

**EFEKTIVITAS EKSTRAK *Artemisia vulgaris* L. SEBAGAI  
HEPATOPROTEKTOR PADA SEL-SEL HATI TIKUS  
YANG DIINDUKSI NIASIN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Laily Rahmawati  
NIM 122010101054**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**EFEKTIVITAS EKSTRAK *Artemisia vulgaris* L. SEBAGAI  
HEPATOPROTEKTOR PADA SEL-SEL HATI TIKUS  
YANG DIINDUKSI NIASIN**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Laily Rahmawati  
NIM 122010101054**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku, Bapak Nur Hasan dan Ibu Henny Nur Hasanah;
2. Nenek, kakek, dan tanteku, Nur Asyiah, Abdul Mukti dan Ida Khoiriyah;
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

**MOTO**

Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.  
(terjemahan Surat *Al-'A'raf* ayat 31)<sup>\*)</sup>

Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali disertai dengan penawarnya.  
(7: 582 Shahih Bukhari)<sup>\*\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: Pustaka Agung Harapan.

<sup>\*\*)</sup> Imam Az Zabidi. 2013. *Ringkasan Shahih Al- Bukhari*. Bandung: PT Mizan Pustaka.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Laily Rahmawati

NIM : 122010101054

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efektivitas Ekstrak *Artemisia vulgaris* L. sebagai Hepatoprotektor pada sel-sel Hati Tikus yang Diinduksi Niasin” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan 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, 23 Desember 2015

Yang menyatakan,

Laily Rahmawati

NIM 122010101054

**SKRIPSI**

**EFEKTIVITAS EKSTRAK *ARTEMISIA VULGARIS L.* SEBAGAI  
HEPATOPROTEKTOR PADA SEL-SEL  
HATI TIKUS YANG DIINDUKSI NIASIN**

Oleh

Laily Rahmawati  
NIM 122010101054

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyaningsih, M. Si

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Rosita Dewi

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efektivitas Ekstrak *Artemisia vulgaris* L. sebagai Hepatoprotektor pada sel-sel Hati Tikus yang Diinduksi Niasin” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 23 Desember 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tim Penguji :

Penguji I,

Penguji II,

dr. Rena Normasari, M. Biomed  
NIP 198305122008122002

dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed  
NIP 198212112008122002

Penguji III,

Penguji IV,

Dr. rer. biol. hum. dr. Erma S., M. Si  
NIP 197702222002122001

dr. Rosita Dewi  
NIP 198404282009122003

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP 197002141999032001

## RINGKASAN

**Efektivitas Ekstrak *Artemisia vulgaris* L. sebagai Hepatoprotektor pada sel-sel Hati Tikus yang Diinduksi Niasin;** Laily Rahmawati, 122010101054; 2015; 50 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Maraknya penjualan produk minuman berenergi untuk menstimulasi sistem metabolik dan sistem saraf pusat memiliki dampak bagi kesehatan. Kandungan dalam minuman berenergi antara lain adalah kafein sebagai bahan aktif yang dapat menstimulasi sistem saraf pusat dan niasin yang berperan dalam metabolisme sel untuk meningkatkan energi. Kandungan niasin yang melebihi angka kecukupan gizi dalam minuman berenergi yang dikonsumsi terus menerus memiliki hasil metabolik yang bersifat agen stres oksidatif dan menyebabkan kerusakan hati. Kerusakan hati dapat dicegah dengan bahan-bahan hepatoprotektor. Penelitian tentang *scoparone* menyebutkan bahwa *scoparone* memiliki efek hepatoprotektor. *Scoparone* adalah salah satu turunan dari kumarin yang merupakan metabolik mayor pada tanaman *Artemisia* sp. termasuk *Artemisia vulgaris* sehingga diharapkan ekstrak *Artemisia vulgaris* mampu menangkal efek stres oksidatif niasin. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui efektivitas ekstrak *Artemisia vulgaris* L. sebagai hepatoprotektor pada sel-sel hati tikus yang diinduksi niasin dan dibandingkan dengan efektivitas *scoparone*.

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *randomized post test only control group*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus sebanyak 25 ekor, dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol tanpa perlakuan (KN), kelompok kontrol dengan niasin 32,4 mg/ 200 gramBB dan kafein 1,8 mg/ 200 gramBB (K(-)), kelompok kontrol dengan niasin 32,4 mg/ 200 gramBB, kafein 1,8 mg/ 200 gramBB, dan *scoparone* 3,5 mg/200 gramBB (K(+)), kelompok

perlakuan dengan niasin 32,4 mg/ 200 gramBB, kafein 1,8 mg/ 200 gramBB, dan ekstrak *Artemisia vulgaris L.* 5 mg/200 gramBB (P1), dan kelompok perlakuan dengan niasin 32,4 mg/ 200 gramBB, kafein 1,8 mg/ 200 gramBB, dan ekstrak *Artemisia vulgaris L.* 10 mg/200 gramBB (P2). Proses ekstraksi *Artemisia vulgaris L.* menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Data penelitian diambil melalui pengamatan gambaran histopatologi sel-sel hati yang dikategorikan menurut kriteria evaluasi ringan, sedang, berat, dan dibedakan ada atau tidak aktivitas sel-sel inflamatori, yang selanjutnya akan dianalisis menggunakan statistik.

Hasil pengamatan mikroskopik hati tikus menunjukkan bahwa pada kelompok KN, 80% sampel memiliki gambaran mikroskopis hati yang normal dan 20% sampel tidak dapat diamati secara mikroskopis karena banyak dijumpai artefak; kelompok K(-), 60% sampel mengalami perubahan struktur sedang dan 40% sampel mengalami perubahan struktur berat serta tidak terdapat aktivitas respons sel-sel inflamatori pada seluruh sampel yang diperiksa; kelompok K(+), seluruh sampel mengalami perubahan struktur sedang disertai aktivitas dominan sel-sel inflamatori yang diindikasikan sebagai respons pertahanan sel hati; kelompok P1, 80% sampel mengalami perubahan struktur sedang tanpa aktivitas respons sel inflamatori dan 20% sampel mengalami perubahan struktur sedang disertai aktivitas respons sel inflamatori; dan kelompok P2, 60% sampel mengalami perubahan struktur sedang tanpa aktivitas respons sel inflamatori, 20% sampel mengalami perubahan struktur sedang disertai aktivitas respons sel inflamatori, dan 20% sampel mengalami perubahan struktur ringan disertai aktivitas respons sel inflamatori. Data diuji dengan uji *Kruskal Wallis* dan didapatkan  $p=0,001$ , dilanjutkan uji *Mann Whitney* yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna ( $p<0,05$ ) pada kelompok KN dan semua kelompok; K(-) dan K(+); K(+) dan P1. Selain itu, perbedaan tidak bermakna ditunjukkan antara K(-) dan P1; K(-) dan P2; K(+) dan P2; P1 dan P2. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Artemisia vulgaris L.* belum terbukti efektif sebagai hepatoprotektor tetapi mempunyai potensi sebagai hepatoprotektor pada sel-sel hati tikus yang diinduksi niasin.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Ekstrak *Artemisia vulgaris* L. sebagai Hepatoprotektor pada sel-sel Hati Tikus yang Diinduksi Niasin”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyarningsih, M. Si selaku Dosen Pembimbing PKM-P sekaligus Dosen Pembimbing Utama dan dr. Rosita Dewi selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. dr. Rena Normasari, M. Biomed selaku Dosen Penguji pertama dan dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed selaku Dosen Penguji kedua yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. M. Ihwan Narwanto, M. Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi selama perkuliahan;
5. dr. Ancah CNM., Ph. D selaku Koordinator KTI yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
6. dr. Rini Riyanti, Sp. PK dan dr. Cholis Abrori, M. Kes selaku Komisi Etik yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;

7. Prof. drg. Mei S., MDSc., Ph. D yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian untuk membantu peneliti membaca gambaran histopatologi sel-sel hati tikus;
8. Mbak Lilik, Mas Agus, Mbak Dini, dan analis RSD Soebandi yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;
9. orangtuaku Nur Hasan dan Henny Nur Hasanah, adikku Fariz dan Iing, serta nenek dan kakek yang telah memberikan perhatian, dukungan, dan doa;
10. rekan PKM-P ku Bannan, Ivan, Annisa, dan Reza yang telah memberikan dukungan dan membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini;
11. sahabatku Silvi, Shinta, Chandra, Yulia, Dimes, Retno, Anggita, angkatan X, KKN 173, dan seluruh anggota Vertex, IMSAC, SRCR, serta FULDFK yang telah memberikan dukungan, doa, dan kesabaran dalam mendengarkan setiap keluh kesah selama menimba ilmu sampai proses penyelesaian skripsi ini;
12. rekan-rekan Panacea angkatan 2012 Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah berjuang bersama-sama;
13. semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Desember 2015

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMBUTAN</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Minuman Berenergi</b> .....	5
2.1.1 Kafein.....	5
2.1.2 Niasin .....	7
<b>2.2 Hati</b> .....	8
2.2.1 Histologi Hati.....	8

2.2.2 Kerusakan Sel-Sel Hati .....	11
2.2.3 Hepatoprotektor .....	12
<b>2.3 <i>Artemisia Vulgaris L.</i> .....</b>	<b>13</b>
2.3.1 Deskripsi Morfologi <i>Artemisia vulgaris L.</i> .....	14
2.3.2 Kandungan dan Kegunaan secara Farmakologi .....	14
2.3.3 <i>Scoparone</i> .....	15
<b>2.4 Kerangka Konseptual .....</b>	<b>17</b>
<b>2.5 Hipotesis Penelitian .....</b>	<b>19</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.3 Populasi dan Sampel .....</b>	<b>20</b>
3.3.1 Populasi .....	20
3.3.2 Besar Sampel .....	20
<b>3.4 Definisi Operasional .....</b>	<b>21</b>
3.4.1 Ekstrak <i>Artemisia vulgaris</i> .....	21
3.4.2 Larutan <i>Scoparone</i> .....	21
3.4.3 Larutan Kafein dan Niasin .....	21
3.4.4 Gambaran Histopatologi Hati Tikus .....	22
<b>3.5 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>3.6 Variabel Penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.6.1 Variabel Bebas .....	24
3.6.2 Variabel Terikat .....	24
3.6.3 Variabel Terkendali .....	25
<b>3.7 Bahan dan Alat Uji yang Digunakan .....</b>	<b>25</b>
<b>3.8 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.8.1 Pemilihan Sampel Tikus .....	25
3.8.2 Persiapan Sampel Tikus .....	25
3.8.3 Proses Ekstraksi .....	26

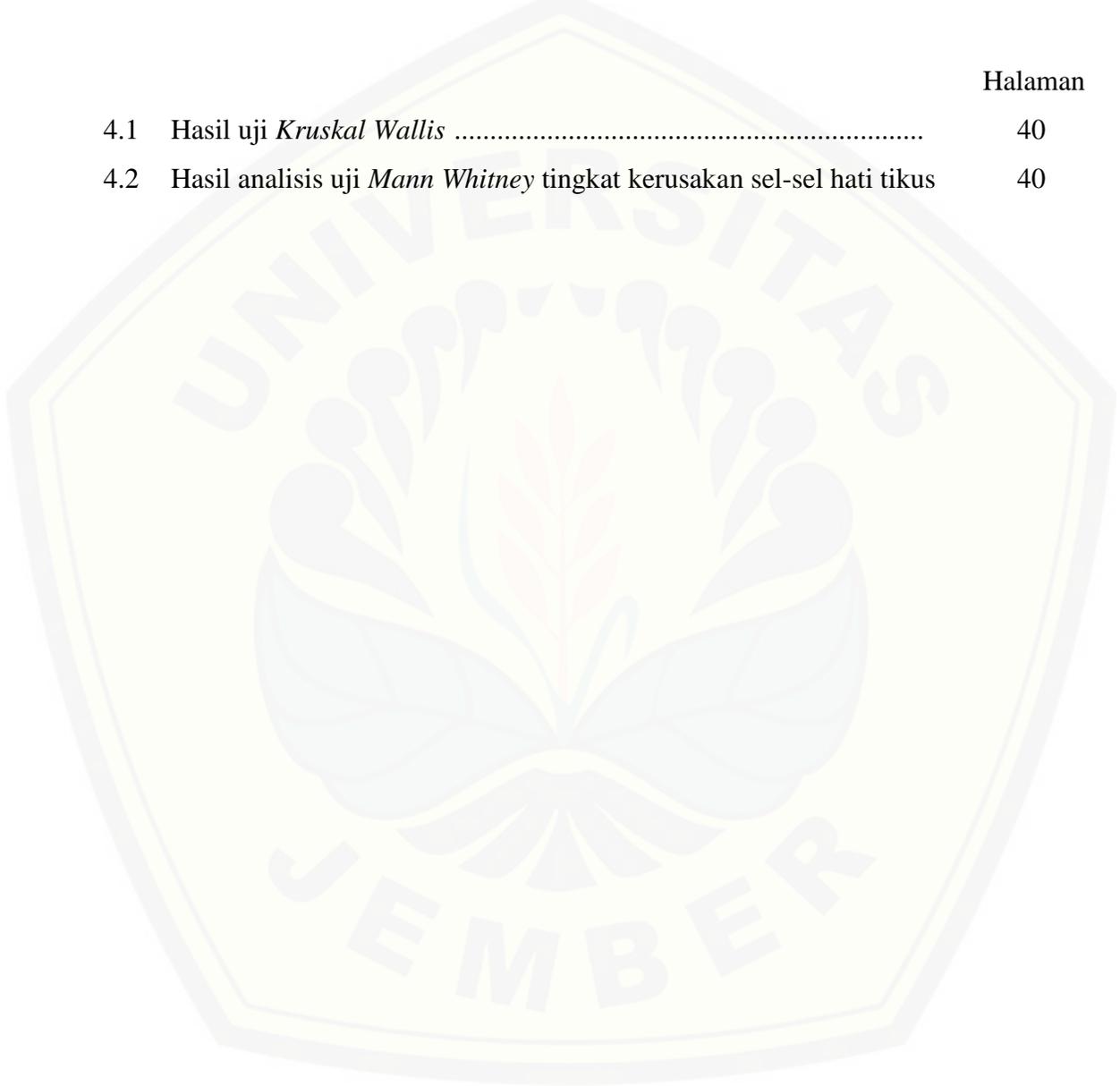
3.8.4 Penentuan Dosis .....	26
3.8.5 Pembuatan Sediaan Uji .....	27
3.8.6 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Histopatologi .	27
3.8.7 Pengamatan Preparat Histopatologi Hati Tikus .....	27
<b>3.9 Analisis Data .....</b>	<b>28</b>
<b>3.10 Alur Penelitian .....</b>	<b>29</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	30
4.2 Analisis Data .....	39
4.3 Pembahasan .....	41
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>46</b>
5.1 Kesimpulan .....	46
5.2 Saran .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>51</b>

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Sistem asinus hati dan lobulus hati .....	10
2.2 Bagian tumbuhan <i>Artemisia vulgaris</i> L. ....	14
2.3 Skema kerangka konseptual penelitian .....	17
3.1 Skema rancangan penelitian .....	23
3.2 Alur penelitian .....	29
4.1 Penggolongan sampel kelompok kontrol normal berdasarkan tingkat kerusakan sel hati tikus.....	32
4.2 Penggolongan sampel kelompok kontrol negatif berdasarkan tingkat kerusakan sel hati tikus.....	32
4.3 Penggolongan sampel kelompok kontrol positif berdasarkan tingkat kerusakan sel hati tikus.....	33
4.4 Penggolongan sampel kelompok perlakuan pertama berdasarkan tingkat kerusakan sel hati tikus.....	34
4.5 Penggolongan sampel kelompok perlakuan kedua berdasarkan tingkat kerusakan sel hati tikus.....	34
4.6 Foto preparat hati tikus kelompok kontrol normal .....	35
4.7 Foto preparat hati tikus kelompok kontrol negatif .....	36
4.8 Foto preparat hati tikus kelompok kontrol positif .....	37
4.9 Foto preparat hati tikus kelompok perlakuan pertama .....	38
4.10 Foto preparat hati tikus kelompok perlakuan kedua.....	39

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Hasil uji <i>Kruskal Wallis</i> .....	40
4.2 Hasil analisis uji <i>Mann Whitney</i> tingkat kerusakan sel-sel hati tikus	40



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Surat Keterangan Penelitian.....	51
A.1 Keterangan persetujuan etik.....	51
A.2 Surat keterangan.....	53
A.3 Keterangan identifikasi tanaman.....	54
B. Hasil Pengamatan Histopatologi Sel Hati Tikus .....	55
B.1 Laporan hasil pemeriksaan patologi anatomi .....	55
B.2 Kategori tingkat kerusakan sel hati tikus .....	58
C. Hasil Uji Analisis Data .....	59
C.1 Uji <i>Kruskal Wallis</i> .....	59
C.2 Uji <i>Mann Whitney</i> .....	60
D. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi.....	65
E. Dokumentasi Penelitian .....	72

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Minuman berenergi adalah minuman non-alkohol berkarbonasi yang dirancang untuk memberikan energi bagi konsumen. Minuman ini biasanya digunakan masyarakat luas untuk menstimulasi sistem metabolik dan sistem saraf pusat saat belajar, berolahraga, atau mengemudi jarak jauh (Heckman *et al.*, 2010). Minuman berenergi mengandung kafein, gula sederhana (glukosa, fruktosa), maltodekstrin, asam amino (taurin, karnitin, kreatin), *glucuronolactone*, dan vitamin B kompleks (niasin, asam pantotenat, piridoksin, riboflavin, inositol, dan kobalamin) (Khayyat *et al.*, 2012; Forbes *et al.*, 2007). Vitamin B kompleks dalam minuman berenergi yang mempunyai kadar paling tinggi dibandingkan dengan kadar vitamin B lain adalah niasin (Forbes *et al.*, 2007). Niasin dapat meningkatkan metabolisme lemak dan membantu tubuh mengubah karbohidrat menjadi glukosa sehingga lebih mudah menjadi energi. Oleh karena itu, niasin dijadikan salah satu komponen minuman berenergi dengan harapan peningkatan metabolisme lemak akan meningkatkan jumlah kalori yang tersedia. Selain niasin, kandungan kafein dimanfaatkan sebagai bahan aktif minuman berenergi karena dapat menstimulasi sistem saraf pusat dengan cara memblokir reseptor adenosin dan merupakan bahan utama minuman berenergi yang berhubungan dengan diuresis dan keseimbangan cairan elektrolit (Khayyat *et al.*, 2012).

Maraknya penjualan produk minuman berenergi yang beraneka ragam di pasaran sekaligus meningkatnya kebutuhan konsumen dalam mengonsumsi minuman berenergi memiliki dampak bagi kesehatan. Banyak penelitian yang menyebutkan bahwa minuman berenergi dapat meningkatkan nilai aspartat transferase (AST), alanin transferase (ALT), dan alkali fosfatase (ALP) yang merupakan enzim fungsional hati sehingga konsumsi jangka panjang dapat berpengaruh pada gambaran

biopsi hati seperti nekrosis sentrolobular, inflamasi portal, dan gejala minor kolangitis (Khayyat *et al.*, 2012; Akande and Banjoko, 2011; Vivekanandarajah *et al.*, 2011; Apestegui *et al.*, 2011).

Minuman yang diharapkan dapat menstimulasi sistem metabolik dan sistem saraf ini ternyata memiliki sifat hepatotoksik pada sel-sel hati. Dilansir dari *Daily Mail*, salah satu harian di Inggris, pada tahun 2011 terdapat seorang wanita yang menderita hepatitis akut akibat minum sepuluh minuman berenergi setiap hari selama dua minggu. Ada pula laporan kasus yang menyebutkan seorang wanita usia 22 tahun datang dalam keadaan *jaundice*, sakit perut, dan peningkatan serum transaminase hati setelah mengonsumsi minuman berenergi secara berlebihan (Vivekanandarajah *et al.*, 2011). Selain itu, laporan kasus pada seorang laki-laki usia 16 tahun yang menderita hepatitis pertama akibat menghabiskan 15 botol minuman berenergi selama tiga hari dan menghabiskan tiga botol minuman berenergi selama empat jam pada kasus hepatitis kedua (Apestegui *et al.*, 2011). Kejadian-kejadian tersebut dikaitkan dengan kandungan niasin yang dalam dosis tinggi memiliki mekanisme hepatotoksik berupa gangguan pada mitokondria yang mengakibatkan struktur mitokondria memburuk sehingga menyebabkan apoptosis, nekrosis, infiltrasi sel radang yang bermanifestasi kenaikan enzim aminotransferase ringan sampai sedang dan perubahan histopatologi sel-sel hati yang dikaitkan dengan keadaan klinis seperti *acute liver injury* parah (Summers, 2014; Apestegui *et al.*, 2011; Mackay *et al.*, 2012).

Kandungan kafein dalam minuman berenergi sebenarnya memiliki efek hepatoprotektor pada sel-sel hati, mencegah fibrosis hati, dan menurunkan kadar alanin transferase amino (ALT) (Furtado *et al.*, 2012; Costentin *et al.*, 2011; Cadden *et al.*, 2007) tetapi adanya kasus hepatitis akibat niasin mengisyaratkan bahwa efek hepatoprotektor kafein kurang poten dalam menangkal efek hepatotoksik niasin. Penelitian tentang *Artemisia vulgaris L.* menunjukkan adanya aktivitas hepatoprotektor terhadap induksi *D-galactosamine* (D-GalN) dan *lipopolysaccharide* (LPS) yang dapat menurunkan kadar ALT dan AST, fokal nekrosis, sel *swelling*, dan jumlah sel apoptosis pada histopatologi sel hati (Gilani *et al.*, 2005). Penelitian lain

juga menunjukkan aktivitas hepatoprotektor *Artemisia sp.* terhadap induksi karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) pada dosis 25 mg/kg dan 50 mg/kg (Wang *et al.*, 2012). Salah satu komponen fenolik *Artemisia vulgaris L.* adalah *scoparone* yang merupakan turunan kumarin yang memiliki efek hepatoprotektor dalam melawan kerusakan hati pada tikus (Zhang *et al.*, 2013; Atmaca *et al.*, 2011). *Scoparone* berperan sebagai hepatoprotektor melalui sifat antioksidan sehingga bersama kafein diharapkan mampu melawan efek hepatotoksik niasin. Selain sebagai hepatoprotektor, penelitian lain menunjukkan *scoparone* memiliki sifat dopaminergik yang akan meningkatkan kadar dopamin dalam tubuh dan membantu meningkatkan atensi (Yang, 2010).

Belum ada penelitian tentang *Artemisia vulgaris L.* yang menunjukkan adanya aktivitas hepatoprotektor terhadap induksi niasin. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas hepatoprotektor ekstrak *Artemisia vulgaris L.* pada tikus yang diinduksi niasin dengan indikator gambaran histopatologi hati. Ekstrak *Artemisia vulgaris L.* diharapkan dapat mengurangi efek hepatotoksik niasin pada minuman berenergi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis merumuskan masalah yang akan dibahas sebagai berikut.

### 1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Bagaimana efektivitas ekstrak *Artemisia vulgaris L.* sebagai hepatoprotektor pada sel-sel hati tikus?

### 1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

Rumusan masalah khusus dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Bagaimana efektivitas ekstrak *Artemisia vulgaris L.* sebagai hepatoprotektor pada sel-sel hati tikus yang diinduksi niasin?
- b. Bagaimana efektivitas ekstrak *Artemisia vulgaris L.* dibandingkan dengan *scoparone* pada sel-sel hati tikus yang diinduksi niasin?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah mengetahui efektivitas ekstrak *Artemisia vulgaris L.* sebagai hepatoprotektor pada sel-sel hati tikus.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- c. Mengetahui efektivitas ekstrak *Artemisia vulgaris L.* sebagai hepatoprotektor pada sel-sel hati tikus yang diinduksi niasin.
- d. Mengetahui efektivitas ekstrak *Artemisia vulgaris L.* dibandingkan dengan *scoparone* pada sel-sel hati tikus yang diinduksi niasin.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Bagi peneliti selanjutnya dapat dijadikan landasan teori dan dasar modifikasi pengembangan penelitian ekstrak *Artemisia vulgaris L.* sebagai hepatoprotektor.
- b. Bagi produsen minuman berenergi dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam membuat formula minuman berenergi yang mampu memberikan efek hepatoprotektor.
- c. Bagi masyarakat luas dapat sebagai tambahan pengetahuan mengenai pengaruh minuman berenergi pada hati.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Minuman Berenergi

Minuman berenergi adalah minuman non alkoholik yang mengandung zat-zat seperti kafein, stimulan berbasis herbal, vitamin B kompleks (niasin, asam pantotenat, piridoksin, riboflavin, inositol, dan kobalamin), gula sederhana (glukosa, fruktosa), maltodekstrin, asam amino (taurin, karnitin, kreatin), dan *glucuronolactone* (Khayyat *et al.*, 2012; Forbes *et al.*, 2007). Minuman ini digemari masyarakat untuk berbagai alasan seperti meningkatkan memori, meningkatkan atensi atau melawan rasa kantuk, serta menstimulasi sistem metabolik dan sistem saraf pusat (Heckman *et al.*, 2010). Konsumen minuman paling banyak antara lain yaitu pekerja berat dan supir angkot karena mereka selalu berhadapan dengan kelelahan (Saputro, 2007).

Penelitian yang mengkaji manfaat minuman berenergi menunjukkan bahwa minuman energi dibandingkan *placebo* memberikan efek peningkatan energi pada kelompok subjek berumur 18 hingga 55 tahun (Smit *et al.*, 2004). Efek lain pada minuman berenergi juga meningkatkan nilai aspartat transferase (AST), alanin transferase amino (ALT) dan alkali fosfatase (ALP) dalam serum (Khayyat *et al.*, 2012; Akande and Banjoko, 2011). Pada gambaran biopsi hati tampak nekrosis sentrolobular, inflamasi portal, kongesti pembuluh darah, dan gejala minor kolangitis (Khayyat *et al.*, 2012; Apestegui *et al.*, 2011).

#### 2.1.1 Kafein

Secara alami, kafein terkandung dalam kopi, cokelat, teh, dan biji kola. Kafein adalah bahan utama minuman berenergi yang berhubungan dengan diuresis dan keseimbangan cairan elektrolit. Dari hasil uji laboratorium diperoleh bahwa dari lima sampel minuman berenergi yang diteliti, didapatkan mengandung taurin dan vitamin B6 serta tiga diantara lima minuman tersebut mengandung kafein (Saputro, 2007).

Dosis kafein dalam minuman berenergi berkisar antara 50 mg sampai 141 mg pada tiap botol minuman berenergi atau 1-2 mg/kgBB (Forbes *et al.*, 2007). *International Food Information Council Foundation* (2007) menyatakan bahwa batas aman konsumsi kafein yang masuk ke dalam tubuh perharinya adalah 100-150 mg untuk membuat tubuh mengalami peningkatan aktivitas dan tetap terjaga. Konsumsi lebih dari 300 mg/hari dapat menyebabkan intoksikasi akut kafein dengan gejala agitasi psikomotor dan aritmia sedangkan konsumsi lebih dari itu atau lebih dari 650 mg/hari dapat menyebabkan psikosis, rhabdomyolisis, dan kematian (Vivekanandarajah *et al.*, 2011). Kafein dimanfaatkan sebagai bahan aktif minuman berenergi karena dapat menstimulasi sistem saraf pusat dengan meningkatkan aktifitas neural serta mengurangi kelelahan dan memperlambat waktu tidur melalui blok reseptor adenosin. Pengikatan adenosin dengan reseptornya menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah sehingga terasa mengantuk. Karena kafein dan adenosin mempunyai struktur yang mirip, kafein dapat berikatan dengan reseptor adenosin sehingga menghambat kerja adenosin dan tidak terjadi vasokonstriksi (Kirchheimer and Nazario, 2004).

Potensi kafein sebagai hepatoprotektor penyakit hati kronik telah banyak diteliti. Kafein secara signifikan dapat mengurangi tingkat kerusakan sel hati yang diinduksi alkohol pada dosis 0,7-2,8 mg/tikus/hari (Lv *et al.*, 2010), mengurangi fibrosis atau inflamasi, fraksi volume kolagen pada dosis 1,7-5 mg/tikus/hari (Furtado *et al.*, 2012), serta menurunkan kadar alanin transferase amino (ALT) (Costentin *et al.*, 2011; Cadden *et al.*, 2007). Kafein merupakan suatu alkaloid purin yang bertindak memblokir reseptor adenosin - non selektif melalui antagonisme reseptor adenosin A1 dan A2. Adenosin yang bekerja pada reseptor A2 akan merangsang *hepatic stellate cell-mediated fibrosis* dengan meningkatkan produksi kolagen I dan III sehingga dengan blok reseptor adenosin termasuk A2 dapat mencegah fibrosis hati hewan coba (Machado *et al.*, 2014; Furtado *et al.*, 2012).

### 2.1.2 Niasin

Niasin atau yang lebih umum dikenal sebagai vitamin B3 merupakan bagian dari vitamin B kompleks yang diperlukan oleh tubuh dan merupakan vitamin larut dalam air yang banyak ditemukan di berbagai campuran herbal serta dalam minuman berenergi. Niasin dapat meningkatkan metabolisme lemak dan membantu tubuh mengubah karbohidrat menjadi glukosa sehingga lebih mudah menjadi energi. Oleh karena itu, niasin dijadikan salah satu komponen minuman berenergi dengan harapan peningkatan metabolisme lemak akan meningkatkan jumlah kalori yang tersedia. Angka kecukupan gizi yang dianjurkan dari vitamin ini adalah 14 sampai 16 mg/ hari pada orang dewasa, 18 mg/ hari untuk ibu hamil, dan 2 sampai 12 mg/ hari untuk anak-anak (Mackay *et al.*, 2012). Normalnya niasin sebanyak 16 mg/ hari sudah mencukupi kebutuhan seorang laki-laki dewasa tetapi pada minuman berenergi diberi dosis lebih dari 20-30 mg atau 0, 45 mg/kgBB untuk meningkatkan metabolisme lemak. Dosis yang berlebihan ini akan menimbulkan masalah bila dikonsumsi terus-menerus. Niasin dengan dosis lebih dari 500 mg mengakibatkan peningkatan asimtomatik kadar enzim aminotransferase serum pada 20% orang dan menunjukkan efek lebih serius pada konsumsi lebih dari 1,5-3 gram/hari (Korth and Backes, 2012; Mackay *et al.*, 2012). Namun laporan kasus dari Vivekanandarajah *et al.* (2011) menyebutkan bahwa konsumsi niasin 300 mg/hari (sepuluh botol/hari dengan kandungan niasin 30mg/botol minuman berenergi) sudah menyebabkan gejala toksik pada hati. Manifestasi hepatotoksik niasin meliputi kenaikan enzim fungsional hati, nekrosis sel-sel hati, steatosis bahkan gagal hati.

Sifat hepatotoksik niasin berjalan melalui mekanisme berikut. Ketika niasin sampai di hati, niasin dimetabolisme melalui dua jalur yaitu konjugasi dan amidasi (non konjugasi). Jalur amidasi inilah yang berperan dalam sifat hepatotoksik niasin (Summers, 2014; Korth and Backes, 2012). Dalam jalur amidasi, niasin akan mengalami oksidasi dan reduksi. Salah satu produknya adalah *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD). NAD dapat menyebabkan stres oksidatif pada hati dengan cara menghambat  $\beta$  oksidasi melalui siklus transpor elektron sehingga menyebabkan

gangguan pada mitokondria. Gangguan pada mitokondria akan mengakibatkan kegagalan produksi *Adenosine Triphosphat* (ATP) pada hepatosit dan mengakibatkan terjadinya apoptosis atau nekrosis dengan atau tanpa infiltrasi sel radang yang bermanifestasi kenaikan enzim aminotransferase ringan sampai sedang dan perubahan histopatologi sel-sel hati yang dikaitkan dengan keadaan klinis seperti *acute liver injury* parah (Summers, 2014; Apestegui *et al.*, 2011; Mackay *et al.*, 2012). Pada sel hati juga dapat terjadi degenerasi sel berupa degenerasi keruh dan atau hidrofik. Degenerasi ini terjadi akibat penumpukan air di dalam sel. Hal ini dapat disebabkan oleh karena kerusakan mitokondria, terhentinya produksi ATP, dan kegagalan dari pompa natrium-kalium.

## 2.2 Hati

Hati merupakan organ multifungsi yang berperan dalam berbagai fungsi metabolisme dalam tubuh yang terletak di bagian atas rongga abdominal, tepatnya di bawah diafragma. Organ tersebut dilapisi oleh suatu lapisan tipis peritoneum di sepanjang permukaannya kecuali pada bagian yang menempel dengan diafragma. Hati terdiri atas 4 lobus utama, yaitu 1 lobus median, 2 lobus lateral (kanan dan kiri) dan 1 lobus kaudal. Darah dari lambung dan usus dialirkan terlebih dahulu ke hati melalui vena porta sebelum diedarkan ke sistem sirkulasi. Dengan demikian, hati menjadi organ pertama yang berhadapan dengan berbagai xenobiotik yang diingesti tubuh seperti sari-sari makanan, vitamin, logam, obat-obatan, dan toksikan yang berasal dari lingkungan (Mescher, 2010).

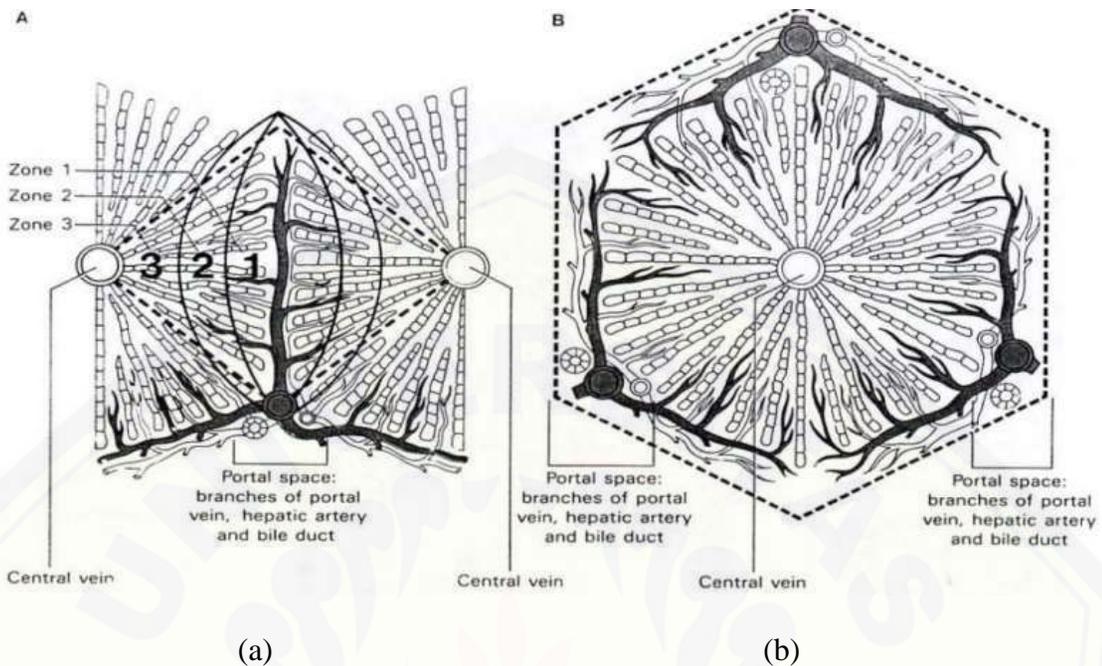
### 2.2.1 Histologi Hati

Lobus hati tersusun oleh unit-unit kecil yang disebut lobulus. Sel-sel yang menyusun lobulus terdiri dari sel parenkimal yang disebut hepatosit dan sel non parenkimal. Hepatosit meliputi 80% dari seluruh lobulus dan melakukan sebagian besar kemampuan sintesis dan metabolisme, sisanya berupa sel Kupffer yang

merupakan makrofag, sel epitelial sistem empedu, dan *stellate cell* (Gray dan Lawrence, 2000).

Lobulus hati secara umum terlihat berbentuk heksagonal (segi enam). Setiap lobulus hati dikelilingi oleh beberapa portal triad, yang masing-masing berisi satu cabang vena porta, satu cabang arteri hepatica, dan satu duktus biliaris. Vena sentralis terletak di bagian tengah lobulus dan hepatosit tersusun dalam barisan memanjang (radial) dari vena sentralis hingga ke tepi lobulus. Hepatosit berbentuk polihedral dengan inti bulat, terletak di tengah, dan berwarna lebih gelap, dengan jumlah nukleolus satu atau lebih dan kromatin yang menyebar. Sitoplasma pada hepatosit agak berbutir, organel-organel yang mengisi sel membuat sitoplasma tampak bergranula, dan pada sediaan yang dipulas hematoksilin eosin bersifat eosinofilik karena banyaknya mitokondria (Mescher, 2010). Barisan hepatosit dipisahkan satu sama lain oleh sinusoid yang berisi darah. Dinding sinusoid dibentuk oleh sel endotelial. Beberapa sel Kupffer juga terdapat di sepanjang ruang sinusoid. Hepatosit sendiri dipisahkan dari sinusoid oleh suatu celah yang disebut *space of disse*. Di celah disse ini terdapat *stellate cell*. *Stellate cell* berperan dalam pembentukan fibrosis hati dengan cara sintesis kolagen. Hepatosit juga terletak dekat dengan kanalikuli dimana empedu disekresikan ke dalamnya. Empedu yang diproduksi oleh hepatosit mengalir melalui kanal kecil yang disebut kanalikuli empedu. Pada hati yang normal, sangat sedikit jaringan ikat atau sel-sel inflamasi yang dapat terlihat kecuali beberapa limfosit pada saluran portal (Allen, 2002).

Konsep terbaru dari unit fungsional hati terkecil adalah asinus hati yang terdiri atas sel-sel parenkim sekitar arteriol, venul, dan duktus biliaris terminal, serta terletak di antara dua vena sentralis. Konsep asinus ini dapat menjelaskan gangguan patofisiologis penyakit hati. Tiga zona dalam asinus hati adalah zona 1, daerah elipsoid yang mengelilingi arteriol hepatica dan venul porta terminal; zona 2, di tengah; zona 3, dekat vena sentralis. Ketiga zona tersebut seperti terlihat pada Gambar 2.1 di bawah ini.



(a) Sistem asinus hati yang terdiri dari tiga zona, yaitu zona 1, zona 2, dan zona 3; (b) Sistem lobulus hati yang terdiri dari vena porta, arteri hepatica dan duktus empedu

Gambar 2.1 Sistem asinus hati dan lobulus hati (Sumber: Gray dan Lawrence, 2000)

Perbedaan struktur sel dan aktivitas enzim sepanjang lempeng sel-sel parenkim hati dapat dilihat melalui pembagian zona di atas. Berdasarkan zona kerusakan lobulus hati akibat jejas toksik dapat dibedakan menjadi tiga zona yaitu.

**Zona 1:** terletak mulai dari daerah periportal. Zona ini memiliki perfusi oksigen yang tinggi karena dekat dengan pembuluh darah. Banyak dijumpai enzim yang terlibat dalam metabolisme oksidatif, glikogenesis, dan glukoneogenesis. Kerusakan hepatosit akibat xenobiotik jarang terjadi di sini.

**Zona 2:** daerah campuran.

**Zona 3:** zona ini terletak di sekitar vena sentralis. Banyak terdapat enzim glikolisis, lipogenesis, dan metabolisme obat. Kerusakan hepatosit banyak terjadi di sini hingga terjadi nekrosis sel hati (Mescher, 2010).

### 2.2.2 Kerusakan Sel-Sel Hati

Hati normal memiliki kapasitas regenerasi yang luar biasa karena hati merupakan organ tubuh yang paling sering menerima jejas. Hati rentan terhadap berbagai gangguan metabolik, toksik, mikroba, dan sirkulasi. Pada jejas ringan, sel-sel hati dapat segera beregenerasi kembali pada fungsi semula. Namun, kapasitasnya dapat habis apabila hati terkena penyakit yang menyerang seluruh parenkim sehingga timbul kerusakan pada hati. Apabila sel hati terkena rangsangan patologik secara terus menerus, akan menyebabkan beberapa respons yang berbeda, sesuai dengan jenis pajanan dan lama pajanan dari rangsangan patologik. Terdapat lima respons umum yang dihasilkan hati ketika mengalami jejas (Kumar *et al.*, 2012).

Respons pertama yaitu peradangan. Peradangan mungkin terbatas di saluran porta atau mungkin terbatas ke dalam parenkim. Jika hepatosit mengalami kerusakan, makrofag akan segera menelan sel yang mati, membentuk gumpalan sel radang di parenkim yang normal. Benda asing, organisme, dan berbagai obat dapat memicu reaksi granulomatosa (Kumar *et al.*, 2012).

Respons kedua yaitu degenerasi. Degenerasi merupakan perubahan morfologi dan fungsi yang sifatnya reversibel. Degenerasi yang paling ringan yaitu degenerasi parenkimatososa atau degenerasi albumin. Degenerasi parenkimatososa membuat sel menjadi tampak bengkak dan keruh. Hal ini terjadi karena adanya sekresi protein yang berlebih pada ekstra sel dan metabolisme protein terjadi masih normal. Maka dari itu, sel melakukan pinositosis pada protein yang menyebabkan sitoplasma sel mengalami kekeruhan. Bila degenerasi parenkimatososa ini diteruskan, maka akan terjadi degenerasi hidropik. Degenerasi hidropik terjadi karena adanya gangguan membran sel sehingga banyak cairan masuk dalam sitoplasma, menimbulkan beberapa vakuola berukuran kecil sampai besar. Kerusakan pada degenerasi hidropik ini berada pada mitokondria sel (Sudiono *et al.*, 2001).

Respons ketiga yaitu kematian sel. Kematian sel atau nekrosis merupakan kematian sel yang irreversibel. Berdasarkan luasnya, nekrosis hati dapat bersifat fokal, sentral, perifer, dan zonal atau masif. Kematian sel terjadi bersamaan dengan pecahnya membran plasma. Umumnya perubahan-perubahan yang terjadi pada sel nekrotik dapat terjadi pada semua bagian sel. Tetapi perubahan pada inti sel adalah petunjuk yang paling jelas pada kematian sel. Kematian sel yang bersifat toksik atau diperantarai oleh sistem imun terjadi melalui apoptosis. Tanda nekrosis sel hati memiliki ciri piknosis (inti hiperkromatik dan mengecil), karioreksis (fragmentasi inti yang meninggalkan pecahan-pecahan sisa inti berupa zat kromatin yang tersebar di dalam sel dan kariolisis (inti hilang dan kromatin basofil menjadi pucat) (Kumar *et al.*, 2012).

Respons keempat yaitu fibrosis. Jaringan fibrosis terbentuk sebagai respons terhadap peradangan atau gangguan toksik langsung ke hati. Pengendapan kolagen akan menimbulkan dampak permanen pada pola aliran darah hati. Awalnya, fibrosis terbentuk di dalam atau di sekitar sauran porta atau vena sentralis atau mungkin mengendap langsung dalam sinusoid. Untaian dari fibrosis akan menghubungkan regio hati yang disebut *bridging* fibrosis (Kumar *et al.*, 2012).

Respons terakhir yaitu sirosis. Hati terbagi menjadi beberapa nodus hepatosit yang sekelilingnya mengalami regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan parut yang disebut sirosis. Sirosis merupakan stadium akhir dari perjalanan penyakit hati (Kumar *et al.*, 2012).

### 2.2.3 Hepatoprotektor

Hepatoprotektor dapat disebut sebagai pelindung hati. Secara teoritis hepatoprotektor adalah bahan-bahan yang memiliki efek proteksi terhadap hati. Hepatoprotektor biasanya memiliki aktivitas antioksidan, antifibrotik, antikanker, antiviral, dan antimikroba tergantung pada mekanisme dalam komponen aktif sebagai hepatoprotektor. Salah satu bahan hepatoprotektor yang sekarang marak diteliti yaitu bahan herbal. Herbal yang bermanfaat atau mempunyai potensi sebagai

hepatoprotektor merupakan komponen tumbuh-tumbuhan (akar, daun, ataupun bagian yang lain) yang mampu melindungi sel-sel hati terhadap berbagai stresor baik dari bahan kimia, agen biologi maupun obat-obatan. Penelitian dan studi epidemiologi menyatakan bahwa beberapa tumbuhan memiliki fitokimia yaitu semua unsur kimia alami khususnya senyawa biologi aktif yang berperan sebagai antioksidan. Fitokimia yang terbanyak adalah senyawa fenolik, flavonoid, dan derivat kumarin (Ebadi, 2007). Mekanisme hepatoprotektor herbal tidak jauh berbeda dengan hepatoprotektor lain dengan adanya berbagai efek seperti antioksidan, mencegah penurunan glutathion, menjaga integritas membran sel, dan meningkatkan sintesis protein dalam hepatosit atau menurunkan pembentukan leukotrien, prostaglandin, dan TNF alfa oleh sel kupffer (Negi *et al.*, 2008). Hepatoprotektor dapat digunakan sebagai terapi untuk penyakit hati, suplemen untuk menjaga fungsi normal hati, serta terapi penunjang penyembuhan penyakit hati (Lelosutan, 2008).

### 2.3 *Artemisia vulgaris L.*

*Artemisia vulgaris L.* dikenal sebagai *mugworth* (Inggris), Baru cina (Melayu), Suket gajahan (Jawa Tengah). Dalam kajian ilmiah, klasifikasi *Artemisia vulgaris L.* sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Family	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Artemisia</i>
Spesies	: <i>vulgaris L.</i> (Cronquist, 1981).

### 2.3.1 Deskripsi Morfologi *Artemisia vulgaris* L.

Habitus *Artemisia vulgaris* L. berupa semak menahun, mempunyai rambut halus, tegak, dan berbau tajam. Batang berkayu, bulat, bercabang, dan putih susu. Daun tunggal, tersebar, menyirip, panjang 8-12 cm, lebar 6-8 cm, pertulangan menyirip, permukaan daun atas hijau, dan permukaan bawah keputih-putihan. Bunga merupakan bunga majemuk, kecil-kecil, warna kuning muda berbentuk bonggol tersusun dalam rangkaian berbentuk malai yang tumbuh menunduk, dan keluar dari ketiak daun. Ujung tangkai benang sari berwarna kuning, kepala putik bercabang dua, berwarna ungu kecoklatan. Buah kecil-kecil, berbentuk jarum, berwarna coklat, dan memiliki akar tunggang (Fitriani, 2008).



(a) Daun *Artemisia vulgaris* L.; (b) Bunga *Artemisia vulgaris* L.; (c) Akar *Artemisia vulgaris* L.

Gambar 2.2 Bagian tumbuhan *Artemisia vulgaris* L.

### 2.3.2 Kandungan dan Kegunaan secara Farmakologi

*Artemisia vulgaris* L. mengandung berbagai senyawa diantaranya adalah golongan flavonoid *eriodiciol* dan *luteolin*, turunan kumarin (*scoparone*), *pilisetilena*, *sesquiterpen*, *lakton*, dan berbagai kandungan minyak atsiri yang mudah menguap (Dangar, D. et al, 2013). Berbagai kandungan zat kimia yang dimiliki *Artemisia*

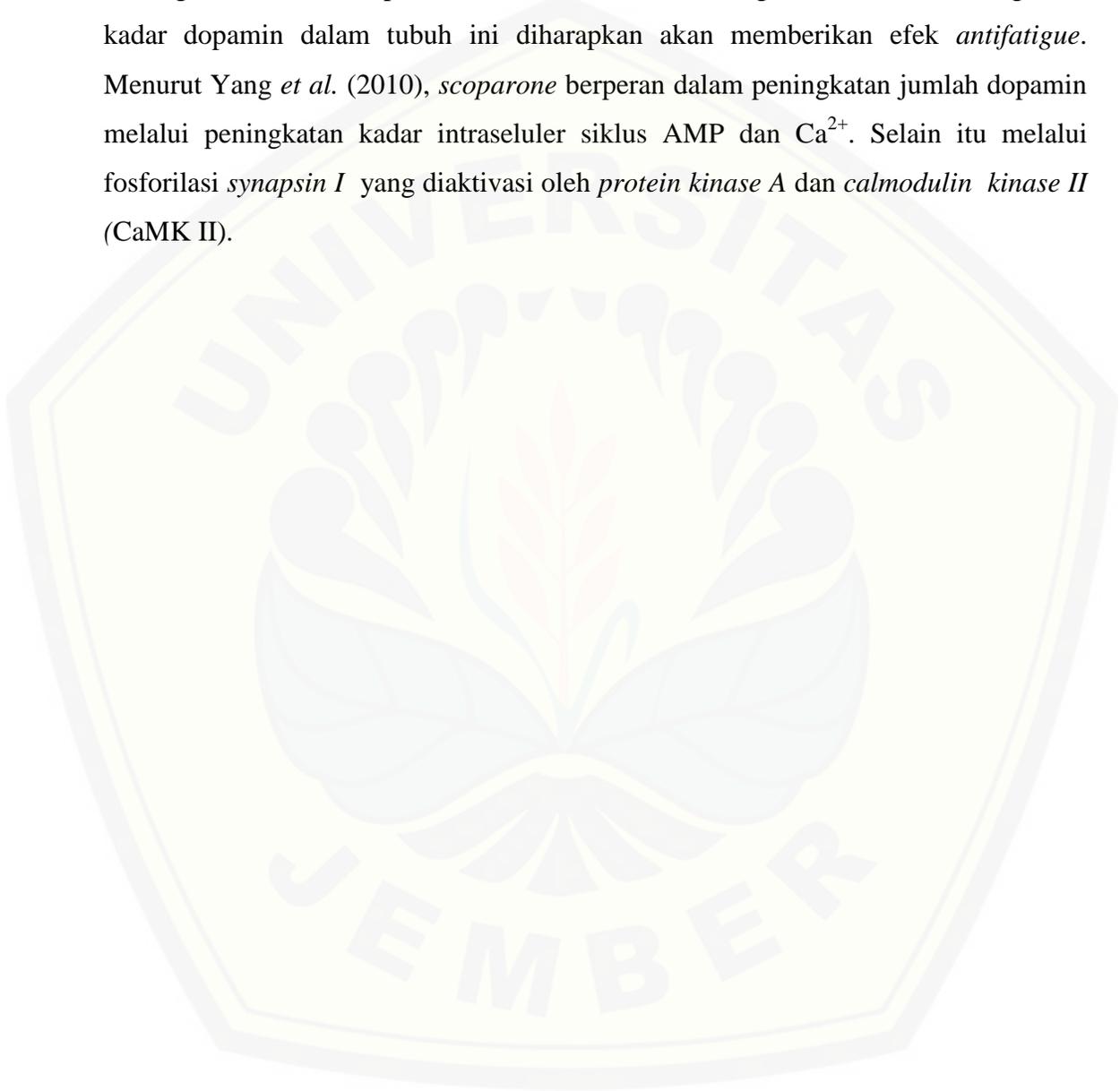
*vulgaris L* menghasilkan berbagai aktivitas farmakologis seperti antihiperkolesterolemia, antibakteri, dan antioksidan (El-Tantawy, 2015). Selain itu, *Artemisia vulgaris L.* sebagai tanaman obat tradisional juga digunakan untuk antihelmin, antiseptik, antispasmodik, dan berbagai penyakit termasuk hati (Duke *et al.*, 2002)

Penelitian terhadap *Artemisia vulgaris L.* menunjukkan aktivitas hepatoprotektor terhadap induksi *D-galactosamine* (D-GalN) dan *lipopolysaccharide* (LPS) pada mencit dengan dosis 150–600 mg/kg dapat menurunkan kadar ALT dan AST, fokal nekrosis, sel *swelling* serta jumlah sel apoptosis pada histopatologi sel hati (Gilani *et al.*, 2005). Penelitian lain juga menunjukkan aktivitas hepatoprotektor *Artemisia sp.* terhadap induksi karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) pada dosis 25 mg/kg dan 50 mg/kg (Wang *et al.*, 2012). Salah satu komponen fenolik *Artemisia vulgaris L.*, adalah *scoparone* yang merupakan turunan dari kumarin yang memiliki efek hepatoprotektif dalam melawan kerusakan hati pada tikus (Zhang *et al.*, 2013).

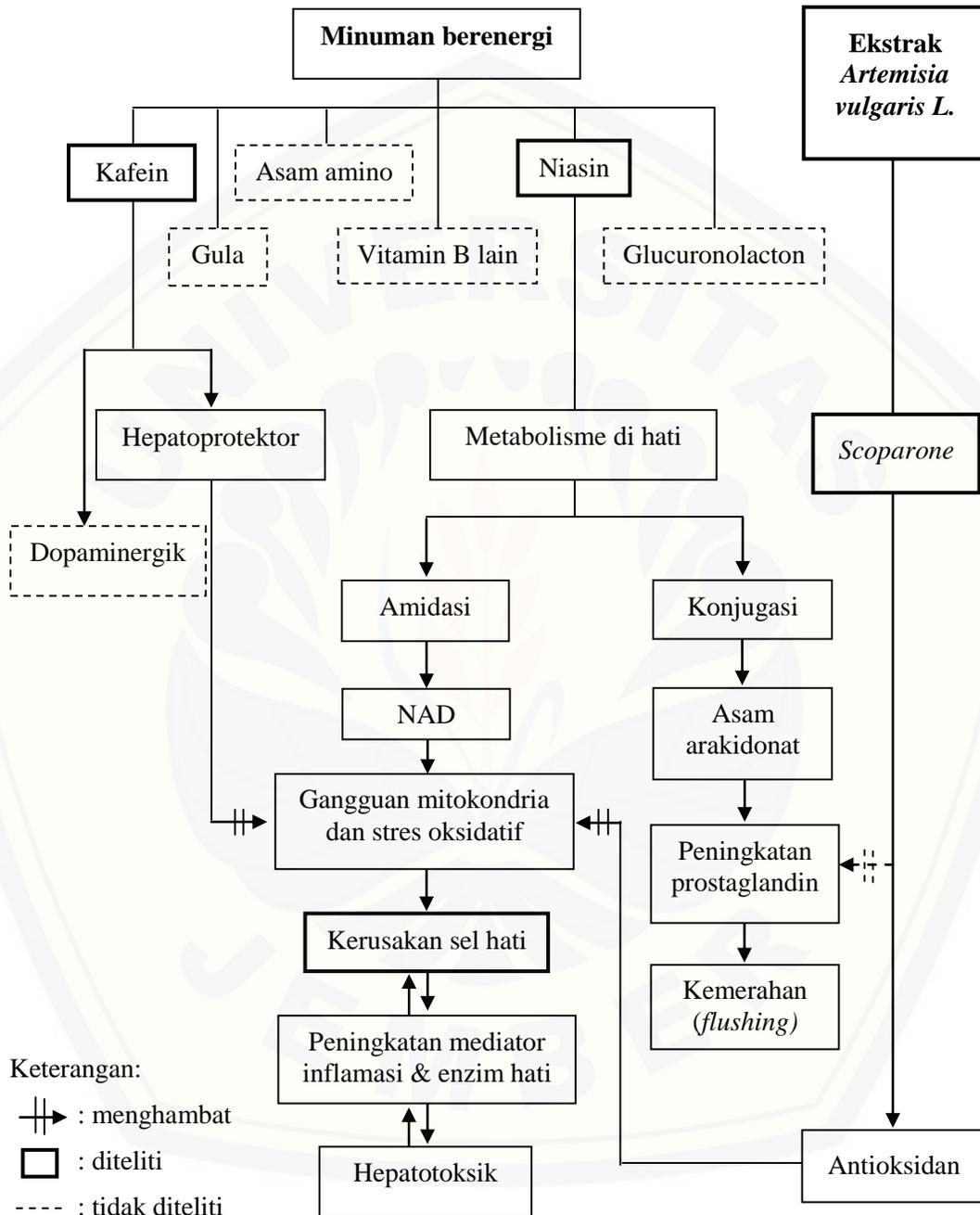
### 2.3.3 Scoparone

*Scoparone* adalah senyawa organik alami dengan rumus kimia *C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>*, berat molekul 206.1947 dengan nama IUPAC *6,7-dimethoxycoumarin* dan salah satu derivat kumarin yang merupakan metabolik mayor pada tanaman *Artemisia* (Choi *et al.*, 2013). Efek hepatoprotektor *scoparone* ini dihubungkan dengan berbagai hal seperti ekspresi regulasi dari enam protein, yaitu *Ig kappa* rantai C, seng-protein 407, protrombin, haptoglobin, *alpha-1-antitripsin*, dan *transthyretin*, sifat antioksidan dan kemampuan memberi sinyal transduksi, imunitas, produksi energi, dan proses metabolisme (Zhang *et al.*, 2013). Pada penelitian sebelumnya mengenai efek hepatoprotektor kumarin dan turunannya pada tikus yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) menunjukkan bahwa *scoparone* memiliki peran penting dalam mencegah stres oksidatif dengan menjaga membran sel dari kerusakan sel hati pada dosis 3,5 mg/hari (Atmaca *et al.*, 2011).

Selain sebagai hepatoprotektor, penelitian lain menunjukkan *scoparone* memiliki potensi sebagai dopaminergik (Yang, 2010). Sifat dopaminergik akan meningkatkan kadar dopamin dalam tubuh dan meningkatkan atensi. Peningkatan kadar dopamin dalam tubuh ini diharapkan akan memberikan efek *antifatigue*. Menurut Yang *et al.* (2010), *scoparone* berperan dalam peningkatan jumlah dopamin melalui peningkatan kadar intraseluler siklus AMP dan  $Ca^{2+}$ . Selain itu melalui fosforilasi *synapsin I* yang diaktivasi oleh *protein kinase A* dan *calmodulin kinase II* (CaMK II).



2.4 Kerangka Konseptual



Gambar 2.3 Skema kerangka konseptual penelitian

Kandungan minuman berenergi antara lain adalah kafein, gula sederhana, maltodekstrin, asam amino (taurin, karnitin, kreatin), vitamin B kompleks (niasin, asam pantotenat, piridoksin, riboflavin, inositol, dan kobalamin), dan *glucuronolactone* (Khayyat *et al.*, 2012; Forbes *et al.*, 2007). Beberapa laporan kasus hepatotoksik akibat mengonsumsi minuman berenergi berlebihan disinyalir disebabkan oleh niasin yang memiliki mekanisme hepatotoksik. Kandungan kafein dalam minuman berenergi sebenarnya memiliki efek hepatoprotektor pada sel-sel hati, mengurangi fibrosis atau inflamasi, dan menurunkan kadar alanin transferase amino (ALT) tetapi dengan adanya kasus hepatitis akibat niasin, mengisyaratkan bahwa efek hepatoprotektor kafein masih kurang poten dalam menangkal efek hepatotoksik niasin.

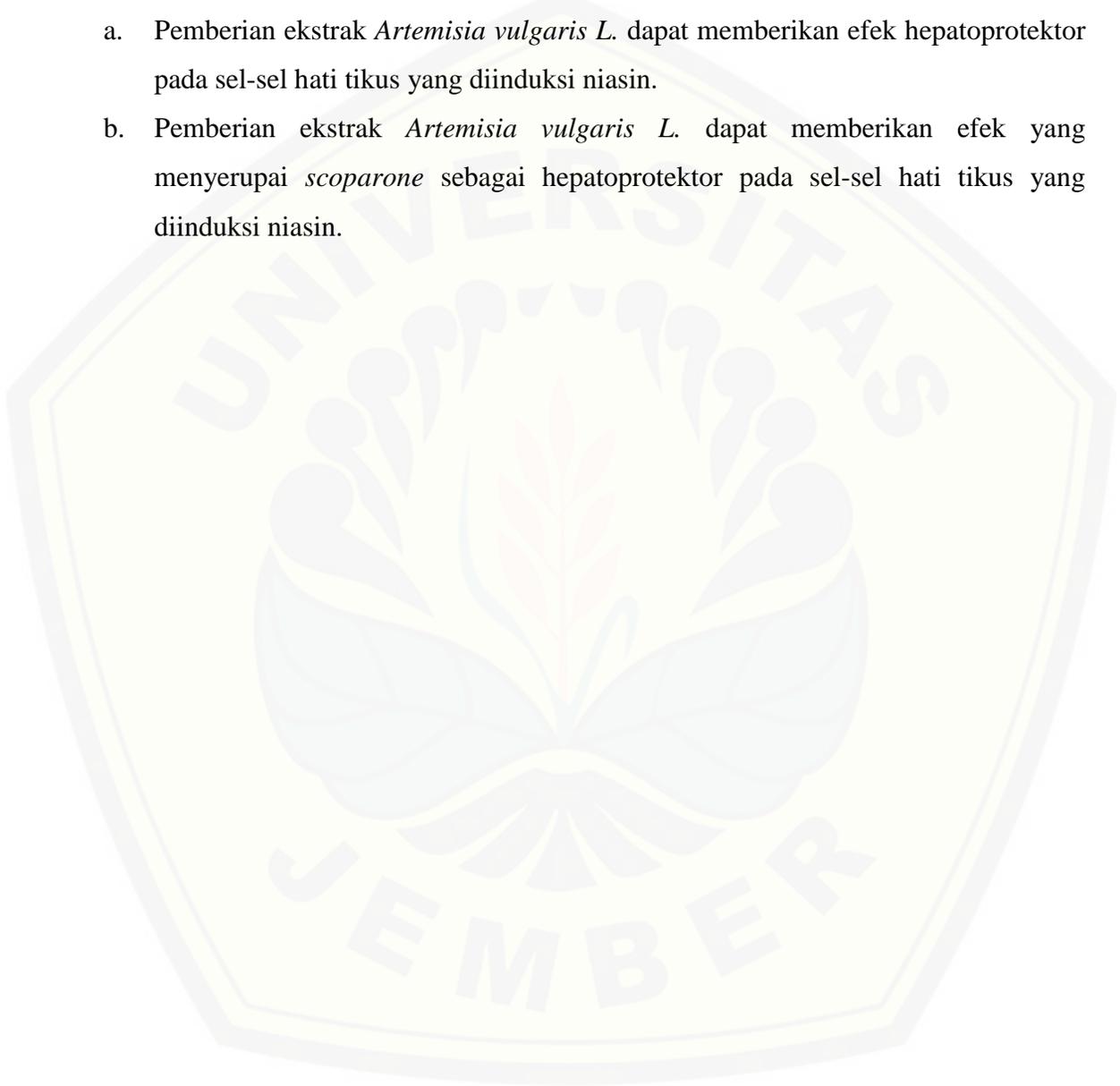
Mekanisme hepatotoksik niasin terutama *nicotinamide* yang lebih banyak digunakan pada minuman berenergi yang beredar di pasaran dimetabolisme melalui jalur amidasi (non konjugasi). Dalam jalur amidasi, niasin akan mengalami oksidasi dan reduksi. Salah satu produknya adalah *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD). NAD mengganggu fungsi mitokondria dengan cara menghambat  $\beta$  oksidasi dan mengakibatkan stres oksidatif. Gangguan pada mitokondria akan mengakibatkan kegagalan produksi *Adenosine Triphosphat* (ATP) pada hepatosit, apoptosis atau nekrosis yang bermanifestasi kenaikan enzim aminotransferase dan perubahan histopatologi sel-sel hati (Mackay *et al.*, 2012).

Untuk mencegah kerusakan sel-sel hati tersebut, peneliti memberikan ekstrak *Artemisia vulgaris* yang memiliki komponen fenolik, yaitu *scoparone* yang merupakan turunan kumarin (Zhang *et al.*, 2013). Mekanisme hepatoprotektor *scoparone* melalui sifat antioksidan yang dapat menjaga integritas membran sel termasuk mitokondria, meningkatkan sintesis protein dalam hepatosit, memberi sinyal transduksi serta imunitas pada sel-sel hati.

## 2.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Pemberian ekstrak *Artemisia vulgaris L.* dapat memberikan efek hepatoprotektor pada sel-sel hati tikus yang diinduksi niasin.
- b. Pemberian ekstrak *Artemisia vulgaris L.* dapat memberikan efek yang menyerupai *scoparone* sebagai hepatoprotektor pada sel-sel hati tikus yang diinduksi niasin.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories* secara *in vivo*. Penelitian ini bertujuan mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat dari adanya perlakuan tertentu.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan ekstraksi dilakukan di Laboratorium CDAST Universitas Jember. Pembuatan sediaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr. Soebandi Jember. Pengamatan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran dan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian ini dimulai pada bulan April hingga bulan November 2015.

### 3.3 Populasi dan Sampel

#### 3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tikus Wistar albino jantan.

#### 3.3.2 Besar Sampel

Pada penelitian ini dilakukan pengulangan pada tiap kelompok untuk mencegah adanya bias. Penghitungan besarnya pengulangan dapat dihitung dengan menggunakan rumus Federer, yaitu:

$$(n - 1)(p - 1) > 15, \text{ keterangan:}$$

n: jumlah sampel tiap kelompok penelitian

p: jumlah kelompok penelitian

jika,  $p = 5$

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

$$n-1 \geq 15/4$$

$$n-1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

Menurut rumus di atas besar sampel dalam satu kelompok minimal yang harus dipenuhi adalah 4,75. Jika dibulatkan ke atas menjadi minimal 5 ekor tikus masing-masing kelompok sehingga jumlah total yang digunakan adalah 25 ekor.

### 3.4 Definisi Operasional

#### 3.4.1 Ekstrak *Artemisia vulgaris*

Ekstrak *Artemisia vulgaris* adalah ekstrak dari daun dan batang *Artemisia vulgaris* yang didapatkan dari Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan. Daun dan batang dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai mendapatkan bahan kering dan dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10 gram simplisia dilarutkan dalam 100 ml etanol 96%. Selanjutnya etanol diuapkan dengan *rotavapour* sehingga didapatkan ekstrak kental yang siap dijadikan larutan dengan dilarutkan dalam CMC Na 100 ml.

#### 3.4.2 Larutan *Scoparone*

Larutan *scoparone* adalah larutan yang dibuat dari sediaan bubuk *scoparone* PA yang didapatkan dari *Sigma Aldrich* dengan pembuatan larutan menggunakan dosis 3,5 mg/ 200 gram BB (Atmaca *et al.*, 2011) dengan cara menimbang 175 mg *scoparone* dilarutkan dalam CMC Na 100 ml.

#### 3.4.3 Larutan Kafein dan Niasin

a. Larutan kafein adalah larutan yang dibuat dari sediaan bubuk kafein yang

didapatkan dari Makmur sejati, Jember. Pembuatan dosis larutan berdasarkan hasil uji pendahuluan, yaitu menimbang 90 mg kafein dilarutkan dalam 100 ml CMC Na.

- b. Larutan niasin adalah larutan yang dibuat dari sediaan bubuk niasin yang didapatkan dari Brataco, Surabaya. Pembuatan dosis larutan berdasarkan hasil uji pendahuluan yaitu dilakukan dengan menimbang 1620 mg niasin dan dilarutkan dalam 100 ml CMC Na.

#### 3.4.4 Gambaran Histopatologi Hati Tikus

Pengamatan gambaran histopatologi hati tikus dilakukan secara umum yang meliputi ada atau tidaknya respons dari sel inflamatori, sitoplasma keruh/ granula meningkat, pembengkakan sel (*blebbing*), vakuola lemak pada sitoplasma (*microvesicular* atau *macrovesicular*), inti sel terdesak ke tepi, ada atau tidak tanda kematian sel yaitu nekrosis (inti piknotik (memadat), fragmentasi inti sel serta hilangnya inti), dan/ tanda apoptosis pada zona 1, 2, dan 3 sistem asinus. Zona 1 adalah daerah elipsoid yang mengelilingi arteriol hepatica dan venul porta terminal, zona 2 adalah daerah antara zona 1 dan 3, sementara zona 3 adalah daerah elipsoid dekat vena sentralis.

Untuk membedakan tingkat kerusakan sel hati antara satu tikus dengan tikus lainnya, peneliti mengklasifikasikan sesuai metode Dewi (2006) yang dimodifikasi menjadi tujuh kategori berdasarkan persentase rata-rata sel hati yang mengalami degenerasi dan nekrosis serta ada tidaknya aktivitas pertahanan sel, yaitu:

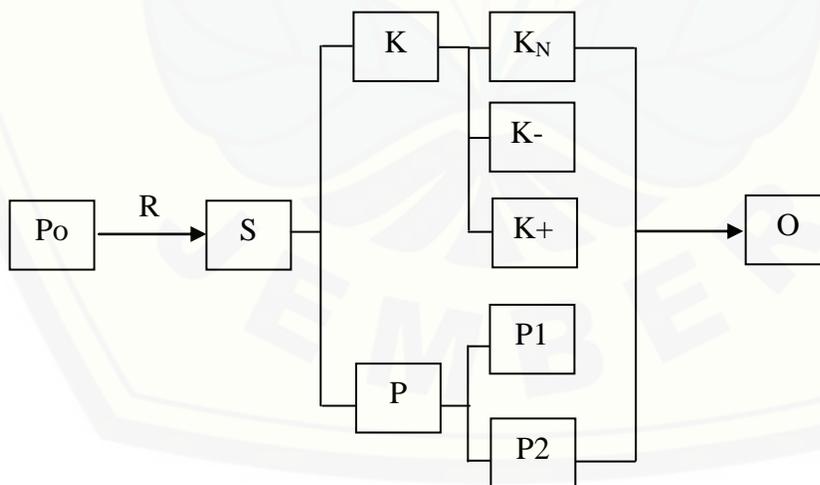
- (0) = sel-sel hati normal (tidak terjadi kerusakan sel).
- (1) = perubahan struktur ringan (< 25% sel-sel hati mengalami degenerasi) dan ada aktivitas respons pertahanan sel.
- (2) = perubahan struktur ringan (< 25% sel-sel hati mengalami degenerasi) dan tanpa aktivitas respons pertahanan sel.
- (3) = perubahan struktur ringan (< 25% sel-sel hati mengalami degenerasi) dan ada aktivitas respons pertahanan sel.

- (4) = perubahan struktur sedang (25- 50% sel-sel hati mengalami degenerasi) dan tanpa aktivitas respons pertahanan sel.
- (5) = perubahan struktur berat (>50% sel-sel hati mengalami degenerasi dan nekrosis) dan ada aktivitas respons pertahanan sel.
- (6) = perubahan struktur berat (>50% sel-sel hati mengalami degenerasi dan nekrosis) dan tanpa aktivitas respons pertahanan sel.

Perbesaran yang digunakan adalah perbesaran 100 kali untuk menentukan persentase rata-rata sel hati yang mengalami degenerasi dan nekrosis dari tiga lapangan pandang, perbesaran 400 kali digunakan untuk mengamati ciri-ciri sel yang mengalami degenerasi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang secara detail. Pengamatan saat penelitian menggunakan mikroskop Olympus. Data hasil pengamatan berdasarkan tingkat kerusakan sel hati dianalisis secara statistik.

### 3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post Test Only Control Group Design* (Pratiknyo, 2000). Rancangan penelitian sebagai berikut.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

**Keterangan:**

- Po = Populasi tikus wistar jantan
- R = Randomisasi sampel
- S = Sampel
- K = Kontrol
- P = Perlakuan
- K<sub>N</sub> = Kelompok kontrol tanpa perlakuan (hanya diberi *CMC Na*)
- K - = Kelompok kontrol yang diberi niasin 32,4 mg/ 200 gram BB + kafein 1,8 mg/ 200 gram BB
- K+ = Kelompok kontrol yang diberi niasin 32,4 mg/ 200 gram BB + kafein 1,8 mg/ 200 gram BB serta *scoparone* dosis 3,5 mg/200 gram BB
- P1 = Kelompok perlakuan 1 yang diberi niasin 32,4 mg/200 gram BB + kafein 1,8 mg/200 gram BB serta ekstrak *Artemisia vulgaris L.* 5 mg/200 gram BB
- P2 = Kelompok perlakuan 2 yang diberi niasin 32,4 mg/200 gram BB + kafein 1,8 mg/200 gram BB serta ekstrak *Artemisia vulgaris L.* 10 mg/200gram BB
- O = Observasi gambaran histopatologi hati tikus wistar jantan

**3.6 Variabel Penelitian****3.6.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah.

- Pemberian *scoparone* dan ekstrak *Artemisia vulgaris L.* sesuai alur penelitian.
- Pemberian kafein.
- Pemberian niasin.

**3.6.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi hati tikus wistar.

### 3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah.

- a. Jenis dan pemeliharaan hewan coba.
- b. Dosis dan frekuensi pemberian perlakuan pada tikus.
- c. Lama perlakuan tikus.
- d. Pengamatan gambaran histopatologi hati tikus.

### 3.7 Bahan dan Alat Uji yang Digunakan

Pada penelitian ini alat dan bahan yang dibutuhkan dalam proses ekstraksi adalah maserator, gelas beker, kertas saring, aluminium foil, *rotary evaporator*, timbangan, dan etanol 96%. Alat dan bahan yang dibutuhkan untuk uji *in vivo* adalah tikus jantan galur wistar, larutan kafein dan niasin dosis toksik, larutan *scoparone*, larutan ekstrak *Artemisia vulgaris L*, CMC Na, sonde, kandang, minuman, dan makanan pelet. Pembuatan dan pemeriksaan histopatologi hati menggunakan metode Harris dengan pewarna Hematoksin Eosin (*H.E.*), NaCl 0,9 %, formalin 10%, dan mikroskop Olympus.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Pemilihan Sampel Tikus

Sampel penelitian adalah tikus strain wistar jantan berbulu putih, sehat, bergerak aktif, tingkah laku normal, dan berumur 2-3 bulan dengan berat 100-200 gram.

#### 3.8.2 Persiapan Sampel Tikus

Tikus diadaptasikan selama tujuh hari sebelum diberi perlakuan. Tikus dikelompokkan secara acak sesuai pengelompokan pada alur penelitian dengan setiap satu kelompok dibagi menjadi dua kandang kemudian diberi pakan standar dan minum *ad libitum* serta ditimbang berat badan.

### 3.8.3 Proses Ekstraksi

Tumbuhan *Artemisia vulgaris* L didapatkan dari Kebun Raya Purwodadi Pasuruan. Sortasi dilakukan pada *Artemisia vulgaris* L dan dilakukan pemisahan daun, batang, dan akar kemudian bagian daun dan batang dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai mendapatkan bahan kering dengan kandungan air kurang dari 4%. Pembuatan simplisia tumbuhan *Artemisia vulgaris* L. bagian tumbuhan diperkecil ukuran partikelnya menggunakan blender. Proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10 gram simplisia dilarutkan dalam 100 ml etanol 96%. Perendaman simplisia dilakukan selama 1 jam kemudian disaring menggunakan pompa vakum. Etanol diuapkan dengan *rotavapour* sehingga didapatkan ekstrak pekat.

### 3.8.4 Penentuan Dosis

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis niasin, kafein, *scoparone*, dan ekstrak *Artemisia vulgaris*. Penentuan dosis berdasarkan penelitian sebelumnya dan hasil uji pendahuluan untuk dosis niasin dan kafein. Berdasarkan penelitian sebelumnya, hewan coba diberi niasin dosis toksik 2 gram/hari sesuai dengan data dari Mackay (2012) lalu dilakukan penyesuaian untuk tikus menjadi 36 mg/200 gram BB. Pemberian dosis kafein berdasarkan kadar rata-rata kafein pada tiap botol minuman berenergi, yaitu 1-2 mg/kgBB lalu dilakukan penyesuaian untuk tikus dan merujuk penelitian sebelumnya mengenai potensi kafein sebagai hepatoprotektor pada dosis 1,7-5 mg/tikus/hari (Furtado *et al.*, 2012). Hal ini menjadi dasar untuk penentuan dosis niasin dan kafein pada uji pendahuluan. Dari hasil uji pendahuluan didapatkan dosis yang digunakan untuk uji perlakuan pada tikus adalah dosis awal dikurangi 10%, yaitu 32,4 mg/ 200 gram BB untuk dosis niasin dan 1,8 mg/ 200 gram BB untuk dosis kafein. Dosis *scoparone* 3,5 mg/tikus/hari diberikan mengikuti penelitian yang dilakukan oleh Atmaca *et al.* (2011). Dosis ekstrak *Artemisia vulgaris* berdasarkan penelitian *Artemisia sp.* yang menunjukkan aktivitas hepatoprotektor terhadap induksi karbon *tetraclorida* (CCl<sub>4</sub>) pada tikus adalah dosis

25 mg/kg dan 50 mg/kg (Wang *et al.*, 2012). Sehingga dosis ekstrak *Artemisia vulgaris* yang dipakai adalah 5 mg/200 gram BB dan 10 mg/200 gram BB.

#### 3.8.5 Pembuatan Sediaan Uji

Pembuatan larutan kafein dan niasin dilakukan dengan menimbang 1620 mg niasin dan 90 mg kafein dilarutkan dalam 100 ml CMC Na. Pembuatan larutan *scoparone* dengan dosis 3,5 mg/ 200 gram BB dengan cara menimbang 175 mg *scoparone* dilarutkan dalam CMC Na 100 ml. Pembuatan larutan ekstrak dengan dosis 5 mg/ 200 gram BB dengan menimbang 250 mg ekstrak disuspensikan dalam 100 ml CMC Na. Pembuatan larutan ekstrak dengan dosis 10 mg/ 200 gram BB dengan cara menimbang 500 mg ekstrak dilarutkan dalam 100 ml CMC Na.

#### 3.8.6 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Histopatologi

Organ hati yang telah diambil kemudian dicuci dengan NaCl 0,9% selanjutnya dimasukkan larutan formalin 10%. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr. Soebandi. Sediaan ini menggunakan pewarnaan Hematoksin Eosin (*H.E.*).

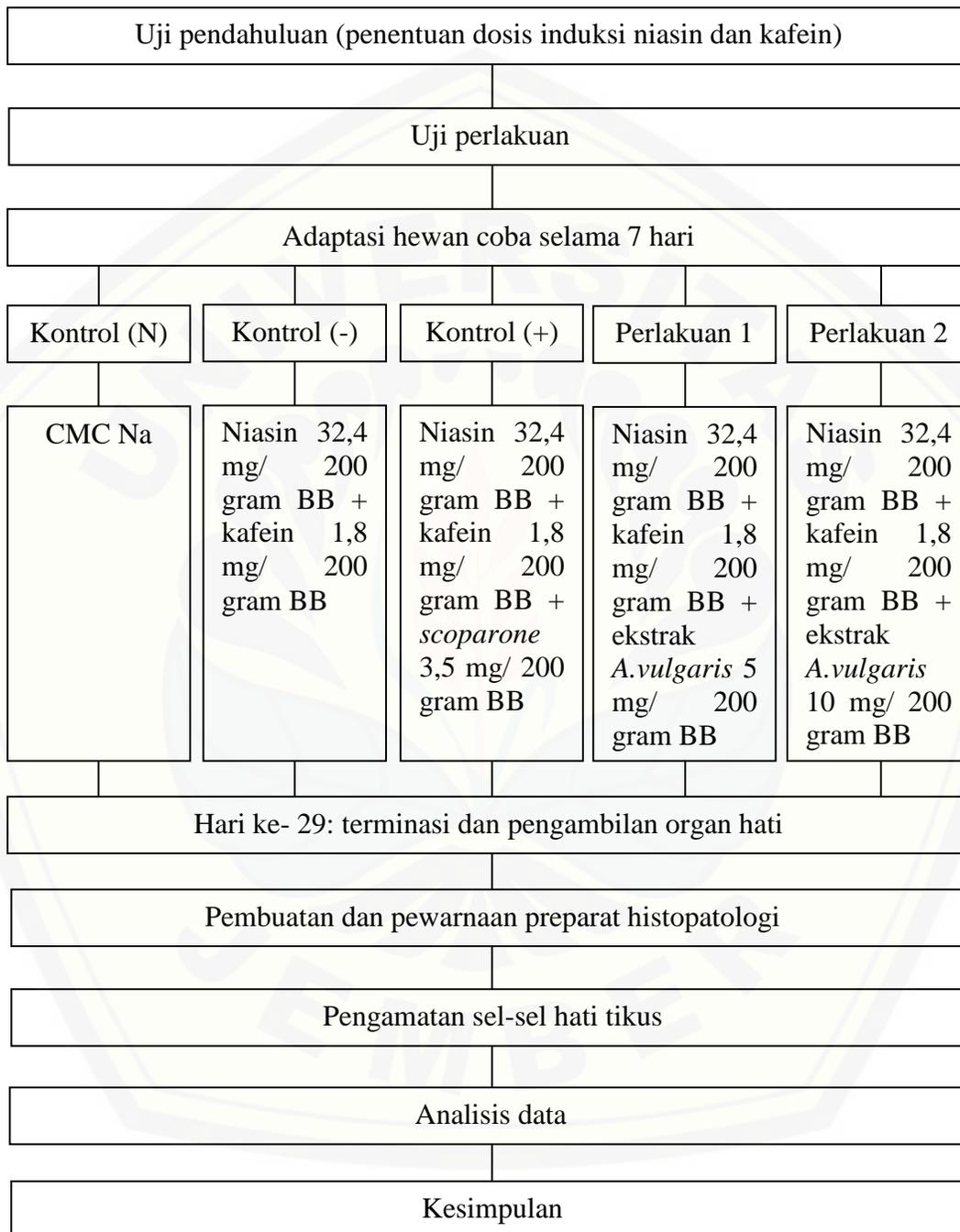
#### 3.8.7 Pengamatan Preparat Histopatologi Hati Tikus

Pengamatan awal gambaran hati tikus secara histopatologi dilihat secara umum yang meliputi ada atau tidak respons dari sel inflamatori, sitoplasma keruh/ granula meningkat, pembengkakan sel (*blebbing*), vakuola lemak pada sitoplasma (*microvesicular* atau *macrovesicular*), inti sel terdesak ke tepi, ada atau tidak tanda kematian sel yaitu nekrosis (inti piknotik (memadat), fragmentasi inti sel serta hilangnya inti), dan/ tanda apoptosis pada zona 1, 2, dan 3 sistem asinus. Kemudian dilakukan metode semikuantitatif sehingga didapatkan data evaluasi ringan, sedang, berat, dan dibedakan ada atau tidak aktivitas sel-sel inflamatori, yang selanjutnya akan dianalisis menggunakan statistik.

### 3.9 Analisis Data

Data yang diambil meliputi gambaran histopatologi hati tikus yang akan disajikan dalam grafik dan dikategorikan berdasarkan tingkat kerusakan kemudian diolah melalui analisis statistik. Data hasil pengamatan gambaran sel-sel hati tikus merupakan data dengan skala ordinal. Untuk mengetahui perbedaan kerusakan sel-sel hati yang bermakna pada setiap kelompok penelitian digunakan uji *Kruskal Wallis*. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan *Mann Whitney* untuk menarik kesimpulan antar kelompok yang mempunyai perbedaan. Hasil uji bermakna apabila didapatkan  $p < 0,05$  dengan tingkat kepercayaan 95% (Dahlan, 2009).

**3.10 Alur Penelitian**



Gambar 3.2 Alur penelitian