



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI
(*Brassica oleracea L. var. italica*) TERHADAP KADAR SGOT
DAN SGPT TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DMBA**

SKRIPSI

Oleh

**Rizka Nuzula Wardani
NIM 122010101003**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI
(*Brassica oleracea L. var. italica*) TERHADAP KADAR SGOT
DAN SGPT TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DMBA**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Rizka Nuzula Wardani
NIM 122010101003

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya kepada saya serta Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan dalam setiap tindakan;
2. Ibu Suhartiningsih dan Bapak Setiyo Imani yaitu kedua orang tua saya, Adekku Sekar Mayang Raisa Hanief, serta keluarga besar tercinta yang selalu memberikan dukungan, motivasi, nasihat, dan kasih sayang serta tak lupa selalu mendoakan saya dalam setiap hal;
3. Guru-guru saya yang telah mendidik saya dengan penuh kesabaran mulai dari Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

Sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.

(terjemahan Surat Asy-Syarh ayat 6-8))*

“Barang siapa berjalan untuk menuntut ilmu maka Allah akan memudahkan baginya jalan ke syurga”

*(HR.Muslim)**)*

“Ya Allah sesungguhnya saya minta kepada Engkau ilmu yang bermanfaat, rizqi yang baik, dan amalan yang diterima”

*(Ibnu Maajah)**)*

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. Al-Qur'an Al-Karim dan Terjemahan Makna ke Dalam Bahasa Indonesia. Bogor: Sygma.

***) Al-Qarni. 2003. *La Tahzan Jangan Bersedih*. Rangkasbitung: Qisthi Press.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Rizka Nuzula Wardani

NIM : 122010101003

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi DMBA” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 8 Desember 2015

Yang menyatakan,

Rizka Nuzula Wardani
NIM 122010101003

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI
(*Brassica oleracea* L. var. *italica*) TERHADAP KADAR SGOT
DAN SGPT TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DMBA**

Oleh

Rizka Nuzula Wardani

NIM 122010101003

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Yudha Nurdian, M.Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi DMBA” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 8 Desember 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D.

NIP 19690901 199903 1 003

Penguji III,

dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si.

NIP 19840916 200801 2 003

Penguji II,

dr. Ali Santosa, Sp.PD.

NIP 19590904 198701 1 001

Penguji IV,

dr. Yudha Nurdian, M.Kes.

NIP 19711019 199903 1 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes.

NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi DMBA; Rizka Nuzula Wardani, 122010101003; 2015: 55 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Peningkatan kendaraan bermotor dan konsumsi rokok tiap tahun menyebabkan peningkatan pencemaran udara yang disebabkan karena asap kendaraan bermotor dan asap rokok. Efek keduanya menimbulkan radikal bebas di dalam tubuh manusia. Radikal bebas adalah suatu atom yang memiliki sebuah elektron tidak berpasangan. DMBA merupakan salah satu dari radikal bebas yang berasal dari pembakaran tidak sempurna dari asap kendaraan bermotor dan asap rokok. DMBA masuk ke dalam tubuh bisa melalui ingesti maupun inhalasi. Alur metabolisme DMBA melalui jalur enzim sitokrom P450. Hasil metabolisme mengubah DMBA menjadi *DMBA-3,4-diol-1,2-epoksida* (DMBA-DE). DMBA-DE bersifat destruksi, imunotoksik, dan hepatotoksik.

Dalam sel hati terdapat enzim intraseluler, yaitu enzim SGOT dan SGPT yang digunakan untuk deteksi kerusakan sel hati. Jika terjadi kerusakan sel, enzim akan keluar ke ruang ekstraseluler sehingga dapat digunakan sebagai sarana diagnosis. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu meredam radikal bebas. Salah satu antioksidan eksogen yang diperlukan untuk membantu antioksidan endogen adalah flavonoid yang kebanyakan terdapat pada tumbuhan. Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) memiliki flavonoid dengan IC_{50} 8,36 $\mu\text{g/ml}$ dengan metode maserasi yang tergolong sebagai antioksidan kuat.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh efek hepatoprotektor pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) terhadap

kadar SGOT dan SGPT pada tikus wistar yang diinduksi DMBA. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Pengambilan sampel dilakukan secara randomisasi dengan sampel penelitiannya tikus putih galur wistar jantan usia 2-3 bulan, dengan berat 100-200 gram. Jumlah kelompok penelitian ada 6 yaitu kelompok kontrol dan kelompok kontrol negatif dengan pemberian aquades selama 7 hari, serta 4 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea L. var. italica*) dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB selama 7 hari. Pada hari ke 8 diinduksi DMBA pada semua kelompok penelitian kecuali kelompok kontrol. Jumlah sampel penelitian 24 ekor tikus, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol brokoli. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SGOT dan SGPT. Analisis data yang digunakan adalah uji *One Way Anova* ($p < 0,05$).

Hasil penelitian kadar SGOT dan SGPT kelompok kontrol normal sebesar 70,36 U/L dan 33,97 U/L, kelompok kontrol negatif sebesar 107,16 U/L dan 56,21 U/L, kelompok perlakuan 1 sebesar 101,50 U/L dan 49,33 U/L, kelompok perlakuan 2 sebesar 85,32 U/L dan 43,67 U/L, kelompok perlakuan 3 sebesar 84,11 U/L dan 40,84 U/L, dan kelompok perlakuan 4 sebesar 81,28 U/L dan 35,18 U/L. Hasil uji *One Way Anova* kadar SGOT adalah $p = 0,012$ sedangkan SGPT $p = 0,003$. Hasil diatas menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus yang diinduksi DMBA.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt. karena atas rahmat dan ridha-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Tak lupa sholawat serta salam penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabat, semoga selalu dapat menuntun penulis pada kesempatan yang lain.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi tugas akhir yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember, dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi DMBA”. Penyelesaian skripsi ini, penulis mendapatkan tuntunan, bantuan, dan kerjasama dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si, selaku Dosen Pembimbing I dan dr. Yudha Nurdian, M.Kes selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak membantu dan meluangkan waktu, pikiran, serta perhatiannya untuk membimbing penulisan skripsi ini;
3. dr. Ancah Caesarina M, Ph.D, selaku koordinator KTI yang telah menyetujui penyusunan skripsi ini;
4. dr. Al Munawir, M.Kes, Ph.D, selaku tim penguji I dan dr. Ali Santosa, Sp.PD, selaku tim penguji II yang telah meluangkan waktu untuk menguji skripsi ini;

5. Kedua orang tua yang saya cintai, sayangi, dan saya banggkan, Ibu Suhartiningsih dan Bapak Setiyo Imani yang selalu mendoakan, melimpahkan kasih sayang, kepercayaan, harapan, mendengarkan keluh kesah, memberikan nasihat, menguatkan saya dalam setiap keadaan, dan selalu membimbing penulis kearah yang lebih baik;
6. Adek perempuan saya Sekar Mayang Raisa Hanief yang selalu memberikan doa dan semangat;
7. Seluruh keluarga besar dari Ibu dan Bapak yang selalu mendoakan dan memberikan semangat;
8. Bapak dan Bunda serta Mas Angga dari Bungkal Ponorogo yang selalu memberikan doa dan semangat;
9. Teman-teman angkatan 2012 yang selalu saling mendukung, mendoakan, memberikan semangat demi mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
10. Seluruh civitas Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang membantu dalam urusan skripsi ini;
11. Analis Laboratorium Farmakologi dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember, serta Analis Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi;
12. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak. Untuk itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi tercapainya kesempurnaan dari skripsi ini. Jika terdapat kekurangan dalam pembuatan skripsi ini penulis mohon maaf.

Jember, 8 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Ilmiah	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Brokoli (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>)	6

2.1.1	Klasifikasi	6
2.1.2	Habitat dan Penyebaran	7
2.1.3	Deskripsi Tumbuhan	7
2.1.4	Kandungan Tumbuhan	8
2.1.5	Manfaat Tumbuhan	9
2.2	Antioksidan	9
2.2.1	Jenis Antioksidan	10
2.2.2	Flavonoid	11
2.3	Radikal Bebas	12
2.3.1	Tahapan Reaksi Pembentukan Radikal Bebas	13
2.4	Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH)	14
2.4.1	<i>7,12-dimetilbenz(α)anthracene</i> (DMBA)	15
2.5	Hepar (Hati)	15
2.5.1	Definisi Hepar	15
2.5.2	Anatomi Hepar	16
2.5.3	Histologi Hepar	17
2.5.4	Fungsi Hepar	17
2.6	Kerusakan Hati	18
2.6.1	Mekanisme Kerusakan Hati	18
2.6.2	Indikator Diagnosa	18
2.7	Kerangka Konsep Penelitian	21
2.8	Hipotesis	23
BAB 3. METODE PENELITIAN	24
3.1	Jenis Penelitian	24
3.2	Rancangan Penelitian	24
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	26
3.3.1	Populasi Penelitian	26
3.3.2	Sampel Penelitian	26

3.3.3	Besar Sampel Penelitian	27
3.4	Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.5	Alat dan Bahan	28
3.5.1	Alat.....	28
3.5.2	Bahan	28
3.6	Variabel Penelitian	29
3.6.1	Variabel Bebas	29
3.6.2	Variabel Terikat	29
3.6.3	Variabel Kendali	29
3.7	Definisi Operasional.....	29
3.7.1	Ekstrak etanol brokoli (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>).....	29
3.7.2	Kadar SGOT dan SGPT.....	30
3.7.3	Dosis 7,12-dimetilbenz(α)anthracene (DMBA)	30
3.7.4	Hewan coba.....	30
3.8	Prosedur Kerja	31
3.8.1	Pemilihan Tikus putih galur wistar (<i>Rattus novergicus</i>).....	31
3.8.2	Persiapan Hewan Coba	31
3.8.3	Pembagian Tiap Kelompok Penelitian.....	32
3.8.4	Pembuatan Ekstrak Brokoli (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>).....	32
3.8.5	Penginduksian DMBA	33
3.8.6	Perlakuan Terhadap Hewan Coba.....	33
3.8.7	Pemeriksaan Kadar Enzim SGOT dan SGPT	34
3.9	Analisis Data	34
3.10	Uji Kelayakan Etik Penelitian.....	35
3.11	Alur Penelitian.....	36
3.11.1	Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli.....	36
3.11.2	Skema Perlakuan Terhadap Hewan Coba.....	37
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38

4.1 Hasil Penelitian	38
4.1.1 Hasil Ekstrak Etanol Brokoli	38
4.1.2 Hasil Kadar SGOT	39
4.1.3 Hasil Kadar SGPT.....	41
4.2 Analisis Data	43
4.2.1 Analisis Data Kadar SGOT.....	44
4.2.2 Analisis Data Kadar SGPT	45
4.3 Pembahasan	47
BAB 5. PENUTUP	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan Senyawa Brokoli.....	8
2.2 Jenis PAH Berbahaya.....	14
2.3 Kondisi yang Meningkatkan Kadar SGOT/AST.....	19
3.1 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	32
4.1 Kadar SGOT Sampel Penelitian.....	39
4.2 Persentase Penurunan Rata-rata Kadar SGOT.....	40
4.3 Kadar SGPT Sampel Penelitian.....	41
4.4 Persentase Penurunan Rata-rata Kadar SGPT.....	42
4.5 Hasil Uji Normalitas Kadar SGOT.....	44
4.6 Hasil Uji LSD Kadar SGOT.....	45
4.7 Hasil Uji Normalitas Kadar SGPT.....	46
4.8 Hasil Uji LSD Kadar SGPT.....	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tumbuhan Brokoli.....	6
2.2 Rumus Kimia Flavonoid.....	12
2.3 Anatomi Organ Hati.....	16
2.4 Kerangka Konsep Penelitian.....	21
3.1 Rancangan Penelitian.....	24
3.2 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli.....	36
3.3 Skema Alur Perlakuan Hewan Coba.....	37
4.1 Grafik Rata-rata Kadar SGOT.....	39
4.2 Grafik Persentase Penurunan Rata-rata Kadar SGOT.....	40
4.3 Grafik Rata-rata Kadar SGPT.....	42
4.4 Grafik Persentase Penurunan Rata-rata Kadar SGPT.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Tabel Daftar Volume Maksimal Yang Diberikan Pada Hewan Coba.....	56
B. Cara Penghitungan Dosis.....	57
C. Perhitungan Hasil Penelitian.....	59
D. Analisis Data.....	65
E. Gambar Penelitian.....	71
F. Persetujuan Etik Penelitian.....	74
G. Hasil Laboratorium SGOT dan SGPT.....	76

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran udara di Indonesia akibat gas buang kendaraan bermotor dan gas buang pada rokok saat ini semakin meningkat. Menurut data Korps Lalu Lintas Kepolisian Negara Republik Indonesia (2013), jumlah kendaraan yang beroperasi di seluruh Indonesia mencapai 104,211 juta unit dan pada tiap tahunnya meningkat 11 persen dari tahun sebelumnya. Sedangkan menurut *Global Adult Tobacco Survey* (2011) prevalensi merokok orang Indonesia sebesar 36,1%. Data tersebut menunjukkan begitu besarnya pencemaran udara yang diakibatkan oleh asap kendaraan bermotor dan asap rokok. Padahal kita ketahui bahwa udara merupakan kebutuhan penting untuk manusia. Efek samping yang ditimbulkan dari keduanya akan meningkatkan radikal bebas dalam tubuh manusia karena mudahnya akses masuk gas tersebut ke dalam tubuh manusia melalui ingesti maupun inhalasi. Radikal bebas adalah suatu atom yang memiliki sebuah elektron tidak berpasangan di orbital sebelah luar. Zat ini sangat reaktif dan dapat mencetuskan reaksi berantai dengan mengekstraksi sebuah elektron dari molekul di dekatnya untuk melengkapi orbitalnya (Corwin, 2008).

7,12-dimetilbenz(a)anthracene (DMBA) merupakan bentuk radikal bebas yang terdapat pada hasil pembakaran tidak sempurna pada asap rokok dan asap kendaraan bermotor. DMBA merupakan zat kimia yang termasuk dalam *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) yang bersifat mutagenik, teratogenik, karsinogenik, dan sitotoksik (Sobinoff *et al.*, 2011). Tanpa banyak disadari tubuh manusia terpapar DMBA melalui udara yang dihirupnya maupun melalui mulut. Alur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P450 di hati yang dapat merusak DNA sel hati yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan hati.

Proses metabolisme DMBA akan mengkonversi senyawa tersebut menjadi senyawa yang lebih toksik (Rahardian *et al.*, 2013). Enzim P450 CYP1A1 atau CYP1B1 dan enzim mikrosomal hidrolase pada metabolisme fase 1 mengkonversi DMBA menjadi *DMBA-3,4-diol-1,2-epoksida* (DMBA-DE). DMBA-DE mengakibatkan pembentukan radikal reaktif yang bersifat destruksi, imunotoksik, dan hepatotoksik (Gao *et al.*, 2007). Hal ini menyebabkan terjadinya kerusakan hati. Organ hati merupakan organ yang mengatur homeostatis tubuh untuk metabolisme berbagai zat, selain itu juga sebagai proteksi dari efek samping obat atau bahan kimia lainnya (Ahmed *et al.*, 2012). Dalam sel hati terdapat enzim intraseluler, yaitu enzim SGOT dan SGPT. Enzim SGOT dan SGPT merupakan enzim aminotransferase pada hati yang sering digunakan untuk deteksi kerusakan hati karena enzim ini sangat peka terhadap kerusakan sel hati. Enzim SGOT dan SGPT merupakan enzim intraseluler yang apabila terjadi kerusakan sel, enzim akan keluar ke ruang ekstraseluler sehingga dapat digunakan sebagai sarana diagnosis pada kerusakan sel hati (Sudoyo *et al.*, 2009).

Rahardian *et al.* (2013) membuktikan bahwa pada pemberian DMBA dosis 15 mg/ml/tikus dapat menimbulkan kerusakan hati dengan ditandai peningkatan aktivitas SGOT dan SGPT. Nilai SGOT pada kelompok normal adalah 128 ± 14 sedangkan pada kelompok yang diberikan DMBA meningkat menjadi 196 ± 18 . Nilai SGPT pada kelompok normal $51 \pm 6,5$ sedangkan pada kelompok yang diberikan DMBA meningkat menjadi $57 \pm 9,7$.

Pajanan radikal bebas yang terjadi berulang ini menyebabkan antioksidan endogen tidak mampu untuk menetralkan. Antioksidan endogen itu seperti glutathion, katalase dan superoksida dismutase. Tubuh memerlukan antioksidan tambahan yang berasal dari luar seperti flavonoid, vitamin E, vitamin C, vitamin A (Lutfita, 2012). Flavonoid merupakan antioksidan yang banyak terdapat pada sayur-sayuran dan buah-buahan yang dilaporkan potensi antioksidannya lebih besar dari vitamin C dan vitamin E (Winarsi, 2007).

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sayur-sayuran salah satunya adalah brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Sayuran ini mempunyai kandungan flavonoid dari hasil penapisan fitokimia dengan teknik simplisia kering, ekstrak dengan maserasi dan ekstrak dengan refluks (Lutfita, 2012). Senyawa antioksidan flavonoid yang tersimpan dalam brokoli adalah sulforafan, betakaroten, quersetin, dan glutathion (Winarsi, 2007). Brokoli tergolong ke dalam kubis-kubisan dan banyak tersebar di berbagai kota di Indonesia. Brokoli telah dipercaya oleh masyarakat Indonesia mampu mempercepat proses penyembuhan setelah sakit berat. Selain itu, kandungan sulforafan pada brokoli dapat mencegah penyakit kanker (Dalimartha, 2000). Sedangkan kandungan quersetin mampu mencegah bahaya oksidasi sel, lipid, dan DNA oleh radikal bebas (Lapidot *et al.*, 2002). Serta mampu menghambat enzim sitokrom P450 dan meningkatkan kadar glutathion (Flora dan Bhatt, 2009).

Lutfita (2012) juga membuktikan bahwa *Brassica oleracea* L. var. *italica* mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh metode yang digunakan. Penelitian tersebut menggunakan metode maserasi dan refluks. Hasil penelitian menunjukkan metode maserasi mempunyai kadar flavonoid total paling tinggi dengan aktivitas antioksidan tertinggi yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sebesar 8,36 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan metode refluks memiliki kadar flavonoid total paling rendah dengan aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 238,95 $\mu\text{g/ml}$. Semakin tinggi kadar flavonoid total, maka aktivitas antioksidan juga semakin tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang semakin kecil.

Subramanian (2011) membuktikan hepatoprotektor *Brassica oleracea* L. var. *italica* dengan induksi CCl_4 pada tikus albino. Hasilnya pada kelompok I (kontrol) didapatkan SGOT sebesar 123.18 ± 3.48 dan SGPT sebesar 114.01 ± 2.93 . Kelompok yang diinduksi CCl_4 dan *Brassica oleracea* L. var. *italica* kadar SGOT dan SGPT menurun mendekati kelompok kontrol yaitu 122.81 ± 2.98 dan 110.02 ± 1.31 .

Berdasarkan uraian diatas sampai saat ini belum terdapat penelitian yang membuktikan brokoli juga mampu menangkal radikal bebas DMBA. Terdapatnya aktivitas antioksidan pada brokoli yang telah dibuktikan dari penelitian-penelitian sebelumnya membuat peneliti bermaksud ingin mengetahui pengaruh efek hepatoprotektor ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(a)anthracene (DMBA).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah.

Apakah terdapat pengaruh efek hepatoprotektor pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus wistar yang diinduksi DMBA ?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh efek hepatoprotektor pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus wistar yang diinduksi DMBA.

1.4 Manfaat

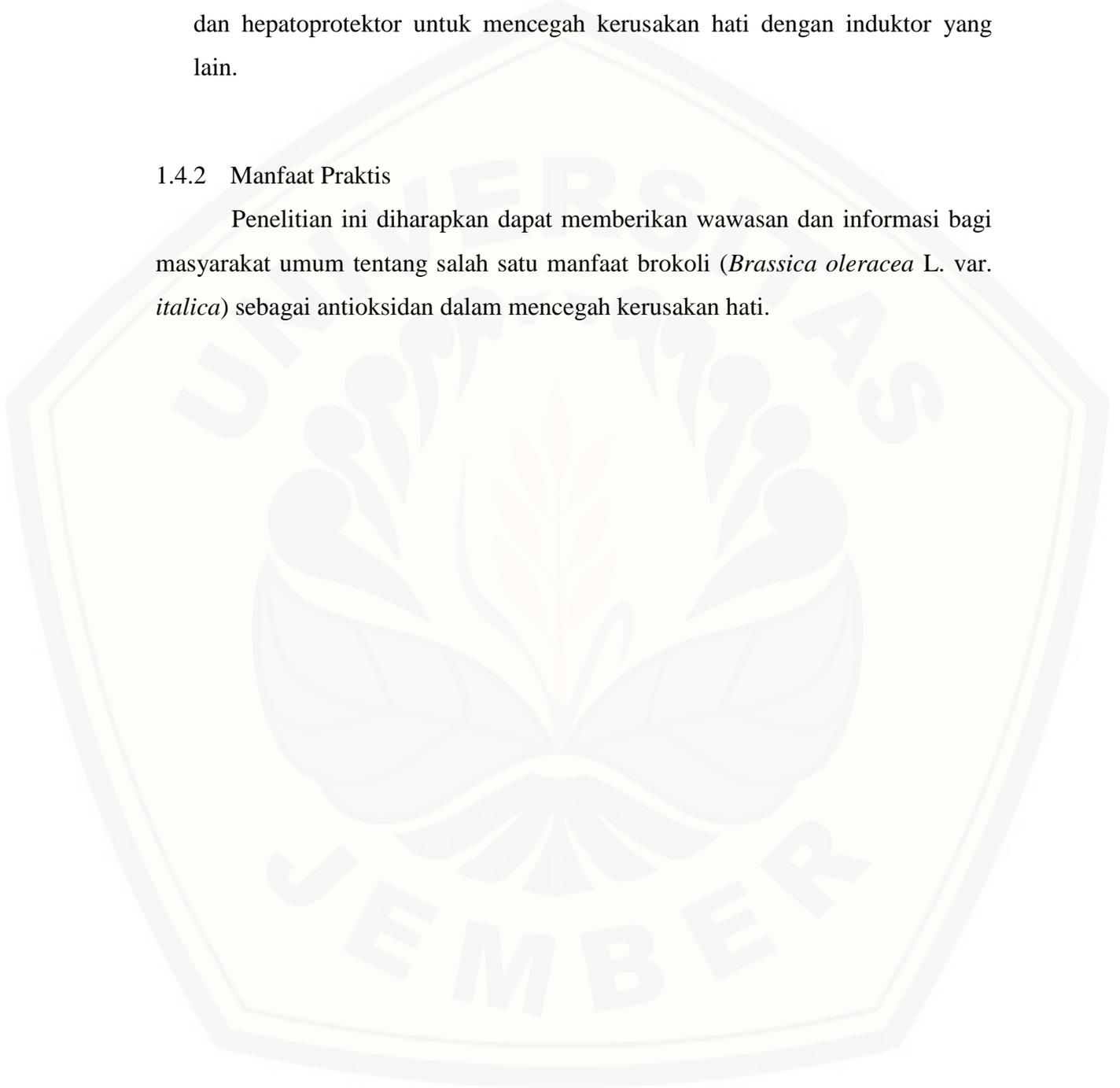
1.4.1 Manfaat Ilmiah

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang manfaat hepatoprotektor ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus wistar yang diinduksi DMBA.

- b. Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya tentang manfaat brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) sebagai antioksidan dan hepatoprotektor untuk mencegah kerusakan hati dengan induktor yang lain.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan dan informasi bagi masyarakat umum tentang salah satu manfaat brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan hati.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*)

Brokoli merupakan sebutan *Brassica oleracea* L. var. *italica* di negara Indonesia, sedangkan untuk negara asing disebut dengan *broccoli*. Brokoli mempunyai nama simplisia yaitu *Brassicae oleraceae Flos* (bunga brokoli) (Dalimartha, 2000).



Gambar 2.1 Tumbuhan Brokoli (Sumber: Dalimartha, 2000)

2.1.1 Klasifikasi

Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) dalam taksonomi tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Capparales, Capparidales
Famili	: Brassicaceae
Genus	: <i>Brassica</i> L.
Spesies	: <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>

(Mabberly, 1989; Dalimartha, 2000).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Brokoli berasal dari daerah Laut Tengah dan sudah dibudayakan sejak masa Yunani kuno. Sayuran ini masuk ke Indonesia sekitar tahun 1970-an dan kini cukup populer sebagai bahan pangan. Brokoli merupakan tanaman yang hidup pada daerah dengan suhu yang dingin (Amilah, 2012). Dataran tinggi yang lembab sekitar kurang lebih 700 mdpl merupakan tempat yang cocok untuk tumbuhan ini. Tumbuhan ini tidak tahan terhadap hujan yang terus-menerus (Dalimartha, 2000).

2.1.3 Deskripsi Tumbuhan

Brokoli adalah tanaman yang termasuk dalam suku kubis-kubisan atau *Brassicaceae*. Brokoli memiliki kemiripan dengan kembang kol, namun brokoli berwarna hijau sedangkan bunga kol berwarna putih (Amilah, 2012). Brokoli juga memiliki kemiripan dengan bunga kubis, namun brokoli masa tumbuhnya lebih lama dari kubis, tersusun dari bunga-bunga kecil yang berwarna hijau, dan tangkai bunganya lebih panjang. Brokoli setelah direbus teksturnya akan terasa lebih lunak.

Panen bunga brokoli dilakukan setelah umurnya mencapai 60-90 hari sejak ditanam, sebelum bunganya mekar, dan sewaktu kropnya masih berwarna hijau. Brokoli dapat diperbanyak dengan bijinya. Brokoli harus dimasak beberapa menit untuk dikonsumsi, namun pemasakan terlalu lama dapat mengurangi khasiat dari tanaman ini (Dalimartha, 2000).

Brokoli merupakan tanaman dua tahunan atau tahunan, memiliki panjang 50-80 cm pada tahap vegetatif dewasa dan 90-150 pada saat berbunga. Sistem akar bercabang, sedangkan batang tidak bercabang dengan panjang 20-30 cm. Daun melingkari kepala bunga, berbentuk panjang, dan tak bertangkai. Tangkai bunga pendek, berdaging banyak, dengan panjang 40-70 cm. Diameter kepala bunga 10-40 cm. Biji berbentuk bulat dan berwarna coklat (Van der Vosen, 1993).

2.1.4 Kandungan Tumbuhan

Brokoli mengandung air, protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, zat besi, vitamin A, vitamin C, vitamin E, tianin, riboflavin, nikotinamide, beta karoten, dan glutation. Selain itu, brokoli mengandung senyawa sianohidroksibutea (CHB), sulforafan, dan iberin yang merangsang pembentukan glutation (Dalimartha, 2000).

Hasil pengujian penapisan fitokimia, kandungan senyawa yang terdeteksi pada brokoli adalah flavonoid, kuinon, monoterpen dan seskuiterpen, triterpenoid dan steroid, dan saponin. Sedangkan senyawa fenolat, tanin, dan alkaloid tidak terdeteksi (Lutfita, 2012). Hasil pengujian tersebut dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2.1 Kandungan senyawa brokoli

Pengujian	Simplisia Kering	Ekstrak Maserasi	Ekstrak Refluks
Senyawa fenolat	—	—	—
Flavonoid	√	√	√
Tanin	—	—	—
Kuinon	√	√	√
Monoterpen dan seskuiterpen	√	√	√
Triterpenoid dan steroid	√	√	√
Saponin	√	√	√
Alkaloid	—	—	—

Keterangan :

(√) = terdeteksi

(—) = tidak terdeteksi

Sumber : Lutfita (2012)

Brokoli dengan pengujian fitokimia mempunyai kadar quercetin dan kaempferol sebesar 2,27 mg/100 g dan 3,14 mg/100 g (Koh *et al.*, 2009). Selain itu, senyawa antioksidan yang tersimpan dalam brokoli adalah sulforatan, beta karoten, quersetin, dan glutathion (Winarsi, 2007).

2.1.5 Manfaat Tumbuhan

Brokoli kaya akan zat antioksidan baik dalam hal jumlah maupun jenisnya. Kandungan sulforatan memiliki manfaat mencegah penyakit kanker. Bunga pada brokoli biasa digunakan untuk mempercepat penyembuhan dan mencegah serta menghambat perkembangan sel kanker (Dalimartha, 2000).

Brokoli memiliki manfaat sebagai antioksidan. Antioksidan yang tinggi pada brokoli dapat menurunkan radikal bebas dan dapat memproteksi tubuh manusia dari stress oksidatif yang dapat menyebabkan kanker atau penyakit jantung. Sedangkan kandungan quersetin mampu mencegah bahaya oksidasi sel, lipid, dan DNA oleh radikal bebas (Lapidot *et al.*, 2002). Serta mampu menghambat enzim sitokrom P450 dan meningkatkan kadar glutathion (Flora dan Bhatt, 2009).

2.2 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal sehingga kerusakan sel akan dihambat. Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang.

Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal radikal bebas yang secara kontinu dibentuk sendiri oleh tubuh, bila jumlah senyawa

oksigen reaktif ini melebihi jumlah antioksidan akan mampu menyerang komponen lipid, protein maupun DNA sehingga mengakibatkan terjadinya kerusakan yang disebut stress oksidatif. Cara antioksidan untuk menghambat radikal bebas melalui 3 cara, yaitu.

- a. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
- b. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai).
- c. Memperbaiki kerusakan oleh radikal.

2.2.1 Jenis Antioksidan

a. Antioksidan enzimatis

Antioksidan enzimatis seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Senyawa ini merupakan sistem pertahanan utama terhadap kondisi stress oksidatif. Enzim tersebut merupakan metaloenzim yang aktivasinya sangat tergantung pada adanya ion logam. Antioksidan enzimatis bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru.

b. Antioksidan non enzimatis

Antioksidan non-enzimatis dapat berupa nutrisi maupun non-nutrisi, kedua antioksidan ini merupakan antioksidan sekunder yang dapat diperoleh dari asupan bahan makanan seperti vitamin C, E, A dan β karoten. Glutathion, asam urat, bilirubin, albumin, dan flavonoid juga termasuk dalam kelompok ini. Antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara menangkap senyawa oksidan dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan non-enzimatis banyak ditemukan dalam sayuran, buah-buahan, biji-bijian serta kacang-kacangan.

Antioksidan non enzimatis dibagi ke dalam dua kelompok, yaitu.

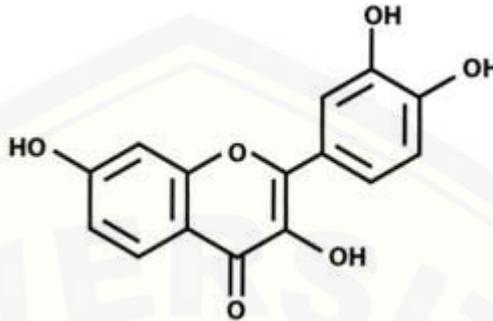
- a. Antioksidan larut dalam lemak seperti vitamin E, vitamin A, flavonoid, quinon, dan bilirubin.
- b. Antioksidan larut dalam air seperti vitamin C, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.

2.2.2 Flavonoid

Senyawa flavonoid yang merupakan salah satu dari antioksidan non enzimatis terbukti mempunyai efek biologis yang sangat kuat, yaitu sebagai antioksidan. Flavonoid mempunyai dua senyawa di dalamnya yaitu flavonol dan flavon. Kedua senyawa tersebut paling banyak terdapat dalam tanaman. Perbedaan senyawa flavonol dan flavon yaitu pada flavonol memiliki gugus hidroksi pada C3 sedangkan flavon tidak. Kedua senyawa ini banyak ditemukan pada bagian daun dan bagian luar dari tanaman, serta sedikit pada bagian tanaman yang berada di bawah permukaan tanah (Winarsi, 2007).

Senyawa flavonol terdiri atas quersetin, kaemferol, dan mirisetin sedangkan flavon terdiri atas apigenin dan luteolin (Hertog *et al.*, 1992). Flavonoid memiliki potensi antioksidannya lebih besar dari vitamin C dan vitamin E (Winarsi, 2007). Flavonoid merupakan senyawa polifenol terdiri dari 15 atom karbon utama yang tersusun atas dua cincin benzene yang dihubungkan dengan tiga atom karbon yang juga mampu membentuk cincin pyran. Flavonoid mempunyai gugus hidroksil (-OH) sehingga mampu menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogennya sehingga menjadi molekul yang stabil (Amic *et al.*, 2003).

Rumus kimia dari flavanoid dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



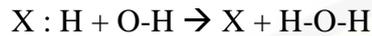
Gambar 2.2 Rumus Kimia Flavanoid (Sumber: Redha, 2010)

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh berbagai faktor seperti proses metabolisme. Proses metabolisme ini sering menyebabkan kebocoran dari elektron sehingga mudah sekali menjadi radikal bebas. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi dapat berubah menjadi radikal bebas seperti hydrogen peroksida (H_2O_2) dan ozon. Hydrogen peroksida dan ozon sering disebut dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas memiliki kecenderungan untuk mencari pasangan dengan menarik elektron dari senyawa lain. Hal ini mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal baru dan menunjukkan bahwa radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Radikal bebas ini akan membentuk *chain reaction* yaitu reaksi yang berulang dimana radikal bebas baru akan mencari pasangan yang menghasilkan pasangan baru dan seterusnya.

Berikut rumus reaksi pembentukan radikal bebas baru dari radikal bebas yang telah ada.



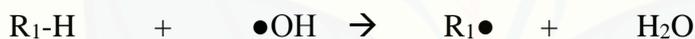
Tanpa disadari, dalam tubuh manusia terbentuk radikal bebas secara terus-menerus, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti polusi lingkungan, ultraviolet, asap rokok dan asap kendaraan. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA sehingga dapat mengganggu fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul yang termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun, bahkan mutasi. Semua gangguan tersebut yang dapat memicu berbagai penyakit (Winarsi, 2007).

2.3.1 Tahapan Reaksi Pembentukan Radikal Bebas

Tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui tiga tahapan yaitu.

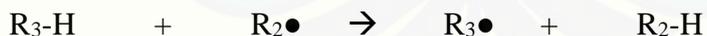
a. Tahap inisiasi

Tahap inisiasi adalah tahap awal pembentukan radikal bebas.



b. Tahap propagasi

Tahap propagasi adalah pemanjangan rantai radikal bebas.



c. Tahap terminasi

Tahap terminasi adalah bereaksinya senyawa radikal bebas dengan radikal bebas yang lain atau dengan penangkap radikal bebas, sehingga potensi propagasinya rendah (Winarsi, 2007).



2.4 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH)

Senyawa *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) merupakan senyawa yang banyak mengandung radikal bebas yang berbahaya. Senyawa ini merupakan senyawa organik yang terdiri dari dua atau lebih cincin benzene dan atau molekul pentasiklik yang tersusun secara teratur dalam berbagai konfigurasi struktural (Haritash & Kaushik, 2009). PAH adalah senyawa hidrofobik dengan kelarutan dalam air rendah, sehingga memiliki kecenderungan besar untuk berikatan dengan partikel bahan organik padat dan membentuk mikropolutan rekalsitran di lingkungan. Semakin tinggi berat molekul PAH, maka semakin hidrofobik, toksik, dan resisten (Bamforth & Singleton, 2005). Berikut jenis PAH yang berbahaya.

Tabel 2.2 Jenis PAH berbahaya

Jenis PAH	Formula	Berat Molekul
Naphthalene	C ₁₀ H ₈	128
Acenaphthylene	C ₁₂ H ₈	152
Acenaphthene	C ₁₂ H ₁₀	154
Fluorene	C ₁₃ H ₁₀	166
Phenanthrene	C ₁₄ H ₁₀	178
Anthracene	C ₁₄ H ₁₀	178
Pyrene	C ₁₆ H ₁₀	202
Fluoranthene	C ₁₆ H ₁₀	202
Benzo[a]anthracene	C ₁₈ H ₂₀	228
Chrysene	C ₁₈ H ₂₀	228
Benzo[b]fluoranthene	C ₂₀ H ₁₂	252
Benzo[k]fluoranthene	C ₂₀ H ₁₂	252
Benzo[a]pyrene	C ₂₀ H ₁₂	252
Dibenzo[a,h]anthracene	C ₂₂ H ₁₄	278
Indeno[1,2,3-c,d]pyrene	C ₂₂ H ₁₂	276
Benzo[g,h,i]perylene	C ₂₂ H ₁₂	276

Sumber : Haritash & Kaushik (2009)

2.4.1 7,12-dimetilbenz(*a*)anthracene (DMBA)

DMBA adalah senyawa yang termasuk ke dalam PAH yang banyak ditemukan di lingkungan (Rengarajan *et al.*, 2011). Senyawa ini merupakan hasil pembakaran tidak sempurna pada asap rokok dan asap kendaraan bermotor. DMBA merupakan radikal bebas yang bersifat mutagenik, teratogenik, karsinogenik, dan sitotoksik (Sobinoff *et al.*, 2011).

Oksigen yang bersifat reaktif seperti *superoxide anion*, *hydrogen peroxide*, dan *hydroxyl radical* merupakan hasil produksi selama metabolisme aktif dari DMBA yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan menurunkan efisiensi dari antioksidan (Rengarajan *et al.*, 2011). Alur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P450 di hati yang dapat merusak DNA sehingga menyebabkan kerusakan hati. Proses metabolisme menjadikan DMBA sebagai senyawa yang lebih toksik (Rahardian *et al.*, 2013). Enzim P450 CYP1A1 atau CYP1B1 dan enzim mikrosomal hidrolase pada metabolisme fase 1 mengkonversi DMBA menjadi *DMBA-3,4-diol-1,2-epoksida* (DMBA-DE). DMBA-DE mengakibatkan pembentukan radikal reaktif yang bersifat destruksi, imunotoksik, dan hepatotoksik (Gao *et al.*, 2007).

2.5 Hepar (Hati)

2.5.1 Definisi Hepar

Hepar merupakan organ penting yang berfungsi sebagai pusat metabolisme dan detoksifikasi. Sebagian besar toksik masuk ke tubuh melalui sistem gastrointestinal akan diserap *toksikan* dan dibawa ke hepar melalui vena porta. Hepar memiliki banyak tempat pengikatan untuk senyawa-senyawa *xenobiotik*. Kadar enzim yang memetabolisme *xenobiotik* dalam hepar juga tinggi (terutama sitokrom P450). Hal ini membuat toksik dapat diubah menjadi zat yang lebih

2.5.3 Histologi Hepar

Sel-sel yang terdapat di hepar antara lain hepatosit, sel endotel, dan sel makrofag yang disebut sebagai sel kupffer, serta sel *ito* (sel penimbun lemak). Sel hepatosit berderet secara radier dalam lobulus hepar dan membentuk lapisan sebesar 1-2 sel serupa dengan susunan bata. Lempeng sel ini mengarah dari tepian lobulus ke pusatnya dan beranastomosis secara bebas membentuk struktur seperti labirin dan busa. Celah diantara lempeng-lempeng ini mengandung kapiler yang disebut sinusoid hepar. Sinusoid hepar adalah saluran yang berkeluk-luk dan melebar, diameternya tidak teratur, dilapisi sel endotel bertingkat yang tidak utuh. Sinusoid dibatasi oleh 3 macam sel, yaitu sel endotel (mayoritas) dengan inti pipih gelap, sel kupffer yang fagositik dengan inti ovoid, dan sel *stelat* atau sel *ito* atau liposit hepatic yang berfungsi untuk menyimpan vitamin A dan memproduksi matriks ekstraseluler serta kolagen. Aliran darah di sinusoid berasal dari cabang terminal vena portal dan arteri hepatic, membawa darah kaya nutrisi dari saluran pencernaan dan juga kaya oksigen dari jantung. Traktus portal terletak di sudut-sudut heksagonal. Pada traktus portal ini, darah yang berasal dari vena porta dan arteri hepatic dialirkan ke vena sentralis. Traktus portal terdiri dari 3 struktur utama yang disebut trias portal. Struktur yang paling besar adalah vena portal terminal yang dibatasi oleh sel endotel pipih, arteriola dengan dinding yang tebal yang merupakan cabang terminal dari arteri hepatic dan duktus biliaris yang mengalirkan empedu (Junqueira dan Carneiro, 2007).

2.5.4 Fungsi Hepar

Fungsi hepar yang utama adalah melakukan detoksifikasi untuk menghindari terjadinya kerusakan seluler akibat adanya toksik. Organ ini menerima suplai darah sekitar 80 % dari vena porta yang mengalir dari saluran pencernaan. Bahan-bahan toksik dari saluran cerna yang berasal dari bahan-bahan kimia akan diabsorpsi ke dalam vena porta dan ditransfer ke hepar. Fungsi

detoksifikasi sangat penting dan dilakukan oleh enzim hepar melalui oksidasi, reduksi, hidrolisis, ataupun konjugasi zat-zat yang dapat berbahaya dan mengubahnya menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif. Hepar berfungsi untuk mensekresi empedu, metabolisme berbagai macam nutrisi, tempat penyimpanan lemak, karbohidrat, protein yang dapat didaur ulang untuk digunakan ketika terjadi keadaan kekurangan asupan makanan dan penyimpanan vitamin (Megawati, 2013).

2.6 Kerusakan Hati

2.6.1 Mekanisme Kerusakan Hati

Kerusakan organ hati dapat diakibatkan oleh berbagai mekanisme seperti inhibisi enzim, penurunan ATP, interaksi dengan reseptor, pembentukan metabolit reaktif, dan perubahan membrane sel (Wisnuaji, 2012). Pembentukan metabolit reaktif pada hati banyak terdapat pada mekanisme kerusakan hati akibat radikal bebas. Mekanisme kerusakan hati akibat radikal bebas melalui sistem sitokrom P450 karena proses metabolik zat tersebut terjadi pada organ ini (Rahardian *et al.*, 2013). Sistem sitokrom P450 menghasilkan reaksi-reaksi energi tinggi yang dapat membuat ikatan dengan enzim, sehingga menghasilkan ikatan baru yang tak punya peran. Kompleks ikatan ini bermigrasi ke permukaan sel di dalam vesikel-vesikel untuk berperan sebagai imunogen sasaran serangan sitolitik sel T, sehingga merangsang respon imun multifaset yang melibatkan sel T sitotoksik dan berbagai sitokin (Sudoyo *et al.*, 2009). Selain itu pembentukan metabolik reaktif ini dapat menyebabkan stress oksidatif yang mengakibatkan senyawa pengoksida lebih tinggi daripada senyawa antioksidan di dalam sel. Senyawa pengoksida ini dapat menyebabkan kerusakan (Wisnuaji, 2012).

2.6.2 Indikator Diagnosa

Hati mensekresi enzim transaminase saat sel hepatosit mengalami gangguan. Enzim tersebut akan dijelaskan di bawah ini.

a. *Serum Glutamat Oxaloacetic Transaminase (SGOT)*

Enzim SGOT berfungsi sebagai katalisator reaksi antara asam aspartat dan asam alfa-ketoglutarat. Kadar normal dalam darah 5-40 IU/ liter (Sudoyo *et al.*, 2009). Sedangkan kadar normal pada tikus jantan 95 IU/liter (Fox *et al.*, 2002). Rusaknya sel hepatosit menyebabkan keluarnya enzim SGOT. Jika kadarnya naik di dalam darah menjadi tanda adanya kerusakan pada sel hepatosit. Enzim SGOT juga dikenal sebagai serum *Aspartate Transaminase (AST)*. Enzim ini biasanya ditemukan dalam keragaman jaringan termasuk hepar, jantung, otot, ginjal, dan otak. Dilepaskan ke dalam serum bila salah satu dari sel-sel ini sudah rusak (Sudoyo *et al.*, 2009).

Tabel 2.3 Kondisi yang meningkatkan kadar SGOT/AST

Tipe Kerusakan	Aminotransferase
Kerusakan hepatoseluler akut, kolaps sirkulasi, pankreatitis akut, mononukleosis infeksiosa	Peningkatan tinggi (> 5 kali nilai normal)
Obstruksi saluran empedu, aritmia jantung, gagal jantung kongestif, tumor hepar (metastasis atau primer), distrophia muscularis	Peningkatan sedang (3-5 kali nilai normal)
Perikarditis, sirosis, infark paru, delirium tremens, cerebrovascular accident (CVA)	Peningkatan ringan (sampai 3 kali normal)

Sumber : Lopa *et al.* (2007)

b. *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT)*

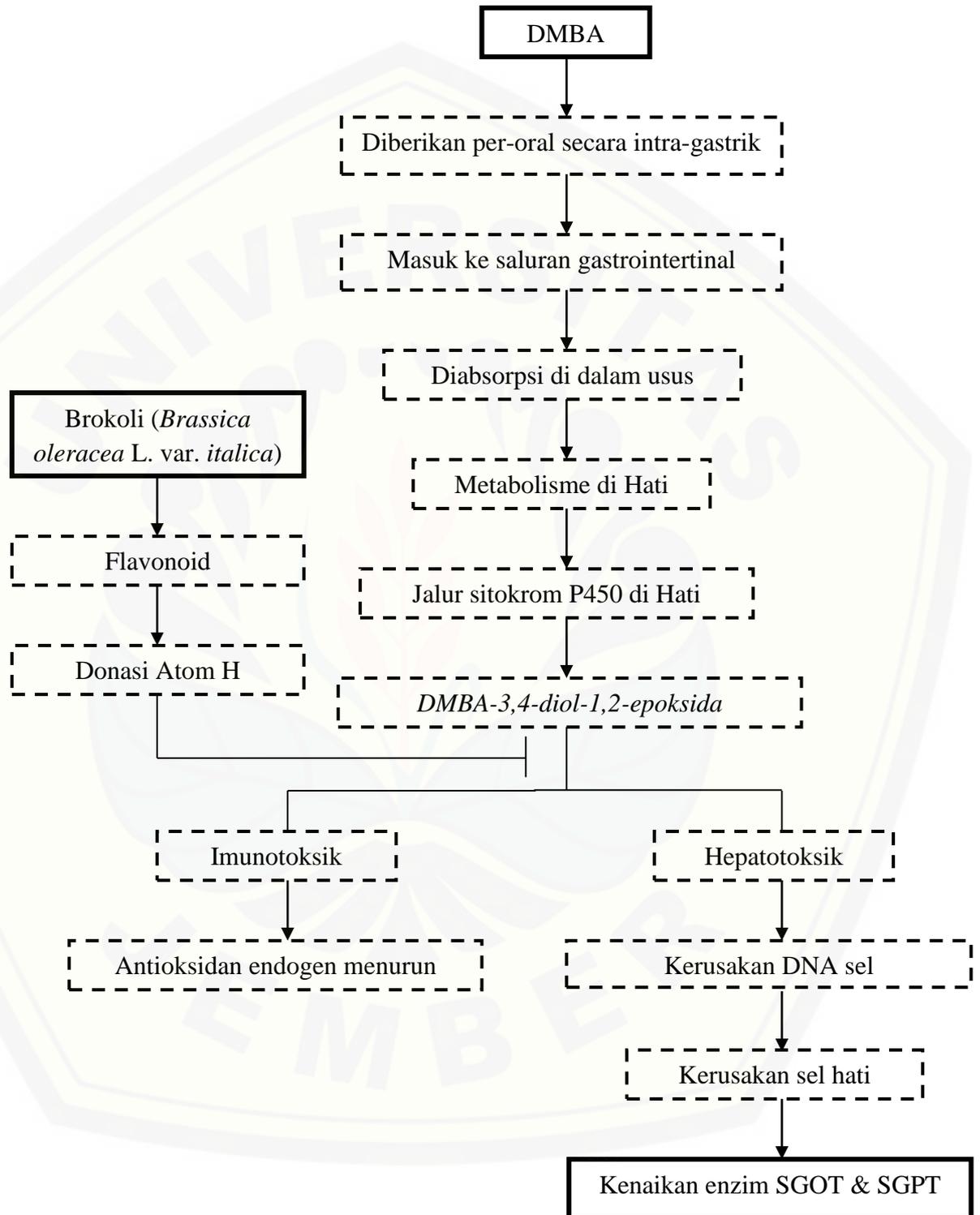
Enzim SGPT berfungsi mengkatalisis pemindahan satu gugus amino yaitu alanin dan asam alfa-ketoglutarat. Enzim ini disebut juga dengan *Alanine Aminotransferase (ALT)*. Kadar normal dalam darah 5-35 IU/ liter. Sedangkan kadar normal pada tikus jantan adalah 49 IU/liter (Fox, *et al.*, 2002). Terdapat

banyak di sel hepatosit dan konsentrasinya rendah di jaringan lain (Amirudin, 2006). Produksi reaksi transaminase bersifat reversible, yaitu piruvat dan glutamate (Giboney, 2006).

Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel hepatosit. Ketika sel hepatosit mengalami kerusakan, enzim tersebut berada dalam darah, sehingga kadarnya dapat diukur. Hal ini disebabkan karena kerusakan pada struktur dan fungsi sel hepatosit (Haki, 2009). Pada peradangan ringan hepatitis virus, kadar SGPT meningkat lebih awal dan lebih mencolok dibandingkan dengan SGOT. Pada kerusakan hepar alkoholik, peningkatan SGOT cenderung sedikit lebih besar daripada peningkatan SGPT (Lopa *et al.*, 2007). Rasio antara SGOT dan SGPT (SGOT/SGPT) lebih sering digunakan untuk membedakan diagnosis kerusakan hati. Nilai normal SGOT/SGPT adalah 0,7-1,4 (Maheshwari, 2008).

Rasio SGOT/SGPT meningkat pada keadaan hepatotoksik karena obat (>2.0), hepatitis alkoholik (≤ 6.0), sirosis (1.4-2.0), dan kolestasis intrahepatic (>1.5) (Maheshwari, 2008). Sedangkan menurut Dufour *et al.* (2000), rasio SGOT/SGPT meningkat pada hepatitis virus (<1), hepatitis alkoholik (>2), kerusakan akibat zat toksik (>1), dan kerusakan akibat iskemik (>1).

2.7 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :

- : Memicu
- | : Menghambat
- ▭ : Diteliti
- - - : Tidak diteliti

Gambar 2.4 Kerangka Konsep Penelitian

Kerangka konsep penelitian pada Gambar 2.4 menjelaskan bahwa radikal bebas DMBA yang diberikan secara per-oral melalui intragastrik akan masuk ke sistem gastrointestinal dan akan diabsorpsi di usus. Dari usus, radikal bebas DMBA dibawa ke organ hati oleh vena porta untuk dimetabolisme di hati melalui jalur sitokrom P450. Hasil metabolisme senyawa ini menyebabkan senyawa menjadi lebih reaktif yaitu *DMBA-3,4-diol-1,2-epoksida* (DMBA-DE) yang bersifat imunotoksik dan hepatotoksik sehingga mengakibatkan penurunan antioksidan endogen dan menyebabkan kerusakan DNA sel. Kerusakan DNA sel menyebabkan kerusakan sel hati yang dapat mengakibatkan gangguan pada hati yang dapat diidentifikasi dengan peningkatan kadar enzim SGOT dan SGPT. Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) dari berbagai penelitian sebelumnya mengandung senyawa flavonoid yang merupakan antioksidan non-enzimatis yang mampu menangkal radikal bebas. Pada kerangka konsep penelitian ini flavonoid dari brokoli dapat memberikan satu atom H kepada radikal bebas sehingga radikal bebas lebih stabil dan kerusakan sel hati dapat dicegah.

2.8 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh efek hepatoprotektor pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus wistar yang diinduksi DMBA.



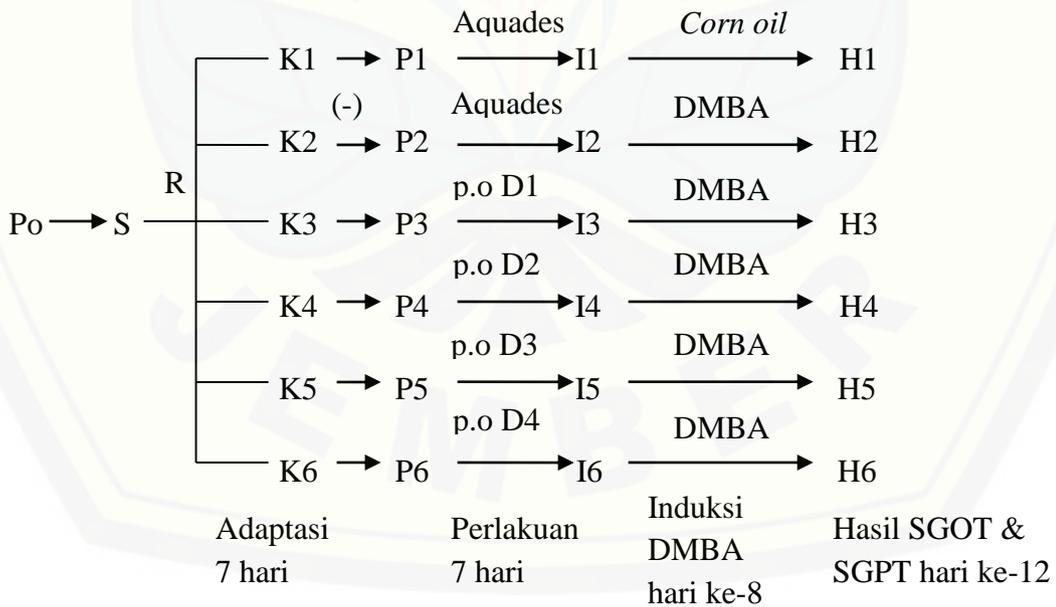
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan *true eksperimental* karena peneliti dapat mengontrol semua variabel luar yang mempengaruhi jalannya eksperimen. Jenis penelitian *true eksperimental* yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design* yang merupakan penelitian eksperimental tanpa adanya pengukuran awal (*pretest*), namun hanya dilakukan pengukuran akhir (*posttest*) (Notoadmojo, 2012).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1 berikut :



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

- Po : Populasi dari hewan coba
- S : Sampel dari hewan coba
- R : Proses randomisasi
- p.o : Pemberian per oral
- D1 : Ekstrak etanol brokoli dosis 250 mg/kgBB
- D2 : Ekstrak etanol brokoli dosis 500 mg/kgBB
- D3 : Ekstrak etanol brokoli dosis 1000 mg/kgBB
- D4 : Ekstrak etanol brokoli dosis 2000 mg/kgBB
- K1 : Kelompok normal dengan pemberian aquades dan *corn oil*
- K2 : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian aquades dan DMBA
- K3 : Kelompok perlakuan 1 dengan pemberian ekstrak etanol brokoli 250 mg/kgBB dan DMBA
- K4 : Kelompok perlakuan 2 dengan pemberian ekstrak etanol brokoli 500 mg/kgBB dan DMBA
- K5 : Kelompok perlakuan 3 dengan pemberian ekstrak etanol brokoli 1000 mg/kgBB dan DMBA
- K6 : Kelompok perlakuan 4 dengan pemberian ekstrak etanol brokoli 2000 mg/kgBB dan DMBA
- P1 : Diberikan perlakuan dengan pemberian aquades selama 7 hari
- P2 : Diberikan perlakuan dengan pemberian aquades selama 7 hari
- P3 : Diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol brokoli 250 mg/kgBB selama 7 hari
- P4 : Diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol brokoli 500 mg/kgBB selama 7 hari
- P5 : Diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol brokoli 1000 mg/kgBB selama 7 hari
- P6 : Diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol brokoli 2000 mg/kgBB selama 7 hari

- I1 : Induksi kelompok normal dengan pemberian *corn oil* pada hari ke-8
- I2 : Induksi kelompok kontrol negatif dengan pemberian DMBA pada hari ke-8
- I3 : Induksi kelompok perlakuan 1 dengan pemberian DMBA pada hari ke-8
- I4 : Induksi kelompok perlakuan 2 dengan pemberian DMBA pada hari ke-8
- I5 : Induksi kelompok perlakuan 3 dengan pemberian DMBA pada hari ke-8
- I6 : Induksi kelompok perlakuan 4 dengan pemberian DMBA pada hari ke-8
- H1-6 : Pengambilan sampel darah pada hari ke-12 untuk dicek kadar SGOT dan SGPT

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan diperoleh dari peternakan hewan di Malang Jawa Timur.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini diseleksi menurut kriteria inklusi dan eksklusi agar didapatkan sampel yang homogen. Kriteria inklusi sampel penelitian sebagai berikut.

- a. Tikus putih galur wistar jantan.
- b. Tikus galur wistar berbulu putih dan sehat (bergerak aktif).
- c. Umur 2-3 bulan.
- d. Berat 100-200 gram.

Sedangkan kriteria eksklusi sampel penelitian adalah tikus wistar yang sakit dan mati sebelum proses randomisasi.

3.3.3 Besar Sampel Penelitian

Sampel dipilih dengan menggunakan teknik *simple random sampling* yang kemudian dibagi menjadi 6 kelompok. Besar sampel tiap kelompok dalam penelitian ini dapat dihitung menggunakan rumus Federer, yaitu $(n - 1) (p - 1) \geq 15$.

Jika $p = 6$, maka $(n - 1) (p - 1) \geq 15$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

n : jumlah sampel,

p : jumlah perlakuan.

Hasil penghitungan dengan rumus diatas didapatkan $n \geq 4$, jadi jumlah sampel tiap perlakuan kurang lebih 4 ekor tikus wistar. Jadi, dalam penelitian ini jumlah sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus wistar dalam 6 kelompok.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk perlakuan, menyondekan DMBA dan ekstrak brokoli. Pembuatan ekstrak brokoli dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Sedangkan untuk pengukuran kadar enzim SGOT dan SGPT

hati dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai November 2015.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini.

- a. Alat untuk pemeliharaan tikus wistar adalah bak plastik, penutup kawat , botol air, tempat makan, label, dan timbangan.
- b. Alat untuk pembuatan ekstrak brokoli adalah *blender*, ayakan 30 mesh, timbangan, pengaduk, toples, labu Erlenmeyer, dan *rotary evaporator*.
- c. Alat untuk menyonde ekstrak brokoli adalah *handscoon*, masker, *beker glass*, pengaduk, dan spuit sonde.
- d. Alat untuk menginduksi DMBA adalah *handscoon*, masker, *beker glass*, pengaduk, dan spuit sonde.
- e. Alat untuk mengambil darah tikus wistar adalah papan fiksasi, *handscoon*, spuit 3 ml, dan tabung kecil tempat menyimpan darah tikus.
- f. Alat untuk mengukur kadar enzim SGOT dan SGPT adalah spektrofotometer, vortex, tabung reaksi, rak, mikropipet, *blue tip*, dan *yellow tip*.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini.

- a. Bahan untuk pemeliharaan mencit adalah makanan standar, minuman, dan sekam.
- b. Bahan untuk pembuatan ekstrak brokoli adalah brokoli segar dan etanol 76%.
- c. Bahan untuk menyonde adalah DMBA dan ekstrak etanol brokoli.

- d. Bahan untuk mengukur kadar enzim SGOT dan SGPT adalah reagen enzim SGOT dan SGPT, serta serum darah tikus.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol brokoli.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SGOT dan SGPT pada tikus wistar.

3.6.3 Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini:

- a. Jenis tikus
- b. Berat badan tikus
- c. Usia tikus
- d. Jenis kelamin tikus
- e. Pemeliharaan tikus
- f. Dosis dan frekuensi pemberian DMBA

3.7 Definisi Operasional

3.7.1 Ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*)

Ekstrak etanol brokoli adalah hasil dari ekstraksi brokoli dengan pelarut etanol 76 %. Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak etanol brokoli melalui metode maserasi. Serbuk brokoli dimaserasi selama 48 jam dan hasilnya dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Dosis ekstrak brokoli yang digunakan adalah 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB diberikan ke tikus selama 7 hari secara oral menggunakan sonde dengan pelarut

aquades. Ekstrak brokoli mengandung senyawa flavonoid yang mampu sebagai antioksidan sehingga dapat menangkal radikal bebas.

3.7.2 Kadar SGOT dan SGPT

Kadar SGOT dan SGPT adalah kadar yang digunakan peneliti untuk menunjukkan efektivitas hepatoprotektor ekstrak etanol brokoli yang diperiksa dari serum darah tikus yang diambil darahnya melalui jantung tikus. Kadar enzim tersebut menandakan seberapa besar sel hepatosit yang rusak, semakin tinggi kadar enzim menunjukkan semakin rusak sel hepatosit tersebut. Cara mengukur kadar enzim SGOT dan SGPT dengan metode kinetik IFCC menggunakan spektrofotometer. Kadar SGOT dan SGPT didapatkan dari rata-rata beda absorbansi kadar SGOT dan SGPT dikalikan dengan faktor sesuai dengan panjang gelombang yang digunakan.

3.7.3 Dosis 7,12-dimetilbenz(α)anthracene (DMBA)

Dosis DMBA adalah dosis yang digunakan untuk menginduksi tikus yang mampu menimbulkan hepatotoksik pada organ hepar tikus. Dosis DMBA pada tikus wistar yang mampu menimbulkan hepatotoksik adalah 15 mg/kgBB. DMBA diberikan pada hari ke-8 secara intra-gastrik dengan alat sonde. Pemberian per oral DMBA harus dilarutkan terlebih dahulu dengan pelarut *corn oil* sebesar 1 ml. Estimasi waktu DMBA mampu sebagai hepatotoksik adalah 4 hari sehingga kadar enzim SGOT dan SGPT dianalisis hari ke 12.

3.7.4 Hewan coba

Hewan coba pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar berjenis kelamin jantan yang tidak sakit, berbulunya putih dan bergerak aktif. Tikus yang

digunakan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 100-200 gram. Adaptasi hewan coba dilakukan sebelum penelitian dimulai dan pemeliharaan tikus dilakukan di kandang yang terbuat dari plastik yang ditutupi kawat yang sudah dicat agar tidak berkarat. Alas kandang dari sekam kayu yang diganti tiap dua hari. Kandang mencit dilengkapi dengan tempat minum, makanan standar, dan pencahayaan yang cukup. Suhu ruangan harus terhindar dari sinar matahari langsung. Suasana tempat hewan coba harus tenang dan menghindari dari stress akibat lingkungan yang kurang kondusif.

3.8 Prosedur Kerja

3.8.1 Pemilihan Tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*)

Pemilihan hewan coba yang dijadikan sampel tiap kelompok penelitian harus sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi dari penelitian ini yaitu tikus galur wistar yang bergerak aktif, berbulu putih, berjenis kelamin jantan, dengan usia 2-3 bulan, dan berat badan 100-200 gram. Sedangkan kriteria eksklusi hewan coba pada penelitian ini tikus yang sakit dan mati sebelum proses randomisasi.

3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Sebelum diberikan perlakuan hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu pada kondisi laboratorium selama 7 hari. Proses adaptasi ini bertujuan agar hewan coba tidak stress terhadap lingkungan baru dan diberikan minuman dan makanan standart. Pada tempat tinggal, alas diberi sekam yang diganti tiap dua hari sekali. Lingkungan tempat tinggal dibuat tenang dan terhindar dari sinar matahari langsung.

3.8.3 Pembagian Tiap Kelompok Penelitian

Pembagian kelompok penelitian dalam 6 kelompok, tiap kelompok penelitian terdiri atas 4 ekor tikus sesuai perhitungan dengan rumus Federer. Pembagian kelompok penelitian dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 3.1 Pembagian Kelompok Penelitian

Kelompok Penelitian	Perlakuan yang diberikan
Kelompok normal	Diberikan aquades selama 7 hari dan <i>corn oil</i> pada hari ke-8
Kelompok kontrol negative	Diberikan aquades selama 7 hari dan DMBA pada hari ke-8
Kelompok perlakuan 1	Diberikan ekstrak etanol brokoli dosis 250 mg/kgBB selama 7 hari dan DMBA pada hari ke-8
Kelompok perlakuan 2	Diberikan ekstrak etanol brokoli dosis 500 mg/kgBB selama 7 hari dan DMBA pada hari ke-8
Kelompok perlakuan 3	Diberikan ekstrak etanol brokoli dosis 1000 mg/kgBB selama 7 hari dan DMBA pada hari ke-8
Kelompok perlakuan 4	Diberikan ekstrak etanol brokoli dosis 2000 mg/kgBB selama 7 hari dan DMBA pada hari ke-8

3.8.4 Pembuatan Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*)

Brokoli diiris kecil dan tipis terlebih dahulu setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (tidak terkena matahari langsung). Brokoli yang sudah kering dihaluskan dengan *blender* hingga menjadi serbuk. Selanjutnya diayak menggunakan mesh agar didapatkan serbuk yang halus dan ditimbang. Sebanyak 500 gram serbuk brokoli yang sudah diayak dimaserasi selama 48 jam (Danesh *et al.*, 2015) dengan menggunakan pelarut etanol 76 %. Selanjutnya ekstrak ditampung di labu Erlenmeyer kemudian dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

3.8.5 Penginduksian DMBA

Penginduksian DMBA dilakukan pada semua kelompok penelitian kecuali kelompok normal yang tanpa dilakukan penginduksian DMBA. DMBA diberikan secara intra-gastrik dengan pelarut *corn oil* sebesar 1 ml. Dosis DMBA 15 mg/kgBB dan diberikan pada hari ke 8. DMBA memberikan efek hepatotoksik selama 4 hari (Dakrory *et al*, 2015).

3.8.6 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Sampel hewan coba sebanyak 24 ekor tikus yang dibagi dalam 6 kelompok perlakuan seperti dirancangan penelitian, dilakukan adaptasi terlebih dahulu selama 7 hari dengan tujuan agar tikus mampu menyesuaikan lingkungan yang baru. Setelah adaptasi selama 7 hari dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol brokoli pada kelompok penelitian 3, kelompok penelitian 4, kelompok penelitian 5, dan kelompok penelitian 6 dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB selama 7 hari secara per oral (Hashem *et al.*, 2013). Sedangkan untuk kelompok normal dan kontrol negatif diberikan aquades selama 7 hari. Pada hari ke-8 dilakukan induksi DMBA pada semua kelompok penelitian kecuali pada kelompok normal dan pada hari ke-12 dilakukan terminasi dan selanjutnya dilakukan pengambilan darah tikus dari jantung tikus untuk mendapatkan serum yang digunakan untuk melihat kadar enzim SGOT dan SGPT serta untuk membuktikan efek hepatoprotektor yang dihasilkan oleh ekstrak etanol brokoli dengan membandingkan kadar enzim SGOT dan SGPT pada kelompok normal dan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, kelompok perlakuan 3, dan kelompok perlakuan 4.

3.8.7 Pemeriksaan Kadar Enzim SGOT dan SGPT

Pemeriksaan kadar enzim SGOT dan SGPT dilakukan setelah proses pembedahan pada semua sampel hewan coba. Proses selanjutnya pengambilan darah tikus melalui jantung tikus dengan spuit 3 ml dan ditempatkan dalam tabung reaksi. Tabung dibiarkan selama 45 menit dalam suhu ruangan kemudian disentrifuge selama 10 menit pada 5000 rpm sehingga didapatkan serum. Kadar enzim SGOT dan SGPT dihitung dengan menggunakan reagen DIALAB enzim tersebut. Metode yang digunakan adalah metode kinetik IFCC menggunakan spektrofotometer.

Serum sebanyak 100 μ l ditambahkan dengan 1000 μ l (800 μ l reagen A ditambah 200 μ l reagen B) reagen DIALAB enzim tersebut. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi selama 1 menit. Selanjutnya setelah 1 menit inkubasi dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 365 nm dan dicatat absorbansinya. Pembacaan kedua dilakukan pada 1 menit selanjutnya dan pembacaan yang ke 3 dilakukan pada 1 menit selanjutnya. Dari ketiga absorbansi tersebut didapatkan hasil yaitu $\Delta A/\text{min}$ dimana hal tersebut menunjukkan rata-rata dari beda absorbansi. $\Delta A/\text{min}$ dikalikan dengan faktor sesuai dengan panjang gelombang yang digunakan.

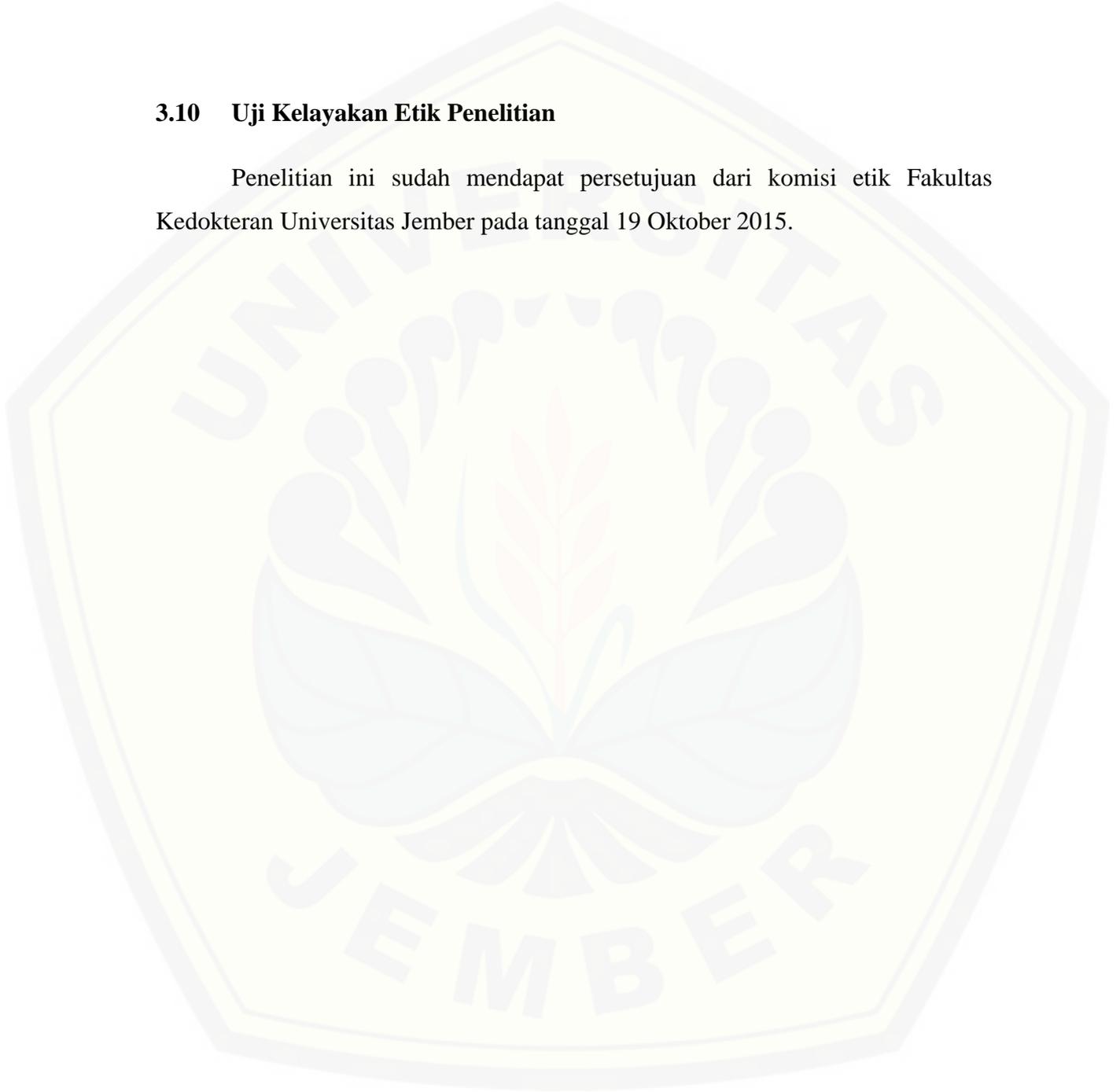
3.9 Analisis Data

Analisis data secara statistik pada penelitian ini menggunakan statistik parametrik. Statistik parametrik yang dipilih karena variabel penelitian ini bebas dan tidak berpasangan serta jumlah perlakuan lebih dari 2 adalah uji statistik *One Way Anova*. Sebelum dilakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas data dan homogenitas varian dengan $p > 0,05$ terlebih dahulu. Jika data yang diperoleh terdistribusi normal dan varian datanya homogen, dilanjutkan dengan uji *One Way*

Annova ($p < 0,05$). Jika data yang diperoleh terdistribusi tidak normal, maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* ($p < 0,05$).

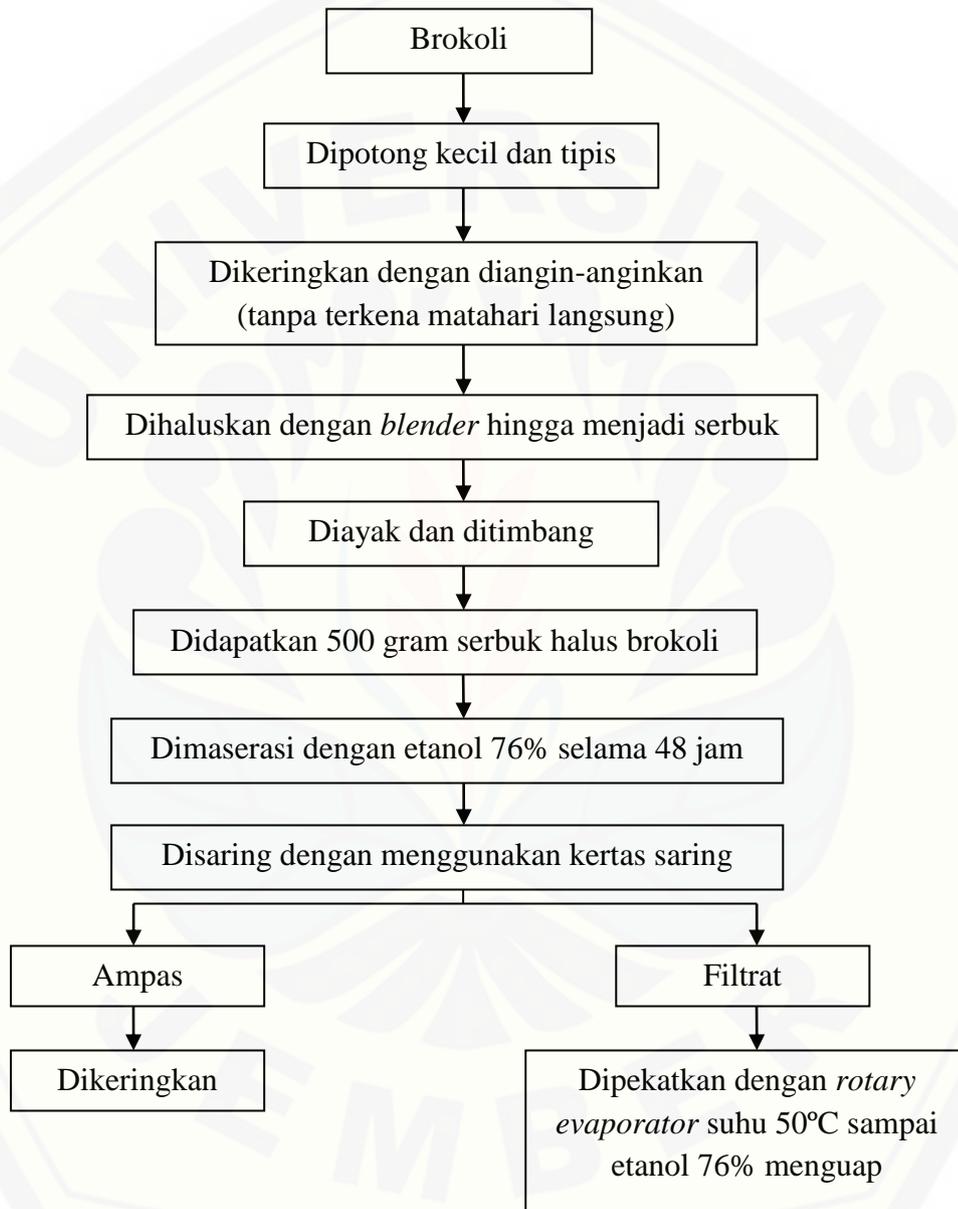
3.10 Uji Kelayakan Etik Penelitian

Penelitian ini sudah mendapat persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada tanggal 19 Oktober 2015.



3.11 Alur Penelitian

3.11.1 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli



Gambar 3.2 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli