



**UJI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL
DAUN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) TERHADAP KADAR
BILIRUBIN DAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS
TERINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**

SKRIPSI

Oleh:
Rifdah Bunga Kwintana
NIM 162210101150

**BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2020



**UJI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL
DAUN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) TERHADAP KADAR
BILIRUBIN DAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS
TERINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh
Rifdah Bunga Kwintana
NIM 162210101150

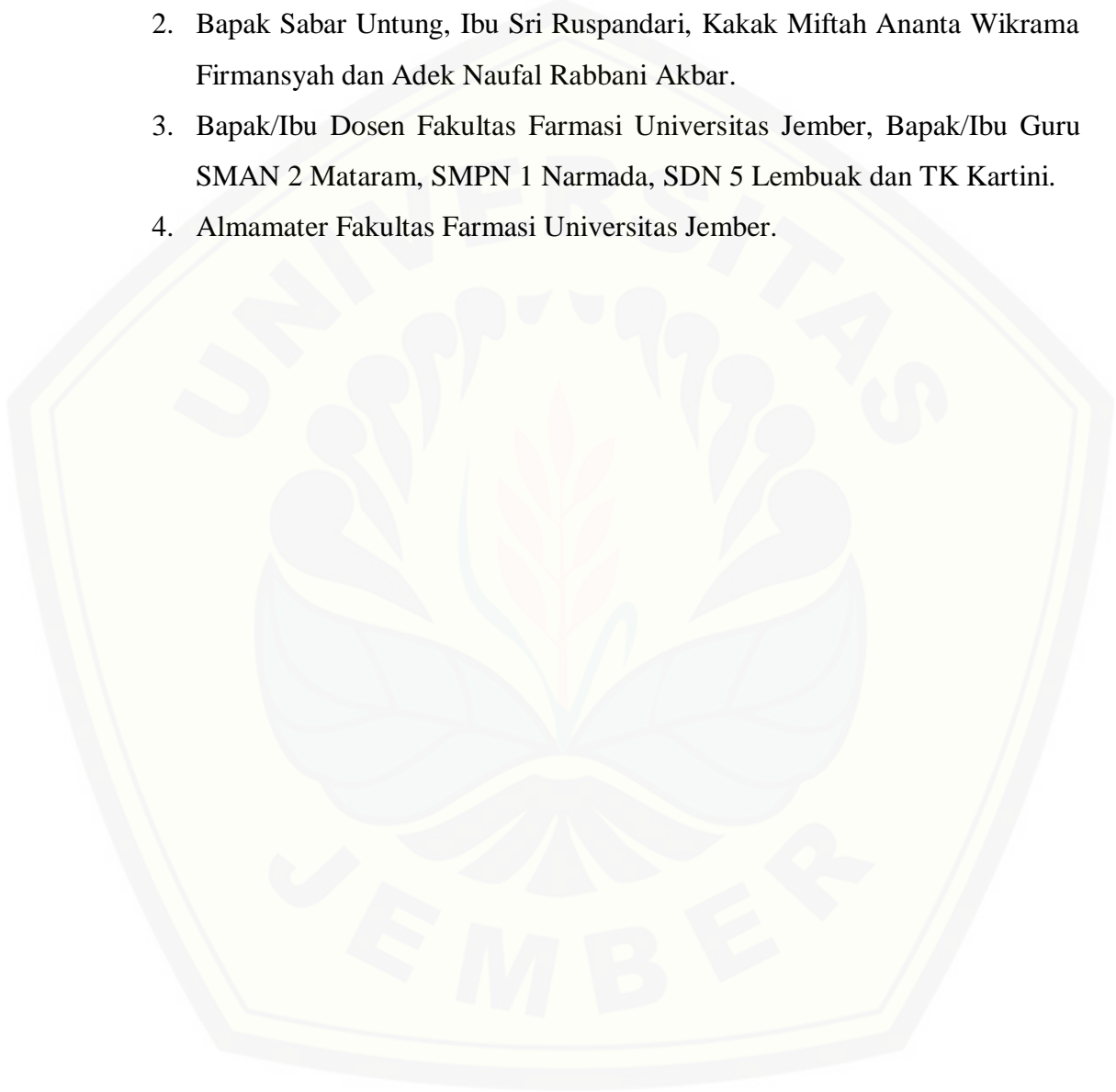
**BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya.
2. Bapak Sabar Untung, Ibu Sri Ruspandari, Kakak Miftah Ananta Wikrama Firmansyah dan Adek Naufal Rabbani Akbar.
3. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bapak/Ibu Guru SMAN 2 Mataram, SMPN 1 Narmada, SDN 5 Lembuak dan TK Kartini.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.



MOTO

*

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.
Maka apabila kamu telah selesai (dari satu urusan), kerjakanlah
dengan sungguh-sungguh urusan yang lain”

(Q.S. Al Insyirah :6-7)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rifdah Bunga Kwintana

NIM : 162210101150

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Terhadap Kadar Bilirubin dan Histopatologi Hati pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida” 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, Juli 2020

Yang menyatakan,

Rifdah Bunga Kwintana

NIM.162210101150

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL
DAUN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) TERHADAP KADAR
BILIRUBIN DAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS
TERINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**

Oleh:

Rifdah Bunga Kwintana

NIM 162210101150

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ika Puspita Dewi S.Farm., M. Biomed., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Fransiska Maria C. S.Farm., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Terhadap Kadar Bilirubin dan Histopatologi Hati pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Apt. Ika Puspita Dewi S.Farm., M. Biomed.
NIP. 198406132008122001

Apt. Fransiska Maria C. S.Farm., M.Farm.
NIP. 198404062009122008

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Apt. Diana Holidayah., S.F., M.Farm.
NIP. 197812212005012002

Dr. Apt. Fifteen A. F, S.Farm., M.Farm.
NIP. 198204152006042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Apt. Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm.
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Terhadap Kadar Bilirubin dan Histopatologi Hati pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida: Rifdah Bunga Kwintana: 1662210101150; 2020; Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Hati merupakan salah satu organ vital dalam tubuh yang memiliki berbagai peranan penting yang mendukung sebagian besar organ dalam tubuh. Organ hati termasuk organ yang rawan mengalami kerusakan karena berbagai fungsi vital yang dimilikinya. Kerusakan pada hati dapat disebabkan oleh zat beracun atau radikal bebas seperti karbon tetraklorida yang dapat menyebabkan cedera serius. Gangguan pada hati dapat dicegah dengan hepatoprotektor. Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai hepatoprotektor adalah tanaman tebu. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun tebu (*Saccharum officinarum* L.) terhadap kadar bilirubin serum dan histopatologi hati tikus yang terinduksi karbon tetraklorida.

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *post test control group*. Hewan coba yang digunakan sebagai sampel yaitu 24 ekor tikus jantan galur wistar yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu, kelompok normal, kontrol negatif dengan CMC Na 1%, kontrol positif dengan *silymarin* 100 mg/kgBB, kelompok ekstrak etanol daun tebu dosis 300, 400, dan 500 mg/kgBB. Perlakuan terhadap hewan coba dilakukan selama 14 hari. Induksi karbon tetraklorida diberikan pada hari ke-14, satu jam setelah pemberian perlakuan. Darah hewan coba diambil melalui jantung pada hari ke-15 atau 24 jam setelah induksi CCl_4 untuk pengukuran kadar bilirubin. Organ hati dari hewan uji diambil untuk difoto dan ditimbang kemudian dihitung berat organ relatif serta dilakukan pembuatan preparat histopatologi hati. Pengaruh perlakuan terhadap kadar Bilirubin serum dan gambaran histopatologi hewan uji dilihat dari perbedaan antar kelompok perlakuan hewan uji.

Data kadar bilirubin dan berat organ yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan *One-Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Different* (LSD) sedangkan hasil histopatologi hati diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 400 kali. Data menunjukkan bahwa

ekstrak etanol daun tebu dapat mempertahankan kadar bilirubin serum dan gambaran histopatologi dalam keadaan normal pada tikus yang diinduksi CCl₄. Berdasarkan hasil penelitian ini ketiga dosis ekstrak etanol daun tebu memiliki aktivitas dalam mencegah kenaikan kadar bilirubin akibat induksi CCl₄. Dosis 500 mg/kgBB merupakan dosis yang paling baik dalam mencegah terjadinya kerusakan sel yang dapat diamati melalui gambaran histopatologi hati. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa ekstrak etanol daun tebu mampu mempertahankan kadar bilirubin dan histologi hati dalam keadaan normal sehingga dapat melindungi hati dari kerusakan yang disebabkan oleh induksi CCl₄.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Tebu (*Saccharum officinarum* L.) terhadap Kadar Bilirubin dan Histopatologi Hati pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida”. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi (S1) dan gelar Sarjana Farmasi.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini berkat campur tangan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada terhingga kepada:

1. Allah SWT, atas izin dan pertolongan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi untuk mencapai gelar sarjana;
2. Bapak Sabar Untung, Ibunda Sri Ruspandari, Kakak Miftah Ananta Wikrama Firmansyah, Adek Naufal Rabbani Akbar atas kasih sayang, dukungan, nasihat, pengorbanan, semangat, dan do'a yang senantiasa mengiringi setiap langkah bagi perjuangan dan keberhasilan penulis;
3. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
4. Ibu Ika Puspita Dewi, S.Farm., M.Biomed., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
5. Ibu Diana Holiday, S.F., Apt., M.Farm dan Ibu Dr. Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Penguji yang telah berkenan untuk menguji skripsi ini dan memberikan masukan serta saran untuk perkembangan diri penulis dan skripsi ini;
6. Ibu Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan banyak waktu untuk membimbing dalam masa perkuliahan penulis;

7. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mengajarkan ilmu pengetahuan yang berguna dalam menyelesaikan skripsi;
8. Mbak Indri dan Mbak Dini yang telah bersedia dengan sabar memberikan banyak bantuan selama menempuh penelitian ini;
9. Tim Skripsweet (Fadhilah dan Ulya) yang telah memberikan dukungan dan kerjasama terbaik selama penelitian ini;
10. Partner terbaik, Syechfiano Saffa Maulana yang selalu memberikan motivasi, semangat, doa dan tiada hentinya selalu menghibur dalam suka dan duka;
11. Om Suliyono dan Tante Yulia Ningsih Dwi yang selalu memberikan doa, dukungan, dan motivasi selama perkuliahan dan proses mengerjakan skripsi ini;
12. Para sahabat terbaik (Atri, Arofa, Anggi, Intan, Erlintan, Ema, Dian, Assa, Amel, Fani, Safira, Sisil, Eling, Vinda, Lady) yang telah menemani dalam suka dan duka;
13. Teman-teman kosan purple (Firda, Chacha, Muti, Dinda) yang telah memberikan dukungan motivasi dalam mengerjakan skripsi ini;
14. Teman-teman BEMF Farmasi Universitas Jember (Kabinet Pioneer dan kabinet Pandawa), khususnya teman-teman KISMIS yang telah menemani berorganisasi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
15. Teman-teman UKSM Essensi Fakultas Farmasi Universitas jember, khususnya pejabat essensi, divisi teater dan ex kadiv 2018 (Amel, Lady, Ghea) yang telah menemani berkreasi seni di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
16. Departemen Diproil dan Biro Keuangan (Kak Yoga, Vinda, Aldhilah, Nisa, Echa, Denayu, Canda dan April) yang telah memberikan doa dan semangat dalam mengerjakan skripsi ini;
17. Teman-teman Fakultas Farmasi angkatan 2016 (MORFIN), khususnya kelas C yang menemani penulis selama perkuliahan dan dalam proses pengerjaan skripsi ini;

18. Pejuang lab biomed (Desak, Yokta, Putri, Junita, Lady, Monika, Finola, Sabda, Ines, Ulya, Fadhilah, Vivi, Eva, Azzam, Ajeng, Dita) yang memberikan semangat selama skripsi;
19. Teman-teman KKN 145 (Bagus, Hamada, Budi, Alfian, Garda, Sisil, Eling, Izak, Putri) yang memberikan semangat dan dorongan selama skripsi;
20. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung atas bantuan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2020

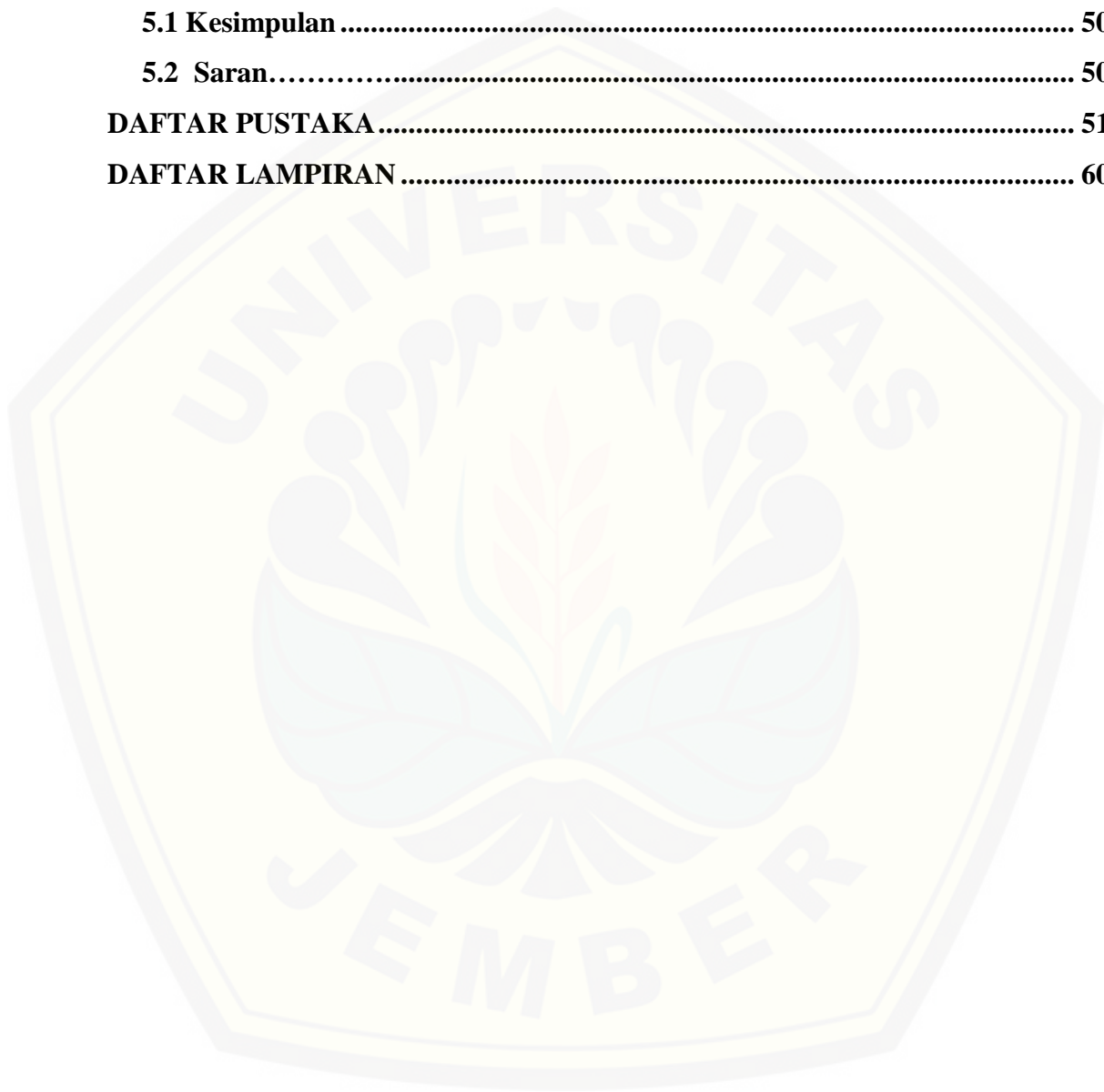
Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|------------------------------|
| SKRIPSI | ii |
| PERSEMBAHAN | iii |
| MOTO | Error! Bookmark not defined. |
| PERNYATAAN | v |
| SKRIPSI | vi |
| PENGESAHAN | vii |
| RINGKASAN | viii |
| PRAKATA | x |
| DAFTAR ISI | xiii |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR TABEL | xvii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xviii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1 Tinjauan tentang Tanaman Tebu (<i>Saccharum officinarum L.</i>) | 6 |
| 2.2.1 Klasifikasi Tanaman Tebu | 6 |
| 2.2.2. Kandungan Tanaman Tebu | 7 |
| 2.2.3. Manfaat Tanaman Tebu | 8 |
| 2.1 Tinjauan tentang Hati | 9 |
| 2.2.1 Anatomi Hati | 9 |
| 2.2.2 Fisiologi Hati | 11 |
| 2.2.3 Kerusakan Hati | 12 |
| 2.2.4. Hepatoprotektor..... | 14 |
| 2.3. Tinjauan tentang Bilirubin | 16 |
| 2.4. Tinjauan tentang Histopatologi Hati | 18 |

| | |
|--|-----------|
| 2.5. Tinjauan tentang Karbon Tetraklorida | 20 |
| BAB 3. METODE PENELITIAN..... | 22 |
| 3.1 Jenis dan Desain Penelitian | 22 |
| 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian | 22 |
| 3.3 Penentuan Populasi Sampel | 22 |
| 3.4 Alat dan Bahan | 23 |
| 3.5.1 Alat | 23 |
| 3.5.2 Bahan..... | 23 |
| 3.5 Kelompok Perlakuan..... | 24 |
| 3.6 Rancangan Penelitian | 25 |
| 3.7 Variabel Penelitian | 26 |
| 3.7.1 Variabel Bebas..... | 26 |
| 3.7.2 Variabel Terikat | 26 |
| 3.7.3 Variabel Terkendali | 27 |
| 3.8 Definisi Operasional Penelitian..... | 27 |
| 3.9 Prosedur Penelitian | 27 |
| 3.9.1 Tahap Persiapan..... | 27 |
| 3.9.2 Tahap Persiapan Hewan Uji | 29 |
| 3.9.3 Tahap Perlakuan Hewan Uji..... | 29 |
| 3.9.4 Tahap Pengambilan Sampel Darah <i>Post Test</i> | 29 |
| 3.9.5 Tahap Pengukuran Kadar Bilirubin | 29 |
| 3.9.6 Tahap Perhitungan Berat Organ Relatif..... | 29 |
| 3.9.6 Tahap Preparasi Histologi | 30 |
| 3.9 Analisis Data | 31 |
| 3.10 Skema Penelitian | 33 |
| 3.10.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tebu | 33 |
| 3.10.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Tebu terhadap Kadar Bilirubin dan Histopatologi Hati | 33 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 35 |
| 4.1 Hasil..... | 35 |
| 4.1.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tebu | 35 |

| | |
|--|-----------|
| 4.1.2 Pengukuran Kadar Bilirubin Serum | 35 |
| 4.1.3 Pengamatan Histopatologi Hati | 38 |
| 4.2 Pembahasan | 43 |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN | 50 |
| 5.1 Kesimpulan | 50 |
| 5.2 Saran..... | 50 |
| DAFTAR PUSTAKA | 51 |
| DAFTAR LAMPIRAN | 60 |



DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2. 1 Tanaman Tebu | 7 |
| Gambar 2. 2 Pembagian lobus hati | 10 |
| Gambar 2. 3 Struktur dasar lobulus hati | 11 |
| Gambar 2. 4 Metabolisme bilirubin | 17 |
| Gambar 2. 5 Histologi hati | 19 |
| Gambar 2. 6 Struktur Karbon Tetraklorida | 20 |
| Gambar 3. 1 Skema Rancangan Penelitian..... | 25 |
| Gambar 3. 2 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tebu..... | 33 |
| Gambar 3. 3 Skema Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Tebu | 34 |
| Gambar 4.1 Morfologi organ hati tikus setelah induksi CCl ₄ pada hari ke-15..... | 40 |
| Gambar 4.2 Histologi jaringan hati tikus dengan pemotongan melintang, pewarnaan hematoksilin – eosin, dan perbesaran 400x | 42 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 4. 1 Kadar bilirubin serum pada tikus | 36 |
| Tabel 4. 2 Rata rata berat organ hati | 39 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Halaman | |
| 3.1 Hasil determinasi daun tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.) | 60 |
| 3.2 Hasil uji Etik | 61 |
| 3.3 Perhitungan dosis Karbon tetraklorida 1 ml/kgBB | 62 |
| 3.4 Perhitungan dosis dan volume suspensi uji yang diberikan | 63 |
| 4.1 Perhitungan Persen Rendemen | 64 |
| 4.2 Data hasil pengukuran kadar Bilirubin serum | 65 |
| 4.3 Data berat organ hati | 66 |
| 4.4 Hasil analisis data bilirubin serum | 66 |
| 4.5 Hasil analisis berat relatif organ hati | 69 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hati merupakan salah satu organ vital dalam tubuh yang memiliki berbagai peranan penting yang mendukung sebagian besar organ dalam tubuh. Hati memiliki fungsi utama terkait dengan proses metabolisme karbohidrat, lipid, protein dan proses detoksifikasi baik obat maupun xenobiotika yang masuk dalam tubuh (Ozouqwu, 2017). Selain itu, hati berfungsi dalam proses biotransformasi dan eliminasi metabolit tubuh. Fungsi tersebut berkaitan dengan enzim pemetabolisme yang dimiliki oleh hati sehingga dapat mengubah xenobiotika menjadi senyawa yang kurang toksik yang selanjutnya dapat dikeluarkan dari dalam tubuh (Cullen, 2005).

Organ hati termasuk organ yang rawan mengalami kerusakan karena berbagai fungsi vital yang dimilikinya. Kerusakan pada hati dapat disebabkan oleh zat beracun atau radikal bebas yang dapat menyebabkan cedera serius. Radikal bebas merupakan atom dengan elektron bebas yang tidak berpasangan dan sangat reaktif (Cichoz-Lach dan Michalak, 2014). Apabila terjadi peningkatan radikal bebas, maka akan memicu produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menginduksi terjadinya stress oksidatif. Kondisi tersebut dapat menyebabkan fibrosis hati dan kerusakan pada sel hepatosit melalui peroksidasi lipid dan alkilasi protein (Ghatak dkk., 2011).

Kerusakan hati dapat berkembang menjadi penyakit hati yang merupakan salah satu masalah kesehatan paling serius di dunia yang dapat menyebabkan kematian (Wang dkk., 2014). Berdasarkan penelitian Maqbool dkk (2019) penyakit hati dapat menyebabkan sekitar 18.000 hingga 20.000 kematian setiap tahunnya. Muriel, (2017) memperkirakan terjadinya peningkatan penyakit sirosis dan kanker hati sebagai penyebab kematian secara internasional hingga tahun 2030.

Komplikasi penyakit sirosis diketahui menyebabkan 1 juta kematian. Secara global, penyakit sirosis saat ini menyebabkan 1,16 juta kematian sedangkan kanker hati menyebabkan 788.000 kematian (Asrani dkk., 2019).

Kerusakan hati dapat diketahui dari peningkatan kadar bilirubin pada hati dan gambaran histopatologinya. Bilirubin merupakan produk akhir dari katabolisme heme akibat penghancuran sel darah merah oleh sel retikuloendotel dan dianggap sebagai produk limbah yang apabila dalam konsentrasi berlebih bersifat sitotoksik (Maruhashi dkk., 2019). Sebagian besar bilirubin diproduksi dalam bentuk tidak terkonjugasi dan tidak larut dalam air, sehingga bilirubin perlu berikatan dengan albumin agar dapat dibawa ke hati dan dimetabolisme menjadi bilirubin terkonjugasi yang kemudian dieksresikan dalam empedu (McDaniel, 2019). Apabila terjadi kerusakan pada hati maka terjadi gangguan dalam proses metabolisme bilirubin, sehingga kadar bilirubin yang tidak terkonjugasi menjadi meningkat. Peningkatan kadar bilirubin dapat diketahui dengan uji biokimia. Rentang normal dari kadar bilirubin total pada manusia adalah 0,3 - 1,2 mg/dL sedangkan kadar normal pada tikus adalah 0,00 – 0,55 mg/dL (Hull dan Agarwal, 2014). Kadar bilirubin berlebih dalam tubuh dapat ditandai dengan kondisi *jaundice* atau kekuningan. Kondisi tersebut dapat ditandai dengan adanya perubahan warna kekuningan pada kulit, mata, sklera, urin dan selaput lendir yang kemudian di ikuti oleh gangguan pencernaan dan kehilangan nafsu makan (Deshpande dkk., 2019).

Salah satu senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan fungsi hati adalah karbon tetraklorida (CCl₄). Senyawa CCl₄ merupakan *xenobiotic* dan digunakan untuk menginduksi kerusakan hati dengan cara meningkatkan oksidatif lipid pada membran sel dan mengubah aktivitas enzim. Pada kerusakan hati yang diinduksi CCl₄, terjadi peradangan dan gangguan pada sistem pertahanan antioksidan sehingga menyebabkan kerusakan hati dan fibrosis hati (Dong dkk., 2016). Produk metabolik dari CCl₄ berupa radikal bebas triklorometil yang bertanggung jawab terhadap toksisitas dan produksi peroksidasi lipid (Basu, 2003). Radikal bebas

tersebut dapat menginduksi stress oksidatif dengan cara mengikat molekul seluler berupa asam nukleat, protein dan lemak yang akan mempengaruhi sintesis DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) dan merusak berbagai proses seluler sehingga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid, kerusakan sel, apoptosis nekrotik, peradangan, fibrosis dan keganasan. Berdasarkan efek yang timbulkan oleh radikal bebas tersebut, maka manifestasi kerusakan hati yang disebabkan oleh CCl₄ berupa infiltrasi lemak dan nekrosis yang berkembang menjadi sirosis yang dapat diamati melalui pemeriksaan histopatologi hati (Chen dkk., 2009).

Hepatoprotektor merupakan senyawa yang dapat memberi perlindungan terhadap hati sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan pada hati. Selain itu, terdapat cara lain untuk melindungi hati yaitu dengan memperlambat atau memblokir stress oksidatif dan memperbanyak asupan antioksidan (Lin dkk., 2012). Salah satu tanaman yang diketahui memiliki efek sebagai antioksidan adalah tebu (*Saccharum officinarum* Linn). Berdasarkan penelitian Janghel dkk., (2019) diketahui bahwa tanaman tebu di India dapat mengatasi penyakit *jaundice* atau kekuningan yang merupakan salah satu gejala dari kerusakan hati.

Tebu (*Saccharum officinarum* Linn) merupakan tanaman rumput dengan family Poaceae yang berasal dari daerah tropis di Asia. Berdasarkan beberapa penelitian diketahui bahwa tebu memiliki sifat antioksidan (Ullah dkk., 2015), antibakteri (Amalia dkk., 2019), antiulcer (Ghiware dkk., 2014), antiinflamasi (Oluwatoyin dkk., 2019), antikanker (Islam, 2017), antiproliferasi (Zheng dkk., 2017a), antikolesterol (Hidayati, 2018) dan antihiperglikemik (Zheng dkk., 2017b). Penelitian yang telah dilakukan oleh Abbas dkk (2014) menyatakan bahwa jus tebu memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Selain itu, jus tebu juga telah terbukti memiliki efek hepatoprotektif pada mencit yang telah diinduksi obat isoniazid. Efek tersebut diduga karena kandungan senyawa polifenol dan flavonoid seperti apigenin, luteolin dan triclin pada jus tebu (Khan dkk., 2015).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi dari ekstrak etanol daun tebu dengan berbagai tingkatan dosis sebagai hepatoprotektor pada hewan uji yang telah diinduksi hepatotoksin (CCl₄). Efek hepatoprotektif dari daun tebu dapat diamati dengan melakukan uji biokimia pada salah satu enzim hati yaitu bilirubin. Selain itu, pembacaan histopatologi hati dilakukan untuk mengetahui efek dari daun tebu. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang potensi ekstrak etanol daun tebu sebagai suplemen hepatoprotektor. pemberian ekstrak etanol daun tebu sebagai efek hepatoprotektor.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dirumuskan adalah sebagai berikut:

- 1) Apakah pemberian ekstrak etanol daun tebu dapat berpengaruh pada kadar bilirubin total dan histopatologi hati tikus putih jantan galur wistar dengan hepatotoksik akut karena induksi CCl₄?
- 2) Bagaimana pengaruh perbedaan dosis dari ekstrak etanol daun tebu dapat berpengaruh pada kadar bilirubin total dan histopatologi hati tikus putih jantan galur wistar dengan hepatotoksik akut karena induksi CCl₄?

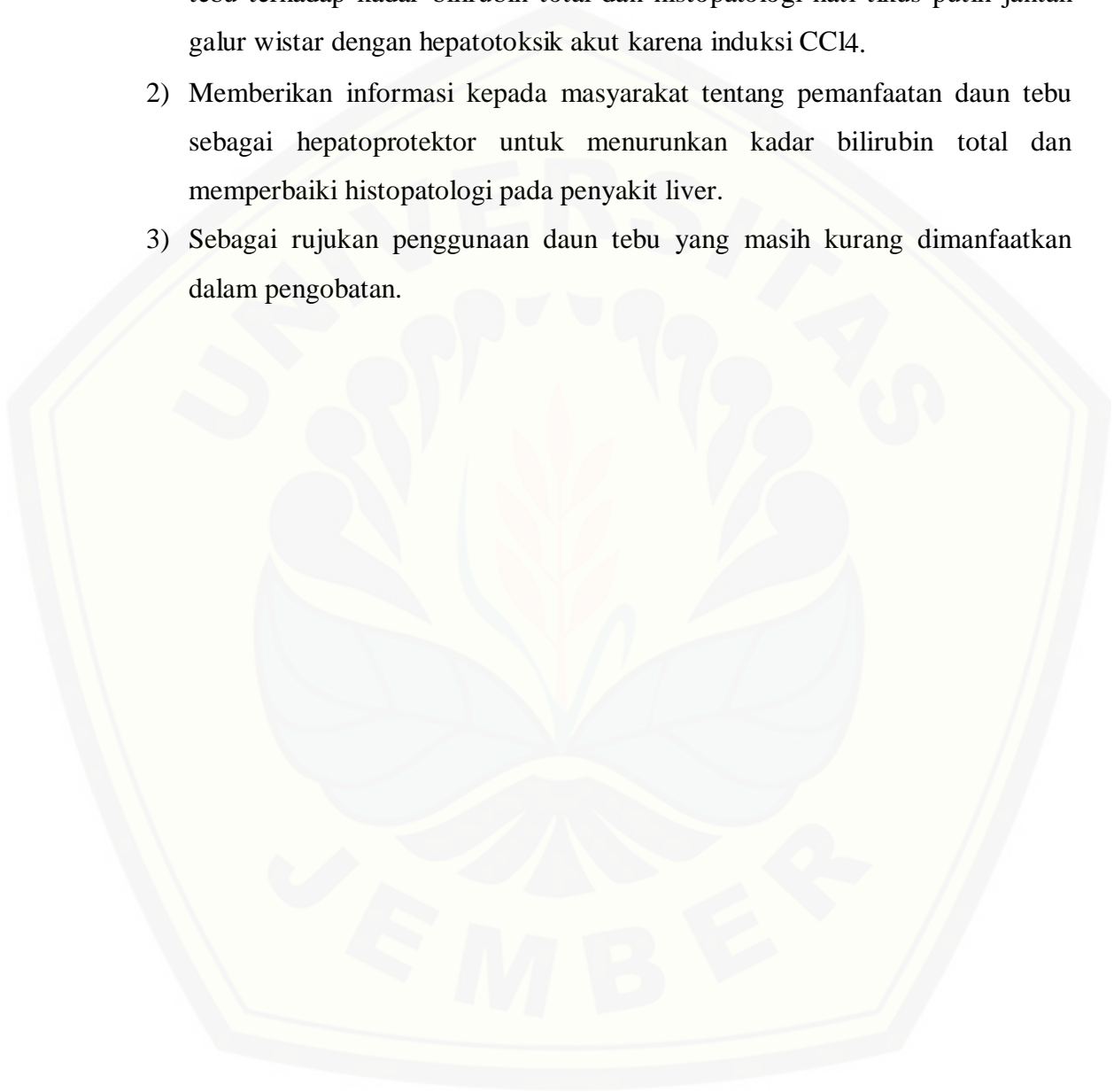
1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah:

- 1) Untuk menentukan pengaruh ekstrak etanol daun tebu terhadap kadar bilirubin total dan histopatologi hati tikus putih jantan galur wistar dengan hepatotoksik akut karena induksi CCl₄.
- 2) Untuk menentukan dosis dari ekstrak etanol daun tebu yang efektif untuk mempertahankan bilirubin total dan memperbaiki histopatologi hati tikus putih jantan galur wistar dengan hepatotoksik akut karena induksi CCl₄.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Memberikan informasi tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun tebu terhadap kadar bilirubin total dan histopatologi hati tikus putih jantan galur wistar dengan hepatotoksik akut karena induksi CCl₄.
- 2) Memberikan informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan daun tebu sebagai hepatoprotektor untuk menurunkan kadar bilirubin total dan memperbaiki histopatologi pada penyakit liver.
- 3) Sebagai rujukan penggunaan daun tebu yang masih kurang dimanfaatkan dalam pengobatan.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum L.*)

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Tebu

Tebu (*Saccharum officinarum L.*) merupakan tanaman yang dikenal sebagai kelompok rumput-rumputan yang banyak tumbuh di daerah tropis dan berasal dari keluarga Poaceae. Tanaman tebu biasanya tumbuh dilingkungan panas dan lembab dengan pH tanah 7,5-8,5. Tebu memiliki siklus hidup sekitar 12 hingga 20 bulan. Tebu memiliki batang longitudinal yang kokoh dan tidak bercabang. Tanaman tebu memiliki tinggi 3-5 m dengan diameter batang sekitar 5 cm (Singh dkk., 2015). Berdasarkan warna pada kulit tebu tanaman tebu secara umum dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu tebu dengan kulit berwarna merah dan tebu dengan kulit berwarna hijau (Feng dkk., 2014). Tanaman tebu dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Tanaman Tebu (Indrawanto dkk., 1984)

Berikut merupakan klasifikasi ilmiah tanaman tebu :

Kindom : Plantae

Diviso : Spermatophyte

Subdiviso : Mangnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Order : Poales
Family : Gramineae atau Poaceae
Genus : Saccharum
Species : *Saccharum officinarum*, L
(ITIS, 2019)

2.2.2. Kandungan Tanaman Tebu

Tebu memiliki kandungan fitokimia yang berlimpah seperti fenolik, triterpenoid, fitosterol dan lignin (Zheng dkk., 2017b). Salah satu senyawa fenolik yang terkandung dalam tebu adalah polifenol. Senyawa ini bertanggung jawab sebagai antioksidan dan memiliki kemampuan sebagai sitoprotektif (Nisha dkk., 2017). Daun tebu diketahui mengandung berbagai policosanol dan beberapa senyawa fenolik salah satunya adalah flavonoid seperti apigenin, luteolin dan triclin. Apigenin dan luteolin merupakan agen yang menjanjikan dalam penghambatan terhadap peroksidasi lipid mikrosomal yang diinduksi radikal bebas (Lee dkk., 2012). Kandungan luteolin pada daun tebu diketahui memiliki aktivitas dalam penangkal radikal (Vila dkk., 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Attard dkk (2015) menyatakan bahwa daun tebu mengandung senyawa *phytosterol*, *stigmasterol*, *sitosterol*, *phytol*, *tocopherol* (vitamin E) dan filokuinon (vitamin K1). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Coutinho dkk (2016) diketahui bahwa ekstrak metanol daun tebu mengandung 114 metabolit yang diidentifikasi melalui metode *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan metode *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* dengan *diode array detector* (LC-DAD-MS), 56 metabolit diantaranya diidentifikasi melalui metode *Mass Spectroscopy* (MS) dan ¹H-NMR. Metabolit yang terkandung diantaranya gula, dua asam organik,

sembilan asam amino, lima turunan asam benzoat, delapan belas turunan asam hidroksisinamat dan dua puluh lima flavon (Coutinho dkk., 2016).

2.2.3. Manfaat Tanaman Tebu

Tanaman tebu telah banyak dibudidayakan di seluruh dunia dan dikenal sebagai salah satu tanaman ekonomi karena merupakan bahan baku utama untuk produksi gula dan alkohol. Selain itu, tebu diketahui memiliki khasiat sebagai tanaman obat (del Río dkk., 2015). Pada berbagai penelitian, tanaman tebu telah dilaporkan memiliki efek antioksidan (Ullah dkk., 2015), antibakteri (Amalia dkk., 2019), antiulcer (Ghiware dkk., 2014), antiinflamasi (Oluwatoyin dkk., 2019), antikanker (Islam, 2017), antiproliferasi (Zheng dkk., 2017a), antikolesterol (Hidayati, 2018) dan antihiperlikemik (Zheng dkk., 2017b). Pada penelitian Pallavi dkk (2012) menyatakan bagian batang dan akar tebu telah digunakan dalam pengobatan Ayurveda untuk mengatasi infeksi kulit dan saluran kemih, serta untuk bronkitis, batuk dan anemia. Menurut sistem kedokteran Yunani, jus tebu diketahui memiliki manfaat terhadap hati pada pasien yang terkena *jaundice* (Karthikeyan dan Samipillai, 2010).

Kulit tebu juga diketahui memiliki berbagai aktivitas biologi yang berkaitan dengan aktivitas imunologis dan trombosis, pelepasan klorin dan antistress, serta dapat bermanfaat sebagai antikanker dan antitumor (Ogu dkk., 2016). Studi praklinis terbaru pada ekstrak tebu menunjukkan potensi terapi dalam mengatur metabolisme karbohidrat dan melindungi terhadap gangguan metabolisme. Selain itu, ekstrak air tebu juga telah terbukti mengandung aktivitas antioksidan total yang signifikan dan memiliki kemampuan untuk mengurangi dan menghambat peroksidasi liposom (Abbas dkk., 2014). Penelitian Khan dkk (2015) menyatakan bahwa jus tebu memiliki efek sebagai hepatoprotektif pada mencit yang diinduksi isoniazid. Efek tersebut diduga karena kandungan senyawa antioksidan pada jus tebu seperti polifenol dan flavonoid. Jenis flavonoid yang terkandung dalam jus

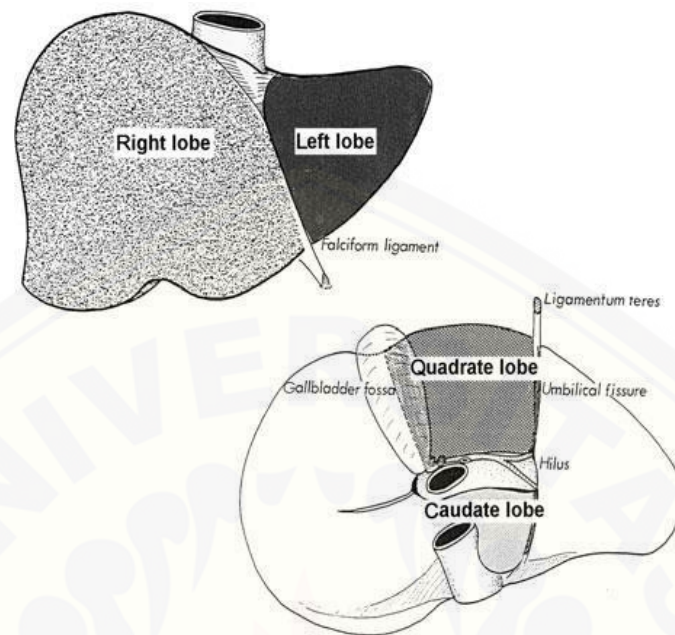
tebu dengan jumlah yang tinggi adalah apigenin, luteolin dan tricetin (Khan dkk., 2015).

2.1 Tinjauan tentang Hati

2.2.1 Anatomi Hati

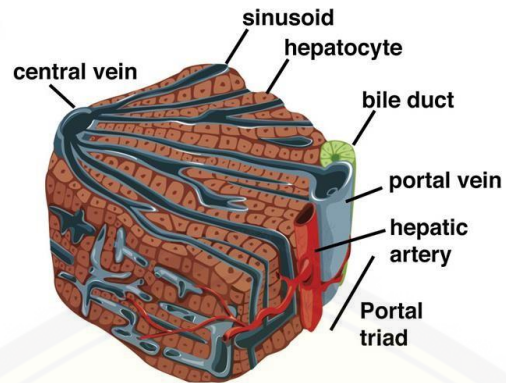
Hati merupakan organ terbesar dengan berat 1500 gram dan menyumbang sekitar 2-3 persen dari total berat badan manusia (Hu dkk., 2019). Hati terletak pada bagian kanan atas rongga perut dan tepat dibawah diafragma. Organ ini tersusun atas jaringan lunak yang berwarna coklat muda dan dienkapsulasi oleh kapsul jaringan ikat yang tipis disebut dengan kapsula Glisson (Muriel, 2017).

Hati tersusun atas beberapa tipe sel dengan fungsi yang berbeda, diantaranya hepatosit, kolangiosit, sel endotel, sel stelata dan sel kupffer (Gordillo dkk., 2015). Hepatosit merupakan sel parenkim hati yang menyumbang 78 % volume hati dan bertanggungjawab dalam proses sintesis, penyimpanan serta filtrasi darah vena portal. Sel kolangiosit berfungsi dalam transportasi empedu, sekresi air dan bikarbonat serta mengontrol pH empedu. Sel endotel memiliki fungsi dalam mentransfer protein dan partikel partikel tertentu serta mengontrol aliran darah. Sel stelata merupakan bagian integral dari *remodeling* hati yang terkait dengan fibrosis hati. Sel kupffer merupakan makrofag hati yang memiliki fungsi sebagai imunologis, fagositik dan mensekresi sitokin dan protease (Juza dan Pauli, 2014; Si-Tayeb dkk., 2010).



Gambar 2.2 Pembagian lobus hati yang terdiri dari empat lobus (Bismuth, 2013)

Hati terbagi menjadi empat lobus utama diantaranya lobus kanan, lobus kiri, lobus kaudatus dan lobus kuadrat seperti yang terlihat pada gambar 2.2. Lobus kanan memiliki ukuran yang lebih besar daripada lobus kiri. Kedua lobus tersebut dibatasi oleh ligamen fosiformis (Sibulesky, 2013). Setiap lobus tersusun atas lobulus yang merupakan unit fungsional dasar hati yang berbentuk heksagonal dengan panjang beberapa millimeter dan berdiameter 0,8-2 mm. Lobulus tersusun oleh lempeng hepatosit yang dilapisi oleh kapiler sinusodial. Suplai darah untuk lobulus berasal dari vena porta dan arteri hepatic yang mengalir melalui jaringan sinusodial (Si-Tayeb dkk., 2010). Struktur dasar dari lobulus dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Struktur dasar lobulus hati (Si-Tayeb dkk., 2010)

Hati memiliki dua sumber suplai darah yang berasal dari saluran pencernaan sebanyak 80 % dan sirkulasi sistemik sebanyak 20 %. Darah yang berasal dari saluran pencernaan mengalir melalui vena porta hepatica sedangkan darah yang berasal dari sirkulasi sistemik melalui arteri hepatica. Darah hati mengalir dengan kecepatan rendah melalui pembuluh darah melewati sinusoid hepatic (Nemeth dkk., 2009). Sekitar dua pertiga darah yang masuk ke hati adalah darah vena yang disuplai oleh vena porta dan sepertiganya adalah darah arteri yang disuplai oleh arteri hepatica. Darah vena porta kaya akan glukosa, asam amino dan trigliserida namun kekurangan oksigen, sedangkan darah arteri kaya akan oksigen dan menyumbang sekitar 50 % oksigen ke hati (Giallourakis dkk., 2002).

2.2.2 Fisiologi Hati

Hati memiliki fungsi dalam proses metabolisme karbohidrat, lipid, protein dan proses ekskresi metabolit limbah. Hati juga memiliki fungsi terkait dengan pengeluaran senyawa senyawa asing yang disebut detoksifikasi metabolit. Hati mengandung enzim pemetabolisme yang berkaitan dengan fungsi detoksifikasi sehingga dapat mengubah xenobiotika menjadi senyawa yang kurang toksik dan bersifat polar sehingga dapat diekskresikan (Cullen, 2005). Selain itu, hati berfungsi dalam mengontrol aliran dan keamanan dari zat yang diserap dari sistem pencernaan sebelum didistribukan ke sistem sirkulasi sistemik (Ozouqwu, 2017). Hati mampu

menyaring racun dan mikroba yang masuk ke hati sebagai upaya pertahanan terhadap respon trauma, stress dan inflamasi (Castro dan Reis, 2016).

2.2.3 Kerusakan Hati

Hati adalah salah satu organ vital terbesar yang rawan mengalami kerusakan karena merupakan organ pertama yang kontak dengan obat, alkohol dan xenobiotika. Xenobiotik merupakan bahan kimia yang tidak diproduksi atau tidak diharapkan terdapat di dalam tubuh dan dapat bersifat sebagai hepatotoksin jika kadarnya berlebih. Selain itu, xenobiotik merupakan salah satu penyebab timbulnya radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Adanya elektron yang tidak berpasangan akan menyebabkan radikal bebas menjadi lebih reaktif dan cenderung akan membentuk pasangan yang menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal baru. Radikal bebas bila terdapat oksigen akan menyebabkan peroksidasi lemak dalam selaput organel (Li dkk., 2015). Efek lain yang ditimbulkan akibat tingginya kadar radikal bebas yaitu kondisi stress oksidatif yang mempengaruhi sintesis DNA dan merusak berbagai proses seluler sehingga menyebabkan terjadinya apoptosis, kerusakan sel, peradangan dan fibrosis (Cichoz-Lach dan Michalak, 2014).

Hati memiliki kemampuan untuk melindungi individu dari cedera yang disebabkan oleh radikal bebas. Namun, jika hati terpapar oleh radikal bebas dalam jumlah yang berlebih maka terjadi disfungsi mitokondria sehingga mendorong terjadinya kematian masif sel hepatosit. Efek yang ditimbulkan dari kematian sel hepatosit adalah disfungsi hati dalam melakukan regenerasi dan menyebabkan kerusakan hati yang dapat berkembang menjadi gagal hati sehingga menyebabkan kematian (Brenner dkk., 2013; Gu dan Manautou, 2012). Kerusakan hati dapat pula disebabkan oleh infeksi bakteri, virus, dan parasit, gangguan imunologi serta gangguan metabolit (Bernal dkk., 2010).

Kerusakan hati memiliki manifestasi yang berbeda beda, tergantung dari penyebabnya diantaranya adalah apoptotis, nekrosis, infiltrasi lemak dan inflamasi. Apoptosis merupakan mekanisme kematian sel yang terorganisir dan ditandai dengan penyusutan sel dan kondensasi kromatin. Proses apoptosis melibatkan aktivasi protease kaspase yang mengatur perubahan morfologis dan menjadi ciri dari kematian sel ini. Nekrosis merupakan kondisi kematian sel yang ditandai dengan pembengkakan sel dan pecahnya membran plasma yang kemudian diikuti oleh hilangnya struktur organel tanpa kondensasi kromatin. Kondisi tersebut disebabkan karena adanya cedera sehingga inti sel mengalami lisis (Green dan Llambi, 2015).

Kerusakan hati yang disebabkan oleh paparan radikal bebas dapat ditandai dengan adanya nekrosis dan infiltrasi lemak. Pada kondisi nekrosis terjadi pelepasan DAMP interseluler yang menyebabkan timbulnya respon inflamasi sehingga terjadi peradangan lokal dan kematian sel (Kim-Campbell dkk., 2019). Inflamasi merupakan salah satu tanda yang menyertai terjadinya kerusakan hati akut dan kronis. Inflamasi merupakan respon terhadap kondisi stress yang bertujuan untuk melindungi sel hepatosit dari cedera dan mendukung dalam perbaikan jaringan. Namun jika respon inflamasi terlalu kuat maka akan menyebabkan hilangnya sel hepatosit dan kerusakan permanen pada parenkim hati (Brenner dkk., 2013). Peradangan kronis yang terjadi secara signifikan dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis hati (Sun dan Karin, 2012).

Kerusakan hati dapat berkembang menjadi penyakit hati yang dapat menyebabkan kematian. Kerusakan sel hepatosit secara terus menerus akan menyebabkan fibrosis. Tahap akhir dari kondisi fibrosis adalah sirosis hati yang ditandai dengan peningkatan endapan dan penampilan nodul regenerative (Iwaisako dkk., 2012). Salah satu manifestasi dari sirosis adalah *jaundice* atau kekuningan. Kondisi *jaundice* disebabkan karena tingginya kadar bilirubin yang merupakan salah satu enzim pemetabolisme hati. *Jaundice* ditandai dengan perubahan warna

kekuningan pada kulit, mata, sklera, urin, selaput lendir yang kemudian diikuti oleh gangguan pencernaan dan kehilangan nafsu makan (Deshpande dkk., 2019).

2.2.4. Hepatoprotektor

Hepatoprotektor merupakan senyawa yang dapat memberi perlindungan terhadap hati. Salah satu mekanisme hepatoprotektor dalam mencegah terjadinya kerusakan adalah antioksidan. Antioksidan merupakan suatu substansi yang menghambat kerusakan obstruktif terhadap molekul target. Efek dari beberapa antioksidan telah banyak diteliti dalam pencegahan dan pengobatan penyakit akibat kerusakan oksidatif (Ighodaro dan Akinloye, 2018). Antioksidan dapat melindungi hati dari efek radikal bebas dengan menghambat dan menghancurkan reaksi radikal bebas sehingga menghambat kerusakan sel. Radikal bebas merupakan atom dengan elektron bebas yang tidak berpasangan dan bersifat reaktif. Mekanisme lain dari antioksidan sebagai hepatoprotektif adalah menjaga keseimbangan redoks dan mengurangi reaktivitas radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektron pada radikal bebas (Ramos-Tovar dan Muriel, 2019).

Antioksidan dapat dikategorikan berdasarkan ukurannya yaitu antioksidan molekul kecil dan antioksidan molekul besar. Antioksidan dengan molekul yang kecil dapat menetralkan radikal bebas dengan penghancuran radikal tersebut. Beberapa antioksidan yang tergolong sebagai antioksidan dengan molekul kecil adalah vitamin C, vitamin E, karotenoid dan glutathion. Antioksidan dengan molekul besar berupa enzim dan protein yang memiliki mekanisme perlindungan dengan cara menyerap radikal dan mencegah radikal untuk menyerang protein esensial lainnya (Nimse dan Pal, 2015).

Tubuh manusia memiliki antioksidan yang berfungsi dalam menyeimbangkan efek oksidan. Antioksidan terbagi menjadi antioksidan enzimatik dan nonenzimatik. Antioksidan enzimatik bekerja dengan cara memecah dan menghilangkan radikal bebas melalui perubahan produk oksidatif yang berbahaya menjadi hidrogen

peroksida dan air. Antioksidan enzimatis terdiri dari superoksida dismutase (SOD), *catalase* (CAT), *glutathion peroxidase* (GTPx), *thioredoxin* (TRX), peroxiredoxin (PRX) dan glutathion tranferase (GST). Antioksidan nonenzimatis terdiri dari vitamin C, vitamin E, asam urat, β - karoten dan glutathion (Leverve, 2009). Beberapa penelitian telah menunjukkan peranan antioksidan enzimatis dan non enzimatis sebagai hepatoprotektor. SOD berfungsi sebagai antioksidan secara enzimatis dengan mendetoksifikasi ion superoksida. CAT dan PRX memiliki peranan dalam menonaktifkan hidrogen peroksida. GST berfungsi dalam mendetoksifikasi peroksidasi seluler (GST berfungsi dalam mendetoksifikasi peroksidasi seluler (Ha dkk., 2010).

Vitamin E memiliki fungsi sebagai antioksidan dengan menstabilkan senyawa radikal bebas dan mencegah terjadinya peroksidasi lipid. Mekanisme vitamin E sebagai antioksidan melalui *complexing* dengan elektron radikal bebas yang tidak berpasangan. Vitamin E telah diketahui memiliki efek dalam menekan replikasi virus hepatitis B (VHB), mencegah perkembangan NAFLD, menurunkan produksi faktor nekrosis tumor pada hepatitis alkoholik dan pencegahan aktivasi dari sel stelata hepatitis (HSC) pada pasien hepatitis kronis (Bernal dkk., 2010; Cichoż-Lach dan Michalak, 2014).

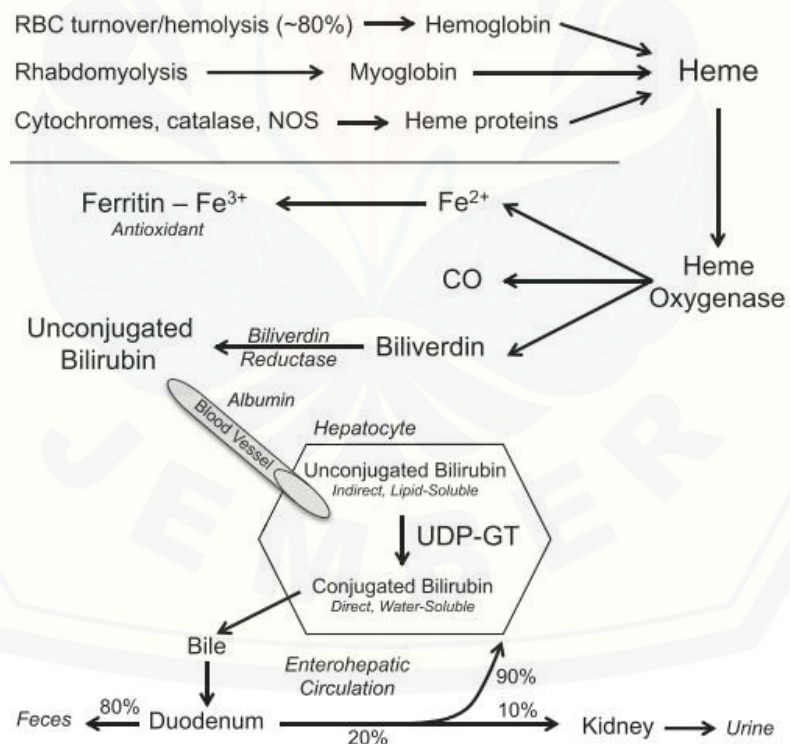
Aktivitas hepatoprotektor dapat diperoleh dari tanaman. *Silybum marianum* merupakan tanaman yang mengandung senyawa alami berupa silymarin dan diketahui telah memiliki efek sebagai hepatoprotektif (Vargas-Mendoza dkk., 2014). Silymarin merupakan ekstrak murni yang telah banyak digunakan sebagai obat untuk penyakit hati akut maupun kronis. Selain itu, silymarin juga dapat digunakan sebagai hepatoprotektif untuk mencegah terjadinya karsinogenesis hati. Silymarin mengandung empat isomer flavonoligna diantaranya silibin, isosilibinin, silidianin, dan silichristin. Silibin merupakan antioksidan efektif yang berperan dalam menstabilkan sel hati terhadap serangan oksidatif (Ha dkk., 2010).

2.3. Tinjauan tentang Bilirubin

Bilirubin merupakan pigmen berwarna merah jingga yang terdapat dalam darah, tinja dan urin. Bilirubin merupakan produk akhir dari proses pemecahan hemoglobin akibat penghancuran sel darah merah dan hemoprotein oleh heme oksigenase (HO) di dalam sel retikulum endoplasma. Sekitar 80 persen bilirubin pada orang dewasa berasal dari degradasi hemoglobin dan 20 persen berasal dari *inefficient* eritropoiesis pada sumsum tulang belakang dan degradasi dari protein heme lainnya (Chowdhury dkk., 2020; Sticova dan Jirsa, 2013). Proses pemecahan hemoglobin menghasilkan biliverdin yang dapat diubah menjadi bilirubin oleh biliverdin reduktase (Hull dan Agarwal, 2014). Heme oksigenase melepaskan besi dan karbon monoksida sehingga dapat membuka cincin heme dan mengkonversi struktur cincin menjadi biliverdin yang berwarna hijau. Biliverdin memiliki sifat yang mudah larut dalam air sehingga secara cepat dapat diubah menjadi bilirubin yang tak terkonjugasi oleh biliverdin reduktase (BVR). BVR terdiri dari BVRA dan BVRB yang masing-masing berfungsi dalam pembentukan bilirubin IXa dan IXb. Sebagian besar bilirubin IXa berperan dalam produksi bilirubin pada orang dewasa, sedangkan bilirubin IXb terdapat selama proses perkembangan janin (O'Brien dkk., 2015).

Bilirubin yang tak terkonjugasi memiliki karakteristik larut dalam lemak namun tidak dapat larut dalam air, sehingga tidak bisa dieksresikan ke dalam empedu atau urin. Bilirubin tak terkonjugasi harus berikatan dengan albumin agar dapat diangkut menuju hati melalui aliran darah. Bilirubin yang masuk ke dalam sitoplasma hepatosit akan dilepaskan dari albumin plasma yang selanjutnya akan terikat oleh ligan dan diangkut ke retikulum endoplasma. Bilirubin yang telah diangkut akan dikonjugasikan dengan asam glukuronat dan dikatalisis oleh UDP-glukuronosiltransferase (UGT1A1). Bilirubin yang terkonjugasi memiliki sifat tidak larut lemak tetapi larut dalam air sehingga dapat dieksresikan melalui empedu dan urin (Sticova dan Jirsa, 2013).

Konjugat bilirubin disekresikan ke dalam empedu melalui transporter anion organik multispesifik yang dimediasi oleh MRP2 dalam membran kanalikuli. Bilirubin yang terkumpul dalam kantong empedu akan masuk kedalam usus. Konjugat bilirubin yang mencapai di usus akan didekonjugasi menjadi bilirubin tak terkonjugasi oleh beta glukuronidase. Sebagian besar bilirubin tak terkonjugasi tersebut akan direduksi menjadi sterkobilinogen dan urobilinogen yang larut air dan tidak berwarna (Castro dan Reis, 2016). Sterkobilin dan Uribilin akan dieksresikan dalam tinja dan sekitar 20 % urobilin akan diserap kembali dan diekskresikan dalam urin melalui sirkulasi enterohepatik. Sebagian kecil bilirubin tak terkonjugasi yang tidak direduksi akan diserap kembali oleh usus besar dan kembali menuju hati melalui sirkulasi portal (Gazzin dkk., 2016). Mekanisme metabolisme bilirubin dapat dilihat pada gambar 2.4.

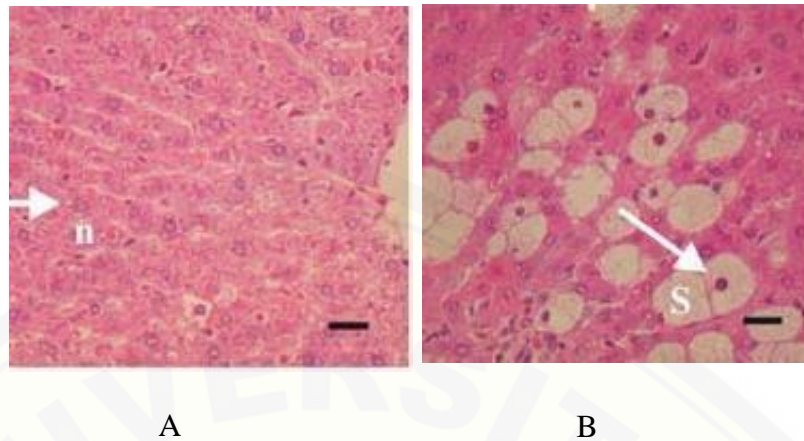


Gambar 2. 4Metabolisme bilirubin (Hull dan Agarwal, 2014)

Kadar normal bilirubin memiliki rentang yang berbeda antara manusia dan hewan. Kadar bilirubin dikatakan normal pada manusia jika memiliki rentang antara 0,2-1,2 mg/dL sedangkan kadar bilirubin normal pada tikus adalah 0,00-0,55 mg/dL (Hull dan Agarwal, 2014). Bilirubin bersifat sitoprotektif pada konsentrasi yang relatif rendah, tetapi berpotensi toksik pada konsentrasi yang lebih tinggi. Selain itu, bilirubin dapat berfungsi sebagai antioksidan endogen jika dalam konsentrasi rendah. Kadar bilirubin total serum yang tinggi akan mengindikasikan terjadinya kerusakan hati (Hamoud dkk., 2018). Kondisi hiperbilirubinemia yang tak terkonjugasi memiliki resiko yang tinggi untuk mengalami ensefalopati bilirubin (kernikterus). Kadar minimal dari total bilirubin yang menunjukkan kondisi ikterus adalah 3,0 mg/dL. Manifestasi yang menunjukkan terjadinya kenikterus adalah kondisi *jaundice*. Kondisi tersebut ditandai dengan perubahan warna kekuningan pada tubuh (Chowdhury dkk., 2020; Maruhashi dkk., 2019).

2.4. Tinjauan tentang Histopatologi Hati

Histopatologi merupakan ilmu yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan sebagai tanda adanya suatu penyakit. Proses histopatologi diawali dengan pembuatan preparat organ yang selanjutnya diberi pewarnaan dan diamati dibawah mikroskop. Hati normal memiliki gambaran histologi yang terdiri dari sel sel penyusun hati dalam kondisi normal tanpa adanya kerusakan. Sedangkan hati yang terinduksi CCl₄ biasanya akan mengalami degenerasi sel, steatosis atau perlemakan hati dan nekrosis atau hilangnya inti sel (Meutia, 2015). Gambaran histologi hati normal dan hati yang terinduksi CCl₄ dapat dilihat pada gambar 2.5.

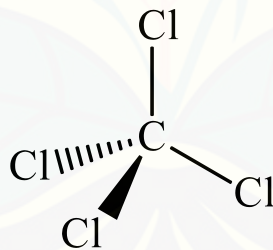


Gambar 2. 5 Histologi hati. Keterangan : A. Histologi normal. B. Histologi hati yang terinduksi karbon tetraklorida. Tanda panah pada gambar A menunjukkan sel hati normal sedangkan tanda panah pada gambar B menunjukkan akumulasi lemak pada hati (Panjaitan dkk., 2007)

Pemeriksaan histopatologi hati dapat dilakukan untuk menilai kondisi dari hati. Salah satunya untuk menentukan derajat fibrosis hati yang merupakan salah satu penilaian penting pada penyakit hati kronis. Penilaian histopatologi fibrosis dianggap sebagai *gold standart*. Kondisi disfungsi dan kelainan hati dapat ditandai dengan adanya perubahan arsitektur parenkim hati yang merupakan hasil dari stadium lanjut fibrosis (Standish dkk., 2006). Manifestasi lain yang menandakan adanya kerusakan pada organ hati adalah terjadinya infiltrasi atau penimbunan lemak dan nekrosis. Infiltrasi lemak terjadi karena penurunan sintesis apoprotein di hati, yang menyebabkan berkurangnya transpor lemak dari sel hati keluar sel sehingga lemak tertimbun dalam sel-sel hati. Kondisi nekrosis pada gambaran histologi ditandai dengan menghilangnya inti sel. Proses perubahan tersebut terdiri dari tahap proses piknosis, karioseksis dan kariolisis (Bataller dan Brenner, 2005).

2.5. Tinjauan tentang Karbon Tetraklorida

Karbon tetraklorida (CCl_4) adalah senyawa hepatotoksik yang dapat menyebabkan kerusakan hati akibat adanya radikal bebas yang bersifat reaktif. Struktur CCl_4 dapat dilihat pada gambar 2.6. Produk metabolik dari CCl_4 yang berupa radikal bebas adalah triklorometil. Triklorometil yang bertemu oksigen akan membentuk radikal triklorometilperoksi yang mampu menyerang lipid membran endoplasmik retikulum dengan kecepatan yang melebihi triklorometil. Senyawa tersebut bertanggung jawab terhadap terjadinya toksisitas dan produksi peroksidasi lipid (Basu, 2003). Kondisi stres oksidatif dan peroksidasi lipid terjadi melalui sitokrom P4502E1 (CYP2E1) akibat tingginya kadar radikal yang sangat reaktif. Spesies oksigen reaktif (ROS) yang dihasilkan dari CCl_4 merangsang hepatosit untuk mengeluarkan sinyal untuk aktivasi sistem kekebalan tubuh dan sel Kupffer untuk memperburuk peradangan hati dengan menghasilkan berbagai sitokin ROS dan sitokin proinflamasi sehingga menyebabkan kerusakan yang ditandai dengan nekrosis hepatoseluler (Kim dkk., 2011).



Gambar 2. 6 Struktur Karbon Tetraklorida (ChemDraw 2010)

Beberapa efek dapat ditimbulkan akibat terpapar oleh senyawa CCl_4 . Dosis rendah dapat memberikan efek berupa hilangnya sekuestrasi Ca^{2+} , gangguan homeostasis lipid, pelepasan sitokin yang berbahaya, dan peristiwa apoptosis yang selanjutnya diikuti oleh proses regenerasi. Pemberian CCl_4 dengan dosis yang lebih tinggi akan memberikan efek yang lebih serius dan bersifat permanen seperti degenerasi lemak, fibrosis, sirosis, dan kanker (Weber dkk., 2003). Berdasarkan

efek yang ditimbulkan oleh CCl_4 maka senyawa ini sering digunakan dalam penelitian terkait dengan cedera hati akut maupun kronis pada sebagian kasus penyakit hati (Kim dkk., 2011).



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan hewan uji sebagai subjek penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun tebu (*Saccharum officinarum L.*) dengan tingkatan dosis yang berbeda terhadap kadar bilirubin dan histopatologi hati tikus yang terinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia sebagai tempat ekstraksi daun tebu dan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember sebagai tempat perlakuan hewan coba dan pengukuran kadar bilirubin serta pembuatan preparat histopatologi hati. Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2019 sampai Juni 2020.

3.3 Penentuan Populasi Sampel

Pengelompokan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling* menjadi 6 kelompok. Penentuan jumlah tikus tiap kelompok dihitung dengan menggunakan rumus Federer (Ridwan, 2013) :

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

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

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

$$n-1 \geq 3$$

$$n \geq 4$$

keterangan : n = besarnya sampel tiap kelompok

t = banyaknya kelompok

Berdasarkan perhitungan diatas maka sampel yang digunakan pada tiap kelompok minimal 4 ekor tikus dan jumlah kelompok yang digunakan adalah 6 kelompok. Sehingga total tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus. Sebelum penelitian dilakukan uji etik diajukan ke Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain blender, *rotary evaporator*, neraca analitik digital (Ohaus), timbangan hewan coba, destilator, spuit injeksi (Terumo), sonde, papan fiksasi, pipa kapiler, alat gelas, mortir, stemper, sentrifuge (Hettich, EBA 20), *microtube*, mikrotib, mikropipet (*Socorex Swiss*), mikroskop, mikrotom dan fotometer (*Biolyzer 100*).

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain daun tebu (*Saccharum officinarum L*) dari Pakis Jember, *Milk Thistle Silybum marianum* (Puritan's Pride), etanol 96%, CMC Na 1%, aquadest, karbon tetraklorida (Merck), eter, klorofom, *neutral buffered formaline* (NBF), paraffin, *xylene*, pewarna *hematoxylin eosin*.

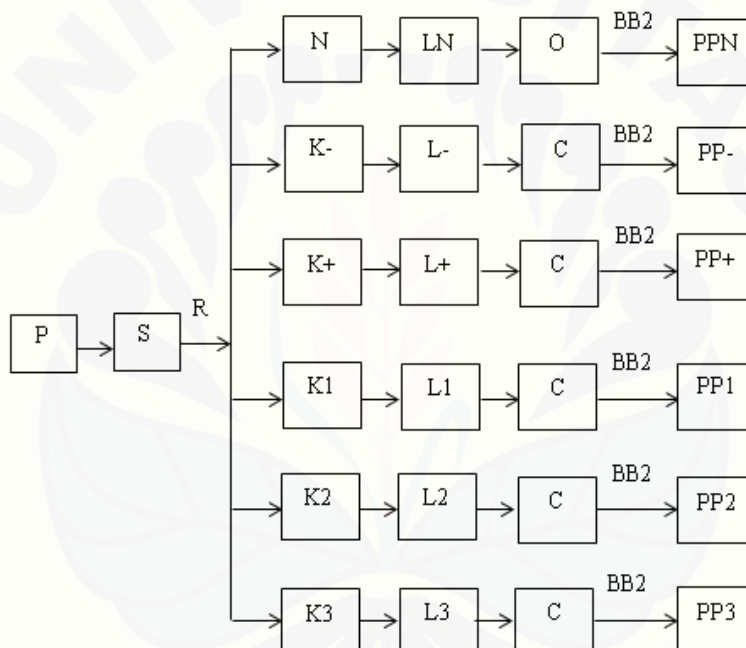
3.5 Kelompok Perlakuan

Pada penelitian ini digunakan 24 tikus yang terbagi dalam 6 kelompok antara lain kelompok normal, kontrol negatif, kontrol positif dalam kelompok perlakuan dengan dosis 300, 400 dan 500 mg/kgBB.

1. Kelompok Normal : Kelompok tikus yang diberi perlakuan CMC Na 1% secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi aquadest 1 mL/kgBB.
2. Kelompok Negatif : Kelompok tikus yang diberi perlakuan CMC Na 1% secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi larutan CCl₄ dengan dosis 1 mL/kgBB.
3. Kelompok Positif : Kelompok tikus yang diberi perlakuan suspensi *Milk Thistle Silybum marianum* dengan dosis 100 mg/kgBB secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi larutan CCl₄ dengan dosis 1 mL/kgBB.
4. Kelompok Uji 1 : Kelompok tikus yang diberi perlakuan dengan suspensi ekstrak etanol daun tebu dengan dosis 300 mg/kgBB secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi larutan CCl₄ dengan dosis 1 mL/kgBB.
5. Kelompok Uji 2 : Kelompok tikus yang diberi perlakuan dengan suspensi ekstrak etanol daun tebu dengan dosis 400 mg/kgBB secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi larutan CCl₄ dengan dosis 1 mL/kgBB.
6. Kelompok Uji 3 : Kelompok tikus yang diberi perlakuan dengan suspensi ekstrak etanol daun tebu dosis 500 mg/kgBB secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi larutan CCl₄ dengan dosis 1 mL/kgBB.

3.6 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan *post test with control grup design*. Pengukuran kadar bilirubin pada tikus dilakukan sebelum dan sesudah diinduksi CCl_4 yang selanjutnya dibuat preparat hati. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 1 kelompok normal, 2 kelompok kontrol, dan 3 kelompok perlakuan. Rancangan penelitian mengikuti metode Chiu dkk (2018) yang dimodifikasi. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar 3.1



Gambar 3. 1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

P : Populasi hewan coba

R : Randomisasi hewan coba

S : Sampel hewan coba

K : Kelompok

N : Normal tikus dengan pemberian CMC Na 1 % secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi dengan aquadest 1 mL/kgBB.

- : Kontrol negatif tikus dengan pemberian CMC Na 1 % secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi CCl₄ 1 mL/kgBB.
- + : Kontrol positif tikus dengan pemberian *Milk Thistle Silybum marianum* secara per oral selama 14 hari kemudian diinduksi CCl₄ 1 mL/kgBB.
- 1 : Perlakuan tikus dengan pemberian suspensi ekstrak etanol daun tebu dosis 300 mg/kgBB selama 14 hari kemudian diinduksi CCl₄ 1 mL/kgBB.
- 2 : Perlakuan tikus dengan pemberian suspensi ekstrak etanol daun tebu dosis 400 mg/kgBB selama 14 hari kemudian diinduksi CCl₄ 1 mL/kgBB.
- 3 : Perlakuan tikus dengan pemberian suspensi ekstrak etanol daun tebu dosis 500 mg/kgBB selama 14 hari kemudian diinduksi CCl₄ 1 mL/kgBB.
- L : Lama perlakuan selama 14 hari
- O : Induksi aquadest dosis 1 mL/kgBB secara intraperitoneal
- C : Induksi CCl₄ dosis 1 mL/kgBB secara intraperitoneal
- BB2 : Pembedahan dan pengambilan organ hati serta pengukuran kadar bilirubin setelah perlakuan
- PP : Pembuatan preparat histologi hati

3.7 Variabel Penelitian

3.7.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian adalah dosis ekstrak etanol daun tebu merah (*Saccharum officinarum L*) yaitu 300 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.

3.7.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah penurunan kadar bilirubin dan gambaran histopatologi hati.

3.7.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah metode ekstraksi, berat badan tikus, usia tikus, jenis galur tikus, jenis kelamin tikus dan kondisi pemeliharaan dan perlakuan hewan uji.

3.8 Definisi Operasional Penelitian

1. Daun tebu yang digunakan dalam pembuatan ekstrak pada penelitian ini berasal tanaman tebu merah yang diambil dari daerah Pakis Kecamatan Panti Kabupaten Jember yang sudah dideterminasi di Politeknik Negeri Jember. Bagian daun tebu merah yang digunakan adalah seluruh bagian dari daun
2. Tikus yang digunakan yaitu tikus jantan galur Wistar dengan usia 8-12 minggu dengan berat badan 180-200 gram dan dalam kondisi sehat (Mahmoodzadeh dkk., 2017).
3. Ekstrak etanol daun tebu merah memiliki efek sebagai hepatoprotektor apabila dapat menurunkan kadar bilirubin secara signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif.
4. Pengamatan histopatologi hati dapat dilakukan dengan melihat kerusakan seperti infiltrasi sel inflamasi dan vakuolisasi (Cheng dkk., 2009).
5. Kadar bilirubin dilihat dari darah tikus pada hari ke-15 sebagai data *post test* yang kemudian diukur dengan fotometer. Kadar normal bilirubin pada tikus yaitu 0,00 – 0,55 mg/dL (Hull dan Agarwal, 2014).

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Tahap Persiapan

a. Pembuatan Simplisia Daun Tebu

Sampel daun tebu merah yang berasal dari tanaman tebu merah dengan usia sekitar dua bulan diambil sebanyak 4 kg kemudian dicuci dengan air mengalir. Daun tebu dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil. Selanjutnya potongan daun tebu tersebut dikeringkan kemudian diperkecil lagi ukurannya dengan diblender sehingga diperoleh serbuk daun tebu. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96 % yang telah didestilasi sebelumnya. Serbuk daun tebu direndam dalam etanol 96 % dengan perbandingan 1:10 selama 2 x 24 jam dan sesekali diaduk serta ditutup rapat. Maserat kemudian disaring dengan corong *buchner* sehingga dihasilkan ekstrak cair tanpa ampas. Ampas dari sisa maserasi selanjutnya diremaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:5 dan kemudian disaring dengan corong *buchner*. Hasil maserasi dan remaserasi kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C agar diperoleh ekstrak kental.

b. Pembuatan CMC Na 1%

Suspensi CMC Na dibuat dengan menimbang 1 g CMC Na kemudian ditaburkan dalam 30 ml aquadest dan dibiarkan mengembang selama 1 hari. Selanjutnya CMC Na yang telah mengembang diaduk sampai homogen dan ditambahkan air sampai 100 ml.

c. Pembuatan Suspensi *Milk Thistle Silybum marianum* 100 mg/kgBB

Suspensi *Milk Thistle Silybum marianum* dibuat dengan menimbang sebanyak 4,133 gram kemudian ditambahkan 120 ml CMC Na 1 % dan dihomogenkan. Suspensi Silymarin dengan dosis 100 mg/kgBB diberikan pada kelompok kontrol positif (Athokpam dkk., 2017).

d. Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Tebu

Suspensi ekstrak etanol daun tebu dibuat dengan dosis 300 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Suspensi ekstrak etanol daun tebu dosis 300 mg/kgBB dibuat dengan menambahkan 4500 mg ekstrak daun tebu kedalam 150 ml suspensi CMC Na 1 %. Suspensi ekstrak etanol daun tebu dosis 400 mg/kgBB dibuat dengan

menambahkan 6000 mg ekstrak daun tebu kedalam 150 ml suspensi CMC Na 1 %. Suspensi ekstrak etanol daun tebu dosis 500 mg/kgBB dibuat dengan menambahkan 7500 mg ekstrak daun tebu kedalam 150 ml suspensi CMC Na 1 %.

3.9.2 Tahap Persiapan Hewan Uji

Tikus jantan galur wistar diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Jember dengan pemberian pakan dan minum secukupnya. Sebelum dilakukan penelitian, tikus ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui berat badan tikus agar memenuhi kriteria penelitian. Selanjutnya tikus dikelompokkan secara acak kedalam 6 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 tikus.

3.9.3 Tahap Perlakuan Hewan Uji

Penelitian dilakukan dengan menggunakan 24 tikus yang telah terbagi dalam 6 kelompok secara acak. Perlakuan pada tikus dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke-14 seluruh hewan uji selain kelompok normal diinduksi hepatotoksin CCl₄ dengan dosis 1 mL/kgBB secara *intrapertoneal* satu jam setelah pemberian perlakuan (Panjaitan dkk., 2007). Dua puluh empat jam setelah pemberian CCl₄ hewan uji dibedah untuk diambil organ heparnya untuk pembuatan preparat histologi hati. Selain itu, hewan uji diambil darahnya melalui *intracardiac* untuk dilakukan pengukuran kadar bilirubin sebagai data post.

3.9.4 Tahap Pengambilan Sampel Darah *Post Test*

Setelah pemberian perlakuan selama 14 hari, pengambilan darah dilakukan sebagai data *post test*. Darah diambil melalui *intracardiac* sebanyak 2 ml. Darah diletakkan pada *microtube* dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh serum darah. Serum yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan mikropipet dan siap dianalisis dalam pengecekan kadar bilirubin.

3.9.5 Tahap Pengukuran Kadar Bilirubin

Pengukuran kadar bilirubin dilakukan pada hari ke-0 dan satu hari setelah pemberian CCl_4 . Pengukuran kadar bilirubin terdiri dari pengukuran blanko dan sampel darah. Pada preparasi blanko, R1 sebanyak 50 μl diletakkan pada tabung reaksi kemudian ditambah dengan R3 sebanyak 250 μl dan sampel serum darah sebanyak 50 μl . Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi selama 10 menit kemudian ditambahkan R4 sebanyak 250 μl dan diinkubasi kembali selama 5 menit. Setelah preparasi selesai, kadar blanko dapat diukur dengan menggunakan alat fotometer. Pengukuran sampel serum darah dilakukan dengan mencampurkan 50 μl R1, 12,5 μl R2, 250 μl R3 dan 50 μl sampel serum darah. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi selama 10 menit kemudian ditambahkan R4 sebanyak 250 μl dan diinkubasi kembali selama 5 menit. Setelah preparasi, kadar sampel bilirubin dapat diukur dengan menggunakan alat fotometer (Analyticon. tanpa tahun).

3.9.6 Tahap Perhitungan Berat Organ Relatif

Organ hati yang telah diambil kemudian dibersihkan menggunakan air lalu ditimbang untuk mengetahui bobot absolut. Selanjutnya dilakukan perhitungan berat relatif organ hati dengan cara :

$$\frac{\text{berat organ}}{\text{berat badan}} \times 100 \%$$

Berat badan hewan uji yang digunakan dalam penimbangan adalah berat terakhir sebelum hewan dikorbankan.

3.9.7 Tahap Preparasi Histologi

Semua hewan uji dibedah dan dikorbankan untuk diambil organ heparnya. Sebelum tikus dikorbankan, hewan tersebut diberi eter dan kemudian dibedah. Organ liver yang diambil kemudian disimpan dalam *neutral buffered formalin* (NBF) 10 % dengan pH 7,3 selama 24 jam. Setelah itu organ didehidrasi dengan menggunakan alkohol 70%, 80%, 90%, 95% dan alkohol absolut kemudian dilanjutkan dengan proses *clearing* selama 1 jam hingga jaringan menjadi bening. Selanjutnya dilakukan proses *blocking* dengan memasukkan jaringan ke dalam paraffin sehingga menjadi blok preparat dan siap untuk dipotong dengan mikrotom.

Blok paraffin dipotong secara melintang dengan tebal potongan 4-5 μm . Potongan jaringan diletakkan pada *water bath* kemudian diambil dengan gelas objek. Selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan hematoksin-eosin. Proses pewarnaan diawali dengan deparafinasi dengan xylo I, xylo II dan dilanjutkan dengan proses rehidrasi alkohol bertingkat lalu dialiri air mengalir. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan hematoksin selama 2-5 menit dan dicuci dengan air lalu dilanjutkan dengan pewarnaan eosin selama 2 menit. Selanjutnya gelas objek dicuci dengan air mengalir dan dilakukan proses dehidrasi dengan alkohol lalu preparat dimasukkan dalam xylo I dan xylo II kemudian direkatkan dengan entelan dan ditutup dengan *cover glass*. Analisis preparat hati dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 40x dan 400x (Schachet dkk., 1977).

3.9 Analisis Data

Data yang akan dianalisis adalah kadar bilirubin dan berat organ relative. Analisis data dilakukan dengan menggunakan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) untuk mengetahui perbedaan antara kelompok penelitian. Data yang diperoleh diuji terlebih dahulu nilai normalitas dan homogenitasnya. Jika nilai normalitas memenuhi syarat yaitu $p > 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji parametrik *one-way Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila uji ANOVA memberikan hasil yang bermakna maka dilanjutkan uji *Least Significant Defferent* (LSD) untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang signifikan antar kelompok uji. Data memiliki nilai perbedaan yang bermakna apabila nilai $p < 0,05$. Jika data normalitas dan homogenitas tidak dapat dipenuhi maka dilakukan uji *Kruskal- Walls* yang merupakan uji non parametrik dan dilanjutkan dengan uji *Mann- Whitney*.

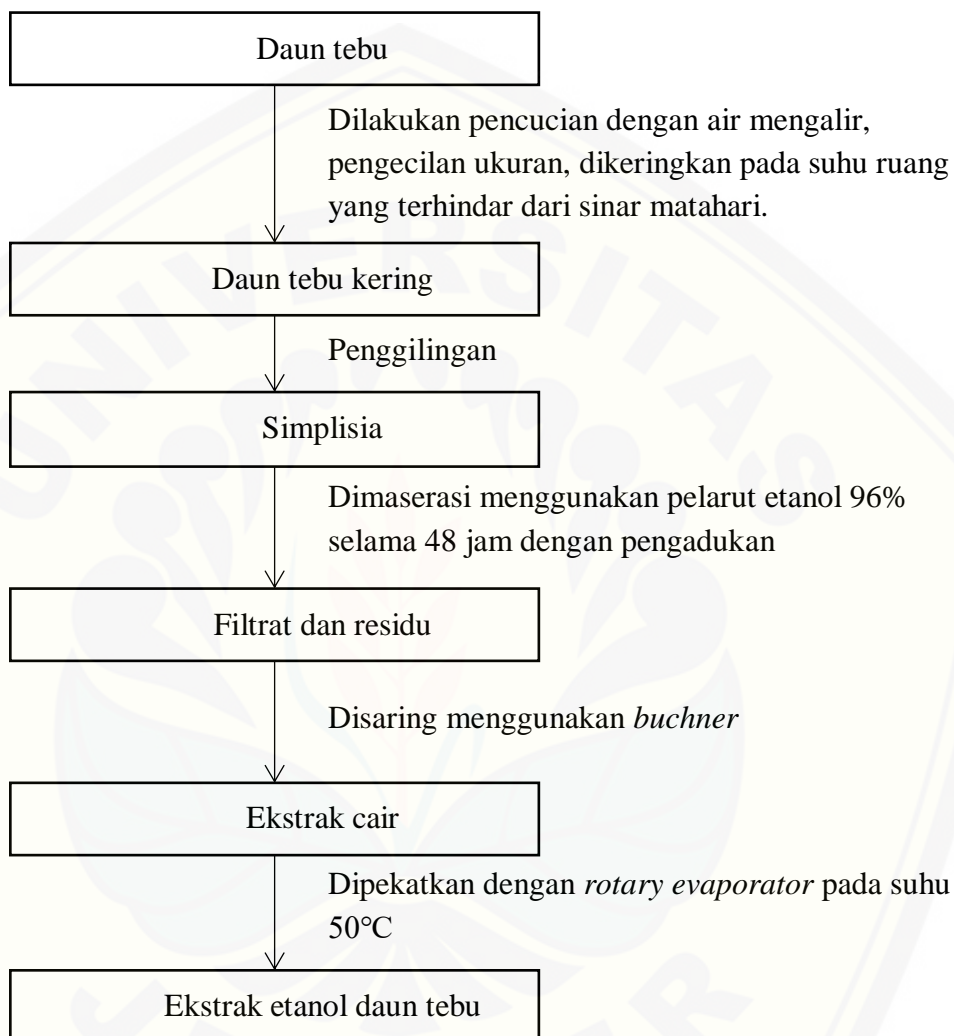
Analisis data untuk hasil histopatologi dilakukan oleh peneliti secara deskriptif. Pengamatan mikroskopis hepar dilakukan dengan mengamati sel hepatosit

yang mengalami vakuolisasi dan infiltrasi sel inflamasi pada 100 sel yang terbagi dalam 5 lapang pandang. Pengamatan mikroskopis dilakukan pada perbesaraan 400 kali (Rohmani dan Rakhmawati, 2015).



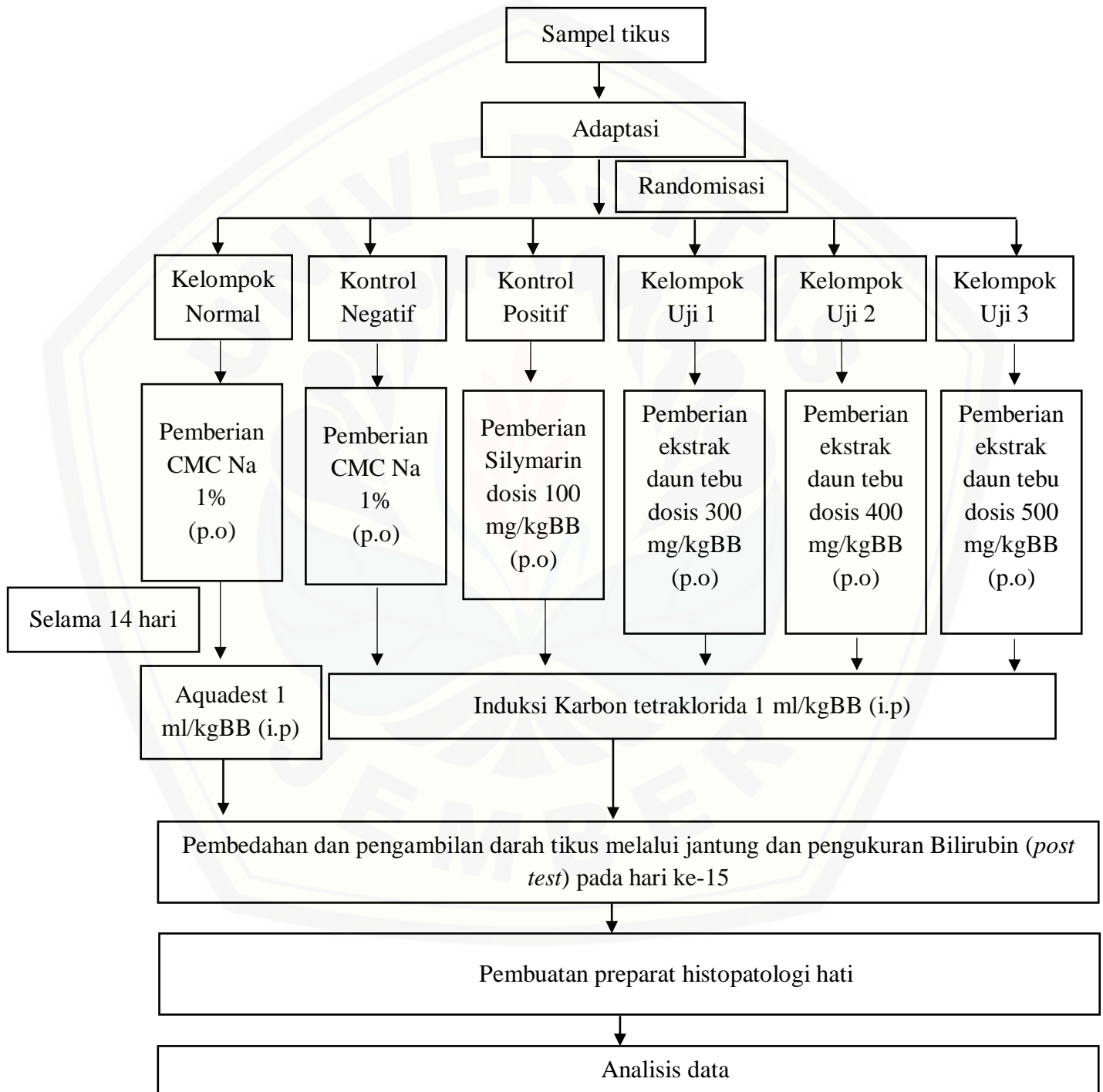
3.10 Skema Penelitian

3.10.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tebu



Gambar 3.2 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tebu

3.10.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Tebu terhadap Kadar Bilirubin dan Histopatologi Hati



Gambar 3.3 Skema Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Tebu terhadap Kadar Bilirubin dan Histopatologi Hati

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- a. Ketiga dosis ekstrak etanol daun tebu (*Saccharum officinarum* L.) memiliki aktivitas dalam mempertahankan kadar bilirubin serum seperti kadar normal.
- b. Ekstrak etanol daun tebu (*Saccharum officinarum* L.) dosis 500 mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif dalam memperbaiki gambaran histopatologi hati seperti kondisi normal dibandingkan dengan kelompok ekstrak daun tebu dosis 300 mg/kgBB serta 400 mg/kgBB.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas akut maupun kronis ekstrak etanol daun tebu (*Saccharum officinarum* L.) untuk mengetahui batas aman pemberian dosis ekstrak etanol daun tebu.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bentuk sediaan farmasi dari ekstrak etanol daun tebu (*Saccharum officinarum* L.) sebagai hepatoprotektor.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, S. R., S. M. Sabir, S. D. Ahmad, A. A. Boligon, dan M. L. Athayde. 2014. Phenolic profile, antioxidant potential and dna damage protecting activity of sugarcane (*Saccharum officinarum*). *Food Chemistry*. 147:10–16.
- Amalia, A. V., K. K. Pukan, N. Setyawati, T. Widiatningrum, dan U. Khasanah. 2019. Antibacterial activity of *Saccharum officinarum* leaves extract against food-borne disease. *Journal of Physics: Conference Series*. 1321(3):1–6.
- Analiticon. tanpa tahun. *Fluitest ALP DGKC*. Dalam Biocon Diagnostic: Analyticon Biotechnologies AG. Germany: Biocon.
- Asrani, S. K., H. Devarbhavi, J. Eaton, dan P. S. Kamath. 2019. Burden of liver diseases in the world. *Journal of Hepatology*. 70(1):151–171.
- Athokpam, R., M. Bawari, dan M. D. Choudhury. 2017. Hepatoprotective activity of aqueous extract of *Pyrus pashia* buch.- ham. ex d. don against ccl 4 induced liver damage. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 8(10):4195–4200.
- Attard, T. M., C. R. McElroy, C. A. Rezende, I. Polikarpov, J. H. Clark, dan A. J. Hunt. 2015. Sugarcane waste as a valuable source of lipophilic molecules. *Industrial Crops and Products*. 76:95–103.
- Azmir, J., I. S. M. Zaidul, M. M. Rahman, K. M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M. H. A. Jahurul, K. Ghafoor, N. A. N. Norulaini, dan A. K. M. Omar. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering*. 117(4):426–436.
- Basu, S. 2003. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*. 189(1–2):113–127.
- Bataller, R. dan D. a Brenner. 2005. Science in medicine liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 115(2):209–218.
- Bernal, W., G. Auzinger, A. Dhawan, dan J. Wendon. 2010. Acute liver failure. *The Lancet*. 376(9736):190–201.
- Bismuth, H. 2013. Revisiting liver anatomy and terminology of hepatectomies. *Annals of Surgery*. 257(3):383–386.
- Brenner, C., L. Galluzzi, O. Kepp, dan G. Kroemer. 2013. Decoding cell death signals in liver inflammation. *Journal of Hepatology*. 59(3):583–594.

- Cain, O. L. dan S. G. Hübscher. 2019. Histological assessment of the liver. *Medicine (United Kingdom)*. 707–712.
- Castro, C. A. De dan S. Reis. 2016. *Biomarkers in Liver Disease*. November. *British Journal of Nutrition*.
- Chen, P., C. Li, W. Pang, Y. Zhao, W. Dong, S. Wang, dan J. Zhang. 2009. The protective role of per2 against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *American Journal of Pathology*. 174(1):63–70.
- Cheng, A. L., Y. K. Kang, Z. Chen, C. J. Tsao, S. Qin, J. S. Kim, R. Luo, J. Feng, S. Ye, T. S. Yang, J. Xu, Y. Sun, H. Liang, J. Liu, J. Wang, W. Y. Tak, H. Pan, K. Burock, J. Zou, D. Voliotis, dan Z. Guan. 2009. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the asia-pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase iii randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet Oncology*. 10(1):25–34.
- Chiu, Y. J., S. C. Chou, C. S. Chiu, C. P. Kao, K. C. Wu, C. J. Chen, J. C. Tsai, dan W. H. Peng. 2018. Hepatoprotective effect of the ethanol extract of *Polygonum orientale* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26(1):369–379.
- Chowdhury, N. R., Y. Li, dan J. R. Chowdhury. 2020. Disorders of bilirubin metabolism. *The Liver: Biology and Pathobiology: Fifth Edition*. 251–256.
- Cichoż-Lach, H. dan A. Michalak. 2014. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*. 20(25):8082–8091.
- Coutinho, I. D., J. M. Baker, J. L. Ward, M. H. Beale, S. Creste, dan A. J. Cavaleiro. 2016. Metabolite profiling of sugarcane genotypes and identification of flavonoid glycosides and phenolic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64(21):4198–4206.
- Cullen, J. M. 2005. Mechanistic classification of liver injury. *Toxicologic Pathology*. 33(1):6–8.
- del Río, J. C., G. Marques, A. G. Lino, C. F. Lima, J. L. Colodette, dan A. Gutiérrez. 2015. Lipophilic phytochemicals from sugarcane bagasse and straw. *Industrial Crops and Products*. 77:992–1000.
- Dong, S., Q. L. Chen, Y. N. Song, Y. Sun, B. Wei, X. Y. Li, Y. Y. Hu, P. Liu, dan S. B. Su. 2016. Mechanisms of CCl₄-induced liver fibrosis with combined transcriptomic and proteomic analysis. *Journal of Toxicological Sciences*. 41(4):561–572.

- Ebaid, H., S. A. E. Bashandy, I. M. Alhazza, A. Rady, dan S. El-Shehry. 2013. Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutrition and Metabolism*. 10(1):1–10.
- Feng, S., Z. Luo, Y. Zhang, Z. Zhong, dan B. Lu. 2014. Phytochemical contents and antioxidant capacities of different parts of two sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivars. *Food Chemistry*. 151:452–458.
- Ganda, R., P. Panjaitan, E. Handharyani, Z. Zakiah, W. Manalu, P. S. Biologi, F. Keguruan, U. Tanjungpura, B. Botani, P. Biologi, L. Ilmu, P. Indonesia, F. Matematika, dan P. Alam. 2007. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. 11(1):11–16.
- Gazzin, S., F. Mastuti, L. Vitek, dan C. Tiribelli. 2016. The molecular basis of jaundice: an old symptom revisited. *International Journal of Laboratory Hematology*. 38(1):4–7.
- Ghatak, S., A. Biswas, G. K. Dhali, A. Chowdhury, J. L. Boyer, dan A. Santra. 2011. Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 251(1):59–69.
- Ghiware, N., A. Naimuddin, R. Kawade, dan S. Vadvalkar. 2014. Antiulcer activity of *Saccharum officinarum* leaves extracts on experimental animal models. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 4(3):1513–1519.
- Giallourakis, C. C., P. M. Rosenberg, dan L. S. Friedman. 2002. The liver in heart failure. *Clinics in Liver Disease*. 6(4):947–967.
- Gordillo, M., T. Evans, dan V. Gouon-Evans. 2015. Orchestrating liver development. *Development (Cambridge)*. 142(12):2094–2108.
- Green, D. R. dan F. Llambi. 2015. Cell death signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 7(12)
- Gu, X. dan J. E. Manautou. 2012. Molecular mechanisms underlying chemical liver injury. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 14(February):1–21.
- Ha, H. L., H. J. Shin, M. A. Feitelson, dan D. Y. Yu. 2010. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*. 16(48):6035–6043.
- Hamoud, A. R., L. Weaver, D. E. Stec, dan T. D. Hinds. 2018. Bilirubin in the liver–gut signaling axis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 29(3):140–150.

- Hidayati, N. dan S. Des. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak air tebu hitam (*Saccharum officinarum l.*) terhadap kadar kolesterol total serum mencit (*mus musculus*) yang diinduksi diet tinggi kolesterol. 2(2):86–88.
- Hu, J., J. Huang, dan X. Liu. 2019. Atlas of anatomic hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Atlas of Anatomic Hepatic Resection for Hepatocellular Carcinoma*. 1–6.
- Hull, T. D. dan A. Agarwal. 2014. Bilirubin: a potential biomarker and therapeutic target for diabetic nephropathy. *Diabetes*. 63(8):2613–2616.
- Ighodaro, O. M. dan O. A. Akinloye. 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (sod), catalase (cat) and glutathione peroxidase (gpx): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 54(4):287–293.
- Indrawanto, C., Purwono, H. Siswanto, H. M. Syakir, dan M. H Widi Rumini. 1984. Budidaya dan pasca panen tebu. *Politikon*. 11(1):43–54.
- Iorga, A., L. Dara, dan N. Kaplowitz. 2017. Drug-induced liver injury: cascade of events leading to cell death, apoptosis or necrosis andrea. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(5)
- Irham, L. M. dan W. Widyaningsih. 2017. AKTIFITAS hepatoprotektif ekstrak etanol daun sidaguri (*Sida rhombifolia l.*) dilihat dari rasio berat hepar, nilai sgpt-sgot, dan histopatologi hepar pada tikus sprague dawley yang diinduksi ccl4. *Media Farmasi*. 14(1):61–76.
- Islam, M. T. 2017. Sugarcane : safety concerns on its cytogenotoxic damage , while hopes as a source of anticancer agents. *Research Journal of Food & Nutrition*. 1(1):10–12.
- Istikhomah, L. 2015. EFEK hepatoprotektor ekstrak buah pedada (*Sonneratia caseolaris*) pada tikus putih (*rattus norvegicus*). *Shengming Kexue*. 4(1):52–58.
- Iwaisako, K., D. A. Brenner, dan T. Kisseleva. 2012. What's new in liver fibrosis? the origin of myofibroblasts in liver fibrosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 27(SUPPL.2):65–68.
- Janakat, S. dan H. Al-Merie. 2002. Optimization of the dose and route of injection, and characterisation of the time course of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 48(1):41–44.

- Janghel, V., P. Patel, dan S. S. Chandel. 2019. Plants used for the treatment of icterus (jaundice) in central india: a review. *Annals of Hepatology*. 18(5):658–672.
- Jia, R., L. Cao, J. Du, P. Xu, G. Jeney, dan G. Yin. 2013. The protective effect of silymarin on the carbon tetrachloride CCl₄-induced liver injury in common carp (*Cyprinus carpio*). *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal*. 49(3):155–161.
- Juza, R. M. dan E. M. Pauli. 2014. Clinical and surgical anatomy of the liver: a review for clinicians. *Clinical Anatomy*. 27(5):764–769.
- Karthikeyan, J. dan S. S. Samipillai. 2010. Sugarcane in therapeutics. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. 4(1):9–14.
- Khan, S. W. azi., M. Tahir, K. P. erve. Lone, B. Munir, dan W. Latif. 2015. Protective effect of *Saccharum officinarum l.* (sugar cane) juice on isoniazid induced hepatotoxicity in male albino mice. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad : JAMC*. 27(2):346–350.
- Kim-Campbell, N., H. Gomez, dan H. Bayir. 2019. *Cell Death Pathways: Apoptosis and Regulated Necrosis*. Edisi Third Edit. *Critical Care Nephrology: Third Edition*.
- Kim, H. Y., J. Park, K. H. Lee, D. U. Lee, J. H. Kwak, Y. S. Kim, dan S. M. Lee. 2011. Ferulic acid protects against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Toxicology*. 282(3):104–111.
- Kumar, S. dan A. K. Pandey. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *TheScientificWorldJournal*. 2013:162750.
- Lee, C. P., Z. T. Chen, P. Y. Yu, Y. C. Wang, dan P. Der Duh. 2012. Identification of bioactive compounds and comparison of apoptosis induction of three varieties of sugarcane leaves. *Journal of Functional Foods*. 4(1):391–397.
- Leverve, X. 2009. Oxidative, stress and antioxidants? *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*. 44(5):219–224.
- Li, M., X. F. Wang, J. J. Shi, Y. P. Li, N. Yang, S. Zhai, dan S. S. Dang. 2015. Caffeic acid phenethyl ester inhibits liver fibrosis in rats. *World Journal of Gastroenterology*. 21(13):3893–3903.
- Li, X., M. R. El Well ELL, A. M. Ryan, dan R. Ochoa. 2003. Morphogenesis of postmortem hepatocyte vacuolation and liver weight increases in sprague-dawley rats. *Toxicologic Pathology*. 31(6):682–688.

- Lin, X., R. Huang, S. Zhang, L. Zheng, L. Wei, M. He, Y. Zhou, L. Zhuo, dan Q. Huang. 2012. Methyl helicterate protects against ccl4-induced liver injury in rats by inhibiting oxidative stress, nf-kb activation, fas/fasl pathway and cytochrome p4502e1 level. *Food and Chemical Toxicology*. 50(10):3413–3420.
- Lu, K. H., C. Y. Weng, W. C. Chen, dan L. Y. Sheen. 2017. Ginseng essence, a medicinal and edible herbal formulation, ameliorates carbon tetrachloride-induced oxidative stress and liver injury in rats. *Journal of Ginseng Research*. 41(3):316–325.
- Mahmoodzadeh, Y., M. Mazani, dan L. Rezagholizadeh. 2017. Hepatoprotective effect of methanolic tanacetum parthenium extract on CCl₄ -induced liver damage in rats. *Toxicology Reports*. 4:455–462.
- Maqbool, M., M. A. Dar, S. Rasool, R. Bashir, dan M. Khan. 2019. Hepatotoxicity and hepatoprotective agents : a mini review. 7(9):34–40.
- Maruhashi, T., Y. Kihara, dan Y. Higashi. 2019. Bilirubin and endothelial function. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 26(8):688–696.
- McDaniel, M. J. 2019. Hepatic function testing: the abcs of the liver function tests. *Physician Assistant Clinics*. 4(3):541–550.
- Meutia, M. 2015. *Zat-Zat Yang Mempengaruhi Histopatologi Hepar*. Maulina, Dr. Meutia.
- Muriel, P. 2017. *The Liver: General Aspects and Epidemiology*. Elsevier Inc. *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidants*.
- Nemeth, E., A. W. Baird, dan C. O’Farrelly. 2009. Microanatomy of the liver immune system. *Seminars in Immunopathology*. 31(3):333–343.
- Nimse, S. B. dan D. Pal. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*. 5(35):27986–28006.
- Nisha, M., K. Chandran, R. Gopi, V. Krishnapriya, dan B. Mahendran. 2017. Nutritional and therapeutic benefits of sugarcane and its products. *Journal of Sugarcane Research*. 7(1):1–10.
- Nn, A. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 04(03):3–8.
- O’Brien, L., P. A. Hosick, K. John, D. E. Stec, dan T. D. Hinds. 2015. Biliverdin reductase isozymes in metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism*.

26(4):212–220.

- Ogu, G. I., J. M. Ehiobu, E. G. Ukpai, D. State, dan E. State. 2016. Efficacy of metabolites from *Saccharum officinarum* linn. endophytic fungi against some uropathogenic bacteria. 02(01):1–9.
- Oluwatoyin, A. E., A. A. Christina, dan **Ujomo Tejumade. 2019. Anti-inflammatory activity of *Saccharum officinarum* linn (poaceae) juice in animal models. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacy*. (January)
- Ozouqwu, J. 2017. Physiology of the liver. *The American Journal of Medicine*. 16(2):256–271.
- Pallavi, R., S. Elakkiya, S. Siva, R. Tenny, dan P. S. Devi. 2012. Anthocyanin analysis and its anticancer property from sugarcane (. 2(2):338–345.
- Panjaitan, R. G. P., E. Handharyani, Chairul, Masriani, Z. Zakiah, dan W. Manalu. 2007. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. *Makara Kesehatan*. 11(1):11–16.
- Ramaiah, S. K. dan H. Jaeschke. 2007. Role of neutrophils in the pathogenesis of acute inflammatory liver injury. *Toxicologic Pathology*. 35(6):757–766.
- Ramos-Tovar, E. dan P. Muriel. 2019. Free radicals, antioxidants, nuclear factor- κ B-related factor-2 and liver damage. *Journal of Applied Toxicology*. (July):1–18.
- Ridwan, E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Journal Indonesian Medical Assosiation*. 63(3):112–116.
- Rohmani, A. dan M. D. Rakhmawati. 2015. Efek ekstrak kulit manggis terhadap gambaran histopatologi hepar tikus wistar yang diinduksi formalin. *Jurnal Berkala Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*. 1(2):88–95.
- Sajid, M., M. R. Khan, N. A. Shah, S. A. Shah, H. Ismail, T. Younis, dan Z. Zahra. 2016. Phytochemical, antioxidant and hepatoprotective effects of alnus nitida bark in carbon tetrachloride challenged sprague dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 16(1):1–17.
- Schachet, E., S. Louis, dan Mo. 1977. *Method of Embedding a Histology Specimen*
- Shaker, E., H. Mahmoud, dan S. Mnaa. 2010. Silymarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage. *Food and Chemical Toxicology*. 48(3):803–806.

- Si-Tayeb, K., F. P. Lemaigre, dan S. A. Duncan. 2010. Organogenesis and development of the liver. *Developmental Cell*. 18(2):175–189.
- Sibulesky, L. 2013. Normal liver anatomy. *Clinical Liver Disease*. 2(SUPPL. 1):2012–2014.
- Singh, A., U. R. Lal, H. M. Mukhtar, P. S. Singh, G. Shah, dan R. K. Dhawan. 2015. Phytochemical profile of sugarcane and its potential health aspects. *Pharmacognosy Reviews*. 9(17):45–54.
- Standish, R. A., E. Cholongitas, A. Dhillon, A. K. Burroughs, dan A. P. Dhillon. 2006. An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. *Gut*. 55(4):569–578.
- Stefek, M. 2011. Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract. *Interdisciplinary Toxicology*. 4(2):69–77.
- Sticova, E. dan M. Jirsa. 2013. New insights in bilirubin metabolism and their clinical implications. *World Journal of Gastroenterology*. 19(38):6398–6407.
- Sun, B. dan M. Karin. 2012. Obesity, inflammation, and liver cancer. *Journal of Hepatology*. 56(3):704–713.
- Tiniakos, D. G., J. G. Brain, dan Y. A. Bury. 2015. Role of histopathology in autoimmune hepatitis. *Digestive Diseases (Basel, Switzerland)*. 33(suppl 2):53–64.
- Tonnus, W., C. Meyer, A. Paliege, A. Belavgeni, A. von Mässenhausen, S. R. Bornstein, C. Hugo, J. U. Becker, dan A. Linkermann. 2019. The pathological features of regulated necrosis. *Journal of Pathology*. 247(5):697–707.
- Ullah, R., M. Nadeem, M. Ayaz, M. Tayyab, M. Imran, dan R. Sajid. 2015. Antioxidant characteristics of ice cream supplemented with sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) juice. *Food Science and Biotechnology*. 24(4):1227–1232.
- Vargas-Mendoza, N., E. Madrigal-Santillán, Á. Morales-González, J. Esquivel-Soto, C. Esquivel-Chirino, M. G. García-Luna y González-Rubio, J. A. Gayosso-de-Lucio, dan J. A. Morales-González. 2014. Hepatoprotective effect of silymarin. *World Journal of Hepatology*. 6(3):144–149.
- Vila, F. C., R. Colombo, T. O. De Lira, dan J. H. Yariwake. 2008. HPLC microfractionation of flavones and antioxidant (radical scavenging) activity of *Saccharum officinarum* L. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19(5):903–

908.

Vrba, J. dan M. Modrianský. 2002. Oxidative burst of kupffer cells: target for liver injury treatment. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia*. 146(2):15–20.

Wang, F. S., J. G. Fan, Z. Zhang, B. Gao, dan H. Y. Wang. 2014. The global burden of liver disease: the major impact of china. *Hepatology*. 60(6):2099–2108.

Weber, L. W. D., M. Boll, dan A. Stampfl. 2003. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology*. 33(2):105–136.

Zheng, R., S. Su, J. Li, Z. Zhao, J. Wei, X. Fu, dan R. H. Liu. 2017a. Recovery of phenolics from the ethanolic extract of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) baggase and evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities. *Industrial Crops and Products*. 107(June):360–369.

Zheng, R., S. Su, H. Zhou, H. Yan, J. Ye, Z. Zhao, L. You, dan X. Fu. 2017b. Antioxidant/antihyperglycemic activity of phenolics from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) bagasse and identification by uhplc-hr-tofms. *Industrial Crops and Products*. 101:104–114.

DAFTAR LAMPIRAN

3.1 Hasil Determinasi Tanaman Tebu (*Sacharum officinarum* L.)

Revisi : 0

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax: (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN
No: 21/PL.17.3.1.02/LL/2019

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Farmasi Universitas Jember No: 2525/UN25.13/LL/2019 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Rildah Bunga Kwintara
NIM : 162210101150
Jur/Fak/PT : Fakultas Farmasi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Divisio: Spermatophyta; Sub Divisio: Magnoliophyta; Kelas: Liliopsida; Ordo: Poales; Famili: Gramineae atau Poaceae; Genus: Saccharum; Spesies: Saccharum officinarum, L.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.


5 September 2019
Kepala Laboratorium Tanaman
Mastuti, MP
NIP. 195808201987032001

3.2 Ethical Approval



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER
(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH
FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)

ETHIC COMMITTEE APPROVAL
No.584/UN25.8/KEPK/DL/2019

| | |
|----------------------------|---|
| Title of research protocol | : "Hepatoprotective Effect of Sugarcane Leaves Extract (<i>Sccharum Officinarum</i>) Carbon Tetrachloride Induced Acute Liver Injury in Rat." |
| Document Approved | : Research Protocol |
| Principal investigator | : Ika Puspita Dewi, S.Farm,M.Biomed., Apt |
| Member of research | : 1. Jihan Ulya Ulinuha 2. Fadhila Rachman 3. Rifdah Bunga Kwintana 4. Ari Satia Nugraha, S.F., GDipSc.,MSc-res.,PhD.,Apt. |
| Responsible Physician | : Ika Puspita Dewi, S.Farm,M.Biomed., Apt |
| Date of approval | : Oktober-Selesai 2019 |
| Place of research | : Kabupaten Jember |

The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.

Jember, October 4th 2019

| | |
|--|---|
|  <p style="margin: 0;">(drg. R. Hanardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)</p> |  <p style="margin: 0;">Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)</p> |
|--|---|

Perhitungan Dosis Karbon Tetraklorida (CCl₄) 1 mL/kgBB

$$\begin{aligned} \text{Dosis tikus 200 gram} &= \frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 0,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Volume maksimal sediaan untuk 1 tikus = 1 ml

Volume yang dibutuhkan:

$$\begin{aligned} &= \sum \text{ tikus} \times \text{Volume pemberian} \times \sum \text{ lama perlakuan} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 1 \text{ ml} \times 14 \text{ hari} \\ &= 56 \text{ ml} \end{aligned}$$

3.4 Perhitungan Dosis Dan Volume Suspensi Uji Yang Diberikan Pada Hewan**Coba****3.4.1 Kelompok Normal dan Negatif**

Kelompok normal dan negatif diberikan CMC Na 1% (1 gram CMC Na dalam 100 ml)

3.4.2 Kelompok Positif Dosis Milk Thistle *Silybum marinum* 100 mg/kgBB

Per kapsul 250 mg

$$80 \% \text{ silymarin} : 250 \text{ mg} \times \frac{80}{100} = 200 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 100 mg/kg BB} : \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} = 20 \text{ mg/2ml}$$

Volume yang dibutuhkan: Σ tikus \times volume pemberian \times Σ lama perlakuan

$$: 4 \times 2 \text{ ml} \times 14 \text{ hari}$$

$$: 112 \text{ ml}$$

Volume yang dibuat 120 ml

$$\text{Kandungan silymarin dalam suspensi 120ml} : \frac{20 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 120 \text{ ml} = 1200 \text{ mg}$$

$$= 1,2 \text{ g/120ml}$$

Serbuk Milk Thistle yang ditimbang: 1 kapsul = 0,6888 g = 200 mg (0,2 g)

$$= \frac{0,6888 \text{ g}}{0,2 \text{ g}} \times 1,2 \text{ g} = 4,1328 \text{ g}$$

(6 kapsul)

4,1328 g dalam 120 ml CMC Na 1%

3.4.3 Kelompok Uji Ekstrak Daun Tebu (300 mg/kgBB)

Untuk tikus 200 gram : $\frac{300 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 200 \text{ g} = 60 \text{ mg}/2\text{ml}$

Volume maksimal tikus : 2 ml

Volume yang dibutuhkan: $\Sigma \text{ tikus} \times \text{Volume pemberian} \times \Sigma \text{ lama pemberian}$

: $4 \times 2\text{ml} \times 14 \text{ hari}$

: 112 ml (Volume dibuat 150 ml)

Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 150 ml :

$$\begin{aligned} \frac{60 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} &= 4500\text{mg}/150 \text{ ml} \\ &= 4,5 \text{ g dalam } 150 \text{ ml CMC Na } 1\% \end{aligned}$$

3.4.4 Kelompok Uji Ekstrak Daun Tebu (400 mg/kgBB)

Untuk tikus 200 gram : $\frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 200 \text{ g} = 80\text{mg}/2\text{ml}$

Volume maksimal 1 tikus : 2 ml

Volume yang dibutuhkan : $\Sigma \text{ tikus} \times V \text{ pemberian} \times \Sigma \text{ lama pemberian}$

: $4 \times 2 \text{ ml} \times 14 \text{ hari}$

: 112 ml (Volume dibuat 150 ml)

Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 150 ml

$$\begin{aligned} \frac{80 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} &= 6000\text{mg}/150\text{ml} \\ &= 6 \text{ g dalam } 150 \text{ ml CMC Na } 1\% \end{aligned}$$

3.4.5 Kelompok Uji Ekstrak Daun Tebu (500 mg/kg BB)

Untuk tikus 200 gram : $\frac{500 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 200 \text{ g} = 100\text{mg}/2\text{ml}$

Volume maksimal 1 tikus : 2 ml

Volume yang dibutuhkan : $\Sigma \text{ tikus} \times V \text{ pemberian} \times \Sigma \text{ lama pemberian}$

: 4 x 2 ml x 14 hari

: 112 ml (Volume dibuat 150 ml)

Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 150 ml

4.1 Perhitungan Persen Rendemen

$$\begin{aligned}\text{Persen rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{40,125}{250 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 16,05 \%\end{aligned}$$

4.2 Kadar Bilirubin Serum Tikus

| Kelompok | Kadar Bilirubin | rata-rata \pm SD |
|--------------------------|-----------------|--------------------|
| Normal | 0,12 | 0,14 \pm 0,05 |
| | 0,15 | |
| | 0,08 | |
| | 0,19 | |
| Positif | 0,22 | 0,17 \pm 0,10 |
| | 0,11 | |
| | 0,06 | |
| | 0,28 | |
| Negatif | 0,85 | 0,75 \pm 1,35 |
| | 0,76 | |
| | 0,56 | |
| | 0,84 | |
| Dosis 1 (300 mg/kgBB) | 0,45 | 0,31 \pm 0,36 |
| | 0,48 | |
| | 0,16 | |
| | 0,18 | |
| Dosis 2 (400 mg/kgBB) | 0,54 | 0,30 \pm 0,32 |
| | 0,31 | |
| | 0,19 | |
| | 0,18 | |
| Dosis 3 (500 mg/kgBB) | 0,23 | 0,10 \pm 0,09 |
| | 0,02 | |
| | 0,13 | |
| | 0,05 | |

4.3 Data Berat Badan Organ Hati

| Kelompok | N | Kadar berat relatif organ hati | rata-rata \pm SD |
|--------------------------|---|--------------------------------|---------------------|
| Normal | 1 | 2,868 % | 2,858 % \pm 0,430 |
| | 2 | 2,878 % | |
| | 3 | 2,800 % | |
| | 4 | 2,888 % | |
| Positif | 1 | 3,136 % | 3,175 % \pm 0,123 |
| | 2 | 3,184 % | |
| | 3 | 3,186 % | |
| | 4 | 3,197 % | |
| Negatif | 1 | 3,796 % | 3,819 % \pm 0,395 |
| | 2 | 3,802 % | |
| | 3 | 3,850 % | |
| | 4 | 3,829 % | |
| Dosis 1 (300 mg/kgBB) | 1 | 3,660 % | 3,662 % \pm 0,169 |
| | 2 | 3,701 % | |
| | 3 | 3,757 % | |
| | 4 | 3,530 % | |
| Dosis 2 (400 mg/kgBB) | 1 | 3,351 % | 3,389 % \pm 0,065 |
| | 2 | 3,318 % | |
| | 3 | 3,511 % | |
| | 4 | 3,379 % | |
| Dosis 3 (500 mg/kgBB) | 1 | 3,208 % | 3,227 % \pm 0,071 |
| | 2 | 3,251 % | |
| | 3 | 3,245 % | |
| | 4 | 3,206 % | |

4.4 Hasil Analisis Data Pengukuran Kadar Bilirubin Serum

4.4.1 Uji Normalitas

| kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| normal | ,131 | 4 | ,999 | 4 | 4 | ,998 |
| positif | ,216 | 4 | ,949 | 4 | 4 | ,709 |
| negatif | ,272 | 4 | ,833 | 4 | 4 | ,175 |
| dosis1 | ,289 | 4 | ,800 | 4 | 4 | ,102 |
| dosis2 | ,254 | 4 | ,850 | 4 | 4 | ,226 |
| dosis3 | ,230 | 4 | ,939 | 4 | 4 | ,645 |

a. Lilliefors Significance Correction

Makna : nilai Sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa data sampel bilirubin terdistribusi normal.

4.4.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.010 | 5 | 18 | ,126 |

Makna : nilai Sig. > 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data memiliki varian yang sama atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan (homogen).

4.4.3 Uji One-Way Anova

ANOVA

bilirubin

| | Sum of Squares | f | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 1.148 | 5 | .230 | 14.280 | .000 |
| Within Groups | .289 | 18 | .016 | | |
| Total | 1.437 | 23 | | | |

Makna : nilai Sig. < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar bilirubin serum yang signifikan antar kelompok perlakuan

4.4.4 Uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hasil

LSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| Normal | Positif | -.03250 | .08964 | ,721 | -.2208 | .1558 |
| | Negatif | -.61750* | .08964 | ,000 | -.8058 | -.4292 |
| | dosis1 | -.18250 | .08964 | ,057 | -.3708 | .0058 |
| | dosis2 | -.17000 | .08964 | ,074 | -.3583 | .0183 |
| | dosis3 | .02750 | .08964 | ,763 | -.1608 | .2158 |
| Positif | Normal | .03250 | .08964 | ,721 | -.1558 | .2208 |
| | Negatif | -.58500* | .08964 | ,000 | -.7733 | -.3967 |
| | dosis1 | -.15000 | .08964 | ,112 | -.3383 | .0383 |
| | dosis2 | -.13750 | .08964 | ,142 | -.3258 | .0508 |
| Negatif | dosis3 | .06000 | .08964 | ,512 | -.1283 | .2483 |
| | Normal | .61750* | .08964 | ,000 | .4292 | .8058 |
| | Positif | .58500* | .08964 | ,000 | .3967 | .7733 |
| | dosis1 | .43500* | .08964 | ,000 | .2467 | .6233 |
| | dosis2 | .44750* | .08964 | ,000 | .2592 | .6358 |
| dosis1 | dosis3 | .64500* | .08964 | ,000 | .4567 | .8333 |
| | Normal | .18250 | .08964 | ,057 | -.0058 | .3708 |
| | Positif | .15000 | .08964 | ,112 | -.0383 | .3383 |
| | Negatif | -.43500* | .08964 | ,000 | -.6233 | -.2467 |
| | dosis2 | .01250 | .08964 | ,891 | -.1758 | .2008 |
| dosis2 | dosis3 | .21000* | .08964 | ,031 | .0217 | .3983 |
| | Normal | .17000 | .08964 | ,074 | -.0183 | .3583 |
| | Positif | .13750 | .08964 | ,142 | -.0508 | .3258 |
| | Negatif | -.44750* | .08964 | ,000 | -.6358 | -.2592 |
| | dosis1 | -.01250 | .08964 | ,891 | -.2008 | .1758 |
| dosis3 | dosis3 | .19750* | .08964 | ,041 | .0092 | .3858 |
| | Normal | -.02750 | .08964 | ,763 | -.2158 | .1608 |
| | Positif | -.06000 | .08964 | ,512 | -.2483 | .1283 |

| | | | | | |
|---------|----------|--------|------|--------|--------|
| Negatif | -.64500* | .08964 | ,000 | -.8333 | -.4567 |
| dosis1 | -.21000* | .08964 | ,031 | -.3983 | -.0217 |
| dosis2 | -.19750* | .08964 | ,041 | -.3858 | -.0092 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

4.5 Hasil Analisis Data Berat Organ Hati

4.5.1 Uji Normalitas

Tests of Normality

| kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| normal | ,344 | 4 | | ,807 | 4 | ,115 |
| positif | ,368 | 4 | | ,814 | 4 | ,130 |
| negatif | ,254 | 4 | | ,923 | 4 | ,552 |
| dosis1 | ,242 | 4 | | ,948 | 4 | ,702 |
| dosis2 | ,300 | 4 | | ,879 | 4 | ,336 |
| dosis3 | ,295 | 4 | | ,803 | 4 | ,107 |

a. Lilliefors Significance Correction

Makna : nilai Sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa data sampel terdistribusi normal.

4.5.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

hasil

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,788 | 5 | 18 | ,166 |

Makna : nilai Sig. > 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data memiliki varian yang sama atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan (homogen).

4.5.3 Uji *One-Way Anova*

ANOVA

| hasil | | | | | |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 2,424 | 5 | ,485 | 145,227 | ,000 |
| Within Groups | ,060 | 18 | ,003 | | |
| Total | 2,485 | 23 | | | |

Makna : nilai Sig. < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar bilirubin serum yang signifikan antar kelompok perlakuan.

4.5.4 Uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hasil

LSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | | |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|---------|-------------------------|-------------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | |
| normal | positif | -,316975* | ,040858 | ,000 | -,40282 | -,23113 | |
| | negatif | -,960775* | ,040858 | ,000 | -1,04662 | -,87493 | |
| | dosis1 | -,803550* | ,040858 | ,000 | -,88939 | -,71771 | |
| | dosis2 | -,531250* | ,040858 | ,000 | -,61709 | -,44541 | |
| | dosis3 | -,368700* | ,040858 | ,000 | -,45454 | -,28286 | |
| | normal | normal | ,316975* | ,040858 | ,000 | ,23113 | ,40282 |
| positif | negatif | ,643800* | ,040858 | ,000 | -,72964 | -,55796 | |
| | dosis1 | ,486575* | ,040858 | ,000 | -,57242 | -,40073 | |
| | dosis2 | ,214275* | ,040858 | ,000 | -,30012 | -,12843 | |
| | dosis3 | -,051725 | ,040858 | ,222 | -,13757 | ,03412 | |
| | normal | normal | ,960775* | ,040858 | ,000 | ,87493 | 1,04662 |
| | positif | positif | ,643800* | ,040858 | ,000 | ,55796 | ,72964 |
| negatif | dosis1 | ,157225* | ,040858 | ,001 | ,07138 | ,24307 | |
| | dosis2 | ,429525* | ,040858 | ,000 | ,34368 | ,51537 | |
| | dosis3 | ,592075* | ,040858 | ,000 | ,50623 | ,67792 | |
| | dosis1 | dosis1 | ,803550* | ,040858 | ,000 | ,71771 | ,88939 |

| | | | | | | |
|--------|---------|-----------|---------|------|---------|---------|
| | positif | ,486575* | ,040858 | ,000 | ,40073 | ,57242 |
| | negatif | ,157225* | ,040858 | ,001 | -,24307 | ,07138 |
| | dosis2 | ,272300* | ,040858 | ,000 | ,18646 | ,35814 |
| | dosis3 | ,434850* | ,040858 | ,000 | ,34901 | ,52069 |
| | normal | ,531250* | ,040858 | ,000 | ,44541 | ,61709 |
| dosis2 | positif | ,214275* | ,040858 | ,000 | ,12843 | ,30012 |
| | negatif | -,429525* | ,040858 | ,000 | -,51537 | -,34368 |
| | dosis1 | -,272300* | ,040858 | ,000 | -,35814 | -,18646 |
| | dosis3 | ,162550* | ,040858 | ,001 | ,07671 | ,24839 |
| | normal | ,368700* | ,040858 | ,000 | ,28286 | ,45454 |
| dosis3 | positif | ,051725 | ,040858 | ,222 | -,03412 | ,13757 |
| | negatif | -,592075* | ,040858 | ,000 | -,67792 | -,50623 |
| | dosis1 | -,434850* | ,040858 | ,000 | -,52069 | -,34901 |
| | dosis2 | -,162550* | ,040858 | ,001 | -,24839 | -,07671 |