

8-30-2010

Efek Hepatoprotektif Infus Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park) Fsb) Terhadap Kerusakan Hati Tikus yang Diinduksi dengan Karbon Tetraklorida

Wahyu Atmaja K.J

Universitas Indonesia FMIPA, Departemen Farmasi

Santi Purna Sari

Universitas Indonesia FMIPA, Departemen Farmasi

Azizahwati Azizahwati

Universitas Indonesia FMIPA, Departemen Farmasi, azizah9853@yahoo.com

Follow this and additional works at: <https://scholarhub.ui.ac.id/mik>

Recommended Citation

K.J, Wahyu Atmaja; Sari, Santi Purna; and Azizahwati, Azizahwati (2010) "Efek Hepatoprotektif Infus Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park) Fsb) Terhadap Kerusakan Hati Tikus yang Diinduksi dengan Karbon Tetraklorida," *Majalah Ilmu Kefarmasian*: Vol. 7 : No. 2 , Article 4.

DOI: 10.7454/psr.v7i2.3454

Available at: <https://scholarhub.ui.ac.id/mik/vol7/iss2/4>

This Original Article is brought to you for free and open access by the Faculty of Pharmacy at UI Scholars Hub. It has been accepted for inclusion in *Majalah Ilmu Kefarmasian* by an authorized editor of UI Scholars Hub.

EFEK HEPATOPROTEKTIF INFUS DAUN SUKUN (*ARTOCARPUS ALTILIS* (PARK.) FSB.) TERHADAP KERUSAKAN HATI TIKUS YANG DIINDUKSI DENGAN KARBON TETRAKLORIDA

Wahyu Atmaja K.J, Santi Purna Sari, Azizahwati
Universitas Indonesia FMIPA, Departemen Farmasi

ABSTRACT

*Breadfruit leaves (*Artocarpus altilis* (Park.) Fsb.) are used as traditional medicine in treatment of liver diseases. This study aimed to figure out the hepatoprotective effect of breadfruit leaves infusion in carbon tetrachloride-induced liver damage in male albino rats. The study used 25 male albino rats of Sprague-Dawley strain, which were divided randomly into five groups. Group I (normal control group) and group II (carbon tetrachloride-induced control group) only received 0,5% carboxymethylcellulose (CMC) solution. Group III-V received different dose of breadfruit leaves infusion for seven days respectively, which were 13,5 g/kgBW (dose 1), 27 g/kg BW (dose 2) and 54 g/kg BW (dose 3). On 7th day, all groups, excepted the normal group, were induced by 0,4 ml/kgBW dose of carbon tetrachloride perorally two hours after the last breadfruit leaves infusion given. Parameters of liver damage were estimated by measuring the activity of plasma alanine aminotransferase (ALT), the concentration of lipid peroxide in liver, and the concentration of lipid peroxide in plasma. The results of ANOVA ($p < 0,05$) demonstrated that breadfruit leaves infusion at a dose of 54 g/kgBW (dose 3) consumed for seven days respectively before 0,4 ml/kgBW dose of carbon tetrachloride-induced had hepatoprotective effect estimated by the activity of plasma ALT and the concentration of lipid peroxide in liver.*

Keywords : ALT, breadfruit leaves, lipid peroxide, liver.

ABSTRAK

*Daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fsb.) dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk terapi penyakit hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek hepatoprotektif infus daun sukun pada kerusakan hati tikus putih jantan yang diinduksi dengan karbon tetraklorida. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih jantan galur Sprague-Dawley yang dibagi ke dalam 5 kelompok. Kelompok I (kelompok kontrol*

Corresponding author : E-mail : azizah9853@yahoo.com

normal) dan kelompok II (kontrol induksi karbon tetraklorida) hanya menerima larutan karboksimetil selulosa (CMC) 0,5%. Kelompok III-V masing-masing merupakan kelompok yang diberi infus daun sukun selama tujuh hari berturut-turut, yaitu 13,5 g/kg BB (dosis 1), 27 g/kg BB (dosis 2), dan 54 g/kg BB (dosis 3). Pada hari ke-7, semua kelompok selain kelompok normal diinduksi dengan karbon tetraklorida dosis 0,4 ml/kgBB secara peroral dua jam setelah pemberian infus terakhir. Parameter kerusakan hati diamati melalui pengukuran aktivitas alanin aminotransferase (ALT), kadar peroksida lipid hati, dan kadar peroksida lipid plasma. Hasil uji ANOVA ($p < 0,05$) memperlihatkan bahwa pemberian infus daun sukun dengan dosis 54 g/kgBB (dosis 3) selama tujuh hari berturut-turut sebelum induksi karbon tetraklorida dosis 0,4 ml/kgBB memiliki efek hepatoprotektif ditinjau dari parameter aktivitas ALT plasma dan kadar peroksida lipid hati.

Kata kunci : ALT, daun sukun, hati, peroksida lipid.

PENDAHULUAN

Obat tradisional banyak digunakan oleh masyarakat, terutama kalangan menengah ke bawah. Usaha pengembangan tanaman obat tradisional ke arah fitofarmaka perlu dilakukan, sehingga pemanfaatannya tidak lagi hanya berdasarkan pengalaman, namun didukung oleh uji khasiat, uji keamanan serta uji toksisitasnya, sehingga mutu obat tradisional dapat terjamin (Ma'arifin, 1983).

Hati ialah organ yang sangat penting untuk mempertahankan fungsi metabolik tubuh sehingga harus dijaga agar tetap berfungsi dengan baik (Price & Wilson, 1994). Paparan senyawa kimia, konsumsi obat-obatan yang memiliki efek samping merusak hati, ketergantungan alkohol, racun dari jamur, dan serangan virus menjadi faktor-faktor yang harus diperhatikan sebagai penyebab timbulnya penyakit hati.

Respon hati dalam mentoleransi paparan kimia bergantung pada intensitas paparan, banyaknya populasi sel hati yang terpapar, dan durasi paparan.

Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk terapi penyakit hati ialah tanaman sukun. Tanaman sukun merupakan tanaman asli Indonesia di mana daunnya telah digunakan secara tradisional dalam pengobatan sirosis hati, hipertensi, dan diabetes (Wang, 2007). Pada penelitian ini ingin membuktikan adanya efek hepatoprotektif dari daun sukun. Salah satu penelitian yang mendukung dilakukannya uji efek hepatoprotektif dari daun sukun ialah adanya laporan penelitian yang mengemukakan bahwa ekstrak kulit batang *Artocarpus communis* berpengaruh terhadap kadar serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT) dan serum glutamat piruvat transaminase (SGPT) pada kerusakan hati

mencit akibat induksi parasetamol. Penelitian tersebut menyatakan bahwa ekstrak kulit batang *Artocarpus communis* berkhasiat sebagai hepatoprotektor karena kandungan senyawa flavonoidnya mampu berperan sebagai antihepatomegali dan febris (Sunarti, Murniana & Fauziah, 2002). Yu Wang juga menegaskan bahwa semua jaringan dalam tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) kaya akan kandungan flavonoid (Wang, 2007).

Bagian dari tanaman sukun yang diteliti ialah daunnya karena daun sukun telah terbukti mengandung berbagai macam senyawa turunan flavonoid (Wang, 2007). Selain itu, penggunaan daun sukun sebagai obat tradisional akan lebih memudahkan pasien karena daun sukun lebih mudah didapat dan diolah dibandingkan penggunaan bagian lain seperti kulit batang, akar, dan bunga. Secara empiris, masyarakat menggunakan dosis 3 lembar daun sukun kering atau lebih kurang sebesar 15 g perhari untuk pengobatan gangguan ginjal (Adiraga, 2007). Dosis ini yang akan digunakan sebagai dosis acuan karena belum ada penelitian ilmiah yang menyebutkan secara pasti mengenai penggunaan daun sukun pada terapi penyakit hati. Efek hepatoprotektif dapat diuji dengan cara pemberian dosis infus daun sukun kepada tikus selama beberapa hari, di mana selanjutnya tikus tersebut dirusak hatinya dengan karbon tetraklorida yang diinduksikan me-

lalui rute peroral (Lee, 2008). Karbon tetraklorida dipilih sebagai agen hepatotoksik karena kemampuannya merusak hati bergantung pada dosis yang diberikan. Dewasa ini, karbon tetraklorida telah diakui manfaatnya untuk digunakan sebagai model eksperimental dalam mempelajari efek hepatotoksik (Weber, 2003). Parameter yang digunakan dalam melihat kerusakan jaringan hati ialah penentuan aktivitas alanin aminotransferase (ALT) plasma dan kadar peroksida lipid di dalam hati dan plasma.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek hepatoprotektif infus daun sukun dengan dosis 13,5 g/KgBB, 27 g/kgBB, dan 54 g/kgBB pada kerusakan hati tikus yang diinduksi dengan karbon tetraklorida dengan cara menentukan aktivitas ALT plasma dan kadar peroksida lipid dalam plasma dan hati.

METODE

Alat

Sonde lambung, spuit (Terumo, Jepang), seperangkat alat bedah, sentrifugator (TGL-16 Zhengji, China dan Digisystem Lab. Instruments, Inc., Taiwan), mikropipet (Socorex, Swiss), *microtube*, spektrofotometer *single beam* (Thermo Spectronic Genesys 20, USA), pH meter (Eutech Instruments, USA), mikrohematokrit (Marienfeld, Jerman), timbangan analitik (Ohaus, USA), alat-alat gelas.

Bahan

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah infus daun sukun. Daun sukun yang digunakan untuk membuat infus dikumpulkan dari pohon sukun yang tumbuh di kawasan Universitas Indonesia, Depok. Kriteria pemilihan daun yang digunakan ialah daun tersebut cukup tua dan tumbuh pada dahan ke-3 sampai dahan ke-7 dari pucuk tangkainya. Daun ini kemudian dideterminasi oleh Herbarium Bogoriense Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor.

Bahan Kimia

Kalium dihidrogenfosfat (Merck, Jerman), dinatrium hidrogenfosfat (Merck, Jerman), asam α -ketoglutarat (Sigma, USA), dl-alanin (Merck, Jerman), natrium piruvat (Merck, Jerman), 2,4-dinitrofenilhidrazin (Sigma, USA), minyak kelapa (Barco, Indonesia), aquadest, tetraethoxypropane (Sigma, USA), asam perklorat (Merck, Jerman), asam tiobarbiturat (Sigma, USA), hidrosimetilamino metana (tris) (Merck, Jerman), karbon tetraklorida (Merck, Jerman), kalium klorida (Merck, Jerman), piridin (Merck, Jerman), n-butanol (Merck, Jerman), asam klorida (Merck, Jerman), alkohol 70%, natrium hidroksida (Merck, Jerman), CMC (Dai-ichi Kogyo Seiyaku Co., Ltd., Jepang), NaCl 0,9%, heparin (PT Pratapa Nirmala, Indonesia).

Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley*, dengan berat badan berkisar 150-200 gram, berumur 2 bulan, sebanyak 25 ekor. Tikus ini diperoleh dari Fakultas Peternakan Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.

Cara Kerja

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan di mana jumlah ulangan tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Federer:

$$(t - 1) (n - 1) > 15$$

$$(5 - 1) (n - 1) > 15$$

$$(4n - 4) > 15$$

$$4n > 19$$

$$n > 5$$

Sehingga jumlah tikus minimum yang digunakan ialah 5 ekor tiap kelompok perlakuan.

Persiapan Hewan Uji

Tikus yang digunakan berjumlah total 25 ekor dan diaklimatisasi selama 14 hari dalam kandang hewan FMIPA UI. Pengamatan terhadap keadaan umum dan penimbangan berat badan setiap 3 hari juga dilakukan untuk dapat memilih tikus yang sehat yang selanjutnya akan digunakan dalam penelitian. Tikus

dikatakan sehat apabila menunjukkan peningkatan berat badan, memiliki mata jernih, dan memiliki bulu yang tidak berdiri.

Penentuan Dosis Pemberian

Dosis yang digunakan merupakan dosis empiris yaitu dosis yang biasa digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit ginjal sebesar 15 g yang direbus dalam 1 L air setiap hari (Adiraga, 2007). Faktor konversi dari manusia ke tikus, yaitu 0,018 dan faktor farmakokinetika adalah 10, maka dosis sediaan uji untuk tikus didapat dengan mengalikan faktor-faktor tersebut dengan dosis untuk manusia yaitu sebesar 15 g per hari. Dosis tersebut kemudian ditetapkan sebagai dosis terendah yang akan diberikan, sedangkan peningkatan dosis berikutnya ialah sebesar kelipatan dua dari dosis sebelumnya.

Hasil perhitungan dosis:

Dosis 1 = 13,5 g/kgBB

Dosis 2 = 27 g/kgBB

Dosis 3 = 54 g/kgBB

Persiapan Bahan Uji

Persiapan Simplisia Uji

Daun sukun yang telah dikumpulkan, dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun yang telah kering kemudian dibuat serbuk menggunakan blender.

Pembuatan Infus Daun Sukun

Infus daun sukun dibuat dengan merebus simplisia daun sukun menggunakan pelarut air pada suhu

90°C selama 15 menit (Departemen kesehatan RI, 1995). Prosedur pembuatannya ialah mencampurkan simplisia yang telah ditimbang sebanyak 1.800 g dengan air sebanyak 18 L, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil beberapa kali diaduk. Rebusan tadi diserukai selagi panas melalui kain flanel. Filtrat ditampung dan dikumpulkan, kemudian diuapkan di atas penangas air hingga menjadi infus pekat. Untuk pemberian ke hewan coba, infus pekat tadi diencerkan menggunakan larutan karboksimetilselulosa (CMC) 0,5%.

Pembuatan Larutan Karbon

Tetraklorida

Larutan karbon tetraklorida dibuat dengan cara pengenceran menggunakan minyak kelapa untuk meningkatkan absorpsinya. Dosis karbon tetraklorida yang digunakan ialah 0,4 mL/kgBB. Volume pemberian ialah sebesar 3 mL per 200 g berat badan tikus. Berat jenis karbon tetraklorida ialah sebesar 1,59 g/mL. Cara penyiapan larutan karbon tetraklorida dosis 0,4 mL/kgBB ialah dengan menimbang sebanyak lebih kurang 4,24 g karbon tetraklorida, kemudian dilarutkan dalam minyak kelapa dan dicukupkan volumenya hingga 100 mL.

Pelaksanaan Percobaan

Percobaan ini menggunakan 25 ekor tikus putih jantan yang dibagi secara acak ke dalam 5 kelompok.

Masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus. Pembagian kelompoknya dapat dilihat pada Tabel 1. Pada hari ke-7, tikus diinduksi dengan karbon tetraklorida dosis tunggal sebesar 0,4 mL/kgBB secara peroral setelah 2 jam dari pemberian infus terakhir. Setelah 24 jam, pengambilan darah tikus dilakukan dan dilanjutkan dengan pengambilan organ hati melalui proses pembedahan. Darah yang didapat lalu diambil plasmanya. Plasma tersebut digunakan untuk mengukur aktivitas ALT dan kadar peroksida lipid plasma, sedangkan organ hati kemudian dibuat ekstrak dan digunakan untuk penentuan kadar peroksida

lipid hati. Pengukuran tiap parameter dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *single beam*. Skema percobaan dapat dilihat pada tabel 2.

Perlakuan

Infus daun sukun dengan dosis yang telah ditentukan sebelumnya dimasukkan ke dalam lambung tikus menggunakan sonde lambung. Dosis yang diberikan masing-masing disesuaikan dengan berat badan tikus. Induksi karbon tetraklorida dilakukan secara peroral pula menggunakan sonde lambung. Selama perlakuan, tikus tetap diberi makan dan minum.

Tabel 1. Kelompok perlakuan

Kelompok	Perlakuan
(I) Kontrol normal	Diberi larutan CMC 0,5% peroral hingga hari ke-7
(II) Kontrol Induksi Karbon tetraklorida	Diberi larutan CMC 0,5% peroral hingga hari ke-7, kemudian 2 jam setelah pemberian larutan CMC 0,5% terakhir, diinduksi dengan karbon tetrakloridasecara peroral
(III) Dosis 1	Diberi infus daun sukun dosis 1 (13,5 g/kg BB) dalam larutan CMC 0,5% secara peroral selama 7 hari, kemudian 2 jam setelah pemberian dosis akhir, diinduksi dengan karbon tetraklorida secara peroral
(IV) Dosis 2	Diberi infus daun sukun dosis 2 (27 g/kg BB) dalam larutan CMC 0,5% secara peroral selama 7 hari, kemudian 2 jam setelah pemberian dosis akhir, diinduksi dengan karbon tetraklorida secara peroral
(V) Dosis 3	Diberi infus daun sukun dosis 3 (54 g/kg BB) dalam larutan CMC 0,5% secara peroral selama 7 hari, kemudian 2 jam setelah pemberian dosis akhir, diinduksi dengan karbon tetraklorida secara peroral

Tabel 2. Skema percobaan uji hepatoprotektif

No	Kelompok	Jumlah Tikus	Pelakuan pada hari ke-								
			1	2	3	4	5	6	7	8	
I	Kontrol Normal	5 ekor	*	*	*	*	*	*	*	*C	B
II	Kontrol Karbon tetraklorida	5 ekor	*	*	*	*	*	*	*	*C	B
III	Dosis 1	5 ekor	1	1	1	1	1	1	1	1C	B
IV	Dosis 2	5 ekor	2	2	2	2	2	2	2	2C	B
V	Dosis 3	5 ekor	3	3	3	3	3	3	3	3C	B

Keterangan:

- * : pemberian larutan CMC 0,5% secara peroral
- 1, 2, 3 : pemberian infus daun sukun dosis 1, 2 dan 3 secara peroral
- C : induksi karbon tetraklorida secara peroral
- B : pengambilan darah dan pembedahan

Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital mata. Tikus terlebih dahulu dibius dengan menggunakan eter. Selanjutnya, mata ditusuk dengan menggunakan mikrohematokrit pada bagian sinus orbital, yaitu pada sudut bola mata dengan mengarah ke daerah belakang bola mata, digerakkan masuk sambil diputar-putar sehingga darah akan keluar akibat kapilaritas (Hoff, 2000). Darah yang keluar ditampung dalam *microtube* yang telah diberi heparin. Darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi secara hati-hati untuk mencegah hemolisis. Sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan supernatan plasma darah yang jernih. Plasma dikumpulkan dan dapat disimpan dalam *freezer* dengan suhu -20°C . Plasma darah selanjutnya akan digunakan untuk pengukuran akti-

vitasi ALT plasma dan kadar peroksida lipid plasma.

Pengambilan Organ Hati

Pengambilan organ hati dilakukan melalui proses pembedahan. Tikus dibius dengan eter, kemudian ditelentangkan di atas papan bedah dengan keempat kaki direntangkan sejauh mungkin. Setelah itu, bagian dada dan perut tikus yang akan dibedah diolesi terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Pembedahan dilakukan menggunakan gunting bedah. Organ hati diambil dan dikeluarkan, selanjutnya dicuci dengan menggunakan natrium klorida 0,9% agar darah yang menempel hilang. Kemudian, organ hati dapat disimpan dengan merendamnya dalam natrium klorida 0,9% dan diletakkan dalam *freezer* dengan suhu -20°C . Organ hati selanjutnya dibuat ekstrak dan digunakan untuk penentuan kadar peroksida lipid hati.

Penentuan aktivitas ALT (Reitman & Frankel, 1957)

Prinsip pengukuran

ALT mengkatalisis proses pemindahan gugus amino dari dl-alanin ke asam α -ketoglutarat sehingga menghasilkan asam piruvat dan asam glutamat. Piruvat yang terbentuk direaksikan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin. Reaksi ini akan menghasilkan fenilhidrazon yang berwarna merah coklat dalam larutan alkalis (Gambar 1). Intensitas warna yang terbentuk kemudian ditentukan menggunakan spektrofotometer *single beam* pada panjang gelombang 505 nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi ALT

Kurva kalibrasi dibuat dengan mencampurkan 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mL larutan standar dengan larutan dapar substrat hingga volumenya tepat 1,0 mL. Ke dalam tiap tabung reaksi ditambahkan 0,5 mL reagen warna, kemudian dikocok, lalu didiamkan pada suhu kamar selama 20 menit. Selanjutnya ditambahkan 5,0 mL natrium hidroksida 0,4 N, dikocok, lalu didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Intensitas warna yang terbentuk masing-

masing diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer *single beam* pada panjang gelombang 505 nm.

Pengukuran Sampel

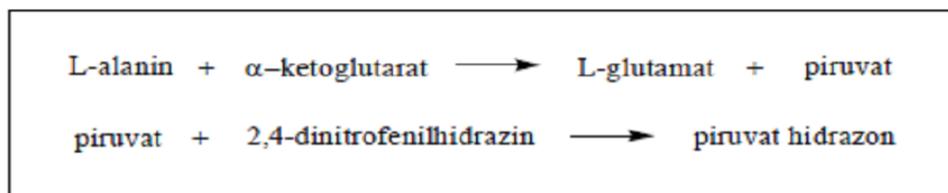
Ke dalam tiap tabung reaksi, masukkan reagen dengan urutan dan volume seperti yang tertera pada tabel 3.

Intensitas warna yang terbentuk masing-masing diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer *single beam* pada panjang gelombang 505 nm.

Penetapan Kadar Peroksida Lipid (Placer, Cushman, & Johnson, 1966)

Prinsip Pengukuran

Hidroperoksida lipid yang terjadi pada proses peroksidasi lipid dipecah menjadi MDA di mana apabila dipanaskan dengan penambahan reagen asam tiobarbiturat akan membentuk warna merah muda. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer *single beam* pada panjang gelombang 548 nm. Kadar MDA



[Sumber: Rej & Shaw, 1984]

Gambar 1. Reaksi pembentukan warna oleh 2,4-dinitrofenilhidrazin pada pengukuran aktivitas ALT “telah diolah kembali”

Tabel 3. Tahapan pengukuran ALT plasma dengan spektrofotometer

Urutan	Penambahan pereaksi	Uji	Blanko
1	Larutan dapar substrat, diinkubasi pada suhu 370 C selama 10 menit	0,5 mL	0,5 mL
2	Plasma, dikocok menggunakan vortex, diinkubasi pada suhu 370 C selama 30 menit	0,1 mL	-
3	Reagen warna	0,5 mL	0,5 mL
4	Plasma, dikocok menggunakan vortex, diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit	-	0,1 mL
5	Natrium hidroksida 0,4 N, dihomogenkan dengan vortex, didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit	5,0 mL	5,0 mL

yang diukur dianggap identik dengan kadar peroksida lipid. 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) digunakan sebagai prekursor dari MDA karena MDA merupakan senyawa yang tidak stabil. TEP dihidrolisis oleh air menjadi MDA dan alkohol.

Pembuatan Kurva Kalibrasi MDA

TEP dilarutkan dalam dapar tris 0,2 M kalium klorida 0,16 M pH 7,4 hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 250 nmol/mL. Dari larutan tersebut diambil 10, 20, 30, 40, dan 50 µL, tiap larutan dipindahkan ke dalam tabung-tabung reaksi yang baru. Selanjutnya ke dalam masing-masing larutan ditambahkan dengan dapar tris 0,2 M kalium klorida 0,16 M pH 7,4 hingga volumenya menjadi 1,5 ml. Setelah itu, reagen asam tiobarbiturat ditambahkan sebanyak 1,5 mL, lalu dipanaskan pada suhu 100° C selama 10 menit. Setelah dingin, 3 mL larutan

piridin : n-butanol (3:1) dan 1 mL natrium hidroksida 1 N, lalu dikocok. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer *single beam* pada panjang gelombang 548 nm.

Penentuan Kadar Peroksida Lipid

a. Kadar Peroksida Lipid Plasma

Sebanyak 0,1 mL plasma darah ditambah dengan dengan dapar tris 0,2 M kalium klorida 0,16 M pH 7,4 hingga mencapai volume 1,5 mL. Setelah itu campuran tadi diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian reagen asam tiobarbiturat ditambahkan sebanyak 1,5 mL, lalu dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Setelah dingin, ditambahkan 3 mL larutan piridin : n-butanol (3:1) dan 1 mL natrium hidroksida 1 N, lalu dikocok. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur serapannya menggunakan spektro-

fotometer *single beam* pada panjang gelombang 548 nm.

b. Kadar Peroksida Lipid Hati

Ekstrak hati dibuat dengan cara mengambil 0,5 g jaringan hati dan ditambah dengan 5 mL natrium klorida 0,9%, kemudian dilumatkan dengan blender. Lumatan yang diperoleh selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2.000 rpm pada selama 15 menit. Kemudian supernatan yang berwarna bening dikumpulkan dan diambil dengan menggunakan pipet. Supernatan ini selanjutnya disebut ekstrak hati. Penentuan kadar peroksida lipid hati dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,2 mL ekstrak hati, lalu ditambah dengan dengan dapar tris 0,2 M kalium klorida 0,16 M pH 7,4 hingga mencapai volume 1,5 mL. Setelah itu campuran tadi diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian reagen asam tiobarbiturat ditambahkan sebanyak 1,5 mL, lalu dipanaskan pada suhu 100° C selama 10 menit. Setelah dingin, ditambahkan 3 mL larutan piridin : nbutanol (3:1) dan 1 mL natrium hidroksida 1 N, lalu dikocok. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer *single beam* pada panjang gelombang 548 nm.

Analisis Data

Perolehan data kadar ALT plasma dan peroksida lipid plasma dan hati dianalisis secara statistik menggunakan metode analisis varian satu

arah apabila data tersebut homogen dan terdistribusi normal. Jika terdapat perbedaan antarkelompok perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji beda nyata terkecil. Apabila data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, maka analisis dilakukan dengan metode uji nonparametrik. (Dahlan, 2008)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran aktivitas ALT

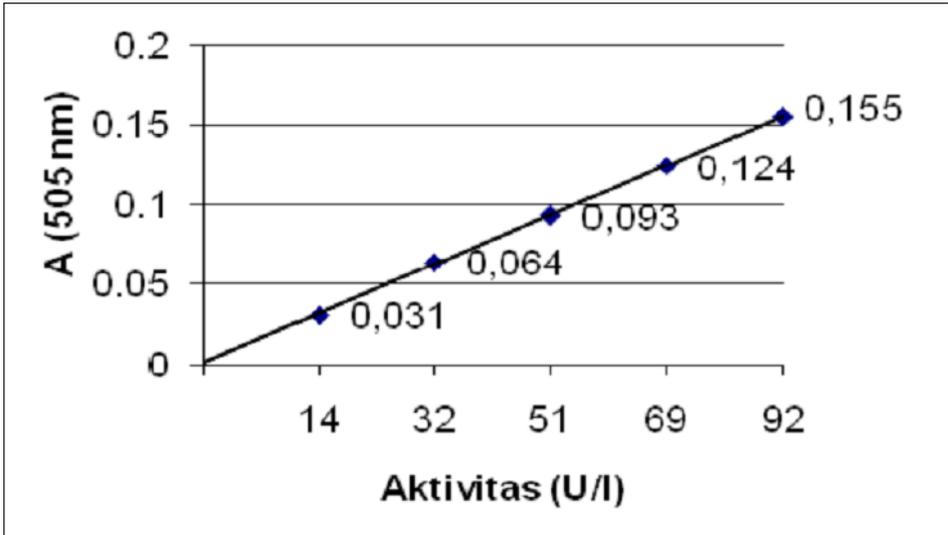
Pembuatan kurva kalibrasi

Pembuatan kurva standar aktivitas ALT dilakukan dengan menggunakan larutan standar piruvat dengan kadar yang berbeda sesuai dengan aktivitas 14, 32, 51, 69, 92 U/L. Serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometer *single beam* pada panjang gelombang 505 nm. Dari hasil perhitungan didapat persamaan regresi linier $y = 0,005877688 + 0,0016734x$. Kurva standar aktivitas ALT ditunjukkan pada Gambar 2.

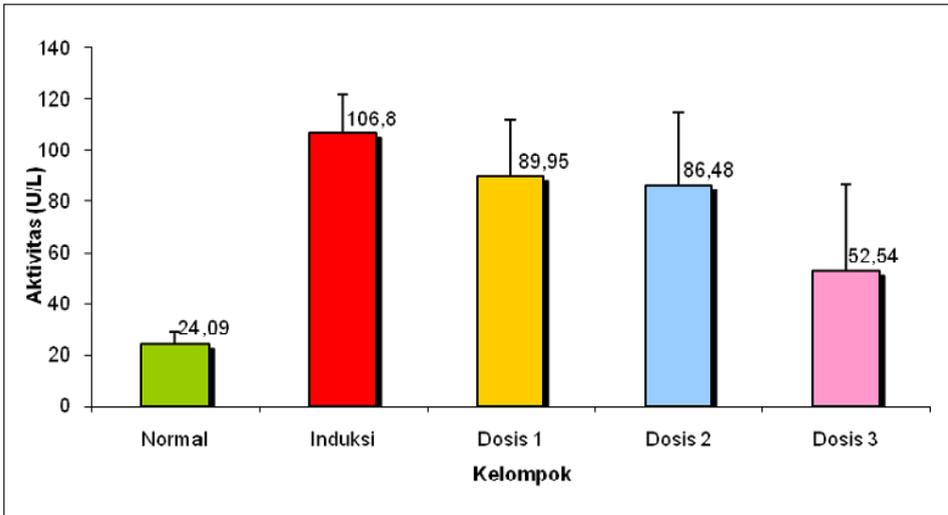
Pengukuran aktivitas ALT plasma

Aktivitas ALT plasma ditentukan berdasarkan kurva standar aktivitas ALT. Aktivitas ALT plasma rata-rata untuk tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3.

Analisis secara statistik dengan Uji Mann-Whitney terhadap aktivitas ALT plasma, memberikan gambaran bahwa tidak ada perbedaan secara bermakna antara aktivitas ALT plasma kelompok dosis 1 dengan



Gambar 2. Kurva standar aktivitas ALT



Keterangan:

Kelompok Dosis 1 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 13,5 g/kgBB.

Kelompok Dosis 2 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 27 g/kgBB.

Kelompok Dosis 3 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 54 g/kgBB

Gambar 3. Diagram aktivitas ALT plasma rata-rata tiap kelompok perlakuan (n=5)

kelompok induksi, dosis 2, dan dosis 3, tetapi terdapat perbedaan secara bermakna dengan kelompok normal. Aktivitas ALT plasma kelompok dosis 2 tidak pula berbeda secara bermakna dengan kelompok induksi dan dosis 3, tetapi memiliki perbedaan secara bermakna dengan kelompok normal. Sedangkan aktivitas ALT plasma kelompok dosis 3 ternyata memiliki perbedaan secara bermakna dengan kelompok induksi dan tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian infus daun sukun selama 7 hari berturut-turut dengan dosis 54 g/kgBB mampu melindungi hati akibat paparan karbon tetraklorida karena aktivitas ALT plasmanya menjadi turun mendekati nilai aktivitas kelompok normal. Apabila dilihat persentase efektivitasnya, maka dapat dihitung persentase efektivitas dosis 1 sebesar 20,37%, dosis 2 sebesar 24,57%, dan dosis 3 sebesar 65,60% dalam melindungi hati ditinjau dari parameter aktivitas ALT plasma.

Kenaikan kadar enzim ALT dapat digunakan sebagai diagnosis kerusakan parenkim hati karena aktivitas tertinggi dari ALT ditemukan pada hati. Kerusakan hati akan menyebabkan nilai aktivitas ALT plasma meningkat. Dari penentuan aktivitas ALT plasma jelas terlihat bahwa tingkat kerusakan hati akan berkurang seiring peningkatan dosis infus daun sukun dan berefek paling baik pada dosis 3.

Penentuan Kadar Peroksida Lipid Pembuatan Kurva Standar MDA

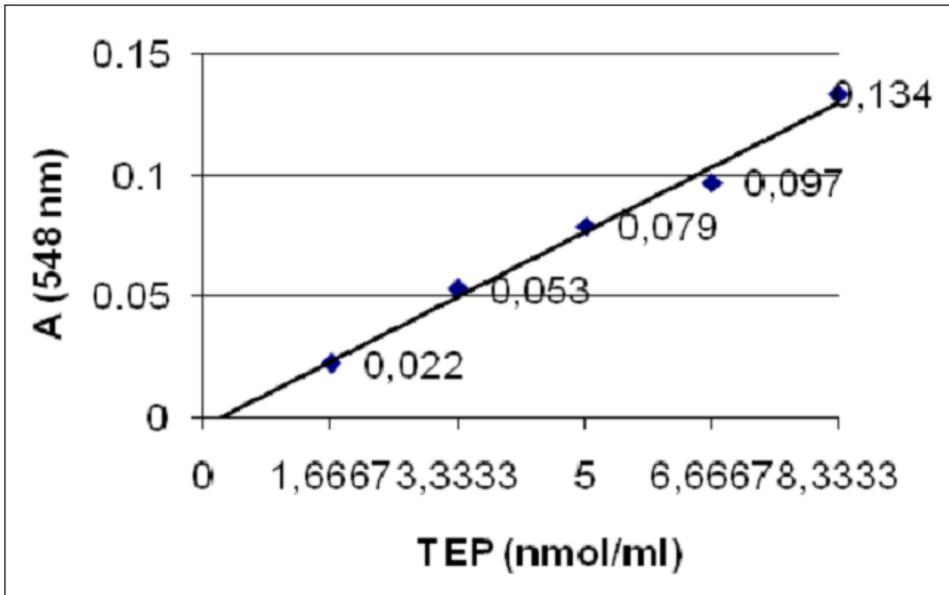
Kurva standar MDA dibuat dengan menggunakan larutan standar tetraetoksipropan (TEP) dengan konsentrasi yang berbeda. Serapan MDA diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 548 nm. Dari hasil perhitungan, persamaan regresi linier yang didapat ialah $y = -0,0034 + 0,01608x$. Kurva standar MDA ditunjukkan pada Gambar 4.

Pengukuran Kadar Peroksida Lipid Hati

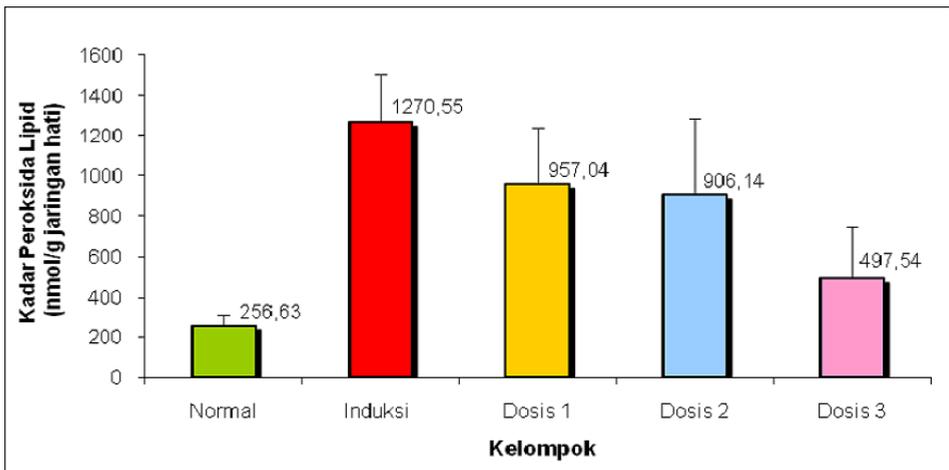
Kadar peroksida lipid hati dihitung berdasarkan kurva standar MDA. Kadar peroksida lipid hati rata-rata untuk tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.

Analisis secara statistik dengan Uji Beda Nyata Terkecil terhadap kadar peroksida lipid hati, memberikan gambaran bahwa ada perbedaan secara bermakna antara kadar peroksida lipid hati kelompok dosis 1 dengan kelompok normal dan dosis 3, tetapi tidak terdapat perbedaan secara bermakna dengan kelompok induksi dan dosis 2.

Kadar peroksida lipid hati kelompok dosis 2 ternyata berbeda secara bermakna dengan kelompok normal, induksi, dan dosis 3. Sedangkan kadar peroksida lipid hati kelompok dosis 3 menggambarkan tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok normal, tetapi berbeda bermakna dengan kelompok induksi, dosis 1, dan dosis 2.



Gambar 4. Kurva standar kadar MDA



Keterangan:

Kelompok Dosis 1 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 13,5 g/kgBB.

Kelompok Dosis 2 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 27 g/kgBB.

Kelompok Dosis 3 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 54 g/kgBB

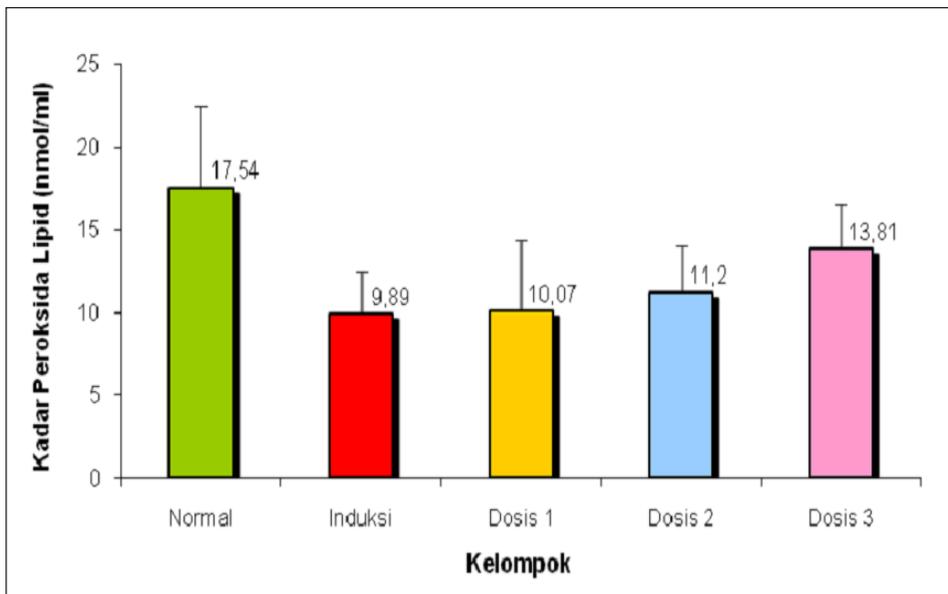
Gambar 5. Diagram kadar peroksida lipid hati rata-rata tiap kelompok perlakuan (n=5)

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian infus daun sukun selama 7 hari berturut-turut dengan dosis 54 g/kgBB mampu melindungi hati akibat paparan karbon tetraklorida karena kadar peroksida lipid hatinya mendekati kadar peroksida lipid hati kelompok normal. Apabila dilihat persentase efektivitasnya, maka dapat dihitung persentase efektivitas dosis 1 sebesar 30,92%, dosis 2 sebesar 35,94%, dan dosis 3 sebesar 76,24% dalam melindungi hati ditinjau dari parameter kadar peroksida lipid hati.

Pengukuran Kadar Peroksida Lipid Plasma

Kadar peroksida lipid plasma dihitung berdasarkan kurva standar MDA. Kadar peroksida lipid plasma rata-rata untuk tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 6.

Analisis secara statistik dengan Uji Beda Nyata Terkecil terhadap kadar peroksida lipid plasma, memberikan gambaran bahwa ada perbedaan secara bermakna antara kadar peroksida lipid plasma kelompok dosis 1 dengan kelompok normal, tetapi tidak berbeda secara



Keterangan:

Kelompok Dosis 1 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 13,5 g/kgBB.

Kelompok Dosis 2 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 27 g/kgBB.

Kelompok Dosis 3 ialah kelompok yang mendapat infus daun sukun dosis 54 g/kgBB

Gambar 6. Diagram kadar peroksida lipid plasma rata-rata tiap kelompok perlakuan (n=5)

bermakna dengan kelompok induksi, dosis 2, dan dosis 3. Kadar peroksida lipid plasma kelompok dosis 2 juga berbeda secara bermakna dengan kelompok normal, tetapi tidak memiliki perbedaan secara bermakna dengan kelompok induksi, dosis 2, dan dosis 3. Sedangkan kadar peroksida lipid plasma kelompok dosis 3 tidak memiliki perbedaan secara bermakna dengan kelompok manapun.

Pemberian infus daun sukun selama 7 hari berturut-turut dengan dosis 3 (54 g/kgBB) terlihat mampu melindungi hati akibat paparan karbon tetraklorida karena kadar peroksida lipid plasma menjadi naik mendekati kadar peroksida lipid plasma kelompok normal, walaupun dengan kelompok induksi pun ternyata menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik. Apabila dilihat persentase efektivitasnya, maka dapat dihitung persentase efektivitas dosis 1 sebesar 2,35%, dosis 2 sebesar 17,12%, dan dosis 3 sebesar 51,24% dalam melindungi hati ditinjau dari parameter kadar peroksida lipid plasma. Namun perlu diketahui bahwa standar deviasi data kadar peroksida lipid plasma pada percobaan kali ini cukup besar karena kadar peroksida lipid plasma pada tiap tikus sangat kecil sehingga adanya faktor lain sedikit saja dapat mengganggu pembacaan serapannya. Faktor yang diduga sangat besar pengaruhnya ialah viskositas plasma yang berbeda tiap tikus.

Pada kondisi normal, peroksidasi lipid yang terdapat di plasma darah seharusnya memiliki kadar yang tinggi. Ini terjadi karena trigliserida yang disekresi dari hati sebagai lipoprotein akan dilepaskan menuju plasma. Pada hati yang mengalami intoksikasi karbon tetraklorida, salah satu kerusakan yang terjadi ialah proses akumulasi lipid. Penyebab akumulasi lipid di hati ialah adanya gangguan sintesis atau sekresi lipoprotein.

Ditinjau dari tiga parameter yang digunakan untuk melihat kerusakan hati, ternyata dosis 3 dapat menjadi rekomendasi yang paling baik dibanding dosis 1 dan dosis 2. Efektivitas dosis 3 pada parameter aktivitas ALT plasma sebesar 65,60%, kadar peroksida lipid hati sebesar 76,24%, dan kadar peroksida lipid plasma sebesar 51,24%. Oleh karena itu dapat ditarik kesimpulan bahwa infus daun sukun dosis 3 (54 g/kgBB) memiliki efek hepatoprotektif ditinjau dari parameter aktivitas ALT plasma dan kadar peroksida lipid hati. Sedangkan untuk parameter kadar peroksida lipid plasma tidak bermakna secara statistik.

KESIMPULAN

Infus daun sukun dengan dosis 54 g/kgBB yang diberikan selama tujuh hari berturut-turut sebelum induksi karbon tetraklorida dosis 0,4 ml/kgBB memiliki efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hati tikus ditinjau dari aktivitas ALT

plasma dan kadar peroksida lipid hati.

DAFTAR ACUAN

- Adiraga. 2007. *Daun Sukun Penyebab Amat Ginjal*. <http://www.CBN-Portal.com>, 1 Januari 2010, pk. 09.00.
- Dahlan M. 2009. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat Dilengkapi Program SPSS*. Salemba Medika. Jakarta. 83- 105.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta. 9.
- Federer WY. 1963. *Experimental Design, Theory and Application*. Mac. Millan. New York. 544.
- Hoff S. 2000. Methods of Blood Collection in The Mouse. *Lab Animal*, **29**(10): 50-51.
- Lee Sung Hyun, Heo Seong-II., Li Lan, Lee, Jie Min, Wang, Myeong-Hyeon. 2008. Antioxidant and Hepatoprotective Activities of *Cirsium setidens* NAKAI against CCL4-Induced Liver Damage. *The American Journal of Chinese Medicine*, **36**(1): 107-114.
- Ma'arifin H. 1983. *Farmakologi dalam Pengembangan Obat Tradisional Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. 25-26 September 1980. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. 1966. Estimation of Product of Lipid Peroxidation Malonyl-dialdehid in Biochemical System. *Analysis Biochemical* , **16** (1): 359-364.
- Price SA, Wilson, Lorraine M. 1994. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Terjemahan dari Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes oleh Peter Anugerah. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta, 426-433.
- Reitman S, Frankel SA. 1957. Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*, **28**: 56-62.
- Rej R, Shaw LM. 1984. Measurement of Aminotransferases, Chapter III Materials and Methods. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. **21**: 65-70.
- Sunarti, Murniana, Fauziah. 2002. *Pemberian Ekstrak Artocarpus communis Sebagai Haepatoprotektor pada Mencit (Mus Musculus) Swiss Webster: Laporan Penelitian*. Banda Aceh: FMIPA Universitas Syiah Kuala, 14-15.
- Wang Y, et al. 2007. Geranyl flavonoids from the leaves of *Artocarpus altilis*. *Phytochemistry*. **68**: 1300-1306.
- Weber Lutz WD, Boll MB, Stampfl A. 2003. Hepatotoxicity and Mechanism of Action of Haloalkanes: Carbon Tetrachloride as a Toxicological Model. *Critical Reviews in Toxicology*, **33**(2): 105-136.