

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.)
TERHADAP PERBAIKAN KERUSAKAN HEPATOSIT SERTA
KADAR SGOT DAN SGPT MENCIT (*Mus musculus*) DIABETIK**

SKRIPSI



BILQIS INAYATILLAH

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2016**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa* L.) TERHADAP PERBAIKAN
KERUSAKAN HEPATOSIT SERTA KADAR SGOT DAN SGPT
MENCIT (*Mus musculus*) DIABETIK**

SKRIPSI



BILQIS INAYATILLAH

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2016**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KETAPANG
(*Terminalla catappa L.*) TERHADAP PERBAIKAN
KERUSAKAN HEPATOSIT SERTA KADAR SGOT DAN SGPT
MENCIT (*Mus musculus*) DIABETIK**

SKRIPSI

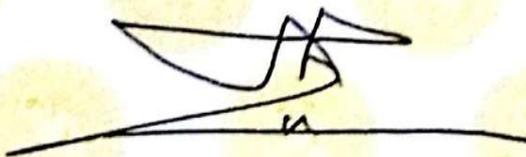
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi
Pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Oleh :

Bilqis Inayatillah
NIM. 081211432037

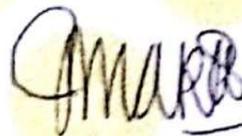
Disetujui oleh :

Pembimbing I



Drs. Saikhu Akhmad Husen, M.Kes.
NIP. 196308141989031004

Pembimbing II



Dr. Dwi Winarni, M.Si.
NIP. 196511071989032001

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Pengaruh Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)
Terhadap Perbaikan Kerusakan Hepatosit serta kadar
SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) Diabetik.

Penyusun : Bilqis Inayatillah

NIM : 081211432037

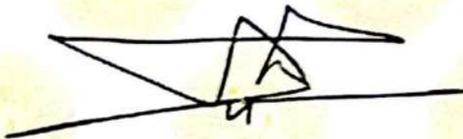
Pembimbing I : Drs. Saikhu Akhmad Husen, M.Kes.

Pembimbing II : Dr. Dwi Winarni, M.Si.

Tanggal Ujian : 20 Juni 2016

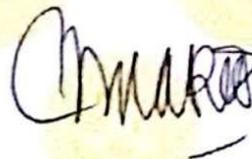
Disetujui oleh :

Pembimbing I



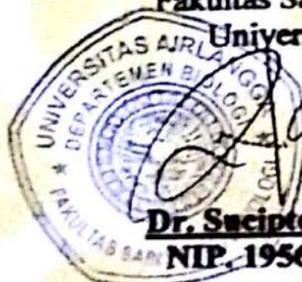
Drs. Saikhu Akhmad Husen, M.Kes.
NIP. 196308141989031004

Pembimbing II



Dr. Dwi Winarni, M.Si.
NIP. 196511071989032001

Mengetahui,
Ketua Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga



Dr. Sucipto Hariyanto, DEA.
NIP. 195609021986011002

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga. Diperkenankan untuk digunakan sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penulis dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. **Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.**

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan judul “**Pengaruh Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Terhadap Perbaikan Kerusakan Hepatosit serta kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) Diabetik**” dengan lancar.

Penelitian dalam skripsi ini merupakan bagian dari penelitian payung yang didanai Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (Dit Litabmas) program Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) tahun 2015 dengan topik utama “Eksplorasi Bahan Alam Sebagai Antidiabetik” dengan peneliti utama Drs. H. Saikhu Akhmad Husen, M.Kes dan Dr. Dwi Winarni, M.Si dan anggota peneliti: Arif Nur Muhamad A, Ni Putu Dita O.S, R. Joko Kuncoro N.S, Siti Istiqomah, dan Suhailah. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih atas bimbingan, arahan, dan waktu yang telah diberikan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih atas segala bantuan yang telah diberikan oleh berbagai pihak sehingga penulisan skripsi ini terselesaikan dengan baik. Penulis menyadari banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, sehingga memerlukan perbaikan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membaca.

Surabaya, 21 Juni 2016

Penulis,

Bilqis Inayatillah

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Tak lupa pula penulis mengirimkan salam dan shalawat kepada Nabi Besar Muhammad SAW yang telah membawa umat Islam ke jalan yang diridhoi Allah SWT.

Skripsi yang berjudul “**Pengaruh Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Terhadap Perbaikan Kerusakan Hepatosit serta kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) Diabetik**” merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana sains, jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa dan mendukung segala aktivitas yang berhubungan dengan pengerjaan skripsi ini.
2. Drs. H. Saikhu Akhmad Husen, M.Kes selaku penguji I dan dosen wali yang bersedia meluangkan waktunya untuk bimbingan, juga selalu sabar dan telaten dalam memberikan bimbingan, dukungan dan pengarahan selama penelitian.
3. Dr. Dwi Winarni, M.Si selaku penguji II yang bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan dan memberi motivasi, membimbing terutama masalah data statistik, mengajari analisis statistik, dan juga memberikan penjelasan-penjelasan konsep yang detail.
4. Bapak Sugiharto, S.Si, M.Si selaku penguji III yang telah memberikan koreksi redaksional, memberikan kritik dan saran yang membangun dalam skripsi ini.
5. Prof. Dr. Bambang Irawan, M.Sc selaku penguji IV yang telah memberikan koreksi redaksional dan memberi saran dalam skripsi ini.
6. Teman-teman terbaik, Nayah, Mita, dan Ella yang selalu ramai di grup Line, yang saling memberi motivasi baik melalui hinaan atau candaan.

7. Teman-teman satu tim “Penelitian Diabetes” Ella, Kutik, Arif, Joko dan Dita yang terus saling membantu baik dari masa penelitian sampai masa-masa pengolahan data juga saling memberi motivasi selama masa pengerjaan.
8. Sahabat terbaik, Abidah, Ipra, Nobita dan Nisa yang menjadi tempat pembuangan kepenatan tapi selalu memberi dukungan dan hiburan disaat buntu.
9. Teman-teman yang saling memberi semangat disaat masa-masa pengerjaan sampai masa sidang, Istik, Fatin, Inne, Nayah, Risca, Intan dan Maya yang membantu memberi pertanyaan dan memberi saran-saran.
10. Teman-teman satu dosen wali : Inayah, Ipung, Joko, Maratus, Indri, Fatin, Kutik, Dita atas motivasi, kritik, dan saran yang diberikan.
11. Seluruh teman-teman semua di Biologi angkatan 2012, yang selalu saling memberi semangat semester akhir, kalian luar biasa rek.
12. Seluruh dosen, laboran, dan karyawan Fakultas Sains dan teknologi Universitas Airlangga atas segala ilmu, masukan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
13. Serta seluruh pihak yang ikut membantu, baik secara langsung maupun tidak langsung. Penulis hanya bisa berdoa, semoga Allah membalas kebaikan-kebaikan mereka.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis memohon maaf bila ada kesalahan dalam penulisan skripsi ini. Kritik dan saran kami hargai demi penyempurnaan penulisan serupa dimasa yang akan datang. Besar harapan penulis, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan dapat bernilai positif bagi semua pihak yang membutuhkan.

Surabaya, 20 Juni 2016

Penulis

Bilqis Inayatillah. 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Terhadap Perbaikan Kerusakan Hepatosit serta kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) Diabetik. Skripsi ini dibawah bimbingan Drs. H. Saikhu Akhmad Husen, M. Kes dan Dr. Dwi Winarni, M. Si. Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap perbaikan kerusakan hepatosit serta kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) diabetik yang telah diinjeksi STZ. Dua puluh empat ekor mencit jantan galur Balb-C, umur 3-4 bulan dikelompokkan menjadi 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri atas 4 ekor. Kelompok kontrol (KN) yang hanya diberi air, kelompok diabetes (KD) yang diinjeksi 0,1 ml *streptozocin* (STZ) 5 hari berturut-turut, kelompok metformin (KM), kelompok perlakuan 1 (KP1) pemberian ekstrak daun ketapang 200 mg/kg BB, perlakuan (KP2) pemberian ekstrak daun ketapang 100 mg/kg BB, dan kelompok perlakuan 3 (KP3) 50 mg/kg BB. Pemberian ekstrak daun ketapang sebanyak 0,3 ml dilakukan selama 14 hari secara *per-oral*. Hewan percobaan pada setiap kelompok dieutanasi untuk dilakukan pengambilan darah melalui *intrakardiak* dan pengukuran kadar enzim SGOT dan SGPT. Selanjutnya dilakukan pembedahan dan pengambilan organ hepar untuk dibuat irisan histologi dan diamati kerusakannya. Hasil uji *Anova* ($P < 0,05$) yang dilanjutkan dengan uji *Duncan* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) berpengaruh signifikan pada kadar enzim SGOT dan perbaikan kerusakan hepatosit. Hasil uji *Kruskall-wallis* ($P < 0,05$) yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya pengaruh signifikan pemberian ekstrak daun ketapang pada kadar enzim SGPT. Pemberian perlakuan ekstrak dengan dosis 200 mg/kg BB dapat memperbaiki kerusakan hepatosit serta menurunkan kadar SGOT dan SGPT. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun ketapang dapat memperbaiki kerusakan hepatosit serta menurunkan kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) diabetik.

Kata kunci : daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), eutanasi, histologi hepar, intrakardiak, SGOT, SGPT dan streptozotocin.

Bilqis Inayatillah. 2016. The Effect of Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Leaves Extract on Regeneration of Hepatocyte Injury and SGOT and SGPT Levels of Diabetic Mice (*Mus musculus*). This thesis is under the guidance of Drs. H. Saikhu Akhmad Husen, M.Kes and Dr. Dwi Winarni, M.Si. Biology Department. Faculty of Science and Technology. Airlangga University. Surabaya.

ABSTRACT

This research was aimed to determine the effect of ketapang leaves (*Terminalia catappa* L.) crude extract on regeneration of hepatocyte injury and SGOT and SGPT levels of STZ induced diabetic mice (*Mus musculus*). Twenty four mice male Balb/C strain, 3-4 month old were divided into 6 groups, and each group contains 4 mice. Normal group (KN) which was only induced with water, diabetic group (KD) which was induced by 0,1 ml *streptozocin* (STZ) 5 days continually, metformin group (KM), treatment group 1(KP1) by dose 200 mg/kg of ketapang extract, treatment group 2 (KP2) by dose 100 mg/kg of ketapang extract, and treatment group 3 (KP3) by dose 50 mg/kg of ketapang extract. Ketapang extract was injected 0,3 ml for 14 days by *per-oral* method. Animals in each group were euthanasia injected to get blood samples from intracardiac and to measure SGOT and SGPT levels. After that, liver organ was taken for histological slide and to observed the hepatocyte injury. *Anova* statistic analysis ($P < 0,05$) followed by *Duncan* analysis showed that crude extract of *Terminalia catappa* has significant effect on the levels of SGOT and regeneration of hepatocyte injury. *Kruskall-wallis* statistic analysis ($P < 0,05$) followed by *Mann-Whitney* analysis showed the significant effect of crude extract of ketapang leaves on SGPT levels. Treatment by dose 200 mg/kg could repair the hepatocyte injury also decreased SGOT and SGPT levels. So, it can be concluded that the crude extract of ketapang leaves has significantly could repair the hepatocyte injury also decreased SGOT and SGPT levels on diabetic mice (*Mus musculus*).

Key words : euthanasia, hepatocyte histology, intracardiac, ketapang leaves (*Terminalia catappa* L.), SGOT, SGPT, and streptozotocin

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Asumsi Penelitian	5
1.4 Hipotesis Penelitian	6
1.4.1 Hipotesis Kerja	6
1.4.2 Hipotesis Statistik	6
1.5 Tujuan Penelitian	7
1.6 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Umum Diabetes Mellitus	8
2.1.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus	9
2.1.2 Sekresi Insulin	11
2.2 Tinjauan Umum Hati	13
2.2.1 Enzim transaminase	16
2.2.2 Pengaruh diabetes mellitus terhadap struktur dan fungsi hati	18
2.3 Radikal Bebas dan Antioksidan	20
2.4 Tinjauan Umum Ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.)	22
2.4.1 Morfologi dan klasifikasi daun Ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.)	22
2.4.2 Kandungan daun Ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.)	24
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	25
3.2.1 Bahan penelitian	25
3.2.2 Alat penelitian	26
3.3 Rancangan Penelitian	27
3.4 Variabel Penelitian	27
3.5 Prosedur Penelitian	27
3.5.1 Tahap pembuatan ekstrak daun Ketapang	27

3.5.2 Tahap Aklimatisasi dan pemeliharaan hewan coba	28
3.5.3 Tahap induksi mencit dengan minyak babi (Lard).....	28
3.5.4 Tahap induksi mencit dengan streptozotocin (STZ)	29
3.5.5 Tahap perlakuan hewan coba.....	29
3.5.6 Pengukuran berat badan.....	30
3.5.7 Pengukuran kadar glukosa darah.....	30
3.5.8 Tahap pembuatan sediaan hepar.....	31
3.5.9 Tahap pengukuran kadar enzim SGOT	33
3.5.10 Tahap pengukuran kadar enzim SGPT	33
3.5.11 Tahap pengambilan kerusakan hepar	34
3.6 Analisis Data	35
3.7 Kerangka Operasional Penelitian.....	36

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian	37
4.1.1 Pengaruh pemberian ekstrak daun ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.) terhadap kerusakan organ hati <i>Mus musculus</i>	37
4.1.2 Pengaruh pemberian ekstrak daun ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.) terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT organ hati <i>Mus musculus</i>	44
4.2 Pembahasan.....	47

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran	53

DAFTAR PUSTAKA	54
-----------------------------	----

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
2.1	Mekanisme Sekresi Insulin	12
2.2	Gambaran Histologi Hati	14
2.3	Struktur Kimia Anzim Transaminase.....	17
2.4	Jalur Hiperglikemia.....	19
2.5	Daun Ketapang.....	22
3.1	Skema pembagian kelompok dalam peneltian.....	30
3.2	Kerangka Operasional Penelitian.....	36
4.1	Diagram rata-rata kerusakan hepatosit.....	37
4.2	Gambar histologi hepar kelompok normal (KN)	38
4.3	Gambar histologi hepar kelompok diabetik (KD).....	38
4.4	Gambar histologi hepar kelompok metformin (KM).....	39
4.5	Gambar histologi hepar kelompok perlakuan (KP1)	39
4.6	Gambar histologi hepar kelompok perlakuan (KP2)	40
4.7	Gambar histologi hepar kelompok perlakuan (KP3)	40
4.8	Diagram rata-rata kadar enzim SGOT dan SGPT.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Data Pengukuran Enzim SGOT dan SGPT
Lampiran 2	Data Persentase Kerusakan hepatosit
Lampiran 3	Tabel Rata-rata enzim SGOT dan SGPT
Lampiran 4	Data output Uji statistik enzim SGOT
Lampiran 5	Data output Uji statistik enzim SGPT
Lampiran 6	Tabel Rata-rata kerusakan hepatosit
Lampiran 7	Data output Uji statistik kerusakan hepatosit
Lampiran 8	Dokumentasi Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit yang banyak diderita di dunia, termasuk Indonesia. *Diabetes Mellitus* (DM) adalah penyakit gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia atau kenaikan kadar glukosa darah yang disebabkan karena gangguan produksi sekresi insulin, resistensi insulin atau keduanya.

Insulin merupakan hormon yang di sekresi oleh sel β pankreas untuk mengatur keseimbangan kadar gula darah. Kerusakan sel β pada pankreas mengakibatkan sel β tidak dapat mensekresi insulin sehingga menyebabkan tubuh kekurangan insulin. Kekurangan insulin juga dapat terjadi ketika sel β pankreas dapat mensekresikan insulin namun jaringan reseptor insulin tidak dapat merespon. Adanya gangguan antara respon sel penghasil insulin dan penerima insulin ini yang mengakibatkan kondisi tubuh menjadi hiperglikemia. Hiperglikemia kronis dapat menyebabkan kerusakan jangka panjang, kerusakan fungsi organ, terutama pada mata, ginjal, syaraf, hati, dan pembuluh darah. (*American Diabetes Association*, 2014).

Estimasi terakhir *International Diabetes Federation* (IDF), terdapat 382 juta orang yang hidup dengan diabetes mellitus di dunia pada tahun 2013. Pada tahun 2035 jumlah tersebut diperkirakan dapat meningkat menjadi 592 juta orang. (Pusat Data Dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2014). Untuk Indonesia,

WHO memprediksi kenaikan jumlah pasien dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 (Handayani, 2012).

Diabetes mellitus (DM) dapat dibedakan atas DM tipe-1 *Insulin - Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM) dan DM tipe-2 *Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM). Pada DM tipe-1 terjadi kerusakan pankreas berat, produksi insulin tidak ada atau sangat sedikit, sehingga mutlak memerlukan insulin dari luar tubuh. DM tipe-1 dapat timbul sejak usia masih muda (anak-anak). Pada DM tipe-2 terjadi kekurangan insulin namun tidak seberat pada DM tipe-1. Pada DM tipe-2 selain kekurangan insulin, juga disertai resistensi insulin yaitu insulin tidak bisa mengatur kadar gula darah untuk keperluan tubuh secara optimal, sehingga ikut berperan terhadap meningkatnya kadar gula darah. DM tipe-2 biasanya muncul setelah umur 30-40 tahun. Hasil penelitian menunjukkan persentase DM tipe-1 sekitar 10-20% dan DM tipe-2 adalah 80-90% dari seluruh penderita diabetes (Tiwari *et al.*, 2002 dalam Widowati, 2008). Selain DM tipe-1 dan DM tipe-2 juga terdapat diabetes gestasional yang merupakan kondisi hiperglikemia yang didapatkan saat kehamilan (Pusat Data Dan Informasi Kementrian Kesehatan RI, 2014).

Hiperglikemia pada diabetes mellitus dapat menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif (ROS) atau pembentukan stress oksidatif (Ueno *et al.*, 2002). Adanya ROS ini menyebabkan radikal bebas dalam tubuh meningkat. Radikal bebas ini dapat merusak berbagai jaringan tubuh, salah satunya adalah sel hati.

Hati adalah organ tubuh yang berfungsi dalam menetralkan zat toksik yang masuk dalam tubuh, serta menjadi sasaran peningkatan konsentrasi radikal bebas. Konsentrasi radikal bebas yang tidak seimbang dengan antioksidan dapat menimbulkan stress oksidatif pada tubuh. Stress oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipida sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel dan menimbulkan penyakit degeneratif, misalnya penyakit liver (Sen, 2010 dalam Hardiningtyas, 2014). Sehingga perlindungan terhadap organ hati sangat diperlukan untuk mencegah kerusakan oksidatif berlanjut.

Adanya kerusakan sel-sel hati dapat ditandai dengan peningkatan kadar enzim *Serum Glutamat Oxaloasetat Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamat Piruvate Transaminase* (SGPT) yang meningkat. Enzim SGOT-SGPT merupakan dua enzim transaminase yang dihasilkan oleh sel-sel hati. Peningkatan SGOT-SGPT di dalam darah mengindikasikan adanya kerusakan sel – sel hepar dibandingkan dengan enzim hepar lainnya, karena kedua enzim ini meningkat drastis bila dibandingkan dengan enzim-enzim lain ketika terjadi kerusakan hepar (Fajariyah *et al*, 2010).

Keadaan suatu molekul dengan jumlah radikal bebas lebih banyak dari antioksidan akan menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif. Kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh dapat diatasi dengan antioksidan. Antioksidan didefinisikan sebagai suatu substansi yang dapat menunda, mencegah, atau menghilangkan kerusakan oksidatif pada molekul target, contoh protein, lipid, dan DNA (Halliwell, 2007 dalam Hardiningtyas, 2014).

Tumbuhan obat terbukti merupakan salah satu sumber yang memiliki senyawa-senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan (Suharmiati, 2006). Salah satu tumbuhan obat yang mengandung antioksidan adalah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) Menurut Rahayu *et al.*, (2009) daun ketapang mengandung banyak senyawa yang bersifat antioksidan.

Ketapang yang merupakan tumbuhan dari famili *Combretaceae* dilaporkan memiliki kandungan antioksidan yang tinggi (Kinoshita *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil *screening phytochemical* di dalam ekstrak etanol daun ketapang terdapat alkaloid, flavonoid, resin, saponin, steroid, dan tannin dengan total kandungan senyawa fenol (354,02 mg/g ekstrak) dan flavonoid (51,67 mg/g ekstrak) (Pandya *et al.*, 2013). Pada penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa ekstrak kloroform daun ketapang terdapat triterpenoid yang dapat berfungsi sebagai anti inflamasi dengan menurunkan edema lebih dari 50% (Fan *et al.*, 2004). Selain itu, ekstrak etanol daun ketapang juga memiliki efek sebagai hepatoprotektif dengan menghambat aktifitas peroksidase (Gao *et al.*, 2004).

Berdasarkan latar belakang permasalahan diatas, maka diperlukan penjelasan ilmiah tentang potensi ekstrak daun ketapang sebagai antioksidan untuk mengikat radikal bebas dari diabetes mellitus yang dapat menyebabkan kerusakan sel hepatosit. Hal itu perlu dilakukan sebab sampai saat ini belum ada penjelasan tentang peran antioksidan di dalam daun ketapang untuk menurunkan kadar enzim SGOT dan SGPT serta sebagai hepatoprotektor pada mencit yang menderita diabetes mellitus.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

- a. Apakah pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dapat memperbaiki kerusakan sel hepatosit mencit (*Mus musculus*) diabetik yang injeksi STZ?
- b. Apakah pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) berpengaruh terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinjeksi STZ?

1.3 Asumsi Penelitian

Kondisi hiperglikemia pada Diabetes mellitus menyebabkan peningkatan radikal bebas yang juga meningkatkan stress oksidatif di dalam tubuh. Adanya peningkatan stress oksidatif ini dapat mengakibatkan kerusakan pada jaringan salah satunya hepatosit, akibat tidak seimbangnya antioksidan dan radikal bebas yang ada di dalam tubuh. Kerusakan hepatosit akan meningkatkan kadar enzim SGOT dan SGPT di dalam darah. Kedua enzim ini merupakan salah satu indikator untuk kerusakan hepar. Daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) memiliki kandungan antioksidan seperti flavonoid, triterpen, tannin, alkaloid dan asam lemak. Pemberian antioksidan diharapkan dapat mengikat radikal bebas sehingga mampu mengurangi tingkat kerusakan hepatosit sehingga menurunkan kadar enzim SGOT-SGPT mencit diabetik.

1.4 Hipotesis Penelitian

1.4.1 Hipotesis kerja

Jika pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung antioksidan yang dapat memperbaiki kerusakan hepatosit serta menurunkan kadar enzim SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) diabetik maka pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) berbagai dosis memberikan pengaruh berbeda terhadap gambaran histologi jaringan hepar serta kadar enzim SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinjeksi STZ.

1.4.2 Hipotesis statistik

Hipotesis statistik pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

H₀₁ : Tidak ada pengaruh bermakna pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) berbagai dosis terhadap kerusakan sel hepatosit mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinjeksi STZ.

H_{a1} : Ada pengaruh bermakna pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) berbagai dosis terhadap kerusakan sel hepatosit mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinjeksi STZ.

H₀₂ : Tidak ada pengaruh bermakna pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) berbagai dosis terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinjeksi STZ.

H_{a2} : Ada pengaruh bermakna pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) berbagai dosis terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinjeksi STZ.

1.4.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

- a. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap perbaikan kerusakan sel hepatosit mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinjeksi STZ.
- b. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinjeksi STZ.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat bahwa ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) memiliki kandungan senyawa aktif antioksidan seperti seperti flavonoid, triterpen, tannin, steroid, alkaloid dan asam lemak. Oleh karena itu, ekstrak daun ketapang dapat digunakan sebagai referensi dan pengetahuan untuk kepentingan medis terutama dalam bidang pengobatan tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus adalah penyakit yang ditandai dengan kadar gula darah yang tinggi yang disebabkan oleh gangguan pada sekresi insulin atau gangguan kerja insulin atau keduanya. Diabetes mellitus terjadi akibat ketidakmampuan pankreas menghasilkan insulin yang cukup atau tidak efektif sehingga tidak dapat bekerja secara normal (*American Diabetes Association, 2014*).

Insulin memainkan peranan penting dalam menyebarkan glukosa ke sel-sel, merangsang sistem enzim untuk merubah glukosa menjadi glikogen, memperlambat proses glukoneogenesis, mengatur proses lipogenesis, dan mendorong sintesa protein dan pertumbuhan tubuh (*Rao et al, 2011* dalam *Ardiansah et al, 2012*).

Pengaturan kadar glukosa yang stabil dalam darah adalah mekanisme homeostatik yang merupakan kesatuan proses ikut berperannya hati, jaringan ekstra hepatic dan beberapa hormon. Pada kondisi kadar glukosa darah normal (80-100 mg/dl), hati ternyata merupakan satu-satunya penghasil glukosa. Pada keadaan pasca absorpsi, kadar glukosa darah pada manusia bervariasi antara 80-100 mg, sedangkan pada kondisi puasa, kadarnya menurun menjadi sekitar 60-70 mg (*Suharmiati, 2006*).

Menurut Regina (2012) nilai rujukan untuk kadar glukosa darah puasa normal adalah <100 mg/dL, 100-125 mg/dl untuk prediabetes dan > 126 mg/dl untuk diabetes. Sementara itu, menurut WHO (1999) seperti dikutip dari laporan Riskesdas 2007 (Balitbangkes, 2008) nilai rujukan untuk gula darah normal adalah 140 mg/dl, 140 - < 200 mg/dl untuk Toleransi Glukosa Terganggu (TGT), dan > 200 mg/dl untuk Diabetes mellitus.

2.1.1 Klasifikasi Diabetes mellitus

Menurut *American Diabetes Association* (ADA, 2014), klasifikasi diabetes meliputi empat kelas klinis yaitu: Diabetes Mellitus tipe-1, dikarenakan kerusakan sel β pankreas, biasanya menyebabkan defisiensi insulin yang absolut. Diabetes Mellitus tipe-2, merupakan gangguan sekresi insulin (insulin sedikit/ tubuh tidak dapat merespon insulin) yang progresif yang menjadi latar belakang terjadinya resistensi insulin. Diabetes tipe spesifik lain, misalnya: gangguan genetik pada fungsi sel β , gangguan genetik pada kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas (seperti cystic fibrosis), dan yang dipicu oleh obat atau bahan kimia (seperti dalam pengobatan HIV/AIDS atau setelah transplantasi organ). Diabetes Mellitus Gestasional.

Sedangkan menurut Powers, 2008 Diabetes mellitus diklasifikasikan menjadi empat kelompok yaitu :

a. Diabetes Mellitus Tipe-1

Diabetes Mellitus Tipe-1 disebabkan oleh defisiensi hormon insulin karena kerusakan sel pankreas, yang disebabkan oleh adanya reaksi autoimun. Destruksi

sel pankreas tersebut menyebabkan kadar insulin menjadi sangat rendah, atau bahkan tidak ada sama sekali. Penderita DM Tipe-1 bergantung pada insulin dari luar untuk bisa bertahan. Oleh karena itu, diabetes ini biasa disebut juga dengan *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM). Diabetes mellitus Tipe-1 biasanya terjadi pada usia muda, yaitu sebelum usia 30-40 tahun, namun dapat juga menyerang berbagai usia (Goldstand & Mueller, 2008). Kasus diabetes mellitus tipe-1 merupakan 5-10 % dari keseluruhan kasus diabetes.

b. Diabetes Mellitus Tipe-2

Diabetes Mellitus Tipe-2 merupakan kasus Diabetes terbanyak yang sering dijumpai pada beberapa kasus dan disebut juga *Non Insulin Dependent Diabetes* (NIDDM). Diabetes tipe ini terjadi karena resistensi insulin, dimana tubuh tidak bisa mengatur kadar gula darah untuk keperluan tubuh secara optimal. Diabetes mellitus tipe-2 dapat disebabkan oleh faktor genetik maupun faktor gaya hidup atau lingkungan (Goldstand & Mueller, 2008). Pada penderita Diabetes mellitus tipe-2, selain kondisi resistensi insulin, juga disertai kekurangan insulin. Insulin yang dihasilkan oleh sel β pankreas penderita DM Tipe-2 tidak dapat memenuhi jumlah yang dibutuhkan. Hal ini menimbulkan terjadinya hiperglikemia (tingginya kadar gula dalam darah) karena jumlah insulin yang dihasilkan kurang dari jumlah yang dibutuhkan. Diabetes mellitus tipe-2 juga dapat terjadi karena kurangnya reseptor insulin pada sel-sel sehingga meskipun jumlah insulin yang dihasilkan cukup, namun sel tidak dapat mengangkut cukup glukosa dalam darah sehingga kadar glukosa darah tetap tinggi, situasi ini dikenal dengan nama “resistensi insulin”.

c. Diabetes Mellitus Tipe Lainnya

Diabetes mellitus tipe lainnya ini disebut juga dengan diabetes sekunder (*secondary diabetes*). Penyebab dari diabetes mellitus tipe lain ini diantaranya kelainan pada fungsi sel β dan kerja insulin akibat gangguan genetik, penyakit pada kelenjar eksokrin pankreas, zat kimia, infeksi, autoimun, dan sindrom genetik lain yang berhubungan dengan diabetes mellitus.

d. Diabetes Mellitus Gestasional

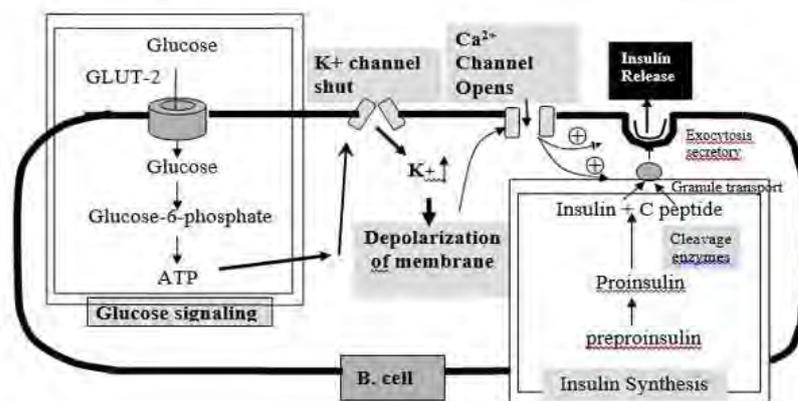
Diabetes mellitus gestasional adalah diabetes yang terjadi pada wanita saat mengalami kehamilan. Artinya, jika terdapat kemungkinan bahwa diabetes terjadi sebelum masa kehamilan, maka tidak digolongkan sebagai diabetes gestasional (Gill *et al.*, 2001).

Tubuh merespon kegagalan pemindahan glukosa dari plasma ke dalam sel dengan stimulasi glikogenolisis, glukoneogenesis dan lipolisis yang menghasilkan badan keton. Glukosa yang diserap setelah makan tidak dimetabolisme dengan kecepatan normal sehingga terkumpul didalam darah (hiperglikemia) dan diekskresi ke dalam urine (glikosuria) dan menyebabkan diuresis osmotik sehingga meningkatkan produksi urine (poliuria). Kehilangan cairan dan hiperglikemia meningkatkan osmolaritas plasma, yang merangsang pusat rasa haus (polidipsia) (Chandrasoma, 2005).

2.1.2 Sekresi Insulin

Sekresi insulin oleh sel β tergantung oleh 3 faktor utama yaitu, kadar glukosa darah, *ATP-sensitive K channels* dan *Voltage-sensitive Calcium channels* sel β pankreas. Di dalam sel, glukosa akan mengalami fosforilasi menjadi

glukosa-6 fosfat (G6P) dengan bantuan enzim penting, yaitu glukokinase. Glukosa 6 fosfat kemudian akan mengalami glikolisis dan akhirnya akan menjadi asam piruvat. Dalam proses glikolisis ini akan dihasilkan 6-8 ATP. Penambahan ATP akan meningkatkan rasio ATP/ADP dan ini akan menutup *voltage-gated* ion kalium. Dengan demikian kalium akan tertumpuk dalam sel dan terjadilah depolarisasi membran sel, sehingga membuka *voltage-gated* ion kalsium dan kalsium akan masuk ke dalam sel. Dengan meningkatnya kalsium intrasel, akan terjadi translokasi granul insulin ke membran dan insulin akan dilepaskan ke dalam darah (Enrico, 2006).



Gambar 2.1 Mekanisme sekresi insulin (Manaf, 2011)

Sekresi insulin pada orang non diabetes meliputi 2 fase yaitu fase dini (fase 1) atau *early peak* yang terjadi dalam 3-10 menit pertama setelah makan. Insulin yang disekresi pada fase ini adalah insulin yang disimpan dalam sel beta (siapa pakai); dan fase lanjut (fase 2) adalah sekresi insulin dimulai 20 menit setelah stimulasi glukosa. Pada fase 1, pemberian glukosa akan meningkatkan sekresi insulin untuk mencegah kenaikan kadar glukosa darah, dan kenaikan glukosa darah selanjutnya akan merangsang fase 2 untuk meningkatkan produksi insulin.

Makin tinggi kadar glukosa darah sesudah makan makin banyak pula insulin yang dibutuhkan, akan tetapi kemampuan ini hanya terbatas pada kadar glukosa darah dalam batas normal (Masharani *et al.*, 2001).

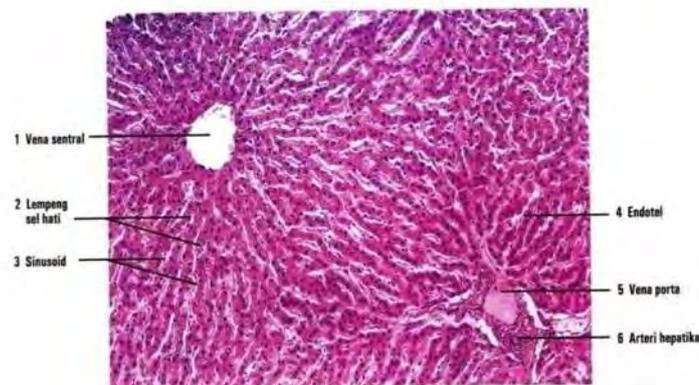
Pada DM tipe 2, sekresi insulin di fase 1 tidak dapat menurunkan glukosa darah sehingga merangsang fase 2 untuk menghasilkan insulin lebih banyak, tetapi sel β pankreas sudah tidak mampu meningkatkan sekresi insulin sebagaimana pada kondisi normal. Gangguan sekresi sel β menyebabkan sekresi insulin pada fase 1 tertekan, kadar insulin dalam darah turun menyebabkan produksi glukosa oleh hati meningkat, sehingga kadar glukosa darah puasa meningkat. Secara berangsur-angsur kemampuan fase 2 untuk menghasilkan insulin akan menurun. Dengan demikian perjalanan DM tipe 2, dimulai dengan gangguan fase 1 yang menyebabkan hiperglikemi dan selanjutnya gangguan fase 2 di mana insulin tidak di sekresikan dengan baik karena gangguan pada sel β pankreas (Masharani *et al.*, 2001).

2.2 Tinjauan Umum Hati

Hati terletak di bawah diafragma kanan dan dilindungi bagian bawah tulang iga kanan. Lobus kiri hati berada didalam epigastrium, tidak dilindungi oleh tulang iga. Hati normal mempunyai struktur kenyal dengan permukaan yang licin (Chandrasoma, 2005). Hati merupakan kelenjar tubuh yang paling besar, beratnya antara 1000-1500 gram, kurang lebih 25% berat badan orang dewasa dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks. Hati terdiri dari dua lobulus utama, yaitu: Lobulus kanan dibagi menjadi segmen

anterior dan posterior. Lobulus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamentum falsiformis yang dapat dilihat dari luar (Hushada, 2004).

Setiap lobulus hati dibagi lagi menjadi lobulus yang merupakan unit fungsional. Mikroskopik dalam hati manusia terdapat 50.000-100.000 lobuli. Setiap lobulus merupakan bentuk heksagonal yang terdiri dari lembaran sel hati yang berbentuk kubus yang tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Diantara lembaran sel hati terdapat kapiler yang dinamakan sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteria hepatica. Sinusoid dibatasi oleh sel kupffer yang merupakan sistem retikuloendotel (Nurlaili, 2010).



Gambar 2.2 Gambaran histologi hati (Eroschenko, 2010)

Hati memegang peranan penting pada metabolisme karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan memproduksi energi. Zat tersebut dikirim kehati melalui vena porta setelah diabsorpsi oleh usus (Hushada, 2004). Hati dan otot menyimpan glukosa sebagai glikogen. Sementara jaringan adipose mengubah glukosa menjadi lemak. Hati merupakan pusat kunci pengelolaan bahan bakar karena hanya sel-sel hati yang sensitif terhadap glukagon. Secara normal glukagon mulai mempunyai

pengaruh sebelum glukosa darah turun lebih rendah dari titik pasang. Pada kenyataannya, segera setelah glukosa dikeluarkan dari darah, glukagon akan memberi sinyal ke sel-sel hati untuk meningkatkan hidrolisis glikogen, mengubah asam lemak dan asam amino menjadi glukosa dan memulai pelepasan glukosa secara perlahan-lahan ke sirkulasi (Campbell *et al.*, 2004).

Fungsi hati sebagai sistem *buffer* glukosa darah sangat penting. Salah satu fungsi hati yang penting adalah menjaga homeostasis glukosa. Hati merupakan organ yang dapat memenuhi kebutuhan glukosa di jaringan dalam tubuh. Hati juga mengubah glukosa dan fruktosa dalam makanan menjadi glikogen dan disimpan atau glukosa yang berlebihan dalam hati diubah menjadi lemak. Selain itu glikogen yang ada dapat diubah oleh sel hati menjadi glukosa jika dibutuhkan dan mengubah asam amino menjadi glukosa (glukoneogenesis) (Nurlaili, 2010).

Selama tidak ada asupan makanan, asam-asam amino yang ditransport dari otot ke dalam hati yaitu alanin, yang merupakan asam amino paling dominan akan menghasilkan siklus glukosa alanin yang menyebabkan daur glukosa dari hati ke otot dengan pembentukan piruvat yang diikuti dengan transaminasi menjadi alanin, kemudian alanin ditransport ke hati dan diikuti oleh glukoneogenesis menjadi glukosa kembali. Energi yang diperlukan untuk sintesis glukosa di hati dari piruvat berasal dari oksidasi asam-asam lemak (Murray, 2003).

Fungsi utama hati adalah untuk membersihkan zat-zat toksin yang berasal dari bakteri maupun zat kimia. Untuk melakukan detoksifikasi dari bahan berbahaya tersebut, hati mengandung antioksidan dengan berat molekul rendah dan enzim yang merusak kelompok oksigen reaktif (ROS) yaitu glutathion

tereduksi (GSH), superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase, dan katalase (Syahrizal, 2008).

Hati juga merupakan tempat terjadinya biosintesis sebagian protein plasma darah. Selain sintesis protein plasma, hati juga mensintesis berbagai macam enzim yang sebagian besar berbentuk protein diantaranya enzim *aminotransferase* yaitu *Aspartat aminotransferase* (AST) yang disebut SGOT dan *Alanin Aminotransferase* (ALT) yang juga disebut SGPT.

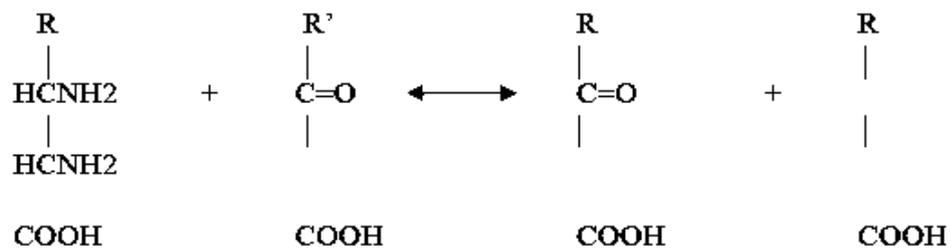
2.2.1 Enzim transaminase

Kerusakan hati karena zat toksik dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis zat kimia yang terlibat, dosis yang diberikan, dan lamanya paparan zat tersebut. Kerusakan hati dapat terjadi segera atau setelah beberapa minggu sampai beberapa bulan. Kerusakan pada hati dapat berbentuk nekrosis hepatosit sampai timbulnya disfungsi hepar secara perlahan (Wiria, 2007).

Pada cedera sel hepar terjadi kerusakan membran sel dan organel yang akan menyebabkan enzim intrasel masuk ke dalam pembuluh darah sehingga kadar enzim yang meningkat dalam darah dapat diukur misalnya, SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*) SGPT, (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) SGOT, dan γ -GT (*Gamma-glutamyl transpeptidase*) (Nurlaili, 2010).

Transaminase atau *aminotransaminase* merupakan sekelompok enzim yang bekerja sebagai katalisator dalam proses pemindahan gugus amino dari suatu asam alfa amino kepada suatu asam alfa keto (Sadikin, 2002). *Transaminase* termasuk enzim plasma non fungsional dengan tidak melakukan fungsi fisiologik

di dalam darah. Kehadiran *transaminase* dalam plasma darah pada kadar di atas nilai normal memberi dugaan suatu peningkatan kerusakan jaringan. SGOT banyak ditemukan pada beberapa organ seperti : jantung, hati, otot, otak, dan ginjal. SGPT sendiri lebih banyak ditemukan pada organ hati. Peningkatan kadar SGOT dan SGPT akan terjadi jika adanya pelepasan enzim secara intraseluler ke dalam darah yang disebabkan *nekrosis* sel-sel hati atau adanya kerusakan hati secara akut (Wibowo *et al.*, 2009). Menurut Mitruka *et al.*, (1981) kadar normal SGOT mencit adalah 73,6-208,4 U/L dan SGPT mencit adalah 40,8-50 U/L Lenaerts *et al.*, (2005) dalam Mandasari (2011).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Enzim Transaminase (Richard & Ronald, 2004).

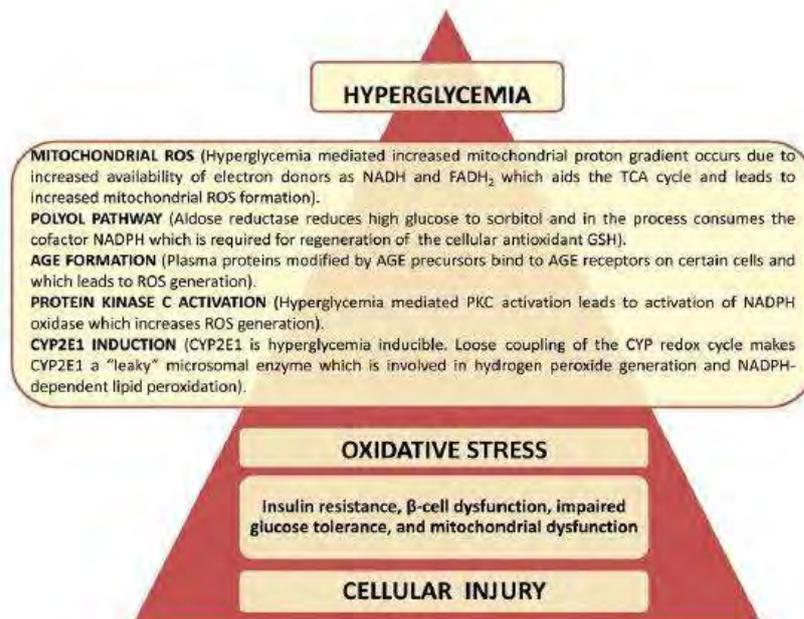
Pada peningkatan permeabilitas membran sel, enzim keluar dari sel. Aktivitas SGPT dan SGOT meningkat pada penyakit hepatoseluler akut. Penentuan aktivitas SGPT dianggap sebagai tes yang lebih sensitif dan spesifik untuk adanya kerusakan hepatoseluler akut. Sedangkan kenaikan aktivitas SGOT biasanya lebih tinggi pada kerusakan hati kronik. Maka pada inflamasi dimana terdapat kebocoran enzim sitoplasma ke dalam peredaran darah, aktivitas SGPT meningkat lebih tinggi dari SGOT. Namun bila terdapat nekrosis jaringan yang lebih hebat seperti keracunan parasetamol, tetrasiklin, obat sitotoksik, karbon

tetraklorida atau zat lain, aktivitas enzim SGOT meningkat lebih tinggi dari SGPT (Akbar, 2004).

Peningkatan kedua enzim selular ini terjadi akibat pelepasan kedalam serum ketika jaringan mengalami kerusakan. Peningkatan SGPT lebih tinggi dari pada SGOT pada kerusakan yang akut hal ini di karenakan SGPT merupakan enzim yang hanya terdapat pada sitoplasma sel hati, sebaliknya SGOT terdapat baik dalam sitoplasma maupun mitokondria sehingga aktivitasnya meningkat lebih tinggi pada kerusakan hati yang lebih dalam dari sitoplasma sel (Syahrizal, 2008).

2.2.2 Pengaruh Diabetes mellitus terhadap struktur dan fungsi hati

Penderita diabetes memiliki resiko berkembangnya berbagai macam komplikasi. Kondisi hiperglikemia pada diabetes dapat memberikan efek jangka panjang sehingga dapat merusak sel dan pembuluh darah. Mekanisme komplikasi dari diabetes menjadi lebih kompleks karena hiperglikemia juga dapat menyebabkan peningkatan stress oksidatif. Peningkatan stress oksidatif pada diabetes dapat melalui berbagai mekanisme seperti peningkatan produksi oksigen radikal dari auto-oksidasi glukosa, glikasi protein, dan glikasi enzim antioksidatif yang dapat membatasi kemampuan tubuh untuk menetralsir oksigen radikal. (Mathough *et al.*, 2012).



Gambar 2.4 Hiperglikemia berkontribusi dalam peningkatan stress oksidatif dan kerusakan sel.

Perkembangan dari oksigen radikal menjadi *reactive oxygen species* (ROS) merupakan suatu sistem aerob yang bertanggung jawab untuk menjalankan fungsi sel dalam mencegah penyebaran agen asing. Semakin banyak oksigen radikal yang dihasilkan maka akan semakin banyak ROS yang terbentuk. Penumpukan ROS dalam jumlah besar dapat sangat beracun bagi sel. Stress oksidatif mempengaruhi sebagian besar komponen penting sel seperti protein, lipid, dan DNA (Chicoz-Lack, 2014).

Mitokondria merupakan sumber utama dari pembentukan ROS seluler. Metabolit oksigen tersebut terbentuk selama proses fosforilasi oksidatif. Pada kondisi normal elektron mitokondria berkontribusi untuk pembentukan anion superoksida, yang terbentuk dari reduksi monovalen molekul oksigen. Reaksi ini dikatalisis oleh enzim seperti NADPH atau *xanthine oxidase*. Secara fisiologi, sintesis radikal bebas oksigen memiliki peranan yang baik untuk sel, namun

adanya campurtangan transport elektron dapat meningkatkan terbentuknya anion superoksida yang berbahaya bagi sel. Selain di mitokondria, retikulum endoplasma juga memproduksi ROS di dalam hati melalui sitokrom enzim P-450. Penyakit kronis pada hati selalu ditandai dengan peningkatan stress oksidatif, yang menyebabkan kerusakan pada hati (Chicoz-Lack, 2014).

Kerusakan pada hati dapat dideteksi melalui pengamatan secara fisik dan investigasi. Dari pengamatan fisik dapat diketahui berbagai macam perubahan pada organ hati dibandingkan organ normal. Investigasi digunakan untuk mendeteksi kerusakan pada hati melalui tes fungsi hati. Salah satu hasil yang tampak adalah peningkatan serum ezim SGOT dan SGPT (Kurniawati *et al.*, 2015).

2.3 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan, sehingga mempunyai aktivitas tinggi untuk menarik elektron dari senyawa-senyawa lain yang rentan terhadap proses oksidasi, seperti asam lemak tak jenuh. Dalam tubuh manusia yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh adalah lipid membran. Proses oksidasi asam lemak tak jenuh merupakan sumber utama produksi radikal bebas *in vitro* (Ernawati, 2006).

Radikal bebas sangat diperlukan bagi kelangsungan beberapa proses fisiologis dalam tubuh, terutama untuk transportasi elektron. Namun, radikal bebas yang berlebihan dapat membahayakan tubuh karena dapat merusak makromolekul dalam sel seperti karbohidrat, protein, DNA dan sebagainya. Kerusakan makromolekul selanjutnya dapat mengakibatkan kematian sel.

Sebagian ROS berasal dari proses fisiologis (ROS endogen) dan lainnya adalah ROS eksogen, seperti berbagai polutan lingkungan (emisi kendaraan bermotor dan industri, asbes, asap rokok, dan lain-lain), radiasi ionisasi, infeksi bakteri, jamur dan virus, serta paparan zat kimia (termasuk obat) yang bersifat mengoksidasi. Ada berbagai jenis ROS, contohnya adalah superoksida anion, hidroksil, peroksil, hidrogen peroksida, singlet oksigen, dan lain sebagainya (Jawi, 2007).

Reactive oxygen species (ROS) selain dapat merusak membran sel juga merusak komponen intrasel termasuk asam nukleat, protein, dan lipid. Asam deoksiribonukleat (DNA) mitokondria tidak tahan terhadap serangan radikal bebas sehingga membran bagian dalam mitokondria juga menjadi ikut rusak. Peroksidasi lipid selanjutnya mengubah DNA mitokondria dan mengganggu kestabilan membran sel, propagasi siklus oksidatif stres secara besar-besaran yang diikuti dengan peradangan (Panjaitan, 2007).

Pada diabetes mellitus, pertahanan antioksidan dan sistem perbaikan seluler akan terangsang sebagai respons tantangan oksidatif. Sumber stress oksidatif berasal dari peningkatan radikal bebas akibat autooksidasi glukosa, penurunan konsentrasi antioksidan berat molekul rendah di jaringan, dan gangguan aktivitas pertahanan antioksidan enzimatik. Disamping itu, stress oksidatif memiliki kontribusi pada perburukan dan perkembangan kejadian komplikasi (Setiawan *et al.*, 2005).

Langkah yang paling tepat untuk mengurangi stres oksidatif adalah dengan mengurangi radikal bebas atau mengoptimalkan pertahanan tubuh dengan

memperbanyak antioksidan. Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa yang dapat menyumbangkan elektron atau pemberi elektron. Antioksidan dalam pengertian biologis adalah semua senyawa yang dapat meredam dan atau menonaktifkan serangan radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Rusdi, *et al.*, 2007).

Pemberian antioksidan berupa komponen senyawa polifenol seperti tannin, triterpenoid, *chebulagic acid*, *corilagin*, dan flavonoid menunjukkan dapat menangkap radikal bebas dan mengurangi stress oksidatif. Senyawa fitokimia ternyata mampu memanipulasi dengan berbagai mekanisme sehingga dapat mengurangi komplikasi diabetes melalui pengurangan stress oksidatif dan ROS (Astuti, 2011).

2.4 Tinjauan Umum Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

2.4.1 Morfologi dan klasifikasi daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Menurut *database* situs resmi dunia tumbuhan, Plantamor (diakses pada 20 Mei 2016), klasifikasi tanaman ketapang tersusun dalam sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Myrtales
 Famili : Combretaceae
 Genus : *Terminalia*
 Spesies : *Terminalia catappa* L.



Gambar 2.5 Daun Ketapang (Dokumentasi pribadi)

Tumbuhan ketapang yang memiliki nama latin *Terminalia catappa* L. adalah nama sejenis pohon tepi pantai yang rindang. *Terminalia catappa* L. merupakan pohon besar dengan tinggi mencapai 40 m dan gemang batang sampai 1,5 m. Bertajuk rindang dengan cabang-cabang yang tumbuh mendatar dan bertingkat-tingkat. Ketapang merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara, namun pada wilayah Sumatra dan Kalimantan pohon ketapang jarang ditemukan. Pohon ini biasa ditanam di Australia bagian utara, Polinesia, India, Pakistan, Madagaskar, Afrika Timur, Afrika Barat, Amerika Tengah, serta Amerika Selatan (Thomson *et al.*, 2006).

Terminalia catappa L. cocok dengan iklim pesisir dan dataran rendah hingga ketinggian sekitar 400 m dpl dengan curah hujan antara 1.000–3.500 mm pertahun, dan bulan kering hingga 6 bulan. Ketapang menggugurkan daunnya dua kali dalam satu tahun, sehingga tumbuhan ini bisa bertahan menghadapi bulan-bulan yang kering. Buahnya yang memiliki lapisan gabus dapat terapung-apung di air sungai dan laut hingga berbulan-bulan, sebelum tumbuh di tempat yang cocok (Thomson *et al.*, 2006).

Daun ketapang merupakan daun tidak lengkap karena hanya memiliki tangkai dan helaian daun, tidak memiliki pelepah daun. Ketapang memiliki bentuk tangkai daun berbentuk silinder dengan sisi agak pipih dan menebal pada pangkalnya. Ketapang memiliki helaian daun berbentuk bulat telur terbalik, licin di permukaan atasnya dan berambut halus di sisi bawah. Ujung daunnya meruncing, tepi daun rata, daging daunnya tipis lunak dan tulang daunnya

bertulang daun menyirip. Ketapang termasuk tumbuhan dikotil sehingga memiliki akar tunggang dan bentuk batangnya bulat berkayu (Tjitrosoepomo, 2007).

Manfaat daun ketapang bagi kesehatan dapat digunakan untuk nyeri sendi, kandungan taninnya dapat digunakan sebagai astringen pada disentri dan sariawan, serta diuretik. Daun ketapang juga banyak digunakan untuk mengobati penyakit kardiovaskuler, kulit, liver, dan pernafasan (Thomson *et al.*, 2006).

2.4.2 Kandungan Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Berdasarkan identifikasi fitokimia kualitatif yang dilakukan oleh Akharaiyil *et al.*, (2011) kandungan senyawa kimia yang dimiliki daun ketapang antara lain tannin, saponin, dan flavonoid. Kandungan kimia tersebut lebih banyak ditemukan pada daun yang masih muda. Kandungan kimia yang dimiliki daun ketapang tersebut juga memiliki kemampuan sebagai anti bakteri.

Ketapang diketahui mengandung senyawa obat seperti flavonoid (Lin *et al.*, 2000), triterpenoid (Gao *et al.*, 2004), tannin (Ahmed *et al.*, 2005), alkaloid (Mandasari 2006), steroid (Babayi *et al.*, 2004) dan asam lemak (Jaziroh 2008), *chebulagic acid*, dan *corilagin* (Kinoshita *et al.*, 2007).

Berdasarkan penelitian Restasari *et al.*, (2010) ekstrak kloroform daun ketapang memiliki kandungan senyawa kimia golongan alkaloid, terpenoid, triterpenoid, dan steroid. Sedangkan berdasarkan penelitian Rahayu *et al.*, (2009) dalam ekstrak etanol daun ketapang memiliki kandungan senyawa kimia flavonoid, alkaloid, saponin, dan kuinon.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Hewan Coba Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga sebagai tempat pemeliharaan dan perlakuan hewan coba. Tempat evaporasi ekstrak daun ketapang dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Laboratorium Histologi Departemen Biologi digunakan sebagai tempat pembuatan preparat histologi hepar. Laboratorium Genetika Molekuler sebagai tempat untuk melihat penampang histologi hepar. Laboratorium Optima Surabaya sebagai tempat untuk melakukan pengecekan kadar SGOT dan SGPT. Penelitian ini dilakukan selama 6 bulan.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan strain Balb /c yang sehat dan belum pernah digunakan sebagai percobaan, dengan kisaran umur 3-4 bulan dengan berat badan rata-rata 19-36 g. Hewan coba tersebut didapatkan dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Mencit diberi minyak babi (lard) dengan metode *gavage* untuk meningkatkan berat badan kemudian diinjeksi dengan STZ (streptozotocin, larutan buffer sitrat pH 4,5 dan *phosphate buffered saline* /PBS) selama 5 hari.

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang diambil di sekitar *Institute of Tropical Disease Center* (TDC) Universitas Airlangga yang selanjutnya diolah untuk diambil ekstraknya. Untuk memberi tanda pada mencit digunakan asam pikrat larutan bouin. Alkohol swabs 70% untuk membersihkan ekor mencit. Alkohol 96% digunakan sebagai bahan untuk proses infiltrasi dengan metode maserasi. Bahan yang digunakan untuk ekstrak ketapang menggunakan minyak goreng untuk melarutkan ekstrak. *Carboxyl methyl cellulose* (CMC) diberikan pada mencit dengan perlakuan normal dan kontrol diabetes. Metformin dosis 500 mg diberikan pada mencit dengan kontrol diabetes. Penentuan kadar SGOT dan SGPT dilakukan di Laboratorium Optima Surabaya.

3.2.2 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak berisi sekam untuk tempat mencit, kawat kasa penutup bak, dan botol tempat minum mencit. Spet dan jarum suntik yang ujungnya telah dimodifikasi (berkanula) ukuran 1 ml digunakan untuk memberikan perlakuan pada mencit dengan metode *gavage*. Jarum injeksi ukuran 1 ml untuk pengambilan sampel darah dan induksi diabetes, spuit insulin untuk uji toleransi glukosa, strip *Accu-Check Active*[®], glukometer *Accu-Check Active* test. Untuk proses pembuatan ekstrak daun ketapang, alat-alat yang digunakan adalah kertas saring, gelas beker, *freeze dryer*, blender, pengaduk, timbangan digital, tabung erlenmeyer, *rotary vacuum evaporator*, alu dan mortar. Untuk pembedahan mencit, pengambilan sampel darah dan pembuatan preparat gambaran histologi hepar, alat-alat yang digunakan adalah bak, alat bedah

(*dissecting set*), jarum injeksi 1 ml, tube yang berisi EDTA, mikropipet, botol-botol vial, tisu, jarum pentul, mikroskop, *graticulae*, parafilm, *paraffin bath*, *paraffin oven*, mikrotom, gelas obyek dan penutup, serta perangkat fotomikroskopi.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan metode penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dalam penelitian ini, hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu satu kontrol normal (KN), satu kontrol diabetik (KD), satu kelompok uji metmorfin (KM), dan tiga kelompok perlakuan yang terdiri atas KP1, KP2, dan KP3. Pada setiap kelompok terdapat 4 ekor mencit.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu :

1. Variabel bebas : Dosis ekstrak kasar daun Ketapang (*Terminalia catappa*)
2. Variabel terikat : kadar SGOT, kadar SGPT, persentase kerusakan hepar (degenerasi parenkimatososa, degenarasi hidropik dan nekrosis).
3. Variabel kontrol : umur mencit (*Mus musculus*) strain Balb/c, suhu, kelembapan, jenis pakan, dan air minum.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Tahap pembuatan ekstrak daun ketapang

Daun Ketapang *Terminalia catappa* L. didapatkan di sekitar *Institute of Tropical Disease Center (TDC)* Universitas Airlangga. Daun ketapang tersebut dibersihkan dengan tangan tanpa air kemudian dipotong kecil-kecil berukuran

sekitar 1 cm. Potongan-potongan daun ketapang tersebut dijemur, diangin-anginkan tidak terkena sinar matahari langsung selama 5 hari. Daun ketapang kering tersebut kemudian diblender hingga menjadi serbuk dan ditimbang kembali. Serbuk daun ketapang yang dihasilkan tersebut dimaserasi didalam alkohol 96% selama 7 hari sambil *dishaker*. Hal tersebut dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh filtrat jernih. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring selanjutnya difiltrasi dan dievaporasi dalam *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak kental hasil evaporasi tersebut kemudian di *freeze drying* untuk menghasilkan ekstrak kasar dan berwarna kehitaman.

3.5.2 Tahap aklimasi dan pemeliharaan hewan coba

Hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan dan betina strain Balb/c sebanyak 36 ekor yang didatangkan dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga diaklimasi dan dipelihara di Rumah Hewan Coba selama 14 hari. Pemeliharaan mencit dilakukan dalam rumah hewan yang dilengkapi rak-rak kandang. Kandang mencit berupa bak plastik yang ditutupi kawat kasa dan diberi sekam sebagai alas, dilengkapi botol minum. Pakan diberikan pada mencit antara pukul 09.00-15.00 WIB dan minuman yang diberikan berupa air PDAM yang diberikan secara oral.

3.5.3 Tahap induksi mencit dengan minyak babi (Lard)

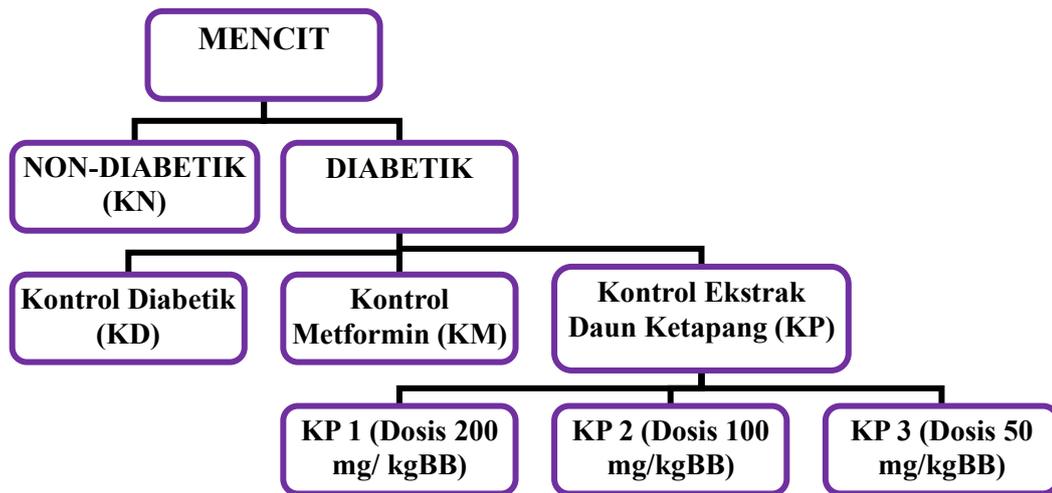
Sebelum diinjeksi STZ dan ekstrak daun ketapang mencit diberi perlakuan lard terlebih dahulu untuk menambah berat badan dan kandungan lemak mencit. Induksi lard diberikan secara peroral selama 21 hari dengan dosis 0,3 ml/ mencit.

3.5.4 Tahap induksi mencit dengan streptozotocin (STZ)

Mencit dikondisikan diabetik dengan cara diinduksi STZ dalam buffer sitrat pH 4,5 dengan multiple low dose 30 mg/kg BB (berat badan) secara intraperitoneal selama 5 hari berturut-turut (Dalimartha, 2006). Streptozotocin (STZ) dapat mengaktifkan jenis-jenis oksigen seperti superoksida, hydrogen peroksida, dan radikal hidroksil yang merupakan radikal bebas. NO dan oksigen reaktif tersebut adalah penyebab utama kerusakan sel β pankreas (Szkudelski *et al.*, 2001). Sebelum diberi STZ dilakukan pengukuran terhadap berat badan mencit terlebih dahulu. Mencit dengan berat badan ≤ 28 g diinduksi dengan dosis STZ 0,09 ml, mencit dengan berat badan 29-32 g diinduksi dengan dosis 0,1 ml, dan mencit dengan berat badan ≥ 33 g diinduksi dengan dosis 0,11 ml. selanjutnya, pada hari ke-7 dan hari ke-14 dilakukan pengecekan kadar glukosa darah puasa (GDP) dengan menggunakan *glucometer*. Apabila kadar gula darah puasa diatas 125 mg/dl maka mencit dalam keadaan hiperglikemia.

3.5.5 Tahap perlakuan hewan coba

Mencit dikelompokkan menjadi 6 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 mencit. Mencit non diabetik digunakan sebagai kontrol normal (KN). Sedangkan mencit diabetik hasil induksi STZ dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok diabetik (KD), kelompok metformin (KM), dan kelompok perlakuan ekstrak kasar daun ketapang (KP) dalam 3 dosis ekstrak daun ketapang (KP1, KP2, dan KP3). Pemberian ekstrak kasar daun ketapang diberikan secara per oral, pemberian dosis tertentu mengacu pada dosis hasil uji toksisitas yang telah dilakukan sebelumnya. Pemberian perlakuan dilakukan selama 14 hari.



Gambar 3.1 Skema pembagian kelompok dalam penelitian

3.5.6 Pengukuran berat badan

Pengukuran berat badan dilakukan pada mencit semua kelompok sebelum diberi lard, sesudah diberi lard, sebelum diinduksi STZ, setelah diinduksi STZ, saat awal perlakuan (hari ke-1), pertengahan (hari ke 7), dan akhir perlakuan (hari ke 14).

3.5.7 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Sebelum diberi perlakuan pemberian ekstrak kasar daun ketapang, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah untuk memastikan 20 mencit telah mengidap diabetetes. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan cara mengambil darah mencit melalui ujung ekor yang terlebih dahulu dibersihkan dengan alkohol swabs 70%. Darah yang keluar diteteskan pada strip *Accu-Check Active*[®] kemudian dimasukkan dalam glukometer untuk dibaca kadar glukosanya. Hasil yang keluar pada layar digital dari *glucometer* merupakan kadar glukosa yang dicari.

3.5.8 Tahap pembuatan sediaan hepar

Pembuatan sediaan hepar dengan pewarnaan hematoxilin eosin dari tahap *processing* sampai dengan *sectioning* dengan tata cara yang sudah ada di Laboratorium Histologi Departemen Biologi Universitas Airlangga. Selanjutnya dilakukan tahap pewarnaan atau staining. Pembuatan preparat histologi hepar melalui beberapa tahap, yaitu :

1. Tahap Pembedahan

Mencit dibedah dan diambil organ heparnya.

2. Tahap Fiksasi

Tahap ini merupakan proses perendaman organ hepar menggunakan larutan *buffer* formalin 10% selama 48 jam. Tujuan dilakukannya fiksasi adalah mencegah terjadi kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme secara cepat, mengawetkan komponen sitologis dan histologis, mengawetkan sel-sel dan jaringan pada kondisi yang sebenarnya, mengeraskan materi yang lembek, dan jaringan-jaringan dapat diwarnai sehingga bisa diketahui bagian-bagian dari jaringan tersebut.

3. Tahap pencucian (*washing*) dan *processing*

Tahap ini diawali dengan memotong hepar yang telah difiksasi secara membujur menjadi 2 bagian yang sama dan salah satu potongan hepar dimasukkan ke dalam wadah jaringan (kaset). Potongan hepar kemudian dicuci dengan air mengalir mengalir selama 2 jam (*washing*). Setelah itu dilakukan *processing*, yaitu proses dehidrasi dengan etanol bertahap, mulai dari etanol 70% selama 4x30 menit, etanol 80% selama 2x30 menit, etanol

96% selama 1x30%, kemudian dilakukan *clearing* dengan menggunakan xylol 1 selama 15 menit dan xylol 2 selama semalam (*overnight*).

4. Tahap infiltrasi dan penanaman (*embedding*)

Pada tahap ini, kaset-kaset yang berisi potongan hepar dipindah dari tahap *processing* ke dalam paraffin *bath* dengan urutan paraffin xylol (1:1) selama 30 menit, paraffin 1, paraffin 2, paraffin 3, selama 60 menit tiap tahap. Setelah dari paraffin 3, potongan hati dikeluarkan dari kaset dan ditanam (*embedding*) dalam cetakan kotak karton berukuran 2cm x 2cm x 2cm yang telah diisi oleh blok paraffin. Kemudian organ hepar dibiarkan semalam agar paraffin padat.

5. Tahap pemotongan (*sectioning*) dan pewarnaan (*staining*)

Sebelum dilakukan *sectioning*, blok paraffin dilekatkan pada *holder*. Selanjutnya *holder* dipasang pada mikrotom dan tebal irisan diatur dengan ukuran 4 μ m. melakukan proses pewarnaan dengan urutan sebagai berikut: Xylol 2 x 10 menit, Etanol absolut 5 menit, Etanol 96 % 5 menit, Etanol 80 % 5 menit, Etanol 70 % 5 menit, Hematoxylin 10 menit, Dibilas dengan air mengalir 5 menit, Etanol 70 % + HCl 30 detik, Akuades, Eosin 5 menit, Akuades, Etanol 70 % 5 menit, Etanol 80 % 5 menit, Etanol 96 % 5 menit, Etanol absolut 5 menit, Xylol 2 x 10 menit.

6. Tahap penutupan (*mounting*)

Proses selanjutnya adalah *mounting*, yaitu penutupan dengan menggunakan entellan lalu diberi gelas penutup pada objek gelas.

3.5.9 Tahap pengukuran kadar enzim SGOT

Tahap pengujian ini menggunakan kit Pentra C.200 *reader* dengan bantuan enzim AZAT. Prosedur kerja berdasarkan *protocol kit* sebagai berikut:

1. Pembuatan monoreagent yaitu 1000 μ l R1 (Tris, L-aspartat, LDH) dicampur dengan 250 μ l R2 (2-oxoglutarate, NADH)
2. Sampel darah yang diambil dimasukkan kedalam tube kemudian di *sentrifuge* untuk diambil serum sebanyak 10 μ l
3. Pembuatan larutan sampel dengan 10 μ l serum darah dicampur dengan 1000 μ l R1 kemudian diinkubasikan selama 5 menit. Selanjutnya ditambah R2 sebanyak 250 μ l kemudian diinkubasikan selama 1 menit
4. Larutan sampel tersebut dimasukkan kedalam *test drive*
5. Kadar SGOT dibaca dengan Pentra C.200 *reader*.

3.5.10 Tahap pengukuran kadar SGPT

Tahap pengujian ini menggunakan kit Pentra C.200 *reader* dengan bantuan enzim ALAT. Prosedur kerja berdasarkan *protocol kit* sebagai berikut:

1. Pembuatan monoreagent yaitu 1000 μ l R1 (Tris, L-alanine, LDH) dicampur dengan 250 μ l R2 (2-oxoglutarate, NADH)
2. Sampel darah yang diambil dimasukkan kedalam tube kemudian di *sentrifuge* untuk diambil serum sebanyak 10 μ l.

3. Pembuatan larutan sampel dengan 10 µl serum darah dicampur dengan 1000 µl R1 kemudian diinkubasikan selama 5 menit. Selanjutnya ditambah R2 sebanyak 250 µl kemudian diinkubasikan selama 1 menit
4. Larutan sampel tersebut dimasukkan kedalam *test drive*
5. Kadar SGPT dibaca dengan *Pentra C.200 reader*.

3.5.11 Tahap pengambilan data kerusakan hepar

Preparat histologi hepar diamati dibawah mikroskop cahaya dengan bantuan alat *graticulae*. Pengamatan dilakukan dalam 3 lapang pandang, dengan perbesaran 400 kali. Setiap lapang pandang sel dihitung sesuai dengan kotak *graticulae* yang tampak di mikroskop. Gambaran mikroskopis hepar yaitu rerata persentase hitungan kerusakan sel hepatosit berdasarkan perubahan struktur histopatologi sebagai berikut:

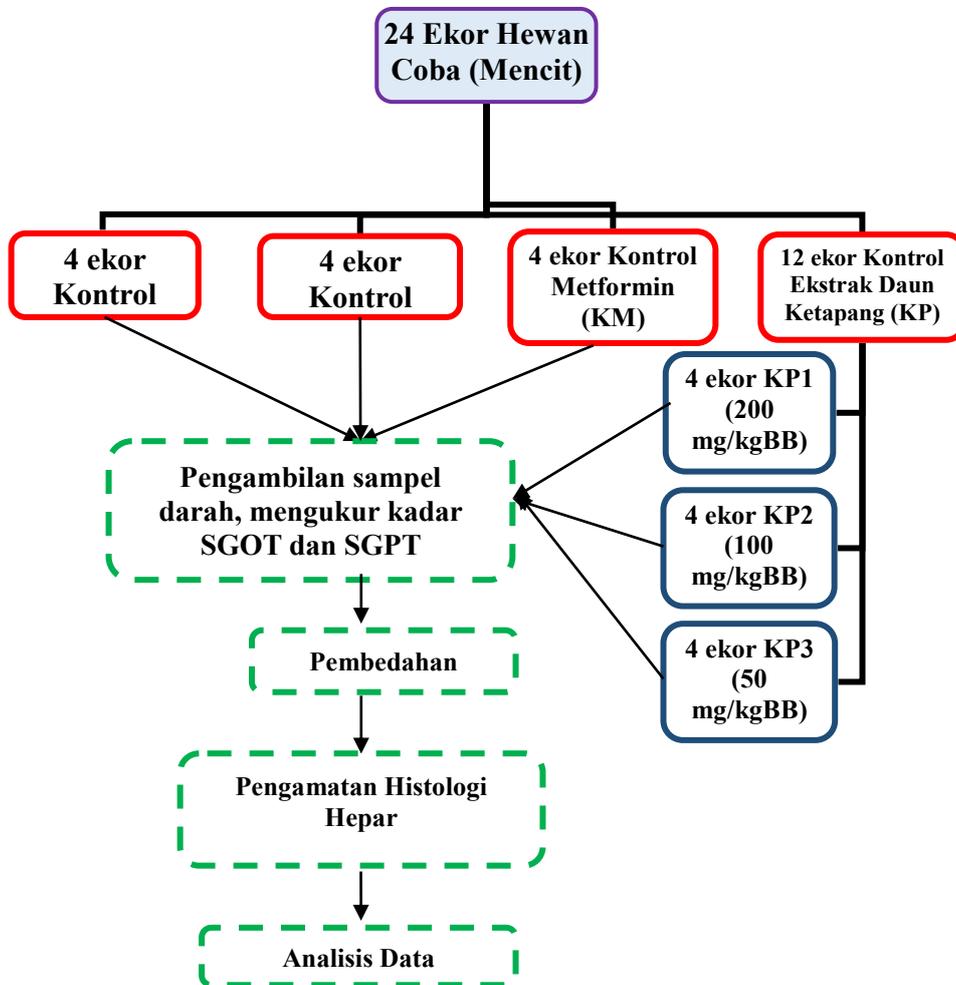
- a. Normal : tampak sel berbentuk polygonal, sitoplasma berwarna merah homogen dan dinding sel berbatas tegas.
- b. Degenerasi parenkimatosa (pembengkakan sel) :
tampak sitoplasma keruh karena terdapat endapan protein, berbusa, dan sel membengkak.
- c. Degenerasi hidropik :
tampak vakuola pada sitoplasma sel maupun di sekeliling sel yang berisi cairan.
- d. Nekrosis : tampak inti sel piknotik, karioreksis, kariolisis, dan sitoplasma sel menggumpal.

(sumber: Crawford (2005) dalam Amalina (2009)).

3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian meliputi data kadar SGOT dan SGPT serta gambaran histologi kerusakan hepar mencit. Analisis data statistik menggunakan program SPSS yang meliputi uji normalitas dan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* dan uji *Levene*. Jika uji normalitas dan homogenitas memenuhi syarat untuk uji parametrik, maka akan dilanjutkan dengan menggunakan One Way ANOVA ($\alpha = 0,05$). Jika terdapat pengaruh nyata maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 0,05 atau 95%, namun jika uji normalitas dan homogenitas tidak memenuhi syarat, maka akan dilanjutkan dengan uji non parametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis* ($\alpha = 0,05$). Jika berpengaruh akan dilanjutkan dengan uji *Mann – Whitney*.

3.6 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 3.2 Kerangka Operasional Penelitian.

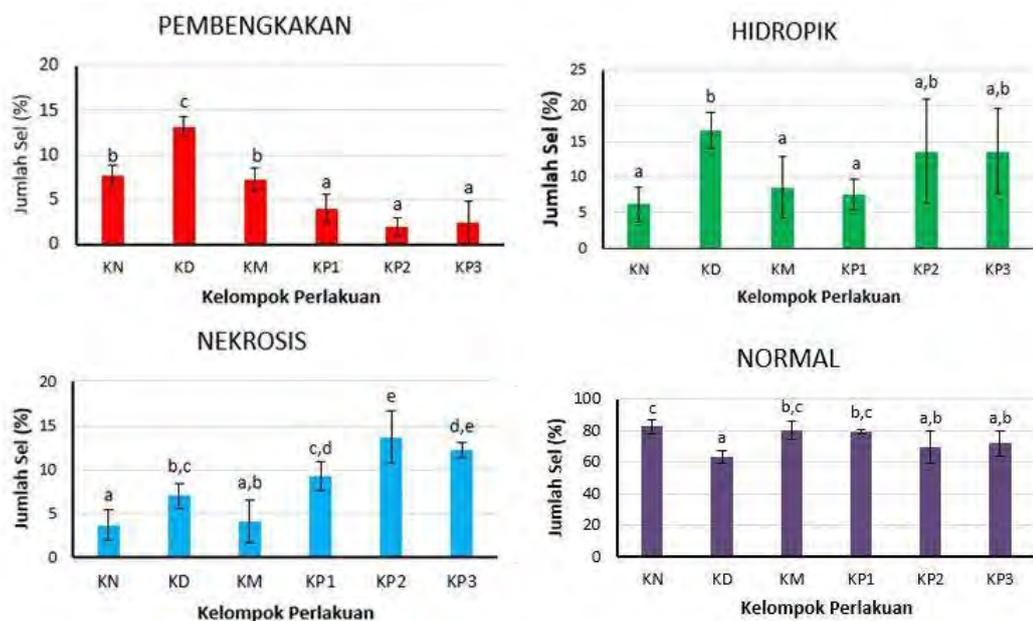
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

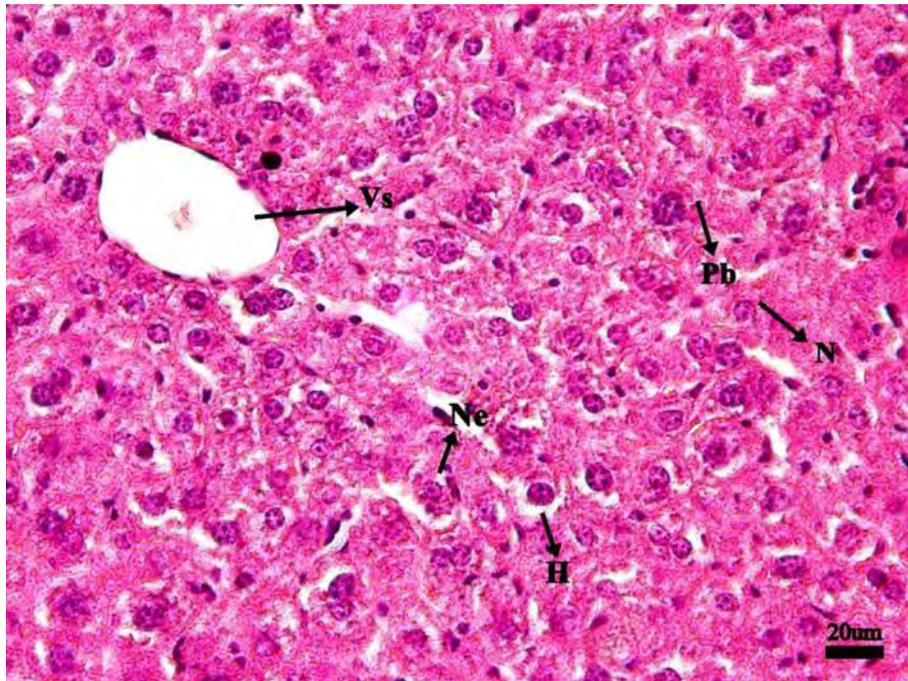
4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Pengaruh pemberian ekstrak kasar daun ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap kerusakan organ hati *Mus musculus*.

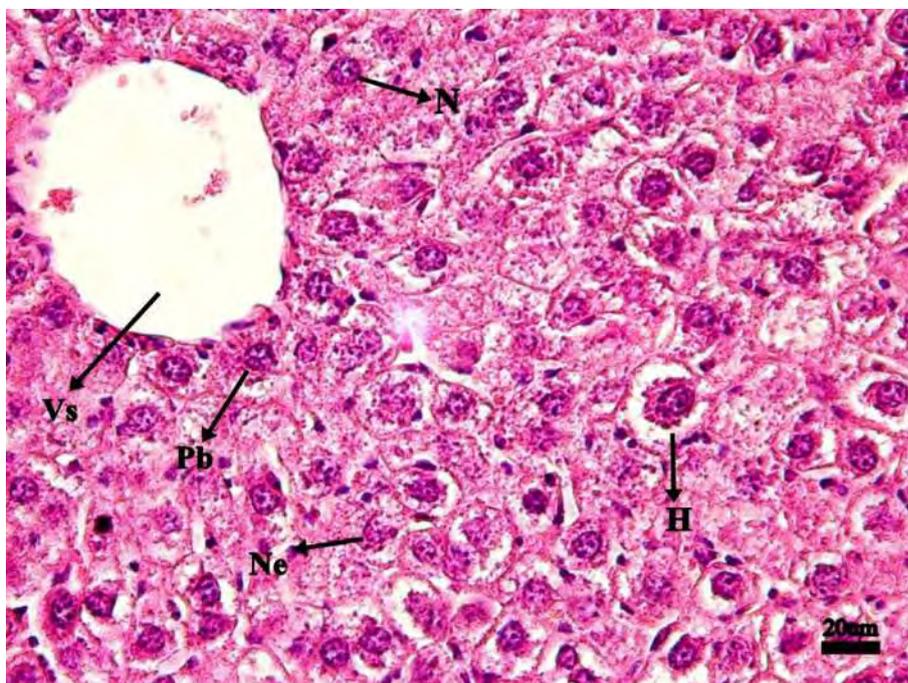
Rerata persentase hepatosit normal dan kerusakan hepatosit serta hasil analisis uji Duncan dapat dilihat pada Lampiran 6 dan Gambar 4.2



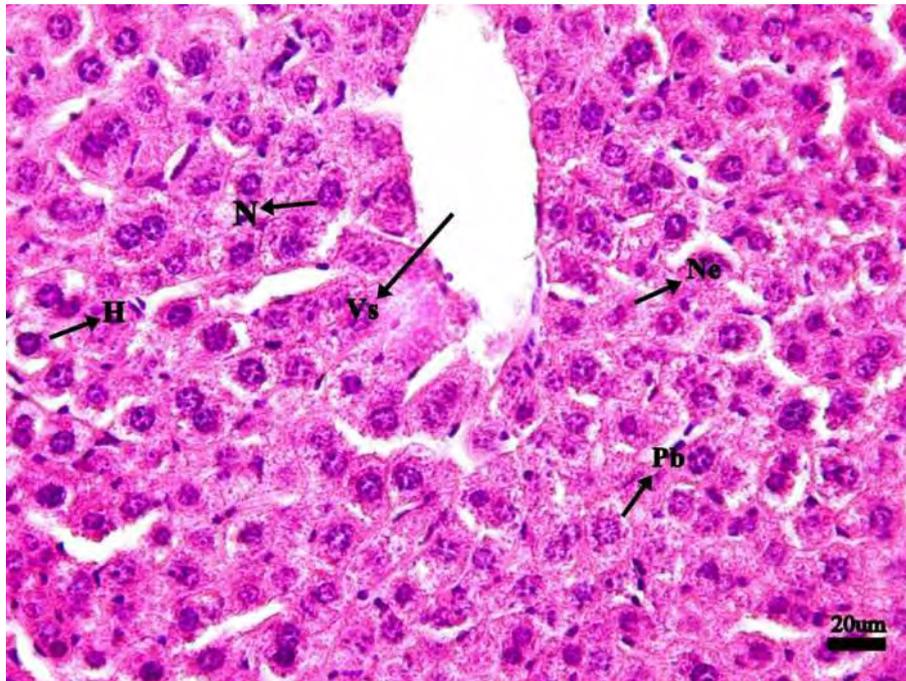
Gambar 4.1 Diagram rata-rata kerusakan hepatosit. Huruf yang berbeda menunjukkan beda signifikan berdasarkan uji *Duncan* ($\alpha=0,05$). Keterangan : KN: Kontrol normal, tidak diberi perlakuan, KD: Kontrol diabetik (pemberian STZ), KM: diberi perlakuan Metformin 1,95 mg/30gr BB, KP1: diberi perlakuan ekstrak kasar daun ketapang dosis 200 mg/kg BB, KP2: diberi perlakuan ekstrak kasar daun ketapang dosis 100 mg/kg BB, KP3: diberi perlakuan ekstrak kasar daun ketapang dosis 50 mg/kg BB.



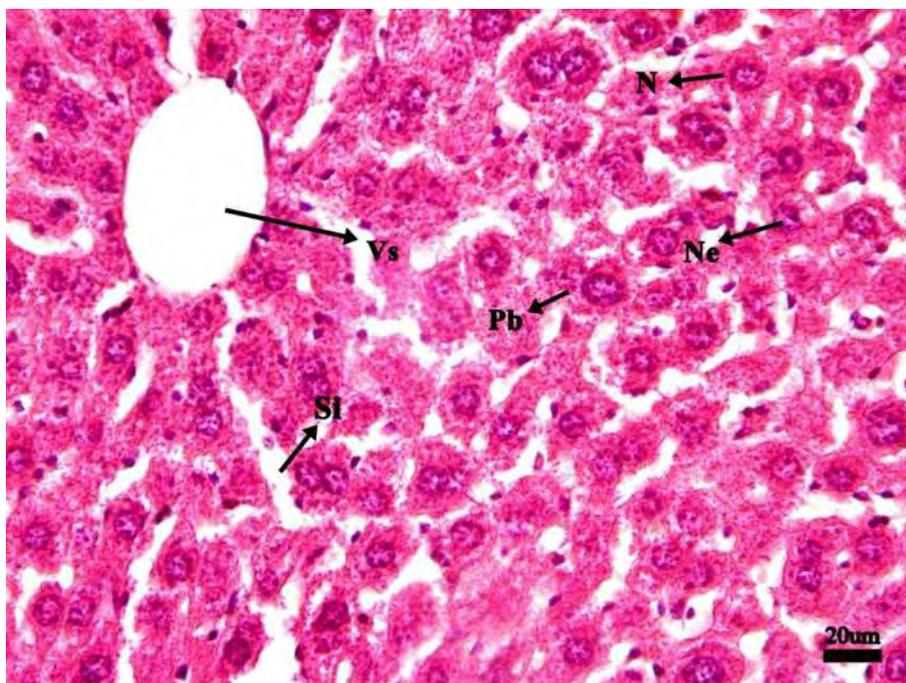
Gambar 4.2 Gambaran histologi hati pada kelompok kontrol normal (KN) perbesaran 400x. H : Hidropik, Ne : Nekrosis, Pb : Pembengkakan sel, N : Normal, Vs : Vena sentralis.



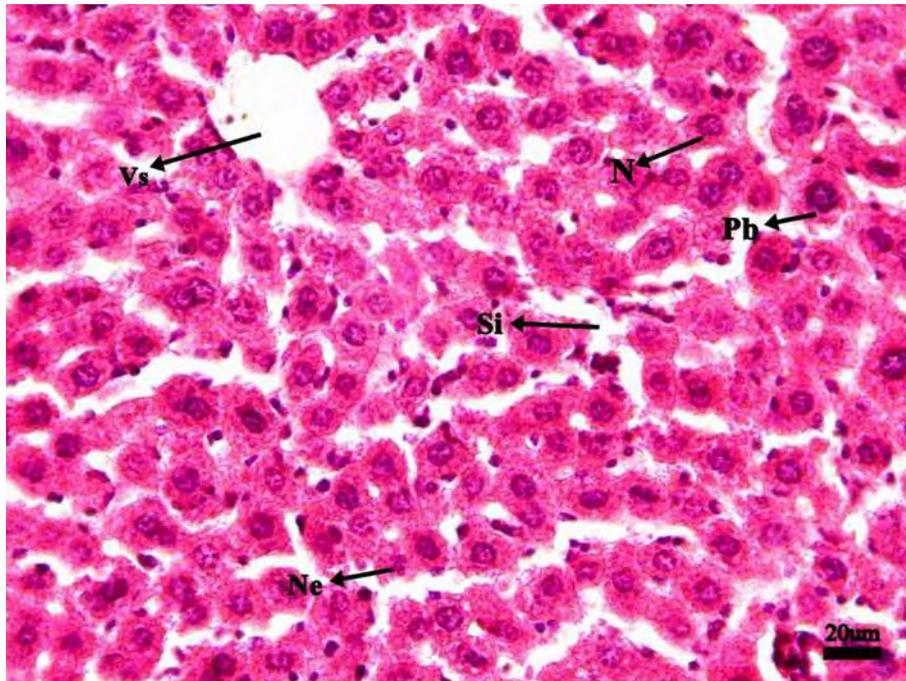
Gambar 4.3 Gambaran histologi hati pada kelompok kontrol diabetik (KD) perbesaran 400x. H : Hidropik, Ne : Nekrosis, Pb : Pembengkakan sel, N : Normal, Vs : Vena sentralis.



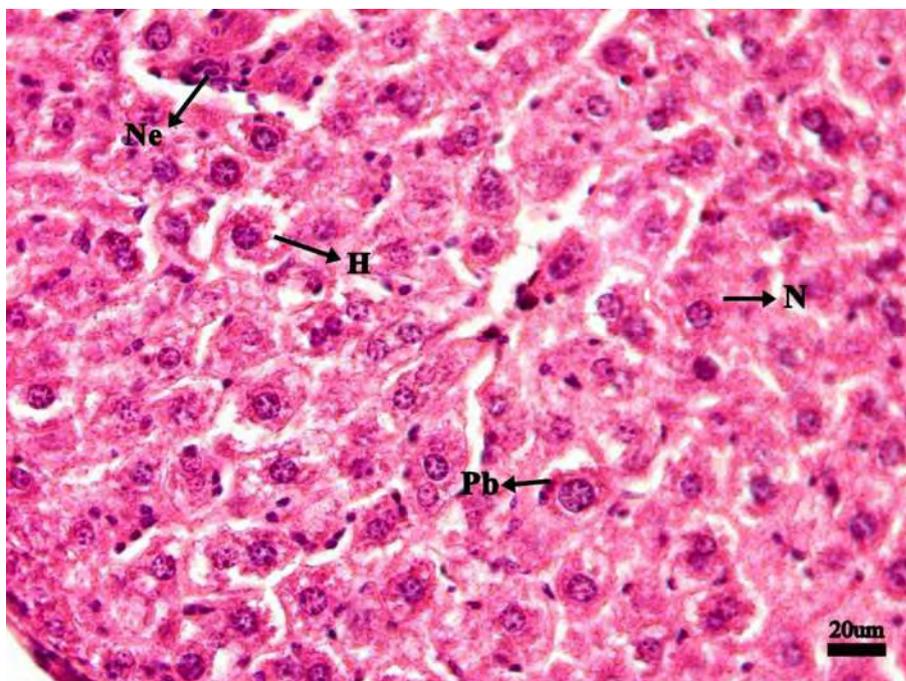
Gambar 4.4 Gambaran histologi hati pada kelompok kontrol metformin (KM) perbesaran 400x. H : Hidropik, Ne : Nekrosis, Pb : Pembengkakan sel, N : Normal, Vs : Vena sentralis.



Gambar 4.5 Gambaran histologi hati pada kelompok kontrol perlakuan 200 mg/kg BB (KP1) perbesaran 400x. Ne : Nekrosis, Pb : Pembengkakan sel, N : Normal, Si : Sinusoid, Vs : Vena sentralis.



Gambar 4.6 Gambaran histologi hati pada kelompok kontrol perlakuan 100 mg/BB (KP2) perbesaran 400x. Ne: Nekrosis, Pb: Pembengkakan sel, N: Normal, Si: Sinusoid, Vs: Vena sentralis.



Gambar 4.7 Gambaran histologi hati pada kelompok kontrol perlakuan 50 mg/kg BB (KP3) perbesaran 400x. H: Hidropik, Ne: Nekrosis, Pb: Pembengkakan sel, N: Normal.

Hasil analisis data dengan menggunakan uji *One-Sample* Kolmogorov Smirnov menunjukkan bahwa masing-masing data hepatosit normal, hidropik, pembengkakan sel, dan nekrosis sel hepatosit berdistribusi normal dengan nilai masing-masing $p=0,7$, $p=0,83$ dan $p=0,2$ ($p>0,05$). Kemudian dilanjutkan menggunakan uji *Homogeneity of Variance* yang menunjukkan data bersifat homogen dengan nilai masing-masing $p=0,246$, $p=0,229$, $p=0,460$ dan $p=0,521$ ($p>0,05$). Data selanjutnya dianalisis menggunakan *One-way* Anova menunjukkan nilai masing-masing $p=0,003$, $p=0,031$, dan $p=0,000$ ($p<0,05$) yang berarti terdapat perbedaan antar perlakuan. Hipotesis yang menyatakan pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) tidak berpengaruh pada perbaikan kerusakan hepatosit *Mus musculus* diabetik (H_0) ditolak. Untuk mengetahui signifikansi antar kelompok perlakuan, maka dilakukan uji lanjutan yaitu menggunakan uji Duncan.

Hasil analisis menggunakan uji *Duncan* pada histologi hati *Mus musculus* yang berupa hepatosit normal pada kelompok kontrol normal (KN) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kelompok kontrol metformin (KM) dan kontrol perlakuan 1 (KP1), namun berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetik (KD), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan perlakuan 3 (KP3). Kelompok kontrol diabetik (KD) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3) namun menunjukkan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol metformin (KM) dan kontrol perlakuan 1 (KP1). Kelompok kontrol metformin (KM) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 1 (KP1) dan kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kelompok kontrol perlakuan 1 (KP1) menunjukkan berbeda tidak signifikan

dengan kontrol perlakuan 1 (KP1) dan kontrol perlakuan 2 (KP2). Kelompok kontrol perlakuan 2 (KP2) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3).

Hasil analisis menggunakan uji *Duncan* pada histologi hati *Mus musculus* yang berupa hidropik hepatosit pada kelompok kontrol normal (KN) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kelompok kontrol metformin (KM), kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3), namun berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetik (KD). Kelompok kontrol diabetik (KD) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3), namun berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 1 (KP1). Kelompok kontrol metformin (KM) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kontrol perlakuan 1 (KP1) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kontrol perlakuan 2 (KP2) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3).

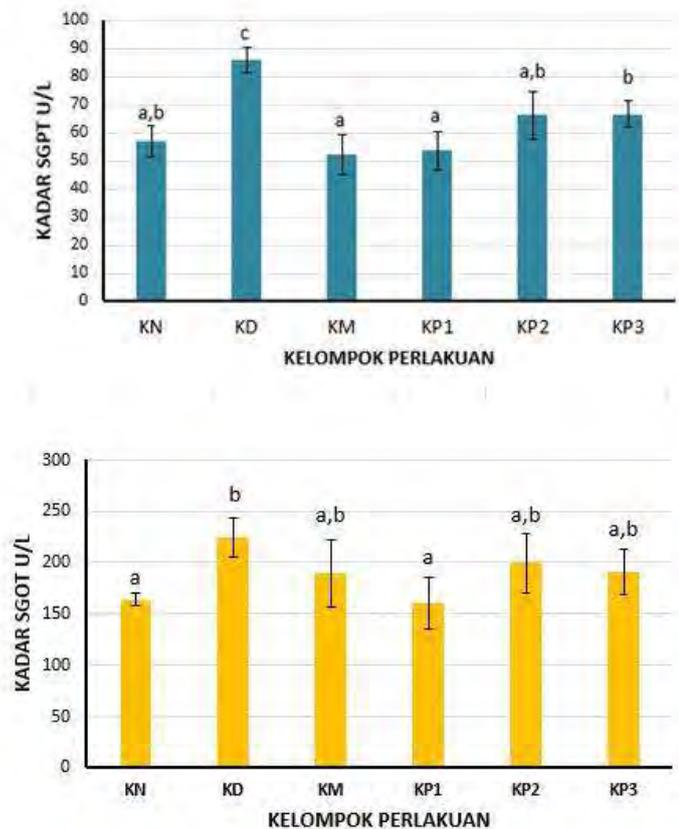
Hasil analisis menggunakan uji *Duncan* pada histologi hati *Mus musculus* yang berupa pembengkakan hepatosit pada kelompok kontrol normal (KN) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kelompok kontrol metformin (KM), namun berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetik (KD), kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kelompok kontrol diabetik (KD) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3

(KP3), namun berbeda signifikan dengan kelompok kontrol metformin (KM). Kelompok kontrol metformin (KM) menunjukkan berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kontrol perlakuan 1 (KP1) menunjukkan berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kontrol perlakuan 2 (KP2) menunjukkan berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3).

Hasil analisis menggunakan uji *Duncan* pada histologi hati *Mus musculus* yang berupa nekrosis hepatosit pada kelompok kontrol normal (KN) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kelompok kontrol metformin (KM), namun berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetik (KD), kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kelompok kontrol diabetik (KD) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kelompok kontrol metformin (KM) dan kontrol perlakuan 1 (KP1), namun berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kelompok kontrol metformin (KM) menunjukkan berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kontrol perlakuan 1 (KP1) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3), namun berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 2 (KP2). Kontrol perlakuan 2 (KP2) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3).

4.1.2 Pengaruh pemberian ekstrak kasar daun ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT organ hati *Mus musculus*.

Data rerata kadar SGOT dan SGPT setelah pemberian perlakuan ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dapat dilihat pada Lampiran 1 dan Gambar 4.1



Gambar 4.8 Diagram rata-rata kadar enzim SGOT dan SGPT. Huruf yang berbeda menunjukkan beda signifikan berdasarkan uji *Duncan* dan *Mann-Whitney* ($\alpha=0,05$). Keterangan : KN: Kontrol normal, tidak diberi perlakuan, KD: Kontrol diabetik (pemberian STZ), KM : diberi perlakuan Metformin 1,95 mg/30gr BB, KP1: diberi perlakuan ekstrak kasar daun ketapang dosis 200 mg/kg BB, KP2: diberi perlakuan ekstrak kasar daun ketapang dosis 100 mg/kg BB, KP3: diberi perlakuan ekstrak kasar daun ketapang dosis 50 mg/kg BB.

Hasil analisis data kadar enzim SGOT setiap kelompok diuji normalitasnya menggunakan Uji *One-Sample* Kolmogrov Smirnov menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai $p=0,71$ ($p>0,05$). Uji homogenitas variansi (*Levene test*) menunjukkan data bersifat homogen dengan nilai $p=0.053$ ($p>0,05$). Pada hasil analisis data dengan menggunakan *One-Way* Anova menunjukkan $p=0,015$ ($p<0,05$) sehingga hipotesis yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) tidak berpengaruh pada kadar SGOT *Mus musculus* diabetik (H_01) ditolak. Untuk mengetahui signifikansi antar kelompok perlakuan maka dilakukan uji lanjutan yaitu menggunakan uji Duncan.

Hasil analisis menggunakan uji Duncan pada pengukuran kadar SGOT organ hati *Mus musculus* menunjukkan bahwa kelompok perlakuan kontrol normal (KN) berbeda tidak signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol metformin (KM), kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3), namun berbeda signifikan dengan perlakuan kontrol diabetik (KD). Kelompok kontrol diabetik (KD) berbeda tidak signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol metformin (KM), kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2), kontrol perlakuan 3 (KP3). Kelompok perlakuan kontrol metformin (KM) berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2), kontrol perlakuan 3 (KP3), Kontrol perlakuan 1 (KP1) berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 2 (KP2), kontrol perlakuan 3 (KP3). Kontrol perlakuan 2 (KP2) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3).

Hasil analisis data kadar enzim SGPT setiap kelompok diuji normalitasnya menggunakan Uji *One-Sample* Kolmogrov Smirnov menunjukkan bahwa data berdistribusi tidak normal dengan nilai $p=0,025$ ($p>0,05$), sehingga data dianalisis menggunakan uji *Kruskal–Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar perlakuan. Hasil uji dengan menggunakan *Kruskal–Wallis* menunjukkan nilai $p=0.04$ ($p<0.05$) sehingga hipotesis yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) tidak berpengaruh pada kadar SGPT *Mus musculus* diabetik (H_01) ditolak. Untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan maka dilakukan uji lanjutan yaitu menggunakan uji *Mann-Whitney*.

Hasil analisis menggunakan uji *Mann-Whitney* pada pengukuran kadar SGPT organ hati *Mus musculus* menunjukkan bahwa kelompok perlakuan kontrol normal (KN) berbeda tidak signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol metformin (KM), kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2) dan kontrol perlakuan 3 (KP3), namun berbeda signifikan dengan perlakuan kontrol diabetik (KD). Kelompok kontrol diabetik (KD) berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol metformin (KM), kontrol perlakuan 1 (KP1), kontrol perlakuan 2 (KP2), kontrol perlakuan 3 (KP3). Kelompok perlakuan kontrol metformin (KM) berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 1 (KP1) dan kontrol perlakuan 2 (KP2), namun berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3). Kontrol perlakuan 1 (KP1) berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 2 (KP2), namun berbeda signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3). kontrol perlakuan 2 (KP2) berbeda tidak signifikan dengan kontrol perlakuan 3 (KP3).

4.2 Pembahasan

Dalam penelitian ini digunakan mencit berumur 3-4 bulan dan pemilihan sampel dilakukan secara acak, sehingga dapat diasumsikan bahwa sampel mempunyai kondisi yang sama pada awal percobaan. Hasil uji anova satu arah menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun ketapang berpengaruh signifikan pada kadar SGOT. Pada uji *Mann-Whitney* juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun ketapang berpengaruh signifikan pada kadar SGPT.

Enzim SGOT merupakan enzim yang dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan mitokondria karena enzim tersebut terdapat pada mitokondria hepar sekitar 80%, sedangkan enzim SGPT dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan membran sel (Tang *et al.*, 2006). Menurut Mitruka (1981), kadar enzim SGOT normal adalah 73,6 – 208,4 U/L. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal, kontrol metformin, kontrol perlakuan dosis 200 mg/kg (KP1), 100 mg/kg (KP2), dan 50 mg/kg (KP3) masih berada dalam *range* normal, sedangkan kelompok kontrol diabetes memiliki kadar enzim SGOT tertinggi.

Menurut Lenaerts *et al.*, (2005) dalam Mandasari (2011) kadar normal enzim SGPT pada mencit adalah 40,8-50 U/L. Dari hasil penelitian dapat dilihat kadar SGPT tertinggi adalah kelompok kontrol diabetes (KD), dan kadar SGPT terendah adalah kelompok kontrol perlakuan metformin (KM). pada kontrol kelompok perlakuan dan kontrol diabetes, kadar SGPT masih melebihi batas normal, namun menurut Lenaerst *et al.*, (2005) dalam Mandasari (2011) enzim SGPT pada kadar

51-125 U/L merupakan kadar yang menyebabkan hepatotoksisitas dalam *grade* yang rendah.

Kerusakan hepar dapat dilihat pada tingkat pembengkakan sel dan kerusakan hidropik pada kelompok kontrol diabetes (KD) adalah yang paling tinggi. Adanya kerusakan tersebut sejalan dengan meningkatnya aktivitas enzim transaminase seperti yang digambarkan pada diagram (Gambar 4.2). Menurut Syahrizal (2008) Peningkatan aktivitas enzim transaminase akan terjadi jika enzim tersebut terlepas secara intraseluler ke dalam darah yang disebabkan adanya kerusakan jaringan.

Pada kelompok KM dapat dilihat pada Gambar 4.1 memiliki tingkat pembengkakan sel, kerusakan hidropik, dan nekrosis yang lebih rendah daripada kelompok KD. Hal ini dikarenakan fungsi kerja dari metformin yang berfungsi untuk menurunkan glukosa darah dan meningkatkan produksi insulin, sehingga resiko komplikasi diabetes dapat dikurangi. Seiring dengan menurunnya tingkat kerusakan hepar pada kelompok KM, maka terjadi penurunan juga pada kadar enzim SGOT maupun SGPT. Dari Gambar 4.2 dapat dilihat kadar enzim transaminase kelompok KM masih berada pada range normal.

Pada penelitian ini dilakukan injeksi STZ untuk memberikan efek hiperglikemia pada hewan coba. Kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan dan adanya molekul NO^\cdot yang merupakan radikal bebas pada STZ dapat menyebabkan kerusakan DNA dan perubahan fungsi sel. Peningkatan kadar enzim SGOT dan SGPT menunjukkan adanya kerusakan hepar sebagai efek jangka panjang dari

induksi STZ. Organel penting yang menjadi target adalah mitokondria, sehingga mengakibatkan disfungsi mitokondria.

Seperti yang dijelaskan oleh Nugroho (2006) aksi STZ di dalam sel akan menghasilkan perubahan DNA sel β pankreas. Selain itu, STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif di dalam mitokondria, serta meningkatkan aktivitas enzim *xanthine oxidase*. Adanya enzim ini akan menstimulasi pembentukan (*Reactive Oxygen Species*) ROS seperti superoksida dan hidrogen peroksida. Senyawa ROS ini merupakan radikal bebas, molekul tidak stabil yang membutuhkan pasangan elektron. Molekul ini sangat reaktif dan mudah bereaksi dengan molekul lain di sekitarnya.

Selain dapat merusak pankreas, STZ juga dapat mengakibatkan kerusakan pada jaringan lain seperti hepar, bahkan bisa merusak tubulus pada ginjal. Pada hepar, radikal bebas ini semakin meningkatkan kerusakan hepar dengan meningkatkan produksi sitokin, seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α (Fuad, B.F 2012 dalam Kurniawati *et al.*, 2015).

Peningkatan enzim SGPT biasanya lebih tinggi daripada SGOT pada kerusakan hati yang akut, mengingat enzim SGPT hanya terdapat pada sitoplasma sel hati. Sebaliknya, enzim SGOT yang terdapat baik di dalam sitoplasma maupun mitokondria akan meningkat lebih tinggi pada kerusakan hati yang lebih parah dari kerusakan sitoplasma sel (Syahrizal, 2008).

Pada kelompok perlakuan 1 (KP1) setelah pemberian ekstrak kasar daun ketapang dosis 200 mg/kg terjadi penurunan SGOT dan SGPT secara signifikan

dibandingkan dengan kelompok kontrol diabetes (KD) yang diikuti dengan rendahnya tingkat kerusakan pada organ hepar, pada tingkat pembengkakan sel, kerusakan hidropik, dan nekrosis. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun ketapang mampu untuk memperbaiki hepatosit dan juga mitokondria hepar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tang *et al.*, (2006) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun ketapang dapat memperbaiki kerusakan hepatosit yang diinduksi CCL₄ dan mampu menghambat peningkatan enzim transaminase.

Pada kelompok perlakuan, (KP2) dan (KP3) setelah pemberian ekstrak dengan dosis masing-masing 100 mg/kg dan 50 mg/kg, menunjukkan aktivitas enzim SGOT yang masih tinggi namun nilainya tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal. Tingginya kadar enzim ini sejalan dengan tingginya tingkat kerusakan hidropik dan nekrosis pada kelompok perlakuan 2 (KP2) dan kelompok perlakuan 3 (KP3) pada Gambar 4.1 yang bisa disebabkan kurangnya jangka waktu pemberian ekstrak, sehingga ekstrak daun ketapang belum bekerja secara optimal pada dosis yang lebih rendah.

Menurut Canbay (2004) dalam Tang (2006) akumulasi dari kematian sel ikut berperan dalam kerusakan dan penyakit hati. Faktanya apoptosis dan nekrosis merupakan tahap yang krusial pada perkembangan berbagai macam kerusakan hati seperti fibrosis, *alcoholic liver disease*, dan hepatitis. Menurut Tang *et al.*, (2006) Diketahui juga bahwa mitokondria memiliki peran penting dalam mengontrol kematian sel, selain itu fungsi lain mitokondria tidak hanya menyediakan ATP melalui fosforilasi oksidatif tetapi juga memodulasi homeostasis intraseluler Ca²⁺, kontrol pH, serta menginduksi apoptosis dan eksositosis sel yang mati. Dengan

perannya yang sangat penting, adanya disfungsi mitokondria mengakibatkan berbagai penyakit pada manusia atau hewan dalam jumlah yang besar.

Perubahan seperti gangguan pada potensial membran mitokondria hepar dapat menurunkan aktivitas enzim Ca^{2+} -ATPase yang mengakibatkan meningkatnya Ca^{2+} menuju sitoplasma. Peningkatan Ca^{2+} di sitoplasma dapat mengakibatkan penurunan produksi ATP, kerusakan membran, kerusakan DNA yang berujung pada kerusakan sel (Tang *et al.*, 2006). Adanya peningkatan stress oksidatif pada hepar, dapat diatasi dengan pemberian antioksidan sebagai agen terapi yang baik untuk proses penyembuhan. Antioksidan tersebut dapat memperlambat proses peroksidasi lipid dan meningkatkan produksi jumlah *glutathione* (GSH) pada hepar dan mampu mengikat ROS. Dimana fungsi ini terganggu ketika kondisi hepar sedang mengalami kerusakan karena bahan toksik (Chicoz-Lach *et al.*, 2014).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Chyau *et al.*, (2006) dalam larutan ekstrak daun ketapang yang diperoleh dengan metode DEBTA memiliki sekitar 87,1 – 93,2 % kandungan antioksidan yang mampu untuk menghambat peroksidasi. Selain itu, di dalam ekstrak daun ketapang memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas yang cukup kuat berkisar antara 69,9 – 81,0 %. Tang *et al.*, (2006) juga menyatakan kandungan antioksidan pada ekstrak daun ketapang dapat mengembalikan fungsi enzim Ca^{2+} -ATPase untuk menjaga homeostatis Ca^{2+} didalam sitoplasma.

Menurut Kinoshita *et al.*, (2007) Adanya kandungan *chebulagic acid*, *corilagin* pada daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan kuat untuk mengikat radikal bebas. Selain kandungan tersebut, berdasarkan penelitian Gao *et al.*, (2004) kandungan kimia lain seperti tannin dan triterpenoid pada daun ketapang juga berkontribusi sebagai hepatoprotektif dan anti peradangan. Tingginya kandungan antioksidan yang dimiliki oleh daun ketapang memungkinkan daun ketapang dapat digunakan sebagai perlindungan dari kerusakan oksidatif. Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak kasar daun ketapang dengan dosis 200 mg/kg BB dapat memberikan efek yang lebih signifikan dalam memperbaiki kerusakan sel hepatosit dan mampu menurunkan aktivitas enzim SGOT dan SGPT.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dapat memperbaiki kerusakan hepar mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinduksi STZ dengan dosis optimal untuk kerusakan pembengkakan sel kerusakan hidropik, dan nekrosis adalah 200 mg/kg BB.
2. Pemberian ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT hepar mencit (*Mus musculus*) diabetik yang diinduksi STZ dengan dosis optimal pada pemberian ekstrak dosis 200 mg/kg BB.

5.2 Saran

Sebaiknya memperbanyak replikasi untuk menghindari besarnya standar deviasi antar kelompok perlakuan. Dapat juga dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak daun ketapang terhadap aktivitas antioksidan endogen hepar misalnya pada GSH (*glutathione*).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S.M., Swamy, V., Dhanapal, P.G.R. dan Chandrashekara, V.M., 2005. Antidiabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn Leaf Extract in Alloxan-Induce Diabetic Rats. *Iranian journal of Pharmacology and Therapeutics*, **4** (1):36.
- Akbarzadeh, D., Norouzian, M.R., Mehrabi, S.H., Jamshidi, Farhangi A., Allah A., Verdi, S.M.A, Mofidian dan Lame B. R. 2007. Induction of Diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **22**(2):60-64.
- Akbar, Nurul. 2004. *Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1*. Jakarta: Gaya Baru.
- Akharaiyil F.C., Ilori R.M., dan Adesida J.A. 2011. Antibacterial effect of *Terminalia catappa* on some Selected Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research* **2**(2):64-67.
- Amalina, Nurika. 2009. Uji Toksisitas Akut Estrak Valerian (*Valeriana officinalis*) Terhadap Hepar Mencit Balb/C. (Skripsi). Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- American Diabetes Association. 2014. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care*, **31**(1):581-589.
- Ardiansah, N., Kharis M. 2012. Model Matematika Untuk Penyakit Diabetes Tanpa Faktor Genetik. *Jurnal MIPA*, **35**(1):99-107.
- Astuti, Y. Lisna. 2011. Potensi Antioksidan Sebagai Pencegah Penyakit Degeneratif. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Babayi, H., Kolo, I., Okogun, J.I. dan Ijah, U.J.J., 2004. The Antimicrobial Activities of Methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* Against Some Pathogenic Microorganism. *Biochemistry* **16**(2):110.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 2008. *Riset Kesehatan Dasar : Laporan Nasional 2007*. Jakarta.
- Campbell, A.N, Reece, B.J, Urry A.L, Cain, L.M, Wasserman A.S, Minorsky V.P, Jackson B.R. 2004. *Biologi Jilid 3*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Chandrasoma, Parakrama. 2005. *Ringkasan Patologi Anatomi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- Chicoz-Lach, Halina., Michalak, Agata. 2014. Oxidative Stress as a Crucial Factor in Liver Disease. *World Journal of Gastroenterology*. **20** (25) : 8082-8091.
- Chyau, Charng-Cherng., Ko, Pei-Tzu., Mau, Jeng-Leun. 2006. Antioxidant Properties of Aqueous Extracts from *Terminalia catappa* Leaves. *Lebensmittel-Wissenschaftund-Technologie*. **39** (2000) : 1099-1108.
- Dalimartha, Setiawan. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5*. Jakarta : Pustaka Bunda.
- Dufrane D, van Steenberghe M, Guiot Y, Goebbels RM, Saliez A, dan Gianello P. 2006. Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs, primates): role of GLUT2 transporter and β -cell plasticity. *Transplantation*, **8**:36–45.
- Ernawati, Dwi Wiwik. 2006. Pengaruh Paparan Udara Halotan Dengan Dosis Subanestesi Terhadap Gangguan Hati Mencit. *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi*, **11**(2):1-8.
- Esty Yunita Lembang, Maming, M. Zakir. 2011. Sintesis Nanopartikel Perak Dengan Metode Reduksi Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*). Universitas Hasanuddin.
- Enrico Merentek. 2006. Resistensi Insulin Pada Diabetes Mellitus Tipe 2. *Cermin Dunia Kedokteran*, (150):38-41.
- Eroschenko V.P. 2010. *Atlas Histologi DiFiore dengan Korelasi Fungsional Edisi 11*. Jakarta : EGC.
- Fajariyah, S.,Utami T.E, Arisandi, Y. 2010. Efek Pemberian Estrogen Sintetis (*Diethylstilbestrol*) terhadap Struktur Hepar dan Kadar SGOT dan SGPT pada Mencit (*Mus musculus*) Betina Strain Balb’C. *Jurnal Ilmu Dasar*, **11**(1):76 – 82.
- Fan, M.Y., Xu, L.Z., Gao., Wang, Y., Tang, X.H., Zhao, X.N., dan Zhang, Z.X. 2004. Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. *Fitoterpia*, **75**:253-260.
- Gao, J. Tang, X., Dou, H., Fan Y., Zhao, X. dan Xu Q. 2004. Hepatoprotective Activity of *Terminalia catappa* L. Leaves and its two triterpenoids. *Journal of Pharmacology* **56** (11):1449-1455.
- Gill, Geoffrey, John Pickup, dan Gareth Williams. 2001. *Difficult Diabetes*. London : Blackwell science Ltd.

- Goldstein, Barry J. dan Dirk-Mueller Wieland. 2008. *Type-2 Diabetes: Principles and Practice*. New York : Informa Healthcare.
- Handayani. 2012. Modifikasi Gaya Hidup dan Intervensi Farmakologi Dini Untuk Pencegahan Penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2. *Media Gizi Masyarakat Indonesia*, **1** (2): 65-70.
- Handajani, Fitri. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus* lam) Pada Kadar SGPT Dan Γ -GT Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Tinggi, Tunggul Penelitian Eksperimental Laboratoris. <http://www.adln.lib.unair.ac.id/> Diakses tanggal 30 September 2015.
- Hardiningtyas, Dyah Safrina., Purwaningsih Sri., Handharyani, Ekowati. 2014. Aktivitas Antioksidan dan efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jurnal Pengelolaan Hasil Perikanan Indonesia*. **17** (1) : 80-91.
- Hidayat, Arif. 2012. Pengaruh Vitamin E Terhadap Kadar SGPT dan SGOT Serum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar Yang Dipapar Timbal Per Oral. (Skripsi), FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Hushada, Yast. 2004. *Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1*. Jakarta: Gaya Baru.
- Jawi, I.M., Suprpta, Dewa Ngurah, Sutirtayasa, I.W.P. 2007. Efek Antioksidan Ekstrak Umbi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L) terhadap Hati setelah Aktivitas Fisik Maksimal Dengan Melihat Kadar AST dan ALT Darah pada Mencit. *Dexa Media*, **20**(3):1-9.
- Jaziroh, Siti., 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak n-Heksana Daun Ketapang (*Terminalia catappa*). (Skripsi). FMIPA. Universitas Diponegoro.
- Kinoshita, S., Inoue, Y., Nakama, S., Ichiba, T., dan Aniya, Y. 2007. Antioxidant and Hepatoprotective actions of medicinal herb, *Terminalia catappa* L. from Okinawa Island and its tannin corilagin. *Phytomedicine*, **14**:755-762.
- Kumalaningsih, Sri. 2007. *Antioksidan Alami*. Surabaya : Trubus Agrisarana.
- Kurniawati, Istiqomah., Nurmasitoh, Titis.,Yahya, Nur Taufik. 2015. Effect of giving ethanol multistep doses to level os SGPT and SGOT in wistar rats (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, **7**(1) : 30-35.
- Lin, Y., Kuo, Y., Shiao, M., Chen, C. dan Ou, J., 2000. Flavonoid *Glycoides* from *Terminalia catappa* L. *Journal of the Chinese Chemical Society* **47**(1):253-256.

- Manaf, Asman. 2011. Insulin : Mekanisme Sekresi Dan Aspek metabolisme. <http://diabetismelitus.org>. Diakses tanggal 15 November 2015 pukul 13.15 WIB.
- Mandasari, Andita Ayu. 2011. Uji Toksisitas Akut Polisakarida Krestin Dari Jamur *Coriolus versicolor* Pada Mencit Dengan Parameter Kerusakan Hepatosit, Kadar SGPT dan SGOT. (Skripsi). Fakultas Sains dan teknologi. Universitas Airlangga.
- Mandasari, Indri., 2006. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Ekstrak Kloroform Daun ketapang (*Terminalia catappa*). (Skripsi). FMIPA. Universitas Diponegoro.
- Masharani U, Karam JH. 2001. *Pancreatic Hormones & Diabetes Mellitus. In Basic & Clinical Endocrinology*. 6th ed. Greenspan FS, Gardner DG (eds), New York: Mc. Graw Hill.
- Mathough, A Fatmah., Budin, Siti B., Hamid, Zariyantey A., Alwahaibi, Nasar., Mohamed, Jamaludin. 2012. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Complication. *Sultan Qaboos University Medical Journal*. 12 (1) : 5-18.
- Mitruka, BM., Rawnsley, H.M. 1981. *Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals*. New York: Masson Publishing USA.
- Murray, Robert K. 2003. *Biokomia Harper*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Nugroho, Agung Endro. 2006. Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas* issn: 1412-033x 7(4):378-382.
- Nurlaili, Elvi. 2010. Pengaruh Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) Terhadap Kadar Transaminase (GOT dan GPT) dan Gambaran Histopatologi pada Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang terpapar Streptozotocin. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Malang.
- Pandya, B.N., Tigari, P., Dupadahali, K., Kamurthy, H., dan Nadendla. 2013. Antitumor and antioxidant Status of *Terminalia catappa* against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. *Indian Journal of Pharmacology*, 45(5):464-469.
- Panjaitan, Ruqiah Ganda Putri., Ekowati Handharyani, Chairul, Masriani, Zulfa Zakiah, Wasmen Manalu. 2007. Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida

- Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus. *Majalah Kesehatan Masyarakat*, **11**(1):11-16.
- Powers A. 2008. Diabetes mellitus. In: Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th edition. *New York: McGraw-Hill*, 2:2279–2290.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Situasi dan Analisis Diabetes. 2014. <http://www.depkes.go.id/> Diakses tanggal 30 September 2015.
- Rahayu, Dwi Sri., Dra. Dewi Kusriani M.Si, Dra. Enny Fachriyah M.Si. 2009. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). Universitas Diponegoro.
- Ramaiah, Savitri. 2003. *Diabetes*. Jakarta: PT Buana Ilmu Populer.
- Regina, G. 2012. *Definisi dan Tipe Diabetes*. <http://diabetesmelitus.org>. Diakses tanggal 15 September 2015 pukul 11:17 WIB.
- Restasari, Afni, Kusriani Dewi, Fachriyah Enny. 2010. Isolasi dan Identifikasi Fraksi Teraktif Dari Ekstrak Kloroform Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.). Universitas Diponegoro.
- Rusdi, Udju D W. Widowati dan E.T. Marlina. 2007. Efek Ekstrak Kayu Secang, Vitamin E Dan Vitamin C Terhadap Status Antioksidan Total (SAT) Pada Mencit Yang Terpapar Aflatoksin. *Media Kedokteran Hewan*, **21**(2):66-68.
- Sadikin, Muhammad. 2002. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika.
- Setiawan, Bambang dan Suhartono, Eko. 2005. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*, **55**(2):86-91.
- Suharmiati. 2006. Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat. *Cermin Dunia Kedokteran*, (140):8-12.
- Syahrizal, Dedy. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologi Hati Mencit yang di Papar Plumbum. (*Tesis*). Sumatra Utara: Universitas Sumatra Utara.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Mini review Physiology Research*, **50**:536-546.
- Tang Xinhui., Gao Jing., Wang Yanping., Fan, Yi-Mei., Xu-Li-Zhi., Zhao Xiaoning., Xu Qiang., Qian Ming Zhong. 2006. Effective protection of

- Terminalia catappa L. leaves from damage induced by carbontetrachloride in liver mitochondria. *Journal of Nutrition Biochemistry*, **17**: (177-182).
- Thomson, L.A.J. and Evans, 2006. *Terminalia catappa* (Tropical Almond) Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. *Permanent Agriculture Resource (Par)*.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Tolman, Keith G., Vivian Fonseca, Anthony Dalpiaz, dan Meng, H. Tan. 2006. Spectrum Of Liver Disease in Type 2 Diabetes And Management Of Patient With Diabetes And Liver Disease. *Diabetes Care*, **30**(3):734-743.
- Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, Osawa T. 2002. Dietary Gluthatione Protects Rats From Diabetic Nephropathy and Neuropathy. *Journal of Nutrition*, **132**:897-900.
- Wibowo, Fitri Ari. 2009. Pengaruh Pemberian Perasan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) diet tinggi lemak. <http://www.library@lib.unair.ac.id>. Diakses tanggal 7 November 2015.
- Widowati, Wahyu. 2008. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. **7**(2):1-10.
- Wiria, Darmansjah I. 2007. Dasar toksikologi : *Farmakologi dan Terapi*. 5th ed. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

LAMPIRAN 7

KERUSAKAN HEPAR

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Pembengkakan	Hidropik	Nekrosis	Normal
N		24	24	24	24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.0954	10.9996	8.3208	74.5838
	Std. Deviation	4.16663	5.58832	4.22131	8.64720
Most Extreme Differences	Absolute	.117	.167	.115	.170
	Positive	.117	.167	.115	.098
	Negative	-.101	-.164	-.070	-.170
Test Statistic		.117	.167	.115	.170
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}	.083 ^c	.200 ^{c,d}	.070 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

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

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hidropik	1.535	5	18	.229
Pembengkakan	.973	5	18	.460
Nekrosis	.869	5	18	.521
Normal	1.476	5	18	.246

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hidropik	Between Groups	337.895	5	67.579	3.198	.031
	Within Groups	380.378	18	21.132		
	Total	718.273	23			
Pembengkakan	Between Groups	357.531	5	71.506	30.817	.000
	Within Groups	41.766	18	2.320		
	Total	399.298	23			
Nekrosis	Between Groups	340.246	5	68.049	17.599	.000
	Within Groups	69.601	18	3.867		
	Total	409.847	23			
Normal	Between Groups	1043.131	5	208.626	5.550	.003
	Within Groups	676.674	18	37.593		
	Total	1719.804	23			

Hidropik

Duncan^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KN	4	6.1525	
KP1	4	7.6075	
KM	4	8.5525	
KP2	4	13.6100	13.6100
KP3	4	13.6125	13.6125
KD	4		16.4625
Sig.		.052	.418

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Pembengkakan

Duncan^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KP2	4	1.9625		
KP3	4	2.3925		
KP1	4	4.0350		
KM	4		7.2875	
KN	4		7.7050	
KD	4			13.1900
Sig.		.084	.703	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Nekrosis

Duncan^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
KN	4	3.7025				
KM	4	4.1000	4.1000			
KD	4		7.0200	7.0200		
KP1	4			9.2850	9.2850	
KP3	4				12.1350	12.1350
KP2	4					13.6825
Sig.		.778	.050	.121	.055	.280

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Normal

Duncan^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KD	4	63.3275		
KP2	4	70.7400	70.7400	
KP3	4	71.8600	71.8600	
KP1	4		79.0725	79.0725
KM	4		80.0625	80.0625
KN	4			82.4400
Sig.		.077	.062	.472

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

KADAR SGOT**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		SGOT
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	187.83
	Std. Deviation	30.433
Most Extreme Differences	Absolute	.170
	Positive	.170
	Negative	-.118
Test Statistic		.170
Asymp. Sig. (2-tailed)		.071 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.000	5	18	.127

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11027.333	5	2205.467	3.864	.015
Within Groups	10274.000	18	570.778		
Total	21301.333	23			

SGOTDuncan^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KP1	4	160.75	
KN	4	163.50	
KM	4	188.75	188.75
KP3	4	191.00	191.00
KP2	4	199.25	199.25
KD	4		223.75
Sig.		.053	.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

LAMPIRAN 5**KADAR SGPT****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		SGPT
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	63.50
	Std. Deviation	12.955
Most Extreme Differences	Absolute	.190
	Positive	.190
	Negative	-.084
Test Statistic		.190
Asymp. Sig. (2-tailed)		.025 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Kruskal-Wallis Test**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
SGPT	KN	4	8.50
	KD	4	22.50
	KM	4	5.88
	KP1	4	6.88
	KP2	4	15.13
	KP3	4	16.13
	Total		24

Test Statistics^{a,b}

		SGPT
Chi-Square		17.014
df		5
Asymp. Sig.		.004

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KN	4	2.50	10.00
	KD	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	SGPT
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KN	4	6.13	24.50
	KM	4	2.88	11.50
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	SGPT
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	11.500
Z	-1.888
Asymp. Sig. (2-tailed)	.059
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KN	4	6.13	24.50
	KP1	4	2.88	11.50
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	11.500
Z	-1.888
Asymp. Sig. (2-tailed)	.059
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KN	4	6.00	24.00
	KP2	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KN	4	4.38	17.50
	KP3	4	4.63	18.50
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-.145
Asymp. Sig. (2-tailed)	.885
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KD	4	6.50	26.00
	KM	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KD	4	6.50	26.00
	KP1	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KD	4	6.50	26.00
	KP2	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KD	4	6.50	26.00
	KP3	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KM	4	4.13	16.50
	KP1	4	4.88	19.50
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-.436
Asymp. Sig. (2-tailed)	.663
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KM	4	3.75	15.00
	KP2	4	5.25	21.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.877
Asymp. Sig. (2-tailed)	.381
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KM	4	2.63	10.50
	KP3	4	6.38	25.50
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.178
Asymp. Sig. (2-tailed)	.029
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KP1	4	4.00	16.00
	KP2	4	5.00	20.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KP1	4	2.63	10.50
	KP3	4	6.38	25.50
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.178
Asymp. Sig. (2-tailed)	.029
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SGPT	KP2	4	2.75	11.00
	KP3	4	6.25	25.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	SGPT
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.021
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

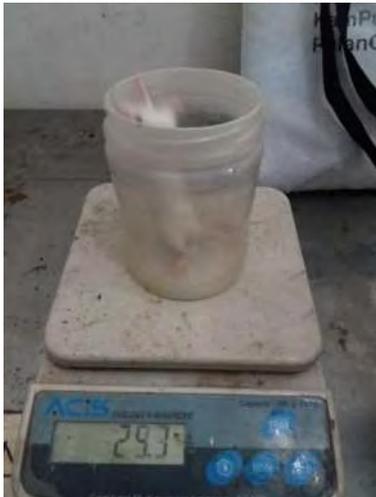
	KN	KD	KM	KP1	KP2	KP3
KD	Signifikan					
KM	Tidak Signifikan	signifikan				
KP1	Tidak Signifikan	signifikan	Tidak Signifikan			
KP2	Tidak Signifikan	signifikan	Tidak Signifikan	Tidak Signifikan		
KP3	Tidak Signifikan	signifikan	Tidak Signifikan	signifikan	Tidak Signifikan	

LAMPIRAN 8

DOKUMENTASI PENELITIAN



Tahap pemeliharaan hewan coba



Tahap pengukuran berat badan hewan coba



Tahap pemberian perlakuan



Zat untuk eutanasi



Proses pengambilan darah melalui *intracardiac*.



Sampling darah untuk uji SGOT/SGPT.



Tahap pembedahan dan pengambilan organ.



Tahap pembuatan preparat