



**PERBEDAAN EKSPRESI TNF- α DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS WISTAR YANG
DIINDUKSI CCl₄ SETELAH PEMBERIAN
EKSTRAK AKAR DANDELION**

SKRIPSI

Oleh

**Nourma Sabila
NIM 142010101046**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**PERBEDAAN EKSPRESI TNF- α DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS WISTAR YANG
DIINDUKSI CCl₄ SETELAH PEMBERIAN
EKSTRAK AKAR DANDELION**

SKRIPSI

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

oleh

Nourma Sabila
NIM 142010101046

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan menyebut nama Allah SWT. Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita menuju jalan yang terang di muka bumi ini.

Dengan segala ketulusan, skripsi ini saya persembahkan untuk.

1. Kedua orang tua saya, Abdul Majid dan Nur Heida yang tercinta.
2. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
3. Almater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Barang siapa menempuh jalan untuk mencari ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan ke surga (H.R Muslim)



Nawawi, I., I. Daqiqil 'id, As-Sa'di, Al-Utsaimin., dan S. Al-Huwaithi. 2006. *Al-Arba'in An-Nawawiyah*. Mesir: Markaz Fajr. A. Syaikhu. 2006. *Syarah Arbain An-Nawawi*. Jakarta: Darul Haq.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Nourma Sabila

NIM : 142010101046

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Perbedaan Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar yang Diinduksi CCl₄ setelah Pemberian Ekstrak Akar Dandelion” 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, 5 Maret 2018

Yang menyatakan,

Nourma Sabila

NIM 142010101046

SKRIPSI

**PERBEDAAN EKSPRESI TNF- α DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS WISTAR YANG
DIINDUKSI CCl₄ SETELAH PEMBERIAN
EKSTRAK AKAR DANDELION**

Oleh

Nourma Sabila
NIM 142010101046

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Perbedaan Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar yang Diinduksi CCl₄ setelah Pemberian Ekstrak Akar Dandelion” karya Nourma Sabila telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 5 Maret 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D.
NIP 19690901 199903 1 003

dr. Edy Junaidi, M.Sc., Sp.M.
NIP 19750801 200812 2 003

Anggota II,

Anggota III,

Dr.rer.biol.hum.dr.Erma Sulistyaningsih,
M.Si.
NIP 19770222 200212 2 001

dr. Heni Fatmawati, M.Kes.,Sp.Rad.
NIP 19760212 200501 2 001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Enny Suswati, M.Kes.
NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Perbedaan Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar yang Diinduksi CCl₄ setelah Pemberian Ekstrak Akar Dandelion;
Nourma Sabila, 142010101046; 2018: 101 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penelitian oleh LiverTox menunjukkan bahwa dari 671 obat-obatan yang tersedia, 353 (53%) diantaranya berpotensi hepatotoksik. Berbagai survei di dunia terhadap insidens *drug-induced liver injury* (DILI) dilaporkan sebesar 1:10.000 sampai 1:100.000 pasien. CCl₄ dimetabolisme oleh sitokrom P-450 di hepatosit menjadi radikal bebas triklorometil (CCl₃•) dan triklorometilperoksi (CCl₃O₂•). Produksi radikal bebas yang melebihi kapasitas tubuh menetralkannya menimbulkan keadaan stres oksidatif yang berakhir pada kerusakan selular. CCl₄ dapat meningkatkan kadar TNF- α secara bermakna dalam jaringan hepar hingga 1,5 kali dibandingkan kelompok normal. TNF- α bekerja terhadap induksi inflamasi akut dan menginduksi apoptosis pada banyak sel. Rangkaian proses tersebut dapat dicegah melalui pemberian antioksidan. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ekstrak Dandelion (*Taraxacum officinale*) memiliki aktivitas antioksidan yang berasal dari senyawa aktif fenol yang dikandungnya. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menganalisa perbedaan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar tikus Wistar yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion.

Jenis penelitian ini yaitu *true experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group design*. Sejumlah 30 ekor tikus Wistar dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu dua kelompok kontrol K_(N) dan K₍₋₎, serta empat kelompok perlakuan P_A, P_B, P_C, dan P_D, yang diberi ekstrak akar Dandelion dengan dosis berturut-turut 250, 500, 750, 1000 mg/kgBB. Dalam dua minggu pertama, kelompok perlakuan diberi ekstrak Dandelion p.o setiap hari, sedangkan kelompok kontrol diberi plasebo. Pada hari ke-15, semua kelompok, kecuali K_(N), diinjeksi CCl₄ dosis 5,8 mg/kgBB i.p. Setelah 1 x 24 jam, hewan coba diterminasi

dan dipreparasi dengan metode Imunohistokimia untuk pemeriksaan ekspresi TNF- α , dan pengecatan Hematoksilin-Eosin untuk pemeriksaan gambaran histopatologi hepar. Ekspresi TNF- α dianalisa menggunakan *software* ImageJ, sedangkan gambaran histopatologi hepar dianalisa berdasarkan skor *Manja Roenigk*.

Data penelitian yang diperoleh berupa rata-rata ekspresi TNF- α dan rata-rata skor histologi hepatosit. Hasil uji *One Way Anova* terhadap ekspresi TNF- α menunjukkan nilai $p=0,609$ ($p>0,05$), artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik pada minimal dua kelompok. Sedangkan hasil uji *One Way Anova* terhadap gambaran histopatologi hepar menunjukkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada minimal dua kelompok.

Dapat diambil kesimpulan bahwa tidak terdapat perbedaan ekspresi TNF- α tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*), tetapi ditemukan perbedaan terhadap gambaran histopatologi heparnya.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbedaan Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar yang Diinduksi CCl₄ setelah Pemberian Ekstrak Akar Dandelion”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. Dr.rer.biol.hum.dr. Erma Sulistyaningsih, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad., selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatiannya dalam proses penyusunan skripsi ini;
2. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Orang tua saya tercinta, Abdul Majid, dan Nur Heida, yang telah memberikan dorongan dan doa demi terselesaikannya skripsi ini;
4. Teman-teman saya, Sheillavi, Fadiah, Rudy, Amir, Mega, Azka, Ain, Ferry, Arifah, Asyifa, yang turut membantu proses penyusunan skripsi ini;
5. Sahabat-sahabat saya, Kesy, Nathania, Neny, Aminatuz, Yantrid, Mirza, Emeraldal, Lirih, Mira, Tria, Ema, Elita, Fairuza, Esty, Trinita, Nihayah, Putri, Mulyani, Anggi, M. Kamil, Ival, Usaamah, Iwan, Pradiar, Nastiti, yang selalu memberikan semangat dan motivasi;
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, Maret 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Hepar	5
2.1.1 Struktur Histologi Hepar	5
2.1.2 Fisiologi Hepar	10
2.2 Radikal Bebas	11
2.2.1 Zat Hepatotoksik CCl ₄	12
2.3 Jejas Hepatosit akibat CCl₄	12
2.4 Respon Radang	16
2.4.1 Sitokin	19
2.4.2 Sitokin TNF- α	20
2.5 <i>Taraxacum officinale</i>	21
2.5.1 Taksonomi <i>Taraxacum officinale</i>	21
2.5.2 Morfologi <i>Taraxacum officinale</i>	22
2.5.3 Sejarah dan Penggunaan Tradisional <i>Taraxacum officinale</i>	23
2.5.4 Kandungan Kimia Akar <i>Taraxacum officinale</i>	23
2.5.5 Aktivitas Antioksidan <i>Taraxacum officinale</i>	24
2.5.6 Toksisitas <i>Taraxacum officinale</i>	25
2.6 Kerangka Konseptual	26
2.7 Hipotesis Penelitian	27
BAB 3. METODE PENELITIAN	28
3.1 Jenis Penelitian	28
3.2 Rancangan Penelitian	28

3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	29
3.3.1	Populasi	29
3.3.2	Sampel	29
3.3.3	Jumlah Sampel	29
3.4	Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.5	Variabel Penelitian	30
3.5.1	Variabel Bebas	30
3.5.2	Variabel Terikat	30
3.5.3	Variabel Terkendali	30
3.6	Definisi Operasional	31
3.6.1	Ekstrak Akar <i>Taraxacum officinale</i>	31
3.6.2	Ekspresi TNF- α	31
3.6.3	Gambaran Histopatologi Hepar	32
3.7	Alat dan Bahan	33
3.7.1	Alat	33
3.7.2	Bahan	34
3.8	Prosedur Penelitian	34
3.8.1	Uji Kelayakan Etik	34
3.8.2	Determinasi <i>Taraxacum officinale</i>	34
3.8.3	Pemeliharaan Hewan Coba	35
3.8.4	Pembuatan dan Induksi Ekstrak Akar <i>Taraxacum officinale</i>	35
3.8.5	Pembuatan dan Pemberian CCl ₄	36
3.8.6	Terminasi Hewan Coba	36
3.8.7	Pengecatan Imunohistokimia	37
3.8.8	Pengecatan Hematoksin-Eosin.....	37
3.8.9	Pengamatan Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Hepar	38
3.9	Analisis Data	38
3.10	Alur Penelitian	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		40
4.1	Hasil	40
4.1.1	Ekspresi TNF- α	40
4.1.2	Gambaran Histopatologi Hepar	43
4.2	Pembahasan	48
4.2.1	Ekspresi TNF- α	48
4.2.2	Gambaran Histopatologi Hepar	49
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN		52
5.1	Kesimpulan	52
5.2	Saran	52
DAFTAR PUSTAKA		53
LAMPIRAN		57

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Skor intensitas warna	32
3.2 Skor histologi hepatosit modifikasi <i>Manja Roenigk</i>	33
4.1 Hasil uji normalitas <i>Saphiro-Wilks</i> ekspresi TNF- α	42
4.2 Hasil uji homogenitas <i>Levene's Test</i> ekspresi TNF- α	42
4.3 Hasil uji <i>One Way Anova</i> ekspresi TNF- α	43
4.4 Konversi skor histologi hepatosit	45
4.5 Hasil uji normalitas <i>Saphiro-Wilks</i> skor hepatosit	46
4.6 Hasil uji homogenitas <i>Levene's Test</i> skor hepatosit	46
4.7 Hasil uji <i>One Way Anova</i> skor hepatosit	46
4.8 Hasil uji <i>Post Hoc</i> LSD skor hepatosit	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Posisi hepar pada pola organisasi 9 regio	5
2.2 Susunan pembuluh darah dalam suatu lobulus hepar	6
2.3 Gambaran skematik aliran darah hepar	7
2.4 Arsitektur mikroskopik parenkim hepar	8
2.5 Struktur dasar lobulus hepar	9
2.6 Pembentukan, pembuangan, dan peran ROS pada jejas sel	14
2.7 Sumber dan akibat peningkatan kalsium sitosolik pada jejas sel	15
2.8 Mekanisme migrasi leukosit melalui pembuluh darah	18
2.9 <i>Taraxacum officinale</i>	22
2.10 Diagram kerangka konseptual	26
3.1 Rancangan penelitian	28
3.2 Skema alur penelitian	39
4.1 Sediaan hepar dengan pengecatan imunohistokimia pada perbesaran 400 kali	41
4.2 <i>Box whisker plot</i> ekspresi TNF- α	42
4.3 Sediaan hepar dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin pada perbesaran 400 kali	44
4.4 <i>Box whisker plot</i> skor hepatosit	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Analisis Jumlah Sampel dengan <i>Software</i> G*Power.....	57
3.2 Analisis Persentase Area dengan <i>Software</i> ImageJ	58
3.3 Etik Penelitian	62
3.4 Hasil Identifikasi Tumbuhan	64
4.1 Ekstraksi	67
4.2 Pengamatan Skor Hepatosit	68
4.3 Tabel Rata-Rata Ekspresi TNF- α berdasarkan Analisis <i>Software</i> ImageJ	69
4.4 Hasil Uji Statistik Ekspresi TNF- α	73
4.5 Tabel Konversi Data Derajat Kerusakan Hepatosit	76
4.6 Tabel Rata-Rata Skor Hepatosit	77
4.7 Hasil Uji Statistik Skor Hepatosit.....	80
4.8 Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	84

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penelitian oleh LiverTox menunjukkan bahwa dari 671 obat-obatan yang tersedia, 353 (53%) diantaranya dinyatakan berpotensi hepatotoksik (Bjornsson, 2016:2). Sebuah survei oleh *Acute Liver Failure Study Group* (ALFSG) yang dilakukan pada pasien rawat inap di 17 rumah sakit di Amerika Serikat menunjukkan bahwa lebih dari 50% kasus gagal hepar akut disebabkan oleh obat-obat yang diresepkan (Cahaya & Safitri, 2014:18). Berbagai survei di dunia terhadap jejas hepar imbas obat (*drug-induced liver injury*, DILI) dilaporkan sebesar 1:10.000 sampai 1:100.000 pasien. Meskipun relatif rendah, insidens DILI yang sebenarnya sulit diketahui. Jumlah aktual dapat jauh lebih besar karena sistem pelaporan yang belum memadai, kesulitan mendeteksi dan kurangnya observasi pasien-pasien yang mengalami DILI (Loho & Hasan, 2014:167).

Hepatotoksisitas akibat obat secara umum dibagi menjadi dua kategori besar, yaitu hepatotoksisitas idiosinkratik (disebut juga hepatotoksisitas tidak dapat diprediksi) dan hepatotoksisitas intrinsik (disebut juga hepatotoksisitas dapat diprediksi). Contoh hepatotoksisitas idiosinkratik merupakan hepatotoksisitas yang disebabkan oleh obat-obat konvensional dan produk herbal yang menyebabkan hepatotoksisitas hanya pada sejumlah kecil resipien (1:10.000-1:100.000). Sebaliknya, hepatotoksisitas intrinsik adalah hepatotoksisitas akibat paparan terhadap zat kimia industri maupun lingkungan atau toksin, seperti karbon tetraklorida (CCl_4) (Loho & Hasan, 2014:167).

CCl_4 dimetabolisme oleh sitokrom P-450 2E1 di RE halus menjadi radikal bebas *triklorometil* ($\text{CCl}_3\bullet$) yang dapat berikatan kovalen dengan lemak, protein (Mahesh *et al.*, 2010:175), dan DNA (Lintong *et al.*, 2013:936). Triklorometil dapat bereaksi dengan cepat dengan oksigen (O_2) kemudian membentuk radikal bebas lainnya yang lebih reaktif, yaitu *triklorometilperoksi* ($\text{CCl}_3\text{O}_2\bullet$) (Panjaitan *et al.*, 2007:11). $\text{CCl}_3\text{O}_2\bullet$ menginisiasi reaksi peroksidase lemak, yang dapat menyerang asam lemak tak jenuh ganda, terutama fosfolipid. Hal tersebut mempengaruhi permeabilitas mitokondria, retikulum endoplasma, dan membran

plasma, yang berakhir pada kerusakan selular (Weber *et al.*, 2003:page). Produksi radikal bebas yang meningkat melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya menimbulkan keadaan yang disebut stres oksidatif yang berakhir pada kerusakan selular (Kumar *et al.*, 2013:14). Puspitasari (2015:11) menyebutkan bahwa pada pengamatan mikroskopis hewan coba yang diberikan CCl₄ menunjukkan gambaran histologi hepar berupa nekrosis sentrilobular dan degenerasi lemak hepar.

Hasil penelitian oleh Sundari (2014:56) menunjukkan bahwa pemberian CCl₄ juga dapat meningkatkan kadar TNF- α secara bermakna dalam jaringan hepar hingga 1,5 kali dibandingkan kelompok normal. TNF- α merupakan salah satu sitokin utama radang akut yang diproduksi oleh makrofag, sel mast, dan sel endotel (Kumar *et al.*, 2013:46). IFN- γ yang diproduksi sel NK dan sel T merangsang makrofag meningkatkan sintesis TNF- α . Pada kadar rendah ($<10^{-9}$), TNF- α bekerja terhadap induksi inflamasi akut berupa aktivasi leukosit, menstimulasi molekul adhesi pada sel endotel, menghasilkan peningkatan ikatan dan pergerakan leukosit, dan meningkatkan produksi sitokin tambahan yaitu kemokin dan eikosanoid. Pada banyak sel, TNF- α juga bekerja untuk menginduksi apoptosis (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013:226).

Rangkaian proses akibat stres oksidatif, yang berakhir pada perubahan gambaran histopatologi hepar, dapat dicegah melalui pemberian antioksidan untuk mempertahankan homeostasis. Salah satu upayanya yaitu melalui konsumsi senyawa alami yang memiliki aktivitas antioksidan (Devaraj, 2016:203). Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ekstrak *Taraxacum officinale* memiliki aktivitas antioksidan (Laranjeira *et al.*, 2017:5). Tanaman ini banyak digunakan dalam sistem pengobatan tradisional dan alami di seluruh dunia terutama dalam mengobati penyakit hepar (Mahesh *et al.*, 2010:176). Aktivitas hepatoprotektif yang dimiliki *Taraxacum officinale* sebagian besar berasal dari kandungan senyawa aktif fenol yang memiliki aktivitas antioksidan (Wirngo *et al.*, 2016:117). Sebagai antioksidan, *Taraxacum officinale* mampu menurunkan tingkat stres oksidatif melalui peningkatan kadar antioksidan enzim hepar dan

bekerja sebagai donor-hidrogen dan “pemulung” radikal bebas (Schutz *et al.*, 2006:319).

Taraxacum officinale tumbuh sebagai tanaman gulma yang hanya mendapat sedikit perhatian dalam penelitian terhadap manfaatnya dalam mengobati gangguan hepar. Tidak ada evaluasi dan data uji klinis terhadap akar *Taraxacum officinale* sebagai agen hepatoprotektif untuk direkomendasikan penggunaannya pada pasien (Devaraj, 2016:204). Pada kenyataannya, penggunaan terapi tanaman obat harus berdasarkan pada temuan empiris yang telah dilakukan selama ratusan hingga ribuan tahun (Schutz *et al.*, 2006:314). Melihat berbagai kondisi tersebut, maka peneliti akan menguji “Perbedaan Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar yang Diinduksi CCl₄ setelah Pemberian Ekstrak Akar Dandelion”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini ialah sebagai berikut.

- a. Apakah terdapat perbedaan ekspresi TNF- α tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*)?
- b. Apakah terdapat perbedaan gambaran histopatologi hepar tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*)?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini ialah sebagai berikut.

- a. Untuk menganalisa perbedaan ekspresi TNF- α tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).
- b. Untuk menganalisa perbedaan gambaran histopatologi hepar tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).

1.4 Manfaat

Manfaat yang didapatkan dari penelitian ini ialah sebagai berikut.

- a. Bagi institusi pendidikan, penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi penelitian lebih lanjut mengenai perbedaan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).
- b. Bagi peneliti, penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan terhadap perbedaan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*) serta mengembangkan keterampilan ilmiah peneliti dalam melakukan sebuah penelitian.

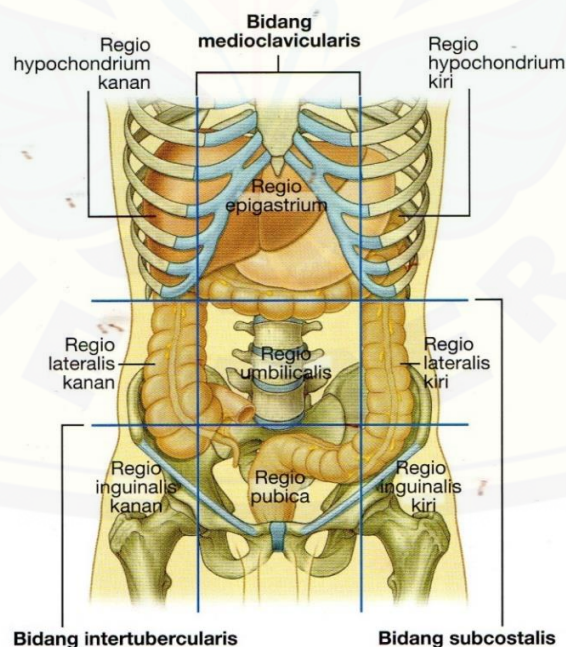
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hepar

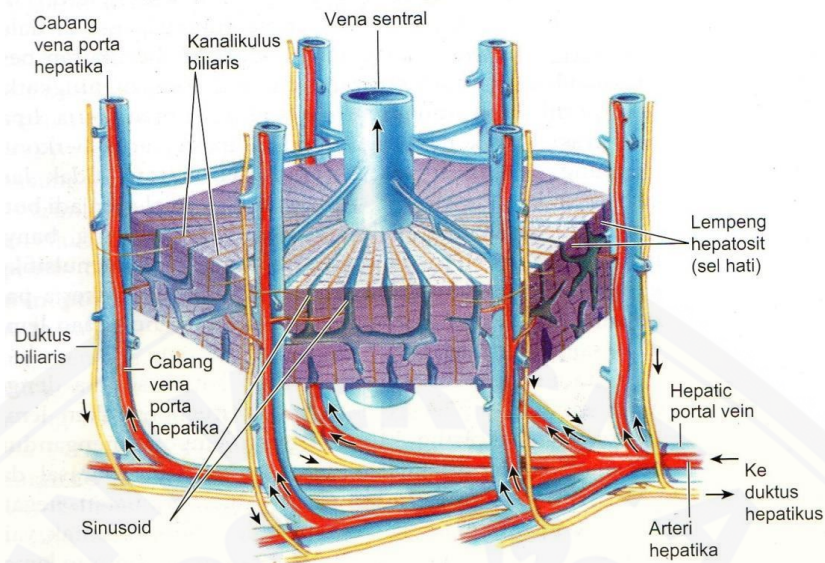
Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh, menyumbang sekitar 2 persen berat tubuh total, atau sekitar 1,5 kg (3,3 pon) pada rata-rata manusia dewasa (Hall, 2014:907). Hepar terutama terletak di regio hipokondrium kanan dan epigastrium, meluas ke dalam regio hipokondrium kiri, lihat Gambar 2.1 (Drake *et al.*, 2012:164).

2.1.1 Struktur Histologi Hepar

Hepar tersusun atas unit-unit fungsional dasar yang dikenal sebagai lobulus hepatikus, yaitu susunan jaringan berbentuk heksagonal. Di bagian tengah setiap lobulus terdapat sebuah vena sentralis yang dikelilingi secara radial oleh lempeng sel hepar, yaitu hepatosit dan sinusoid. Di setiap enam sudut luar lobulus terdapat kanalis porta atau daerah porta, yang berisi cabang-cabang arteri hepatica, vena porta hepatica, duktus biliaris, dan pembuluh limfe, lihat Gambar 2.2 (Sherwood, 2015:648).

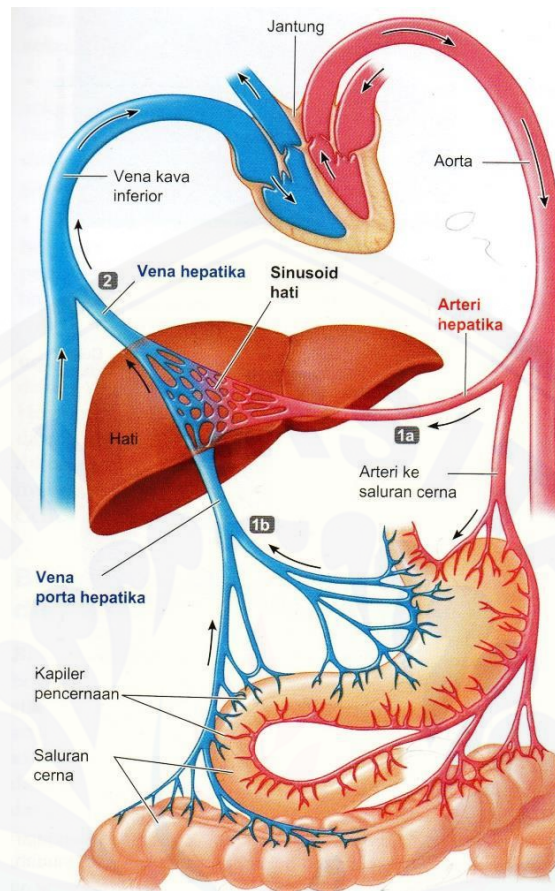


Gambar 2.1 Posisi hepar pada pola organisasi 9 regio (Sumber: Drake *et al.*, 2012:160)



Gambar 2.2 Susunan pembuluh darah dalam suatu lobulus hepar (Sumber: Sherwood, 2015:650)

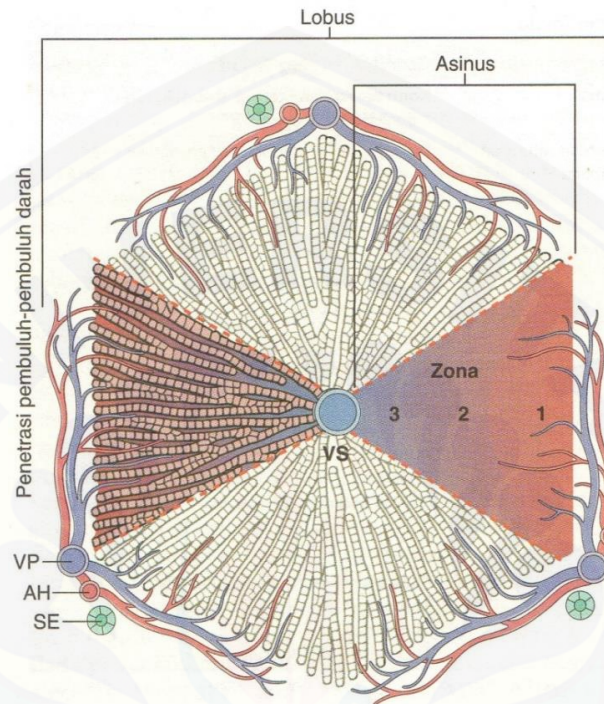
Setiap hepatosit berkontak langsung dengan darah dari dua sumber: 1) darah segar dari arteri hepatica cabang aorta yang menyalurkan oksigen dan metabolit-metabolit darah; dan 2) darah dari vena porta hepatica yang membawa produk yang diserap dari saluran cerna untuk diproses. Dalam suatu lobulus hepar, darah dari arteri hepatica dan vena porta hepatica mengalir dari daerah porta (perifer lobulus) kemudian bercampur di sinusoid hepar menuju vena sentralis. Selanjutnya darah dari vena sentralis berjalan melalui vena hepatica dan akhirnya masuk ke sirkulasi umum vena kava inferior, lihat Gambar 2.3 (Sherwood, 2015:648).



Gambar 2.3 Gambaran skematik aliran darah hepar (Sumber: Sherwood, 2015:649)

Arsitektur hepar dibagi menjadi beberapa zona dengan menggunakan pendekatan suplai darah (nutrisi dan oksigen) di daerah porta sebagai titik acuan, sehingga segitiga asinus dapat dikenali. Berdasarkan jarak terhadap suplai darah di daerah porta, asinus dibagi menjadi zona 1 (paling dekat dengan sumber darah), 2, dan 3 (terjauh dari sumber darah) (Kumar *et al.*, 2013:604). Arah aliran darah ini menyebabkan adanya perbedaan fungsi hepatosit bagian perifer dengan bagian sentral. Hepatosit di dekat daerah porta lebih banyak melakukan metabolisme aerobik dan sintesis protein, sedangkan hepatosit di daerah sentral, yang terpajan konsentrasi nutrisi dan oksigen lebih rendah, lebih banyak terlibat dalam proses detoksifikasi dan glikolisis, dan pembentukan lipid. Perubahan patologis pada

hepar paling baik dilihat menggunakan konsep asinus hepar, lihat Gambar 2.4 (Putri, 2015:9).



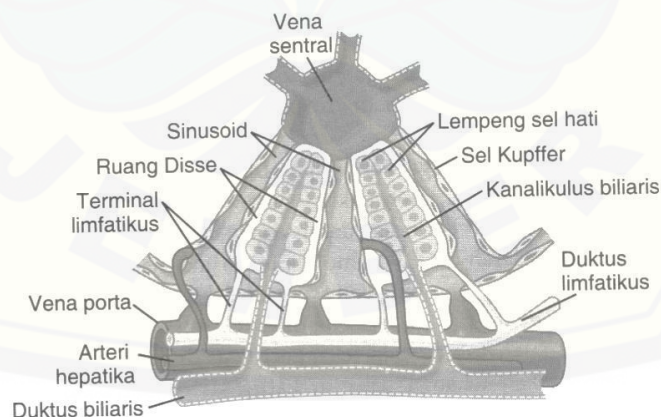
Gambar 2.4 Arsitektur mikroskopik parenkim hepar (Sumber: Kumar *et al.*, 2013:604)

Hepatosit adalah sel polihidra dengan enam atau lebih permukaan berdiameter 20-30 μm . Pada pengecatan Hematoksilin-Eosin, sitoplasma hepatosit biasanya bersifat eosinofilik karena banyaknya jumlah mitokondria, lebih dari 20 per sel (Putri, 2015:9). Hepatosit-hepatosit tersusun antara sinusoid dalam lempeng-lempeng yang tebalnya dua sel, sehingga masing masing tepi lateral menghadap ke kumpulan darah sinusoid. Sinusoid adalah anyaman kapiler cabang vena porta hepatica yang dilapisi oleh sel endotel berfenestra yang juga menunjukkan lamina basalis yang berpori dan tidak utuh sehingga memungkinkan pertukaran antara darah dan hepatosit sebelum darah mengalir ke dalam vena hepatica, yang kemudian menyatu dengan vena kava inferior (Sherwood, 2015:648).

Selain sel endotel, sinusoid hepar juga mengandung makrofag yang disebut sel Kupffer yang mampu menghancurkan bakteri, sel darah merah usang dan benda asing lain yang melewatinya dalam darah (Sherwood, 2015:648). Sel Kupffer adalah sel besar dengan beberapa prosesus dan bentuk tidak teratur atau stelata yang menonjol ke dalam sinusoid (Eroschenko, 2014:332).

Diantara sel endotel dan sel hepatosit terdapat ruang sempit yang disebut ruang Disse, yang juga dikenal sebagai spatium perisinusoideum subendotelial. Jutaan ruang Disse berhubungan dengan pembuluh limfe di dalam septum interlobularis. Oleh karena itu, kelebihan cairan di dalam ruang ini dikeluarkan melalui aliran limfatik (Hall, 2014:907).

Saluran tipis pengangkut empedu, kanalikulus biliaris, berjalan di antara sel-sel di dalam setiap lempeng hepar, sehingga setiap hepatosit berkontak dengan sinusoid di satu sisi dan kanalikulus biliaris di sisi lain. Hepatosit terus-menerus mengeluarkan garam empedu ke dalam saluran tipis ini menuju duktus biliaris di daerah porta kemudian mengalir ke duktus hepatikus yang lebih besar yang membawa empedu keluar dari hepar hingga akhirnya bermuara ke duktus biliaris komunis, yang mengangkut empedu dari hepar ke duodenum (Sherwood, 2015:648). Struktur dasar lobulus hepar dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur dasar lobulus hepar, memperlihatkan lempeng sel hepar, pembuluh darah, sistem pengumpul-empedu, dan sistem aliran limfe yang terdiri atas ruang-ruang Disse dan saluran limfe interlobularis (Sumber: Hall, 2014:907)

2.1.2 Fisiologi Hepar

Sel hepatosit memiliki retikulum endoplasma (RE) dalam jumlah besar, baik yang halus dan kasar. Retikulum endoplasma kasar berfungsi untuk sintesis protein yang menjalankan satu dari dua fungsi berikut. (1) Protein yang dipindahkan keluar sel sebagai produk sekretorik enzim dan hormon. (2) Protein untuk membangun membran sel baru (membran plasma atau membran organel). Di sel hepar, RE halus mengandung enzim-enzim khusus untuk mendetoksifikasi bahan-bahan berbahaya yang dihasilkan melalui proses metabolisme di dalam tubuh atau bahan yang masuk ke tubuh dari luar, berupa obat atau senyawa asing lainnya. Enzim detoksifikasi ini mengubah bahan toksik sedemikian rupa sehingga dapat lebih mudah dieliminasi melalui urin (Sherwood, 2015:27).

Hepar memiliki fungsi yang beragam bagi tubuh. Peran hepar dalam sistem pencernaan yaitu sekresi garam empedu, yang membantu pencernaan dan penyerapan lemak. Hepar juga melakukan berbagai fungsi yang tidak berkaitan dengan pencernaan, yaitu sebagai berikut (Sherwood, 2015:647).

- a. Pemrosesan metabolik kategori-kategori utama nutrien (karbohidrat, protein, dan lemak) setelah zat-zat ini diserap dari saluran cerna.
- b. Mendetoksifikasi atau menguraikan zat sisa tubuh dan hormon serta obat dan senyawa asing lain.
- c. Membentuk protein plasma, termasuk protein yang dibutuhkan untuk pembekuan darah yang mengangkut hormon steroid dan tiroid serta kolesterol dalam darah, dan angiotensinogen yang penting dalam SRAA yang mengonservasi garam.
- d. Menyimpan glikogen, lemak, besi, tembaga, dan banyak vitamin.
- e. Mengaktifkan vitamin D, yang dilakukan hepar bersama dengan ginjal.
- f. Mengeluarkan bakteri dan sel darah merah tua, berkat adanya makrofag residen.
- g. Menyekresi hormon trombopoietin (merangsang produksi trombosit), hepsidin (menghambat penyerapan besi dari usus), faktor pertumbuhan miirip insulin-1 (merangsang pertumbuhan).

- h. Memproduksi protein fase akut yang penting dalam inflamasi.
- i. Mengeksresi kolesterol dan bilirubin. Bilirubin adalah produk penguaraian yang berasal dari destruksi sel darah merah tua.

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan spesies kimia yang memiliki sebuah elektron tanpa pasangan pada orbit luar. Situasi kimia demikian amat tidak stabil. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan molekul tersebut sangat reaktif mencari pasangannya dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang ada di sekitarnya, seperti asam nukleat dan juga berbagai protein sel dan lipid. Di samping itu, radikal bebas mengakibatkan molekul yang bereaksi dengannya akan berubah menjadi radikal bebas lain, sehingga terjadi suatu rangkaian kerusakan (Kumar *et al.*, 2013:12).

Sel membentuk berbagai mekanisme untuk menghilangkan radikal bebas dan dengan demikian akan mengurangi jejas. Terdapat sistem enzim yang berperan sehingga radikal bebas menjadi nonaktif (Kumar *et al.*, 2013:14).

- a. Superoksida dismutase (SODs). Kecepatan kerusakan oleh superoksida meningkat karena adanya SODs yang dijumpai pada berbagai jenis sel
- b. Peroksidase glutathione (GPx). GPx merupakan kelompok enzim yang mempunyai tugas utama melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Kelompok terbanyak ialah peroksidase glutathione 1, yang dijumpai pada sitoplasma semua sel. Sifatnya melakukan katabolisme H_2O_2 melalui reaksi $2 \text{GSH} (\text{glutathione}) + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GS-SG} + 2\text{H}_2\text{O}$.
- c. Katalase (CAT). CAT bekerja dalam katabolisme hidrogen peroksida ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$) yang dijumpai pada peroksisom. Merupakan enzim paling aktif yang diketahui mampu mendegradasi jutaan molekul H_2O_2 tiap detik

Kerusakan akibat radikal bebas ditentukan oleh kecepatan produksi dan proses pengeluarannya. Apabila produksi radikal bebas meningkat melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya atau sistem pemusnahan tidak efektif,

akibatnya ialah terjadi penumpukan radikal bebas, sehingga menimbulkan keadaan yang disebut stres oksidatif (Kumar *et al.*, 2013:14).

2.2.1 Zat Hepatotoksik CCl₄

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan hepatotoksik kimiawi yang sangat poten (Bachri, 2011:41). Kerusakan hepar akibat CCl₄ pertama dilaporkan pada tahun 1936 dan kini sudah banyak berhasil digunakan pada berbagai penelitian (Jannu, *et al.*, 2012:1). CCl₄ banyak digunakan sebagai model patologik untuk penyakit hepar pada beberapa hewan coba karena gambaran histopatologi yang ditimbulkan mirip dengan penyakit hepatitis virus akut pada manusia. Kerusakan hepar oleh CCl₄ analog dengan hepatotoksik pada manusia (Mahesh *et al.*, 2010:175).

CCl₄ merupakan zat kimia yang secara intrinsik tidak aktif, tetapi harus diubah menjadi zat metabolit toksik reaktif, yang kemudian mempengaruhi sel target. Modifikasi ini biasanya dilakukan oleh sitokrom P-450 pada RE halus hepar (Kumar *et al.*, 2013:17). Pada prinsip kerusakan hepar, CCl₄ dimetabolisme oleh sitokrom P-450 2E1 di RE halus menjadi radikal bebas *triklorometil* (CCl₃•) yang dapat berikatan kovalen dengan lemak, protein (Mahesh *et al.*, 2010:175), dan DNA (Lintong *et al.*, 2013:936). Triklorometil dapat bereaksi dengan cepat dengan oksigen (O₂) kemudian membentuk radikal bebas lainnya yang lebih reaktif, yaitu *triklorometilperoksi* (CCl₃O₂•) (Panjaitan *et al.*, 2007:11). CCl₃O₂• menginisiasi reaksi peroksidase lemak, yang dapat menyerang asam lemak tak jenuh ganda, terutama fosfolipid. Hal tersebut mempengaruhi permeabilitas mitokondria, retikulum endoplasma, dan membran plasma, yang berakhir pada kerusakan selular (Weber *et al.*, 2003:page).

2.3 Jejas Hepatosit akibat CCl₄

Jejas sel akan terjadi apabila sel mengalami stres yang berat sehingga sel tersebut tidak dapat lagi beradaptasi atau apabila sel terpapar pada agen yang merusak (Kumar *et al.*, 2013:7). Dalam jangka waktu kurang dari 30 menit setelah paparan dengan CCl₄, terjadi kerusakan membran RE diikuti dengan penurunan sintesa protein hepar dan protein plasma (Kumar *et al.*, 2013:17). Mekanisme

toksik CCl_4 terhadap RE sebagian bersifat tidak langsung dan merupakan akibat dari gangguan proses fosforilasi oksidatif adenosin difosfat (ADP) dalam sistem transpor elektron pada mitokondria dalam menghasilkan energi dalam bentuk ATP. Sedangkan ATP sendiri diperlukan salah satunya untuk pemeliharaan struktur dan fungsi RE untuk sintesis protein yang juga penting bagi mitokondria (Sulistianto *et al.*, 2004:96).

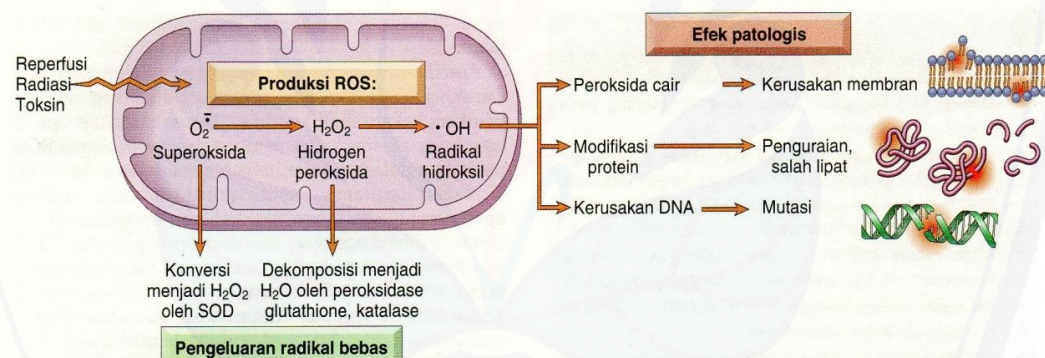
Dalam waktu 2 jam, terjadi pembengkakan RE halus dan disosiasi ribosom RE halus (Kumar *et al.*, 2013:17). Dalam metabolisme berbagai zat kimia, RE sel yang mengalami paparan pada zat tersebut akan mengalami hipertrofi sebagai upaya adaptasi untuk meningkatkan aktivitas enzim P-450 (Kumar *et al.*, 2013:8). Selanjutnya terjadi dilatasi RE dan pelepasan ribosom dari RE kasar serta disosiasi polisom menjadi monosom, sehingga sintesis protein semakin berkurang (Kumar *et al.*, 2013:12).

Ketidakmampuan hepatosit untuk sintesis satuan protein dari lipoprotein menyebabkan penekanan konjugasi trigliserida dengan lipoprotein. Trigliserida hepatosit hanya disekresikan ke sirkulasi atau plasma bila dalam keadaan tergabung dengan lipoprotein dan membentuk lipoprotein berdensitas sangat rendah atau *very low density lipoprotein* (VLDL). Gangguan keseimbangan antara sintesis trigliserida dengan sekresi VLDL menyebabkan tertimbunnya trigliserida dalam sel hepatosit membentuk vakuola-vakuola kecil yang mula-mula tidak mendesak inti, keadaan seperti ini disebut dengan degenerasi perlemakan mikrovesikuler. Apabila vakuola-vakuola bergabung akan membentuk butiran lemak trigliserida berukuran besar berupa vakuola yang lebih besar yang hampir mengisi seluruh hepatosit sehingga mendorong inti sel ke tepi. Kondisi akumulasi trigliserida secara abnormal dalam sel parenkim hepar menyebabkan terjadinya perlemakan hepar (Sulistianto *et al.*, 2004:96).

Akibat penurunan sintesis protein RE yang terjadi terus menerus, akhirnya terjadi kerusakan ireversibel pada membran mitokondria dan lisosom (Kumar *et al.*, 2013:12). Jejas ireversibel mitokondria, yang diikuti berkurangnya simpanan ATP secara signifikan, mengakibatkan berkurangnya aktivitas pompa ion ATP-dependen membran plasma. Kondisi tersebut menyebabkan tertimbunnya Na^+ di

dalam sel dan keluarnya K^+ dari dalam sel. Hasil akhir penambahan air yang iso-osmotik menyebabkan pembengkakan sel yang terus berlanjut (Kumat *et al.*, 2013:12).

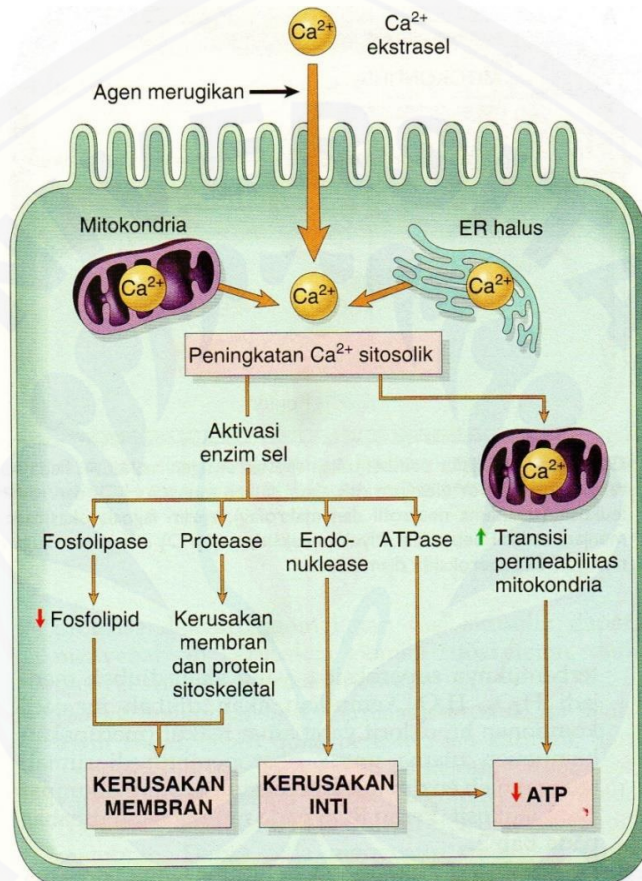
Selain itu, kerusakan mitokondria dapat pula menyebabkan terjadinya fosforilasi oksidatif abnormal yang menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS). ROS ialah radikal bebas yang berasal dari oksigen. Pada proses respirasi mitokondria, molekul oksigen akan berkurang karena mengalami penambahan empat elektron menghasilkan superoksida ($O_2\cdot$). $O_2\cdot$ diubah secara spontan oleh superoksida dismutase (SOD) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang lebih stabil dari $O_2\cdot$. Adanya unsur logam, maka H_2O_2 diubah menjadi radikal bebas hidroksil ($\cdot OH$) yang amat reaktif melalui reaksi Fenton, lihat Gambar 2.6 (Kumar *et al.*, 2013:13).



Gambar 2.6 Pembentukan, pembuangan, dan peran spesies oksigen reaktif (ROS) pada jejas sel (Sumber: Kumar *et al.*, 2013:15)

Membran plasma akan dirusak oleh aldehida lemak yang terbentuk dari peroksidase lipid pada RE. Hasil akhir ialah Ca^{2+} masuk ke dalam sitosol dan kematian sel (Kumar *et al.*, 2013:17). Kadar Ca^{2+} dalam sitosol meningkat mula-mula karena keluarnya Ca^{2+} intrasel dari mitokondria dan RE. Deplesi ATP juga menyebabkan kegagalan pompa Ca^{2+} ATP-dependen di membran plasma yang kemudian menyebabkan Ca^{2+} ekstrasel masuk ke dalam sitoplasma. Peningkatan Ca^{2+} sitoplasma mengaktifkan beberapa enzim yang dapat merugikan sel, seperti fosfolipase yang mengakibatkan degradasi membran fosfolipid, protease yang

merusak membran dan protein sitoskeletal, endonuklease yang menyebabkan fragmentasi DNA dan kromatin, dan ATPase yang mempercepat deplesi ATP. Peningkatan Ca^{2+} intrasel akan memicu apoptosis melalui aktivasi langsung kaspase dan peningkatan permeabilitas mitokondria, lihat Gambar 2.7 (Kumar *et al.*, 2013:12).



Gambar 2.7 Sumber dan akibat peningkatan kalsium sitosolik pada jejas sel (Sumber: Kumar *et al.*, 2013:13)

Aktivasi enzim protease menyebabkan kerusakan membran plasma dan membran lisosom. Kerusakan membran plasma menyebabkan ketidakseimbangan osmotik, dan juga hilangnya isi sel. Kerusakan membran lisosom akan mengakibatkan masuknya enzim-enzim (RNase, DNase, protease, glukosidase) ke dalam sitoplasma. Aktivasi enzim-enzim ini akan mengakibatkan pencernaan

enzimatik komponen sel dan sel akan mati karena nekrosis (Kumar *et al.*, 2013:15).

Nekrosis merupakan jenis kematian sel yang digabungkan dengan hilangnya integritas membran dan bocornya isi sel sehingga terjadi kerusakan sel, terutama akibat pengaruh enzim yang merusak sel yang mengalami jejas fatal. Isi sel yang bocor keluar akan mengakibatkan reaksi lokal pejamu yang disebut radang yang merupakan upaya untuk menghilangkan sel yang mati dan memulai proses perbaikan. Enzim yang mengakibatkan pencernaan sel berasal dari lisosom sel mati dan dari lisosom leukosit yang dikerahkan sebagai bagian dari reaksi radang karena adanya sel yang mati (Kumar *et al.*, 2013:8).

2.4 Respon Radang

Radang merupakan suatu respon terhadap faktor eksogen (misalnya invasi asing), faktor endogen (misalnya kerusakan jaringan), atau keduanya, yang melibatkan sel tubuh, pembuluh darah, protein dan mediator lain. Tujuan respon ini untuk mengisolasi dan menghancurkan penyebab cedera, dan membersihkan daerah peradangan untuk memulai proses perbaikan jaringan. Respon peradangan keseluruhan sangat mirip satu sama lain tanpa memandang apapun pemicunya (invasi bakteri, cedera kimiawi, atau trauma mekanis) meskipun mungkin terlihat beberapa perbedaan ringan (Sherwood, 2015:447).

Berbagai respon imun non-spesifik diaktifkan sebagai tanggapan terhadap pola molekular generik agen yang mengancam. Dua kategori pola panggilan tersebut yaitu: pola molekular terkait-patogen (*pathogen-associated molecular pattern*, PAMP) eksogen, seperti karbohidrat di dinding sel bakteri, dan pola molekular terkait-kerusakan (*damage-associated molecular pattern*, DAMP) endogen, seperti ATP ekstraselular yang dilepaskan dari sel yang rusak. Sel fagosit yang merespon memiliki reseptor pengenal pola pada membran mereka, contohnya *toll-like receptors* (TLR) yang mengenali PAMP (dan DAMP) pada cairan ekstrasel (Sherwood, 2015:446).

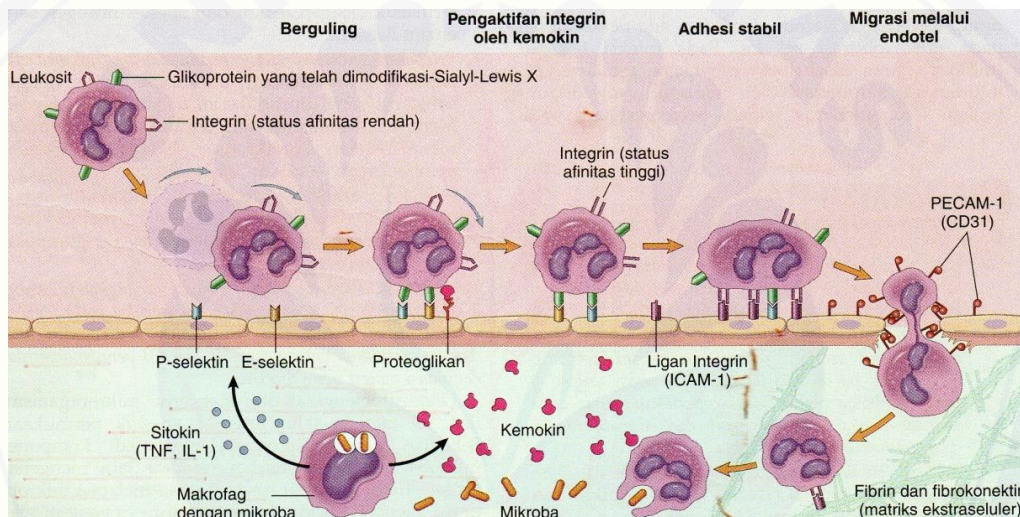
Bila stimulus tersebut telah dikenali sel tubuh, seperti makrofag, sel dendrit, sel mast, mereka akan merespon dengan mensekresi molekul protein (sitokin dan

mediator radang) yang menginduksi dan mengatur respon radang selanjutnya. Mediator radang juga diproduksi oleh protein plasma maupun jaringan yang cedera (Kumar *et al.*, 2013:29). Pada tahap awal, stimulus dihadapi oleh makrofag selama jam-jam pertama, sebelum mekanisme lain diaktifkan. Makrofag residen kemudian menyekresi kemokin, IL-1, IL-6, dan TNF yang menimbulkan berbagai reaksi respon imun selanjutnya. Sekresi TNF oleh makrofag memicu pelepasan histamin oleh sel mast di sekitar tempat peradangan yang menginisiasi reaksi radang akut berupa reaksi vaskular dan selular (Sherwood, 2015:447).

Reaksi yang pertama terjadi yaitu reaksi vaskular. Sekresi histamin memicu dilatasi vaskular sehingga terjadi peningkatan aliran darah ke tempat cedera membawa banyak neutrofil dan protein plasma (menimbulkan manifestasi eritema dan panas). Pelepasan histamin juga menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler. Terjadi kontraksi sel endotel sehingga terbentuk celah di antara sel-sel endotel mengakibatkan ekstravasasi protein plasma ke jaringan yang meradang (menimbulkan manifestasi edema lokal). Karakteristik proses peradangan ini berkaitan dengan tujuan utama perubahan vaskular untuk meningkatkan jumlah neutrofil dan protein plasma yang sangat dibutuhkan di daerah cedera (Sherwood, 2015:447).

Kemudian terjadi rangkaian reaksi selular yang dimulai dengan; 1) Pengaktifan sel endotel oleh IL-1, TNF, dan mediator lain, yang terbentuk di tempat cedera akan mengekspresikan molekul adhesi selektin mengakibatkan marginasi leukosit (terutama neutrofil). Leukosit melekat lemah terhadap endotel sehingga sel mudah melekat dan lepas, suatu proses yang disebut berguling-guling sepanjang dinding pembuluh. 2) Kemokin yang dikeluarkan berbagai sel di tempat radang mengaktifkan leukosit yang menempel di hadapannya (peningkatan afinitas integrin pada permukaan leukosit). Pada saat yang sama, sitokin IL-1 dan TNF juga meningkatkan ekspresi ligan molekul adhesi-1 intersel (ICAM-1) di permukaan endotel. Hasil akhir peningkatan afinitas integrin dan ekspresi ligan integrin yaitu adhesi kuat leukosit dengan sel endotel pada daerah radang. 3) Kemokin jaringan ekstravaskular juga memicu migrasi leukosit melalui molekul adhesi-1 sel trombosit (PECAM-1) yang terekspresi di sel endotel dan leukosit

sehingga terjadi pengikatan supaya leukosit keluar melewati sel endotel. Setelah keluar dari sel endotel, leukosit menghasilkan kolagenase supaya dapat keluar menembus membran basalis pembuluh darah (Kumar *et al.*, 2013:34). 4) Leukosit bergerak mengikuti gradien konsentrasi kemokin yang secara progresif meningkat mendekati tempat cedera. Pengikatan kemokin dengan reseptor protein di membran plasma sel leukosit meningkatkan masuknya Ca^{2+} ke dalam sel yang mengaktifkan perangkat kontraktile sel berupa perpanjangan pseudopod yang melekat pada ECM yang menarik leukosit untuk melakukan pergerakan, lihat Gambar 2.8 (Sherwood, 2015:449).



Gambar 2.8 Mekanisme migrasi leukosit melalui pembuluh darah (Sumber: Kumar *et al.*, 2013:35)

Fagosit harus mampu membedakan antara sel normal dan sel asing atau abnormal sehingga dapat secara selektif menelan dan menghancurkan bahan yang tidak diinginkan. Pertama, fagosit, melalui TLRnya, mengenali dan kemudian menelan infiltrator yang memiliki komponen dinding sel bakteri. Kedua, partikel asing secara sengaja ditandai dengan melapisinya dengan mediator kimiawi atau opsonin yang dihasilkan sel imun sehingga lebih rentan terhadap fagositosis (Sherwood, 2015:449). Ikatan reseptor dengan partikel memicu penyelubungan (*engulfment*) membentuk vakuol fagosit/fagosom. Fagosom akan bersatu dengan membran lisosom membentuk fagolisosom. Selanjutnya terjadi pemusnahan

mikroba atau sel mati oleh ROS sebagai hasil dari gejalak respirasi (*respiratory burst*) dan NO yang hanya terbatas dalam vesikel. Mikroorganisme yang mati mengalami degradasi melalui kerja enzim hidrolase asam lisosom (Kumar *et al.*, 2013:36).

Reaksi radang dapat pula menimbulkan kerugian karena sekresi ROS dan enzim hidrolase dapat menyebabkan jejas pada jaringan normal. Kerusakan tersebut merupakan dasar timbulnya penyakit akut dan kronik (Kumar *et al.*, 2013:38). Radang secara normal terkendali dan membatasi diri. Mediator dan sel yang akan teraktifkan hanya terhadap stimulus merugikan dan juga hanya berumur singkat karena akan mengalami degradasi atau menjadi inaktif apabila agen penyebab jejas tereliminasi (Kumar *et al.*, 2013:30).

2.4.1 Sitokin

Semua mediator kimiawi, selain antibodi, secara kolektif disebut dengan sitokin. Sitokin merupakan produk polipeptida yang diproduksi berbagai sel imun seperti makrofag, monosit, neutrofil, sel T *helper*, dan sel non-imun seperti sel endotel dan fibroblas yang berperan dalam mengatur sistem imun nonspesifik dan spesifik (Sherwood, 2015:450). Sitokin merupakan protein pembawa pesan kimiawi, atau perantara dalam komunikasi antarsel yang sangat poten, aktif pada kadar yang sangat rendah ($10^{-10} - 10^{-15}$ mol/l dapat merangsang sel sasaran). Reseptor yang diekspresikan dan afinitasnya merupakan faktor kunci respon selular (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013:219).

Sitokin mempunyai ciri-ciri sebagai berikut (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013:219).

- a) Masa paruhnya singkat.
- b) Cepat terurai sebagai metode regulasi sehingga sulit diukur dalam sirkulasi.
- c) Kerja sitokin sering pleiotropik (satu sitokin bekerja terhadap berbagai jenis sel yang menimbulkan berbagai efek).
- d) Menunjukkan fungsi yang redundan/tumpang tindih (berbagai sitokin menunjukkan efek yang sama). Oleh karena itu, efek antagonis satu sitokin tidak akan menunjukkan hasil nyata, karena ada kompensasi dari sitokin yang lain.

- e) Sitokin sering berpengaruh terhadap sintesis dan efek sitokin yang lain.
- f) Efek sitokin dapat lokal atau sistemik. Kebanyakan bekerja lokal dalam lingkungan mikro sel.
- g) Sinyal luar mengatur ekspresi reseptor sitokin atau respons sel terhadap sitokin.
- h) Efek sitokin terjadi melalui ikatan dengan reseptornya pada membran sel sasaran.
- i) Respon selular terhadap kebanyakan sitokin terdiri atas perubahan ekspresi gen terhadap sel sasaran yang menimbulkan ekspresi fungsi baru dan kadang proliferasi sel sasaran.

Sitokin-sitokin pada imunitas nonspesifik yaitu IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , kemokin, dan TNF (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013:226). Pada umumnya sitokin-sitokin digolongkan menjadi sitokin proinflamasi dan sitokin antiinflamasi. Beberapa sitokin pro-inflamasi yaitu TNF- α , IL-1, IL-12, IL-18, IFN- α , dan *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF). Sedangkan sitokin antiinflamasi yaitu terdiri dari IL-4, IL-10, IL-13, IFN- α , dan *transforming growth factor- β* (TGF- β) (Misitahari, 2011:45).

Sitokin utama radang akut yaitu TNF- α , IL-1, IL-6 dan kemokin (Kumar *et al.*, 2013:46). Koo *et al.* (2003:1150) juga menuliskan bahwa TNF- α dan IL-1 α merupakan sitokin penting dalam mengatur induksi sintesis protein fase akut di hepar dan mengatur perkembangan respon imun. Misitahari (2011:24) menambahkan bahwa TNF- α adalah salah satu sitokin proinflamasi yang paling poten.

2.4.2 Sitokin TNF- α

TNF disebut TNF- α atas dasar historis dan untuk membedakannya dari TNF- β atau limfotoksin. Sumber utama produksi TNF- α yaitu makrofag (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013:226). Selain itu juga dapat diproduksi oleh sel mast, dan sel endotel (Kumar *et al.*, 2013:46). IFN- γ yang diproduksi sel NK dan sel T merangsang makrofag meningkatkan sintesis TNF- α . TNF- α merupakan

sitokin utama terhadap rangsangan respons inflamasi akut oleh bakteri gram negatif dan mikroba lainnya. LPS (*Lipopolysaccharides*), atau endotoksin dinding sel bakteri gram negatif, merupakan rangsangan poten terhadap makrofag untuk mensekresi TNF- α (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013:226).

Pada kadar rendah ($<10^{-9}$), TNF- α bekerja terhadap induksi inflamasi akut berupa aktivasi leukosit, menstimulasi molekul adhesi pada sel endotel, menghasilkan peningkatan ikatan dan pergerakan leukosit, dan meningkatkan produksi sitokin tambahan yaitu kemokin dan eikosanoid. Pada kadar sedang, TNF- α berperan terhadap inflamasi sistemik (demam), dan sintesis APP (*Acute Phase Protein*) di hepar. Pada kadar tinggi ($\geq 10^{-7}$), TNF- α menimbulkan kelainan patologik syok septik. Pada banyak sel, TNF- α menginduksi apoptosis (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013:226).

2.5 *Taraxacum officinale*

2.5.1 Taksonomi *Taraxacum officinale*

Nama latin *Taraxacum* berasal dari bahasa Yunani “taraxis” yang berarti inflamasi/peradangan dan “akeomai” yang berarti kuratif (Schutz *et al.*, 2006:314). Berikut ini adalah taksonomi atau klasifikasi ilmiah tanaman *Taraxacum officinale* (Azhari & Apriliana, 2016:33).

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : *Taraxacum*
Spesies : *Taraxacum officinale*

Taraxacum officinale dalam bahasa Inggris dikenal dengan nama Dandelion yang diambil dari bahasa Perancis *dent de lion*, yang berarti gigi singa. Sedangkan di Perancis, tanaman ini dikenal dengan nama *pissenlit* berdasarkan pada efek diuretiknya (Schutz *et al.*, 2006:314). Tanaman ini disebut *pu2 gong1 ying1* dalam bahasa Cina, *Hokouei* dalam bahasa Jepang, dan *P'ogongyong* dalam bahasa

Korea (Yarnell & Abascal, 2009:35). Di Indonesia tanaman ini disebut dengan tanaman Jombang.

2.5.2 Morfologi *Taraxacum officinale*

Taraxacum officinale merupakan tanaman gulma semak berumpun, berbatang semu atau tidak berbatang, memiliki akar tunggang berwarna kuning kecokelatan yang mencapai rata-rata 15 - 30 cm. Namun, panjang akar 60 - 100 cm juga ditemukan. Akarnya mampu mengalami regenerasi menjadi tanaman baru bahkan saat akarnya telah terpotong-potong pada atau di bawah permukaan tanah. Daunnya tunggal lonjong dengan tepi bergerigi berwarna hijau terang hingga gelap dengan panjang 5 - 40 cm. Duduk daun membentuk roset akar. Pangkal daun berpelelah berwarna putih, sedangkan pertulangan daun menyirip. Rata-rata setiap tanaman menghasilkan 5 - 10 bunga berdiameter 7 - 15 mm. Bunga berbentuk majemuk, berumpun seperti mahkota bentuk cakram yang terdiri dari 140 - 400 kuntum bunga kuning dan bersanggah pada batang yang berongga. Buah berbentuk kerucut berwarna coklat dan dimahkotai oleh *pappus* berbulu putih yang memungkinkan benih didistribusikan oleh angin, lihat Gambar 2.9 (Schutz *et al.*, 2006:314).



Gambar 2.9 *Taraxacum officinale* (Sumber: Azhari & Apriliana, 2016:34)

2.5.3 Sejarah dan Penggunaan Tradisional *Taraxacum officinale*

Tanaman Jombang dijumpai tumbuh di dataran tinggi atau lereng gunung kawasan Cipanas (Jawa Barat), Tawangmangu (Jawa Tengah), dan di beberapa tempat di dataran tinggi Sumatra Utara (Hafiizh *et al.*, 2010:91). Tanaman ini berasal dari Eropa, tersebar ke Amerika, Canada, Afrika Selatan, Australia, New Zealand, India, Cina, hingga ke Asia Tenggara termasuk Indonesia (Ermayanti *et al.*, 2014:180).

Taraxacum officinale telah lama digunakan secara luas sebagai obat tradisional dalam mengobati penyakit hepar (Mahesh *et al.*, 2010:176). Bukti terhadap kemampuan terapi tanaman ini disebutkan pertama kali oleh seorang dokter di Arab pada abad ke-10 dan ke-11 untuk mengobati penyakit hepar dan limpa (Schutz *et al.*, 2006:314). Sebagai tanaman obat, akar tanaman ini memiliki khasiat sebagai anti hepatitis, sedangkan daunnya lebih sering digunakan sebagai diuretik. Sebuah jurnal oleh Hafiizh *et al* (2010:91) juga menyatakan bahwa akar tanaman ini bermanfaat untuk mengobati gangguan hepar, sementara daun dan bunga dianggap sebagai diuretik dan stimulan pencernaan. Pernyataan di atas sesuai dengan yang diungkapkan oleh *the British Herbal Medicine Association* bahwa akar Dandelion bermanfaat sebagai stimulan hepar, sedangkan daunnya sebagai diuretik dan koleretik (Schutz *et al.*, 2006:314).

2.5.4 Kandungan Kimia Akar *Taraxacum officinale*

Akar *Taraxacum officinale* mengandung karbohidrat (inulin, glukosa, fruktosa, dan sukrosa), karotenoid (lutein), asam lemak (asam miristik), mineral, vitamin kolin, musilago, dan pektin. Dandelion juga mengandung senyawa aktif sesquiterpen lakton (eudesmanolides tetrahydroridentin B, taraxacolida-O- β -glukopyranosid, 13-dihydrolactucin, ixerin D, asam germacranolida, asam taraxinic, β -glucopyranosida, ainsliosida guaianolida, dan, 13-dihydrotaraxinic, taraxacin, dan taraxacerin) (Wirngo *et al.*, 2016:117); triterpen, fitosterol (taraxasterol, taraxerol, taraxacin, taraxacerin, sitosterin, stigmasterol, α -amyrin, β -amyrin, sikloartenol, β -sitosterol (Devaraj, 2016:203); 16-hydroxy derivatives arnidiol dan faradiol (Schutz *et al.*, 2006:316)); flavonoid (apigenin, luteolin

(Samani *et al.*, 2015:149); asam sikorik, asam klorogenik, asam kafeat, p-coumaric, ferulic, p-hydroxybenzoic, protocatechuic, vanillic, syringic, dan asam p-hydroxyphenylacetic, coumarins, umbelliferone, esculetin, dan scopoletin (Schutz *et al.*, 2006:316)); taraxol, taraxin, choline, levolin, kalsium, kalium (Indriyanti *et al.*, 2015:84); taraxalisin, kumarin, dan kikorin.

Tanaman obat-obatan biasanya mengandung banyak senyawa kimia berbeda yang bekerja secara individual maupun sinergis. Berbagai manfaat kesehatan *Taraxacum officinale* sebagian besar berasal dari zat pahit sesquiterpen lakton dan komponen fenol yang terkandung di dalamnya yang memiliki aktivitas antioksidan (Wirngo *et al.*, 2016:117).

2.5.5 Aktivitas Antioksidan *Taraxacum officinale*

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas baik melalui kemampuan donor atom hidrogen maupun kemampuannya meningkatkan aktivitas antioksidan enzim (Panjaitan *et al.*, 2011:323). Aktivitas tersebut mengakibatkan radikal bebas menjadi molekul stabil sehingga dapat mencegah sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas

Aktivitas antioksidan akar Dandelion berasal dari kandungan gugus fenol dalam *p-hydroxy phenylacetic acid* derivat *taraxacoside*, vitamin C, flavonoid (asam sikorik, luteolin, luteolin-7-glukosida Choi *et al.* (2010:page), asam klorogenik (Wirngo *et al.*, 2016:120)), dan karotenoid (Azhari & Apriliana, 2016:35). Senyawa polifenol berperan melindungi sel terhadap penurunan glutathione dengan cara meningkatkan kemampuan antioksidan enzim, seperti katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), glutathione reduktase (GR), dan glutathione peroksidase (GPx) (Samani *et al.*, 2015:153). Sebuah penelitian oleh Mahesh *et al* (2010:187) juga menyebutkan bahwa pemberian ekstrak etanol akar *Taraxacum officinale* pada tikus meningkatkan kadar GSH melalui sintesis *de novo* GSH atau regenerasi atau melalui keduanya. Hal tersebut juga didukung dalam jurnal Devaraj (2016:203) bahwa pada model yang mengalami stres oksidatif akibat induksi CCl₄, *Taraxacum officinale* mampu menurunkan depleksi glutathione (GSH).

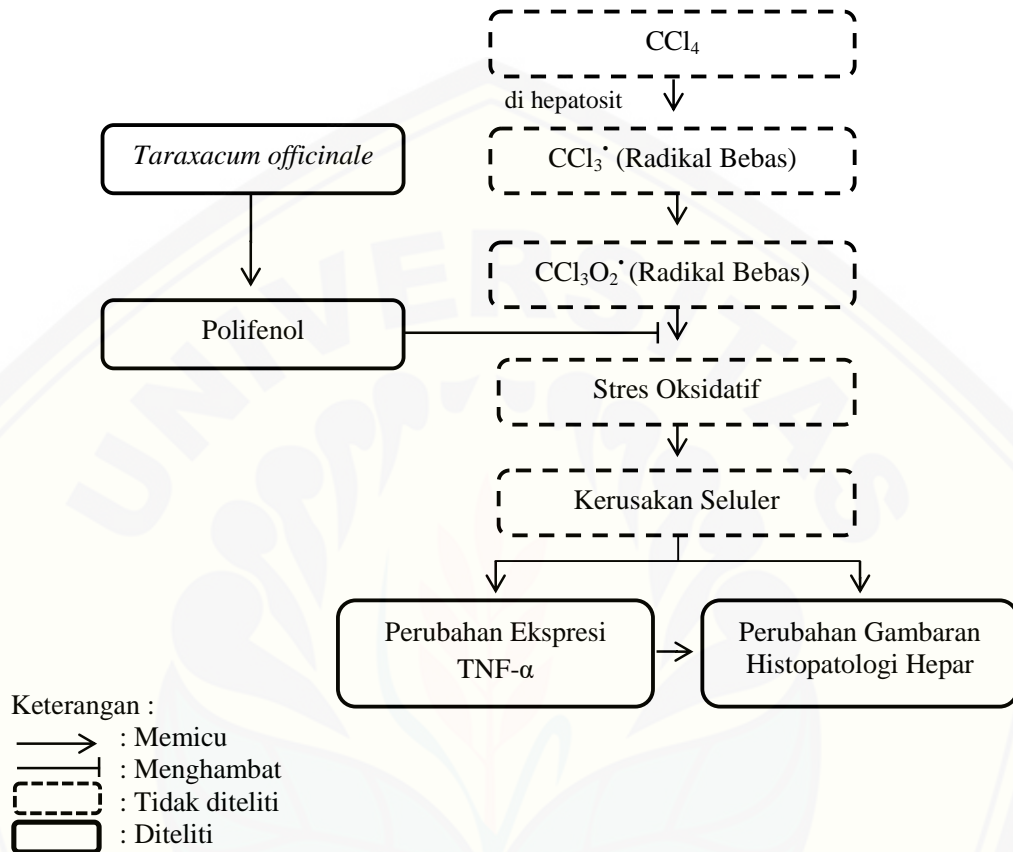
Selain meningkatkan kadar antioksidan enzim hepar, sebuah penelitian juga membuktikan kemampuan ekstrak akar Dandelion sebagai donor hidrogen dan “pemulung” radikal bebas (Schutz *et al.*, 2006:319). Selanjutnya senyawa-senyawa tersebut, yang berperan sebagai antioksidan, mampu menangkal radikal bebas sehingga mencegah dampak kerusakan yang dapat ditimbulkan olehnya (Samani *et al.*, 2015:153).

2.5.6 Toksisitas *Taraxacum officinale*

Dandelion sudah lama tersedia secara umum dalam bentuk makanan dan hampir tidak menimbulkan risiko yang membahayakan. Dandelion memiliki toksisitas yang rendah karena tidak adanya kandungan toksin atau alkaloid yang signifikan dalam tanaman tersebut (Schutz *et al.*, 2006:320). Ekstrak Dandelion telah tercantum dalam *Food and Drug Administration United States* sebagai “*generally recognized as safe*” (GRAS) untuk makanan dan suplemen. Alergi terhadap Dandelion dapat terjadi namun angka kejadiannya sangat jarang. Seseorang yang alergi terhadap tanaman famili Astereceae dimungkinkan juga dapat alergi terhadap *Taraxacum officinale*. Sebuah penelitian pada kelinci yang diberikan Dandelion dengan dosis sampai 6 g/kgBB tidak menunjukkan toksisitas (Yarnell & Abascall, 2009:37). Bahkan menurut Schutz *et al.* (2006:320) bahwa pemberian ekstrak etanol Dandelion sampai dosis 10 g/kgBB per oral dan 4 g/kgBB intraperitoneal memiliki toksisitas yang masih sangat rendah (Yarnell & Abascall, 2009:37).

2.6 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Diagram kerangka konseptual

Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ekstrak *Taraxacum officinale* memiliki aktivitas antioksidan (Laranjeira *et al.*, 2017:5; Wirngo *et al.*, 2016:117). Pada prinsip kerusakan hepar, CCl₄ dimetabolisme di RE halus hepatosit menjadi radikal bebas triklorometil (CCl₃•) (Mahesh *et al.*, 2010:175). Triklorometil dapat bereaksi dengan oksigen (O₂) kemudian membentuk radikal bebas lainnya yang lebih reaktif, yaitu triklorometilperoksi (CCl₃O₂•) (Panjaitan *et al.*, 2007:11). Produksi radikal bebas yang melebihi kapasitas tubuh menetralkannya menimbulkan keadaan stres oksidatif yang berakhir pada kerusakan seluler (Kumar *et al.*, 2013:14). Pada pengamatan mikroskopis hewan coba yang diberikan CCl₄ menunjukkan gambaran histologi hepar berupa nekrosis

sentrilobular dan degenerasi lemak hepar (Puspitasari, 2015:11). CCl_4 dapat meningkatkan kadar $\text{TNF-}\alpha$ secara bermakna dalam jaringan hepar hingga 1,5 kali dibandingkan kelompok normal (Sundari, 2014:56). $\text{TNF-}\alpha$ bekerja terhadap induksi inflamasi akut dan menginduksi apoptosis pada banyak sel (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013:226). Rangkaian proses kerusakan akibat CCl_4 dapat dicegah melalui pemberian antioksidan (Devaraj, 2016:203) (Kumar *et al.*, 2013:46). Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ekstrak Dandelion (*Taraxacum officinale*) memiliki aktivitas antioksidan yang berasal dari senyawa aktif fenol yang dikandungnya (Laranjeira *et al.*, 2017:5; Wirngo *et al.*, 2016:117). Sebagai antioksidan, *Taraxacum officinale* mampu menurunkan tingkat stres oksidatif melalui peningkatan kadar antioksidan enzim hepar dan bekerja sebagai donor-hidrogen dan “pemulung” radikal bebas (Schutz *et al.*, 2006:319).

2.7 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka hipotesis dari penelitian ini yaitu.

- a. Terdapat perbedaan ekspresi $\text{TNF-}\alpha$ tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl_4 setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).
- b. Terdapat perbedaan gambaran histopatologi hepar tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl_4 setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).

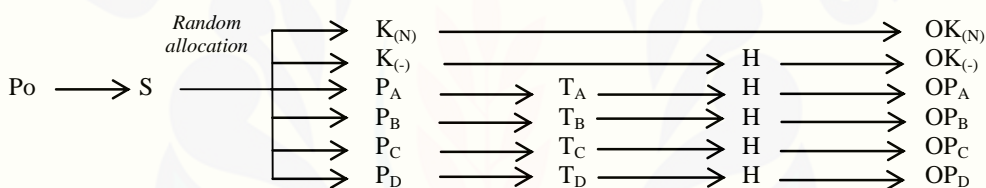
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu eksperimental murni (*true experimental laboratories*) secara *in vivo*.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan yaitu *post test only control group design*. Pengamatan dilakukan setelah sampel mendapat perlakuan berupa pemberian ekstrak akar *Taraxacum officinale* dan / atau CCl_4 . Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Keterangan :

Po : Populasi

S : Sampel random

K_(N) : Kelompok kontrol normal

K₍₋₎ : Kelompok kontrol negatif

P_A : Kelompok perlakuan A

P_B : Kelompok perlakuan B

P_C : Kelompok perlakuan C

P_D : Kelompok perlakuan D

T_A : Pemberian ekstrak akar *Taraxacum officinale* 250 mg/kgBB

T_B : Pemberian ekstrak akar *Taraxacum officinale* 500 mg/kgBB

T_C : Pemberian ekstrak akar *Taraxacum officinale* 750 mg/kgBB

T_D : Pemberian ekstrak akar *Taraxacum officinale* 1000 mg/kgBB

H : Pemberian CCl_4 5,8 mg/kgBB

OK_(N) : Pengamatan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar K_(N)

OK₍₋₎ : Pengamatan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar K₍₋₎

OP_A : Pengamatan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar P_A

OP_B : Pengamatan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar P_B

OP_C : Pengamatan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar P_C

OP_D : Pengamatan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar P_D

Gambar 3.1 Rancangan penelitian

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian ini yaitu seluruh tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

3.3.2 Sampel

Sampel dipilih dari populasi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi sampel penelitian meliputi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan, tikus sehat (bergerak aktif dan mata jernih), usia 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram. Kriteria eksklusi sampel penelitian meliputi tikus yang sakit. Sampel kemudian dibagi menjadi 6 kelompok menggunakan teknik *random allocation*.

3.3.3 Jumlah Sampel

Jumlah sampel untuk uji komparatif dihitung dengan *software* G*Power versi 3.0.10 menggunakan uji-F ANOVA. Hasil analisis dengan *power* 0,8 menunjukkan jumlah sampel yang dibutuhkan yaitu sebanyak 30 ekor, dapat dilihat pada Lampiran 3.1.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di lima tempat, yaitu Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember sebagai lokasi pembuatan ekstrak akar *Taraxacum officinale*, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebagai lokasi penyimpanan ekstrak, Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember sebagai lokasi terminasi hewan coba dan pengambilan organ hepar, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebagai lokasi pemeliharaan hewan coba, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebagai lokasi pengamatan preparat. Waktu pelaksanaan penelitian ini yaitu selama 2 bulan pada bulan Desember 2017- Januari 2018.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu variasi dosis ekstrak akar *Taraxacum officinale*, yaitu 250, 500, 750, dan 1000 mg/kgBB per oral setiap hari selama 14 hari.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut.

- a. Agen hepatotoksik CCl₄ diperoleh dari *Gamma Scientific Biolab*, Malang. Stok larutan CCl₄ 25 mM sebanyak 50 mL. Untuk menimbulkan kerusakan hepar akut, CCl₄ diberikan dengan dosis tunggal 5,8 mg/kgBB injeksi intraperitoneal kemudian ditunggu selama 1 x 24 jam.
- b. Spesies, jenis kelamin, usia, dan berat badan hewan coba, yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan usia 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram. Sampel diperoleh dari Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- c. Pemeliharaan hewan coba, yaitu dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam kondisi standard (suhu ruangan 26°C hingga 28°C, 60% hingga 80% kelembaban relatif, 12 jam siklus siang/malam). Hewan coba diletakkan dalam kandang, yang berasal dari kotak plastik, yang masing-masing berisi dua ekor tikus. Sekam dalam kandang diganti setiap 3 hari sekali. Hewan coba diberi makanan BR2 dan minuman *ad libitum* yang diisi ulang setiap hari. Adaptasi hewan coba dilaksanakan selama 10 hari sebelum dilakukan perlakuan.
- d. Pengambilan organ, yaitu hewan coba dimasukkan dalam toples berisi eter ditunggu hingga tidak sadarkan diri. Selanjutnya diterminasi untuk diambil

bagian organ hepar. Organ dicuci dengan NaCl fisiologis, selanjutnya direndam dalam tabung plastik berisi formaldehida 10% selama 24 jam.

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Ekstrak Akar *Taraxacum officinale*

Taraxacum officinale diambil dari kawasan Jampit, Ijen, Bondowoso. Kemudian diambil bagian akarnya. Ekstraksi dengan menggunakan etanol 70% Akar yang sudah bersih dipotong-potong tipis secara horizontal dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 45°C. Akar yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi bubuk. Bubuk akar direndam dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:6 selama 24 jam, lalu disaring dengan menggunakan kertas Whatman No. 40 dengan bantuan *vacuum*. Hasil saringan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak dilarutkan dengan CMC-Na 1% dan dibagi menjadi 4 dosis yang berbeda, yaitu 250, 500, 750, dan 1000 mg/kgBB. Ekstrak diberikan setiap hari selama 14 hari per oral sebanyak 3 ml. Ekstrak yang telah siap digunakan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.

3.6.2 Ekspresi TNF- α

Jaringan hepar yang diamati dicat dengan teknik imunohistokimia. Antibodi primer poliklonal anti TNF- α diperoleh dari *Gamma Scientific Biolab*, Malang. Pengecatan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Pengamatan dimulai dengan melakukan pengambilan foto preparat dari mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali dalam lima lapangan pandang. Ekspresi TNF- α tampak berupa bercak warna cokelat yang terekspresi pada bagian sitoplasma hepatosit. Nilai ekspresi TNF- α pada setiap lapangan pandang diperoleh dari persentase area dan intensitas warna cokelat. Rumus untuk memperoleh nilai ekspresi TNF- α dapat dilihat di bawah ini.

$$\text{Ekspresi TNF-}\alpha \text{ (\%)} = (\text{PK} \times \text{IK}) + (\text{PS} \times \text{IS}) + (\text{PL} \times \text{IL}) + (\text{PN} \times \text{IN})$$

Keterangan:

- P : persentase area
 I : skor intensitas warna
 K : kuat (*high positive*)
 S : sedang (*positive*)
 L : lemah (*low positive*)
 N : negatif (*negative*)

(Sumber: Winarto & Budiono, 2009:36)

Persentase area diperoleh dari analisa foto preparat menggunakan *software* ImageJ sebanyak tiga kali pengulangan pada setiap lapangan pandang. Keluaran dari *software* tersebut berupa persentase area yang terbagi menjadi *percentage of negative*, *percentage of low positive*, *percentage of positive*, dan *percentage of high positive*. Cara menganalisa persentase area menggunakan *Software* ImageJ dapat dilihat pada Lampiran 3.2. Skor intensitas setiap warna dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Skor intensitas warna

Intensitas Warna	Skor
intensitas negatif (<i>negative</i>)	0
intensitas lemah/ <i>bluish tint</i> (<i>low positive</i>)	1
intensitas sedang/kuning keemasan (<i>positive</i>)	2
intensitas kuat/cokelat (<i>high positive</i>)	3

(Sumber: Winarto & Budiono, 2009:36)

Nilai ekspresi TNF- α dari lima lapangan pandang dijumlahkan kemudian dirata-rata hingga diperoleh rata-rata ekspresi TNF- α setiap kelompok. Ekspresi TNF- α merupakan variabel dengan skala pengukuran rasio.

3.6.3 Gambaran Histopatologi Hepar

Preparat dibuat dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin. Pembacaan nilai skor histopatologi hepar dilakukan dengan mengamati preparat di bawah mikroskop cahaya pada lima lapangan pandang dengan perbesaran 400 kali. Pada setiap lapangan pandang, sebanyak 20 hepatosit pada zona 3 asinus lobulus hepar

dinilai berdasarkan skor histologi modifikasi *Manja Roenigk*, dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Skor histologi hepatosit modifikasi *Manja Roenigk*

Skor (per 20 sel)	Integritas Gambaran Hepar
1	normal
2	degenerasi parenkimatososa
3	degenerasi hidrofik
4	nekrosis

(Sumber: Nursheha & Febrianti, 2015:199)

Hepatosit dikategorikan normal jika tampak berbentuk poligonal dan sitoplasma berwarna merah homogen. Hepatosit dikategorikan mengalami degenerasi parenkimatososa jika sitoplasmanya tampak keruh dan batas inti sel dengan sitoplasma kurang jelas. Hepatosit dikategorikan mengalami degenerasi hidrofik jika tampak vakuola baik pada sitoplasma sel maupun di sekeliling inti sel. Hepatosit dikategorikan mengalami nekrosis jika inti sel tampak piknotik (bulat, ukuran lebih kecil, berwarna gelap), karioreksis (inti sel hancur membentuk fragmen kromatin yang menyebar), ataupun kariolisis (kromatin dalam inti sel larut sehingga tidak tampak).

Nilai skor hepatosit dari lima lapangan pandang dijumlahkan kemudian dirata-rata hingga diperoleh rata-rata skor setiap hepatosit setiap kelompok. Derajat kerusakan hepatosit merupakan variabel dengan skala pengukuran ordinal.

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut.

- a. Alat untuk pembuatan ekstrak yaitu pisau, oven, blender, timbangan, *vacuum*, *rotary evaporator*, dan botol.
- b. Alat untuk pemeliharaan hewan coba yaitu masker, *handscoon*, kotak plastik (kandang), kayu dan kawat (penutup kandang), timbangan, tempat makan, tempat minum, dan label nama.

- c. Alat untuk perlakuan hewan coba yaitu masker, *handscoon*, sonde, spuit, sapu tangan, *beaker glass*, dan pengaduk.
- d. Alat untuk terminasi dan pengambilan organ hepar yaitu masker, *handscoon*, *minor set*, papan fiksasi, tabung plastik.
- e. Alat untuk pengamatan histopatologi hepar yaitu mikroskop cahaya.

3.7.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut.

- a. Bahan pembuatan ekstrak yaitu akar *Taraxacum officinale*, etanol 70%, CMC-Na 1%, kertas Whatman No. 40.
- b. Bahan pemeliharaan sampel yaitu sekam, dan pakan BR2.
- c. Bahan perlakuan sampel coba yaitu ekstrak akar *Taraxacum officinale*, CMC-Na 1%.
- d. Bahan zat hepatotoksik yaitu stok larutan CCl_4 25 mM sebanyak 50 mL.
- e. Bahan terminasi dan pengambilan organ hepar yaitu eter, formaldehida 10%, dan NaCl 10%.
- f. Bahan pembuatan preparat yaitu Hematoksin-Eosin dan antibodi primer poliklonal anti TNF- α .

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Kelayakan Etik

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus yang dalam pelaksanaannya sudah mendapat sertifikat kelayakan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang terlampir pada Lampiran 3.3 dengan nomor 1.149/H25.1.11/KE/2018. Prosedur ini bertujuan untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba.

3.8.2 Determinasi *Taraxacum officinale*

Determinasi dilakukan dengan mencocokkan *Taraxacum officinale* yang diambil dari kawasan Jampit, Ijen, Bondowoso, dengan tanaman *Taraxacum officinale* berdasarkan acuan determinasi tanaman *Taraxacum officinale*.

3.8.3 Pemeliharaan Hewan Coba

Pemeliharaan 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Hewan coba diletakkan dalam kandang berupa *box* plastik dengan tutup yang terbuat dari kawat dan kayu, yang masing masing berisi dua ekor tikus. Pemeliharaan atau adaptasi hewan coba dilakukan selama 10 hari untuk memberi waktu bagi hewan coba menyesuaikan dengan lingkungan baru sekaligus meningkatkan berat badan hewan coba hingga mencapai 150-200 gram. Pada hari ke-10, hewan coba dibagi menjadi enam kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus secara *random allocation*. Kelompok tersebut terdiri dari dua kelompok kontrol, yaitu kontrol normal ($K_{(N)}$) dan kontrol negatif ($K_{(-)}$), serta empat kelompok perlakuan yaitu P_A , P_B , P_C , dan P_D .

3.8.4 Pembuatan dan Induksi Ekstrak Akar *Taraxacum officinale*

Taraxacum officinale didapatkan dari kawasan Jampit, Ijen, Bondowoso. Sebanyak 1,912 kg akar Dandelion (*Taraxacum officinale*) yang diperoleh kemudian dibersihkan, dipotong-potong tipis secara horizontal dan diangin-anginkan hingga tidak tampak basah. Kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 45°C. Akar yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi bubuk halus dan menghasilkan 210,88 g simplisia kering.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Bubuk akar dimaserasi dalam pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:6 selama 1 x 24 jam pada suhu kamar. Hasil perendaman disaring menggunakan corong Buchner yang dilapisi kertas Whatman No. 40 sebanyak dua kali dengan bantuan *vacuum*. Residu sisa perendaman dimaserasi kembali dengan cara yang sama seperti sebelumnya. Filtrat hasil saringan dipindahkan ke *boiling flask* untuk dipekatkan dalam *rotary evaporator* supaya pelarut etanol menguap hingga menghasilkan ekstrak kental sebanyak 60 g. Ekstrak dilarutkan dengan CMC-Na 1% dan dibagi dalam 4 dosis yang berbeda yaitu 250, 500, 750, dan 1000 mg/kgBB. CMC-Na 1% diperoleh dari 1 gram CMC-Na dilarutkan menggunakan akuades 50 ml, didiamkan selama 24 jam hingga CMC-Na mengembang. Setelah itu, tambahkan lagi dengan

akuades hingga 100 mL (Puspitasari, 2015:24). Pada waktu yang sama, kelompok kontrol normal dan kontrol negatif diberikan plasebo CMC-Na 1% per oral sebanyak 3 ml selama 14 hari.

Ekstrak yang siap digunakan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C. Ekstrak diberikan pada kelompok perlakuan P_A, P_B, P_C, dan P_D sebanyak 3 ml per oral dengan menggunakan sonde selama 14 hari. Sonde ekstrak dilakukan oleh orang yang terampil dibidangnya sehingga dapat terlaksana dengan cepat, tepat dan tidak melukai hewan coba.

3.8.5 Pembuatan dan Pemberian CCl₄

Stok larutan CCl₄ 25 mM diperoleh dari *Gamma Scientific Biolab*, Malang sebanyak 50 mL. Dosis CCl₄ ditentukan berdasarkan penghitungan di bawah ini.

Massa zat terlarut CCl₄ :

$\text{mM} = \frac{n \text{ (mmol)}}{V \text{ (L)}}$ $25 \text{ mM} = \frac{\text{Massa}}{Mr \text{ CCl}_4} \times \frac{1}{V \text{ (L)}}$ $25 \text{ mM} = \frac{\text{Massa}}{12 + (4 \times 35,5)} \times \frac{1000 \text{ L}}{50}$ $25 \text{ mM} = \frac{\text{Massa}}{154} \times 20 \text{ L}$ $\text{Massa} = \frac{25 \text{ mM} \times 154}{20 \text{ L}}$ $= 192,5 \text{ mg}$	<p>Keterangan:</p> <p>mM : miliMolar</p> <p>V : volume larutan</p> <p>Massa : massa zat terlarut</p> <p>Mr : Massa relatif massa zat terlarut</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Dosis CCl₄ (Volume injeksi 1,5 ml/kgBB) :

$$\text{Dosis} = \frac{1,5 \text{ ml}}{\text{kgBB}} \times \frac{192,5 \text{ mg}}{50 \text{ mL}}$$

$$= 5,8 \text{ mg/kgBB}$$

Injeksi CCl₄ dilakukan oleh orang yang terampil dibidangnya sehingga dapat terlaksana dengan cepat, tepat dan tidak melukai hewan coba.

3.8.6 Terminasi Hewan Coba

Hewan coba dimasukkan dalam toples berisi eter ditunggu hingga tidak sadarkan diri. Selanjutnya diterminasi untuk diambil bagian organ hepar. Organ

dicuci dengan NaCl fisiologis, selanjutnya direndam dalam tabung plastik berisi formaldehida 10% selama 24 jam.

3.8.7 Pengecatan Imunohistokimia

Tahap awal pengecatan metode imunohistokimia yaitu deparafinisasi dalam larutan *xylol* serta rehidrasi menggunakan alkohol 100% (absolut), 96%, 80%, dan 70% selama masing masing 4 menit. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Kemudian dilanjutkan dengan *Blocking Endogen Peroksidase* 0,5% selama 30 menit dan sesudahnya cuci dengan air mengalir selama 5 menit. Proses selanjutnya yaitu *Decloaking Chamber* (110°C selama 30 menit) dengan larutan Diva, lalu dinginkan selama \pm 30 menit. Setelah itu cuci dalam PBS pH 7,4 selama 3 menit. Lalu *blocking* dengan *Normal Horse Serum* 5% selama 30 menit dilanjutkan dengan pemberian antibodi primer poliklonal anti TNF- α dan didiamkan selama 60 menit kemudian cuci dalam PBS pH 7,4 selama 3 menit. Jaringan ditetesi dengan antibodi sekunder *Universal Link* selama 30 menit kemudian dicuci lagi dalam PBS pH 7,4 selama 3 menit. Trekavidin HRP Label selama 30 menit kemudian cuci kembali dalam PBS pH 7,4 selama 3 menit. Lalu pemberian DAB dan substrat buffer selama 2-5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Selanjutnya *counterstain* dengan pewarnaan Hematoksilin selama 5-10 menit lalu dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Tahap selanjutnya dehidrasi dengan alkohol 80%, 96%, 100% (absolut) selama masing masing 5 menit. Sesudahnya yaitu tahap *clearing* dengan *xylol* 1, *xylol* 2, dan *xylol* 3 selama masing masing 5 menit. Tahap akhir yaitu *mounting* dengan *cover glass*.

3.8.8 Pengecatan Hematoksilin-Eosin (HE)

Pembuatan preparat dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin (HE) dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSD Soebandi, Jember. Sediaan dipotong dengan mikrotom dengan ketebalan 3-5 milimikron. Hasil potongan dolekatkan pada kaca objek dan diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

Setelah dikeringkan dan ditutup dengan *cover glass*, preparat siap diamati di bawah mikroskop.

3.8.9 Pengamatan Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Hepar

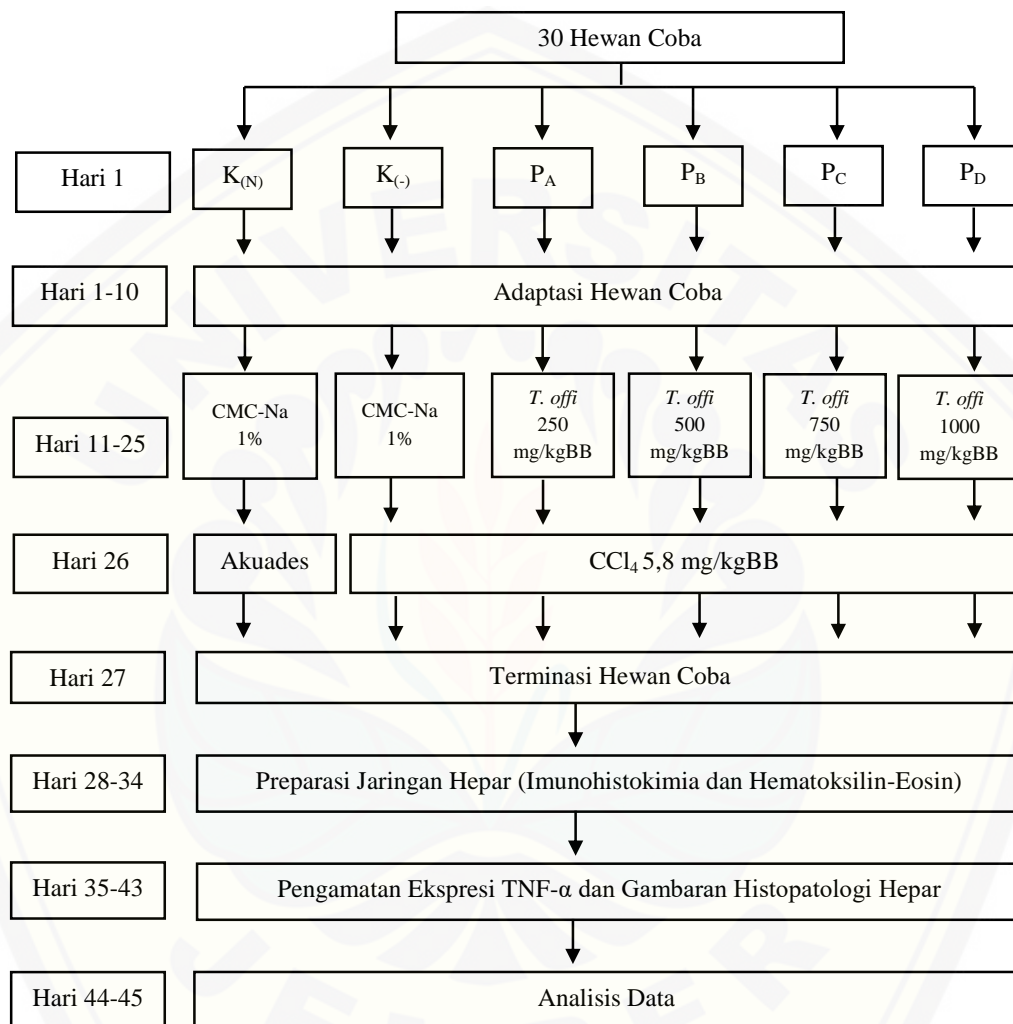
Pengamatan ekspresi TNF- α dilakukan dengan bantuan *software* ImageJ sebanyak tiga kali pengulangan. Pengamatan gambaran histopatologi hepar dilakukan oleh peneliti dan pengamat lain dan dikonfirmasi oleh Dosen Pembimbing.

3.9 Analisis Data

Analisis data penelitian ini menggunakan *software* statistik *for Windows*. Data yang diperoleh merupakan hasil penghitungan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi hepar. Skor hepatosit didapat dari hasil penghitungan dan transformasi skala pengukuran data ordinal berupa derajat kerusakan hepatosit menjadi data numerik menggunakan *Method of Successive Interval (MSI)* supaya dapat dilakukan penghitungan lebih lanjut. Kemudian dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene's test* terhadap data hasil penelitian. Selanjutnya menggunakan uji statistik *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD*.

3.10 Alur Penelitian

Alur penelitian disajikan dalam bentuk skema dan dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

- a. Tidak terdapat perbedaan ekspresi TNF- α tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).
- b. Terdapat perbedaan gambaran histopatologi hepar tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ setelah pemberian ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka diperlukan saran sebagai berikut.

- a. Perlu adanya studi terhadap dosis efektif dan uji toksisitas ekstrak etanol 70% akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).
- b. Perlu adanya studi tentang pengaruh ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*) terhadap Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi CCl₄ dengan menggunakan indikator kerusakan hepar lainnya yang lebih spesifik dan sensitif.
- c. Perlu adanya studi tentang kandungan metabolit sekunder akar Dandelion (*Taraxacum officinale*).

DAFTAR PUSTAKA

- Azhari, N. T. P., dan E. Aprilina. 2016. Peranan Jombang (*Taraxacum officinale*) sebagai hepatoprotektor. *Majority*. 5(5): 32-36.
- Bachri, M. S. 2011. Efek hepatoprotektif ekstrak metanol Jahe Merah (*Zingiber officinale Roscoe*) pada mencit jantan yang diinduksi CCl₄. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 1(2): 25-41.
- Bjornsson, E. S. 2016. Hepatotoxicity by drugs: the most common implicated agents. *International Journal of Molecular Sciences*. 17(224): 1-7.
- Baratawidjaja, K. G., dan I. Rengganis. 2013. *Imunologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta: FK UI.
- Cahaya, N., dan A. R. M. Safitri. 2014. Evaluasi obat-obatan berpotensi hepatotoksik pada pasien dengan gangguan fungsi hepar di ruang rawat inap RSUD Ulin Banjarmasin. *Jurnal Pharmascience*. 1(2): 16-26.
- Choi, U., O. Lee, J. H. Yim, C. Cho, Y. K. Rhee, S. Lim, dan Y. Kim. 2010. Hypolipidemic and antioxidant effects of Dandelion (*Taraxacum officinale*) root and leaf on cholesterol-fes rabbits. *International Journal of Molecular Science*. 11: 67-78.
- Devaraj, E. 2016. Hepatoprotective properties of Dandelion: recent update. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 6(4): 202-205.
- Drake, R. L., A. W. Vogl, dan A. W. M. Mitchell. 2012. *Gray's Basic Anatomy*. 1st Edition. Elsevier. V. P. Kalanjati. 2014. *Gray Dasar Dasar Anatomi*. Edisi 1. Singapore: Elsevier.
- Ermayanti, T. M., I. Lestari, dan A. Salamah. 2014. Variasi jumlah kromosom planlet *Taraxacum officinale* Weber ex FH. Wigg hasil regenerasi *in vitro* dari eksplan akar, helai daun dan tangkai daun (chromosome number variation of *in vitro Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg. plantlets regenerated from root, leaf blade and petiole explants). *Jurnal Biologi Indonesia*. 10(2): 179-189.
- Eroschenko, V. P. 2008. *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*. 11th Edition. USA: Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer Health Inc. B. U. Pendit. 2014. *Atlas Histologi DiFiore*. Edisi 11. Jakarta: EGC.
- Hafiizh, E. A., D. R. Wulandari, dan T. M. Ermayanti. 2010. Seleksi media dan perbanyak tunas *Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg melalui

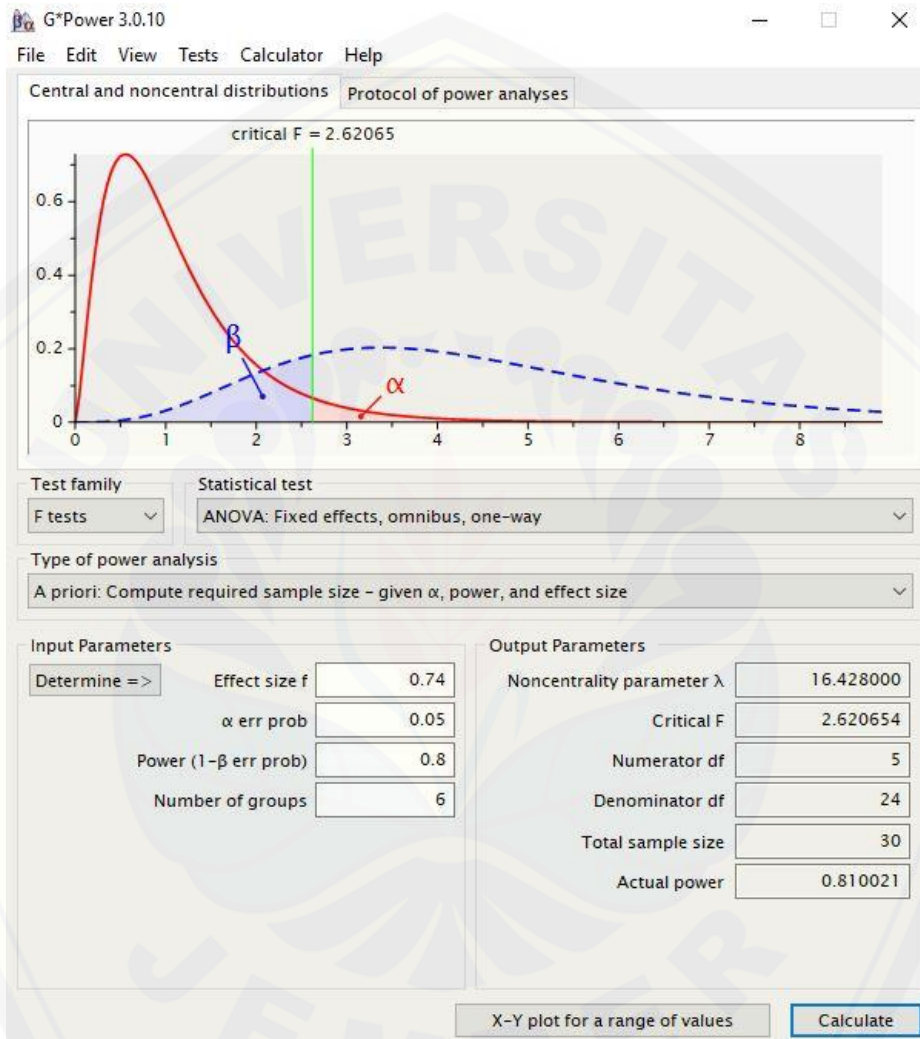
- regenerasi spontan secara *in vitro* untuk penyediaan bibit berkualitas. *Berkala Peneitian Hayati*. 4A: 91-98.
- Hall, J. E. 2014. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 12th Edition. Singapore: Elsevier. E. I. I. Ilyas. 2014. *Guyton dan Hall Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. Singapore: Elsevier.
- Indriyanti, W., R. Desvianto, Sulistyaningsih, dan I. Musfiroh. 2015. Inulin dari akar Jombang (*Taraxacum officinale* Webb.) sebagai prebiotik dalam yoghurt sinbiotik. *IJPST*. 2(3): 83-89.
- Jannu, V., P. G. Baddam, A. K. Boorgula, dan S. R. Jambula. 2012. A review on hepatoprotective plants. *International Journal of Drug Development & Research*. 4(3): 1-8.
- Koo, H-N., S-H. Hong, B-K. Song, C-H. Kim, Y-H. Yoo, dan H-M. Kim. 2003. *Taraxacum officinale* induces cytotoxixyty through TNF- α and IL-1 α secretion in Hep G2 cells. *Elsevier*. 74(2004): 1149-1157.
- Kumar, V., A. K. Abbas, dan J. C. Aster. 2013. *Robbins Basic Pathology*. 9th Edition. Elsevier. I. M. Nasar, dan S. Cornain. 2015. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 9. Singapore: Elsevier.
- Laranjeira, C., A. Nogueira, R. Almeida, A. I. Oliveira, C. Pinho, dan A. Cruz. 2017. Antioxidant activity and cytotoxicity of *Taraxacum hispanicum* aqueous and ethanolic extracts on hepG2 cells. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 9(1): 5-12.
- Lintong, P., C. Kairupan, dan P. Lintong. 2013. Gambaran histopatologik hepar tikus Wistar yang Diberikan air rebusan daun Sendok (*Plantago Major*) pasca induksi karbon tetraklorida (CCl₄). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*. 1(2): 935-939.
- Loho, I. M., dan I. Hasan. 2014. Drug induced liver injury – tantangan dalam diagnosis. *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. 41(3): 167-170.
- Mahesh, A., R. Jeyachandran, L. Cinderella, D. Thangadurai, V. P. Veerapur, dan D. M. Rao. 2010. Hepatocurative potential of sesquiterpene lactones of *Taraxacum officinale* on carbon tetrachloride induced liver toxicity in mice. *Acta Biologica Hungarica*. 61(2): 175-190.
- Misitahari, M. I. 2011. Pemberian Growth Hormone Menurunkan Kadar tumor necrosis factor- α (TNF- α) pada Tikus Jantan yang Dislipidemia. *Tesis*. Denpasar: Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Udayana.

- Nawawi, I., I. Daqiqil 'id, As-Sa'di, Al-Utsaimin., dan S. Al-Huwaithi. 2006. *Al-Arba'in An-Nawawiyah*. Mesir: Markaz Fajr. A. Syaikhu. 2006. *Syarah Arbain An-Nawawi*. Jakarta: Darul Haq.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi Revisi. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Nursheha, A., dan N. Febrianti. 2015. Pengaruh ekstrak daun Cincau Hijau (*Cyclea Barbata Miers.*) terhadap gambaran histopatologik hepar mencit (*Mus Musculus*) yang diinduksi MSG sebagai sumber belajar biologi SMA kelas XI. *JUPEMASH-PBIO*. 1(2): 198-203.
- Panjaitan, R. G. P., E. Handharyani, Chairul, Masriani, Z. Zakiah, dan W. Manalu. 2007. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hepar dan ginjal tikus. *Makara Kesehatan*. 11(1): 11-16.
- Panjaitan, R. G. P., W. Manalu, E. Handharyani, dan Chairul. 2011. Aktivitas hepatoprotektor ekstrak metanol akar Pasak Bumi dan fraksi-fraksi turunannya. *Jurnal Veteriner*. 12(4): 319–325.
- Puspitasari, MM. R. 2015. Efek Hepatoprotektif Pemberian Jangka Pendek Ekstrak Etanol Kulit Buah *Persea americana* Mill. terhadap Aktivitas ALT-AST pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Putri, C. P. K. S. 2015. Efek Hepatoprotektor Cuka Apel *Anna* terhadap Kerusakan Histologi Sel Hepar Wistar yang Diinduksi Parasetamol. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Ramos-Vara, J. A. 2005. Technical aspects of immunohistochemistry. *Animal Disease Diagnostic Laboratory and Department of Veterinary Pathobiology, Purdue University*. 42(4): 405-426.
- Samani, M. A., N. K. Farkhad, N. Azimi, A. Fasihi, E. A. Ahandani, dan M. R. Kopaci. 2015. Medicinal plants with hepatoprotective activity in iranian folk medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 5(2): 146-157.
- Schutz, K., R. Carle, dan A. Schieber. 2006. *Taraxacum* – a review on its phytochemical and pharmacological profile. *Elsevier*. 107(2006): 313-323.
- Sherwood, L. 2013. *Introduction to Human Physiology*. 8th Edition. EGC. B. U. Pendit. 2015. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem*. Edisi 8. Jakarta: EGC.
- Sulistianto, D. E., M. Harini, dan N. S. Handajani. 2004. Pengaruh pemberian ekstrak buah Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl] terhadap struktur histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) setelah

- perlakuan dengan karbon tetraklorida (CCl₄) secara oral. *BioSMART*. 6(2): 91-98.
- Sundari, N. 2014. Kajian Aktivitas Antioksidan, Modulasi Sitokin TNF- α dan TGF- β 1 oleh Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) pada Pencegahan Fibrosis Hati pada Tikus yang diinduksi Karbon Tetraklorida. *Tesis*. Jakarta: Program Magister Ilmu Biomedik Universitas Indonesia.
- Syahdrajat, T. 2017. *Panduan Penelitian untuk Skripsi Kedokteran dan Kesehatan*. CV Sunrise.
- Universitas Jember. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Edisi 4. Jember: UPT Penerbitan Universitas Jember.
- Weber, L. W. D., M. Boll, dan A. Stampfl. 2003. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Review in Toxicology*. 33(2): 105-136.
- Wirngo, F. E., M. N. Lambert, dan P. B. Jeppesen. 2016. The physiological effects of Dandelion (*Taraxacum officinale*) in type 2 diabetes. *The Review of Diabetic Studies*. 13(2-3): 113-131.
- Yarnell, E., dan K. Abascal. 2009. Dandelion (*Taraxacum officinale* and *T mongolicum*). *Integrative Medicine*. 8(2): 35-38.
- Winarto, dan U. Budiono. 2009. Perbandingan sekresi IL-10 di jaringan sekitar luka insisi dengan dan tanpa infiltrasi levobupivakain: studi imunohistokimia pada tikus wistar. *Jurnal Anestesiologi Indonesia*. 1(1): 32-41.
- Tabassum, N., M. Y. Shah, M. A. Qazi, dan A. Shah. 2010. Prophylactic activity of extract *Taraxacum officinale* Weber against hepatocellular injury induced in mice. *Pharmacologyonline*. 2:344-352.
- Tamad, F. S. U., Z. S. Hidayat, dan H. Sulisty. 2011. Gambaran histopatologi hepatosit tikus putih setelah pemberian Jintan Hitam dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 1500 mg/kgBB selama 21 hari (subkronik). *Mandala of Health*. 5(3).

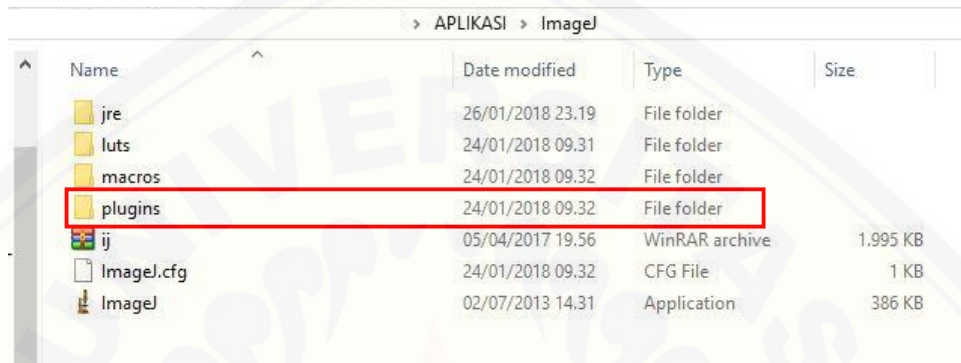
LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Analisis Jumlah Sampel dengan *Software G*Power*

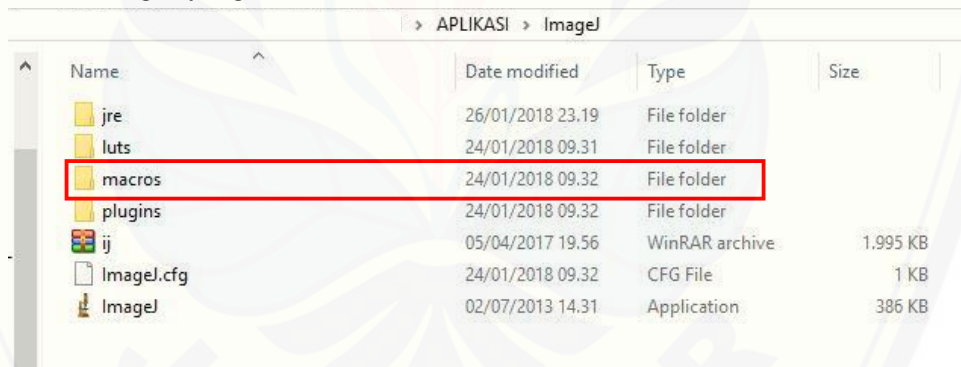


Lampiran 3.2 Analisis Persentase Area dengan Software ImageJ

1. *Download software* di link berikut <http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html> kemudian *install* mengikuti petunjuk.
2. *Download IHC_profiler.zip* yang berisi folder **IHC profiler** dan **IHC_Profiler.txt**.
3. Salin kedua file (**IHC profiler** dan **IHC_Profiler.txt**) dan tempel di Folder *Plugins* di lokasi ImageJ yang telah *diinstall*.

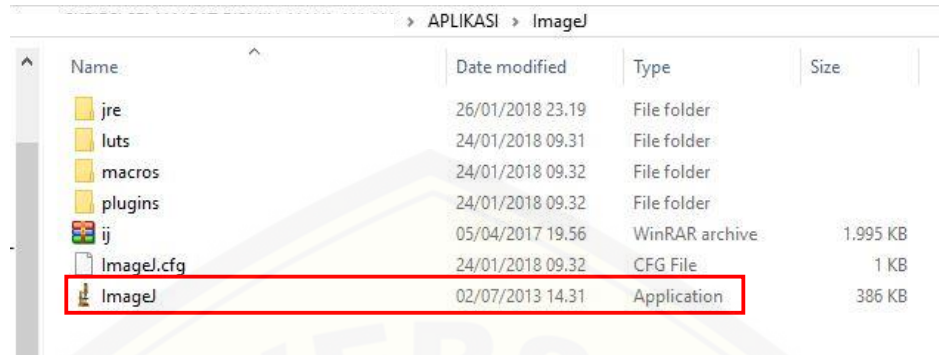


4. Sebagai tambahan, salin **IHC_Profiler.txt** dan tempel di Folder *Macros* di lokasi imageJ yang telah *diinstall*.

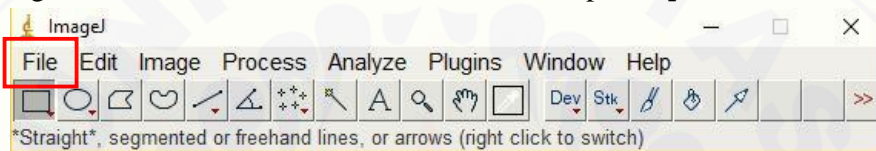


5. *Restart* ImageJ, bila aplikasi sedang dibuka

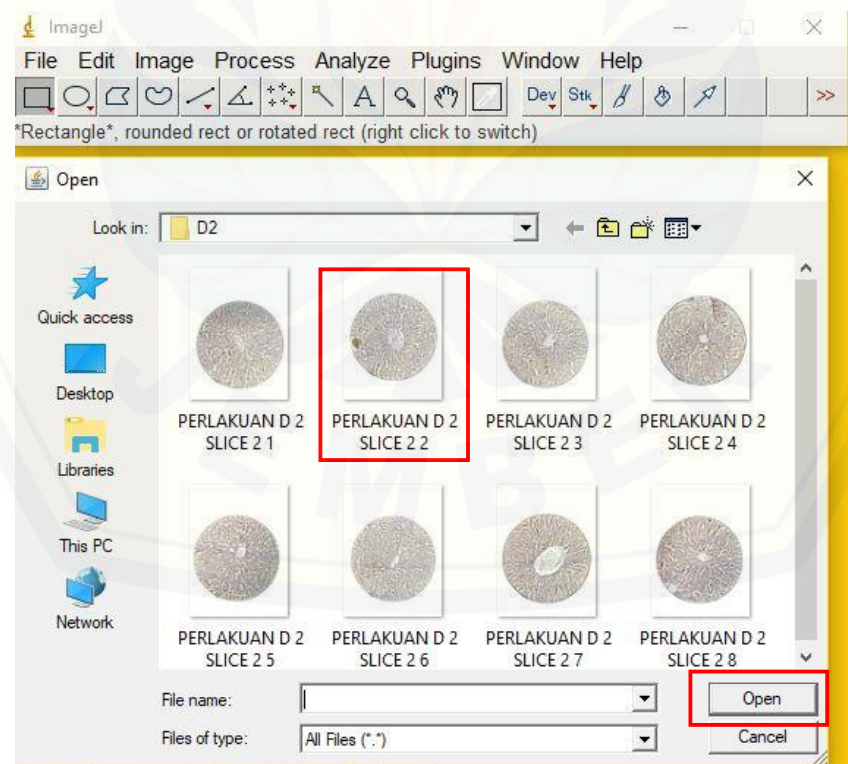
6. Buka aplikasi ImageJ.



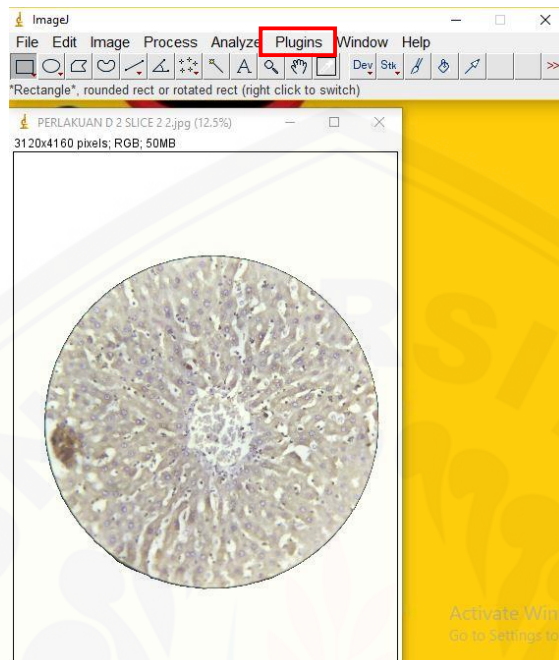
7. Berikut tampilan utama aplikasi ImageJ. Buka folder yang berisi foto yang ingin dianalisis. Klik **File** menu bar, kemudian pilih **Open**.



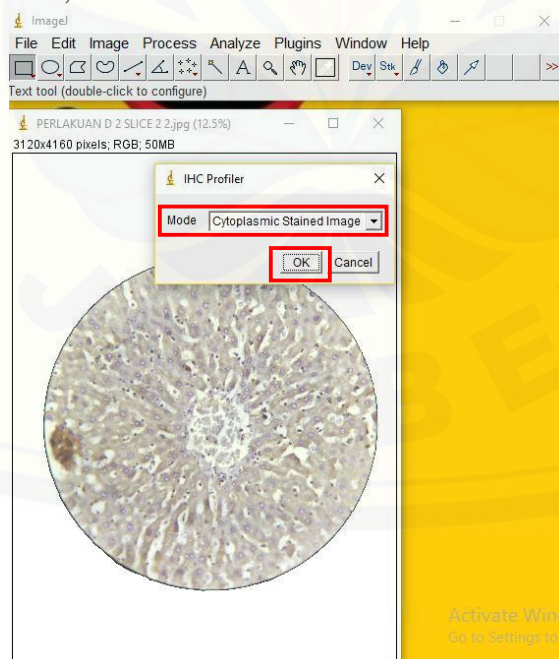
8. Setelah folder terpilih, pilih gambar yang akan dianalisis, kemudian klik **Open**.



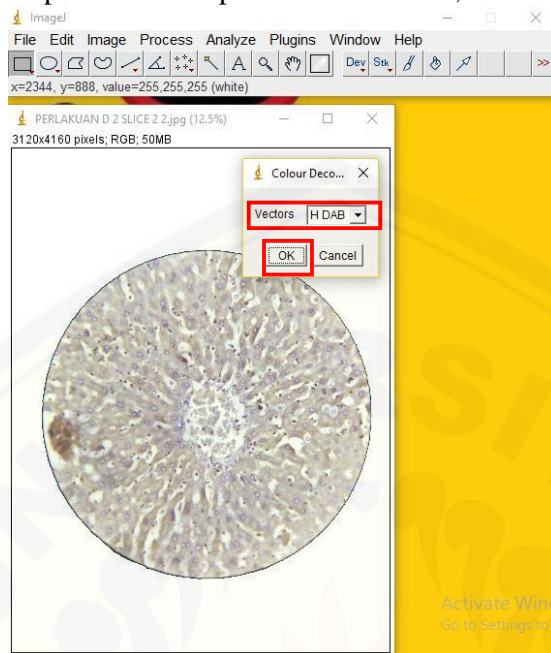
9. Berikut tampilan setelah gambar telah dipilih. Kemudian klik *Plugins* pada menu bar dan pilih *IHC Profiler*.



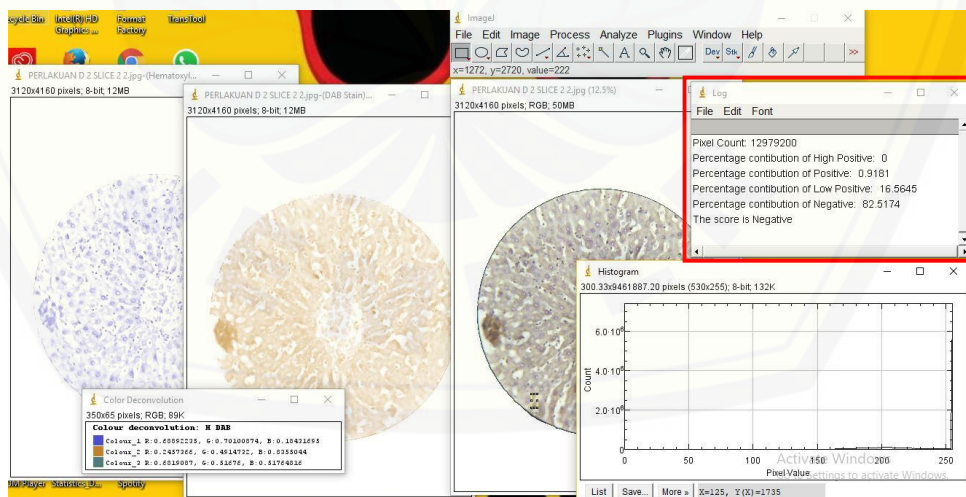
10. Berikut tampilan yang akan muncul. Pilih *Cytoplasmic Stained Image* pada kotak **Mode**, kemudian klik **OK**.



11. Kemudian pilih **H DAB** pada kotak *Vectors*, kemudian klik **OK**.



12. Berikut tampilan yang muncul 1) dua pecahan foto berdasarkan Hematoxylin dan DAB staining; 2) kotak menu *Color Deconvolution*; 3) kotak menu Histogram; dan 4) kotak menu Log, yang berisi hasil analisis persentase area berwarna coklat yang dibedakan menjadi *percentage of negative, low positive, positive, high positive*, yang mana data tersebut digunakan untuk menghitung nilai ekspresi TNF- α .



13. Bila ingin menganalisa gambar lainnya, maka lakukan hal yang sama seperti di atas.

Lampiran 3.3 Etik Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK***ETHICAL APPROVA*

Nomor : 1. 149 /H25.1.11/KE/2018

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

PENGARUH AKAR DANDELION (*Taraxacum officinale*) TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI CCl₄

Nama Peneliti Utama : Nourma Sabila
Name of the principal investigator

NIM : 142010101046

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 09 Februari 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak akar dandelion agar didapatkan kadar yang diinginkan..
- Perlakuan dengan injeksi intraperitoneal dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan dengan cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba).
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan dan pembacaan preparat Histo PA hepar dan IHC agar didapat sediaan yang memenuhi syarat pembacaan.
- Pembacaan Histo PA hepar dan TNF- α menggunakan IHC dilakukan oleh orang yang kompeten, minimal oleh 2 orang serta menggunakan metode blinding. Mohon di cantumkan dalam metodologi penelitian.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.


Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK



Jember, 16 Januari 2018
Reviewer



dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 3.4 Hasil Identifikasi Tumbuhan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
Jl. Kalimantan Kampus Tegalboto, Jember 68121;
Telp: (0331) 334054, Fax: (0331) 338422, e-mail: soedradjad.faperta@unej.ac.id
www.unej.ac.id

Nomor : 078/UN25.1.3/BP/PS.8/2017
Lampiran : 2 (lembar) lembar
Hal : Hasil Identifikasi Tumbuhan

3 Januari 2018


Yth : **Pembantu DEKAN I**
Fakultas Kedokteran
Universitas Jember

Menindaklanjuti surat saudara Nomor: 1571/UN25.1.11/LT/2017, tanggal 18 Desember 2017 tentang Permohonan Ijin Penelitian untuk identifikasi tanaman, maka bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi morfologis 1 (satu) set contoh tanaman yang terdiri dari daun, akar, dan bunga (terlampir), dalam rangka penyusunan skripsi, atas nama:

Nama : Nourma Sabila
NIM : 142010101046

Atas kepercayaannya disampaikan terimakasih.

Ketua


Ir. R. Soedradjad, M.T.
NIP. 195707181984031001

Tembusan:

1. Dekan Fakultas Pertanian UNEJ (sebagai Laporan)
2. Mahasiswa yang bersangkutan

HASIL IDENTIFIKASI MORFOLOGIS CONTOH TUMBUHAN

1. MORFOLOGI DAUN	
a. Bangun Daun	<i>(runcinatus)</i>
b. Tepi Daun	Bergerigi besar <i>(incised)</i>
c. Pangkal Daun	Segitiga terbalik/baji <i>(cuneatus)</i>
d. Ujung Daun	Menumpul <i>(obtusus)</i>
e. Tulang Daun	Menyirip <i>(Penninervis)</i>
f. Warna Ibu Tulang Daun	Hijau muda
g. Permukaan Atas	Berbulu halus <i>(villosus)</i>
h. Permukaan Bawah	Berbulu halus <i>(villosus)</i>
i. Warna Daun	Hijau
j. Duduk Daun	Membentuk roset akar
k. Jenis Daun	Tunggal <i>(folium simplex)</i>
2. MORFOLOGI BATANG	
a. Bentuk Batang	Tidak berbatang/berbatang semu
3. MORFOLOGI AKAR	
Sistem Perakaran	Tunggang tidak bercabang
4. MORFOLOGI BUNGA	
	a. Bunga berwarna kuning
	b. Berkelamin ganda
	c. Berbentuk majemuk, berumpun, dan bertangkai
	d. Mahkota berbentuk cakram
5. MORFOLOGI BUAH	Buah tanaman tidak disertakan sehingga tidak teridentifikasi
6. MORFOLOGI BIJI	Biji tanaman tidak disertakan sehingga tidak teridentifikasi.
7. MODIFIKASI ORGAN	
a. Jenis Modifikasi	Tidak ada
b. Lain-Lain	Tidak ada

Kesimpulan:

Berdasar ciri morfologis yang ada, khususnya pada karakter akar, daun, dan bunga dapat disimpulkan bahwa tumbuhan tersebut adalah **Dandelion (*Taraxacum officinale* Weber ex Wigg)**

Jember, 3 Januari 2018
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi,



Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

Tanaman yang di Indentifikasi



Daun Tanaman



Akar Tanaman



Bunga Tanaman

Jember, 3 Januari 2018
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi

Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

Lampiran 4.1 Ekstraksi

EKSTRAKSI

a. Proses Ekstraksi

Sebanyak 1,91 kg akar Dandelion dipotong-potong tipis secara horizontal kemudian diangin-anginkan. Potongan akar dikeringkan dalam oven suhu 45°C supaya akar mengering sempurna. Akar yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi bubuk halus sebanyak 210,88 g simplisia kering. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 70% sebanyak dua kali. Simplisia kering direndam etanol 70% dengan perbandingan 1:6 selama 1 x 24 jam pada suhu kamar. Hasil perendaman disaring dengan corong Buchner yang dilapisi kertas Whatman No. 40 dengan menggunakan bantuan *vacuum*. Filtrat hasil saringan dipindahkan ke *boiling flask* untuk dipekatkan dalam *rotary evaporator* hingga pelarut etanol menguap dan menghasilkan ekstrak kental total sebanyak 60 g. Ekstrak kental dilarutkan dengan CMC-Na 1% dan dibagi dalam 4 dosis yang berbeda yaitu 250, 500, 750, dan 1000 mg/kgBB.

b. Jumlah pelarut yang digunakan

1. Etanol 70% yang dibutuhkan yaitu sebanyak 4,0106 L
2. Cara pembuatan etanol 70% 1,8452 L yaitu 1,8452 L etanol 96% + 2,1654 L akuades

c. Hasil ekstraksi


Hasil ekstraksi etanol kental yang didapatkan yaitu sebanyak 60 gram

Mengetahui,

Analisis Laboratorium Biologi
Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Tugas Akhir


PARIKA AGNITA


Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyarningsih, M.Si.
NIP 19770222 200212 2 001

Lampiran 4.2 Pengamatan Skor Hepatosit

PENGAMATAN SKOR HEPATOSIT

Pada penelitian ini, pengamatan skor hepatosit dilakukan oleh dua orang pengamat dengan rincian di bawah ini.

1. Pengamat 1 : Nourma Sabila
142010101046
Mahasiswa Fakultas Kedokteran UNEJ
2. Pengamat 2 : Sheillavi Fauziah Alex
142010101044
Mahasiswa Fakultas Kedokteran UNEJ.


Pengamatan skor hepatosit dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut.


- a. Orang ketiga diminta untuk memberikan label nama berupa angka 1 sampai 30 pada setiap *object glass* preparat secara acak.
- b. Preparat dilihat di bawah mikroskop cahaya perbesaran 400 kali pada lima lapangan pandang kemudian dilakukan pengambilan foto.
- c. Hasil foto disebarikan kepada kedua pengamat untuk dilakukan penilaian terhadap 20 hepatosit pada zona 3 asinus lobulus hepar (dekat vena sentrilobular/vena sentralis).
- d. Dengan menggunakan aplikasi *Paint*, 20 hepatosit yang akan dinilai masing-masing ditandai dengan lingkaran berwarna hijau untuk hepatosit normal, atau kuning untuk hepatosit degenerasi parenkimatosia, atau merah untuk hepatosit degenerasi hidrofik, atau hitam untuk hepatosit nekrosis.
- e. Hepatosit dikategorikan normal jika berbentuk poligonal dan sitoplasma tampak berwarna merah homogen. Hepatosit dikategorikan mengalami degenerasi parenkimatosia jika sitoplasmanya tampak keruh dan batas inti sel dengan sitoplasma kurang jelas. Hepatosit dikategorikan mengalami degenerasi hidrofik jika tampak vakuola baik pada sitoplasma sel maupun di sekeliling inti sel. Hepatosit dikategorikan mengalami nekrosis jika inti sel tampak piknotik (bulat, ukuran lebih kecil, berwarna gelap), karioreksis (inti sel hancur membentuk fragmen kromatin yang menyebar), ataupun kariolisis (kromatin dalam inti sel larut sehingga tidak tampak).
- f. Jumlahkan hepatosit masing masing kategori yang kemudian dikalikan dengan skor hasil transformasi MSI sesuai dengan kategorinya.
- g. Jumlahkan nilai hepatosit pada kelima lapangan pandang kemudian dirata-rata hingga diperoleh rerata skor setiap hepatosit pada setiap kelompok.

Mengetahui,

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota


Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyarningsih,
M.Si.
NIP 19770222 200212 2 001


dr. Heni Fatmawati, M.Kes., Sp.Rad.
NIP 19760212 200501 2 001

Lampiran 4.3 Tabel Rata-Rata Ekspresi TNF- α berdasarkan Analisis *Software ImageJ*

Kelompok	Lapangan Pandang	Negative				Low Positive				Positive				High Positive				Total Skor Rata-Rata	
		1	2	3	Skor (%)	1	2	3	Skor (%)	1	2	3	Skor (%)	1	2	3	Skor (%)	(%)	Skor (%)
K _(N) 1	1	96,9	96,9	94,77	0	3,08	3,08	4,92	3,08	0,02	0,02	0,31	0,04	0	0	0	0	3,12	6,382
	2	95,7	95,7	88,21	0	4,18	4,18	11,27	4,18	0,12	0,12	0,51	0,24	0	0	0,02	0	4,42	
	3	97,71	97,71	97,71	0	2,25	2,25	2,25	2,25	0,04	0,04	0,04	0,08	0	0	0	0	2,33	
	4	85,35	85,35	83	0	13,98	13,98	16,60	13,98	0,67	0,67	0,4	1,34	0	0	0	0	15,32	
	5	93,76	93,76	63,53	0	5,76	5,76	30,23	5,76	0,48	0,48	6,19	0,96	0	0	0,04	0	6,72	
K _(N) 2	1	98,17	98,17	94,29	0	1,75	1,75	5,06	1,75	0,08	0,08	0,65	0,16	0	0	0	0	1,91	4,178
	2	96,03	96,03	88,39	0	3,51	3,51	10,99	3,51	0,45	0,45	0,62	0,9	0,01	0,01	0	0,03	4,44	
	3	96,31	96,31	91,54	0	3,39	3,39	8,24	3,39	0,28	0,28	0,22	0,56	0,02	0,02	0	0,06	4,01	
	4	95,67	95,67	78,79	0	3,92	3,92	20,69	3,92	0,39	0,39	0,52	0,78	0,02	0,02	0	0,06	4,76	
	5	94,83	94,83	84,4	0	4,62	4,62	15,12	4,62	0,5	0,5	0,48	1	0,05	0,05	0	0,15	5,77	
K _(N) 3	1	93,31	93,31	93,31	0	6,53	6,53	6,53	6,53	0,16	0,16	0,16	0,32	0	0	0	0	6,85	8,74
	2	92,4	92,4	87,6	0	7,51	7,51	12,13	7,51	0,09	0,09	0,26	0,18	0	0	0	0	7,69	
	3	91,57	91,57	92,8	0	7,58	7,58	7,06	7,58	0,83	0,83	0,14	1,66	0,02	0,02	0	0,06	9,3	
	4	90,54	90,54	90,54	0	9,09	9,09	9,09	9,09	0,37	0,37	0,37	0,74	0	0	0	0	9,83	
	5	90,25	90,25	95,04	0	9,47	9,47	4,66	9,47	0,28	0,28	0,3	0,56	0	0	0	0	10,03	
K _(N) 4	1	83,88	83,88	72,72	0	12,92	12,92	22,62	12,92	3,06	3,06	4,66	6,12	0,14	0,14	0	0,42	19,46	15,19
	2	89,53	89,53	77,16	0	9,14	9,14	20,49	9,14	1,28	1,28	2,35	2,56	0,05	0,05	0	0,15	11,85	
	3	84,62	84,62	79,44	0	13,11	13,11	18,55	13,11	2,18	2,18	2	4,36	0,09	0,09	0	0,27	17,74	
	4	88,46	88,46	79	0	10,28	10,28	18,29	10,28	1,21	1,21	2,70	2,42	0,05	0,05	0	0,15	12,85	
	5	87,83	87,83	78,29	0	10,39	10,39	19,55	10,39	1,68	1,68	2,15	3,36	0,1	0,1	0	0,3	14,05	
K _(N) 5	1	90,82	90,82	58,92	0	8,29	8,29	34,57	8,29	0,88	0,88	6,45	1,76	0,01	0,01	0,07	0,03	10,08	15,354
	2	85,94	85,94	54,18	0	12,4	12,4	33,88	12,4	1,64	1,64	11,71	3,28	0,02	0,02	0,24	0,06	15,74	
	3	85,47	85,47	58,67	0	12,76	12,76	32,56	12,76	1,7	1,7	8,68	3,4	0,07	0,07	0,1	0,21	16,37	
	4	85,23	85,23	50,92	0	12,18	12,18	35,27	12,18	2,49	2,49	13,59	4,98	0,1	0,1	0,22	0,3	17,46	
	5	84,49	84,49	84,49	0	13,93	13,93	13,93	13,93	1,55	1,55	1,55	3,1	0,03	0,03	0,03	0,09	17,12	
K _(C) 1	1	96,4	96,4	99,1	0	3,05	3,05	0,89	3,05	0,55	0,55	0,02	1,1	0	0	0	0	4,15	4,95
	2	93,55	93,55	99,44	0	5,81	5,81	0,54	5,81	0,64	0,64	0,02	1,28	0	0	0	0	7,09	
	3	96,52	96,52	99,21	0	2,97	2,97	0,77	2,97	0,5	0,5	0,01	1	0,01	0,01	0	0,03	4	
	4	94,8	94,8	97,23	0	4,42	4,42	2,74	4,42	0,76	0,76	0,02	1,52	0,02	0,02	0	0,06	6	
	5	96,84	96,84	99,47	0	2,83	2,83	0,52	2,83	0,31	0,31	0,01	0,62	0,02	0,02	0	0,06	3,51	
K _(C) 2	1	90,87	90,87	98,7	0	8,7	8,7	1,22	8,7	0,42	0,42	0,09	0,84	0,01	0,01	0	0,03	9,57	10,434
	2	90,89	90,89	93,31	0	8,8	8,8	6,55	8,8	0,3	0,3	0,14	0,6	0,01	0,01	0	0,03	9,43	
	3	89,02	89,02	89,78	0	10,73	10,73	9,68	10,73	0,25	0,25	0,54	0,5	0	0	0	0	11,23	
	4	89,14	89,14	91,17	0	10,48	10,48	8,45	10,48	0,38	0,38	0,37	0,76	0	0	0	0	11,24	
	5	89,79	89,79	92,38	0	9,73	9,73	7,48	9,73	0,47	0,47	0,14	0,94	0,01	0,01	0	0,03	10,7	
K _(C) 3	1	58,07	58,07	98,54	0	41,88	41,88	1,42	41,88	0,05	0,05	0,03	0,1	0	0	0	0	41,98	48,396
	2	55,17	55,17	98,28	0	44,83	44,83	1,6	44,83	0	0	0,02	0	0	0	0,09	0	44,83	

K _C 4	3	43,91	43,91	43,91	0	56,06	56,06	56,06	56,06	0,03	0,03	0,03	0,06	0	0	0	0	56,12	7,73
	4	55,68	55,68	55,68	0	44,23	44,23	44,23	44,23	0,09	0,09	0,09	0,18	0	0	0	0	44,41	
	5	45,71	45,71	45,71	0	53,94	53,94	53,94	53,94	0,35	0,35	0,35	0,7	0	0	0	0	54,64	
	1	91,32	91,32	89,95	0	8,57	8,57	9,04	8,57	0,11	0,11	1,01	0,22	0	0	0	0	8,79	
	2	92,2	92,2	93,19	0	7,76	7,76	6,42	7,76	0,04	0,04	0,39	0,08	0	0	0	0	7,84	
K _C 5	3	94,76	94,76	95,16	0	5,13	5,13	4,59	5,13	0,11	0,11	0,26	0,22	0	0	0	0	5,35	28,884
	4	91,12	91,12	98,62	0	8,26	8,26	1,38	8,26	0,62	0,62	0	1,24	0	0	0	0	9,5	
	5	92,97	92,97	92,97	0	6,89	6,89	6,89	6,89	0,14	0,14	0,14	0,28	0	0	0	0	7,17	
	1	67,33	67,33	67,33	0	32,19	32,19	32,19	32,19	0,48	0,48	0,48	0,96	0	0	0	0	33,15	
	2	67,97	67,97	67,97	0	31,05	31,05	31,05	31,05	0,98	0,98	0,98	1,96	0	0	0	0	33,01	
P _A 1	3	78,01	78,01	85,36	0	20,85	20,85	12,54	20,85	1,14	1,14	1,95	2,28	0	0	0,15	0	23,13	9,348
	4	73,02	73,02	84,12	0	25,8	25,8	13,63	25,8	1,17	1,17	2,10	2,34	0,01	0,01	0,15	0,03	28,17	
	5	73,3	73,3	73,3	0	26,44	26,44	26,44	26,44	0,26	0,26	0,26	0,52	0	0	0	0	26,96	
	1	90,83	90,83	94,33	0	9,08	9,08	5,06	9,08	0,09	0,09	0,57	0,18	0	0	0	0	9,26	
	2	90,54	90,54	67,33	0	8,26	8,26	8,26	8,26	1,15	1,15	0	2,3	0,05	0,05	0,04	0,15	10,71	
P _A 2	3	92,25	92,25	67,22	0	6,93	6,93	32,5	6,93	0,81	0,81	0,27	1,62	0,01	0,01	0	0	8,58	41,912
	4	92,09	92,09	92,09	0	7,1	7,1	7,1	7,1	0,79	0,79	0,79	1,58	0,02	0,02	0,02	0,06	8,74	
	5	91,6	91,6	87	0	7,36	7,36	12,9	7,36	1,03	1,03	0,1	2,06	0,01	0,01	0	0,03	9,45	
	1	70,47	70,47	70,47	0	28,64	28,64	28,64	28,64	0,89	0,89	0,89	1,78	0	0	0	0	30,42	
	2	56,02	56,02	56,02	0	40,31	40,31	40,31	40,31	3,67	3,67	3,67	7,34	0	0	0	0	47,65	
P _A 3	3	58,38	58,38	83,41	0	38,98	38,98	14,70	38,98	2,63	2,63	1,72	5,26	0,01	0,01	0,16	0,03	44,27	15,108
	4	66,48	66,48	66,48	0	32,43	32,43	32,43	32,43	1,09	1,09	1,09	2,18	0	0	0	0	34,61	
	5	50,62	50,62	50,62	0	46,15	46,15	46,15	46,15	3,23	3,23	3,23	6,46	0	0	0	0	52,61	
	1	66,48	66,48	66,48	0	32,43	32,43	32,43	32,43	1,09	1,09	1,09	2,18	0	0	0	0	34,61	
	2	92,1	92,1	92,1	0	7,23	7,23	7,23	7,23	0,66	0,66	0,66	1,32	0,01	0,01	0,01	0,03	8,58	
P _A 4	3	93,17	93,17	93,17	0	6,77	6,77	6,77	6,77	0,06	0,06	0,06	0,12	0	0	0	0	6,89	15,262
	4	86,76	86,76	86,76	0	13,13	13,13	13,13	13,13	0,1	0,1	0,1	0,2	0,01	0,01	0,01	0,03	13,36	
	5	87,96	87,96	90,45	0	11,98	11,98	8,15	11,98	0,06	0,06	1,31	0,12	0	0	0,09	0	12,1	
	1	90,65	90,65	90,65	0	7,8	7,8	7,8	7,8	1,54	1,54	1,54	3,08	0,01	0,01	0,01	0,03	10,91	
	2	81,76	81,76	81,76	0	17,84	17,84	17,84	17,84	0,4	0,4	0,4	0,8	0	0	0	0	18,64	
P _A 5	3	76,59	76,59	76,59	0	23,15	23,15	23,15	23,15	0,25	0,25	0,25	0,5	0,01	0,01	0,01	0,03	23,68	14,02
	4	91,34	91,34	91,34	0	6,55	6,55	6,55	6,55	1,94	1,94	1,94	3,88	0,17	0,17	0,17	0,51	10,94	
	5	90,18	90,18	90,18	0	7,59	7,59	7,59	7,59	2,14	2,14	2,14	4,28	0,09	0,09	0,09	0,27	12,14	
	1	87,79	87,79	88,39	0	10,38	10,38	11,33	10,38	1,74	1,74	0,28	3,48	0,09	0,09	0	0,27	14,13	
	2	89,31	89,31	91,76	0	9,03	9,03	7,92	9,03	1,6	1,6	0,33	3,2	0,06	0,06	0	0,18	12,41	
P _B 1	3	89,15	89,15	89,15	0	10,6	10,6	10,6	10,6	0,25	0,25	0,25	0,5	0	0	0	0	11,1	37,56
	4	89,67	89,67	89,67	0	8,35	8,35	8,35	8,35	1,86	1,86	1,86	3,72	0,12	0,12	0,12	0,36	12,43	
	5	84,69	84,69	90,06	0	10,92	10,92	9,32	10,92	4,06	4,06	0,62	8,12	0,33	0,33	0	0,99	20,03	
	1	52,9	52,9	88,52	0	45,14	45,14	9,98	45,14	1,96	1,96	1,42	3,92	0	0	0,08	0	49,06	
	2	57,13	57,13	57,13	0	40,53	40,53	40,53	40,53	2,34	2,34	2,34	4,68	0	0	0	0	45,21	
P _B 1	3	73,84	73,84	91,64	0	25,77	25,77	7,32	25,77	0,38	0,38	0,99	0,76	0,01	0,01	0,05	0,03	26,56	21,69
	4	78,94	78,94	90,84	0	20,43	20,43	7,81	20,43	0,63	0,63	1,24	1,26	0	0	0,11	0	21,69	
	5	56,96	56,96	85,14	0	40,8	40,8	12,26	40,8	2,24	2,24	2,36	4,48	0	0	0,25	0	45,28	

P _B 2	1	80,38	80,38	80,38	0	19,41	19,41	19,41	19,41	0,21	0,21	0,21	0,42	0	0	0	0	19,83	13,698	
	2	93,52	93,52	95,53	0	6,48	6,48	4,45	6,48	0	0	0,02	0	0	0	0	0	0		6,48
	3	92,21	92,21	98,63	0	7,79	7,79	1,37	7,79	0	0	0	0	0	0	0	0	0		7,79
	4	73,31	73,31	95,45	0	26,69	26,69	4,54	26,69	0	0	0,01	0	0	0	0	0	0		26,69
	5	92,3	92,3	92,3	0	7,7	7,7	7,7	7,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0		7,7
P _B 3	1	87,3	87,3	87,3	0	11,96	11,96	11,96	11,96	0,73	0,73	0,73	1,46	0,01	0,01	0,01	0,03	13,45	9,18	
	2	88,46	88,46	88,46	0	11,53	11,53	11,53	11,53	0,01	0,01	0,01	0,02	0	0	0	0	11,55		
	3	92,76	92,76	92,76	0	7,24	7,24	7,24	7,24	0	0	0	0	0	0	0	0	7,24		
	4	95,96	95,96	98,01	0	4,04	4,04	1,99	4,04	0	0	0	0	0	0	0	0	4,04		
	5	90,38	90,38	90,38	0	9,62	9,62	9,62	9,62	0	0	0	0	0	0	0	0	9,62		
P _B 4	1	95,75	95,75	96,52	0	3,61	3,61	3,42	3,61	0,63	0,63	0,06	1,26	0,01	0,01	0	0,03	4,9	5,014	
	2	95,89	95,89		0	3,22	3,22		3,22	0,85	0,85		1,7	0,04	0,04		0,12	5,04		
	3	91,95	91,95	91,95	0	8	8	8	8	0,05	0,05	0,05	0,1	0	0	0	0	8,1		
	4	97,67	97,67	97,67	0	2,31	2,31	2,31	2,31	0,02	0,02	0,02	0,04	0	0	0	0	2,35		
	5	95,7	95,7	95,94	0	3,92	3,92	4,02	3,92	0,38	0,38	0,05	0,76	0	0	0	0	4,68		
P _B 5	1	90,05	90,05	90,05	0	9,71	9,71	9,71	9,71	0,23	0,23	0,23	0,46	0,01	0,01	0,01	0,03	10,2	13,676	
	2	75,59	75,59	86,68	0	23,86	23,86	11,22	23,86	0,55	0,55	1,79	1,1	0	0	0,3	0	24,96		
	3	90,46	90,46	90,96	0	7,76	7,76	8,76	7,76	1,6	1,6	0,28	3,2	0,18	0,18	0	0,54	11,5		
	4	88,83	88,83	88,83	0	9,09	9,09	9,09	9,09	1,8	1,8	1,8	3,6	0,28	0,28	0,28	0,84	13,53		
	5	92,91	92,91	95,92	0	6,09	6,09	3,97	6,09	0,9	0,9	0,11	1,8	0,1	0,1	0	0,3	8,19		
P _C 1	1	90,3	90,3	98,32	0	8,88	8,88	1,65	8,88	0,8	0,8	0,03	1,6	0,02	0,02	0	0,06	10,54	11,504	
	2	87,77	87,77	99,2	0	11,7	11,7	0,79	11,7	0,52	0,52	0	1,04	0,01	0,01	0	0,03	12,77		
	3	89,14	89,14	89,14	0	9,9	9,9	9,9	9,9	0,92	0,92	0,92	1,84	0,04	0,04	0,04	0,12	11,86		
	4	90,52	90,52	90,52	0	8,93	8,93	8,93	8,93	0,54	0,54	0,54	1,08	0,01	0,01	0,01	0,03	10,04		
	5	88,48	88,48	98,72	0	10,73	10,73	1,28	10,73	0,79	0,79	0,01	1,58	0	0	0	0	12,31		
P _C 2	1	85,23	85,23	82,1	0	14,62	14,62	16,29	14,62	0,15	0,15	1,56	0,3	0	0	0,05	0	14,92	16,416	
	2	83,34	83,34	79,89	0	15,93	15,93	17,16	15,93	0,73	0,73	2,79	1,46	0	0	0,17	0	17,39		
	3	84,28	84,28	86,81	0	15,54	15,54	11,66	15,54	0,18	0,18	1,42	0,36	0	0	0,12	0	15,9		
	4	86,49	86,49	86,49	0	13,38	13,38	13,38	13,38	0,13	0,13	0,13	0,26	0	0	0	0	13,64		
	5	81,32	81,32	76,14	0	17,17	17,17	23,62	17,17	1,47	1,47	0,23	2,94	0,04	0,04	0	0,12	20,23		
P _C 3	1	91,69	91,69	77,05	0	7,24	7,24	22,81	7,24	1,04	1,04	0,13	2,08	0,03	0,03	0	0,09	9,41	10,384	
	2	90,6	90,6	90,6	0	7,74	7,74	7,74	7,74	1,56	1,56	1,56	3,12	0,1	0,1	0,1	0,3	11,16		
	3	90,12	90,12	90,12	0	8,14	8,14	8,14	8,14	1,57	1,57	1,57	3,14	0,17	0,17	0,17	0,51	11,79		
	4	90,82	90,82	90,82	0	7,5	7,5	7,5	7,5	1,52	1,52	1,52	3,04	0,16	0,16	0,16	0,48	11,02		
	5	92,54	92,54	78,84	0	6,5	6,5	20,85	6,5	0,84	0,84	0,31	1,68	0,12	0,12	1	0,36	8,54		
P _C 4	1	89,2	89,2	90,92	0	10,48	10,48	8,07	10,48	0,32	0,32	0,97	0,64	0	0	0,04	0	11,12	12,906	
	2	90,85	90,85	90,85	0	7,62	7,62	7,62	7,62	1,34	1,34	1,34	2,68	0,19	0,19	0,19	0,57	10,87		
	3	87,03	87,03	57,16	0	11,29	11,29	40,57	11,29	1,54	1,54	2,25	3,08	0,14	0,14	0,02	0,42	14,79		
	4	85,17	85,17	85,17	0	14,39	14,39	14,39	14,39	0,44	0,44	0,44	0,88	0	0	0	0	15,27		
	5	89,15	89,15	65,25	0	9,36	9,36	33,1	9,36	1,35	1,35	1,65	2,7	0,14	0,14	0	0,42	12,48		
P _C 5	1	84,78	84,78	93,78	0	15,06	15,06	5,42	15,06	0,16	0,16	0,77	0,32	0	0	0,03	0	15,38	13,974	
	2	90,49	90,49	90,49	0	8,09	8,09	8,09	8,09	1,39	1,39	1,39	2,78	0,03	0,03	0,03	0,09	10,96		
	3	86,77	86,77	86,77	0	13,07	13,07	13,07	13,07	0,16	0,16	0,16	0,32	0	0	0	0	13,39		

	4	88,34	88,34	88,34	0	10,09	10,09	10,09	10,09	1,55	1,55	1,55	3,1	0,02	0,02	0,02	0,06	13,25	
	5	83,38	83,38	90,50	0	16,35	16,35	8,02	16,35	0,27	0,27	1,42	0,54	0	0	0,06	0	16,89	
P _D 1	1	91,95	91,95	91,95	0	7,53	7,53	7,53	7,53	0,52	0,52	0,52	1,04	0	0	0	0	8,57	12,606
	2	93,13	93,13	77,45	0	6,59	6,59	22,48	6,59	0,28	0,28	0,07	0,56	0	0	0	0	7,15	
	3	71,28	71,28	93,67	0	28,14	28,14	5,67	28,14	0,58	0,58	0,66	1,16	0	0	0	0	29,3	
	4	92,77	92,77	94,67	0	7,21	7,21	5,1	7,21	0,02	0,02	0,23	0,04	0	0	0	0	7,25	
	5	89,71	89,71	46,45	0	9,82	9,82	52,56	9,82	0,47	0,47	0,99	0,94	0	0	0	0	10,76	
P _D 2	1	86,39	86,39	75,24	0	12,77	12,77	24,63	12,77	0,82	0,82	0,14	1,64	0,02	0,02	0	0,06	14,47	15,542
	2	87,27	87,27	82,52	0	11,49	11,49	16,56	11,49	1,22	1,22	0,92	2,44	0,02	0,02	0	0,06	13,99	
	3	80,97	80,97	88,76	0	18,69	18,69	10,26	18,69	0,34	0,34	0,97	0,68	0	0	0,01	0	19,37	
	4	88,24	88,24	88,09	0	10,64	10,64	11,78	10,64	1,09	1,09	0,13	2,18	0,03	0,03	0	0,09	12,91	
	5	83,77	83,77	58,63	0	15,49	15,49	40,64	15,49	0,74	0,74	0,73	1,48	0	0	0	0	16,97	
P _D 3	1	96,32	96,32	97,84	0	2,78	2,78	1,92	2,78	0,88	0,88	0,24	1,76	0,02	0,02	0	0,06	4,6	4,51
	2	96,75	96,75	96,75	0	2,99	2,99	2,99	2,99	0,25	0,25	0,25	0,5	0,01	0,01	0,01	0,03	3,52	
	3	96,04	96,04	98,74	0	3,86	3,86	1,22	3,86	0,1	0,1	0,05	0,2	0	0	0	0	4,06	
	4	93,12	93,12	98,07	0	6,44	6,44	1,77	6,44	0,43	0,43	0,16	0,86	0,01	0,01	0	0,03	7,33	
	5	97,01	97,01	98,19	0	2,94	2,94	1,74	2,94	0,05	0,05	0,08	0,1	0	0	0	0	3,04	
P _D 4	1	92,92	92,92	71,31	0	6,57	6,57	27,69	6,57	0,51	0,51	1	1,02	0	0	0	0	7,59	12,144
	2	89,13	89,13	95,74	0	9,25	9,25	3,59	9,25	1,54	1,54	0,67	3,08	0,08	0,08	0	0,24	12,57	
	3	91,36	91,36	91,36	0	8,45	8,45	8,45	8,45	0,19	0,19	0,19	0,38	0	0	0	0	8,83	
	4	85,79	85,79	92,31	0	13,36	13,36	7,01	13,36	0,85	0,85	0,66	1,7	0	0	0,02	0	15,06	
	5	84,39	84,39	84,39	0	14,56	14,56	14,56	14,56	1,04	1,04	1,04	2,08	0,01	0,01	0,01	0,03	16,67	
P _D 5	1	93,7	93,7	97,51	0	5,75	5,75	2,48	5,75	0,55	0,55	0,02	1,1	0	0	0	0	6,85	7,362
	2	94,21	94,21	97,48	0	5,23	5,23	2,5	5,23	0,55	0,55	0,02	1,1	0,01	0,01	0	0,03	6,36	
	3	91,61	91,61	95,89	0	7,41	7,41	4,09	7,41	0,97	0,97	0,02	1,94	0,01	0,01	0	0,03	9,38	
	4	93,52	93,52	93,62	0	5,8	5,8	6,36	5,8	0,67	0,67	0,02	1,34	0,01	0,01	0	0,03	7,17	
	5	93,82	93,82	98,78	0	5,32	5,32	1,21	5,32	0,85	0,85	0,01	1,7	0,01	0,01	0	0,03	7,05	

Lampiran 4.4 Hasil Uji Statistik Ekspresi TNF- α

Case Processing Summary							
		Cases					
		Valid		Missing		Total	
KELOMPOK		N	Percent	N	Percent	N	Percent
	K _(N)	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	K ₍₋₎	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
Ekspresi TNF- α	P _A	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	P _B	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	P _C	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	P _D	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%

Descriptives					
KELOMPOK			Statistic	Std. Error	
Ekspresi TNF- α	K _(N)	Mean	,9470	,10922	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,6438	
			Upper Bound	1,2503	
		5% Trimmed Mean		,9519	
		Median		,9415	
		Variance		,060	
		Std. Deviation		,24423	
		Minimum		,62	
		Maximum		1,19	
		Range		,56	
		Interquartile Range		,47	
		Skewness		-,312	,913
		Kurtosis		-1,685	2,000
		Ekspresi TNF- α	K ₍₋₎	Mean	1,1493
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			,6389	
	Upper Bound			1,6597	
5% Trimmed Mean				1,1448	
Median				1,0183	
Variance				,169	
Std. Deviation				,41104	
Minimum				,69	
Maximum				1,68	
Range				,99	
Interquartile Range				,78	
Skewness				,418	,913
Kurtosis				-1,898	2,000
P _A				Mean	1,2205
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,9213	
			Upper Bound	1,5198	
		5% Trimmed Mean		1,2121	

	Median		1,1793	
	Variance		,058	
	Std. Deviation		,24099	
	Minimum		,97	
	Maximum		1,62	
	Range		,65	
	Interquartile Range		,34	
	Skewness		1,452	,913
	Kurtosis		3,111	2,000
	Mean		1,1020	,14264
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,7060	
		Upper Bound	1,4981	
	5% Trimmed Mean		1,0981	
	Median		1,1361	
	Variance		,102	
P _B	Std. Deviation		,31896	
	Minimum		,70	
	Maximum		1,57	
	Range		,87	
	Interquartile Range		,52	
	Skewness		,487	,913
	Kurtosis		1,235	2,000
	Mean		1,1097	,03434
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,0144	
		Upper Bound	1,2050	
	5% Trimmed Mean		1,1090	
	Median		1,1109	
	Variance		,006	
P _C	Std. Deviation		,07678	
	Minimum		1,02	
	Maximum		1,22	
	Range		,20	
	Interquartile Range		,14	
	Skewness		,267	,913
	Kurtosis		-,501	2,000
	Mean		,9795	,09724
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,7095	
		Upper Bound	1,2495	
	5% Trimmed Mean		,9858	
	Median		1,0842	
	Variance		,047	
P _D	Std. Deviation		,21743	
	Minimum		,65	
	Maximum		1,19	
	Range		,54	
	Interquartile Range		,39	
	Skewness		-,949	,913
	Kurtosis		-,329	2,000

Tests of Normality

KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
K _(N)	,232	5	,200*	,912	5	,478
K ₍₋₎	,225	5	,200*	,938	5	,654
Ekspresi TNF- α P _A	,361	5	,032	,841	5	,167
P _B	,257	5	,200*	,955	5	,774
P _C	,138	5	,200*	,990	5	,980
P _D	,285	5	,200*	,904	5	,434

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

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Ekspresi TNF- α			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,080	5	24	,103

ANOVA

Ekspresi TNF- α					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,268	5	,054	,728	,609
Within Groups	1,766	24	,074		
Total	2,034	29			

Lampiran 4.5 Tabel Konversi Data Derajat Kerusakan Hepatosit

Kategori	Frekuensi	Proporsi	Kumulatif	Nilai Z	Densitas f(z)	Nilai Skala	Hasil Penskalaan
1	3293	0,549	0,549	0,123	0,396	-0,721	1,000
2	908	0,151	0,700	0,525	0,348	0,319	2,041
3	1205	0,201	0,901	1,287	0,174	0,863	2,585
4	594	0,099	1,000			1,760	3,481



Lampiran 4.6 Tabel Rata-Rata Skor Hepatosit

Hasil Pengamatan oleh Pengamat 1

Kelompok	Normal		Degenerasi Parenkimatosa		Degenerasi Hidrofik		Nekrosis		Total		Rata-Rata (per 20 sel)
	Jumlah	Skor	Jumlah	Skor	Jumlah	Skor	Jumlah	Skor	Jumlah	Skor	
K ₍₋₎ 1	59	59	17	34,697	0	0	24	83,544	100	177,241	1,77241
K ₍₋₎ 2	48	48	20	40,82	0	0	32	111,392	100	200,212	2,00212
K ₍₋₎ 3	62	62	9	18,369	0	0	29	100,949	100	181,318	1,81318
K ₍₋₎ 4	51	51	26	53,066	2	5,17	21	73,101	100	182,337	1,82337
K ₍₋₎ 5	32	32	10	20,41	49	126,665	9	31,329	100	210,404	2,10404
K _(N) 1	61	61	9	18,369	21	54,285	9	31,329	100	164,983	1,64983
K _(N) 2	41	41	14	28,574	40	103,4	5	17,405	100	190,379	1,90379
K _(N) 3	50	50	5	10,205	41	105,985	4	13,924	100	180,114	1,80114
K _(N) 4	44	44	22	44,902	31	80,135	3	10,443	100	179,48	1,7948
K _(N) 5	46	46	15	30,615	36	93,06	3	10,443	100	180,118	1,80118
P _A 1	49	49	21	42,861	18	46,53	12	41,772	100	180,163	1,80163
P _A 2	34	34	22	44,902	36	93,06	8	27,848	100	199,81	1,9981
P _A 3	48	48	16	32,656	33	85,305	3	10,443	100	176,404	1,76404
P _A 4	45	45	12	24,492	31	80,135	12	41,772	100	191,399	1,91399
P _A 5	46	46	3	6,123	50	129,25	1	3,481	100	184,854	1,84854
P _B 1	55	55	9	18,369	28	72,38	8	27,848	100	173,597	1,73597
P _B 2	39	39	9	18,369	50	129,25	2	6,962	100	193,581	1,93581
P _B 3	46	46	5	10,205	43	111,155	6	20,886	100	188,246	1,88246
P _B 4	48	48	2	4,082	45	116,325	5	17,405	100	185,812	1,85812
P _B 5	55	55	9	18,369	28	72,38	8	27,848	100	173,597	1,73597
P _C 1	58	58	3	6,123	33	85,305	6	20,886	100	170,314	1,70314
P _C 2	51	51	9	18,369	40	103,4	0	0	100	172,769	1,72769
P _C 3	54	54	6	12,246	37	95,645	3	10,443	100	172,334	1,72334
P _C 4	55	55	6	12,246	38	98,23	1	3,481	100	168,957	1,68957
P _C 5	26	26	1	2,041	72	186,12	1	3,481	100	217,642	2,17642
P _D 1	48	48	6	12,246	46	118,91	0	0	100	179,156	1,79156
P _D 2	44	44	4	8,164	52	134,42	0	0	100	186,584	1,86584
P _D 3	53	53	6	12,246	41	105,985	0	0	100	171,231	1,71231

P _D 4	56	56	4	8,164	38	98,23	2	6,962	100	169,356	1,69356
P _D 5	46	46	8	16,328	46	118,91	0	0	100	181,238	1,81238

Hasil Pengamatan oleh Pengamat 2

Kelompok	Normal		Degenerasi Parenkimatosa		Degenerasi Hidrofik		Nekrosis		Total		Rata-Rata (per 20 sel)
	Jumlah	Skor	Jumlah	Skor	Jumlah	Skor	Jumlah	Skor	Jumlah	Skor	
K ₍₋₎ 1	52	52	31	63,271	2	5,17	15	52,215	100	172,656	1,72656
K ₍₋₎ 2	32	32	36	73,476	12	31,02	20	69,62	100	206,116	2,06116
K ₍₋₎ 3	39	39	33	67,353	5	12,925	23	80,063	100	199,341	1,99341
K ₍₋₎ 4	31	31	25	51,025	14	36,19	30	104,43	100	222,645	2,22645
K ₍₋₎ 5	33	33	33	67,353	15	38,775	19	66,139	100	205,267	2,05267
K _(N) 1	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	1
K _(N) 2	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	1
K _(N) 3	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	1
K _(N) 4	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	1
K _(N) 5	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100	1
P _A 1	51	51	39	79,599	3	7,755	7	24,367	100	162,721	1,62721
P _A 2	74	74	16	32,656	4	10,34	6	20,886	100	137,882	1,37882
P _A 3	47	47	12	24,492	1	2,585	40	139,24	100	213,317	2,13317
P _A 4	44	44	15	30,615	2	5,17	39	135,759	100	215,544	2,15544
P _A 5	58	58	25	51,025	13	33,605	4	13,924	100	156,554	1,56554
P _B 1	57	57	16	32,656	3	7,755	24	83,544	100	180,955	1,80955
P _B 2	75	75	13	26,533	12	31,02	0	0	100	132,553	1,32553
P _B 3	51	51	13	26,533	25	64,625	11	38,291	100	180,449	1,80449
P _B 4	44	44	32	65,312	6	15,51	18	62,658	100	187,48	1,8748
P _B 5	48	48	11	22,451	3	7,755	38	132,278	100	210,484	2,10484
P _C 1	50	50	26	53,066	15	38,775	9	31,329	100	173,17	1,7317
P _C 2	64	64	22	44,902	3	7,755	11	38,291	100	154,948	1,54948
P _C 3	42	42	22	44,902	6	15,51	30	104,43	100	206,842	2,06842
P _C 4	45	45	36	73,476	5	12,925	14	48,734	100	180,135	1,80135

P _C 5	62	62	26	53,066	9	23,265	3	10,443	100	148,774	1,48774
P _D 1	54	54	34	69,394	12	31,02	0	0	100	154,414	1,54414
P _D 2	67	67	29	59,189	1	2,585	3	10,443	100	139,217	1,39217
P _D 3	79	79	18	36,738	1	2,585	2	6,962	100	125,285	1,25285
P _D 4	79	79	17	34,697	3	7,755	1	3,481	100	124,933	1,24933
P _D 5	65	65	20	40,82	5	12,925	10	34,81	100	153,555	1,53555

Mengetahui,

dr. Rena Normasari, M. Biomed.
NIP 19830512 200812 2 002

Pengamat 1

Nourma Sabila
NIM 142010101046

Pengamat 2

Sheillavi Fauziah Alex
NIM 142010101044

Lampiran 4.7 Hasil Uji Statistik Skor Hepatosit

Case Processing Summary							
KELOMPOK	Cases						
	Valid		Missing		Total		
	N	Percent	N	Percent	N	Percent	
Skor HPA Hepar	K _(N)	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	K ₍₋₎	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	P _A	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	P _B	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	P _C	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%
	P _D	5	100,0%	0	0,0%	5	100,0%

Descriptives				
	KELOMPOK	Statistic	Std. Error	
				Mean
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,1258		
	Upper Bound	,1623		
5% Trimmed Mean		,1444		
Median		,1461		
Variance		,000		
K _(N) Std. Deviation		,01470		
Minimum		,12		
Maximum		,16		
Range		,04		
Interquartile Range		,02		
Skewness		-1,018	,913	
Kurtosis		2,562	2,000	
Skor Histologi Hepar	Mean		,2905	,01353
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,2530	
		Upper Bound	,3281	
	5% Trimmed Mean		,2917	
	Median		,3054	
	Variance		,001	
	K ₍₋₎ Std. Deviation		,03025	
	Minimum		,24	
	Maximum		,32	
	Range		,08	
	Interquartile Range		,05	
	Skewness		-1,202	,913
	Kurtosis		,684	2,000
	P _A	Mean		,2587
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	,2112	
		Upper Bound	,3062	

	5% Trimmed Mean		,2576	
	Median		,2330	
	Variance		,001	
	Std. Deviation		,03823	
	Minimum		,23	
	Maximum		,31	
	Range		,08	
	Interquartile Range		,07	
	Skewness		,742	,913
	Kurtosis		-2,463	2,000
	Mean		,2560	,01237
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,2217	
		Upper Bound	,2904	
	5% Trimmed Mean		,2569	
	Median		,2648	
	Variance		,001	
P _B	Std. Deviation		,02765	
	Minimum		,21	
	Maximum		,28	
	Range		,07	
	Interquartile Range		,05	
	Skewness		-1,179	,913
	Kurtosis		1,237	2,000
	Mean		,2469	,01102
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,2163	
		Upper Bound	,2775	
	5% Trimmed Mean		,2469	
	Median		,2430	
	Variance		,001	
P _C	Std. Deviation		,02464	
	Minimum		,21	
	Maximum		,28	
	Range		,06	
	Interquartile Range		,05	
	Skewness		,040	,913
	Kurtosis		-,671	2,000
	Mean		,1990	,01251
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,1643	
		Upper Bound	,2338	
	5% Trimmed Mean		,1995	
	Median		,2122	
P _D	Variance		,001	
	Std. Deviation		,02797	
	Minimum		,17	
	Maximum		,22	
	Range		,06	
	Interquartile Range		,05	

Skewness	-,513	,913
Kurtosis	-3,184	2,000

Tests of Normality							
KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
K _(N)	,356	5	,037	,851	5	,197	
K ₍₋₎	,288	5	,200*	,882	5	,317	
Skor HPA P _A	,349	5	,045	,793	5	,071	
Hepar P _B	,225	5	,200*	,919	5	,526	
P _C	,163	5	,200*	,988	5	,971	
P _D	,281	5	,200*	,783	5	,058	

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

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances				
Rata-rata Akhir Skor Hepatosit				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2,060	5	24	,106	

ANOVA					
Rata-rata Akhir Skor Hepatosit					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,069	5	,014	17,391	,000
Within Groups	,019	24	,001		
Total	,088	29			

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval
					Lower Bound
K _(N)	K ₍₋₎	-,14648*	,01779	,000	-,1832
	P _A	-,11464*	,01779	,000	-,1514
	P _B	-,11196*	,01779	,000	-,1487
	P _C	-,10286*	,01779	,000	-,1396
	P _D	-,05497*	,01779	,005	-,0917
K ₍₋₎	K _(N)	,14648*	,01779	,000	,1098
	P _A	,03183	,01779	,086	-,0049
	P _B	,03452	,01779	,064	-,0022
	P _C	,04362*	,01779	,022	,0069
	P _D	,09150*	,01779	,000	,0548
P _A	K _(N)	,11464*	,01779	,000	,0779
	K ₍₋₎	-,03183	,01779	,086	-,0685
	P _B	,00268	,01779	,881	-,0340
	P _C	,01179	,01779	,514	-,0249
	P _D	,05967*	,01779	,003	,0230
P _B	K _(N)	,11196*	,01779	,000	,0752
	K ₍₋₎	-,03452	,01779	,064	-,0712
	P _A	-,00268	,01779	,881	-,0394
	P _C	,00910	,01779	,614	-,0276
	P _D	,05698*	,01779	,004	,0203
P _C	K _(N)	,10286*	,01779	,000	,0661
	K ₍₋₎	-,04362*	,01779	,022	-,0803
	P _A	-,01179	,01779	,514	-,0485
	P _B	-,00910	,01779	,614	-,0458
	P _D	,04788*	,01779	,013	,0112
P _D	K _(N)	,05497*	,01779	,005	,0183
	K ₍₋₎	-,09150*	,01779	,000	-,1282
	P _A	-,05967*	,01779	,003	-,0964
	P _B	-,05698*	,01779	,004	-,0937
	P _C	-,04788*	,01779	,013	-,0846

Lampiran 4.8 Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Tanaman *Taraxacum officinale* di Jampit, Ijen, Banyuwangi



1) Tanaman *Taraxacum officinale*; 2) Akar *Taraxacum officinale* yang sudah bersih; 3) Akar *Taraxacum officinale* yang dikeringkan; 4) Akar *Taraxacum officinale* yang sudah dipotong tipis-tipis

Proses persiapan tanaman untuk ekstraksi



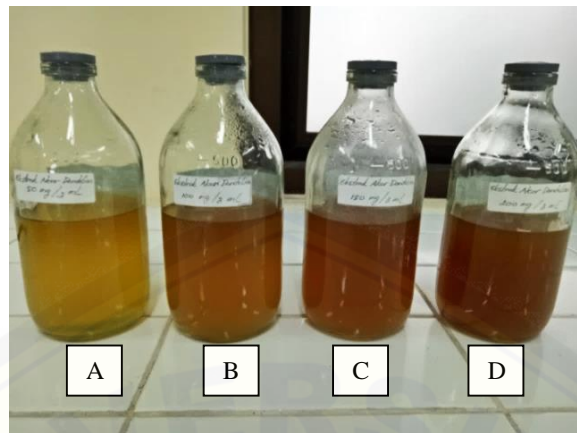
1) & 2) Akar yang telah dipotong tipis-tipis dikeringkan menggunakan oven pada suhu 45°C; 3) Akar yang di blender hingga menjadi bubuk halus

Proses pengeringan akar



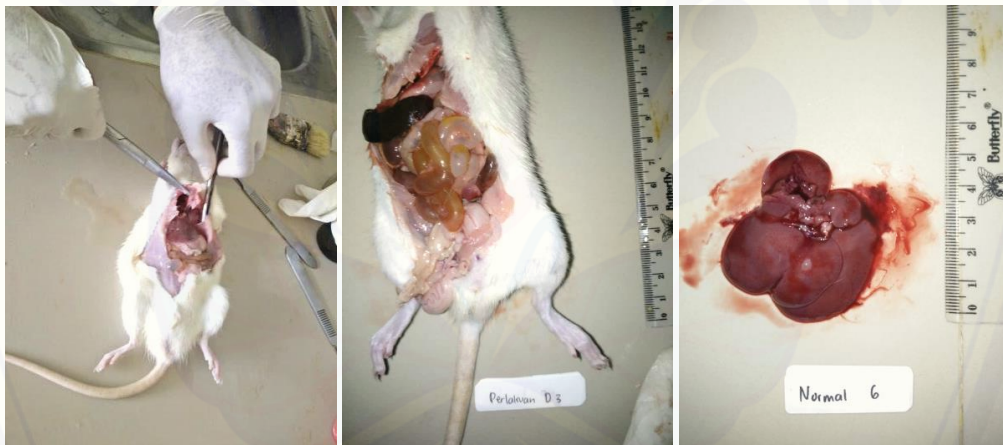
1) Perendaman bubuk akar *Taraxacum officinale* dalam etanol 70%; 2) Proses penyaringan menggunakan *vacuum*; 3) Filtrat hasil penyaringan; 4) Proses penguapan etanol menggunakan *rotary evaporator*

Proses ekstraksi akar *Taraxacum officinale*



Ekstrak akar Dandelion (*Taraxacum officinale*) dengan berbagai tingkat dosis. A) 250 mg/kgBB; B) 500 mg/kgBB; C) 750 mg/kgBB; D) 1000 mg/kgBB

Hasil ekstraksi akar Dandelion (*Taraxacum officinale*)



Pengambilan organ hepar