



Monograf

KHASIAT DAUN KENIKIR (COSMOS CAUDATUS) UNTUK HATI (LIVER)

Penulis

**Dr. dr. Endy Juli Anto, M.K.T., AIFO-K
dr. Liling Desta Prasetyani**

Editor

**Prof. Dr. dr. Hadyanto Lim, M.Kes., Sp.FK., FESC., FIBA., FAHA
Dr. dr. Jekson M. Siahaan, M.K.T., AIFO-K
Dr.dr. Hendrika A. Silitonga, M.Kes., AIFO-K
dr. Menang Bastanta Tarigan, Sp.PD-KEMD**



MONOGRAF
KHASIAT DAUN KENIKIR
(*COSMOS CAUDATUS*) UNTUK
HATI (*LIVER*)

Penulis

Dr. dr. Endy Juli Anto, M.K.T., AIFO-K
dr. Liling Desta Prasetiani

Editor

Prof. Dr. dr. Hadyanto Lim, M.Kes., Sp.FK., FESC., FIBA., FAHA
Dr. dr. Jekson M. Siahaan, M.K.T., AIFO-K
Dr. dr. Hendrika A. Silitonga, M.Kes., AIFO-K
dr. Menang Bastanta Tarigan, Sp.PD-KEMD



Penerbit Yayasan Wiyata Bestari Samasta
Cirebon, 2022

**MONOGRAF KHASIAT DAUN KENIKIR (*COSMOS CAUDATUS*)
UNTUK HATI (*LIVER*)**

vii + 54 hlm; 15,5 x 23 cm

ISBN: 978-623-8083-02-2

Penulis : Endy Juli Anto, Liling Desta Prasetiani
Editor : Hadyanto Lim, Jekson M. Siahaan, Hendrika A.
Silitonga, Menang Bastanta Tarigan
Tata Letak : Fidy Arie Pratama
Desain Sampul : Farhan Saefullah

Cetakan 1 : November 2022

Copyright © 2022 by Penerbit Yayasan Wiyata Bestari Samasta
All rights reserved

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang No 19 Tahun 2002.
Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh
isi buku ini dalam bentuk apapun, baik secara elektris maupun
mekanis, termasuk memfotocopy, merekam atau dengan sistem
penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari Penulis dan Penerbit.

Isi di luar tanggung jawab percetakan

Penerbit Yayasan Wiyata Bestari Samasta
Anggota IKAPI
Jl. Sumadinata 22 Cirebon – Jawa Barat Indonesia 45151
Cirebon Telp. 085724676697
e-mail: wbsamasta@gmail.com
Web : <http://wbs-indonesia.com/>

KATA PENGANTAR

Segala pujian dan syukur, penulis panjatkan kepada Adonai pencipta langit dan bumi atas kasih setiaNya sehingga kami diberikan berkat pengetahuan untuk menyelesaikan buku **“Monograf Khasiat Daun Kenikir Untuk Hati (liver)”** sebagai luaran wajib hibah DRTPM tahun 2022 dengan judul proposal **“Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) Pada Tikus yang Diinduksi Cisplatin”** dengan nomor kontrak **109/LL1/LT/K/2022, 452/N/LPPM-UMI/2022** dapat diselesaikan dengan baik.

Monograf ini disusun sistematis, ringkas dan sederhana berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan agar pembaca baik kalangan medis maupun non medis dapat memahami manfaat penggunaan daun kenikir (*Cosmos caudatus*) untuk fungsi hati dengan berbagai mekanisme biomolekuler yang sedang diteliti, dimana penggunaan bahan alam yang mengandung zat aktif yang memiliki efek farmakologis juga perlu menjadi perhatian agar dapat diteliti lebih lanjut sehingga dapat menjadi kandidat bahan baku obat yang nantinya menjadi fitofarmaka. Harapan kami dengan terpublikasinya buku ini maka semakin bertambah khazanah ilmu pengetahuan sekaligus menjadi stimuli bagi rekan - rekan dosen untuk mengikuti hibah bersaing sebab penting untuk mendukung kinerja sebagai dosen. Apalagi jika yang diberikan dalam kelas adalah hasil penelitian dosen tersebut, yang akan menambah percaya diri dosen dalam melaksanakan tridarma pengajaran.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan buku ini. Semangat dan

cinta yang hangat, kami dapatkan dari orangtua, keluarga dan civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia Medan sehingga kami memiliki suplai energi yang cukup untuk menyelesaikan penelitian sampai publikasi luaran wajib maupun tambahan. Ucapan terimakasih sebesar-besarnya kepada **Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Masyarakat (DRTPM) Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi**, yang mendanai penelitian sampai kami mempublikasi buku ini, Bapak Rektor Universitas Methodist Indonesia **Drs. Humuntal Rumapea, M. Kom**, Ibu Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) **Marlyna Infryanty Hutapea, S.Kom., M.Kom** dan akhir kata semoga buku ini bermanfaat bagi para pembaca. Tuhan memberkati..

Medan, November 2022

Tim Penulis

SAMBUTAN DEKAN

Puji dan Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan berkat dan kasih karunia sehingga Buku Monograf ini dapat diselesaikan dengan baik.

Tridarma Perguruan tinggi penting dilaksanakan sebaik - baiknya agar nyata peran universitas dalam mengembangkan pendidikan dan memajukan masyarakat khususnya di dunia kesehatan. Pembuatan buku ini adalah upaya dalam mengembangkan ilmu pengetahuan, harapannya semakin banyak buku - buku rujukan hasil penelitian yang dapat dimanfaatkan oleh khalayak ramai.

Buku ini menarik untuk dibaca karena disusun dengan sistematis dan terinci sehingga mudah untuk dipahami, sangat cocok dibaca oleh mahasiswa kedokteran bahkan mencari landasan penelitian selanjutnya.

Buku ini membahas penggunaan tanaman berkhasiat yang memiliki bahan aktif. Tentunya dengan lahirnya buku ini, akan membuka kembali semangat "back to nature" yang sesuai dengan kaidah-kaidah ilmiah.

Akhirnya saya sebagai dekan Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia merasa bangga kepada penulis, semoga semakin banyak karya yang dihasilkan dan berguna bagi masyarakat. Terimakasih.

Medan, November 2022

Dekan FK Methodist

dr. Eka P. Samuel Hutasoit, Sp.OG., M.M

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iii
SAMBUTAN DEKAN	v
DAFTAR ISI	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II DESAIN KONSEP PENELITIAN	6
2.1 Pembuatan Ekstrak	9
2.2. Induksi Cisplatin	11
2.3 Pemeriksaan Elisa	11
2.4 Analisis Data	13
2.5 Jadwal Penelitian	13
BAB III MENGENAL TANAMAN KENIKIR	14
3.1 Sejarah Tanaman Kenikir	14
3.2 Penyariah	19
BAB IV HATI (HEPAR/ LIVER)	26
4.1 Anatomi Hepar	26
4.2 Histologi Hepar	27
4.3 Fisiologi Hepar	29
4.4 Fungsi Hepar	30
4.5 Kerusakan pada Hepar	33
4.6 Evaluasi Kerusakan Hepar	35
BAB V APA ITU HAPATOPROTEKTOR, CISPLATIN DAN KUERSETIN ?	37
5.1 Hepatoprotektor	37
5.2 Cisplatin	38
5.3 Kerusakan Hati karena Cisplatin	40
5.4 Kuersetin	41
5.5. iNOS (Inducible nitric oxide synthase)	42
BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN	43
6.1 Hasil	43
DAFTAR PUSTAKA	47

BAB I

PENDAHULUAN

Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh setelah kulit yang memegang peranan penting untuk mempertahankan hidup dan berperan pada hampir setiap fungsi metabolisme tubuh [1]. Oleh karena itu, organ ini sangat rentan terhadap jejas sampah metabolit, zat toksik, dan jejas yang disebabkan oleh gangguan sirkulasi. Senyawa xenobiotik, yaitu senyawa-senyawa asing yang tidak dibutuhkan tubuh, akan mengalami proses metabolisme di hepar yang menghasilkan produk sampingan berupa senyawa hidroksi yang merupakan radikal bebas [2].

Hepar melakukan banyak fungsi penting yang berbeda-beda dan bergantung pada sistem aliran darahnya yang unik dan sel-selnya yang sangat khusus. Ketika hepar rusak, maka semua sistem tubuh terpengaruh. Sel-sel hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang cepat. Oleh karena itu sampai batas tertentu, hepar dapat mempertahankan fungsinya bila terjadi gangguan ringan. Pada gangguan yang lebih berat, terjadi gangguan fungsi yang serius yang dapat berakibat fatal [3].

Sel-sel hepar sering sekali mengalami kerusakan. Kerusakan sel-sel hepar dapat disebabkan karena infeksi bakteri, virus, pemberian obat atau karena kanker dan bisa karena konsumsi alkohol serta zat-zat kimia. Kerusakan sel-sel hepar dapat berupa peradangan (hepatitis) ataupun kematian sel-sel hepar (nekrosis) [3]. Salah satu faktor yang dapat menyebabkan kerusakan pada hepar adalah karena stres oksidatif. Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas atau prooksidan dan antioksidan yang

dipicu oleh adanya dua kondisi di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya. [4]

Gangguan fungsi hepar erat kaitannya dengan kerusakan hepar. Infeksi virus, paparan obat, gangguan autoimun dan gangguan metabolit menjadi beberapa faktor penyebab kerusakan hepar. Hepar bertanggungjawab pada proses sintesis protein, sekresi empedu, metabolisme dan ekskresi xenobiotic, sehingga hepar rentan mengalami kerusakan karena terpapar bahan-bahan yang bersifat toksik [5]. Salah satu bahan toksik yang dapat menyebabkan cedera hepar adalah cisplatin. Cedera dan toksisitas hepar terjadi ketika cisplatin secara cepat dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450 dan membentuk senyawa radikal yang menyerang lipid, sehingga terjadi peroksidasi lipid. [6]

Cisplatin merupakan logam berat, berikatan dengan DNA dan RNA berkerja sebagai *alkylating agent* atau bekerja secara langsung dengan merusak DNA sel sehingga mencegah pembelahan sel kanker [7]. Cisplatin bekerja sebagai anti kanker dengan cara menggunakan ikatan silang DNA dan melakukan apoptosis pada sel yang sehat maupun sel kanker itu sendiri. Salah satu efek samping dari terapi cisplatin adalah hepatotoksitas. [8]

Salah satu senyawa yang dapat mengobati kerusakan hepar adalah hepatoprotektif. Hepatoprotektif (pelindung hati) adalah senyawa obat yang memiliki efek terapeutik, untuk memulihkan, memelihara, dan mengobati kerusakan dari fungsi hati [9]. Penyakit-penyakit kerusakan fungsi antara lain hepatitis, kanker, hati berlemak, insufisiensi hati, sirosis hati, sakit pada ulu hati, batu empedu, radang kandung empedu, jumlah getah empedu yang sedikit, penyakit kuning, dan lain sebagainya. Agen hepatoprotektor

(pelindung hati) menjadi penting dalam penatalaksanaan gangguan fungsi hepar karena tidak semua penyebab gangguan fungsi hepar dapat diobati dan obat yang digunakan dapat menambah kerusakan pada sel-sel hati [10].

Kerusakan pada hati dapat dicegah dengan memberikan asupan antioksidan. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Struktur molekul antioksidan dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. [11]

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa antioksidan dapat diperoleh dari ekstrak tanaman. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kusuma, menyebutkan sekitar 30 tanaman diteliti dan dilaporkan memiliki kandungan antioksidan. Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah tanaman kenikir. [12]

Tanaman kenikir merupakan tanaman semusim atau tahunan dengan ciri batang tegak, ciri daun kenikir yaitu berdaun majemuk, bersilang berhadapan. Tanaman ini memiliki kandungan senyawa seperti alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, steroid, fenol, alkaloid, dan terpenoid [13]. Pada bagian daun terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, terpenoid dan asam fenolik, sedangkan pada bagian akar terdapat senyawa phenylpropane [14]. Daun kenikir segar mengandung flavonoid sebesar 143 mg/100 g dengan kandungan kuersetin paling tinggi sebesar 51,3 mg/100 g. [15]

Ekstrak etanol daun kenikir terbukti mengandung flavonoid glikosida berupa kuersetin 3-Opoliglikosida [16]. Ekstrak etanol daun kenikir memiliki daya antioksidan kuat dengan harga IC50 sebesar 0,055 mg/mL [17]. serta memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor. [18]

Ekstrak etanol kenikir terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat secara DPPH dengan IC50 sebesar 19,49 µg/ml [19]. Daun kirinyuh yang satu famili dengan daun kenikir terbukti memiliki aktivitas antioksidan secara *in vivo* dengan ED50 sebesar 312,241 mg/kgBB [20]. Maka itu, akan dilakukan penelitian aktivitas hepatoprotif ekstrak etanol daun kenikir menggunakan penginduksi cisplatin sebagai radikal bebas.

Mekanisme induksi hepatotoksisitas dari cisplatin adalah melalui peningkatan produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel sehingga mamacu terjadinya kematian sel [21]. Senyawa antioksidan yang menghambat stres oksidatif dengan cara mengikat radikal bebas dan mencegah pembentukan radikal bebas dengan merubahnya mendai radikal bebas yang kurang reaktif atau merubahnya menjadi senyawa non radikal. [22]

Malondialdehid (MDA) sebagai indikator stres oksidatif bisa ditentukan dengan suatu pengukuran menggunakan asam tiobarbiturat [23]. Induksi cisplatin bisa menyebabkan penurunan aktivitas enzim katalase [24]. Katalase merupakan salah satu antioksidan enzimatis yang berfungsi sebagai sistem pertahanan terhadap serangan stress oksidatif. Katalase mengkatalisis reaksi penguraian hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi oksigen (O₂) dan air (H₂O). [25]

Tujuan khusus penelitian ini yaitu untuk menguji aktivitas hepatoprotektif ekstrak etanol daun kenikir pada tikus yang diinduksi Cisplatin. Tujuan kedua dari penelitian ini untuk membuktikan aktivitas hepatoprotektif dari daun kenikir mempengaruhi kadar *Inducible nitric oxide synthase* (iNOS) . Urgensi penelitian ini sangat penting untuk dapat memberikan informasi ilmiah pada masyarakat tentang daun kenikir sebagai tanaman obat keluarga yang memiliki antioksidan alami dan antidislipidemia (antikolesterol) yang mudah didapat. Penelitian ini memiliki relevansi dengan RIRN 2017-2045 dalam bidang Kesehatan, Pada Tema Teknologi Kemandirian Bahan baku Obat. Kemudian sesuai dengan PRN 2020-2024 pada tema bahan baku obat - obatan dan obat - obatan alami. Penelitian ini juga sejalan dengan Fokus Renstra Penelitian **Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia (FK-UMI) 2021-2025** dengan bidang unggulan Penemuan dan Pengembangan Obat Herbal. Penelitian ini merupakan penelitian payung sesuai dengan roadmap peneliti. Berdasarkan informasi yang telah dijabarkan di atas, peneliti tertarik untuk mengkaji “Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol daun kenikir pada tikus yang diinduksi Cisplatin”.

BAB II

DESAIN KONSEP PENELITIAN

Jenis penelitian yang telah dilakukan oleh penulis buku ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *posttest only controlled group design* pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus sp.*) DMT2 yang diinduksi dengan *High Fatty Diet (HFD)* - Streptozotocin (STZ) - Nicotinamide (NA). Dengan rancangan ini, memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol, tetapi rancangan ini tidak memungkinkan peneliti untuk menentukan sejauh mana atau seberapa besar perubahan itu terjadi, sebab tes dilakukan pada akhir perlakuan (tidak untuk menentukan data awal).

Jenis penelitian penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *randomized post test control group design*. Sampel diperoleh dengan metode simpel random sampling, sedangkan daun kenikir dengan metode purposive sampling. Penelitian ini akan mengukur kadar iNOS pada tikus mencit putih jantan yang dilakukan selama 21 hari. Dengan rancangan ini, memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol, tetapi rancangan ini tidak memungkinkan peneliti untuk menentukan sejauh mana atau seberapa besar perubahan itu terjadi, sebab tes

dilakukan pada akhir perlakuan (tidak untuk menentukan data awal).

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus mencit putih jantan sesuai dengan kriteria inklusi: 2,5-3 bulan, berat badan 130-240 gram, kondisi sehat (aktif dan tidak cacat). Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah: tikus putih jantan tidak bergerak aktif, tikus mati selama masa penelitian. Perkiraan besar sampel yang digunakan dihitung dengan formula Federer, dengan perhitungan sebagai berikut $(n - 1) (t - 1) \geq 15$ didapatkan jumlah seluruh sampel sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok. Alur penelitian: alur penelitian ini dilaksanakan selama 1 tahun untuk melihat efektivitas dari ekstrak daun kenikir sebagai kardioprotektif. 1. Aklimatisasi hewan coba 2. Induksi cisplatin selama 2 minggu 3. Pemberian dosis ekstrak daun kenikir selama 21 hari 4. Pengukuran kadar kadar iNOS.

Ekstrak berasal dari provinsi Sumatera Utara. Penelitian ini ingin mengetahui efek ke hati dengan menggujur aktivitas iNOS. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia FK-UMI Medan untuk pembuatan ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus*). Proses aklimatisasi, pemberian *cisplatin* dan penanganan sampai pembedahan hewan coba di *animal house* FK-UMI. Laboratorium Terpadu FK-UMI Medan untuk pemeriksaan iNOS. Dimana penelitian ini dilakukan tahun 2022 berkisar \pm 5 bulan.

Perkiraan besar sampel menggunakan formula Federer, dengan perhitungan sebagai berikut:

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

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

$$(n - 1) 5 \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$N \geq 4$, ditambah 1 ekor per kelompok menjaga kematian hewan coba

Keterangan :

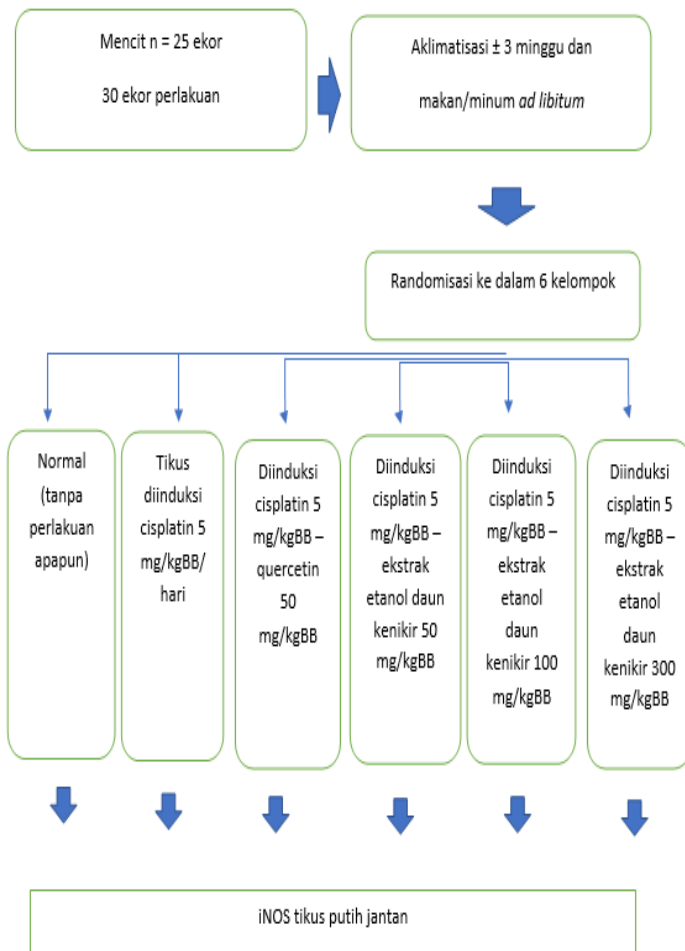
n = besar sampel

t = jumlah perlakuan

maka didapatkan jumlah seluruh sampel sebanyak $5 \times 6 = 30$ ekor, yang dibagi menjadi 6 kelompok :

- a. Kelompok 1, kontrol normal tidak diberikan perlakuan apapun, layaknya tikus normal pada umumnya yang diberikan makan dan minum secara berlebih (*ad libitum*) di dalam kandangnya.
- b. Kelompok 2, kontrol negatif, diinduksi cisplatin 5 mg/kgBB/harig
- c. Kelompok 3, kontrol positif, diinduksi cisplatin 5 mg/kgBB + quercetin 150 mg/kgB
- d. Kelompok 4, kelompok perlakuan yang diinduksi cisplatin 5 mg/kgBB + ekstrak etanonol daun kenikir 50 mg/kgBB, p.o.
- e. kelompok 5, kelompok perlakuan yang diinduksi cisplatin 5 mg/kgBB + ekstrak etanonol daun kenikir 100 mg/kgBB, p.o.
- f. kelompok 6, kelompok perlakuan yang diinduksi cisplatin 5 mg/kgBB + ekstrak etanonol daun kenikir 300 mg/kgBB, p.o

Alur penelitian dilihat pada gambar 2.1.
Berikut alur dalam penelitian ini.



Gambar 2. 1. Alur penelitian

2.1. Pembuatan Ekstrak

2.1.1. CARA KERJA

1. Persiapan

9 | - *Monograf Khasiat Khasiat Daun Kenikir (Cosmos Caudatus) Untuk Hati (Liver) -*

a. Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir

Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 gram serbuk daun kenikir dimasukkan ke dalam wadah kaca, ditambahkan etanol 96 % sebanyak 3,75 L, tutup, biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 4 L. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari. Dienaptuangkan atau disaring. Hasil yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator sampai sebagian besar pelarutnya menguap dan dilanjutkan proses penguapan di atas penangas air sampai diperoleh ekstrak kental.

b. Pengujian Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Daun Kenikir

Pengujian aktivitas hepatoprotektif meliputi penyiapan hewan percobaan, penyiapan bahan uji, kontrol, obat pembanding, induksi kerusakan hati, dan pengujian efek hepatoprotektif.

c. Penyiapan hewan uji

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan dengan berat badan 130-240 gram sebanyak 30 ekor dengan kondisi sehat. Hewan diaklimatisasi selama 1 minggu dengan tujuan untuk menyeragamkan makanan dan hidupnya dengan kondisi yang serba sama sehingga dianggap memenuhi syarat penelitian.

d. Penyiapan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah suspensi iNOS suspensi ekstrak daun kenikir sebagai bahan uji, untuk penginduksi kerusakan hati digunakan Cisplatin.

2.2. Induksi Cisplatin

Hewan coba diberikan diinduksi cisplatin (5 mg/kg BB) selama 21 hari. Induksi cisplatin diberikan pada hari ke-4 menggunakan spuit injeksi melalui intra peritoneal. Penggunaan cisplatin secara berkepanjangan dapat menimbulkan efek hepatotoksik (El Sayyad et al ,2009). Mekanisme hepatotoksik yang disebabkan oleh Cisplatin masih belum dipahami dengan baik saat ini. Namun, telah ditemukan bahwa Cisplatin terakumulasi dalam sel hati manusia yang mengakibatkan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) [26,27].

2.3. Pemeriksaan Elisa

Penelitian ini menggunakan elisa kit dari Bioassay Technology Laboratory, Shanghai China. Pada prinsipnya metode pemeriksaan baik iNOS dengan menggunakan elisa kit Bioassay adalah sama yakni adanya interaksi antigen dan antibodi suatu sampel yang dibantu oleh enzim sebagai indikator dalam reaksi. Perbedaannya hanya pada antibodi yang digunakan (lihat tanda # pada cara kerja). Berikut adalah cara kerjanya :

1. Sampel yang akan digunakan adalah darah yang berupa bagian serum.
2. Darah diambil dari jantung tikus, kemudian dimasukkan ke dalam tabung kuning yang berisi gel.
3. Setelah selesai disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, serum darah diambil dimasukkan ke dalam microtube 2 ml.
4. Untuk dapat menjaga kesegaran sampel maka dilakukan penyimpanan pada suhu 2-80C untuk sampel yang akan digunakan dalam waktu 5 hari. Sementara itu untuk sampel yang akan digunakan

pada waktu 1 bulan - 1 tahun akan disimpan pada suhu -400C.

5. Persiapkan seluruh reagen yang akan digunakan, larutan standar dan sampel.
6. Semua reagen yang akan digunakan diletakkan pada suhu ruang terlebih dahulu sebelum digunakan.
7. Tentukan jumlah strip yang akan digunakan untuk pengujian dan masukan strip pada frame yang akan digunakan.
8. Ambil larutan standar sebanyak 50 μ L dan sampel sebanyak 40 μ L ke dalam lubang *microplate*
9. Tambahkan 10 μ L antibodi (#dalam hal ini sesuai dengan pemeriksaan, misal jika yang diperiksa adalah Caspase 3 maka antibodi caspase 3 yang digunakan) ditambahkan dalam sampel.
10. Selanjutnya tambahkan 50 μ L streptavidin-HRP dalam sampel dan standar lalu tutup *microplate* dan dihomogenkan.
11. Inkubasi pada suhu 370C selama 60 menit.
12. Angkat *microplate* dari alat inkubasi elisa ke washer letakkan kemudian setting 5 kali untuk pencucian dengan menggunakan buffer selama 30 menit.
13. Tunggu 1 menit untuk setiap 1x pencucian dan keringkan dengan tissue atau bahan penyerap.
14. Lalu pada lubang *microplate* dilakukan penambahan substrat *Solution A* sebanyak 50 μ L dan substrat *Solution B* sebanyak 50 μ L.
15. Selanjutnya penutupan *microplate* dan diinkubasi pada suhu 370C selama 10 menit dalam kondisi gelap.

16. Selanjutnya dilakukan penambahan *Stop Solution* dan akan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
17. Tunggu 10 menit lalu penentuan nilai OD (*Optical Density*) menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm dalam waktu 10 menit setelah penambahan *Stop Solution*.
18. Kemudian baca hasil dan kurva regresi di alat elisa menggunakan program komputer

2.4. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dicatat dan dipresentasikan dalam bentuk rata-rata \pm simpangan baku (rata-rata \pm SD). Dilakukan uji normalitas dan homogenitas data. Jika data berdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji ANOVA. Semua analisa data dilakukan dengan menggunakan software SPSS. Dalam penelitian ini untuk keputusan uji statistik diambil taraf nyata 5% ($p = 0,05$) yang dianggap bermakna atau signifikan.

2.5. Jadwal Penelitian

Keseluruhan kegiatan penelitian dari persiapan hingga penulisan hasil penelitian dilakukan selama \pm 8 bulan. Adapun urutan kegiatan jadwal pelaksanaan secara lengkap dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

No	Nama Kegiatan	Bulan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Pemesanan reagent	√	√	√									
2	Pembuatan ekstrak	√											
3	Ethical Clerance				√								
4	Aklimatisasi hewan coba					√							
5	Induksi hewan coba					√	√						
6	Uji elisa pada hewan coba						√	√					
7	Analisis data								√				
8	Publikasi Scopus									√	√	√	√

BAB III

MENGENAL TANAMAN

KENIKIR

3.1. Sejarah Tanaman Kenikir

Kenikir berasal dari Amerika tropis yang tersebar luas di daerah tropis dengan nama *binomial* *Cosmos caudatus*. Nama ini disampaikan oleh Karl Sigismund Kunth di tahun 1820 dan dianggap sebagai nama yang sah telah dipublikasikan. Kenikir merupakan salah satu species dari genus *Cosmos* yang terdiri dari 26 species dari keluarga/famili *Asteraceae/Compositae*. Tumbuhan ini diketahui mempunyai beberapa nama atau penyebutan yang berbeda-beda pada masingmasing daerah. [31]



Gambar 3. 1. Kenikir (*Cosmos caudatus*) [28]

Sumber: (Dalimartha, 2015)

a. Klasifikasi Tanaman Kenikir

Klasifikasi kenikir adalah sebagai berikut: [29]

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Asterales
Suku	: Asteraceae
Marga	: Cosmos
Jenis	: <i>Cosmos caudatus</i> Kunth

b. Morfologi Daun Kenikir

Kenikir (*Cosmos caudatus*) merupakan tanaman perdu dengan tinggi 75-100 cm, batang tegak, berbentuk segiempat, beralur membujur, bercabang banyak, batang muda berbulu, beruas-ruas, warna hijau keunguan. Daun majemuk, tumbuh bersilang, berhadapan, ujung runcing, tepi rata, panjang tangkai 25 cm. Mahkota bunga terdiri dari delapan helai daun. Benang sari berbentuk tabung, putik berambut, warna hijau kekuningan, serta bunga berwarna merah. Buah berbentuk jarum, keras, ujungnya berambut, berwarna hijau saat masih muda dan berubah menjadi coklat setelah tua. Sedangkan akarnya tunggang dan berwarna putih. Kenikir menyukai tempat tumbuh yang langsung terkena sinar matahari dengan tanah berpasir atau berbatu, berlempung, liat berpasir atau berlempung dengan kelembaban sedang atau lebih. [30]

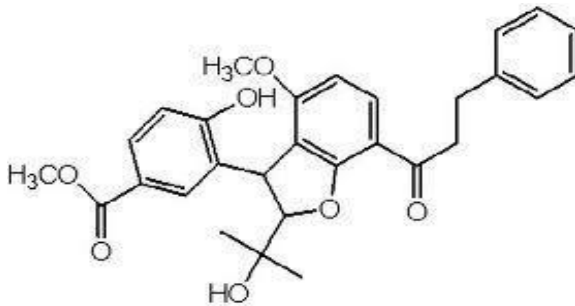
c. Kandungan Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*)

Daun kenikir (*Cosmos caudatus*) mengandung beberapa senyawa metabolit seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, tanin, pilofenol, dan alkaloid. [31]

1) Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan campuran berbagai senyawa organik yang memiliki sifat mudah menguap. Komponen

penyusun minyak atsiri adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen. Minyak atsiri sangat berpengaruh mengendalikan hama dan serangga [31].

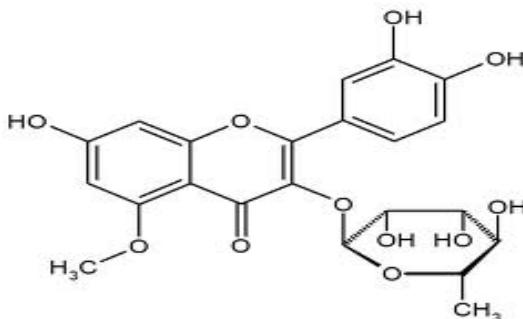


Gambar 3. 2. Struktur kimia Minyak atsiri [31]

Sumber: (Irawaty; dkk, 2019)

2) Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang terdapat di alam. Flavonoid ditemukan pada bagian-bagian tanaman seperti buah, biji, akar, kulit kayu, batang dan bunga. Flavonoid ini merupakan inhibitor pernafasan atau racun pernafasan. Flavonoid memiliki bau yang sangat tajam, rasanya pahit, dapat larut dalam air dan pelarut organik, serta mudah terurai pada temperatur tinggi [31].

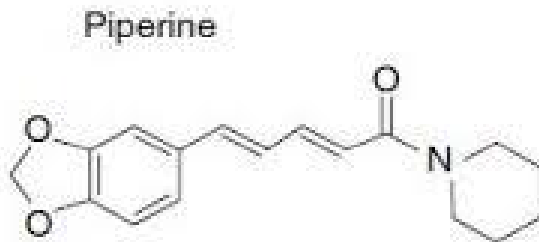


Gambar 3. 3. Struktur kimia flavonoid [31]

Sumber: (Irawaty; dkk, 2019)

3) Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dengan satu atau lebih atom nitrogen yang umumnya berada dalam gabungan sistem siklik. Golongan senyawa ini biasanya memiliki aktivitas farmakologis pada manusia dan hewan. Ciri-ciri alkaloid umumnya berbentuk padat (kristal), meskipun dalam suhu kamar ada yang cair (misalkan nikotin), memutar bidang polarisasi, berasa pahit, bentuk garam larut dalam air dan larut dalam pelarut organik dalam bentuk bebas atau basanya [31].



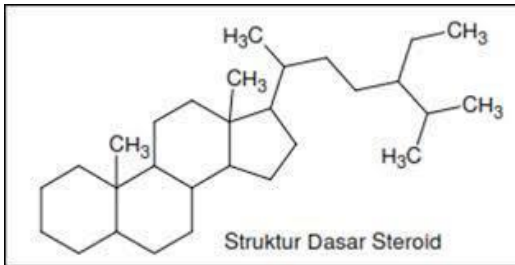
Gambar 3. 4. Struktur Piperin (alkaloid) [31]

Sumber: (Irawaty; dkk, 2019)

4) Saponin

Saponin adalah senyawa heteroglukosida yang memiliki rasa pahit, terdapat dalam berbagai bahan makanan asal tanaman yang mengandung satu atau beberapa unit gula dan suatu aglikon yang merupakan turunan steroid atau triterpenoid. Saponin merupakan metabolit sekunder yang bersifat toksik asal tanaman dari proses metabolisme tanaman. Fungsi saponin bagi tanaman adalah untuk melindungi diri dari serangan hama atau

serangga lainnya dan sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat [31].

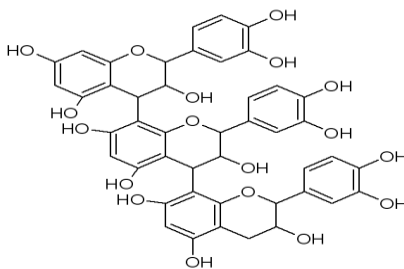


Gambar 3. 5. Struktur kimia senyawa saponin netral [31]

Sumber: (Irwaty; dkk, 2019)

5) Polifenol (Tanin)

Tanin merupakan polifenol tanaman yang larut dalam air dan dapat menggumpalkan protein. Tanin dapat menurunkan kemampuan mencerna makanan dengan cara menurunkan aktivitas enzim pencernaan (protase dan amilase) serta mengganggu aktivitas usus. Serangga yang memakan tumbuhan dengan kandungan tanin tinggi akan memperoleh sedikit makanan, akibatnya akan terjadi penurunan pertumbuhan [31].



Gambar 3. 6. Struktur kimia senyawa polifenol (tanin) [31]

Sumber: (Irwaty; dkk, 2019)

d. Kegunaan Tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus*)

Daun kenikir (*Cosmos caudatus*) memiliki potensi sebagai sayuran berkhasiat obat karena memiliki kemampuan menetralkan radikal bebas. Secara tradisional daun kenikir (*Cosmos caudatus*) ini juga digunakan sebagai obat penambah nafsu makan, penguat tulang, atau lemah lambung. Selain itu dari hasil penelitian modern, daun kenikir juga dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti gastritis, kanker, malaria, jantung, hipertensi, kolesterol dan stroke. [31]

Selain itu, daun kenikir (*Cosmos caudatus*) banyak dikonsumsi masyarakat sebagai sayuran. Jenis kenikir yang dapat dimakan adalah kenikir dengan bunga berwarna merah dan berukuran kecil. Kenikir (*Cosmos caudatus*) cukup akrab di telinga masyarakat Jawa. Daunnya sering dijadikan salah satu pelengkap sayuran pada pecel. Juga dibikin sayur lodeh. Bagi orang Sunda, sering dipakai sebagai lalap atau trancam. Daun kenikir (*Cosmos caudatus*) memiliki aroma yang cukup khas, sedikit wangi dan rasa yang agak getir. [32]

3.2. Penyarian

Penyarian merupakan pemindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari, sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyarian tersebut. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Dengan demikian maka makin halus serbuk simplisia seharusnya makin baik penyariannya. Pada dasarnya metode ekstraksi ada beberapa macam diantaranya yaitu maserasi (perendaman), perkolasi, digesti, infusi, dan dekoksi. [33]

a. Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan dengan cara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan utama obat sesedikit mungkin terkena panas. [34]

Berdasarkan sifatnya ekstrak dapat dibagi menjadi empat, yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. [35]

- 1) Ekstrak encer (*Extractum tenue*), sediaan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu yang mudah mengalir.
- 2) Ekstrak kental (*Extractum spissum*), sediaan kental yang apabila dalam keadaan dingin dan kecil kemungkinan bisa dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%.
- 3) Ekstrak kering (*Extractum siccum*), sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dihancurkan dengan tangan. Melalui penguapan dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk, yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%.
- 4) Ekstrak cair (*Extractum fluidum*), sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap ml ekstrak

mengandung bahan aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat [35].

b. Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut [36]. Ekstraksi sebagai proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya.

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu [37]. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian, hingga memenuhi baku yang ditetapkan. [38]

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Bahan-bahan aktif seperti senyawa antimikroba dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan pada umumnya diekstrak dengan pelarut. Pada proses ekstraksi dengan pelarut, jumlah dan jenis senyawa yang masuk kedalam cairan pelarut sangat ditentukan oleh jenis pelarut yang digunakan dan meliputi dua fase yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi. Pada fase pembilasan, pelarut membilas komponen-komponen isi sel yang telah pecah pada proses penghancuran sebelumnya. [39]

Pada fase ekstraksi, mula-mula terjadi pembengkakan dinding sel dan pelonggaran kerangka selulosa dinding sel

sehingga pori-pori dinding sel menjadi melebar yang menyebabkan pelarut dapat dengan mudah masuk ke dalam sel. Bahan isi sel kemudian terlarut ke dalam pelarut sesuai dengan tingkat kelarutannya lalu berdifusi keluar akibat adanya gaya yang ditimbulkan karena perbedaan konsentrasi bahan terlarut yang terdapat di dalam dan di luar sel. [40]

c. Metode Ekstraksi

Cara penyarian atau metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi dan perkolasi. Metode penyarian yang akan digunakan tergantung dari wujud dan kandungan bahan yang akan disari. Selain itu, pemilihan metode penyarian disesuaikan dengan kepentingan untuk memperoleh kandungan kimia yang diinginkan. [39]

1) Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang banyak dilakukan untuk mengekstraksi senyawa dari tanaman. Terdapat dua tipe maserasi yaitu sederhana, ultrasonik dan kinetik atau pengadukan. Maserasi sederhana dapat dilakukan dengan merendam bagian simplisia secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup, yang dilakukan pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya tiga hari dengan pengadukan berulang kali sampai semua bagian tanaman dapat melarut dalam cairan pelarut. Proses ekstraksi dihentikan ketika telah tercapai kesetimbangan senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Selanjutnya campuran di saring dan ampasnya diperas agar diperoleh bagian cairnya saja. Cairan jernih disaring atau didekantasi dan dibiarkan selama dalam waktu tertentu.

Maserasi ultrasonik merupakan modifikasi dari metode maserasi dengan menggunakan ultrasound (gelombang dengan frekuensi tinggi, 20kHz). Metode ini dilakukan dengan memasukkan simplisia kedalam sebuah bejana, kemudian bejana dimasukkan dalam wadah ultrasonik. Pada prinsipnya, metode ini memberikan tekanan mekanik pada sel sehingga menghasilkan rongga pada sampel, rongga yang terbentuk menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi. Sehingga senyawa yang diperoleh cukup banyak. Keuntungan penggunaan metode ini adalah prosesnya lebih cepat dan efisien dibandingkan dengan metode yang lainnya.

2) Perkolasi

Perkolasi biasanya digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dari bagian tanaman dalam penyediaan tinktur dan ekstrak cair. Perkolator merupakan silinder sempit dan panjang, yang kedua ujungnya berbentuk kerucut terbuka. Tanaman yang akan diekstrak dibasahi dengan pelarut yang sesuai dan didiamkan selama 4 jam dalam tangki tertutup. Kemudian bagian tanaman dimasukkan ke dalam perkolator, dan ditambahkan sejumlah pelarut sampai terbentuk lapisan tipis. Kemudian campuran ini didiamkan selama 24 jam dalam perkolator tertutup. Selanjutnya pelarut ditambahkan lagi sesuai kebutuhan sampai diperoleh cairan sebanyak tiga per empat dari volume akhir. Residu ditekan dan ditambahkan ke cairan ekstrak. Sejumlah pelarut ditambahkan lagi ke dalam cairan ekstrak agar diperoleh ekstrak dengan volume yang diinginkan. Campuran ekstrak yang diperoleh dilakukan penjernihan

dengan menyaring kemudian dilanjutkan dengan proses pemisahan ekstrak sederhana (dekantasi).

d. Proses Pembuatan Ekstrak

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering. Dari simplisia dibuat serbuk simplisia sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar beberapa hal yaitu makin halus serbuk simplisia, proses ekstraksi makin efektif-efisien, namun makin halus serbuk, maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahapan filtrasi. Dan selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras (logam, dll) maka akan timbul panas yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Namun hal ini dapat dikompensasi dengan penggunaan nitrogen cair. [41]

Proses selanjutnya adalah menentukan pelarut yang akan digunakan. Pelarut yang digunakan yang mampu melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Faktor utama yang menjadi pertimbangan pada pemilihan pelarut adalah selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan dan keamanan. Namun sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. [42]

Selanjutnya dilakukan pemurnian ekstrak untuk menghilangkan (memisahkan) senyawa yang tidak dikehendaki tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Lalu dilakukan pemekatan yaitu peningkatan jumlah

senyawa terlarut secara penguapan pelarut hingga didapatkan ekstrak kental atau pekat. [42]

Kemudian dilakukan pengeringan ekstrak secara evaporasi yaitu peristiwa menguapnya pelarut dari campuran yang terdiri atas zat terlarut yang tidak mudah menguap dan pelarut yang mudah menguap. Dan dihitung hasil rendemen yaitu perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. [42].

BAB IV

HATI (HEPAR/ LIVER)

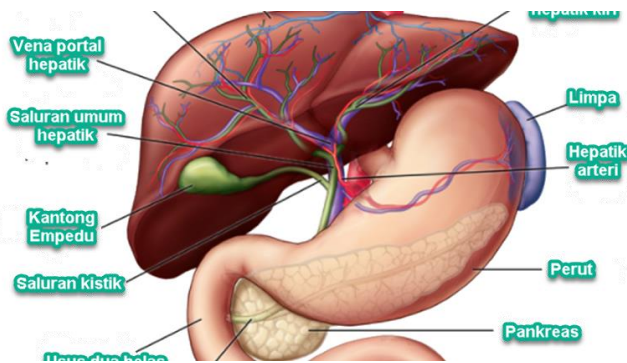
4.1. Anatomi Hepar

Hepar merupakan organ *viscera abdominis* yang terbesar menempati bagian superior cavum abdominis tepatnya menempati kwadran kanan atas abdomen. Berat hepar dewasa sekitar 2 persen berat badan, berwarna coklat kemerahan pada keadaan segar. 5 Batas atas kira - kira sejajar dengan xiphosternal joint sedikit melengkung ke atas pada setiap sisi. Bagian kiri mencapai spasmus intercostalis V, 7-8 cm dari linea mediana, dan disebelah kanan kosta V, melengkung ke bawah menuju batas kanan yang memanjang dari kosta VII sampai kosta XI di *linea mid aksilaris*. Batas inferior mengikuti garis yang menghubungkan ekstremitas inferior kanan dan ekstremitas superior kiri. Permukaan luar hepar dibungkus dengan kapsul jaringan fibrosa dan dilingkupi oleh peritonium viseral. [43]

Hepar terdiri dari empat lobus dan delapan segmen, tergantung dari sudut pandang anatomi makro atau struktur internal. Klasifikasi hepar berdasar struktur internal, terbagi atas lobus, segmentum dan sector. Distribusi duktus biliaris, *a. hepatica* dan *v. porta* mempunyai pola yang sama dan mendasari penentuan *segmenti hepatis*. *V. hepatica* mempunyai pola yang berbeda. Secara anatomik makroskopik, berdasarkan perlekatan peritonium dan ligamentum, hepar terbagi atas *lobus hepatis dexter*, *lobus hepatis sinister*, *lobus quadratus* dan *lobus caudatus*. [43]

Hepar mendapat vaskularisasi dari beberapa pembuluh darah, yaitu *v. porta*, *a. hepatica*, dan *v. hepatica*. *vena porta* dan *a. hepatica* berada di dalam omentum minus dan alirannya menuju porta hepatis, sedang duktus hepaticus dan *vasa limpaticus* juga berada di dalam omentum minus dengan aliran meninggalkan *porta hepatis*. *V. hepatica* meninggalkan hepar melalui pars posterior untuk bermuara ke *v. cava inferior*. [43]

Sistem persarafan hepar mempunyai dua sistem persarafan yaitu parenkim diinnervasi *n. hepaticus* yang berasal dari *plexus hepaticus* yang terdiri atas serabut simpatis dan parasimpatis (*n.vagus*) sedang permukaan mendapat innervasi dari *nervi intercostales* bawah. Berikut anatomi hepar dalam gambar berikut ini. [43]



Gambar 4. 1. Anatomi Hepar [43]

Sumber: (Oktavia; Ifora; Suhatri; & Marni, 2017)

4.2.Histologi Hepar

Hepar pada potongan melintang tersusun dari lempengan/deretan sel-sel parenkim hati yang tersusun radier dengan pusat pembuluh kecil di tengahnya yaitu *v. sentralis*, dan dipisahkan oleh celah yang disebut sinusoid hepar. Dinding sinusoid dilapisi oleh selapis sel endotel

yang tidak kontinyu (mempunyai pori-pori). Celah yang memisahkan antara sel - sel endotel dengan hepatosit disebut sebagai celah/spasium Disse, yang berisi mikrovili dari hepatosit. [44]

Selain endotel, pada sinusoid juga terdapat sel Kupffer yang merupakan sel fagosit/makrofag, dengan intinya yang lebih menonjol dibanding inti endotel. Sel ini berfungsi untuk memfagosit eritrosit tua, memakan hemoglobin dan mensekresi protein yang berkaitan dengan proses imunologik (sitokin). [44]

Sel stellata terdapat pada celah Disse (perisinusoid) atau disebut juga sel penimbun lemak (liposit). Sel ini mampu menyimpan vitamin A yang diberikan dari luar dalam tetesan-tetesan lemak. Sel ini diduga mampu berdeferensiasi menjadi fibroblas yang ada dalam lobules. [44]

Hepatosit/sel hepar merupakan sel berbentuk polihedral, mempunyai permukaan 6 atau lebih, dengan batas sel jelas, inti bulat di tengah. Sel yang besar dengan inti besar atau inti 2 dapat ditemukan karena terjadi mitosis. Sitoplasma eosinofilik, karena banyaknya mitokondria, retikulum endoplasma kasar, dan retikulum endoplasma halus. Di dalam sitoplasmanya terdapat lisosom, peroksisom (microbodies), butir-butir glikogen (pengecetan khusus) serta tetes lemak (terutama setelah puasa atau makan-makanan banyak lemak). [45]

Retikulum endoplasma kasar membentuk agregat yang tersebar dalam sitoplasma yang disebut badan basofilik. Beberapa protein (albumin darah, fibrinogen, dan lain-lain) disintesis pada poliribrosom di struktur ini. Berbagai proses penting seperti proses oksidasi, metilasi, dan konjugasi yang diperlukan untuk mendetoksifikasi

berbagai zat sebelum dieksresi dari tubuh dilakukan oleh retikulum endoplasma halus. Organel ini tersebar difus dalam sitoplasma sel hepatosit. [45]

Lobulus hepar yang berbentuk prisma heksagonal dengan *v. centralis* di tengahnya disebut sebagai lobulus klasik hati yang merupakan unit struktural anatomis terkecil dari hati. Sedangkan unit fungsional utama dari hati dinamakan sebagai lobulus portal, yang dibatasi oleh 3 vena *centralis* berbeda yang dikelompokkan sekitar sumbu duktus biliaris interlobuler. Lobulus portal terdiri atas bagian-bagian dari tiga lobulus klasik yang melepaskan sekret ke dalam *duktus biliaris interlobularis* sebagai pusatnya. [46]

Unit yang lebih kecil yaitu asinus hati merupakan konsep terbaru dari unit fungsional hati terkecil. Unit ini terdiri dari atas sejumlah parenkim hati yang terletak di antara dua vena *centralis* dan mempunyai cabang terminal arteri hepatica, vena porta dan sistem duktuli biliaris sebagai sumbunya. Jadi suatu asinus hati memperoleh darah dari cabang akhir arteri hepatica dan vena porta, serta mengeluarkan hasil sekresi eksokrin ke dalam duktuli biliaris sebagai sumbunya. [46]

4.3.Fisiologi Hepar

Hepar juga berperan penting dalam proses metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. Hepar juga mempunyai fungsi lain, yaitu penimbunan vitamin, besi, tembaga, konjugasi, ekskresi kelenjar adrenal dan steroid, serta detoksifikasi sejumlah zat endogen dan eksogen. Fungsi detoksifikasi sangat penting dan dilakukan oleh enzim hepar melalui proses oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konjugasi zat yang dapat berbahaya dan mengubahnya

dalam zat yang dalam fisiologinya tidak aktif (biotransformasi). [47]

Biotransformasi adalah mekanisme tubuh untuk menginaktivasi dan mengekresikan zat-zat asing dari tubuh. Bahan asing tersebut dapat berupa bahan dari alam (xenobiotik) ataupun dibuat manusia secara sintetik. Biotransformasi terjadi terutama di hepar. [47]

Pada umumnya biotransformasi terjadi melalui dua reaksi, yaitu reaksi fase I (reaksi perubahan) dan reaksi fase II (pembentukan konjugat). Reaksi fase I terjadi di retikulum endoplasma halus. Keadaan tertentu (beberapa zat karsinogen), reaksi fase I ini dapat menyebabkan bahan-bahan asing menjadi lebih aktif atau lebih toksik terhadap tubuh. Reaksi fase I yang penting dalam biotransformasi adalah reaksi oksidasi (hidroliksasi, pembentukan epoksida, pembentukan sulfoksida, dealkilasi dan desaminasi), reaksi reduksi (dari senyawa karbonil, azo atau nitro dan dehalogenasi), metilasi dan desulfurasi. [48]

Reaksi tipe II merangkaikan substrat (bilirubin, metabolit dari xenobiotik, obat - obatan, dan hormon steroid) pada molekul yang sangat polar dan bermuatan negatif. Reaksi fase II dikatalisis oleh enzim transferase. Produk yang dihasilkan berupa konjugat. Konjugat merupakan molekul yang sangat polar dan dapat larut dalam air, sehingga mudah diekresikan. Konjugat dengan berat molekul > 300 akan diekresikan melalui sistem bilier, Sedangkan konjugat dengan berat molekul < 300 diekresikan di ginjal. [48]

4.4.Fungsi Hepar

Hati memiliki banyak fungsi untuk mempertahankan hidup. Fungsi utama hati antara lain: [49]]

1) Fungsi metabolisme

Sel hepar merupakan suatu kolam besar reaktan kimia dengan laju metabolisme yang tinggi, memberikan substrat energi dan suatu sistem metabolisme terhadap lamanya mengolah dan mensintesis berbagai zat yang diangkut ke daerah tubuh lainnya dan melakukan berbagai fungsi metabolisme lain. [49]

(a) Metabolisme Karbohidrat

Hati mengubah pentosa dan heksosa yang diserap dari usus halus menjadi glikogen, mekanisme ini disebut glikogenesis. Glikogen lalu ditimbun di dalam hati kemudian hati akan memecahkan glikogen menjadi glukosa. Proses pemecahan glikogen menjadi glukosa disebut glikogenolisis. Dari proses-proses ini maka hati merupakan sumber utama glukosa dalam tubuh, selanjutnya hati mengubah glukosa melalui hexose monophosphate shunt dan terbentuklah pentose. Pembentukan pentosa mempunyai beberapa tujuan : menghasilkan energi, biosintesis dan nukleotida, asam nukleat dan ATP, dan membentuk senyawa 3 karbon yaitu asam piruvat (asam piruvat diperlukan dalam siklus krebs). [50]

(b) Metabolisme Protein

Peran hati yang sangat penting dalam metabolisme protein adalah deaminase asam amino, pembentukan urea untuk membuang amoniasia dari tubuh. Pembentukan protein plasma, interkonversi diantara berbagai asam amino dan komponen penting lainnya yang diperlukan untuk proses metabolisme. [50]

(c) Metabolisme Lemak

Hati mempunyai peran tertentu dalam metabolisme lemak yaitu melakukan oksidasi asam lemak dalam jumlah besar, mengubah karbohidrat dan protein dalam jumlah

besar menjadi lemak. Ketika produk lemak dibutuhkan, lemak di ambil keluar dari deposit lemak dalam tubuh, diangkut dalam darah menuju hati, dan di hati dipecah menjadi asam lemak dan gliserol. Selain itu, asam lemak dibawa menuju hati dalam darah porta dari usus dan diubah menjadi jenis-jenis yang dapat digunakan dalam proses metabolic. [51]

2) Penyimpanan Vitamin

Hati mempunyai kecendrungan tertentu untuk menyimpan vitamin dan telah lama diketahui sebagai sumber vitamin yang baik untuk pengobatan pasien. Vitamin yang terbanyak disimpan dalam hati adalah vitamin A, tetapi sejumlah besar vitamin D dan B1-2 dalam keadaan normal juga disimpan. Kecuali besi dalam hemoglobin darah, sebagian besar besi tubuh biasanya disimpan di hati dalam bentuk ferritin. Sel hati berisi sejumlah besar protein yang disebut apoferritin yang dapat bergabung dengan besi baik dalam jumlah sedikit maupun banyak. Oleh karena itu, maka besi akan berikatan dengan apoferritin membentuk ferritin dan disimpan dalam bentuk ini sampai diperhatikan. Hati membentuk berbagai bahan yang sangat diperlukan untuk proses pembekuan darah. Bahan - bahan tersebut adalah fibrinogen protrombin dan beberapa faktor pembekuan lainnya. [51]

3) Fungsi Sintesis

Sintesis adalah penyusunan atau pembuatan suatu senyawa dari zat atau molekul yang sederhana menjadi senyawa kompleks. Fungsi sintesis hati antara lain pembuatan protein dan lipoprotein plasma. [51]

4) Fungsi Pertahanan

Tubuh Pertahanan tubuh oleh hati dapat berupa fungsi detoksifikasi dan fungsi perlindungan. Fungsi detoksifikasi atau penetralan dilakukan oleh enzim-enzim hati melalui oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konyugasi zat-zat yang berbahaya, dan mengubahnya menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif. Fungsi perlindungan dilakukan oleh sel kupffer yang terdapat di dinding sinusoid hati, berkemampuan fagositosis yang sangat besar sehingga mampu membersihkan sampai 99% kuman yang ada dalam vena porta sebelum darah menyebar melewati seluruh sinusoid. Sel kupffer juga mengalihkan immunoglobulin dan berbagai macam antibody yang timbul pada berbagai macam kelainan hati. [51]

5) Sintesa, Sekresi dan Penyimpanan Empedu

Empedu yang dihasilkan oleh sel-sel hati dan sel ductal memegang dua peranan penting yaitu empedu berfungsi dalam proses digesti dan absorpsi dengan jalan membantu melakukan emulsifikasi lemak sehingga memungkinkan lipid dapat mencerna lemak dan membantu transport, absorpsi bahan yang telah mengalami digesti melalui membran mukosa. Empedu juga berfungsi untuk ekskresi hasil-hasil metabolisme tubuh seperti kolesterol, bilirubin, obat-obatan dan beberapa logam berat seperti Cu. [52]

4.5. Kerusakan pada Hepar

Kerusakan hati dapat berupa perlemakan hati, nekrosis, kolestatis dan sirosis hati. [52]

1) Perlemakan hati (Steatosis)

Perlemakan hati adalah penumpukan lemak lebih dari 5% pada organ hati. Penyebab perlemakan hati terdiri dari dua faktor utama. Pertama berhubungan dengan peningkatan kadar asam lemak bebas dalam plasma yang terjadi akibat mobilisasi lemak dari jaringan adiposa atau dari hidrolisis triasilgliserol lipoprotein oleh lipase sensitif hormon di jaringan ekstrahepatik. Pembentukan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) tidak dapat mengimbangi meningkatnya influx dan esterifikasi asam lemak bebas sehingga terjadi penumpukan triasilgliserol yang menyebabkan perlemakan hati. Kedua, karena adanya penghambat metabolik dalam produksi lipoprotein plasma sehingga terjadi penimbunan triasilgliserol [53].

2) Nekrosis Hati

Nekrosis merupakan kematian sel hati yang ditandai dengan rusaknya struktur lobulus hati. Manifestasi dari toksikan yang berbahaya dapat menimbulkan nekrosis. Perubahan biokimia yang terjadi bersifat kompleks dan berbagai hepatotoksikan bekerja melalui berbagai mekanisme. Mekanisme terjadinya nekrosis diantaranya hepatotoksikan secara kovalen mengikat protein dan lipid tidak jenuh dan menyebabkan peroksidasi lipid [54].

3) Sirosis Hati

Sirosis ditandai oleh adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian hati. Kumpulan hepatosit muncul sebagai nodul yang dipisahkan oleh lapisan seberat ini. Beberapa karsinogen kimia dan pemberian Cisplatin jangka panjang dapat menyebabkan sirosis pada hewan. Pada manusia penyebab sirosis yang paling penting adalah

konsumsi kronis minuman beralkohol. Mekanisme penyakit hati akibat konsumsi alkohol masih belum pasti, diperkirakan mekanismenya yaitu sel hati mengalami fibrosis dan destruksi protein yang berkepanjangan akibat metabolisme alkohol yang menghasilkan acetaldehyde. Fibrosis yang terjadi merangsang pembentukan kolagen. Regenerasi sel tetap terjadi tetapi tidak dapat mengimbangi kerusakan sel. Penimbunan kolagen terus berlanjut, ukuran hati mengecil, berbenjol-benjol dan mengeras sehingga terjadi sirosis hati [55].

4.6. Evaluasi Kerusakan Hepar

- 1) Patologi makroskopik warna dan penampilan sering dapat menunjukkan sifat toksisitas, seperti perlemakan hati atau sirosis. Biasanya berat organ merupakan petunjuk yang sangat peka dari efek pada hati. Dalam kasus tertentu peningkatan berat hati merupakan kriteria paling peka untuk toksisitas.
- 2) Pemeriksaan mikroskopik cahaya dapat mendeteksi berbagai jenis kelainan histologi seperti perlemakan, nekrosis, sirosis, nodul hiperplastik dan neoplasia. Mikroskopi elektron dapat mendeteksi perubahan dalam berbagai struktur subset. Pengamatan perubahan subset, serta penemuan biokimia, sering berguna untuk menggambarkan cara kerja toksikan.
- 3) Uji biokimia beberapa enzim serum sebagai indikator kerusakan hati, bila terjadi kerusakan hati, enzim ini dilepaskan ke dalam darah dari sitosol dan organel sebsei, seperti mitokondria, lisosom dan nukleus. Enzim tertentu meningkat dengan nyata pada keadaan kolestatik, tetapi hanya meningkat sedikit pada nekrosis hati. Pemeriksaan berbagai enzim

serum terutama enzim transaminase yang terdiri dari enzim SGPT dan SGOT, terbukti paling praktis sebagai indikator untuk mengukur banyaknya kerusakan hati. Enzim serum lain yang digunakan untuk menilai penyakit hati adalah bilirubin serum, urobilinogen, alkali fosfat dan α -nukleotidase.

- 4) Sifat toksisitas umumnya hepatotoksikan mengganggu struktur membran retikulum endoplasma, menurunkan kandungan sitokrom P-450, menurunkan aktivitas metabolisme obat, dan meningkatkan jumlah rantai samping asli jenuh. [56]

BAB V

APA ITU HEPATOPROTEKTOR, CISPLATIN DAN KUERSETIN ?

5.1. Hepatoprotektor

Hepatoprotektor adalah jenis obat dengan kandungan senyawa yang mampu melindungi hati dari kerusakan yang disebabkan oleh racun, obat-obatan, dan segala penyebab lain yang mungkin terjadi [53]. Hepatoprotektor bekerja dengan mendetoksifikasi senyawa racun yang berasal dari luar (eksogen) ataupun yang terbentuk dari dalam tubuh (endogen) pada proses metabolisme, meningkatkan regenerasi sel yang rusak, bertindak sebagai antiinflamasi, sebagai immunostimulator dan sebagai antioksidan yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Antioksidan dapat berperan mencegah terjadinya stres oksidatif yang disebabkan oleh banyaknya jumlah radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan akan mengikat radikal bebas mencegah terjadinya oksidasi dan menetralkan senyawa yang telah teroksidasi dengan cara menyumbangkan elektron sehingga sel hati terlindungi dari kerusakan. Radikal bebas merupakan atom yang tidak stabil dan bersifat toksik terhadap molekul lainnya. [57]

Hati melakukan banyak fungsi vital. Hati penting dalam mengatur metabolisme, sintesis protein dan molekul lain, menyimpan vitamin dan besi, degradasi hormone, dan inaktivasi dan ekskresi obat dan racun. Aspartate aminotransferase (AST) atau serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT), dan alanine aminotransferase (ALT) atau serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) adalah

enzim intrasel yang terutama berada di jantung, hati, dan jaringan skelet; yang dilepaskan dari jaringan yang rusak, kadarnya meningkat pada kerusakan sel hati. Aminotransferase pada plasma memiliki nilai diagnostic. Aminotransferase normalnya adalah enzim intrasel, dengan kadar rendah dalam plasma mewakili pelepasan isi seluler selama pergantian sel normal. Nilai normal untuk SGOT dan SGPT adalah 5-35 unit/ml.[58] Pada biokimia hati peningkatan aspartate aminotransferase (AST) atau serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT), dan alanine aminotransferase (ALT) atau serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) biasanya mengarah pada perlukaan hepatoselular atau inflamasi.[59]

Hepatoprotektor juga bekerja dengan mekanisme antiinflamasi untuk menghilangkan rangsangan berbahaya dan berpartisipasi dalam respons penyembuhan luka hati. Stres oksidatif dikaitkan dengan aktivasi jalur peradangan. Induksi stres oksidatif akan menstimulasi sel kupfer untuk menghasilkan sitokin proinflamasi, sitokin interleukin-6 hepatoprotektif (IL-6) dan sitokin IL-10 antiinflamasi IL-10. IL-6 melindungi terhadap cedera hati alkoholik melalui aktivasi transduser sinyal dan aktivator transkripsi 3 (STAT3) dan induksi selanjutnya dari berbagai gen hepatoprotektif dalam hepatosit. IL-10 menghambat peradangan hati alkoholik melalui aktivasi STAT3 dalam sel Kupffer / makrofag dan penghambatan selanjutnya dari peradangan hati. [60]

5.2. Cisplatin

Cisplatin merupakan regimen kemoterapi yang direkomendasikan penggunaannya untuk non melanoma skuamous sel karsinoma. Kombinasi cisplatin dengan

paclitaxel, doxorubicin, bleomycin, atau 5- fluorouracil (5-FU) secara luas telah digunakan sebagai terapi untuk karsinoma epidermoid dengan lesi yang luas dan bermetastasis. [61]

Cisplatin bekerja dengan mekanisme menghambat crosslink dari DNA, dan secara aktif mengganggu siklus sel. Pada kasus karsinoma epidermoid dapat diberikan dengan dosis 50 - 100 mg/m² perhari atau 15 - 20 mg/m² perhari selama 5 hari, dan diulang dengan interval waktu setiap 3-4 minggu. Paclitaxel menunjukkan aktivitas yang impresif pada kanker ovarium stadium lanjut, payudara, paru, esophagus, kandung kemih dan kanker kepala leher [57].

Cisplatin merupakan obat antikanker dalam kemoterapi yang memiliki bentuk kompleks platinum yang bersifat sebagai agen antiproliferatif. Cisplatin menimbulkan efek samping antara lain neurotoksisitas, nefrotoksisitas dan bone marrow suppression. Selain itu, penggunaan cisplatin menyebabkan terjadinya resistensi. Mekanisme resistensi cisplatin terjadi melalui perubahan pada uptake selular, efflux obat, penghambatan apoptosis dan peningkatan DNA repair. Resistensi sel kanker dan efek samping cisplatin tersebut disebabkan oleh penggunaannya pada dosis tinggi untuk menghasilkan pengobatan yang lebih efektif. [60]

Dosis cisplatin yang diberikan akan disesuaikan dengan kondisi yang ditangani dan usia pasien. Secara umum, dosis untuk pasien dewasa dan anak-anak adalah 50-100 mg/m² yang diberikan secara infus intravena tunggal selama 6-8 jam tiap 3-4 minggu, atau infus intravena lambat 15-20 mg/m²/hari selama 5 hari, tiap 3-4 minggu. [61]

Berikut adalah rincian dosis umum cisplatin yang diberikan melalui infus pembuluh darah (intravena/IV) untuk pasien dewasa: [62]

- a. Kondisi: Kanker ovarium yang sudah menyebar (bermetastasis). Dosisnya 75–100 mg/m² luas permukaan tubuh (LPT) per siklus, tiap 4 minggu. Obat ini akan dikombinasikan dengan cyclophosphamide [62].
- b. Kondisi: Kanker testis yang sudah menyebar. Dosisnya 20 mg/m² LPT selama 5 hari per siklus. Dosis akan diulangi kembali tiap 3 minggu. Obat akan dikombinasikan dengan bleomycin dan etoposide [62].
- c. Kondisi: Kanker kandung kemih tingkat lanjut. Dosisnya 50–70 mg/m² LPT per siklus, tiap 3–4 minggu, dosis akan disesuaikan dengan radioterapi atau kemoterapi yang sudah dijalani [62].

5.3. Kerusakan Hati karena Cisplatin

Efek toksik Cisplatin dapat timbul pada manusia setelah pemaparan kronis maupun akut. Pada keracunan akut, efek yang segera timbul adalah mual, muntah, depresi pada sistem saraf pusat, yang berkisar antara kejang sampai koma dan depresi pernapasan. Setelah dua hari sampai dua minggu tanda kerusakan hati dan ginjal mungkin akan terlihat. Gejala pada saluran pencernaan termasuk hemetemesis dan nyeri abdominal dan mungkin terjadinya kerusakan hati yang lebih hebat jika diberikan secara oral. [63]

Cisplatin menyebabkan nekrosis yang hebat di dalam sentrobuler hati yang mengandung isoenzim P-450 dengan konsentrasi tertinggi. Radikal bebas yang dihasilkan akan menyebabkan autooksidasi asam lemak polienoik yang terdapat dalam fosfolipid selaput. Terjadinya dengan cara dekomposisi oksidatif lemak dan terbentuk peroksida lemak setelah bereaksi dengan oksigen. Jadi, pemecahan ini tidak hanya menyebabkan kerusakan pada membran seperti

retikulum endoplasma, mitokondria, dan lisosom, tetapi juga pada jaringan lain. [64]

Jejas sel hati sebagai akibat Cisplatin terjadi sangat cepat dan hebat. Kurang dari 30 menit didapat pengurangan sintesis protein hati, protein plasma dan enzim-enzim protein endogen. Dalam waktu 2 jam, pembengkakan retikulum endoplasma dan pemisahan ribosom dari retikulum endoplasma kasar. Kemudian timbul penimbunan lemak, karena ketidakmampuan sel melakukan sintesis lipoprotein, dari trigliserida dan “protein penerima lemak”. Jejas mitokondria terjadi setelah jejas pada retikulum endoplasma, diikuti pembengkakan progresif sel-sel karena peningkatan permeabilitas selaput plasma. [65]

Kerusakan membran plasma terutama disebabkan oleh aldehida lemak yang relatif stabil, yang disebabkan oleh peroksidasi lemak dalam retikulum endoplasma tetapi dapat bekerja pada tempat-tempat yang jauh. Hal ini disusul oleh influks masif kalsium dan kematian sel. Pada kematian sel atau nekrosis sel ini, umumnya inti sel yang paling jelas menunjukkan perubahan. Biasanya inti sel yang mati itu menyusut, batas tidak teratur dan berwarna gelap. Kemungkinan lain inti dapat hancur dan meninggalkan zat kromatin yang tersebar dalam sel, proses ini disebut karioreksis. Akhirnya pada beberapa keadaan, inti sel yang mati menghilang yang disebut kariolisis. [65]

5.4. Kuersetin

Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang banyak terdapat pada tanaman teh, tomat, apel, kakao, anggur, dan bawang. Senyawa ini memiliki aktivitas farmakologi yang sangat beragam, seperti efek dilatasi arteri koroner, menurunkan kadar lemak dalam darah, antiplatelet,

antikanker, antioksidan, antianemia, antiinflamasi, dan juga antianafilaksis. Kuersetin juga diketahui bersifat renoprotektif yakni dapat melindungi ginjal dari kerusakan akibat stress oksidatif dan toksisitas obat-obatan tertentu. Kuersetin memberikan efek perlindungan terhadap ginjal dari kerusakan yang diakibatkan efek samping senyawa nefrotoksik seperti antibiotik golongan aminoglikosida, anti radang golongan non-steroid anti-inflamation drug (NSAID), obat kemoterapi dan lainlain. Penggunaan obat-obatan ini dalam dosis tinggi ataupun kombinasi obat-obatan ini akan memperparah kerusakan ginjal.[66,67]

5.5.iNOS (Inducible nitric oxide synthase)

iNOS adalah salah satu dari tiga enzim utama yang menghasilkan oksida nitrat (NO) dari asam amino l-arginin. NO yang diturunkan dari iNOS memainkan peranan penting dalam berbagai kondisi fisiologis (misalnya pengaturan tekanan darah, perbaikan luka dan pertahanan tubuh) dan patofisiologis (peradangan, infeksi, penyakit neoplastik, sirosis hati, diabetes). iNOS adalah isoform sintase yang paling sering dikaitkan dengan penyakit ganas. Namun demikian, peran iNOS selama perkembangan tumor sangat kompleks, dan tidak sepenuhnya dipahami. Secara khusus, efek penting seperti transformasi malignan, angiogenesis, dan metastasis dimodulasi oleh iNOS. Di sisi lain, NO yang berasal dari makrofag berpotensi memiliki efek sitotoksik/sitostatik pada sel tumor. Oleh karena itu, gangguan terapeutik dengan aktivitas iNOS sangat menarik, terutama pada tumor di mana aktivitas metastasis, mekanisme pertahanan inang dan tingkat diferensiasi tampaknya berkorelasi dengan ekspresi iNOS.[68]

BAB VI

HASIL DAN PEMBAHASAN

6.1. Hasil

Hasil penelitian yang telah diteliti oleh penulis buku ini ini disediakan dalam bentuk tabel seperti dibawah ini :

Tabel 6. 1. Nilai rerata Mean dan Standar deviasi iNOS pada masing-masing kelompok percobaan

Kelompok	Mean	SD	Median	Min	Max	Nilai p*
Kontrol normal	18.408	3.820	18.778	12.040	21.381	
Kontrol negatif, induksi cisplatin 5mg/kgBB/hari	23.712	7.563	22.766	14.982	35.839	
Kontrol positif, induksi cisplatin 5mg/kgBB/hari + quercetin 150mg/kgBB/hari	22.367	3.247	21.362	19.449	27.853	
Perlakuan I, induksi cisplatin 5mg/kgBB/hari + ekstrak etanol daun kenikir 50mg/kgBB/hari	24.524	3.851	24.185	19.869	28.928	0.4252
Perlakuan II, induksi cisplatin 5mg/kgBB/hari + ekstrak etanol daun kenikir 100mg/kgBB/hari	22.569	4.856	24.763	17.121	27.719	
Perlakuan III, induksi cisplatin 5mg/kgBB/hari + ekstrak etanol daun kenikir 300mg/kgBB/hari	21.700	3.278	22.314	17.219	25.854	

*Uji Anova signifikan p<0.05

Data dipresentasikan dalam Mean ± SD.

*(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok normal. #(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol.

Tabel 6.1 menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal yang memiliki kadar iNOS sebesar $18,408 \pm 3,820$ ng/mL, sementara itu kelompok tikus dengan gangguan hati yang diinduksi cisplatin 5mg/kgBB/hari memiliki kadar $23,712 \pm 7,563$ ng/mL, yang secara statistik lebih tinggi kadar iNOS dibandingkan dengan kontrol normal. Sebaliknya kelompok kontrol positif yang diinduksi cisplatin 5mg/kgBB/hari + quercetin 150mg/kgBB/hari menunjukkan penurunan dibandingkan kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan III ($21,700 \pm 3,278$) yang diinduksi cisplatin 5mg/kgBB/hari + ekstrak etanol daun kenikir 300mg/kgBB/hari memiliki kadar iNOS lebih rendah dibandingkan perlakuan I ($24,524 \pm 3,851$) dan perlakuan II ($22,569 \pm 4,856$).

Hal ini penting untuk menganalisis kadar iNOS yang diekspresikan dalam sel hati didalam Dalam serum darah karena kondisi patologis yang diinduksi cisplatin. Induksinya terlibat dalam pengembangan fibrosis hati, dan dengan demikian iNOS bisa menjadi target terapi untuk fibrosis hati [69].

Nitric oxide (NO) memainkan peran penting dalam fisiologi dan patofisiologi hati. NO dihasilkan sebagai produk sampingan dari oksidasi L-arginin menjadi citrulline oleh aksi tiga isoform NO sintase (NOS): neuronal NOS (nNOS atau NOS1), NOS yang dapat diinduksi (iNOS atau NOS2), dan NOS endotel (eNOS atau NOS3). nNOS dan eNOS diekspresikan secara konstitutif. Ekspresi iNOS tidak ada dalam sel istirahat tetapi diinduksi oleh rangsangan imunologi, seperti lipopolisakarida bakteri (LPS) dan sitokin inflamasi.³ Di hati, sejumlah kecil NO yang dihasilkan oleh eNOS dianggap penting untuk homeostasis hati dan protektif terhadap kondisi patologis. Sebaliknya, sejumlah

besar NO yang dihasilkan oleh iNOS terlibat dalam etiologi banyak penyakit hati, termasuk fibrosis hati. Peran nNOS dalam biologi hati tidak diketahui dengan baik.

Fibrosis hati merupakan konsekuensi dari berbagai cedera hati yang disebabkan oleh virus hepatitis, obat-obatan, toksin, akumulasi asam empedu, penyakit autoimun, obesitas/sindrom metabolik, dan alkohol.¹ Induksi iNOS dikaitkan dengan fibrosis hati dengan berbagai etiologi.

Peran iNOS telah dipelajari menggunakan tikus knockout iNOS dan inhibitor spesifik iNOS atau NOS *in vivo* dan *in vitro*. Penghapusan gen iNOS menghasilkan fibrosis hati yang berkurang.^{16,17} Tikus iNOS KO yang diberi diet tinggi kolesterol selama 6 minggu menunjukkan penurunan yang signifikan pada fibrosis hati dan ekspresi sitokin inflamasi, termasuk transforming growth factor-beta (TGF β) dan tumor necrosis factor- alpha (TNF α).¹⁶ Selain itu, penghapusan iNOS menurunkan tingkat hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF1 α) dan ekspresi gen terkait HIF1 α , termasuk faktor pertumbuhan yang diturunkan dari platelet (PDGF)-A, PDGF-B, faktor pertumbuhan fibroblas -2 (FGF-2), dan plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). Penurunan serupa pada fibrosis hati yang diinduksi diet tinggi kolesterol diamati pada tikus yang diberi inhibitor spesifik iNOS (PBIT). Secara bersama-sama, baik penghapusan genetik dan penghambatan farmakologis iNOS menghasilkan penurunan fibrosis hati, menunjukkan peran iNOS dalam pengembangan fibrosis hati.

Untuk lebih memahami perannya dalam fibrosis hati, peran spesifik sel iNOS harus diperiksa. Hati mengandung sel parenkim, seperti hepatosit dan kolangiosit, dan sel non-parenkim, termasuk sel Kupffer, sel endotel sinusoidal hati

(LSEC), dan sel stelata hati (HSC) sebagai sel utama. Populasi sel hati lainnya yang lebih kecil, seperti fibroblas portal, sel dendritik, limfosit T, dan limfosit B, juga terlibat dalam homeostasis dan patofisiologi hati. iNOS diinduksi di hampir semua sel hati sebagai respons terhadap berbagai rangsangan, tetapi sel Kupffer akan menjadi sel hati yang paling banyak dipelajari untuk regulasi iNOS di antara sel-sel hati lainnya. Peran spesifik sel NO yang diturunkan dari iNOS dalam fibrosis hati akan dibahas di bawah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Koyama Y, Brenner D A. Liver Inflammation and Fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 127(1): 66-78, 2017.
2. Adikwu E, Oputiri D. Hepatoprotective effect of vitamin C (ascorbic acid). *Pharmacology & Pharmacy*, 4(6): 84-92, 2017.
3. Asrani S K, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath P S. Burden of liver diseases in the world. *Journal of Hepatology*, 70(3): 151-171, 2019.
4. Wong M C S, Huang J J. The Growning Burden of Liver Cirrhosis: Implication for preventif measure. *Hepatology International*, 12 (3): 201- 203, 2018.
5. Kalista K F, Lesmana C R A, Sulaiman A S, Gani R A, Hasan I. Profil Klinis Pasien Sirosis Hati dengan Varises Esofagus yang Menjalani Ligasi Varises Esofagus di Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo, 6(1): 44-50, 2019.
6. Elfatma Y, Arnelis, Rachmawati N. Gambaran derajat varises esofagus berdasarkan beratnya sirosis hepatitis. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(2): 23-39, 2017.
7. Maulina, M. Pengaruh Pemberian Xanthone Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Hepar Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (Ccl4) Penelitian Eksperimental Laboratorik. Diss. Universitas Airlangga, 2018.
8. Linawati, Y. Hepatoprotective Effect Of Forest Honey On Carbon Tetrachloride Induced Female Wistar Rats. *Journal Of Pharmaceutical Sciences And Community*, 15(1): 23-28, 2018.

9. Fatima, A. Comparison Of Terlipressin With Octreotide In Management Of Acute Variceal Bleed In Patients With Liver Cirrhosis. *Journal Of Rawalpindi Medical College (Jrmc)*, 21(3): 191-196, 2019.
10. Irianto, K. *Struktur dan Fungsi Tubuh Manusia untuk Paramedis*. Bandung. CV. Yrama Widya, 2012.
11. Kurniawan, F.B. *Kimia Klinik: Praktikum Analisis Kesehatan*. Jakarta: EGC, 2014.
12. Di Kusuma, I.J., Prasetyorini, P. and Wardatun, S. Toksisitas Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus Kunth*) Dengan Perbedaan Metode Dan Jenis Pelarut Berbeda. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 2018.
13. Lutpiatina, D. Daya Hambat Ekstrak Daun Kenikir *Cosmos caudatus Kunth* Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Meditory*, 5(2): 83-91, 2017.
14. Nuryani, S. & Jhunnison, J. Daya Antifungi Infusa Daun Kenikir (*cosmos caudatus k*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Secara *in Vitro*, *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 5(1): 5-11, 2019.
15. Sari, E.R., Lely, N. and Septimarleti, D. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol dan Beberapa Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) terhadap Bakteri Penyebab Disentri *Shigella sp.* *Jurnal Penelitian Sains*, 20(1): 77-80, 2019.
16. Andi, J; Jong A; Gusti A. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) terhadap Glukosa Darah, Kolesterol, dan Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1): 70-78, 2018.
17. Sarihati, 1. G. A. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Kadar Glutathion dan

- Interleukin 6 Serum Tikus Wistar Jantan yang Diberi Pakan Tinggi Kolesterol. *Jurnal Kesehatan*, 11(1): 2548-5695, 2020.
18. Widiyantoro, A. & Harlia. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth) dengan Berbagai Metode Ekstraksi (Antioxidant Activity Of Leaves Extract of Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) With Various Extraction Methods). *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3(1): 9-14, 2020.
 19. Alviani, G. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* H. B. K.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl₄. *Free Radical Biology and Medicine*, 3(4): 9-13, 2021.
 20. Hamidah, L. M., Afridah, W., dan Putri, E. B. P.. Uji Daya Terima Pada Jelly Drink Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth). *Medical Technology and Public Health Journal (MTPH Journal)*. 2(2): 143-151, 2018.
 21. Muriel P, Arauz J. Coffee and liver health. Dalam: Chu YF, penyunting. *Coffe emerging health effects and disease prevention* (1st ed). Delhi: *IFT Wiley-Blackwell*, 33(5): 128-29, 2019.
 22. Panjaitan RGP, Handharyani E, Masriani, Zakiah Z, Manalu W. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap hati dan ginjal tikus. *Jurnal Makara Kesehatan*, 1(11): 11- 6, 2020.
 23. Garcia EL, Dam R. M. V, Qi L, Hu FB. Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(45): 888-93, 2018.

24. Asrani, S. K., H. Devarbhavi, J. Eaton, dan P. S. Kamath. Burden of liver diseases in the world. *Journal of Hepatology*. 70(1):151-171, 2019.
25. Boll, M., Weber, L.W.D., Becker, E. and Stampfl, A., Mechanism of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity: Hepatocellular Damage by Reactive Carbon Tetrachloride Metabolites. *Naturforsch*, 56(1): 649-659, 2019.
26. Sadzuka Y, Shoji T, Takino Y. Effect of cisplatin on the activities of enzymes which protect against lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 1992;43:1872-1875. [PubMed: 1575781]
27. Sadzuka Y, Shimizu Y, Takino Y. Role of glutathione S-transferase isoenzymes in cisplatin-induced nephrotoxicity in the rat. *Toxicol Lett* 1994;70:211-222. [PubMed: 8296325]
28. Dalimartha S. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Hepatitis*. Jakarta: Penebar Swadaya. 2015.
29. Salim Z, Munadi E. *Info Komoditi Tanaman Obat*. Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia; 2017.
30. Prasetyo, E. I. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Siplisia)*. Fakultas Pertanian, UNIB, 2013.
31. Irawaty W, Soetaredjo FE, Ayucitra A, Sianto ME, Jonathan K, Cynthia D, et al. Antioxidant and Antidiabetic Activities of Ethanolic Citrus hystrix Peel Extract: Optimization of Extraction Conditions. *Aust Journal Basic Application Science*. 8(14):85-9, 2019.
32. Devarbhavi H. An Update On Drug-Induced Liver Injury. *J Clin Exp Hepatol*, 2 (3): 247-59, 2019.

33. Ahmad Najib. *Ekstraksi Senyawa Bahan Alam. Ed. 1, Cet 1*, Yokyakarta, 2018.
34. Ajeng, R., Nur, P., Sari, I., & Mursiti, S. Lotion Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L) sebagai Antibakteri. 6(3): 50-60: 2017.
35. Endarini, L. H. *Farmakognosi dan Fitokimia*. Pusat Pendidikan Sdm Kesehatan. Jakarta, 2016.
36. Endrowahyudi, H., Ardy, E. S., & Nawawi, A. P. Hartanto EndroW: PotensiHambatEkstrakKulitBuah Manggis 2(2), 123-134, 2019.
37. Tellu, F. Y., Sunarto, & Jurusan, E. D. U. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L) Terhadap *Propionibacterium acne*. 7(2), 58-6, 2019.
38. Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. 08(1), 66-84, 2017.
39. Janardhanan, S., Mahendra, J., Girija, A. S. S., Mahendra, L., & Priyadharsini, V. Antimicrobial Effects Of *Garcinia Mangostana* On Cariogenic Microorganisms, 1(2): 19-22, 2017.
40. Mufti, N., Bahar, E., & Arisanti, D. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sawo Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(2): 289, 2017.
41. Mujipradhana, V. N., Weweng kang, D. S., & Suryanto, E.. Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak *Ascidian Herdmania*. 7(3), 338-347, 2018.
42. Narasimhan, S., Maheshwaran, S., & Abu-yousef, I. A. Anti-Bacterial and Anti-Fungal Activity of Xanthones Obtained via Semi-Synthetic Modification of α -Mangostin from *Garcinia mangostana*. *Mic*, 2017.

43. Oktavia S, Ifora, Suhatri, Marni S. Uji aktivitas hepatoprotktor ekstrak duan sirih hijau (piper betle Linn.) terhadap kerusakan hati yang diinduksi parasetamol. *Jurnal Farmasi Hiega*, 9(2): 109-17, 2017.
44. Katzung, B. G, Susan B. M, Anthony JT. *Farmakologi Dasar dan Klinik. Ed 12*. 2(1): 65-70, 2019.
45. Merat, S., Sameni, F.K., Nouraie, M., Derakhsan, M.H., Tavangar, S.M. and Mossaffa, S., A modification of the brunt system for scoring liver histology of patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Archives of Iranian Medicine*, 13(1): 38- 44, 2020.
46. Mulyono, A. dan Soesanti, N. Karakteristik Histopatologi Hepar Tikus GOT Rattus Norvegicus Infektif Leptospira sp. *Jurnal Vektor dan Reservoir Penyakit*. 1 (2): 84 - 92, 2019
47. Amirudin, R. Fisiologi dan Biokimiawi Hati. Dalam : Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II (Vol. IV). Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2016.
48. Antony, B., Santhakumari, G., Merina, B., Sheeba, V., & Mukkadan, J . Hepatoprotective effect of Centella asiatica (L) in carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Scientific Publication of the Indian Pharmaceutical Association*, 68(6), 772-776, 2016.
49. Amarapurkar, D. NAFLD Current Concepts. *International Journal of Hepatology*, 1, 4, 2014.
50. Akil, H.A.M. *Asites dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati Ed. 1*. Jakarta: Jayabadi, 2015.
51. Amirudin, Rifai. *Fibrosis Hati dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati Ed 1*. Jakarta: Jayabadi, 2016.
52. Cesario K., Carey D. William. Complications Of Cirrhosis: Ascites. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 2014.

53. Djagat, H. Komplikasi Asites dalam Terapi Paracentesis Asites pada Penderita Sirosis Hati. Semarang: Kumpulan Karya Ilmiah Universitas Diponegoro, 2012.
54. Panjaitan, R. G. P. Pengujian aktivitas hepatoprotektor akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Disertasi. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor, 2017.
55. Presnell, M. J. and Schreibman, M.P. Humason's Animal Tissue Techniques. 5th Edition. Canada: Johns Hopkins University Press. 173-177, 2017.
56. Verhelst X, Geerts A, Vlierberghe H Van. Cirrhosis: Reviewing the Literature and Future Perspectives. *Cit EMJ*. 1(3):111-7, 2018.
57. Abdul M., R. Wurjati, Chusun, Z. Komar, I. Firmansyah, E. B. 2007. Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Hati, *jurnal action: aceh nutrition journal* 4(7): 112-120, 2019.
58. Hamidy, M. Yulis et al. 2012. Gambaran Histopatologi Kerusakan Hati Mencit yang Diproteksi dengan Air Rebusan Daun Sirih (*Piper Betle* Linn). *JIK*, Jilid 3, Nomor 1, 2017.
59. Tsai, C.-F., Hsu, Y.-W., Chen, W.-K., Chang, W.-H., Yen., Ho, Y.-C., et al. Hepatoprotective Effect of Electrolyzed Reduced Water Against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Damage in Mice. *Food and Chemical Toxicology*. Vol; 47, 2031-2040, 2019.
60. Diaz. Efek Hepatoprotektor Ekstrak Etanol 50% Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidium*) pada Tikus Jantan yang diinduksi Paracetamol. Karya Tulis Akhir tidak diterbitkan. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2019.
61. Santosa C, Askandar B. Keberhasilan Kemoterapi Neoajuvan Cisplatin Vincristine-Bleomycin dan Paclitaxel-Carboplatin Ditinjau dari Penilaian

- Operabilitas Kanker Serviks Stadium IIB. *Maj Obstet Ginekol*, 19(3), 2020.
62. North East Yorkshire and Humber Cancer Alliance. Policy for Cisplatin Hidration, *Journal Cancer Chemotherapy Pharmacol*; 61:903-909, 2018.
 63. Ronald, P.M. Mechanisms of Cisplatin Nephrotoxicity. *Journal Toxins*; 2, 2490-2518, 2018.
 64. Nico Aldrin Avesina, M. Ricky Ramadhian, Madu Sebagai Hepatoprotektor Dinilai dengan Enzim Transaminase, Universitas Lampung, 2015
 65. Price SA, Wilson LM. *Patofisiologi : konsep klinis proses-proses penyakit*. Edisi ke-6. Jakarta: EGC; 2005
 66. Aldemir, M. E, Okulu K, Kösemehmetoğlu K, Ener F, Topal O, Evirgen E. (2013). Evaluation of The Protective Effect of Quercetin Against Cisplatin-Induced Renal and Testis Tissue Damage and Sperm Parameters in Rats. *Andrologia* 1: 1-9.
 67. Gomes, I. B. S., Porto, M. L., Santos, M. C., Campagnaro, B. P., Pereira, T. M. C., Meyrelles, S. S., & Vasquez, E. C. (2014). Renoprotective, anti-oxidative and antiapoptotic effects of oral low-dose quercetin in the C57BL/6J model of diabetic nephropathy. *Lipids in Health and Disease*, 13(1), 184. doi: 10.1186/1476-511X-13-184.
 68. [Matthias Lechner](#), [Philipp Lirk](#), [Josef Rieder](#). Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in tumor biology: the two sides of the same coin. 2005
 69. Iwakiri Y. Nitric oxide in liver fibrosis: The role of inducible nitric oxide synthase. *Clin Mol Hepatol*. 2015 Dec;21(4):319-25. doi: 10.3350/cmh.2015.21.4.319. Epub 2015 Dec 24. PMID: 26770919; PMCID: PMC4712158.



Monograf

KHASIAT DAUN KENIKIR (COSMOS CAUDATUS) UNTUK HATI (LIVER)

Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh setelah kulit yang memegang peranan penting untuk mempertahankan hidup dan berperan pada hampir setiap fungsi metabolisme tubuh. Oleh karena itu, organ ini sangat rentan terhadap jejas sampah metabolit, zat toksik, dan jejas yang disebabkan oleh gangguan sirkulasi. Senyawa xenobiotik, yaitu senyawa-senyawa asing yang tidak dibutuhkan tubuh, akan mengalami proses metabolisme di hepar yang menghasilkan produk sampingan berupa senyawa hidroksi yang merupakan radikal bebas. Hepar melakukan banyak fungsi penting yang berbeda-beda dan bergantung pada sistem aliran darahnya yang unik dan sel-selnya yang sangat khusus. Ketika hepar rusak, maka semua sistem tubuh terpengaruh. Sel-sel hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang cepat. Oleh karena itu sampai batas tertentu, hepar dapat mempertahankan fungsinya bila terjadi gangguan ringan. Pada gangguan yang lebih berat, terjadi gangguan fungsi yang serius yang dapat berakibat fatal. Sel-sel hepar sering sekali mengalami kerusakan. Kerusakan sel-sel hepar dapat disebabkan karena infeksi bakteri, virus, pemberian obat atau karena kanker dan bisa karena konsumsi alkohol serta zat-zat kimia. Kerusakan sel-sel hepar dapat berupa peradangan (hepatitis) ataupun kematian sel-sel hepar (nekrosis). Salah satu faktor yang dapat menyebabkan kerusakan pada hepar adalah karena stres oksidatif. Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas atau prooksidan dan antioksidan yang dipicu oleh adanya dua kondisi di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya



Penerbit
Yayasan Wiyata Bestari Samasta
Jl Sumadinata 22 Cirebon
Jawa Barat Indonesia 45151
email : wbsamasta@gmail.com

ISBN 978-623-8083-02-2

