuk tikus putih berdasarkan tabel konversi manusia dengan berat 70

kg dan faktor konversi tikus putih 0,018 adalah $0,018 \times 15 \text{ gram} = 0,27 \text{ gram}/200 \text{ gram}$ BB tikus putih. Dosis ini setara dengan $1,35 \text{ g/Kg}$ BB tikus

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

10. Pembuatan sediaan uji

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

10.2. Larutan stock. Larutan stock yang digunakan pada penelitian ini adalah aquadest yang digunakan dalam pengenceran ekstrak segar sesuai dengan kadar konsentrasi masing-masing ekstrak segar untuk menyamakan volume pemberian. Untuk pemberian daun kelor dengan penambahan aquadest 3 ml.

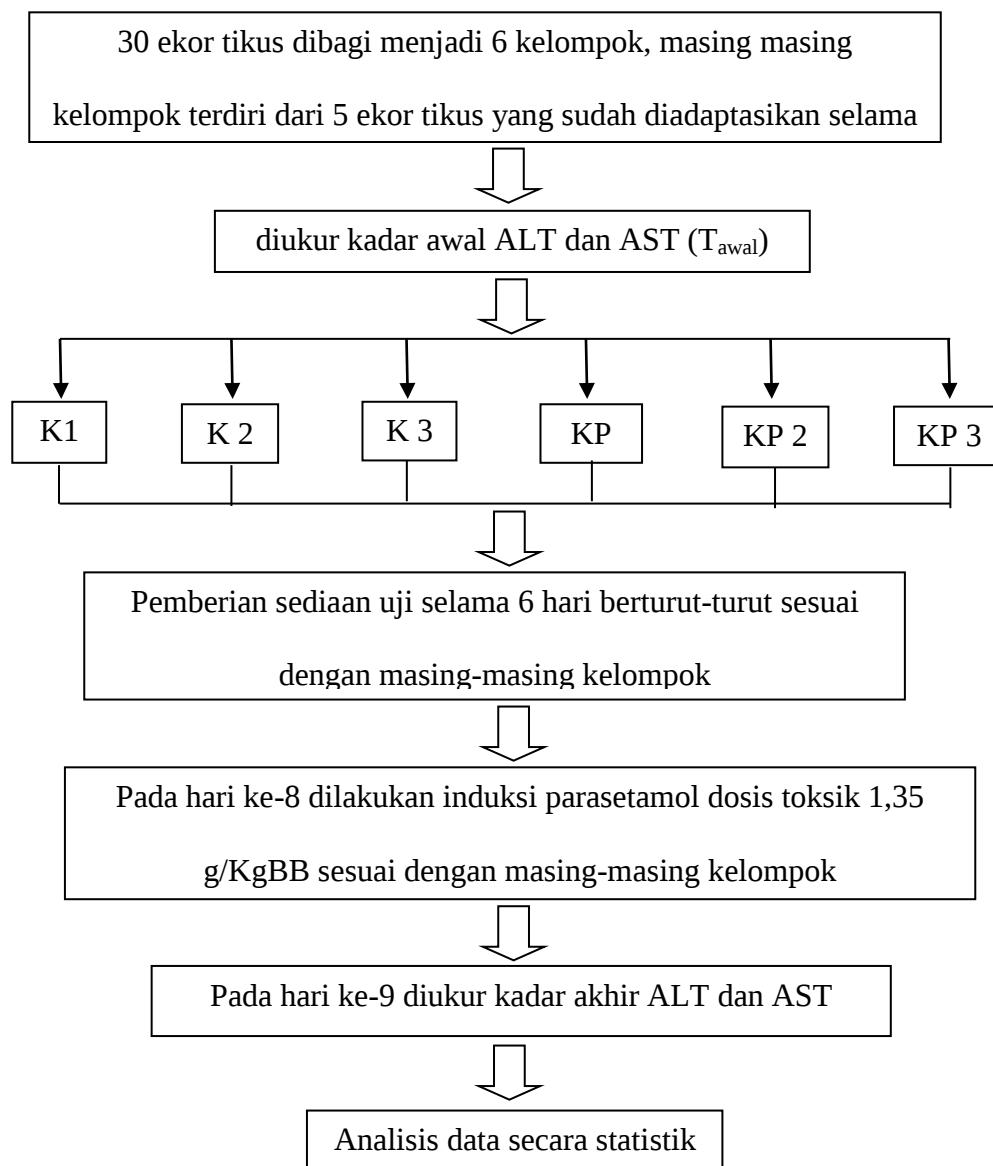
10.3. Pembuatan larutan CMC Na 1 %. Larutan Na CMC 1 % dibuat dengan cara melarutkan lebih kurang 1,0 gram CMC yang telah ditimbang seksama ke dalam air sampai volume 100 ml. Larutan ini digunakan sebagai suspending agent.

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

11. Perlakuan hewan uji

Hewan uji yang digunakan tikus jantan galur wistar yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 200-250 gram. Jenis kelamin dipilih jantan, sebab tidak

dipengaruhi oleh hormon dimana hormon ini pada tikus betina umumnya tidak stabil, maka lebih baik tidak menggunakan tikus betina. Tikus kemudian diadaptasikan selama satu minggu. Selama masa adaptasi tikus diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok normal yaitu kelompok yang hanya diberi CMC Na 1%. Kelompok negatif yaitu kelompok yang hanya diberi parasetamol dan CMC Na 1%. Kelompok positif yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dan Curcuma®. Kelompok perlakuan I yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dan dosis ekstrak etanol daun kelor 90 mg/kgBB. Kelompok perlakuan II yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dan dosis ekstrak etanol daun kelor 180 mg/kgBB. Kelompok perlakuan III yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dan dosis ekstrak etanol daun kelor 360 mg/kgBB. Sebelum perlakuan setiap tikus diambil darahnya untuk diukur ALT dan AST dilakukan pada hari ke-1 (sebelum perlakuan). Kemudian tikus diinduksi sediaan uji setiap hari selama 6 hari berturut-turut sesuai dengan pembagian kelompoknya. Pada hari ke-8 tikus diinduksi parasetamol dosis toksik sesuai dengan pembagian kelompoknya dan diambil darahnya untuk diukur ALT dan AST kembali dilakukan pada hari ke-9 (setelah perlakuan).



Gambar 2. Skema prosedur pengujian hewan uji

Keterangan:

- K 1 : Kontrol normal (CMC Na 1%)
- K 2 : Kontrol negatif (parasetamol 1,35 g/Kg BB dan CMC Na 1%)
- K 3 : Kontrol positif (parasetamol 1,35g/Kg BB dan Curcuma®)
- KP 1 : Perlakuan I (parasetamol 1,35 g/Kg BB dan dosis ekstrak daun kelor 90 mg/kg BB)
- KP 2 : Perlakuan II (parasetamol 1,35 g/Kg BB dan dosis ekstrak daun kelor 180 mg/kg BB)
- KP 3 : Perlakuan III (paracetamol 1,35 g/Kg BB dan dosis ekstrak daun kelor 360 mg/kg BB)

12. Pengambilan darah dan pengumpulan serum

Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbitalis mata dengan menggunakan pipa kapiler dan ditampung dalam Eppendorf, didiamkan selama 15 menit kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit

13. Penetapan kadar ALT dan AST

Darah tikus yang diambil ditampung dalam tabung sentrifuge, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm, agar sel-sel darah mengendap dan terpisah dari plasmanya (beningan diatas endapan), kemudian ditetapkan kadar ALT dan AST. Penetapan kadar ALT dan AST dianalisis menggunakan alat fotometer stardust FC dengan sampel 100 μ l dan reagen 1000 μ l dibaca pada suhu 37°C.

Tabel 1. Prosedur pengambilan larutan reagen dan serum

Prosedur	Pada suhu 37°C
Sampel serum	100 μ l
Reagen	1000 μ l

E. Analisa Hasil

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini akan dipilih berdasarkan data yang diperoleh. Uji normalitas (Shapiro-Wilk) akan digunakan untuk menguji apakah data terdistribusi normal. Jika data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji non parametik. Jika data terdistribusi normal ($p > 0.05$), maka dilanjutkan dengan uji parametik (one way ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95% menggunakan program SPSS 17, untuk mengetahui perbedaan yang nyata di antara perlakuan yang tidak terdistribusi secara normal, maka analisa statistik dilakukan dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis untuk melihat apakah terdapat perbedaan di antara masing-masing kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji Man-Whitney untuk melihat apakah ada perbedaan atau tidak untuk masing masing kelompok setelah diberikan perlakuan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.)

1. Hasil Determinasi daun kelor

Tanaman sebelum dikumpulkan terlebih dahulu dilakukan determinasi, tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran tanaman yang digunakan dan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan Universitas Setia Budi. Hasil determinasi berdasarkan surat hasil determinasi nomor 151/DET/UPT-LAB/05/1/2017 menunjukkan bahwa tanaman tersebut adalah benar kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). Dengan kode determinasi sebagai berikut:

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 15b. golongan 9. 197b - 208a - 209b - 210b - 211b - 214a. Moringaceae. ***Moringa oleifera* Lamk.** Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil Pengambilan daun kelor

Hasil pengambilan daun yang digunakan berasal dari tanaman kelor yang diperoleh dari daerah Desa Mantren Magetan, Jawa Timur yang diambil pada bulan Januari 2017. Daun diambil dalam kondisi masih segar, masih berwarna hijau, dan dalam keadaan bebas dari kotoran, mikroba, ulat, serta penyakit. Daun kelor yang masih basah dikeringkan dan dihitung % bobot kering terhadap bobot basah daun kelor. Data dan perhitungan % bobot kering terhadap bobot basah daun kelor dapat dilihat dalam tabel 2 dan lampiran 12.

Tabel 2. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah daun

kelor		
Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)b/b
5500	1100	42,22 %

3. Hasil pembuatan serbuk daun kelor

Daun kelor kering sebanyak 1100 gram dibuat serbuk dengan menggunakan alat giling kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 mesh. Penggunaan ayakan ini bertujuan untuk mendapatkan ukuran serbuk yang seragam. Diperoleh serbuk halus sebanyak 950 gram. Data dan perhitungan % rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering dapat dilihat pada tabel 3 dan lampiran 13.

Tabel 3. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering

Berat kering (g)	Berat serbuk (g)	Rendemen (%)b/b
1100	950	86,36 %

Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas ukuran permukaan partikel, sehingga bahan yang kontak dengan larutan penyari akan semakin luas dan proses penyarian akan lebih efektif, namun ukuran partikel tidak boleh terlalu kecil sebab ukuran partikel yang terlalu kecil kemungkinan pada saat penyaringan akan lolos dari kertas saring.

4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor

Penetapan kadar air serbuk daun kelor menggunakan alat *Moisture Balance*. Kadar air serbuk daun kelor 5,8%. Hasil dari penetapan kadar air memenuhi persyaratan yang ditetapkan yaitu kurang dari 10%.

Tabel 4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor

No.	Berat awal (g)	Sisa (g)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,88	6,0
2	2,00	1,90	5,9
3	2,00	1,91	5,4
Rata-rata			5,8

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% daun kelor

Pembuatan ekstrak daun kelor menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Berat serbuk daun waru sebanyak 300 gram dimaserasi dengan 2250 ml pelarut etanol 96%. Proses maserasi selama lima hari kemudian

disaring, dipekatkan menggunakan alat evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 33,1 gram. Rendaman tersebut disaring dengan kain flanel, ampas dicuci dengan pelarut sampai volume 750 ml didapat hasil rendemen ekstrak terhadap sebuk daun kelor sebesar 11,0 %. Data hasil pembuatan ekstrak etanol daun kelor dan perhitungan % rendemen berat ekstrak terhadap berat serbuk daun kelor dapat dilihat pada tabel 5 lampiran 14.

Tabel 5. Rendemen berat ekstrak terhadap berat serbuk daun kelor

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)b/b
300	33,1	11,0 %

6. Hasil penetapan kandungan lembab

Penetapan kandungan lembab serbuk simplisia dilakukan dengan alat *moisture balance*. Prinsip alat yaitu serbuk dipanaskan sehingga terjadi penguapan sampai didapat bobot konstan, diperoleh hasil dengan rata-rata 5,8%. Hasil penetapan kandungan lembab dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun kelor

No	Berat serbuk (g)	Kandungan lembab (%)
1.	2,0	6,0
2.	2,0	5,9
3.	2,0	5,4
Rata-rata		5,8

Penetapan kandungan lembab serbuk bertujuan untuk mengetahui kandungan air dan minyak atsiri yang terdapat dalam serbuk simplisia. Hasil rata-rata penetapan kandungan lembab serbuk sebesar 5,8%. Kadar tersebut memenuhi persyaratan kandungan lembab simplisia. Persyaratan kandungan lembab serbuk simplisia yaitu tidak lebih dari 10%, karena kandungan lembab lebih dari nilai yang ditetapkan dapat menyebabkan reaksi enzimatis dan memicu pertumbuhan jamur.

7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam daun kelor. berdasarkan

identifikasi ekstrak dan kelor didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa saponin, tannin, fenol, alkaloid dan flavonoid dalam ekstrak etanol daun kelor dilakukan secara kualitatif berdasarkan pada pengamatan dapat dilihat pada Tabel 7 lampiran 11.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor

Kandungan senyawa	Perlakuan	Pengamatan	Pustaka	Keterangan
Saponin	Ekstrak + air panas (kocok kuat-kuat hingga terbentuk buih) + HCL 2N buih tidak hilang.	Terbentuknya buih dan pada penambahan HCl 2 N buih tidak hilang	Terbentuknya buih setinggi 1-10 cm dan pada penambahan HCL 2 N buih tidak hilang (Anonim 1997)	Saponin positif
Tanin	5 ml larutan ekstrak + 5 tetes FeCl ₃ 5% b/v.	Warna coklat kehijauan	Warna coklat kehijauan (Robinson 1995)	Tanin positif
Fenol	Ekstrak + larutan FeCl ₃	Warna hijau sampai hitam	Warna hijau, ungu, biru, sampai hitam (Harborne 1987).	Fenol positif
Alkaloid	Ekstrak kental 500 mg dilarutkan dalam 100 ml air panas + reagen dragendrof + larutan Mayer	Terbentuk endapan putih kekuningan	Terbentuk endapan putih kekuningan (Robinson 1995)	Alkaloid positif
Flavonoid	1 ml ekstrak + 1 g serbuk Mg + 10 tetes HCl pekat	Warna merah jingga sampai merah ungu	Warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1989).	Flavonoid positif

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia serbuk daun kelor dapat dilihat bahwa saponin, tannin, fenol, flavonoid dan alkaloid positif. Hasil identifikasi fitokimia yang pernah dilakukan bahwa kelor menunjukkan

pada serbuk dan ekstrak mengandung saponin, tannin, fenol, flavonoid dan alkaloid

B. Hasil Pembuatan Sediaan Uji

1. Penetapan dosis

Hewan uji diberikan parasetamol 1 kali pada hari ke-8, pemberian parasetamol digunakan sebagai penginduksi karena penggunaan parasetamol dapat menyebabkan terjadinya hepatotoksik. Hewan uji diberikan perlakuan secara oral. Dosis penginduksi parasetamol yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,27 gram/200gram BB tikus putih. Dosis ini setara dengan 1,35 g/Kg BB tikus, pemberian ekstrak etanol daun kelor ialah 90, 180 dan 360 mg/kgBB tikus.

Curcuma (kontrol positif) digunakan sebagai pelindung dimana curcuma berkhasiat dalam membantu mencegah gangguan fungsi hati dan memelihara kesehatan tubuh. Dosis curcuma yang digunakan sebagai hepatoprotektif pada manusia adalah 200 mg/70 kgBB tikus. Dosis curcuma untuk tikus setelah dikonversi dari dosis manusia ke tikus adalah 3,6 gram/200gram BB tikus. Perhitungan dosis dan perhitungan volume pemberian sediaan dapat dilihat pada lampiran 16.

2. Hasil Penetapan Kadar ALT dan AST

Efek hepatoprotektor dari ekstrak etanol daun kelor dapat dilihat dari perubahan kadar ALT dan AST yang merupakan parameter terjadinya kerusakan hati. Hepatotoksisitas yang diakibatkan oleh induksi parasetamol pada hari ke 8 dapat menyebabkan peningkatan aktivitas ALT dan AST pada kontrol negatif. Ekstrak etanol daun kelor dapat mampu melindungi hati dari efek toksik dari obat parasetamol. Yang dapat dilihat dari normal kadar ALT dan AST secara signifikan dan tetap pada batas normal kadar ALT dan AST yaitu kontrol positif dan negatif yang diberikan makan dan minum secara peroral selama 7 hari memiliki kadar ALT dan AST yang normal. Hasil hepatoprotektif terbaik yang dilihat dari kadar ALT dan AST adalah pemberian ekstrak etanol daun kelor dosis 360 mg/kgBB tikus.

2.1. Hasil penetapan kadar enzim ALT. Kadar ALT dianalisis menggunakan alat fotometer stardust FC dengan sampel 100 µl dan reagen 1000 µl dibaca pada suhu 37°C. Prinsip pengujian pada penelitian ini untuk melihat kerusakan hati dengan melihat kenaikan kadar ALT. Sebelum dilakukan pemeriksaan kadar ALT T_{akhir} terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kadar ALT sebelum diberikan perlakuan T_{awal} untuk melihat rata-rata ALT sebelum dilakukan perlakuan, selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar AUC dan persen penurunan ALT. Data tersebut dapat dilihat pada tabel 8 dengan rumus dibawah ini :

$$AUC_{T0}^{TU} = \frac{Kg0 + Kgn \times (Takhir - Tawal)}{2}$$

Keterangan:

Kg0 : kadar T_{awal} ALT

Kgn : kadar T_{akhir} ALT

T_{awal} : hari ke 0

T_{akhir} : hari ke 10

$$\% \text{ penurunan ALT} = \frac{AUC_{kn} - AUC_{uji}}{AUC_{kn}} \times 100\%$$

Keterangan:

AUC kn : AUC kontrol negatif

AUC uji : AUC kelompok uji

Tabel 8. Hasil rata-rata kadar enzim ALT(U/I)

Kelompok	Rata-rata kadar ALT (U/I)±SD		AUC±SD	Persen penurunan ALT(%)
	T_{awal}	T_{akhir}		
Kontrol negatif	43,62±12,36	67,22±10,20 ^y	554,2±94,60	0,00±0,00
Kontrol positif	46,04±6,07	32,4±2,60 ^x	392,1±38,89	27,65±13,6 ^x
Daun kelor 90 mg/kgBB	57,54±5,33	54,44±4,62 ^y	559,9±49,34 ^x	5,33±7,45
Daun kelor 180 mg/kgBB	53,6±4,40	46,54±3,20 ^{x,y}	500,7±37,03 ^x	10,39±14,27
Daun kelor 360 mg/kgBB	48,16±8,56	38,48±2,86 ^x	433,2±54,37	20,58±17,44

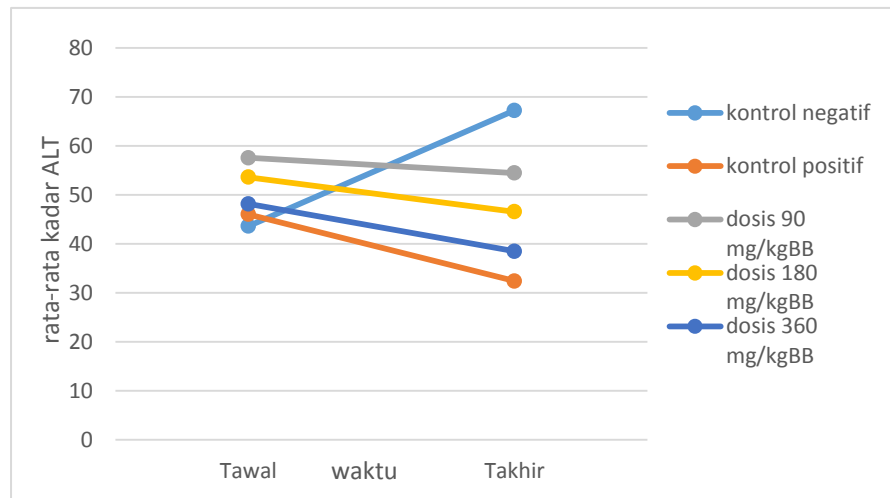
Keterangan:

T_{awal} : kadar ALT pada waktu sebelum diinduksi

T_{akhir} : kadar ALT setelah perlakuan dan diinduksi

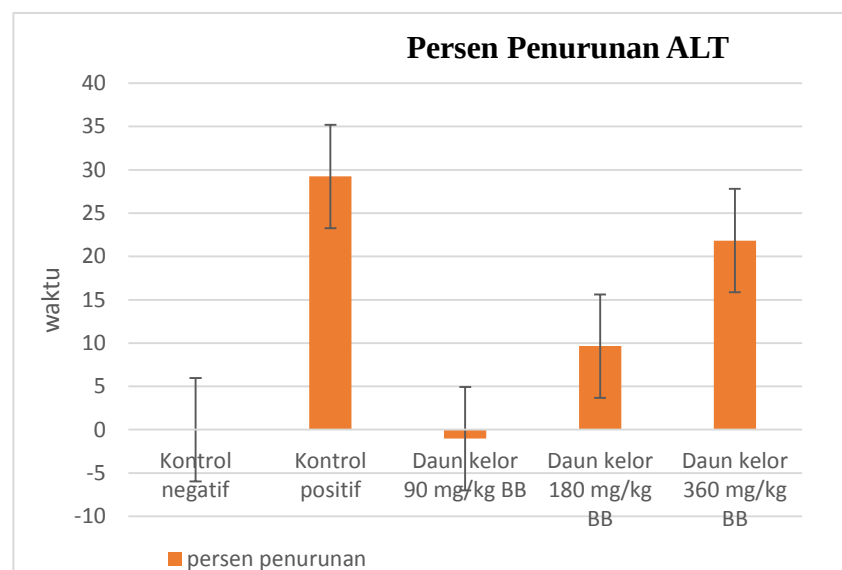
X : beda signifikasi dengan kontrol negatif

Y : beda signifikasi dengan kontrol positif



Gambar 3. Grafik rata-rata kadar ALT pada T_{awal} dan T_{akhir}

Gambar 3 menunjukkan diagram rata-rata kadar ALT pada T_{awal} dan T_{akhir} rata-rata kadar ALT T_{awal} pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan dosis 360 mg/kgBB tikus diperoleh rata-rata kadar ALT normal. Sedangkan pada kelompok perlakuan dosis 90 dan 180 mg/kgBB tikus menunjukkan rata-rata kadar ALT diatas normal. Rata-rata kadar ALT pada T_{awal} dan T_{akhir} menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor dosis 90, 180 dan 360 mg/kgBB tikus memiliki pengaruh dalam menghambat kenaikan aktivitas kadar ALT, tetapi kenaikannya tidak setinggi kontrol negatif.



Gambar 4. Grafik persen penurunan ALT

Gambar 4 menunjukkan grafik persen penurunan ALT pada hari ke-0 dengan hari ke-10. Grafik persen penurunan ALT menunjukkan bahwa kontrol positif mengalami persen penurunan paling signifikan dibandingkan kelompok lainnya. Sedangkan pada dosis 360 mg/kg BB tikus mempunyai aktivitas persen penurunan ALT yang paling baik karena setara dengan kontrol positif.

Hasil signifikan kadar AUC menunjukkan bahwa dosis 90 mg/kgBB dan 180 mg/kgBB tikus memiliki hasil beda nyata dengan kontrol negatif. Kadar AUC pada semua kelompok perlakuan dapat diketahui dengan uji statistik ANOVA satu jalan. Kadar AUC dilakukan uji normalitas data dengan Shapiro-Wilk. Data terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji statistik analisis satu arah (One Way ANOVA). Data homogen ($P > 0,05$) dilakukan dengan uji Post Hoc Test.

2.2. Hasil penetapan kadar enzim AST. Kadar AST dianalisis menggunakan alat fotometer stardust FC dengan sampel 100 µl dan reagen 1000 µl dibaca pada suhu 37°C. Prinsip pengujian pada penelitian ini untuk melihat kerusakan hati dengan melihat kenaikan kadar AST. Sebelum dilakukan pemeriksaan kadar AST T_{akhir} terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kadar AST sebelum diberikan perlakuan T_{awal} untuk melihat rata-rata AST sebelum dilakukan perlakuan, selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar AUC dan persen penurunan AST. Data tersebut dapat dilihat pada tabel 8 dengan rumus dibawah ini:

$$AUC_{TO}^{TU} = \frac{Kg0 + Kgn \times (T_{akhir} - T_{awal})}{2}$$

Keterangan:

Kg0 : kadar T_{awal} AST

Kgn : kadar T_{akhir} AST

T_{aawal} : hari ke 0

T_{akhir} : hari ke 10

$$\% \text{ Penurunan alt} = \frac{AUC_{kn} - AUC_{uji}}{AUC_{kn}} \times 100\%$$

Keterangan:

AUC kn : AUC kontrol negatif

AUC uji : AUC kelompok uji

Tabel 9. Hasil rata-rata kadar enzim AST(U/I)

Kelompok	Rata-rata kadar		AUC±SD	% penurunan	
	ALT (U/I)±SD				AST
	T _{awal}	T _{akhir}			
Kontrol negatif	91±9,77	137±11,57 ^x	1140±104,94	0,00±0,00	
Kontrol positif	100,2±7,01	88,6±6,94 ^x	944±69,13	17,12±11,55 ^x	
Daun kelor 90 mg/kgBB	110,6±8,44 ^x	105,2±8,22 ^x	1079±82,12	8,13±7,54	
Daun kelor 180 mg/kgBB	102,6±14,60	96,4±13,59 ^x	995±140,89	12,57±10.82	
Daun kelor 360 mg/kgBB	104,4±8,56	94,8±8,10 ^x	996±80,73	12.73±11,86	

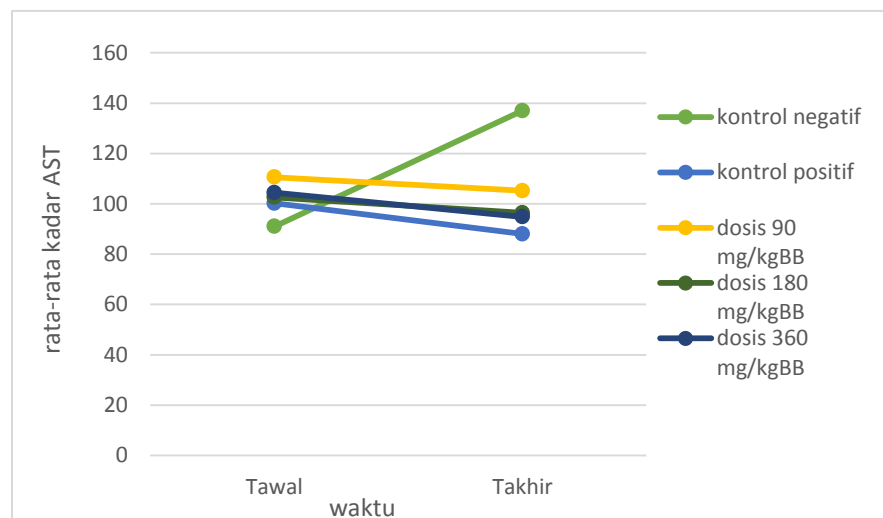
Keterangan:

T_{awal} : kadar AST pada waktu sebelum diinduksi

T_{akhir} : kadar AST setelah perlakuan dan diinduksi

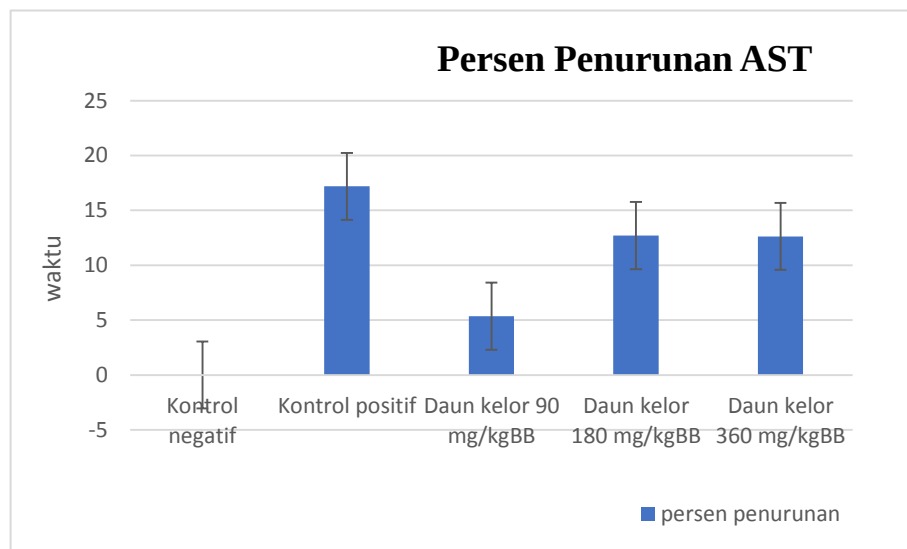
X : beda signifikasi dengan kontrol negatif

Y : beda signifikasi dengan kontrol positif



Gambar 5. Grafik rata-rata kadar AST pada T_{awal} dan T_{akhir}

Gambar 5 menunjukkan diagram rata-rata kadar AST pada T_{awal} dan T_{akhir} menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor dosis 90, 180 dan 360 mg/kg BB tikus memiliki pengaruh dalam menghambat kenaikan kadar AST, tetapi kenaikannya tidak setinggi kontrol negatif. Ekstrak etanol daun kelor dosis 90 mg/kg BB tikus, 180 mg/kg BB tikus dan 360 mg/kg BB tikus mempunyai aktivitas sebagai hepatoprotektor.



Gambar 6. Grafik persen penurunan AST

Gambar 6 menunjukkan grafik persen penurunan AST pada hari ke-0 dengan hari ke-9. Grafik persen penurunan AST menunjukkan bahwa kontrol positif mengalami persen penurunan AST paling signifikan dibandingkan kelompok lainnya. Hasil signifikansi kadar AUC pada AST tidak ada beda nyata dengan semua perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji normalitas data dengan uji statistic analis satu arah uji Shapiro-Wilk. Data terdistribusi normal ($P > 0,05$) dilanjutkan dengan uji statistik analis satu arah uji parametik (One Way ANOVA). Data homogen dilanjutkan dengan Post Hoc Test. Data terdistribusi normal ($P > 0,05$) dilakukan uji statistik one way ANOVA. Data tidak homogen ($P < 0,05$) dilakukan uji Post Hoc Test yaitu Dunnett T3. Data selanjutnya dapat dilihat pada lampiran 21.

Hal ini diduga karena peranan flavonoid yang bertindak sebagai antioksidan mampu menghambat kenaikan kadar AST. Aktivitas antioksidan dari flavonoid yang mampu menangkap radikal bebas yang terjadi Karena parasetamol atau diduga mampu meningkatkan glutathione yang digunakan untuk menetralkan radikal bebas. Ekstrak etanol daun kelor pada dosis 90, 180 dan 360 mg/ kg BB tikus berbeda dengan kontrol negatif.

Parasetamol merusak hampir seluruh tubuh, termasuk hati. parasetamol dimetabolisme oleh hati melalui enzim sitokrom P450 menjadi metabolit reaktif, yaitu *N-acetyl-p-benzoquinon imine* (NAPQI) yang relative sehingga menekan glutathione hepar kemudian berikatan kovalen dengan protein. Ikatan kovalen ini berhubungan dengan toksisitas parasetamol yang mengakibatkan kerusakan hepar (James et al, 2003).

Kemampuan ekstrak etanol daun kelor menjaga ALT dan AST dikarenakan kandungan senyawa-senyawa kimia dalam daun kelor yang teruji secara kualitatif. Mekanisme kerja ekstrak etanol daun kelor adalah sebagai antioksidan kuat untuk radikal bebas yang dapat merangsang keluarnya enzim-enzim yang dibutuhkan oleh tubuh untuk menetralkan zat radikal bebas yang dihasilkan oleh zat-zat toksik dari luar maupun dihasilkan oleh tubuh. Enzim-enzim antioksidan ada beberapa macam, antara lain enzim antioksidan glutathione peroksidase, katalase dan superoksida dismutase (SOD).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas hepatoprotektor dilihat dengan parameter ALT dan AST ekstrak etanol daun kelor mampu menghambat kenaikan kadar ALT dan AST pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi Parasetamol. Pada kelompok perlakuan 90 mg/kg BB dan 180 mg/k BB tikus mempunyai aktivitas hepatoprotektor yang hampir sebanding dengan kontrol positif. Selama perlakuan 8 hari ekstrak etanol daun kelor mampu menghambat kenaikan kadar ALT dan AST. Kemampuan ekstrak etanol daun kelor dalam menghambat kenaikan kadar ALT dan AST diduga disebabkan karena daun kelor mengandung senyawa yang bersifat sebagai antioksidan seperti senyawa fenol dan vitamin C. Senyawa antioksidan dapat bertindak sebagai penetral radikal bebas. Mekanisme kerja senyawa antioksidan dengan cara memberikan elektronnya atau

menghentikan reaksi dari radikal bebas, sehingga dapat mencegah reaksi rantai berlanjut dari peroksidasi lemak dan juga protein akibat dampak radikal bebas, dengan demikian kerusakan sel lebih lanjut dapat dicegah.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa:

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun kelor dapat memberikan efek sebagai hepatoprotektif dari tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol.

Kedua, dosis efektif ekstrak etanol daun kelor dalam memberikan efek hepatoprotektif pada tikus jantan galur wistar adalah 360 mg/ kgBB.

B. Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, saran yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pengamatan histopatologi jaringan hati.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu yang lebih lama sehingga diperoleh hasil yang lebih baik

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Dep Kes RI. Halaman 10-13, 53-54.
- [Anonim]. 1993. *Farmakope Indonesia*. Ed ke IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Anonim]. 1997. *Farmakope Indonesia*. Ed ke IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Anonim]. Departemen Kesehatan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Anonim]. Departemen Kesehatan. 2001. *Investasi Tanaman Obat Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anief, M. 2000. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*.
- Armansyah T. TR, Sutriana A, Aliza D, Vanda H, Rahmi E. 2010. *Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Kucing-kucingan (Acalypha indica) pada Tikus Putih (Rattus Novergicus) yang diinduksi Paracetamol*. Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu Peternakan
- Arukwe U, Amadi BA, Duru MKC, Agomuo EN, Adindu EA, Odika PC. 2012. Chemical composition of *Persea americana* leaf, fruit and seed. *IJJRAS* vol 11(2): 346-349
- Aslam M. 2003. *Farmasi Klinik (Clinical Pharmacy)*. Jakarta. PT. Elex Media Komputindo. Halaman 3-17.
- Corwin EJ. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi Revisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG. Halaman 653-659
- Cotran RS, Kumar V, Robinsons S. 2007. *Buku Ajar Patologi edisi 7*. Volume ke-1. Prasetyo A, Pendit BU, Priliono. Peerjemah: Asrorudin M, Hartanto H, Darmaniah Nurwany, editor. Terjemahan dari *Robbins Patologic Basic of Disease*.

- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 1-15.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 10-16, 51.
- [DepKes] Departemen Kesehatan, Direktorat Jendral, Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Bakti Husada.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Diana, Wati. 2010. *Efek ekstrak Etanolik Buah Cabe Jawa terhadap aktivitas enzim GPT dan GOT pada tikus putih jantan yang diinduksi karbon tetraklorida* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi (USB).
- Donatus, I. A.2000. *Petunjuk Praktikum Toksikologi*. Edisi II. Fakultas Farmasi Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Halaman 28.
- Gan SG. 2007. *Farmakologi dan Terapi edisi 5*. Jakarta. Departemen Farmakologi dan Terapeutik. Universitas Indonesia.
- Girish C, Koner Bc, Jayanthi S, Rao KR, Rajesh B, Pardhan SC. 2009. *Hepatoprotektive Activity of Six Polyherbal Formulation in Paracetamol induced liver toxicity in mice*. Indian J Med Res 129: 569-578.
- Gunawan, Didik dan Mulyani, Sri. 2004. *Ilmu obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gunawan SG. 2009. *Farmakologi dan Terapi edisi 5 Cetak Ulang*. Jakarta. Departemen Farmakologi dan Terapeutik. Universitas Indonesia. Halaman 237-239.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi 4,terjemahan Kosasih P dan Soediro L*. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Harmita dan Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi III. Jakarta. EGC.
- Hartono, Nurwati I, Ikasari F, Wisyanto. 2005. Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Peningkatan Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) akibat Pemberian Asetaminofen. *Biofarmasi* 3(2): 57-60. Universitas Sebelah Maret

- Hasanah N, Susilo J, Oktianti D. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Dengan Metode DPPH. *Redaksi Jurnal Gizi dan Kesehatan*.
- James LP, Mayeux PR, Hinson JA. 2003. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Aspet journals* vol 31:499–1506
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dsar dan Klinik*. Buku 2. Edisi 8. Jakarta: Salemba Medika.
- Katzung BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 10. Jakarta: EGC. hlm 608.
- Kumar G, Banu GS, Pappa PV, Sundarajan M, Pandian MR. 2004, Hepatoprotective activity of *Trianthema portulacastrum* L. against paracetamol and thiocetamide intoxication in albino rats, *J Enthelopharmacol*. 92(1) : 37-40.
- Lesson CR. 1996. *Buku Teks Histologi*. Edisi ke-5. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Lu F. (1995). *Toksikologi Dasar*. Penerjemah: Edi Nugroho. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Mursito B. 2002. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Jantung*. Jakarta: Penebar swadaya. Halaman 24
- Mustafa J. 2003. Kajian toksikopatologi pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) pada mencit (*Mus musculus*). [Skripsi] Bogor: Fakultas Kedokteran, Institut Pertanian Bogor
- Murungesh KS, Yeligar VC, Maiti BC, Maity TK. 2005. Hepatoprotektive and antioxidant role of berberis tinctoria Lesch leave on parasetamol induced hepatic damage in rats. *Iranian J Pharmol Therapeutics (IJPT)* vol 4 (1): 64-69.
- Noer, S., Waspadji, S., Rachman, A.M., Lesmana, A., Widodo, D dan Isbagio H.,1996, *Buku ajar ilmu penyakit dalam*. Jilid II, edisi 3, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Noviyati KS. 2016. Uji Aktivitas Antiarthritis kombinasi ekstrak etanol biji alpukat (*Persea Americana* Mill.) dan triamsinolon pada tikus jantan yang diinduksi Complete Freund's Adjuvant (CFA) [Skripsi]. Universitas Setia Budi Surakarta.
- Pamungkas, Indra P. 2008. *Efek Hepatoprotektor perasaan Bawang Merah (Allium Cepa l.) pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus)* dengan Induksi Minyak Sawit Pemanasan Berulang [skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

- Pujiyati, Endah. 2016. Uji aktivitas sediaan sirup kombinasi ekstrak buah mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) dan daun pepaya (*Carica Papaya* L.) sebagai hepatoprotektor pada tikus jantan (*Rattus Norvegicus*) galur wistar yang diinduksi CCl₄ [Skripsi]. Universitas Setia Budi Surakarta.
- Rahmawati, Putri Rista. 2014. Efek Kombinasi Ekstrak Segar Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) dan Buah Tomat (*Solanum lycopersium* L) Terhadap Kadar SGPT dan SGOT Tikus utih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi paracetamol [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB Press. Halaman 191-213.
- Prince and Wilson. 2006. Patofisiologi. Edisi ke-4 Jakarta: Penerbit Kedokteran EGC.
- Seafast Center. 2012. *Senyawa Fenolik pada Sayuran Indigenous*. Bandung: ITB.
- Seyoum A, Asres K. El-Ficky F.K. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* 67: 2058-2070.
- Sugiyanto, 1995. *Methodology Research*. Surakarta: UNS Press.
- Suryaningrum LD. 2012. Efek Hepatoprotektif Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap Kerusakn Hepar Akibat Obat isoniazid pada Tikus Wistar.
- Sherwood, Lauralee. 2011. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi 6. Jakarta. EGC. Halaman 669.
- Smith B. J., dan S. Mangkoewidjojo, 1988. *Pemeliharaan pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Syahrin S, Kairupan C, Loho L. 2016. Gambaran Histopatologik hati tikus Wistar yang diberi ekstrak dun kelor (*Moringa oleifera*) setelah diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄). *Jurnal e-Biomedik(eBm)*, Volume 4, Nomor 2.
- Tjay, T.H dan Rahardja, K. 2002. *Obat-obatan Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V, diterjemahkan oleh Soedani Noerono. Yogyakarta: Gadjahmada University Press.

Wijayakusuma H, Dalimarta. S Wirian AS. 1995. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid II

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman kelor



No : 151/DET/UPT-LAB/05/I/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkanbahwa :

Nama : Aprilya Dewi Kumala Sari
NIM : 19133984 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kelor (*Moringa oleifera* Lamk)**

Determinasi berdasarkan Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15b. golongan 9. 197b – 208a – 209b – 210b – 211b – 214a. familia 55. Moringaceae. *Moringa oleifera* Lamk.

Deskripsi :

Habitus : Pohon yang menggugurkan daun, tinggi 3 – 10 m.
Batang : Berkayu, percabangan monopodial, ranting dengan tanda bekas daun yang besar.
Daun : Daun tersebar, menyirip ganjil rangkap 2 – 4. Anak daun bertangkai, bulat telur terbalik, tepi rata, sisi bawah hijau pucat, panjang 1 – 3 cm, tulang daun menyirip.
Bunga : Bunga malai, panjang 10 – 30 cm. Piala kelopak hijau, tajuk kelopak melengkung membalik, putih, panjang 1 cm. Daun mahkota putih kuning, yang terdepan terbesar, panjang 1,5 cm, yang lain membalik. Benang sari dan staminodia dengan ujung yang melengkung kembali.
Buah : Kotak, menggantung, bersudut 3, panjang 20 – 45 cm. Katup tebal, di tengah ada bekas cetakan yang dalam berisi 1 baris biji.
Biji : Bentuk bola, bersayap 3.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 05 Januari 2017

Tan determinasi

Dra Kartaman Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

"ABIMANYU FARM"

✓ Mencit putih jantan ✓ Tikus Wistar ✓ Swis Webster ✓ Cacing
 ✓ Mencit Balb/C ✓ Kelinci New Zealand
 Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Aprilya Dewi Kumala Sari

Nim : 19133984 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar

Umur : 2-3 bulan

Jenis kelamin : Jantan

Jumlah : 30 ekor

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

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

Surakarta, 31 Mei 2017

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Surat keterangan reagen ALT

clonatest®

CLONATEST ALT/GPT opt. CE

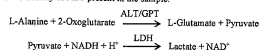
ALT/GPT opt.

IFCC
UV enzymatic method
KINETIC

REF KR10052 5 x 40 mL	REF KR10055 11 x 40 mL
CONTENTS	CONTENTS
R1 Reagent 5 x 32 mL	R1 Reagent 11 x 32 mL
R2 Reagent 5 x 8 mL	R2 Reagent 11 x 8 mL
For in vitro diagnostic use only	

SUMMARY

Alanine aminotransferase (ALT/GPT) catalyzes the transfer of the amino group from alanine to oxoglutarate with the formation of glutamate and pyruvate. The latter is reduced to lactate by lactate dehydrogenase (LDH) in the presence of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH). The reaction is monitored kinetically at 340 nm by the rate of decrease in absorbance resulting from the oxidation of NADH to NAD⁺, proportional to the activity of ALT present in the sample.



The method follows the proposed optimised formulation of the IFCC¹.

REAGENTS

R1. ALT substrate. TRIS buffer 150 mmol/L pH 7.3, L-alanine 750 mmol/L, lactate dehydrogenase > 1350 U/L.

R2. ALT coenzyme. NADH 13 mmol/L, 2-oxoglutarate 75 mmol/L. Biocides.

PREPARATION

The Reagents are ready-to-use.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C. The Reagents are stable until the expiry date stated on the label. After daily use stored tightly closed and protected from light. On board these reagents are stable 30 days. Discard the reagent if the blank presents an absorbance lower 1.000 at 340 nm against distilled water.

SAMPLE COLLECTION

Serum and EDTA or heparinized plasma free of hemolysis. ALT is stable in serum or plasma 24 hours at room temperature and for 1 week at 2-8°C.

INTERFERENCES

- Lipemia (triglycerid >15 g/L) does not interfere.
- Bilirubin (>30 mg/dL) does not interfere.
- Hemoglobin (>10 g/dL) does not interfere.
- Other drugs and substances may interfere^{3,4}.

INSTRUMENTATION AND MATERIALS

- KROMA analyzer.
- Laboratory equipment.
- Cleaning solutions Ref. KR18100, KR18200, KR18300, KR18400.

AUTOMATED PROCEDURE

A graphic display pictures the specific sets corresponding to the technical application outlined for this test. Any new application, to the instrument should be validated to confirm that results meet the analytical performance of the method. It is recommended to validate periodically the instrument.

CALIBRATION

No calibration is required. Activity is calculated against theoretical factor.

CALCULATION

Patient values are calculated automatically by theoretical factor.

RESULTS

Samples with AA/min exceeding 0.160 at 340 nm should be diluted 1:10 with saline and assayed again. Multiply the results by 10. If results are to be expressed as SI units apply: U/L x 0.01667 = µkat/L.

EXPECTED VALUES⁴

Serum, plasma

Adults	37°C	up to 40 U/L (0.67 µkat/L)
	30°C	up to 25 U/L (0.42 µkat/L)

Levels approximately twice the adult level are seen in neonates and infants; these decline to adult level by approximately 6 months of age. It is recommended that each laboratory establishes its own reference range.

QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control (QC), each run should include a set of controls (normal and abnormal) Ref. CT19800-CT19850 with assayed values handled as unknowns.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

The group of enzymes called transaminases exist in tissues of many organs. Necrotic activity in these organs causes a release of abnormal quantities of enzyme into the blood where they are measured.

Since heart tissue is rich in AST increased serum levels appear in patients after myocardial infarction, as well as in patients with muscle disease, muscular dystrophy and dermatomyositis. The liver is specially rich in ALT, being this enzyme measurement used primarily as a test for infectious and toxic hepatitis, although high levels of both ALT and AST may also be found in cases of liver cell damage and acute pancreatitis, suggesting that the obstruction of the biliary tree by the edematous pancreas and the presence of associate hepatic disease may contribute to elevated AST levels in these patients. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics are available on request.

BIBLIOGRAPHY

1. Winn-Deen E S, David H, Sigler G, and Chavez R. Clin Chem 1988;34:2005.
2. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Clin Chem Lab Med 1998;36:185.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz. Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition. Burtis CA, Ashwood ER, W.B. Saunders Co. 1994.

KR1005-200811

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485LINEAR CHEMICALS S.L.
08390 Montgat, SPAIN (EU)

clonatest

ALT/GPT opt.

IFCC

Método enzimático UV

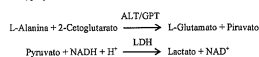
CINETICO

CLONATEST ALT/GPT opt. **CE**

REF KR10652 5 x 40 mL	REF KR10655 11 x 40 mL
CONTENIDO R1 Reactivo 5 x 32 mL R2 Reactivo 5 x 8 mL	CONTENIDO R1 Reactivo 11 x 32 mL R2 Reactivo 11 x 8 mL
Sólo para uso diagnóstico in vitro	

FUNDAMENTO

La alanina aminotransferasa (ALT/GPT) cataliza la transferencia del grupo amino de la alanina al cetoglutarato con la formación de glutamato y piruvato. Este último es reducido a lactato por la lactato deshidrogenasa (LDH) en presencia de nicotinamido adenin dinucleótido reducido (NADH). La reacción se controla cinéticamente a 340 nm a través de la disminución de la absorbancia resultante de la oxidación del NADH a NAD⁺, proporcional a la actividad ALT en la muestra.



El método corresponde a la formulación optimizada por la IFCC¹.

REACTIVOS

R1. Sustrato ALT. Tampón TRIS 150 mmol/L, pH 7,3, L-alanina 750 mmol/L, lactato deshidrogenasa > 1350 U/L.

R2. Coenzima ALT. NADH 1,3 mmol/L, 2-cetoglutarato 75 mmol/L. Bloccidas.

PREPARACION

Los Reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Después de su uso diario, mantener bien cerrados y protegidos de la luz. En el analizador son estables 30 días. Deschatar el reactivo si el blanco presenta una absorbancia inferior a 1,000 a 340 nm frente agua destilada.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado u obtenido con EDTA, libre de hemólisis. La ALT es estable en suero o plasma 24 horas a temperatura ambiente y hasta 1 semana a 2-8°C.

INTERFERENCIAS

- Lipemia (intralipid >15 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina (>30 mg/dL) no interfiere.
- Hemoglobina (>10 g/L) no interfiere.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir^{2,4}.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador KROMA.
- Material de laboratorio.
- Soluciones de lavado Ref. KR18100, KR18200, KR18300, KR18400.

TECNICA AUTOMATICA

Una representación gráfica visualiza los ajustes específicos correspondientes a la aplicación técnica diseñada para este ensayo. Cualquier aplicación nueva al instrumento deberá validarse para confirmar que los resultados cumplen las características del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485

LINEAR CHEMICALS S.L.
08390 Montgat, SPAIN (EU)

CALIBRACION

No precisa calibración. La actividad se calcula aplicando un factor teórico.

CALCULOS

El valor de las muestras se calcula automáticamente con el factor teórico.

RESULTADOS

Muestras con ΔA/min superiores a 0,160 a 340 nm deben diluirse 1:10 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 10. Para expresar los resultados en unidades SI: U/L x 0,01667 = μkat/L.

VALORES DE REFERENCIA⁴

Suero, plasma

Adultos	37°C	hasta 40 U/L (0,67 μkat/L)
	30°C	hasta 25 U/L (0,42 μkat/L)

Nuevos y niños doblan los valores observados en adultos acercándose a éstos aproximadamente a los 6 meses de edad. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad (CC) adecuado, se incluyen en cada serie controles valorados (normal y abnormal) Ref. CT19800-CT19850 que se usan como muestras problema. Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

El grupo de enzimas denominados transaminasas se hallan presentes en tejidos de muchos órganos. La actividad enérgica en estos órganos es la causante de la liberación de cantidades anormales de enzimas en la sangre donde son medidas.

Al ser el tejido cardíaco rico en AST se presentan niveles séricos aumentados en pacientes tras un infarto de miocardio, así como en pacientes con enfermedades musculares, distrofia muscular y dermatomiositis. El hígado es especialmente rico en ALT, siendo la determinación de este enzima empleado principalmente como prueba analítica en la hepatitis infecciosa y tóxica, aunque pueden hallarse niveles elevados de ambas enzimas, AST y ALT, en casos de daño celular hepático y pancreatitis aguda, situación que parece indicar que la obstrucción del árbol biliar por un páncreas edematoso.

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

Las características analíticas están disponibles bajo solicitud.

REFERENCIAS

1. Wain-Deen E S, David H, Sigler G, y Chavez R. Clin Chem 1988;34:2005.
2. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Clin Chem Lab Med 1998;36:185.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACCPress, 2000.
4. Tietz. Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition. Burtis CA, Ashwood ER. W.B. Saunders Co. 1994.

Lampiran 4. Surat keterangan reagen AST



AST/GOT opt.

IFCC
UV enzymatic method
KINETIC

CLONATEST AST/GOT opt. CE

SUMMARY

Aspartate aminotransferase (AST/GOT) catalyzes the transfer of the amino group from aspartate to oxaloacetate with the formation of glutamate and oxaloacetate. The latter is reduced to malate by malate dehydrogenase (MDH) in the presence of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH). The reaction is monitored kinetically at 340 nm by the rate of decrease in absorbance resulting from the oxidation of NADH to NAD⁺, proportional to the activity of AST present in the sample.

$$\begin{array}{ccc} \text{L-Aspartate} + 2\text{-Oxoglutarate} & \xrightarrow{\text{AST/GOT}} & \text{L-Glutamate} + \text{Oxaloacetate} \\ \text{Oxaloacetate} + \text{NADH} + \text{H}^+ & \xrightarrow{\text{MDH}} & \text{L-Malate} + \text{NAD}^+ \end{array}$$

This test has been formulated according to the standardized method described by IFCC, Clin Chem Lab Med 30(2): 40(7): 718-724.

REAGENTS

R1, AST substrate. TRIS buffer 121 mmol/L pH 7.8, L-aspartate 262 mmol/L, malate dehydrogenase > 460 U/L.

R2, AST coenzyme. NADH 1.3 mmol/L, 2-oxoglutarate 75 mmol/L, H₂O < 10⁻⁴.

PREPARATION

The Reagents are ready-to-use.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C. The Reagents are stable until the expiry date stated on the label. After daily use stored tightly closed and protected from light. On board the reagents are stable 30 days. Discard the reagent if the blank presents an absorbance lower 1.300 at 340 nm against distilled water.

SAMPLE COLLECTION

Serum and EDTA or heparinized plasma free of hemolysis. AST is stable in serum or plasma 24 hours at room temperature and for 1 week at 2-8°C.

INTERFERENCES

- Lipemia (triglycerid >15 g/L) does not interfere.
- Bilirubin (>30 mg/dL) does not interfere.
- Hemoglobin (>16 g/dL) does not interfere.
- Other drugs and substances may interfere.

INSTRUMENTATION AND MATERIALS

- KROMA analyzer.
- Laboratory equipment.
- Cleaning solutions Ref. KR18100, KR18200, KR18300, KR18400.

AUTOMATED PROCEDURE

A graphic display pictures the specific sets corresponding to the technical application outlined for this test. Any new application, to the instrument should be validated to confirm that results meet the analytical performance of the method. It is recommended to validate periodically the instrument.

REF. KR10072 5 x 40 mL	REF. KR10075 11 x 40 mL
CONTENTS R1 Reagent 5 x 32 mL R2 Reagent 5 x 8 mL	CONTENTS R1 Reagent 11 x 32 mL R2 Reagent 11 x 8 mL

For in vitro diagnostic use only

CALIBRATION

No calibration is required. Activity is calculated against theoretical factor.

CALCULATION

Patient values are calculated automatically by theoretical factor.

RESULTS

Samples with Activity exceeding 0.160 at 340 nm should be diluted 1:10 with saline and assayed again. Multiply the results by 10. If results are to be expressed as U/L x 0.01667 = µkat/L.

EXPECTED VALUES³

Serum, plasma	
Adults	37°C up to 40 U/L (0.67 µkat/L) 30°C up to 25 U/L (0.42 µkat/L)

Levels approximately twice the adult level are seen in neonates and infants, these decline to adult level by approximately 6 months of age. It is recommended that each laboratory establishes its own reference range.

QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control (QC), each run should include a set of controls (normal and abnormal) Ref. CT19800-CT19850 with assayed values handled as unknowns. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

The group of enzymes called **transaminases** exist in tissues of many organs. Necrotic activity in these organs causes a release of abnormal quantities of enzyme into the blood where they are measured. Since heart tissue is rich in AST increased serum levels appear in patients after myocardial infarction, as well as in patients with muscle disease, muscular dystrophy and dermatomyositis. The liver is specially rich in ALT, being this enzyme measurement used primarily as a test for infectious and toxic hepatitis, although high levels of both ALT and AST may also be found in cases of liver cell damage and acute pancreatitis, suggesting that the obstruction of the biliary tree by the edema of pancreas and the presence of associated hepatic disease may contribute to elevated AST levels in these patients. Slight or moderate elevations of AST and ALT activities may be observed after intake of alcohol and after administration of various drugs, such as salicylates, opiates and ampicillin. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Bergmeyer, H.V., Horder, M., Rej, R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase, J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24: 497 (1986).
- Young DS, Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Tietz N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).

KR1007-20811

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485

LINEAR CHEMICALS S.L.
08390 Monistrol, SPAIN (EU)



AST/GOT opt.

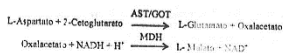
IFCC
Método enzimático UV
CINETICO

CLONATEST AST/GOT opt. 

REF KR10072 5 x 40 mL	REF KR10075 11 x 40 mL
CONTENIDO R1 Reactivo 5 x 32 mL R2 Reactivo 5 x 8 mL	CONTENIDO R1 Reactivo 11 x 32 mL R2 Reactivo 11 x 8 mL
Solo para uso diagnóstico in vitro	

FUNDAMENTO

La aspartato aminotransferasa (AST/GOT) cataliza la transferencia del grupo amino del aspartato al cetoglutarato con la formación de glutamato y oxalacetato. Este último es reducido a malato por la malato deshidrogenasa (MDH) en presencia de nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH). La reacción se controla cinéticamente a 340 nm a través de la disminución de la absorbancia resultante de la oxidación del NADH a NAD⁺, proporcional a la actividad AST en la muestra.



Este test ha sido formulado de acuerdo a los métodos estandarizados descritos por la IFCC. Clin Chem Lab Med 2002; 40(7): 718-724.

REACTIVOS

R1. Sustrato AST. También TRIS 121 mmol/L, pH 7.8, D-aspartato 362 mmol/L, malato deshidrogenasa > 460 U/L.

R2. Coenzima AST. NADH 1,3 mmol/L, 2-cetoglutarato 75 mmol/L, Biotinas.

PREPARACION

Los Reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Después de su uso diario, mantener bien cerrado y protegido de la luz. En el analizador es estable 30 días. Desechar el reactivo si el blanco presenta una absorbancia inferior a 1,300 a 340 nm frente agua destilada.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado u obtenido con EDTA, libre de hemólisis. La AST es estable en suero o plasma 24 horas a temperatura ambiente y hasta 1 semana a 2-8°C.

INTERFERENCIAS

- Lipemia (triglicéridos >15 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina (>30 mg/dL) no interfiere.
- Hemoglobina (>10 g/L) no interfiere.
- Otros aditivos y sustancias pueden interferir.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador KROMA.
- Material de laboratorio.
- Soluciones de lavado Ref. KR18100, KR18200, KR18300, KR18400.

TECNICA AUTOMATICA

Una representación gráfica visualiza los datos específicos correspondientes a la aplicación técnica diseñada para este ensayo. Cualquier aplicación nueva al instrumento deberá validarse para confirmar que los resultados cumplen las características del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485

 LINEAR CHEMICALS S.L.
08300 Montornès, SPAIN (EU)

CALIBRACION

No precisa calibración. La actividad se calcula aplicando un factor técnico.

CALCULOS

El valor de las muestras se calcula automáticamente con el factor técnico.

RESULTADOS

Muestras con A/Amin superiores a 0,160 a 340 nm deben diluirse 1:10 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 10. Para expresar los resultados en unidades SI: U/L x 0,01667 = µkat/L.

VALORES DE REFERENCIA*

Suero, plasma

Adultos	37°C	hasta 40 U/L (0,67 µkat/L)
	30°C	hasta 25 U/L (0,42 µkat/L)

Neonatos y niños doblan los valores observados en adultos acercándose a éstos aproximadamente a los 6 meses de edad.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad (CC) adecuado, se incluirán en cada serie controles valorados (normal y abnormal) Ref. CT19800-CT19850 que se tratarán como muestras problema.

Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplen con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

El grupo de enzimas denominadas transaminasas se hallan presentes en la mayoría de muchos órganos. La actividad enzimática en estos órganos es la responsable de la liberación de productos anormales de enzimas en la sangre. Al ser el tejido cardíaco rico en AST se presentan niveles séricos aumentados en pacientes tras un infarto de miocardio, así como en pacientes con enfermedades musculares, distrofia muscular y dermatomiositis. El hígado es especialmente rico en ALT, siendo su determinación útil para el diagnóstico de enfermedades hepáticas y pancreáticas agudas, situación que puede indicar que la obstrucción del árbol biliar por un páncreas edematoso y la presencia de una enfermedad hepática asociada pueden contribuir a los elevados aumentos de AST en estos pacientes. Aumentos entre ligeros y moderados pueden observarse tras la ingesta de alcohol y tras la administración de ciertos fármacos, tales como salicilatos, opiáceos y ampicilina.

* El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

Las características analíticas están disponibles bajo solicitud.

REFERENCIAS

1. Bergmeyer, H.V., Horler, M., Berg, R. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 2. IFCC Method for Aspartate Aminotransferase, J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24: 497 (1986).
2. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
3. Tietz N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).

Lampiran 5. Surat keterangan tanda pemesanan zat aktif parasetamol

HEBEI JIHENG (GROUP) PHARMACEUTICAL CO., LTD.
 No. 368 Jianshe Street, Hengshui City, Hebei Province, 053000 P.R. China
 Tel: +86 318 2990388 Fax: 86 3182182958
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Name of Product	PARACETAMOL		
Lot No.	1606157	Report No.	06157
Quantity	11000Kg	Test Date	2016/06/21
Mfg date	2016/06/20	Exp. date	2020/06/19
Quality Standard	BP2013/USP35		

Tests	Standards	Results
Appearance	white or almost white ,crystalline powder.	white crystalline powder.
Identification	A:IR absorption	Positive
	B:UV absorption	Positive
	C:TLC	Positive
Melting point	168~172°C	169.0~169.9°C
Water	Not more than 0.5%	0.06%
Related substances	Impurity J(chloroacetanilide) not more than 10 ppm	Not detected
	Impurity K(4-aminophenol) not more than 50 ppm	3ppm
	Impurity F(4-nitrophenol) not more than 0.05%	Not detected
	Any other impurity not more than 0.05%	0.02%
	Total of other impurities not more than 0.1%	0.02%
Residue on ignition	Not more than 0.1%	0.05%
Chloride	Not more than 0.014%	Less than 0.014%
Sulfate	Not more than 0.02%	Less than 0.02%
Sulfide	No coloration or spotting of the test paper occurs.	Conforms
Heavy metals	Not more than 0.001%	Less than 0.001%
Free p-aminophenol	Not more than 0.005%	Less than 0.005%
Limit of P-chloroacetanilide	Not more than 0.001%	Less than 0.001%
Readily carbonizable substances	The solution has no more color than Matching Fluid A.	Conforms
Loss on drying	Not more than 0.5%	0.09%
Residual solvents	Residual content of acetic acid is limited by the test of loss on drying not more than 0.5%	<0.09%
Assay (anhydrous basis)	99.0~101.0%	99.9%
Conclusion:	Complies with BP2013/USP35	
Reported by	Reviewed by	Approved by

Lampiran 6. Gambar tanaman kelor, daun kelor basah dan daun kelor kering



Gambar 6a. Tanaman kelor



Gambar 6b. daun kelor basah

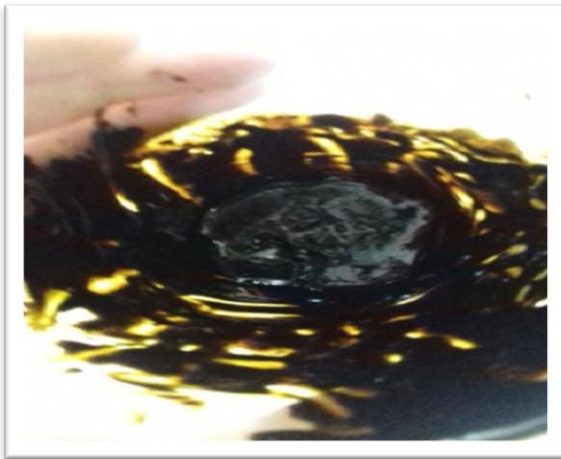


Gambar 6c. Daun Kelor kering

Lampiran 7. Bahan uji



Gambar 7a. Serbuk daun kelor



Gambar 7c. Ekstrak daun kelor



Gambar 7e. Tablet Curcuma



Gambar 7b. Hasil maserasi



Gambar 7d. Parasetamol dan Curcuma

Lampiran 8. Hewan uji tikus putih galur wistar

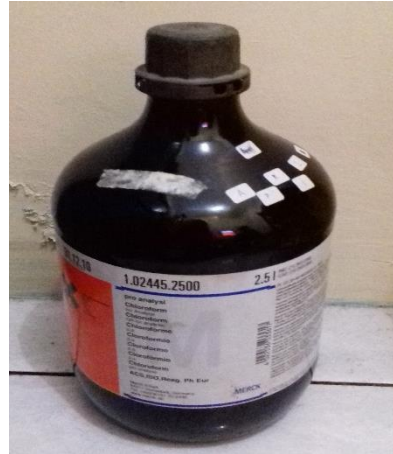


Gambar 8a. Hewan uji Tikus Putih Galur Wistar

Lampiran 9. Peralatan dan perlengkapan dalam penelitian



Gambar 9a. Oven



Gambar 9b. Bejana maserasi



Gambar 9c. Rotary evaporator
balance



Gambar 9d. Moisture
balance



Gambar 9e. Alat Sentrifuse



Gambar 9f. Fotometer Stardust



Gambar 9g. Mixture

Gambar 9h. Micropipet



Gambar 9i. reagen AST & ALT

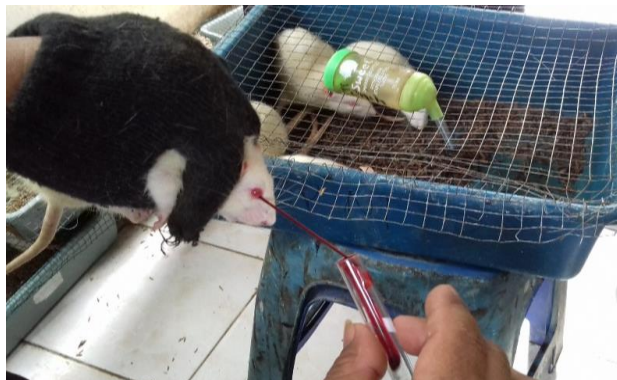


Gambar 9j. Pipette Tips

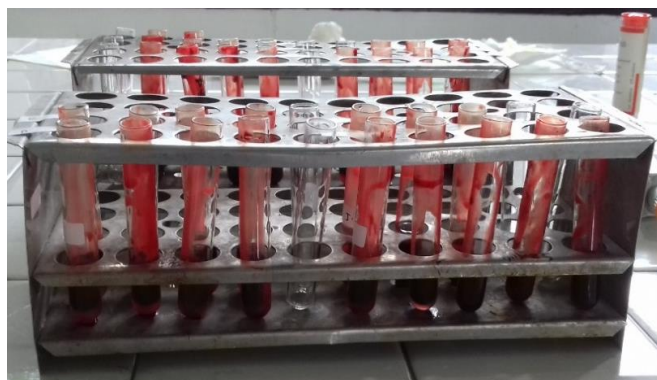
Lampiran 10. Perlakuan hewan uji dan darah



Gambar 10a. Pemberian Ekstrak Secara Oral

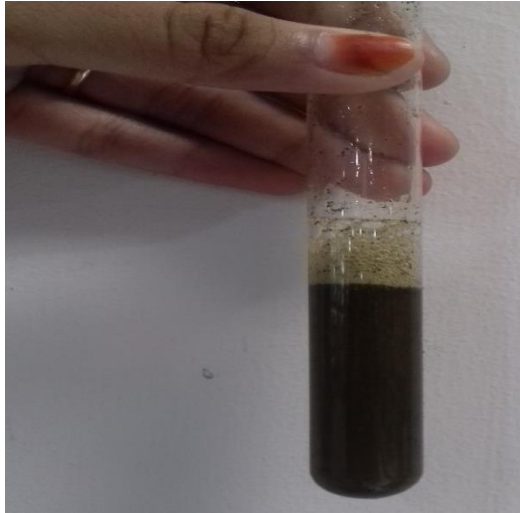


Gambar 10b. Pengambilan Darah Lewat Mata



Gambar 10c. Darah Hewan Uji

Lampiran 11. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor



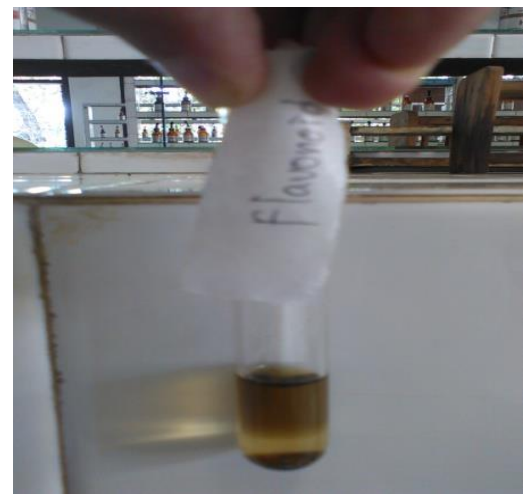
Gambar 11a. Uji Saponin



Gambar 11b. Uji Tanin



Gambar 11c. Uji Fenol



Gambar 11d. Uji Flavonoid



Gambar 11e. Uji Alkaloid

Lampiran 12. Hasil persentase rendemen berat kering terhadap berat basah daun kelor

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (% b/b)
5500	1100	42,22

Perhitungan rendemen :

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

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = \frac{1100}{5500} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = 42,22\%$$

Kesimpulan: persentase rendemen daun kelor kering terhadap daun kelor basah adalah 42,22 % b/b

Lampiran 13. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor

Hasil petepan susut pengeringan serbuk daun kelor dengan menggunakan *moisture balance*.

No.	Berat awal (g)	Sisa (g)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,88	6,0
2	2,00	1,90	5,9
3	2,00	1,91	5,4
Rata-rata			5,8

Perhitungan rata-rata susut pengeringan serbuk daun kelor adalah:

$$\frac{6 + 5,9 + 5,4}{3} = 5,8 \%$$

Lampiran 14. Hasil persentase rendemen ekstrak maserasi daun kelor

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

Perhitungan persen rendemen ekstrak etanol daun kelor

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

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

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

Kesimpulan: persentase rendemen ekstrak etanol daun kelor terhadap serbuk adalah 12,5 % b/b

Lampiran 15. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun kelor

Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun kelor dengan menggunakan *moisture balance*.

No.	Berat awal (g)	Sisa (g)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,90	5,0
2	2,00	1,93	3,5
3	2,00	1,91	4,5
Rata-rata			4,3

Perhitungan rata-rata susut pengeringan serbuk daun kelor adalah:

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

Lampiran 16. Perhitungan dosis

1. Perhitungan volume pemberian

Perhitungan volume pemberian larutan stok didasarkan pada berat badan tikus. Pada penelitian ini, jalur pemberian larutan uji ekstrak yang dilakukan adalah secara peroral, dengan volume volume maksimum yang diberikan sebesar 5,0 (Harmita & Radji 2005). Sehingga setiap pembuatan larutan stok yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 ml. Jika tikus memiliki berat badan 170 mg, maka:

$$\frac{170 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

2. Induksi parasetamol

Dosis parasetamol dihitung berdasarkan tabel konversi manusia dengan berat 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g. Dosis toksik parasetamol yang akan dipakai pada penelitian ini adalah 15 gram.

$$\begin{aligned} \text{Faktor konversi dari manusia-tikus} &= 15 \text{ g} \times 0,0018 \\ &= 0,27 \text{ g}/200 \text{ g BB tikus putih} \end{aligned}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{0,27 \text{ g}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 13,5 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

3. Curcuma®

Dosis Curcuma® dihitung berdasarkan tabel konversi manusia dengan berat 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g. Dosis kandungan kurkumin dalam satu tablet Curcuma® adalah 200 mg untuk satu kali minum.

$$\begin{aligned} \text{Faktor konversi dari manusia-tikus} &= 200 \text{ mg} \times 0,0018 \\ &= 3,6 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus putih} \end{aligned}$$

4. Ekstrak daun kelor

Dosis ekstrak daun kelor yang ditetapkan berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Rahmawati (2016) yang membuktikan dosis efektif sebesar 0,036 g/200 g BB tikus, tetapi digunakan dalam bentuk ekstrak sari segar. Dalam penelitian ini dosis tersebut dijadikan dosis tengah, dengan menggunakan tiga peringkat dosis yaitu dosis ekstrak etanol daun kelor terendah sebesar 18 mg/200 g BB tikus, dosis tengah sebesar 36 mg/200 g BB tikus, dan dosis tertinggi sebesar 72 mg/200 g BB tikus.

$$\text{Larutan stok} = \frac{18 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,9 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{36 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 1,8 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{72 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 3,6 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

Lampiran 17. Hasil penimbangan berat badan tikus dan volume pemberian obat

Kelompok	Tikus	Berat	Volume Pemberian (ml)			
			CMC	Parasetamo	Curcum®	Dosis daun kelor
Kontrol normal	1	190	1	-	-	-
	2	185	1	-	-	-
	3	172	1	-	-	-
	4	170	1	-	-	-
	5	195	1	-	-	-
Kontrol negatif	1	200	1	2,00	-	-
	2	174	1	1,74	-	-
	3	186	1	1,86	-	-
	4	210	1	2,10	-	-
	5	205	1	2,05	-	-
Kontrol positif	1	190	-	1,90	0,8	-
	2	187	-	1,87	0.8	-
	3	211	-	2,11	0.9	-
	4	198	-	1,98	0,8	-
	5	175	-	1,75	0,7	-
Dosis 90 mg/kg BB	1	179	-	1,79	-	1,79
	2	180	-	1,80	-	1,80
	3	210	-	2,10	-	2,10
	4	185	-	1,85	-	1,85
	5	205	-	2,05	-	2,05

Dosis 180 mg/kg BB	1	170	-	1,70	-	1,70
	2	182	-	1,82	-	1,82
	3	190	-	1,90	-	1,90
	4	177	-	1,77	-	1,77
	5	188	-	1,88	-	1,88
Dosis 360 mg/kg BB	1	204	-	2,04	-	2,04
	2	210	-	2,10	-	2,10
	3	195	-	1,95	-	1,95
	4	203	-	2,03	-	2,03
	5	186	-	1,86	-	1,86

Lampiran 18. Hasil data penetapan kadar ALT

	Tikus	Harga parameter (U/I)		AUC	Persen penurunan
Kelompok		Sebelum	Sesudah		
Kontrol normal	1)	46.3	42.7	445	0
	2)	54.8	51.8	533	0
	3)	40.1	33.9	370	26.44
	4)	27.9	25.3	266	60.41
	5)	33.2	31.6	324	48.65
	X	40.46	37.06	387.6	27.10
	SD	10.61	9.24	104.37	27.58
Kontrol negatif	1)	31.3	57.3	443	0
	2)	45.5	58.9	522	0
	3)	30.9	69.7	503	0
	4)	51.6	82.8	672	0
	5)	58.8	67.4	631	0
	X	43.62	67.22	554.2	0
	SD	12.36	10.20	94.60	0
Kontrol positif	1)	43.2	35.3	392.5	11.39
	2)	38.7	29.9	343	34.29
	3)	50.6	32.8	417	17.09
	4)	43.9	29.5	367	45.38
	5)	53.8	34.4	441	30.11
	X	46.04	32.38	392.1	27.65
	SD	6.07	2.60	38.89	13.60
Perlakuan I (90 mg/kgbb)	1)	49.1	47.9	485	0
	2)	61.7	56.8	592.5	0
	3)	60.9	57.5	592	0
	4)	60.6	58.7	596.5	11.23
	5)	55.4	51.3	533.5	15.45
	X	57.54	54.44	559.9	5.33
	SD	5.33	4.62	49.34	7.45
Perlakuan II (180 mg/kgbb)	1)	49.7	44.2	469.5	0
	2)	57.8	51.4	546	0
	3)	56.9	47.7	523	0
	4)	55.5	46.1	508	24.4047619
	5)	48.1	43.3	457	27.57527734
	X	53.6	46.54	500.7	10.39600785
	SD	4.40	3.20	37.03	14.27938574
Perlakuan III (360 mg/kgbb)	1)	50.2	40.1	451.5	0
	2)	45.7	38.8	422.5	19.06
	3)	48.5	40.6	445.5	14.65
	4)	36.3	33.5	349	48.06
	5)	60.1	39.4	497.5	21.15
	X	48.16	38.48	433.2	20.58
	SD	8.56	2.86	54.37	17.44

Lampiran 19. Hasil data penetapan kadar AST

Kelompok	Tikus	Harga Parameter (U/I)		AUC	Persen Penurunan
		Tawal	Takhir		
Kontrol normal	1)	97	94	955	3.04
	2)	91	89	900	20.35
	3)	80	78	790	30.08
	4)	93	91	920	22.03
	5)	89	80	845	33.72
	X	90	86.4	882	22.63
	SD	6.32	7.02	65.05	11.88
Kontrol negatif	1)	77	120	985	0
	2)	92	134	1130	0
	3)	87	139	1130	0
	4)	96	140	1180	0
	5)	103	152	1275	0
	X	91	137	1140	0
	SD	9.77	11.57	104.94	0
Kontrol positif	1)	108	97	1025	0
	2)	106	95	1005	11.06
	3)	96	83	895	20.79
	4)	91	82	865	26.69
	5)	100	86	930	27.05
	X	100.2	88.6	944	17.12
	SD	7.01	6.94	69.13	11.55
Perlakuan I (90 mg/kgbb)	1)	116	114	1150	0
	2)	102	95	985	12.83
	3)	119	110	1145	0
	4)	101	98	995	15.67
	5)	115	109	1120	12.15
	X	110.6	105.2	1079	8.13
	SD	8.44	8.22	82.11	7.54
Perlakuan II (180 mg/kgbb)	1)	99	93	960	2.53
	2)	85	81	830	26.54
	3)	94	87	905	19.91
	4)	120	112	1160	1.69
	5)	115	109	1120	12.15
	X	102.6	96.4	995	12.57
	SD	14.60	13.59	140.89	10.82
Perlakuan III (360 mg/kgbb)	1)	111	96	1035	0
	2)	97	89	930	17.69
	3)	116	107	1115	1.32
	4)	100	96	980	16.94
	5)	98	86	920	27.84
	X	104.4	94.8	996	12.76
	SD	8.56	8.10	80.73	11.86

Lampiran 20. Hasil analisa statistik kadar enzim ALT pada T_{awal}

Tests of Normality

kelompok perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar ALT awal	kontrol normal	.153	5	.200 [*]	.983	5	.950
	kontrol negatif	.241	5	.200 [*]	.899	5	.405
	kontrol positif	.238	5	.200 [*]	.947	5	.718
	dosis kelor I	.317	5	.112	.827	5	.133
	dosis kelor II	.267	5	.200 [*]	.863	5	.240
	dosis kelor III	.206	5	.200 [*]	.973	5	.897

a. Lilliefors Significance Correction

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

Descriptives

kadar ALT awal

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol normal	5	40.4600	10.61051	4.74517	27.2853	53.6347	27.90	54.80
kontrol negatif	5	43.6200	12.36151	5.52824	28.2712	58.9688	30.90	58.80
kontrol positif	5	46.0400	6.07314	2.71599	38.4992	53.5808	38.70	53.80
dosis kelor I	5	57.5400	5.33320	2.38508	50.9180	64.1620	49.10	61.70
dosis kelor II	5	53.6000	4.40454	1.96977	48.1310	59.0690	48.10	57.80
dosis kelor III	5	48.1600	8.56668	3.83114	37.5231	58.7969	36.30	60.10
Total	30	48.2367	9.65564	1.76287	44.6312	51.8421	27.90	61.70

Test of Homogeneity of Variances

kadar ALT awal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.693	5	24	.175

ANOVA

kadar ALT awal

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1009.694	5	201.939	2.861	.036
Within Groups	1694.016	24	70.584		
Total	2703.710	29			

Multiple Comparisons

kadar ALT awal

Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol negatif	-3.16000	5.31353	.990	-19.5891	13.2691
	kontrol positif	-5.58000	5.31353	.896	-22.0091	10.8491
	dosis kelor I	-17.08000*	5.31353	.038	-33.5091	-.6509
	dosis kelor II	-13.14000	5.31353	.172	-29.5691	3.2891
	dosis kelor III	-7.70000	5.31353	.698	-24.1291	8.7291
kontrol negatif	kontrol normal	3.16000	5.31353	.990	-13.2691	19.5891
	kontrol positif	-2.42000	5.31353	.997	-18.8491	14.0091
	dosis kelor I	-13.92000	5.31353	.131	-30.3491	2.5091
	dosis kelor II	-9.98000	5.31353	.439	-26.4091	6.4491
	dosis kelor III	-4.54000	5.31353	.954	-20.9691	11.8891
kontrol positif	kontrol normal	5.58000	5.31353	.896	-10.8491	22.0091

	kontrol negatif	2.42000	5.31353	.997	-14.0091	18.8491
	dosis kelor I	-11.50000	5.31353	.290	-27.9291	4.9291
	dosis kelor II	-7.56000	5.31353	.713	-23.9891	8.8691
	dosis kelor III	-2.12000	5.31353	.999	-18.5491	14.3091
dosis kelor I	kontrol normal	17.08000*	5.31353	.038	.6509	33.5091
	kontrol negatif	13.92000	5.31353	.131	-2.5091	30.3491
	kontrol positif	11.50000	5.31353	.290	-4.9291	27.9291
	dosis kelor II	3.94000	5.31353	.974	-12.4891	20.3691
	dosis kelor III	9.38000	5.31353	.505	-7.0491	25.8091
dosis kelor II	kontrol normal	13.14000	5.31353	.172	-3.2891	29.5691
	kontrol negatif	9.98000	5.31353	.439	-6.4491	26.4091
	kontrol positif	7.56000	5.31353	.713	-8.8691	23.9891
	dosis kelor I	-3.94000	5.31353	.974	-20.3691	12.4891
	dosis kelor III	5.44000	5.31353	.905	-10.9891	21.8691
dosis kelor III	kontrol normal	7.70000	5.31353	.698	-8.7291	24.1291
	kontrol negatif	4.54000	5.31353	.954	-11.8891	20.9691
	kontrol positif	2.12000	5.31353	.999	-14.3091	18.5491
	dosis kelor I	-9.38000	5.31353	.505	-25.8091	7.0491
	dosis kelor II	-5.44000	5.31353	.905	-21.8691	10.9891

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

kadar ALT awalTukey HSD^a

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol normal	5	40.4600	
kontrol negatif	5	43.6200	43.6200
kontrol positif	5	46.0400	46.0400
dosis kelor III	5	48.1600	48.1600
dosis kelor II	5	53.6000	53.6000
dosis kelor I	5		57.5400
Sig.		.172	.131

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 21. Hasil analisa statistik kadar enzim ALT pada T_{akhir}

Tests of Normality							
kelompokperlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KadarALTakhir	kontrol normal	.220	5	.200 [*]	.964	5	.835
	kontrol negatif	.204	5	.200 [*]	.918	5	.517
	kontrol positif	.229	5	.200 [*]	.897	5	.392
	dosis kelor I	.295	5	.179	.878	5	.300
	dosis kelor II	.167	5	.200 [*]	.943	5	.688
	dosis kelor III	.344	5	.053	.771	5	.046

a. Lilliefors Significance Correction

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

Descriptives

KadarALTakhir

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol normal	5	37.0600	10.33407	4.62154	24.2286	49.8914	25.30	51.80
kontrol negatif	5	67.2200	10.20475	4.56370	54.5491	79.8909	57.30	82.80
kontrol positif	5	32.3800	2.60902	1.16679	29.1405	35.6195	29.50	35.30
dosis kelor I	5	54.4400	4.62904	2.07017	48.6923	60.1877	47.90	58.70
dosis kelor II	5	46.5400	3.20671	1.43409	42.5583	50.5217	43.30	51.40
dosis kelor III	5	38.4800	2.86653	1.28195	34.9207	42.0393	33.50	40.60
Total	30	46.0200	13.45440	2.45643	40.9960	51.0440	25.30	82.80

ANOVA

kadarALTakhir

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4218.948	5	843.790	19.649	.000
Within Groups	1030.660	24	42.944		
Total	5249.608	29			

Test of Homogeneity of Variances

kadarALTakhir

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.157	5	24	.025

Multiple Comparisons

kadarALTakhir

Tukey HSD

(I) kelompok kelompokperlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol negatif	-30.16000*	4.14459	.000	-42.9748	-17.3452
	kontrol positif	4.68000	4.14459	.864	-8.1348	17.4948
	dosis kelor I	-17.38000*	4.14459	.004	-30.1948	-4.5652
	dosis kelor II	-9.48000	4.14459	.238	-22.2948	3.3348
	dosis kelor III	-1.42000	4.14459	.999	-14.2348	11.3948

kontrol negatif	kontrol normal	30.16000 [*]	4.14459	.000	17.3452	42.9748
	kontrol positif	34.84000 [*]	4.14459	.000	22.0252	47.6548
	dosis kelor I	12.78000	4.14459	.051	-.0348	25.5948
	dosis kelor II	20.68000 [*]	4.14459	.001	7.8652	33.4948
	dosis kelor III	28.74000 [*]	4.14459	.000	15.9252	41.5548
kontrol positif	kontrol normal	-4.68000	4.14459	.864	-17.4948	8.1348
	kontrol negatif	-34.84000 [*]	4.14459	.000	-47.6548	-22.0252
	dosis kelor I	-22.06000 [*]	4.14459	.000	-34.8748	-9.2452
	dosis kelor II	-14.16000 [*]	4.14459	.024	-26.9748	-1.3452
	dosis kelor III	-6.10000	4.14459	.684	-18.9148	6.7148
dosis kelor I	kontrol normal	17.38000 [*]	4.14459	.004	4.5652	30.1948
	kontrol negatif	-12.78000	4.14459	.051	-25.5948	.0348
	kontrol positif	22.06000 [*]	4.14459	.000	9.2452	34.8748
	dosis kelor II	7.90000	4.14459	.423	-4.9148	20.7148
	dosis kelor III	15.96000 [*]	4.14459	.009	3.1452	28.7748
dosis kelor II	kontrol normal	9.48000	4.14459	.238	-3.3348	22.2948
	kontrol negatif	-20.68000 [*]	4.14459	.001	-33.4948	-7.8652

	kontrol positif	14.16000*	4.14459	.024	1.3452	26.9748
	dosis kelor I	-7.90000	4.14459	.423	-20.7148	4.9148
	dosis kelor III	8.06000	4.14459	.401	-4.7548	20.8748
dosis kelor III	kontrol normal	1.42000	4.14459	.999	-11.3948	14.2348
	kontrol negatif	-28.74000*	4.14459	.000	-41.5548	-15.9252
	kontrol positif	6.10000	4.14459	.684	-6.7148	18.9148
	dosis kelor I	-15.96000*	4.14459	.009	-28.7748	-3.1452
	dosis kelor II	-8.06000	4.14459	.401	-20.8748	4.7548

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

Kadar ALTakhir

Tukey HSD^a

Kelompokperlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol positif	5	32.3800			
kontrol normal	5	37.0600	37.0600		
dosis kelor III	5	38.4800	38.4800		
dosis kelor II	5		46.5400	46.5400	
dosis kelor I	5			54.4400	54.4400
kontrol negatif	5				67.2200
Sig.		.684	.238	.423	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 22. Hasil analisa statistik kadar AUC ALT

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AUC_ALT	.089	20	.200*	.962	20	.582

a. Lilliefors Significance Correction

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

Descriptives

AUC_ALT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok positif	5	392.1000	38.89794	17.39569	343.8018	440.3982	343.00	441.00
dosis I	5	559.9000	49.34496	22.06774	498.6301	621.1699	485.00	596.50
dosis II	5	500.7000	37.03309	16.56170	454.7173	546.6827	457.00	546.00
dosis III	5	433.2000	54.37095	24.31543	365.6896	500.7104	349.00	497.50
Total	20	471.4750	77.89829	17.41859	435.0175	507.9325	343.00	596.50

Test of Homogeneity of Variances

AUC_ALT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.279	3	16	.840

ANOVA

AUC_ALT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	82192.237	3	27397.412	13.242	.000
Within Groups	33102.500	16	2068.906		
Total	115294.737	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

AUC_ALT

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok positif	dosis I	-167.80000*	28.76739	.000	-250.1041	-85.4959
	dosis II	-108.60000*	28.76739	.008	-190.9041	-26.2959
	dosis III	-41.10000	28.76739	.501	-123.4041	41.2041
dosis I	kelompok positif	167.80000*	28.76739	.000	85.4959	250.1041
	dosis II	59.20000	28.76739	.209	-23.1041	141.5041
	dosis III	126.70000*	28.76739	.002	44.3959	209.0041
dosis II	kelompok positif	108.60000*	28.76739	.008	26.2959	190.9041
	dosis I	-59.20000	28.76739	.209	-141.5041	23.1041
	dosis III	67.50000	28.76739	.129	-14.8041	149.8041
dosis III	kelompok positif	41.10000	28.76739	.501	-41.2041	123.4041
	dosis I	-126.70000*	28.76739	.002	-209.0041	-44.3959
	dosis II	-67.50000	28.76739	.129	-149.8041	14.8041

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

AUC_ALT

Tukey HSD^a

kelompokperlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok positif	5	392.1000		
dosis III	5	433.2000	433.2000	
dosis II	5		500.7000	500.7000
dosis I	5			559.9000
Sig.		.501	.129	.209

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

AUC_ALTTukey HSD^a

kelompokperlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok positif	5	392.1000		
dosis III	5	433.2000	433.2000	
dosis II	5		500.7000	500.7000
dosis I	5			559.9000
Sig.		.501	.129	.209

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 23. Hasil analisa statistik persen penurunan AUC ALT

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persenpenurunan_AUC_ALT	.188	20	.062	.887	20	.024

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

persenpenurunan_AUC_ALT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol positif	5	17.1180	11.54856	5.16467	2.7786	31.4574	.00	27.05
dosis I	5	8.1300	7.53817	3.37117	-1.2299	17.4899	.00	15.67
dosis II	5	12.5640	10.82115	4.83936	-.8722	26.0002	1.69	26.54
dosis III	5	12.7580	11.86249	5.30507	-1.9712	27.4872	.00	27.84
Total	20	12.6425	10.24463	2.29077	7.8479	17.4371	.00	27.84

Test of Homogeneity of Variances

persenpenurunan_AUC_ALT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.499	3	16	.688

ANOVA

persenpenurunan_AUC_ALT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	202.061	3	67.354	.601	.623
Within Groups	1792.036	16	112.002		
Total	1994.097	19			

Multiple Comparisons

persenpenurunan_AUC_ALT
Tukey HSD

(I) kelompokperlakuan	(J) kelompokperlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	dosis I	8.98800	6.69335	.551	-10.1618	28.1378
	dosis II	4.55400	6.69335	.903	-14.5958	23.7038
	dosis III	4.36000	6.69335	.914	-14.7898	23.5098
dosis I	kontrol positif	-8.98800	6.69335	.551	-28.1378	10.1618
	dosis II	-4.43400	6.69335	.910	-23.5838	14.7158
	dosis III	-4.62800	6.69335	.899	-23.7778	14.5218
dosis II	kontrol positif	-4.55400	6.69335	.903	-23.7038	14.5958
	dosis I	4.43400	6.69335	.910	-14.7158	23.5838
	dosis III	-.19400	6.69335	1.000	-19.3438	18.9558
dosis III	kontrol positif	-4.36000	6.69335	.914	-23.5098	14.7898
	dosis I	4.62800	6.69335	.899	-14.5218	23.7778
	dosis II	.19400	6.69335	1.000	-18.9558	19.3438

Lampiran 24. Hasil Analisa statistik kadar enzim AST pada T_{awal}**Descriptives****Tests of Normality**

kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok kontrol normal	.237	5	.200 [*]	.940	5	.667
AST awal kontrol negatif	.141	5	.200 [*]	.991	5	.982
kontrol positif	.196	5	.200 [*]	.955	5	.776
dosis kelor I	.299	5	.165	.825	5	.128
dosis kelor II	.202	5	.200 [*]	.941	5	.671
dosis kelor III	.296	5	.174	.848	5	.188

a. Lilliefors Significance Correction

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

kelompok AST awal

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol normal	5	90.0000	6.32456	2.82843	82.1470	97.8530	80.00	97.00
kontrol negatif	5	91.0000	9.77241	4.37035	78.8660	103.1340	77.00	103.00
kontrol positif	5	100.2000	7.01427	3.13688	91.4906	108.9094	91.00	108.00
dosis kelor I	5	110.6000	8.44393	3.77624	100.1155	121.0845	101.00	119.00
dosis kelor II	5	102.6000	14.60479	6.53146	84.4658	120.7342	85.00	120.00
dosis kelor III	5	104.4000	8.56154	3.82884	93.7694	115.0306	97.00	116.00
Total	30	99.8000	11.39691	2.08078	95.5443	104.0557	77.00	120.00

Test of Homogeneity of Variances

kelompok AST awal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.871	5	24	.137

ANOVA

kelompok AST awal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1596.400	5	319.280	3.531	.016
Within Groups	2170.400	24	90.433		
Total	3766.800	29			

Multiple Comparisons

kelompok AST awal

Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol negatif	-1.00000	6.01443	1.000	-19.5962	17.5962
	kontrol positif	-10.20000	6.01443	.547	-28.7962	8.3962
	dosis kelor I	-20.60000*	6.01443	.024	-39.1962	-2.0038
	dosis kelor II	-12.60000	6.01443	.323	-31.1962	5.9962
	dosis kelor III	-14.40000	6.01443	.198	-32.9962	4.1962
kontrol negatif	kontrol normal	1.00000	6.01443	1.000	-17.5962	19.5962
	kontrol positif	-9.20000	6.01443	.650	-27.7962	9.3962
	dosis kelor I	-19.60000*	6.01443	.035	-38.1962	-1.0038
	dosis kelor II	-11.60000	6.01443	.410	-30.1962	6.9962
	dosis kelor III	-13.40000	6.01443	.262	-31.9962	5.1962
kontrol positif	kontrol normal	10.20000	6.01443	.547	-8.3962	28.7962
	kontrol negatif	9.20000	6.01443	.650	-9.3962	27.7962
	dosis kelor I	-10.40000	6.01443	.527	-28.9962	8.1962
	dosis kelor II	-2.40000	6.01443	.999	-20.9962	16.1962
	dosis kelor III	-4.20000	6.01443	.980	-22.7962	14.3962
dosis kelor I	kontrol normal	20.60000*	6.01443	.024	2.0038	39.1962
	kontrol negatif	19.60000*	6.01443	.035	1.0038	38.1962
	kontrol positif	10.40000	6.01443	.527	-8.1962	28.9962
	dosis kelor II	8.00000	6.01443	.766	-10.5962	26.5962
	dosis kelor III	6.20000	6.01443	.903	-12.3962	24.7962
dosis kelor II	kontrol normal	12.60000	6.01443	.323	-5.9962	31.1962
	kontrol negatif	11.60000	6.01443	.410	-6.9962	30.1962
	kontrol positif	2.40000	6.01443	.999	-16.1962	20.9962
	dosis kelor I	-8.00000	6.01443	.766	-26.5962	10.5962
	dosis kelor III	-1.80000	6.01443	1.000	-20.3962	16.7962
dosis	kontrol normal	14.40000	6.01443	.198	-4.1962	32.9962

kelor III	kontrol negatif	13.40000	6.01443	.262	-5.1962	31.9962
	kontrol positif	4.20000	6.01443	.980	-14.3962	22.7962
	dosis kelor I	-6.20000	6.01443	.903	-24.7962	12.3962
	dosis kelor II	1.80000	6.01443	1.000	-16.7962	20.3962

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

Tests of Normality

kontrolperlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadarAS	kontrol normal	.244	5	.200 [*]	.896	5	.386
Takhir	kontrol negatif	.198	5	.200 [*]	.963	5	.827
	kontrol positif	.246	5	.200 [*]	.857	5	.217
	dosis kelor I	.278	5	.200 [*]	.890	5	.357
	dosis kelor II	.223	5	.200 [*]	.908	5	.458
	dosis kelor III	.241	5	.200 [*]	.932	5	.607

a. Lilliefors Significance Correction

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

Tukey HSD^a

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol normal	5	90.0000	
kontrol negatif	5	91.0000	
kontrol positif	5	100.2000	100.2000
dosis kelor II	5	102.6000	102.6000
dosis kelor III	5	104.4000	104.4000
dosis kelor I	5		110.6000
Sig.		.198	.527

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 25. Hasil analisa statistik kadar enzim AST pada T_{akhir}**Descriptives**

kelompok AST awal

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol normal	5	90.0000	6.32456	2.82843	82.1470	97.8530	80.00	97.00
kontrol negatif	5	91.0000	9.77241	4.37035	78.8660	103.1340	77.00	103.00
kontrol positif	5	100.2000	7.01427	3.13688	91.4906	108.9094	91.00	108.00
dosis kelor I	5	110.6000	8.44393	3.77624	100.1155	121.0845	101.00	119.00
dosis kelor II	5	102.6000	14.60479	6.53146	84.4658	120.7342	85.00	120.00
dosis kelor III	5	104.4000	8.56154	3.82884	93.7694	115.0306	97.00	116.00
Total	30	99.8000	11.39691	2.08078	95.5443	104.0557	77.00	120.00

ANOVA

kadarASTakhir

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8696.000	5	1739.200	18.980	.000
Within Groups	2199.200	24	91.633		
Total	10895.200	29			

Lampiran 26. Hasil analisa statistik kadar AUC AST

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AUC_AST	.162	20	.176	.939	20	.226

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

AUC_AST

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol positif	5	944.0000	69.13754	30.91925	858.1544	1029.8456	865.00	1025.00
dosis I	5	1079.0000	82.11273	36.72193	977.0436	1180.9564	985.00	1150.00
dosis II	5	995.0000	140.89003	63.00794	820.0619	1169.9381	830.00	1160.00
dosis III	5	996.0000	80.73103	36.10402	895.7592	1096.2408	920.00	1115.00
Total	20	1003.5000	102.18791	22.84991	955.6746	1051.3254	830.00	1160.00

Test of Homogeneity of Variances

AUC_AST

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.515	3	16	.095

ANOVA

AUC_AST

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	46845.000	3	15615.000	1.648	.218
Within Groups	151560.000	16	9472.500		
Total	198405.000	19			

Multiple Comparisons

AUC_AST

Tukey HSD

(I) kelompokperlaku an	(J) kelompokperlaku an	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	dosis I	-135.00000	61.55485	.167	-311.1097	41.1097
	dosis II	-51.00000	61.55485	.840	-227.1097	125.1097
	dosis III	-52.00000	61.55485	.832	-228.1097	124.1097
dosis I	kontrol positif	135.00000	61.55485	.167	-41.1097	311.1097
	dosis II	84.00000	61.55485	.538	-92.1097	260.1097
	dosis III	83.00000	61.55485	.547	-93.1097	259.1097
dosis II	kontrol positif	51.00000	61.55485	.840	-125.1097	227.1097
	dosis I	-84.00000	61.55485	.538	-260.1097	92.1097
	dosis III	-1.00000	61.55485	1.000	-177.1097	175.1097
dosis III	kontrol positif	52.00000	61.55485	.832	-124.1097	228.1097
	dosis I	-83.00000	61.55485	.547	-259.1097	93.1097
	dosis II	1.00000	61.55485	1.000	-175.1097	177.1097

AUC_AST

Tukey HSD^a

Kelompokperlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kontrol positif	5	944.0000
dosis II	5	995.0000
dosis III	5	996.0000
dosis I	5	1079.0000
Sig.		.167

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 27. Hasil analisa statistik persen penurunan AUC AST

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persenpenurunan_AUC_AST	.188	20	.062	.887	20	.024

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

persenpenurunan_AUC_AST

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol positif	5	17.1180	11.54856	5.16467	2.7786	31.4574	.00	27.05
dosis I	5	8.1300	7.53817	3.37117	-1.2299	17.4899	.00	15.67
dosis II	5	12.5640	10.82115	4.83936	-.8722	26.0002	1.69	26.54
dosis III	5	12.7580	11.86249	5.30507	-1.9712	27.4872	.00	27.84
Total	20	12.6425	10.24463	2.29077	7.8479	17.4371	.00	27.84

Test of Homogeneity of Variances

persenpenurunan_AUC_AST

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.499	3	16	.688

ANOVA

persenpenurunan_AUC_AST

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	202.061	3	67.354	.601	.623
Within Groups	1792.036	16	112.002		
Total	1994.097	19			

Multiple Comparisons

persenpenurunan_AUC_AST

Tukey HSD

(I) kelompokperlaku an	(J) kelompokperlaku an	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	dosis I	8.98800	6.69335	.551	-10.1618	28.1378
	dosis II	4.55400	6.69335	.903	-14.5958	23.7038
	dosis III	4.36000	6.69335	.914	-14.7898	23.5098
dosis I	kontrol positif	-8.98800	6.69335	.551	-28.1378	10.1618
	dosis II	-4.43400	6.69335	.910	-23.5838	14.7158
	dosis III	-4.62800	6.69335	.899	-23.7778	14.5218
dosis II	kontrol positif	-4.55400	6.69335	.903	-23.7038	14.5958
	dosis I	4.43400	6.69335	.910	-14.7158	23.5838
	dosis III	-.19400	6.69335	1.000	-19.3438	18.9558
dosis III	kontrol positif	-4.36000	6.69335	.914	-23.5098	14.7898
	dosis I	4.62800	6.69335	.899	-14.5218	23.7778
	dosis II	.19400	6.69335	1.000	-18.9558	19.3438

persenpenurunan_AUC_AST

Tukey HSD^a

kelompokperlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis I	5	8.1300
dosis II	5	12.5640
dosis III	5	12.7580
kontrol positif	5	17.1180
Sig.		.551

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.