

SKRIPSI

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus
sabdariffa* Linn.) Terhadap Gambaran Histopatologi
Hepar Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang
Dipapar *Pb* asetat**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus
sabdariffa* Linn.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HEPAR MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN YANG
DIPAPAR *Pb* asetat**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

BOGINSKAYA LETSOIN

NIM 061111036

Menyetujui

Komisi Pembimbing,

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Serta



(Prof. Dr. Pudji Srianto drh.,M.Kes.)
NIP. 195601051986011001

(Dr. Rochmah Kurnijasanti drh.,M.Si.)
NIP. 197007191996032002

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)
Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) Jantan
yang Dipapar *Pb* asetat**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 10 Oktober 2016



Boginskaya Letsoin
NIM. 061111036

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 03 Agustus 2016

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

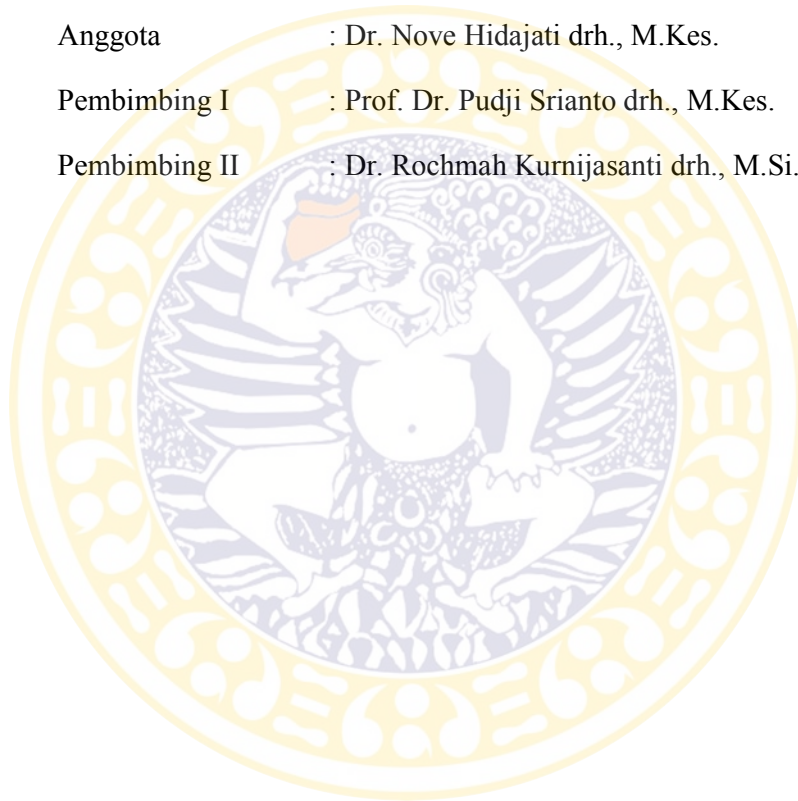
Ketua : Dr. Thomas Valentinus Widiyatno drh., M.Si.

Sekretaris : Dr. Tutik Juniastuti drh., M.Kes.

Anggota : Dr. Nove Hidajati drh., M.Kes.

Pembimbing I : Prof. Dr. Pudji Srianto drh., M.Kes.

Pembimbing II : Dr. Rochmah Kurnijasanti drh., M.Si.



Telah diuji pada Seminar Skripsi

Tanggal : 10 Oktober 2016

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Thomas Valentinus Widiyatno drh., M.Si

Anggota : Dr. Tutik Juniastuti drh., M.Kes.

Dr. Nove Hidajati drh., M.Kes.

Prof.Dr. Pudji Srianto drh., M.Kes.

Dr. Rochmah Kurnijasanti drh., M.Si.

Surabaya, 10 Oktober 2016

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Pudji Srianto drh., M.Kes.

NIP. 195601051986011001

**EFFECT OF ROSELLA FLOWER EXTRACT (*Hibiscus sabdariffa* L.) ON
LIVER HISTOPATHOLOGIC OF MALE MICE (*Mus musculus*)
EXPOSED *Plumbum acetate***

Boginskaya Letsoin¹, Pudji Srianto², Rochmah Kurnijasanti³,
¹ Student, ² Department of Reproduction Veterinary, ³ Department of Basic Medical
Veterinary,
Faculty of Veterinary Medicine Airlangga University

ABSTRACT

The research aims was to study the histological change of mice's (*Mus musculus*) liver that were given the extract of rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) and were exposed to *Plumbum acetate* per oral. It was used 25 male mice (*Mus musculus*) as the sample that were divided into five groups by simple random sampling. Group K negative of the control was given CMC – Na and aquadest, Group K positive were given 20 mg *Plumbum acetate*, Group P1, P2 and P3 were given 200 mg, 400 mg, 800 mg of rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract and 20 mg *Plumbum acetate*. The treatment was given during 21 days by giving *Plumbum acetate* once in a hour after giving the extract. On the 29th day, all of the mice (*Mus musculus*) were necropsied then the liver was taken and processed by *Hematoxylin eosin* staining method. The examination of histological change was conducted based on the necrosies, degeneration, activated *ku'ppfer* cell and sinusoidal dilatation. The result of statistical analysis using *Kruskal Wallis* and *Mann – Whitney Test*. It was concluded that the rosella extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) could influence on the liver damage which was exposed with *Plumbum acetate* per oral.

Keyword : rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.), mice (*Mus musculus*), *plumbum acetate* (*Pb asetat*), histopatology, liver.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Kuasa atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dengan judul **Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Dipapar *Pb asetat*.**

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

Prof. Dr. Pudji Srianto drh., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Pudji Srianto drh., M.Kes. sebagai pembimbing utama dan Dr. Rochmah Kurnijasanti drh., M.Si. sebagai pembimbing serta yang telah memberikan arahan, bimbingan, kesabaran, pikiran, waktu, saran, serta nasihat dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Dr. Thomas Valentinus Widiyatno drh., M.Si. sebagai ketua penguji sekaligus dosen pembimbing penelitian yang telah bersedia memberikan arahan, bimbingan, pengetahuan, waktu, serta nasihat dalam proses penelitian maupun penyusunan skripsi ini.

Dr. Tutik Juniastuti drh., M.Kes. sebagai sekretaris penguji dan Dr. Nove Hidajati drh., M.Kes. sebagai anggota penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan arahan, bimbingan, kritik dan saran yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.

Prof. Dr. Dewa Ketut Meles drh. selaku dosen wali yang telah memberikan motivasi, saran dan nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bimbingan dan motivasi selama mengikuti penelitian di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Kedua orang tua penulis yaitu Alm. Bapak Muhammadin Letsoin dan Ibu Wieke Indarwijati, adik-adik penulis Ivan Letsoin, Sevetlana Letsoin dan Kevin Letsoin serta seluruh keluarga besar penulis atas segala doa, kasih sayang, motivasi dan dukungan baik material maupun spiritual dalam penyusunan skripsi ini.

Sahabat - sahabat penulis Cita Kristianti, Gita Nirmala, Widya Bharanita, Anis Oktaviani, Shervida Rismawati, Ulvie Apritasari, Astrid Widiastuti, Puspa Ramadhani, Dyah Inggar P., Akbar Ilham M., Lilian S, Faisal Andrianto, Fahmi Fandi serta teman – teman angkatan 2011 lainnya atas kebersamaan, keceriaan, inspirasi dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu - persatu yang telah banyak membantu penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini.

Semoga hasil ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Surabaya, 10 Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN IDENTITAS	iii
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Landasan Teori	3
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
1.6 Hipotesis	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn.)	7
2.1.1 Klasifikasi Bunga Rosella	7
2.1.2 Ekologi dan Penyebaran Bunga Rosella	8
2.1.3 Morfologi Bunga Rosella	8
2.1.4 Kandungan Kimia Bunga Rosella	9
2.1.5 Manfaat dan Khasiat Bunga rosella	11
2.2 Timbal (Pb <i>asetat</i>)	12
2.2.1 Deskripsi Timbal	12
2.2.2 Keracunan Timbal	13

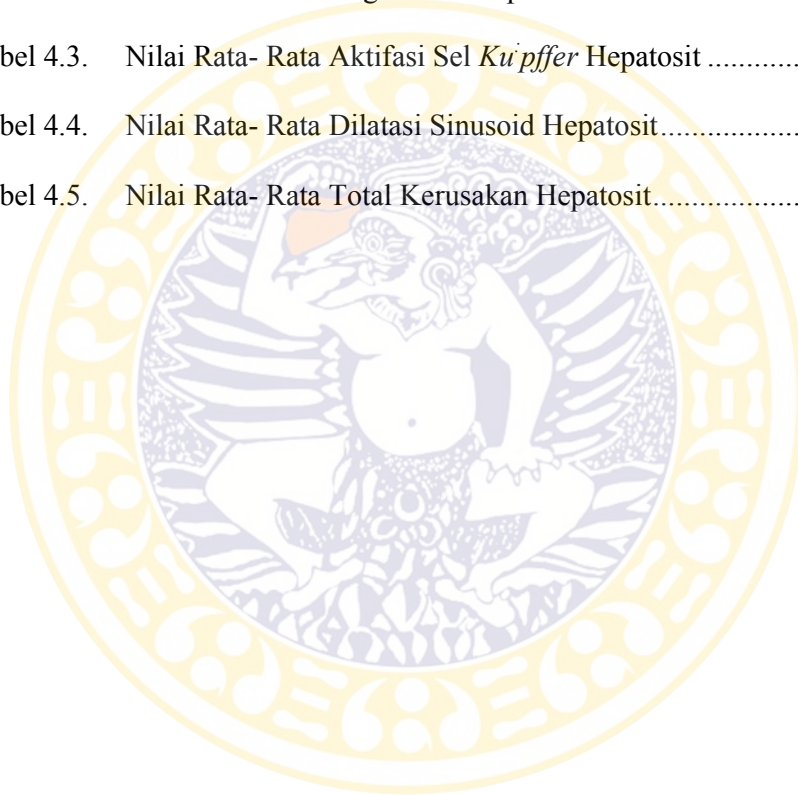
2.1.3	Efek Timbal Pada Hati.....	13
2.3	Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	14
2.4	Hepar.....	16
2.4.1	Anatomi Hepar.....	16
2.4.2	Anatomi Hepar Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	16
2.4.3	Fisiologi Hepar.....	16
2.4.4	Histologi Hepar.....	19
2.4.5	Histopatologi Hepar.....	20
2.5	Radikal Bebas.....	21
2.5.1	Definisi Radikal Bebas.....	21
2.5.2	Sumber Radikal Bebas.....	21
2.5.3	Sifat Radikal Bebas.....	22
2.6	Antioksidan.....	22
2.6.1	Definisi Antioksidan.....	22
2.6.2	Penggolongan Antioksidan.....	23
2.7	Stress Oksidatif.....	23
2.8	Peroksidasi Lipid.....	24
BAB III METODE PENELITIAN		
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	27
3.2	Rancangan Penelitian.....	27
3.3	Variabel Penelitian.....	27
3.3.1	Variabel Bebas.....	27
3.3.2	Variabel Tergantung.....	28
3.3.3	Variabel Kendali.....	28
3.4	Materi Penelitian.....	28
3.5.1	Hewan Percobaan.....	28
3.5.2	Sampel Penelitian.....	28
3.5.3	Bahan Penelitian.....	28
3.5.4	Alat Penelitian.....	29
3.5.5	Besar Unit Eksperimen.....	29
3.5	Prosedur Pelaksanaan Penelitian.....	29
3.5.1	Pembuatan Ekstrak Bunga Rosella.....	29
3.5.2	Pembuatan <i>Pb aetat</i>	30
3.5.3	Pengamatan Gambaran Mikroskopis Hepar.....	30
3.6	Metode Penelitian.....	31
3.7	Analisis Data.....	31
3.8	Diagram Alur Penelitian.....	32
BAB IV HASIL PENELITIAN		
4.1	Nekrosis Hepatosit.....	33
4.2	Degenerasi Hepatosit.....	35
4.3	Aktifasi Sel <i>Ku'pffer</i>	35
4.4	Dilatasi Sinusoid.....	36
4.5	Total Kerusakan.....	37

BAB V PEMBAHASAN.....	40
5.1 Nekrosis	40
5.2 Degenerasi.....	42
5.3 Aktifasi Sel Kupffer.....	42
5.4 Dilatasi Sinusoid.....	43
5.5 Total Kerusakan.....	44
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
6.1 Kesimpulan.....	46
6.2 Saran	46
RINGKASAN	47
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN.....	59



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Kimia Bunga Rosella per 100 g bahan	10
Tabel 2.2. Efek Keracunan Timbal (Pb)	13
Tabel 4.1. Nilai Rata- Rata Nekrosis Hepatosit.....	34
Tabel 4.2. Nilai Rata- Rata Degenerasi Hepatosit.....	35
Tabel 4.3. Nilai Rata- Rata Aktifasi Sel <i>Kupffer</i> Hepatosit	36
Tabel 4.4. Nilai Rata- Rata Dilatasi Sinusoid Hepatosit.....	37
Tabel 4.5. Nilai Rata- Rata Total Kerusakan Hepatosit.....	38

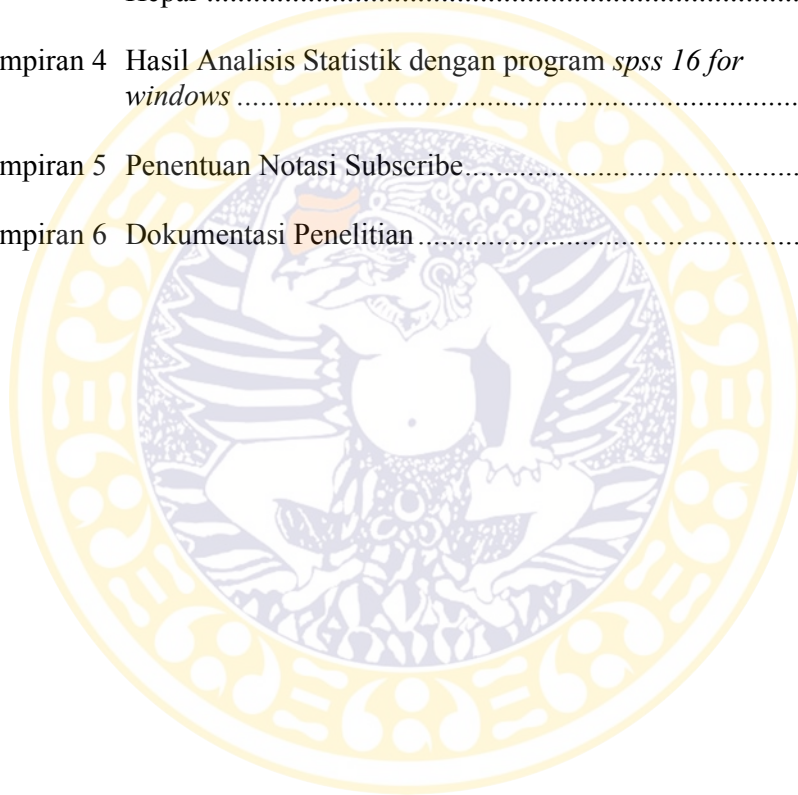


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Bunga Rosella	7
Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian	32
Gambar 4.1 Gambaran histopatologi hepar yang mengalami nekrosis pada kelompok perlakuan P3	34
Gambar 4.2 Gambaran histopatologi hepar yang mengalami degenerasi pada kelompok perlakuan P4	35
Gambar 4.3 Gambaran histopatologi hepar yang mengalami aktivasi Sel <i>Kupffer</i> pada kelompok perlakuan P2	36
Gambar 4.4 Gambaran histopatologi hepar yang mengalami dilatasi sinusoid pada kelompok perlakuan P1	37
Gambar 4.5 Perbandingan Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Tiap Kelompok Perlakuan	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Penentuan Dosis Konversi	59
Lampiran 2 Pembuatan dan Pewarnaan Sediaan Histopatologi Organ Hepar	60
Lampiran 3 Data Hasil Pemeriksaan Derajat Kerusakan Histopatologi Hepar	62
Lampiran 4 Hasil Analisis Statistik dengan program <i>spss 16 for windows</i>	63
Lampiran 5 Penentuan Notasi Subscribe	84
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian	85



DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ALT	=	<i>Alanin Aminotransferase</i>
AST	=	<i>Aspartate Aminotransferase</i>
BHA	=	<i>Butylated Hroxyanisole</i>
BNF	=	<i>Buffered Neutral Formalin</i>
Ca	=	Ion Calsium
CCl ₄	=	<i>Carbon tetraklorida</i>
Cm	=	Centimeter
Fe	=	Ferum
g	=	gram
g/kg	=	gram / kilogram
GOT	=	<i>Glutamat oksaloasetat transaminase</i>
GPT	=	<i>Glutamat piruvat transaminase</i>
GSH.Prx	=	<i>Glutation peroksidase</i>
HE	=	<i>Hematoxyllin Eosin</i>
H ₂ O	=	<i>Hidrogen oksida</i>
IL-10	=	Interleukin-10
IPAL	=	Instalasi Pengolahan Air dan Limbah
LPP	=	<i>Lipid Peroxidation Potential</i>
MDA	=	<i>Malondialdehyhde</i>
Mg/g	=	Miligram / gram
Mg/kg	=	Milligram/kilogram
mL	=	Mili Liter
Mm	=	Milimeter
Mmol/prolox	=	Milimol/ prolox
P	=	Phospor
Pb	=	<i>Plumbum</i>
SOD	=	<i>Superoksida dismutase</i>
TEL	=	<i>Tetraethyl lead</i>
TML	=	<i>Tetramethyl lead</i>
TNF- α	=	Tumor Necrosis Factor- α
μ g/dL	=	Mikro gram/ desi Liter
μ m	=	Mikro meter
$^{\circ}$ C	=	DerajatCelcius
%	=	Persen
SGPT	=	<i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i>
SGOT	=	<i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
CMC – Na	=	<i>Carboxymethyle Cellulose - Natrium</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran logam berat merupakan masalah yang serius di negara – Negara maju maupun Negara berkembang seperti Indonesia. Berbagai macam logam berat terdapat pada lingkungan merupakan zat yang sangat toksik pada manusia dan hewan. Wilayah Indonesia sebagian besar merupakan wilayah perairan yang sangat rentan terhadap dampak pencemaran salah satunya logam berat (Athena dkk, 1996; Pagoray, 2001; Kurniasih, 2002; Siregar, 2004; dan Riyatundkk., 2004). Saat ini pabrik – pabrik dibangun tidak diikuti dengan system Instalasi Pengolahan Air dan Limbah (IPAL) yang memadai, akibatnya limbah yang dibuang ke lingkungan semakin banyak. Salah satu logam berat yang terkandung dalam limbah pencemar lingkungan adalah timbal (Wardhayani, 2006). Timbal dapat masuk dalam tubuh mahluk hidup melalui saluran pencernaan (gastrointestinal), saluran pernafasan (inhalasi), dan penetrasi melalui kulit (topikal). Makanan dan minuman terpapar timbal yang dapat berasal dari kontaminasi pipa, solder, kran dan kontaminasi kaleng minuman dan makanan yang mengandung timbal (Dedy, 2008).

Keracunan timbale dalam konsentrasi tinggi dapat mengakibatkan kerusakan organ - organ tubuh, salah satunya organ hepar (Mursid, 2009). Mekanisme kerusakan hepar yang diakibatkan oleh timbale adalah timbale dalam tingkat tertentu dapat menginduksi pembentukan radikal bebas dan menurunkan kemampuan system antitoksin sehingga dapat terjadi stress oksidatif (Gureret *al.* (2000).

Penelitian Sipos, *et al.* (2003) mengatakan pemberian *Pb asetat* 400 mg/kg BB selama lima minggu pada ayam boiler menyebabkan infiltrasi limfosit pada hepar dan reaksi inflamasi berat pada daerah periportal yang menyebabkan sirosis. Menurut Gajawatet *al.* (2006) pemberian *Pb asetat* 20 mg/kgBB intraperitoneal pada mencit menunjukkan perubahan histopatologi pada hepar mencit yang menimbulkan gangguan keseimbangan oksidandan antioksidan yang menyebabkan peningkatan oksidatif stres, menginduksi *lipid proksidase* yang dapat merusak membrane sel sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi sel.

Hasil penelitian Darmono (2001) menunjukkan sapi yang mengalami keracunan timbale terjadi akumulasi timbal pada jaringan hepar, ginjal dan otot hewan tersebut. Pada hewan ruminansia gejala khas dari keracunan *Pb* antara lain: gastroenteritis, anemia dan encephelopati (Darmono, 2001). Keracunan *Pb* pada mencit mengakibatkan penurunan jumlah spermatozoa (Antonioet *al.*, 2004; Barratet *al.*, 1989; Sokolet *al.*, 1985). Pemberian dosis tunggal 200 mg/kg BB melalui injeksi intraperitoneal selama empat minggu pada hewan percobaan dapat meningkatkan LPP (*Lipid Peroxidation Potential*) di dalam jaringan testis yang ditentukan dengan mengukur kadar MDA (*malondialdehyde*) (Arharyaet *al.*, 2003). Siposet *al.* (2003) menyatakan bahwa keracunan timbale menyebabkan kerusakan hepar yang melibatkan radikal- radikal bebas.

Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas dari efek merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi oksidasi berlebih (Hariyatmi, 2004). Salah satu contoh antioksidan adalah vitamin C berperan dalam menghambat reaksi oksidasi yang berlebihan dalam tubuh dengan bertindak

sebagai antioksidan (Rohmatussolihat, 2009). Vitamin yang terkandung dalam tanaman bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) memiliki kandungan tiga kali lebih banyak dari anggur hitam, sembilan kali lebih banyak dari jeruk sitrus (Maryani dan Kristiana, 2008).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan masalah, yaitu : Apakah ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dapat memperbaiki derajat kerusakan hepar mencit (*Musmusculus*) yang dipapar *Pb aasetat* dengan melihat gambaran histopatologi hepar.

1.3 Landasan Teori

Efek dari timbal (Pb) mengkatalisis peroksidasi dari asam lemak tak jenuh (Yin and Lin, 1995), mereduksi nitrogen oksida (Krocovaet *al.*, 2000) dan meningkatkan radikal hidroksil (Ding *et al.*, 2000).

Radikal bebas dapat berasal dari dalam dan dari luar tubuh. Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, misalnya akibat proses respirasi sel, proses metabolisme, proses inflamasi, sedangkan yang berasal dari luar tubuh dapat disebabkan oleh karena polutan, seperti asap rokok, asap kendaraan bermotor, radiasi sinar matahari, makanan berlemak, kopi, alkohol, obat, minyak goreng jelantah, bahan racun pestisida, dan masih banyak lagi yang lainnya. Radikal bebas juga dapat dipicu oleh stress atau olah raga yang berlebihan (Pham-Huy *et al.*, 2008).

Radikal bebas dapat merusak makro molekul seperti protein, asam nukleat dan lipid. Radikal bebas menimbulkan reaksi rantai, misalnya peroksidasi lipid yang

berdampak merusak komponen membrane sel yang mengandung asam lemak tidak jenuh ganda menjadi senyawa toksis terhadap sel seperti *malondialdehid*, *9-hidroksinoneal*, *F2-isoprostan*, *etana* dan *pentana* (Murray *et al.*, 2000). *Malondialdehid* (MDA) merupakan salah satu pertanda terjadinya kerusakan oksidatif oleh radikal bebas pada membrane sel (Suryohudoyo, 2000).

Pencegahan terjadinya efek buruk dari radikal bebas diperlukan antioksidan. Penggunaan antioksidan mulai marak seiring dengan semakin meningkatnya pemahaman pada masyarakat tentang peranan antioksidan dalam menghambat penyakit degenerative seperti penyakit jantung, arteriosklerosis, penyakit kanker dan gejala penuaan (Goldman and Klantz, 2003; Kunchahyo dan Sunardi, 2007). Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi. Menurut Utami dkk (2009) cara kerja senyawa antioksidan adalah: 1.) Bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tidak reaktif yang relative stabil; 2.) Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas ; 3.) Menghambat terjadinya reaksi rantai dari pembentukan radikal bebas.

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) secara tradisional dapat digunakan sebagai bahan obat dan dapat dimanfaatkan sebagai produk makanan dan minuman (Ismail *et al.*, 2008) merupakan salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan.

Menurut DEPKES RI dalam Wiyarsi (2010) kelopak bunga rosella mengandung vitamin C, vitamin D, vitamin B1, B2, *niacin*, *riboflavin*, *betakaroten*, zat besi, *asam amino*, *polisakarida*, omega 3, kalsium. Tiap 100

gram bunga rosella mengandung vitamin C yang cukup tinggi, yaitu sekitar 260-280 mg (Maryani dan Kristiana, 2008). Banyak penelitian yang dilakukan untuk mengetahui kandungan dan manfaat rosella. Pada penelitian yang dilakukan Arellano *et al.* (2004), didapat kandungan vitamin A, vitamin C, *theaflavins*, *cathechins*. Kandungan *theaflavin* dan *cathechins* membantu menjaga kolesterol dalam darah dengan cara membatasi penyerapan kolesterol dan meningkatkan pembuangan kolesterol LDL dari hepar. Vitamin C berfungsi dalam menetralkan lemak dalam tubuh, sehingga bermanfaat untuk *body slimming*, *body firming*. Vitamin A dan vitamin C menjaga, mempertahankan dan meningkatkan kesehatan tubuh.

Pada penelitian lain tentang efek bunga rosella terhadap kerusakan sel hepar tikus, ditemukan senyawa polifenol (Liu *et al.*, 2002; Lin *et al.*, 2003), dan *anthocyanidins* (Lazzeet *al.*, 2003; Ojokohe *al.*, 2006). Amin dan Hamza (2005) yang meneliti efek hepatoprotektif rosella mendapatkan kandungan flavanoid. Flavonoid yang terdapat dalam bunga rosella bermanfaat untuk mencegah kanker, terutama karena radikal bebas, seperti kanker lambung dan leukemia, selain itu flavonoid juga mempunyai efek protektif terhadap penyakit kardiovaskular termasuk hipertensi (Kusmardiyana *et al.*, 2007).

1.4 Tujuan Penelitian

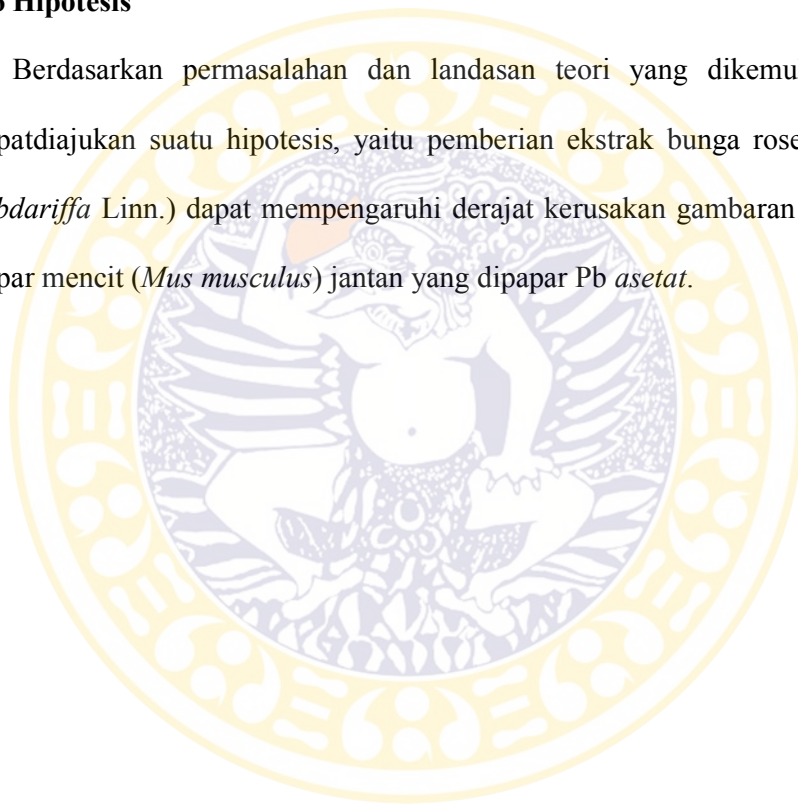
Tujuan penelitian ini dilakukan untuk membuktikan apakah pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dapat memperbaiki derajat kerusakan gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) jantan yang dipapar Pb *asetat*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah member informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) sebagai antioksidan dalam mengurangi efek radikal bebas akibat paparan Pb asetat.

1.6 Hipotesis

Berdasarkan permasalahan dan landasan teori yang dikemukakan, maka dapat diajukan suatu hipotesis, yaitu pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dapat mempengaruhi derajat kerusakan gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) jantan yang dipapar Pb asetat.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)

2.1.1 Klasifikasi bunga rosella

Taksonomi tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dalam Mardiah dan Alifa (2009) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida (Dikotil)
Sub Kelas	: <i>Dilleniidae</i>
Bangsa	: Malvales
Suku	: Malvacease
Marga	: <i>Hibiscus</i>
Jenis	: <i>Hibiscus sadbariffa</i>



Gambar 2.1 Tanaman Bunga Rosella

Sumber : Khasiat Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) (Wiyarsi,2010)

2.1.2 Ekologi dan penyebaran bunga rosella

Rosella merupakan tanaman asli Afrika. Tanaman ini telah menyebar luas ke daerah tropis dan subtropics (Maryani dan Kristiana, 2008; Mardiah dan Alifa., 2009). Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) di daerah Sunda dikenal dengan nama gamel walanda, di daerah Ternate dengan nama kasturi rortha, di daerah Jawa Tengah dengan nama mrambos hijau, di daerah Padang dengan nama asam jarot, di daerah Sumatera Selatan dengan nama kesew jawe (Maryani dan Kristiana, 2008; Mardiah dan Alifa., 2009).

2.1.3 Morfologi bunga rosella

Mardiah dan Alifa (2009) mengatakan bahwa tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) merupakan herba yang bergetah. Tinggi tanaman ini dapat mencapai ketinggian 0.5 – 3 meter. Batangnya berbentuk bulat, tegak, berkayu dan berwarna merah. Daunnya berupa daun tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan daunnya menjari, berujung tumpul, tepi bergerigi dan dengan pangkal berlekuk. Panjang daunnya 6 - 15 cm dan dengan lebar daun 5 - 8 cm. Tangkai daun bulat berwarna hijau dengan panjang 4 - 7 cm.

Daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) berseling 3 - 5 helai dengan panjang 7,5 - 12,5 cm berwarna hijau. Helaian daun yang terletak di bagian pangkal batang tidak berbagi, bentuk daun bulat telur, tungkai daun pendek. Daun-daun di bagian cabang dan ujung batang berbagi, menjadi 3 toreh, lebar toreh daun 2,5 cm, tepi daun beringgit, daun penumpu bentuk benang (Tanjong, 2011).

Bunga tunggal, kuncup bunga tumbuh dari bagian ketiak daun, tangkai bunga berukuran 5 - 20 mm; lonceng; mahkota bunga berlepasan, berjumlah 5 petal,

mahkota bunga berbentuk bulat telur terbalik, warna kuning, kuning kemerahan; benang sari terletak pada suatu kolom pendukung benang sari, panjang kolom pendukung benang sari sampai 20 mm, kepala sari berwarna merah, panjang tangkai sari 1 mm; tangkai putik berada di dalam kolom pendukung benang sari, jumlah kepala putik 5 buah, warna merah. Buah rosella berbentuk kapsul kadang bulat telur, ukuran buah 13 - 22 mm x 11 - 20 mm, tiap buah berisi 30 - 40 biji. Ukuran biji 3 - 5 mm x 2 - 4 mm, warna coklat kemerahan (Tanjong, 2011).

2.1.4 Kandungan kimia bunga rosella

Galina (2008) menyebutkan tiga zat aktif utama dalam Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) yaitu : *delphinidin (delphinidin chloride)*, *cyanidin (cyaniding cyanidol)* dan *esculetin (cichorigenin)*. Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki kandungan mineral , Fe dan vitamin C paling tinggi diantara tanaman obat lainnya, seperti bayam, daun singkong dan daun katuk (Kristiana dan Herti, 2008). Berdasarkan DEP.KES .RI.No.SPP.1065/35.15/05 kandungan gizi dari 100 g kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1. Komposisi Kimia Bunga Rosella per 100 g bahan

Komposisi Kimia	Jumlah
Kalori	44
H ₂ O	86.2%
Protein	1.6 g
Lemak	0,1 g
Karbohidrat	11.1 g
Serat	2.5 g
Abu	1.0 g
Ca	160 mg
P	60 mg
Fe	3.8 mg
Beta carotene	285 mg
Thiamine	0.04 mg
Riboflavin	0.6 mg
Niacin	0.5 mg
Asam ascorbic	14 mg
Moisture	7.6%
Protein	24.0%
Vitamin C	214,68 mg

Sumber : DEP.KES.RI.No.SPP.1065/35.15/05

Vitamin C pada rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) diketahui tiga kali lebih banyak dari anggur hitam, sembilan kali lebih banyak dari jeruk sitrus, 10 kali lebih banyak dari buah belimbing dan 2,5 kali dari jambu biji. Hasil penelitian Nurfarida (2006) kandungan antioksidan pada teh rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) sebanyak 1,7 mmol/prolox (Wiyarsi,2010). Vitamin C sebagai antioksidan berfungsi untuk mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi (Kumalingsih, 2007).

Vitamin C dapat mengikat berbagai oksigen reaktif seperti super oksida, radikal hidroperoksil, oksigen singlet dan radikal nitrit oksida sehingga dapat melindungi substansi lain dari kerusakan oksidatif. Pemberian Vitamin C juga dapat mencegah proses glikogenolisis selama fase oksidatif (Argapay, 2008).

Mardiah dan Alifa (2009) mengatakan peran utama Vitamin C adalah menetralkan radikal bebas. Radikal bebas akan mencari sebuah elektron untuk mencapai kestabilannya. Vitamin C merupakan sumber elektron yang sangat baik, maka Vitamin C dapat mendonorkan elektron untuk radikal bebas dan menghilangkan kereaktifannya.

Aktivitas antioksidan pada ekstrak rosella dipengaruhi oleh kandungan *antosianin*, *asam askorbat* dan *polifenol* dimana menurut Lestario dkk (2002) aktivitas antioksidan terdapat pada pigmen bunga berwarna merah sampai biru seperti rosella.

2.1.5 Manfaat dan khasiat bunga rosella

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) secara tradisional digunakan sebagai obat dan dapat dimanfaatkan sebagai produk makanan dan minuman (Ismail et al., 2008). Di Indonesia, rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) digunakan dan dipercaya sebagai minuman kesehatan untuk meningkatkan sistem imun, hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Fakeye *et al.* (2008) mengenai aktivitas imunomodulator kelopak bunga rosella menggunakan metode *Haemagglutination Test* secara *in vivo* dan pengukuran terhadap konsentrasi Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) sebagai sitokin pro inflamasi dan Interleukin-10 (IL-10) sebagai sitokin inflamasi. Hasil penelitian (Fakeye *et al.*, 2008) menunjukkan bahwa rosella mampu meningkatkan sistem imun.

Mahadevan *et al.* (2009) menyatakan kelopak bunga rosella mengandung beberapa senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang dapat digunakan sebagai imunostimulator (Chiang *et*

al., 2003). Rosella mengandung vitamin , *antosianin*, dan kalsium yang berkhasiat untuk menurunkan tekanan darah tinggi, antiseptik saluran pencernaan dan sebagai antioksidan (Arelano *et al.*, 2004). Komponen polifenol tanaman rosella memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, hipokolesterolemik dan antihipertensi serta ekstrak etanol kelopak bunga rosella memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas (Sartini dkk., 2014; Wiyarsi, 2010).

Berdasarkan penelitian Hu Hsuan Lin adanya antioksidan yang dimiliki rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dapat membunuh sel- sel radikal bebas dengan metode sitotoksis dan apoptosis. Hasil penelitian Chau et al. (2007) membuktikan bahwa rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dapat melindungi hepar dengan cara menurunkan ALT (*alanin aminotransferase*). Manfaat lain yang telah diteliti dari ekstrak rosella yaitu mempunyai efek farmako yang baik sebagai antimikroba dan antikanker (Olaleye, 2007).

Hasil penelitian Shalilah (2008) menunjukkan dengan pemberian ekstrak kelopak bunga rosella dosis efektif 56 mg/kg bb dapat mengurangi kerusakan jaringan testis mencit yang meliputi penurunan jumlah spermatogonium, spermatisit primer, dan spermatid oval akibat induksi 2-ME.

2.2 Timbal (Pb asetat)

2.2.1 Deskripsi timbal

Timbal (Pb) adalah logam berat, dengan nomor atom 82, bobot atom 207,21 dan berat jenis 11,34, bersifat lunak dan berwarna biru keabu-abuan dengan kilau logam yang khas sesaat setelah dipotong, mempunyai titik leleh 327,⁰C dan titik

dididih 1740⁰C (MSDS, 2005). Timbal dapat larut dalam asam nitrit, asam asetat dan asam sulfat pekat (Ding *et al.*, 2000).

Lebih dari 95% timbal (Pb) merupakan senyawa anorganik dan umumnya berbentuk garam timbal anorganik, kurang larut dalam air, dan sisanya merupakan timbal (Pb) organik. Senyawa timbal organik ditemukan dalam senyawa TEL (*tetraethyl lead*) dan TML (*tetramethyl lead*). Jenis senyawa ini hampir tidak larut dalam air, namun dapat larut dalam lemak (WHO, 1997). Timbal merupakan logam yang tahan terhadap korosi atau karat sehingga sering digunakan untuk bahan coating (Saryan and Zenz, 1994; Palar, 2004; Suciani, 2007)

2.1.2 Keracunan timbal

Keracunan yang disebabkan timbal (Pb) mempengaruhi berbagai jaringan dan organ tubuh. Organ – organ tubuh yang menjadi sasaran dari keracunan timbal adalah sistem peredaran darah, sistem saraf, sistem urinaria, sistem reproduksi, sistem endokrin dan jantung (Darmono, 2001). Efek keracunan timbal (Pb) pada anak – anak dan orang dewasa dapat dilihat pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 : Efek Keracunan Timbal (Pb)

No	Kadar Pb dalam darah	Efek
1.	1 – 9 µg/dL	Gangguan belajar
2.	10 -14 µg/dL	Gangguan pendengaran, pertumbuhan lamban, masalah belajar
3.	20 – 44 µg/dL	Sakit kepala, berat badan menurun dan gangguan saraf.
4.	45 – 69 µg/dL	Anemia, nyeri perut yang hebat
5.	➤ 69 µg/dL	Kerusakan otak yang mengakibatkan kematian.

(Sumber : *Center of Disease Control and Prevention*, 2000)

1.1.3 Efek timbal pada hati

Efek timbal pada hepar, yaitu dapat merangsang signal interselluler antara sel Kupffer dan sel hepatosit yang akan meningkat secara signifikan ditandai dengan rendahnya kadar lipopolisakarida dan aktivitas proteolitik yang meningkat. Secara umum, efek dari timbal pada sistem hepatobilier adalah mengkatalisa peroksidasi dari asam lemak tak jenuh (Yin dan Lin, 1995; Syahrizal, 2008), mereduksi nitrogenoksida (Krocova *et al.*, 2000) dan meningkatkan radikal hidroksil (Ding *et al.*, 2000; Syahrizal, 2008). Penelitian yang dilakukan Hariono (2005) melaporkan pemberian Pb asetat 0,5 gr/kgBB/oral/hari pada tikus dijumpai secara makroskopis, hepar dan ginjal nampak pucat pada minggu ke-14 dan 16 dan gambaran histopatologik terlihat degenerasi hidrofik dari tingkat ringan sampai sedang pada minggu ke-12 sampai minggu ke-16. Epitel tubulus proksimal ginjal terlihat degenerasi, hiperplasi dan kariomegali pada minggu ke-8, pelebaran lumen tubulus dan sampai sel Bowman serta adanya benda-benda inklusi dalam inti sel.

Penelitian yang dilakukan Syahrizal (2008) pemberian timbal asetat 20 mg/KgBB secara intraperitoneal pada mencit menunjukkan perubahan histopatologi dan biokimia pada hepar mencit yang menimbulkan stres oksidatif dan menginduksi terjadinya kerusakan membran sel sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi sel.

Penelitian yang dilakukan Luthfiah (2005) melaporkan pemberian timbal asetat 50 mg/kgBB/hari dan 75 mg/kgBB/hari secara oral dapat menyebabkan perubahan sel hepar secara mikroskopik dengan pemberian selama 14 hari, pada

pemberian 75 mg/kgBB/hari secara oral didapatkan sel hepar yang mengalami nekrosis lebih banyak dari pada pemberian timbal asetat 50 mg/kgBB/hari secara oral, sel hepar yang mengalami nekrosis paling banyak ditemukan di zona sentrilobuler yang berada di dekat vena sentralis.

2.3 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) termasuk mamalia pengerat (rodensia) yang cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar serta sifat anatomisnya dan fisiologisnya terkarakteristik dengan baik (Akbar, 2010). Mencit sering digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian karena ekonomis, di samping mempunyai keuntungan karena ukurannya yang kecil (Kusumawati, 2004).

Menurut Anggonowati (2008) klasifikasi mencit berdasarkan taksonomi adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Sub Filum : Vertebrata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Mus
Spesies : *Mus musculus*

Mencit tergolong hewan pengerat (rodentia). Ciri khas dari mencit yaitu kulit rambut tidak berpigmen sehingga warnanya putih, mencit lebih tahan lama

terhadap penyakit dan lebih jinak. Mencit termasuk hewan *crepuscular* yang akan lebih aktif pada senja dan malam hari (Libriani, 2007). Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 gram (Kusumawati, 2004).

2.4 Hepar

2.4.1. Anatomi hepar

Hepar merupakan organ terbesar kedua dan kelenjar terbesar dalam tubuh. Hepar terletak di rongga abdomen, di bawah diafragma (Janqueira and Carneiro, 2007). Hepar terdiri dari dua lobus utama, yaitu lobus dexter dan lobus sinister. Setiap lobus terdiri dari ribuan lobules yang membentuk unit fungsional. Organ ini berfungsi dalam proses metabolisme zat makanan, sebagian besar obat dan toksikan (Lu, 1995).

Hepar mendapat aliran darah ganda, yaitu: 1) Vena porta yang membawa darah dari usus dan organ tertentu dan 2) Vena hepatica (dari aorta) yang membawa darah bersih yang mengandung oksigen. Vena porta dan arteri hepatica bercabang-cabang menuju lobulus yang disebut arteri interlobularis, seterusnya bercabng - cabang membentuk arteri atau vena interlobularis yang terdapat di daerah portal atau segitiga Kiernan (Delmann and Brown, 1992).

2.4.2. Anatomi hepar mencit (*Mus musculus*)

Hepar mencit (*Mus musculus*) memiliki empat lobus, yaitu : lobus medial, dua lobus lateral (dexter dan sinister), dan lobus quadratus. Lobus hepar mencit (*Mus musculus*) memperlihatkan dasar sistem vena hepatica, vena portal dan segmen yang mirip dengan hepar manusia.

2.4.3 Fisiologi hepar

Fungsi dasar hepar dapat dibagi menjadi : (1) fungsi vaskular untuk menyimpan dan menyaring darah, (2) fungsi metabolisme yang berhubungan dengan sebagian besar sistem metabolisme tubuh, dan (3) fungsi sekresi yang berperan membentuk empedu yang mengalir melalui saluran empedu ke saluran pencernaan (Guyton and John, 1997; Snell, 2011). Fungsi vaskular hepar adalah sebuah tempat mengalir darah yang besar. Hepar juga dapat dijadikan tempat penyimpanan sejumlah besar darah. Aliran limfe dari hepar juga sangat tinggi karena pori dalam sinusoid hati sangat permeable, selain itu di hepar juga terdapat sel Kupffer (derivat sistem retikuloendotelial atau monosit-makrofag) yang berfungsi untuk menyaring darah. (Guyton and John, 1997).

Fungsi metabolisme hepar dibagi menjadi metabolisme karbohidrat, lemak, protein, dan lainnya. Metabolisme fungsi hepar : (1) menyimpan glikogen; (2) mengubah galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa; (3) glukoneogenesis; (4) membentuk senyawa kimia penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat. Metabolisme lemak fungsi hepar : (1) kecepatan oksidasi beta asam lemak yang sangat cepat untuk mensuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain; (2) pembentukan sebagian besar lipoprotein; (3) pembentukan sejumlah besar kolesterol dan fosfolipid, dan (4) penguraian sejumlah besar karbohidrat dan protein menjadi lemak. Metabolisme protein hepar berfungsi : (1) deaminasi asam amino; (2) pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari dalam tubuh; (3) pembentukan protein plasma; (4) interkonversi diantara asam amino yang berbeda. (Guyton and John, 1997).

Fungsi sekresi hepar membentuk empedu juga sangat penting. Salah satu zat yang diekskresi ke empedu adalah pigmen bilirubin yang berwarna kuning-kehijauan. Bilirubin adalah hasil akhir dari pemecahan hemoglobin. Bilirubin merupakan suatu alat mendiagnosis yang sangat bernilai bagi para dokter untuk mendiagnosis penyakit darah hemolitik dan berbagai tipe penyakit hepar (Guyton and John 1997).

2.4.4. Histologi hepar

Komponen struktur utama dari hepar adalah sel hepar atau hepatosit. Hepatosit saling bertumpuk dan membentuk lapisan sel, memiliki satu atau dua inti berbentuk bulat dengan satu atau lebih nukleus. Hepatosit berkelompok dalam susunan yang saling berhubungan membentuk suatu unit struktural, yang disebut dengan lobulus hepar (Junquiera and Carniero, 2007).

Terdapat 3 lobulus hepar yaitu: 1) lobulus klasik merupakan gambaran anastomosis hepatosit yang dipisahkan oleh sistem sinusoid, berbentuk heksagonal dengan vena sentralis sebagai pusat. 2) lobulus portal, merupakan lobulus yang terbentuk dengan menarik garis imajiner antara tiga vena centralis yang paling dekat dengan triad portal, garis ini mencakup sebagian dari tiga lobulus klasik dan pada lobulus ini segitiga *Keirnan* atau triad portal sebagai pusatnya. 3) Asinus hepar yang merupakan unit fungsional terkecil dari parenkim hati (Ross and Pawlina, 2011).

Hepatosit pada setiap asinus hepar digambarkan dalam tiga zona elips konsentris, pembagian zona ini untuk medeskripsikan dan interpretasi pola degenerasi, regenerasi dan efek racun pada sel hepar berhubungan dengan derajat dan kualitas perfusi vaskula pada sel hepar (Ross and Pawlina, 2011).

Pembagian 3 zona hepar pada sel asinus hepar menurut Rappaport berdasarkan aliran darah didalam lobulus adalah sebagai berikut : 1) Zona 1 merupakan zona perifer atau periportal yang menerima darah dari arteri hepatica dan vena porta. 2)) Zona 2 disebut sebagai zona midzonal yang terletak antara zona 1 dan zona 3. 3) Zona 3 disebut zona sentrilobuler yang terletak disekitar vena sentralis (Mills, 2007). Zona 1 terletak paling dekat dengan pembuluh darah sehingga sel-sel yang berada pada zona 1 kaya akan nutrisi dan oksigen serta sedikit metabolit. Sel pada zona 2 memiliki nutrisi dan oksigen tidak sebanyak pada zona 1, sedangkan sel-sel yang berada pada zona 3 adalah sel-sel yang terletak dekat dengan vena sentralis sehingga sel-sel pada zona ini sangat sedikit mengandung oksigen dan nutrisi serta tinggi konsentrasi metabolitnya, oleh karena itu sel-sel daerah sekitar vena sentralis lebih sering mengalami kerusakan (nekrosis) dari pada sel yang berada didaerah perifer (Junquiera and Carneiro, 2007).

Sel hepatosit tersusun radier dari bagian tengah dan berakhir pada vena sentralis pada lobulus hepar. Antara susunan hepatosit terdapat sinusoid kapiler atau sinusoid hepar. Sinusoid hepar mengandung sel-sel endotel dan sel-sel fagosit dari sel retikuloendotel yaitu sel ku"pffer. Setiap permukaan hepatosit berkontak dengan dinding sinusoid, melalui celah *Disse* dengan permukaan hepatosit lain. Tempat pertemuan dua hepatosit terbentuk celah tubular yang dikenal sebagai kanalikuli biliaris (Junquiera and Carneiro, 2007).

Sel ku"pffer berasal dari monosit, memiliki nukleus berbentuk kacang, besar, pucat dan memiliki sitoplasma berbentuk bintang yang berada melintang diruang sinusoid (Mills, 2007), sama seperti sel-sel dari sistem mononuclear fagositik, sel ku"pffer memiliki fungsi utamanya adalah metabolisme eritrosit tua, membersihkan

darah dari basili koloni yang memasuki daerah portal selama peredarannya melalui intestinal (Fawcet, 2002), pencernaan hemoglobin, fagositosis bakteri dan untuk menghilangkan sel-sel yang mati dalam persiapan regenerasi jaringan (Jaeschke *et al.*, 2001). Sel ini paling banyak ditemukan pada daerah periportal di lubulus hepar (Junquiera and Carneiro, 2007). Aktifasi sel ku"pffer akan tampak dengan berproliferasi dan membesar (Mills, 2007).

Sel endotel terpisah dari sel hepatosit oleh suatu lamina basalis yang tidak utuh dan suatu celah perisinusoidal yang sangat sempit (celah *Disse*). Di dalam celah *Disse* terdapat sel-sel stellate (sel Ito) yang mengandung tetesan lipid kecil yang mengandung vitamin A (Mescher, 2010). Sel Ito berperan penting pada proses pengambilan, penyimpanan dan pelepasan retinoid, sintesis dan sekresi sejumlah proteoglikan dan protein matriks ekstrasel serta memiliki peran regulasi dalam imunitas lokal (Junquiera and Carneiro, 2007; Mescher, 2010).

2.4.5 Histopatologi Hepar

Kerusakan sel hepar dapat terjadi akibat toksisitas obat, xenobiotik dan stres oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan hepatoseluler (Jaeschke *et al.*, 2001). Kerusakan hepar dapat berupa perubahan yang reversibel dan irreversibel, perubahan reversibel dapat berupa pembengkakan sel (degenerasi hidropik) dan perlemakan (steatosis), sedangkan perubahan irreversibel berupa nekrosis sel hepar (Kumar *et al.*, 2009). Pada sel yang mengalami perubahan yang reversibel, bila rangsangan yang menimbulkan kerusakan mereda dan dapat dikompensasi oleh sel hepar maka sel dapat kembali normal, namun bila kerusakan cukup berat dan terjadi dalam waktu yang lama maka akan menyebabkan terjadi kerusakan yang bersifat irreversibel berupa nekrosis (Kumar *et al.*, 2009). Secara umum

mekanisme kerusakan sel hepar terjadi akibat rusaknya membran sel, gangguan sintesis protein, kerusakan *deoxyribo nucleic acid* (DNA) (Jaeschke *et al.*, 2001).

Nekrosis sel hepar merupakan perubahan morfologi akibat degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang rusak, ditandai oleh perubahan dan destruksi nukleus (Kumar *et al.*, 2009). Perubahan tersebut dapat muncul dalam tiga pola yaitu *kariolisis* dimana tampak terjadi pemudaran kromatin, pola *karioreksis* dimana terjadi fragmentasi dari nukleus yang *piknosis* serta pola *piknosis* terjadinya penciutan sel dan peningkatan basofilia akibat pepadatan DNA menjadi massa yang solid (Kumar *et al.*, 2009).

2.5 Radikal Bebas

2.5.1 Definisi radikal bebas

Radikal bebas (Bahasa Latin: *radicalis*) adalah molekul yang mempunyai sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas adalah bentuk radikal yang sangat reaktif dan mempunyai waktu paruh yang sangat pendek. Jika radikal bebas tidak diinaktivasi, reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat.

2.5.2 Sumber radikal bebas

Menurut Pham-Hyu *et al* (2008) radikal bebas dapat berasal dari dalam dan luar tubuh, antara lain: Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, yang timbul dari bermacam-macam proses non-enzimatik di dalam tubuh, merupakan reaksi oksigen dengan senyawa organik dengan cara ionisasi dan radiasi, contohnya proses inflamasi dan iskemia; Radikal bebas dari dalam tubuh yang timbul dari berbagai proses enzimatik di dalam tubuh, berupa hasil samping dari proses

oksidasi atau pembakaran sel berlangsung pada proses respirasi sel, proses pencernaan dan proses metabolisme yang diproduksi oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma dan inti sel; Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh yang diperoleh dari polutan seperti asap rokok, asap kendaraan bermotor, makanan berlemak, racun, pestisida, radiasi sinar matahari dan sebagainya.

2.5.3 Sifat radikal bebas

Radikal bebas memiliki sifat: reaktivitas tinggi karena kecenderungan untuk menarik elektron, mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal oleh karena hilangnya atau bertambahnya satu elektron pada molekul lain. sehingga akan membentuk radikal baru dan terjadi reaksi rantai (Halliwell and Gutteridge, 2007).

2. 6 Antioksidan

2.6.1 Definisi antioksidan

Antioksidan merupakan zat yang dapat melawan pengaruh bahaya radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi dalam tubuh (Rohmatussolihat, 2009).

Fungsi dari antioksidan adalah menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh, sehingga dapat menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan menetralkan radikal bebas dengan memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi non radikal. (Hernani dan Rahardjo, 2005).

Cara kerja senyawa antioksidan adalah (Utami *et al.*, 2009) : 1.) Bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikan bebas tidak reaktif yang relatif stabil; 2.) Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan eletron yang dimiliki radikal bebas; 3.) Menghambat terjadinya reaksi rantai dari pembentukan radikal bebas.

2.6.2 Penggolongan antioksidan

Kumalaningsih (2007) mengatakan antioksidan dapat digolongkan menjadi tiga yaitu: Antioksidan yang diproduksi oleh tubuh berupa enzim yang meliputi *Superoksida dismutase* (SOD), katalase dan *Glutation peroksidase* (GSH.Prx); Antioksidan alami yang diperoleh dari tanaman atau hewan yaitu *tokoferol* (Vitamin E), *asam askorbat* (Vitamin C), *betakaroten* (Vitamin A), *flavonoid* dan senyawa *fenolik*; dan Antioksidan sintetik yang dibuat dari bahan-bahan kimia yaitu *Butylated Hroxyanisole* (BHA). Berdasarkan fungsi antioksidan dapat dibedakan menjadi empat: Antioksidan primer (*Superoksida dismutase*), Antioksidan sekunder (*Flavanoid*, Vitamin E, Vitamin C dan *Betakaroten*), Antioksidan tertier (*metionin sulfoksidan reduktase*) dan *Oxygen Scavanger* (Vitamin C).

2.7 Stres Oksidatif

Stres oksidatif secara terminologi menunjukkan adanya produksi radikal bebas secara berlebihan melebihi kapasitas perlindungan antioksidan. Radikal bebas yang berasal dari oksigen diklasifikasikan sebagai *Reactive Oxigen Species* (ROS), termasuk superoksida (O_2), radikal hidroksil (OH) dan radikal *hydrogen peroksida* (H_2O_2). Enzim yang berperan dalam peningkatan ion superoksida

termasuk rantai transport elektron mitokondria, NADPH Oxidase dan Xanthin Oxidase serta NOS ((Rush *et al.*, 2005)

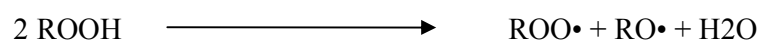
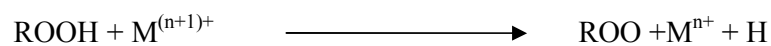
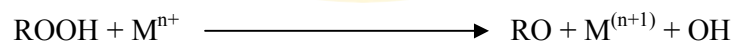
ROS secara konstan di dalam tubuh akan diproduksi dan dieliminasi, selama sel memiliki pertahanan endogen melawan zat oksidan. Kadar ROS yang rendah berperan dalam fisiologi signaling antar sel secara normal untuk memelihara homeostatis. Produksi ROS yang berlebih atau kerusakan perlindungan terhadap ROS menimbulkan stress oksidatif yang mengakibatkan kelainan patologis (Rush *et al.*, 2005).

Stres oksidasi menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap lemak, protein dan DNA. ROS memicu proses peroksidasi terhadap lipid. Peroksidasi lipid dalam membran sel akan mengganggu fungsi membran, menimbulkan kerusakan ireversibel terhadap fluiditas dan elastisitas membran yang dapat menyebabkan rupturnya membran sel (Szocs, 2004).

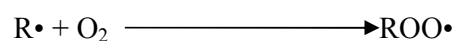
2.8 Peroksidasi Lipid

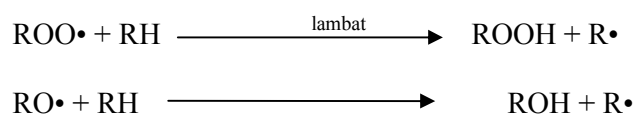
Oksidasi lipid biasanya terbentuk melalui proses pembentukan radikal bebas yang terdiri dari tiga proses dasar yaitu:

1. Inisiasi :

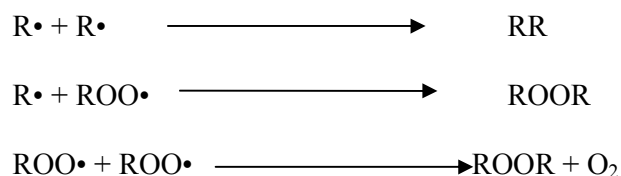


2. Propagasi :





3. Terminasi :



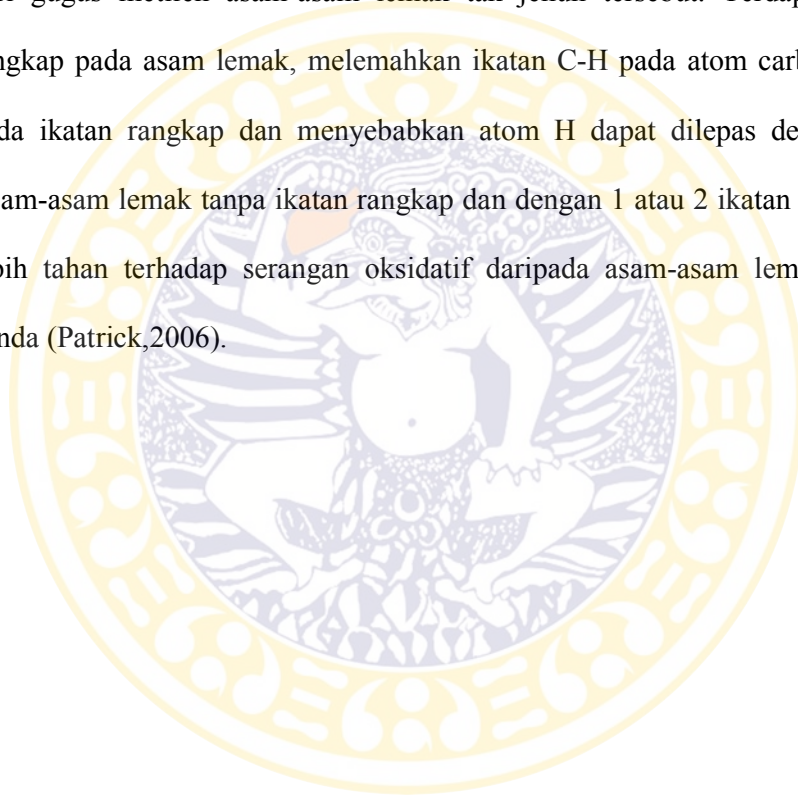
RH, R, RO, ROO, ROOH dan M berturut-turut merupakan simbol untuk asam lemak tidak jenuh atau ester dengan atom H pada atom karbon alilik, radikal alkil, radikal alkosil, radikal peroksil, hidroperoksida dan logam transisi (Apriyanto, 2002).

Asam lemak tidak jenuh ganda mudah sekali teroksidasi oleh radikal bebas atau senyawa-senyawa reaktif lainnya seperti H_2O_2 . Reaksi lipid peroksidasi dimulai dengan keluarnya atom hidrogen dari asam lemak tidak jenuh ganda. Radikal lipid yang terbentuk kemudian bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil. Akan terjadi reaksi rantai radikal, ketika radikal peroksil ini menarik atau mengeluarkan atom hidrogen dari molekul asam lemak yang lain. Terdapatnya logam transisi seperti Fe akan memulai pembentukan radikal lebih lanjut. Salah satu akibat penting peroksidasi lipid adalah pembentukan senyawa-senyawa aldehida. Rantai reaksi ini terus berlanjut bilamana radikal-radikal bebas yang terbentuk bereaksi dengan molekul-molekul lain disekitarnya.

Peroksidasi lipid adalah mekanisme dari trauma sel, baik pada tumbuhan ataupun hewan, dengan demikian peroksidasi lipid digunakan sebagai indikator dari stres oksidatif pada sel dan jaringan. Endoperoksida lipid yang berasal dari

asam lemak tak jenuh ganda, bersifat tak stabil dan terurai membentuk beberapa senyawa kompleks, termasuk senyawa karbonil reaktif (Mc Kee, 2003).

Lipid membran sel mengandung asam-asam lemak tak jenuh yang hidrofob. Tahap awal peristiwa peroksidasi pada asam-asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat pada membran disebut *first chain initiation*. Tahapan ini menunjukkan serangan molekul-molekul yang reaktif terhadap atom hidrogen, sehingga terlepas dari gugus metilen asam-asam lemak tak jenuh tersebut. Terdapatnya ikatan rangkap pada asam lemak, melemahkan ikatan C-H pada atom carbon yang ada pada ikatan rangkap dan menyebabkan atom H dapat dilepas dengan mudah. Asam-asam lemak tanpa ikatan rangkap dan dengan 1 atau 2 ikatan rangkap akan lebih tahan terhadap serangan oksidatif daripada asam-asam lemak tak jenuh ganda (Patrick,2006).



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Unit Hewan Coba dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Juni 2015 sampai bulan Juli 2015.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan dengan 5 kali ulangan, yaitu :

K (-) : CMC Na + aquades

K (+) : CMC Na + *Pb asetat* 20 mg/kg BB

P1 : Ekstrak bunga rosella 200 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB

P2 : Ekstrak bunga rosella 400 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB

P3 : Ekstrak bunga rosella 800 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian pada penelitian ini meliputi :

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis bertingkat ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) yang diberikan secara per-oral pada mencit (*Mus musculus*) jantan, yaitu dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB

3.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) jantan

3.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali pada penelitian ini adalah spesies mencit (*Mus musculus*), jenis kelamin (jantan), umur mencit (dua bulan), berat badan, pakan, kandang hewan coba.

3.4 Materi Penelitian

3.4.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) Strain BalB/C jantan berumur dua bulan dengan berat badan sekitar 20 - 25 gram sebanyak 25 ekor yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ hepar mencit.

3.4.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) yang diekstraksi di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Bahan kimia yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu Etanol absolut (96%), CMC-Na, aquadest, *Pb asetat*. Bahan pembuatan preparat histopatologi hepar mencit meliputi formalin 10%, alkohol atau etanol 70%, 80%, 90% dan 96%, *xylol*, *Hematoxylin Eosin*, *glyserin* dan paraffin blok

Mencit diberikan pakan berbentuk pellet serta air minum yang diberikan secara *ad libitum* serta sekam sebagai alas kandang hewan coba.

3.4.4 Alat Penelitian

Peralatan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah : kandang hewan coba yang terbuat dari bak plastik dengan tutup kandang yang terbuat dari kawat, botol minum mencit, timbangan digital, penyaring, *Rotary evaporator*, gelas ukur, mortir, pipet tetes, spuit, sondeoral 1 mL, gunting, scapel, pot organ, pinset, mikroskop, mikrotom, *obyek glass* dan *cover glass*.

3.4.5 Besar Unit Eksperimen

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan Rumus Rancangan Acak Lengkap dalam Kusriningrum (2008), yaitu : $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t adalah kelompok perlakuan dan n adalah ulangan.

Berdasarkan rumus di atas, penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga didapatkan jumlah ulangan 5, sehingga jumlah mencit yang digunakan 25 ekor mencit jantan.

3.5 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pembuatan Ekstrak Bunga Rosella

Bahan dasar pembuatan ekstrak bunga rosella adalah bunga rosella kering sebanyak 2 kg yang didapatkan dari Pasar Genteng Surabaya. Bunga rosella kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk dan dilakukan proses perendaman dalam larutan etanol absolut 96% selama 3 x 24 jam sambil diaduk. Lakukan penyaringan dan penguapan dengan alat *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental bunga rosella. Pemberian ekstrak bunga rosella dibagi menjadi 3

kelompok perlakuan dengan dosis, yaitu : P1 = 200 mg/kg BB (Maryani dan Kristiana, 2005; Usuh *et al.*, 2005); P2 = 400 mg/kg BB (Badan POM RI) dan P3= 800 mg/.kg BB. Pemberian ekstrak bunga rosella diberikan secara per oral menggunakan sonde lambung dengan pemberian 0,5 ml

3.5.2 Pembuatan *Pb asetat*

Pembuatan larutan *Pb asetat* dengan mengencerkan 1 gram kristal *Pb asetat* dalam 5 mL aquadest. Pemberian dosis *Pb asetat* sebanyak 20 mg/kg BB (Gajawetet *al*, 2006). Larutan *Pb asetat* diberikan secara per oral menggunakan sonde lambung dengan pemberian 0,5 ml, hal ini disesuaikan dengan kapasitas maksimal volume lambung mencit dengan berat badan 20 g yaitu 1 ml (Ngatidjan, 1991). Pemberian larutan *Pb asetat* berselang satu jam setelah pemberian ekstrak bunga rosella. Perlakuan pemberian larutan timbal selama 21 hari.

3.5.3 Pengamatan Gambaran Mikroskopis Hepar

Pengamatan mikroskopis hepar dilakukan setelah dilakukan pembuatan preparat hepar dengan pewarnaan *Hematoxillin Eosin* (HE) kemudian dilakukan penilaian derajat kerusakan hepar. Penilaian derajat kerusakan hepar menurut kriteria Arsad *et al.* (2014) sebagai berikut: 1) Derajat 0 = tidak ada kerusakan ; 2) Derajat 1 = kerusakan < 30%; 3) Derajat 2 = kerusakan 30 % - 50 % ; 4) Derajat 3 =kerusakan > 50%. Kriteria kerusakan sel yang diamati adalah nekrosis, degenerasi, aktifasi sel *ku"pffer* dan dilatasi sinusoid. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x.

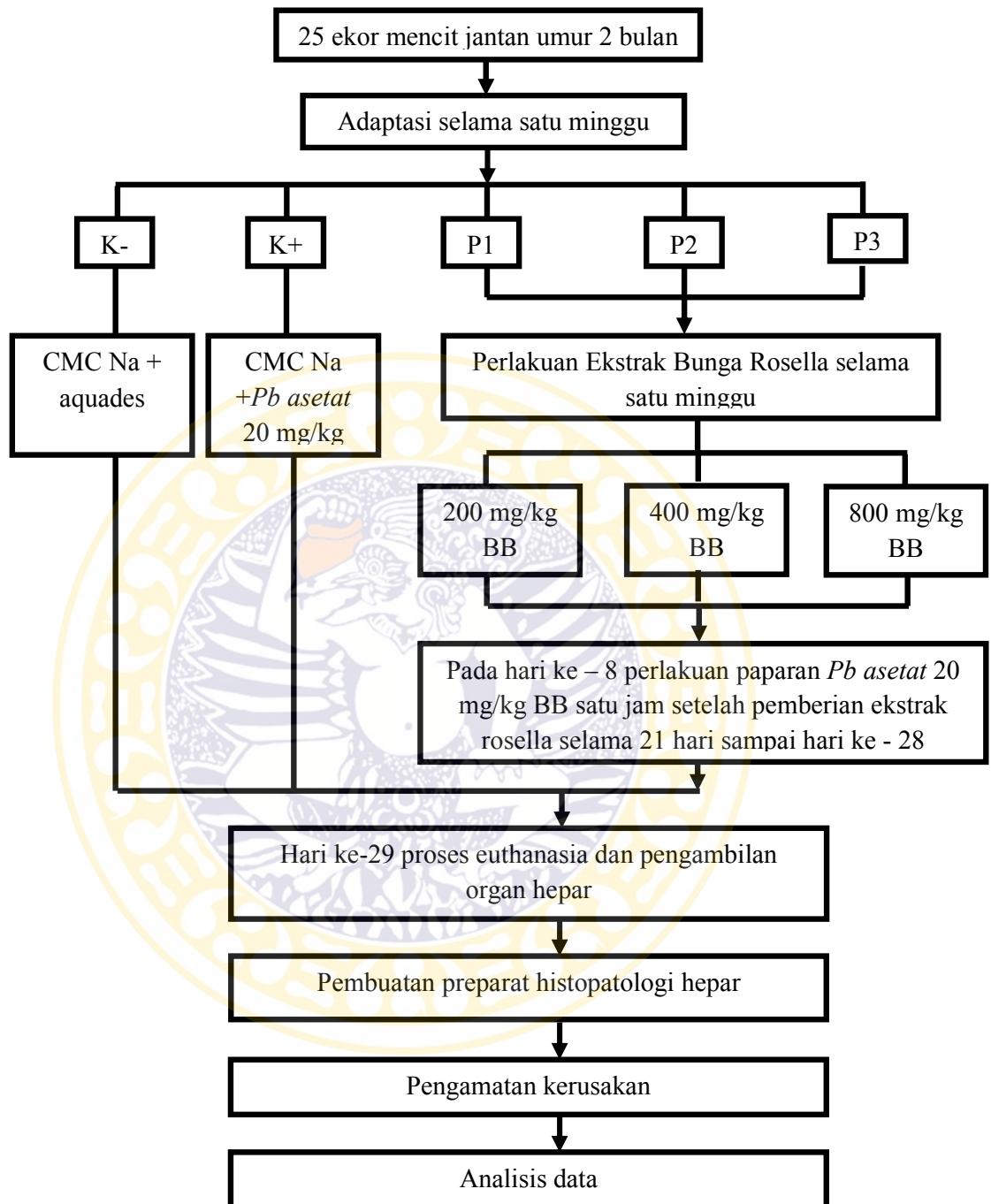
3.6 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan strain Balb/C jantan. Sampel penelitian ini adalah hepar mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing ulangan 5 ekor. Kelompok (K-) sebagai kontrol, kelompok (K+) diberi *Pb asetat* 20 mg/kg BB, kelompok P1 diberi ekstrak rosella 200 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB ; kelompok P2 diberi ekstrak rosella 400 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB dan kelompok P3 diberi ekstrak rosella 800 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB. Pertama semua hewan coba dilakukan adaptasi kandang selama 7 hari. Setelah adaptasi kandang semua hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok dengan secara acak (lotre) untuk dilakukan terapi. Pada hari 1 perlakuan kelompok P1, P2 dan P3 diberikan ekstrak bunga rosella dosis bertingkat selama 7 hari. Pada hari ke- 8 dilakukan pemberian ekstrak rosella dan *Pb asetat* berselang satu jam setelah pemberian ekstrak bunga rosella selama 21 hari sampai hari ke- 28. Pada hari ke- 29 dilakukan pengambilan organ hepar dengan metode *dislokasio cervicalis*.

3.7 Analisis Data

Hasil analisis derajat kerusakan sel hepar anilisis dengan metode *Kruskal-Wallis* , apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Mann – Whitney (Daniel, 1991)

3.8 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan yaitu K (-) : CMC - Na + aquades; K (+) : CMC - Na + *Pb asetat* 20 mg/kg BB; P1 : Ekstrak bunga rosella 200 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB; P2 : Ekstrak bunga rosella 400 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB; P3 : Ekstrak bunga rosella 800 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg BB.

Data hasil penelitian diperoleh dari skoring pengamatan histopatologi dengan penilaian derajat kerusakan hepar menurut kriteria *Arsad et al.* (2014) menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 x 10 kemudian data diuji secara statistik. Uji statistik yang digunakan untuk analisis hasil pengamatan adalah uji *Kruskall Wallis* apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji *Mann –Whitney Test*.

4.1 Nekrosis Hepatosit

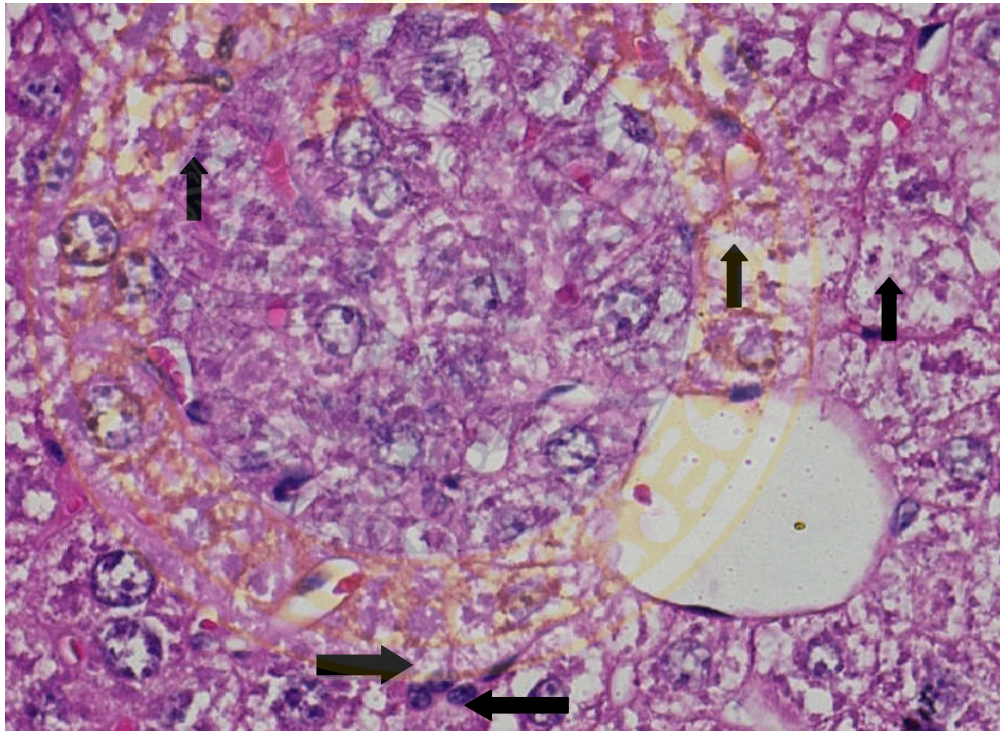
Hasil analisis statistik dapat dilihat pada Tabel 4.1 dimana didapatkan nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada tiap – tiap kelompok. Kelompok perlakuan K(-) berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(+), P2 dan P3, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P1. Kelompok perlakuan K(+), P2 dan P3, berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(-), namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3. Kelompok perlakuan P1 berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan P3, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan K(-), K(+) dan P2. Kelompok perlakuan P2 berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(-) dan P3, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan K(+) dan P1.

Kelompok perlakuan P3 berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(-), P1 dan P2, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan K(+). Gambaran histopatologi nekrosis hepatosit dapat dilihat pada Gambar 4.1

Tabel 4.1 Nilai Rata-rata Nekrosis Hepatosit.

Kelompok Perlakuan	Mean Rank \pm SD
K(-) : CMC - Na + Aquades	4,90 ^c \pm 0,837
K(+): CMC Na + <i>Pb asetat</i> 20 mg	18,40 ^{ab} \pm 2,302
P1 : Ekstrak bunga rosella 200 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	10,10 ^{bc} \pm 1,414
P2 : Ekstrak bunga rosella 400 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	11,40 ^b \pm 0,447
P3 : Ekstrak bunga rosella 800 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	20,20 ^a \pm 0,447

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)



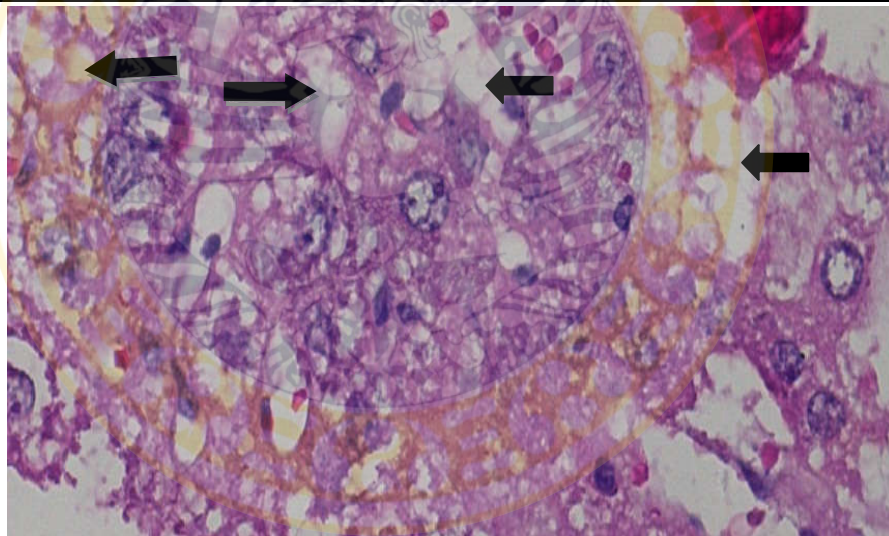
Gambar 4.1 Gambaran histopatologi hepar yang mengalami nekrosis pada kelompok perlakuan P3 (Pewarnaan HE pembesaran 400x dengan menggunakan Optilab)

4.2 Degenerasi Hepatosit

Hasil analisis statistik dapat dilihat pada Tabel 4.2 dimana didapatkan nilai $p = 0,90$ ($p > 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang tidak bermakna secara statistik pada tiap – tiap kelompok. Hanya kelompok perlakuan K(+) yang berbeda nyata dengan P1. Gambaran histopatologi degenerasi hepatosit dapat dilihat pada Gambar 4.2

Tabel 4.2 Nilai Rata-rata Degenerasi Hepatosit.

Kelompok Perlakuan	Mean Rank \pm SD
K(-) : CMC- Na + Aquades	9,20 \pm 2,302
K(+): CMC- Na + <i>Pb asetat</i> 20 mg	19,20 \pm 2,950
P1 : Ekstrak bunga rosella 200 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	7,90 \pm 0,894
P2 : Ekstrak bunga rosella 400 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	15,00 \pm 01,789
P3 : Ekstrak bunga rosella 800 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	13,70 \pm 1,643



Gambar 4.2 Gambaran histopatologi hepar yang mengalami degenerasi pada kelompok perlakuan P4 (Pewarnaan HE pembesaran 400x dengan menggunakan Optilab)

4.3 Aktifasi *Sel Kupffer*

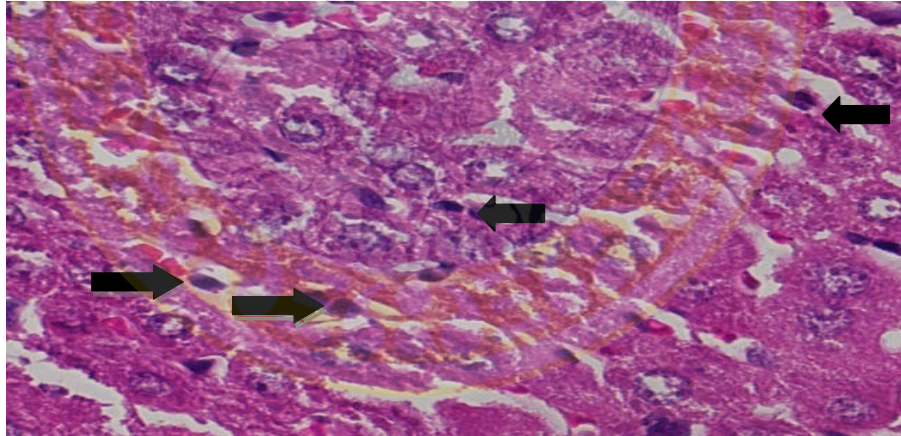
Hasil analisis statistik dapat dilihat pada Tabel 4.3. Nilai p yang didapatkan adalah $p = 0,034$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna secara

statistik pada tiap – tiap kelompok. Kelompok perlakuan K(-) berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(+), namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3. Kelompok perlakuan K(+), berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(-), namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P1. Kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan K(-) dan K(+). Gambaran histopatologi aktivasi sel *Kupffer* hepatosit dapat dilihat pada Gambar 4.3

Tabel 4.3 Nilai Rata-rata Aktivasi Sel *Kupffer* Hepatosit.

Kelompok Perlakuan	Mean Rank \pm SD
K(-) : CMC - Na + Aquadest	8,60 ^b \pm 1,414
K(+): CMC - Na + <i>Pb asetat</i> 20 mg	21,10 ^a \pm 2,302
P1 : Ekstrak bunga rosella 200 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	14,60 ^{ab} \pm 0,837
P2 : Ekstrak bunga rosella 400 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	11,10 ^b \pm 1,140
P3 : Ekstrak bunga rosella 800 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	9,60 ^b \pm 0,894

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)



Gambar 4.3 Gambaran histopatologi hepar yang mengalami Aktivasi Sel *Kupffer* pada kelompok perlakuan P2 (Pewarnaan HE pembesaran 400x dengan menggunakan Optilab)

4.4 Dilatasi Sinusoid

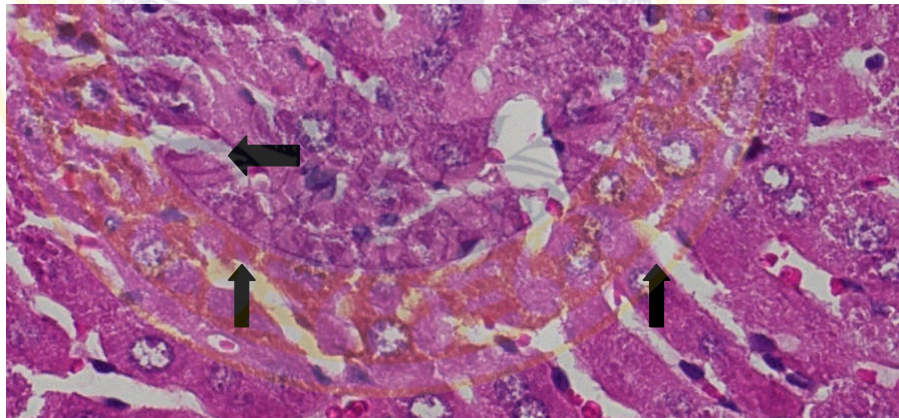
Hasil analisis statistik dapat dilihat pada Tabel 4.4. Nilai p yang didapatkan adalah $p = 0,035$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna secara

statistik pada tiap – tiap kelompok. Kelompok K(-) berbeda nyata terhadap K(+), namun tidak berbeda nyata dengan P1, P2 dan P3. Kelompok K(+) berbeda nyata terhadap K(-), namun tidak berbeda nyata dengan P1. Kelompok P1 tidak berbeda nyata dengan K(-), K(+) dan P2 dan P3. Kelompok P2 berbeda nyata terhadap K(+), namun tidak berbeda nyata dengan K(-), P1 dan P3. Kelompok P3 berbeda nyata terhadap K(+), namun tidak berbeda nyata dengan K(-), P1 dan P2. Gambaran histopatologi dilatasi sinusoid hepatosit dapat dilihat pada Gambar 4.4

Tabel 4.4 Nilai Rata-rata Dilatasi Sinusoid Hepatosit.

Kelompok Perlakuan	Mean Rank \pm SD
K(-) : CMC - Na + Aquades	4,90 ^c \pm 0,837
K(+): CMC - Na + <i>Pb asetat</i> 20 mg	18,40 ^{ab} \pm 2,302
P1 : Ekstrak bunga rosella 200 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	10,10 ^{bc} \pm 1,414
P2 : Ekstrak bunga rosella 400 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	11,40 ^b \pm 0,447
P3 : Ekstrak bunga rosella 800 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	20,20 ^a \pm 0,447

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)



Gambar 4.4 Gambaran histopatologi hepar yang mengalami dilatasi sinusoid hepatosit pada kelompok perlakuan P1 (Pewarnaan HE pembesaran 400x dengan menggunakan Optilab)

4.5 Total Kerusakan

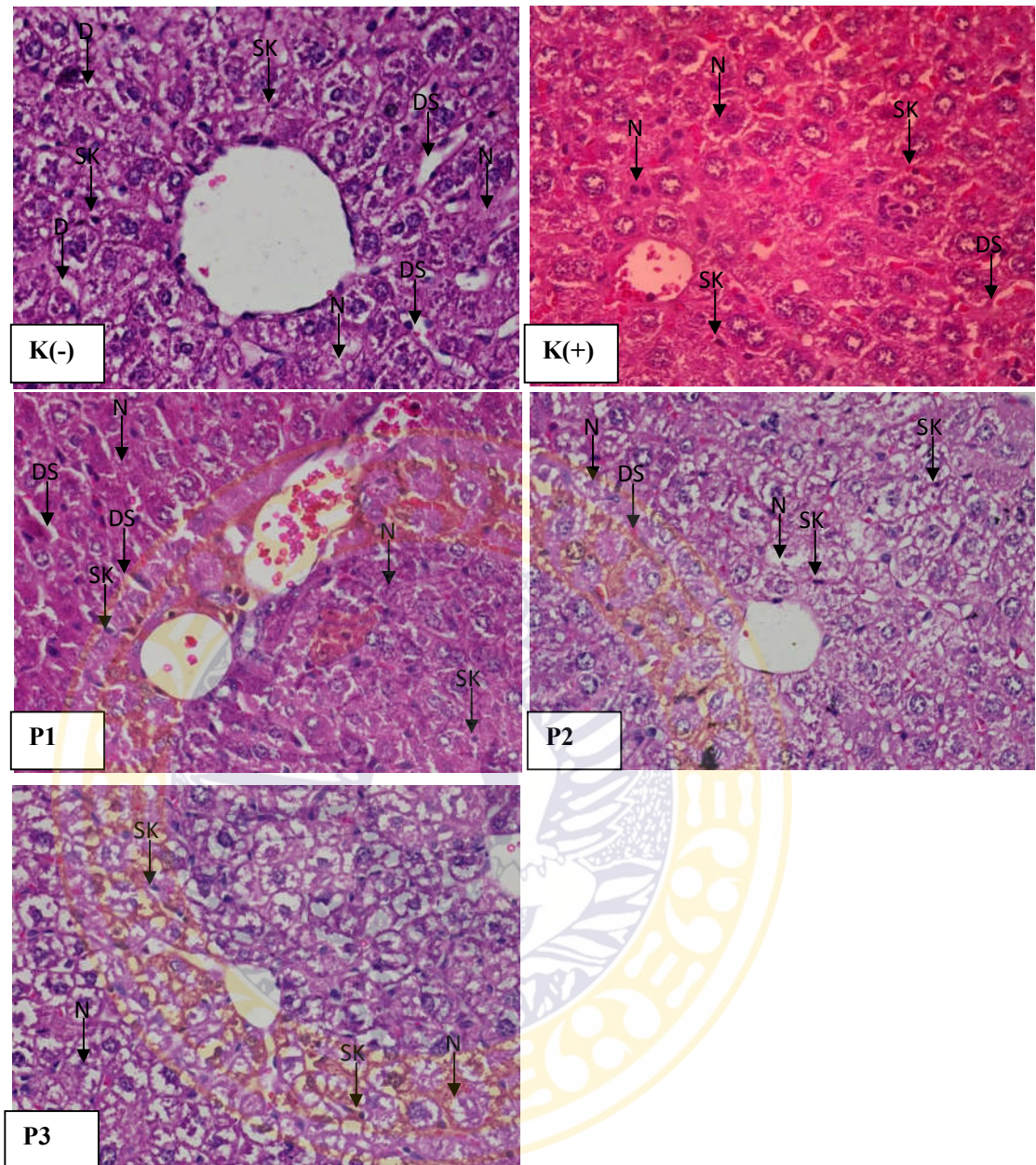
Hasil analisis statistik dapat dilihat pada Tabel 4.5 didapatkan nilai $p = 0,005$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada

tiap – tiap kelompok. Kelompok perlakuan K(-) berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(+) dan P3, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P1 dan P2. Kelompok perlakuan K(+) berbeda nyata terhadap semua kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan P1 dan P2 berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(+), namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan K(-) dan P3. Kelompok perlakuan P3 berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan K(-) dan K(+), namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P1 dan P2.

Tabel 4.5 Nilai Rata-rata Total Kerusakan Hepatosit.

Kelompok Perlakuan	Mean Rank \pm SD
K(-) : CMC - Na + Aquades	5,60 ^c \pm 2,683
K(+): CMC - Na + <i>Pb asetat</i> 20 mg	22,50 ^a \pm 6,301
P1 : Ekstrak bunga rosella 200 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	11,10 ^{bc} \pm 3,564
P2 : Ekstrak bunga rosella 400 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	10,50 ^{bc} \pm 3,578
P3 : Ekstrak bunga rosella 800 mg + <i>Pb asetat</i> 20 mg	15,30 ^b \pm 1,871

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)



Gambar 4.5 Perbandingan Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Tiap Kelompok Perlakuan dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran Mikroskop 400x dengan menggunakan Optilab (N : Nekrosis; D : Degenerasi; KF : Aktifasi Sel *Kupffer*; DS : Dilatasi Sinusoid)

BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan lima kelompok perlakuan dengan hewan coba mencit jantan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap gambaran histopatologi hepar mencit yang dipapar *Pb asetat*.

Pengamatan secara mikroskopis terhadap perubahan histopatologi hepar digunakan untuk mengetahui secara lebih rinci pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) terhadap perubahan histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) jantan yang dipapar *Pb asetat*. Pengamatan gambaran kerusakan sel hepar meliputi gambaran kerusakan nekrosis, degenerasi, aktifasi sel kupffer dan dilatasi sinusoid yang diuraikan sebagai berikut:

5.1 Nekrosis

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji *Kruskal Wallis* kerusakan nekrosis menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata tiap kelompok perlakuan ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Pada kelompok perlakuan P1 dan P2 dengan terapi ekstrak bunga rosella dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB menunjukkan median rank (10,10) dan (11,40) menunjukkan bahwa terjadi penurunan kerusakan nekrosis sel hepar dibandingkan dengan kelompok perlakuan K(+) yang hanya diberi perlakuan *Pb asetat* dan CMC - Na. Pada kelompok perlakuan P3 (20,20) ditemukan gambaran kerusakan nekrosis yang paling parah dibandingkan dengan kelompok perlakuan K(+) (18,40). Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, yaitu: 1) bunga rosella yang digunakan sudah dikeringkan dimana proses pengeringan berpengaruh terhadap kadar antioksidan yang dimiliki oleh rosella karena bunga rosella yang segar memiliki

daya antioksidan yang lebih kuat (Kay C,2004). 2) Waktu pengeringan dan proses penyimpanan juga mempengaruhi daya antioksidan bunga rosella (Iqbal and Khan. 2004). 3) Etanol sebagai bahan pembuat ekstrak rosella yang memberikan efek hepatotoksik dimana perubahan etanol menjadi *asetaldehida* melalui mediator ADH. *Asetaldehida* menginduksi kerusakan sel hepar dengan ikatan kovalen terhadap protein sama halnya dengan mengaktifkan peroksidasi lemak membran sel (Robbins dan Kumar, 1995). 4) Kondisi awal seperti reaksi hipersensitivitas yang berbeda dari tiap mencit, kondisi psikologis selama perlakuan juga dapat menyebabkan stres (Darmawan, 1998), kondisi awal hepar mencit sebelum diberikan perlakuan telah menderita infeksi atau gangguan lain yang dapat menyebabkan kerusakan (Swarayana dkk, 2012) yang tidak diteliti pada penelitian ini.

Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup. Inti sel yang mati terlihat lebih kecil, kromatin dan serabut retikuler menjadi berlipat-lipat. Inti menjadi lebih padat dan kemudian sel menjadi eosinofilik (*kariolisis*) (Kasno, 2003).

Menurut Wardanela (2008) nekrosis dapat terjadi dalam keadaan normal namun tidak termasuk dalam kejadian patologi, hal ini karena secara normal sel dalam tubuh melepaskan senyawa oksidatif yang memungkinkan kejadian nekrosis pada sel, organ dan jaringan tubuh.

Mekanisme nekrosis hepar akibat timbal ditentukan oleh peran kadar *glutation* dan dosis timbal. Bila dosis timbal meningkat, kadar *glutation* akan

berkurang akibatnya ikatan kovalen zat toksik terhadap protein dan *lipid* meningkat.

5.2 Degenerasi

Data derajat kerusakan hepar setelah perlakuan dianalisis dengan uji *Kruskall Wallis* dan didapatkan hasil tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$).

Degenerasi didefinisikan sebagai peningkatan metabolisme sel, sehingga sel kehilangan struktur dan fungsi normalnya. Secara normal, sel menyelenggarakan metabolisme dengan produk relatif sedikit yang segera digunakan dan diekspor keluar sel. Ketika terjadi perusakan subletal, sel akan beradaptasi untuk memproduksi hasil metabolisme secara besar - besaran, yang akhirnya akan sulit ditampung oleh sel berkondisi normal. Akibatnya, morfologi sel akan berubah yang umumnya membengkak dan fungsi normal sel terganggu (Dewa, 2005).

Menurut Krisnasari, dkk (2014) secara umum degenerasi disebabkan oleh penurunan kemampuan sistem pompa ion Na dalam sel yang menyebabkan pembengkakan sel dan degenerasi keruh. Menurut Sudiono dkk (2003). Degenerasi sel juga dapat terjadi karena kurangnya pakan yang disediakan, kekurangan oksigen di dalam jaringan, adanya intoksikasi dan ketuaan umur jaringan. Apabila degenerasi lemak terjadi terus - menerus, nantinya hepatosit dapat mengalami nekrosis.

5.3 Aktifasi Sel *Kupffer*

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji *Kruskal Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata tiap kelompok perlakuan ($p < 0,05$) dan dilanjutkan

dengan uji Mann Whitney. Pada kelompok perlakuan K(+) (21,10) menunjukkan gambaran aktivasi sel *ku'pffer* yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, ini menunjukkan bahwa sel *ku'pffer* merespon adanya zat asing yang masuk ke dalam tubuh (*Pb asetat*).

Aktivasi sel *ku'pffer* dapat disebabkan oleh tubuh yang merespon adanya zat asing (obat) yang masuk ke dalam tubuh dan melakukan perlawanan terhadap zat tersebut. Sel *ku'pffer* merupakan bagian dari sinusoid dengan inti gepeng dan gelap serta sedikit sitoplasma. Menurut Recanelli dan Rehemann (2006) sel *ku'pffer* merupakan kelompok terbesar dari makrofag dalam tubuh dan berfungsi untuk membersihkan endotoksin dalam darah serta mengikat zat asing atau mikro organisme. Sel *ku'pffer* merupakan kunci dari sistem kekebalan tubuh tahap awal. Sel *ku'pffer* akan meningkat jumlahnya ketika terdapat kerusakan pada sel (Wibawan dkk. 2003).

5.4 Dilatasi Sinusoid

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji *Kruskal Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antar tiap kelompok perlakuan ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Pada kelompok perlakuan K(+) (20,00) menunjukkan gambaran dilatasi sinusoid yang tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pada kelompok perlakuan P1 (16,80), P2 (9,20) dan P3(11,10) menunjukkan penurunan tingkat kerusakan dilatasi sinusoid yang cukup signifikan, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella dapat menjadi salah satu terapi untuk memperbaiki gambaran histopatologi hepar yang dipapar *Pb asetat*.

Sinusoid hepar adalah saluran darah yang berliku - liku, dilapisi sel endotel bertingkap tidak utuh, hal ini untuk memperlancar perpindahan zat antar darah dan hepatosit. Sinusoid hepar berfungsi sebagai tempat mengalirnya darah yang bermuara di vena sentralis, namun sebagian lainnya inaktif dan dijadikan tempat penampungan darah.

Penyebab terjadinya dilatasi sinusoid mungkin dapat disebabkan oleh degenerasi lemak yang parah sehingga dapat terbentuk vakuola lemak secara merata. Vakuola lemak ini menimbulkan banyak ruang kosong, sehingga jarak antar sinusoid menjadi lebih lebar / dilatasi (Ressang, 1984). Penyebab lain yang dapat menyebabkan dilatasi sinusoid adalah adanya bendungan pada vena berupa darah yang disebabkan oleh zat toksik. Secara umum pembendungan dimulai dari vena sentralis yang selanjutnya kebagian tengah lobulus (Wulandari dkk, 2007).

5.5 Total Kerusakan

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji *Kruskal Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata tiap kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Pada kelompok perlakuan P1 (11.10), P2 (10.50) dan P3 (15.30) menunjukkan penurunan total kerusakan hepar dibandingkan kelompok perlakuan K(+) (22.50). Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan kandungan vitamin C dalam ekstrak bunga rosella efektif dalam memperbaiki kerusakan hepar.

Vitamin C yang terkandung dalam ekstrak bunga rosella dapat bertindak sebagai antioksidan dengan cara menyumbangkan elektron untuk radikal bebas dan akan menghasilkan radikal *askorbil* yang spontan akan di nonaktifkan dengan reaksi *dismutase* dan menghasilkan *asam dehidroaskorbat*. Peningkatan *asam*

dehidroaskorbat seiring dengan penurunan kadar *asam askorbat* yang tereduksi menunjukkan kemampuan *asam askorbat* untuk meredam radikal bebas (Jing P., 2006).



BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) tidak dapat mempengaruhi derajat kerusakan gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) jantan yang dipapar Pb asetat.

6.2 Saran

- 1) Penggunaan bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) segar sebagai bahan ekstraksi sehingga dapat dibandingkan dengan ekstrak rosella kering dalam menurunkan derajat kerusakan sel hepar.
- 2) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan dosis toksik dari ekstrak rosella sehingga lebih efektif untuk menurunkan derajat kerusakan sel hepar yang dipapar *Pb asetat*.

RINGKASAN

BOGINSKAYA LETSOIN. Penggunaan ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dalam menurunkan kerusakan histopatologi hepar dapat digunakan sebagai terapi alternatif terhadap keracunan timbal. Kandungan vitamin C dalam ekstrak bunga rosella dapat bekerja sebagai antioksidan terhadap paparan radikal bebas salah satunya *Pb asetat*. Cara kerja antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif, menstabilkan radikal bebas dan menghambat reaksi rantai.

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) terhadap gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) jantan yang dipapar *Pb asetat*. Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit jantan dengan berat badan 20 - 25 gram yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok K(-) hanya diberi CMC - Na dan aquades; kelompok K(+) diberikan CMC - Na dan *Pb asetat* 20 mg/kg BB; kelompok P1 diberi perlakuan ekstrak bunga rosella dosis 200 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg; kelompok P2 diberi perlakuan ekstrak bunga rosella dosis 400 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg; kelompok P3 diberi perlakuan ekstrak bunga rosella dosis 800 mg/kg BB + *Pb asetat* 20 mg/kg

Pada hari ke - 1 mencit diberikan perlakuan ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) dosis bertingkat (dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB) selama tujuh hari. Pada hari kedelapan dipapar *Pb asetat* (dosis 20 mg/kg BB) satu jam setelah pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) selama 21 hari. Pada hari ke 29, dilakukan *euthanasia* pada mencit dengan

cara *dislocation cervicalis* untuk diambil organ hepar, tetapi pada penelitian ini pengambilan organ dilakukan setelah pengambilan sampel darah mencit untuk pemeriksaan SGPT, SGOT dan MDA. Pengambilan darah dilakukan dengan melalui *sinus orbitalis* mencit. Organ hepar tersebut kemudian dibuat preparat histopatologi untuk melihat derajat kerusakan hepar.

Pengamatan kerusakan hepar dilakukan berdasarkan Arsad *et al.* (2014) dengan kriteria kerusakan sel yang diamati adalah nekrosis, degenerasi, aktivasi sel *Kupffer* dan dilatasi sinusoid. Pengamatan dan skoring dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Analisis data menggunakan program spss 16 for windows dengan metode analisis *Kruskall Wallis* test dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

Pada pengamatan kerusakan nekrosis diketahui nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$) dan nilai chi-square sebesar 15,225, hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar tiap kelompok perlakuan. Mean rank dari tiap kelompok perlakuan adalah: K(-) = 4,90; K(+) = 18,40; P1 = 10,10; P2 = 11,40; dan P3 = 20,20. Pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan penurunan derajat kerusakan dibandingkan kelompok K(+). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella dapat menjadi salah satu alternatif untuk memperbaiki kerusakan nekrosis.

Pada pengamatan kerusakan degenerasi diketahui nilai $P = 0,090$ ($P < 0,05$) dan nilai chi-square sebesar 8,037, hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang tidak nyata antar tiap kelompok perlakuan. Mean rank dari tiap kelompok perlakuan adalah: K(-) = 9,20; K(+) = 19,20; P1 = 7,90; P2 = 15,00; dan P3 =

13,70. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella tidak dapat menjadi salah satu alternatif untuk memperbaiki kerusakan degenerasi.

Pada pengamatan aktivasi sel *kupffer* diketahui nilai $P = 0,034$ ($P < 0,05$) dan nilai chi-square sebesar 10,440, hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar tiap kelompok perlakuan. Mean rank dari tiap kelompok perlakuan adalah: $K(-) = 8,60$; $K(+) = 21,10$; $P1 = 14,60$; $P2 = 11,10$; dan $P3 = 9,60$. Pada kelompok $P1$, $P2$ dan $P3$ menunjukkan penurunan derajat kerusakan dibandingkan kelompok $K(+)$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella dapat menjadi salah satu alternatif untuk memperbaiki gambaran aktivasi sel *kupffer*.

Pada pengamatan dilatasi sinusoid diketahui nilai $p = 0,035$ ($p < 0,05$) dan nilai chi-square sebesar 10,378, hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar tiap kelompok perlakuan. Mean rank dari tiap kelompok perlakuan adalah: $K(-) = 7,90$; $K(+) = 20,00$; $P1 = 16,80$; $P2 = 9,20$; dan $P3 = 11,10$. Pada kelompok $P1$, $P2$ dan $P3$ menunjukkan penurunan derajat kerusakan dibandingkan kelompok $K(+)$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella dapat menjadi salah satu alternatif untuk memperbaiki gambaran dilatasi sinusoid.

Pada pengamatan total kerusakan diketahui nilai $p = 0,05$ ($p < 0,05$) dan nilai chi-square sebesar 14,0992, hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar tiap kelompok perlakuan. Mean rank dari tiap kelompok perlakuan adalah: $K(-) = 5,60$; $K(+) = 22,50$; $P1 = 11,10$; $P2 = 10,50$; dan $P3 = 15,30$. Pada kelompok perlakuan $P1$, $P2$ dan $P3$ menunjukkan adanya penurunan total kerusakan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella dapat menjadi salah satu alternatif untuk memperbaiki kerusakan hepar yang dipapar *Pb astat*.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilisasi. Jakarta : Adabia Press
- Arharya U.R, Acharya S, Mishra M. 2003. Lead Acetate Induced Cytotoxicity in Male Germinal Celss of Swiss Mice. *Industrial Health* 41 : 291-294s
- Antonio,G., Joao R.S., and Maria L.P. 2004. Effect of Lead Chloride on Spermatogenesis and Sperm Parameters in Mice. *Asia J. Androl* 6(3): 237-241
- Amin, A. and Hamza, A. A. 2005. Hepatoprotective Effects of *Hibiscus*, *Rosmarinus* and *Salvia* on Azathioprine-induced Toxicity in Rats. *Life Sci.* 77(3): 266-278.
- Anggonowati, K. 2008. Efek Terapi Kombinasi Klorokuin dan Tromboles Terhadap Gambaran Histopatologis Limpa Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. Universitas Sebelas Maret Surakarta. Skripsi
- Anggraini, D.R. 2008. Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akibat Pemberian *Plumbum asetat*. Universitas Sumatra Utara, Medan : 19-54
- Apriyanto, A. 2002. Pengaruh Pengolahan Terhadap Nilai Gizi. Makalah Seminar Online Kharisma Ke - 2. Available at: http://www.kharisma.de/files/home/makalah_anton.pdf
- Arelano, H.A., S.F. Romero, and M.A.C.J. Tortoriello. 2004. Effectivieness and Tolerability of a Standardized Extract from *Hibiscus sadbariffa* in Patients with Mild to Moderate Hypertention: a Controlled and Randomized Clinical Trial. *Phytomedicine* 11 : 375-382.
- Argapay. 2008. Daya Hambat Vitamin C Terhadap Kerusakan Membran Sel Darah Merah akibat Fotosensitiser Oflosaksin yang Diinduksi Ultraviolet. <http://one.indoskripsi.com/judul-skripsi/kedokteran/daya-hambat-vitaminc-terhadap-kerusakan-membran-sel-darah-merah-akibat-fotosensitiseroflosaksin-ya>. (10Januari 2015)
- Arimbi, Ajik A, Roesno D, Hani P, Thomas V.W, Djoko L. 2013. Buku Ajar Patologi Umum Veteriner. Airlangga University Press.
- Arsad, S.S., Norhaizan, M.S and Hazilawati H. 2014. Hithopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues from Male Sprague Dawley Rats Treated with *Raphidophoradecursiva* (Roxb.) Schott Extract.

- Athena, A.T., Tugaswati, dan Sukar.1996. Kandungan Logam Berat (Hg, Cd dan Pb) Dalam Air Tanah Pada Perumahan Tipe Kecil di Jabodetabek. Buletin Penelitian Kesehatan 24(4) : 18-27.
- Barrat, C.L., Davies A.G., Bansal M.R., and Williams M.E. 1989. The Effects of Lead On The Male Rat Reproductive System *Andrologia* 21 (2)
- Center for Disease Control and Prevention. 2000. Recommendation for Blood Lead Screening of Young Children Enrolled in Medicaid: Targetting a Group at High Risk. *MMWR* 49:1-13
- Chiang, L.C., Ng, L.T., Chiang, W., Chang, M.Y., and Linn, C.C, 2003. Immunomodulatory Activities of *Flavonoids, Monoterpenoids, Triterpenoids, Iridoid Glycosides* and *Phenolic Compounds of Plantago Species*. *Planta Medica*, 69, 600-604.
- Chau, Jong Wang, *et al.* 2007. *Hibiscus sabdariffa* Extract Reduces Serum Cholesterol in Men and Women. Chung Shan Medical University, Taiwan: 141-145.
- Daniel, W.W. 1991. Statistik Non Parametrik Terapan. Alih Bahasa : Ale Tri Kantjono. Penerbit PT. Gramedia. Jakarta. 272-275.
- Darmawan,S. 1998. Hati dan Saluran Empedu. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.
- Darmono. 2001. Lingkungan Hidup dan Pencemaran. Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam. Penerbit Universitas Indonesia (UI Press). hlm. 109 112, 140.
- Dedy, S. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologi Hepar Mencit yang Dipapar Plumbum (Tesis). Sumatra Utara: Universitas Sumatera Utara.
- Dellman, H.D. and Brown, E.M. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner*.Ed ke-3. R. Hartono, penerjemah. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- DEP.KES.RI.No.SPP.1065/35.15/05
- Devlin, M.T. 2002. Bioenergetics and Oxidative Metabolism In : *Biochemistry With Clinical Corelation*. 5th ed. Wley-liss. Canada:590-592.
- Dewa, W.J. 2005. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Akibat Pemberian Sediaan *DL-2,4-diamoni n-butyric acid* (DABA). [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Ding, Y., H.C. Gonick, N.D. Vaziri. 2000. Lead Promotes Hydroxyl Radical Generation and Lipid Peroxidation in Cultured Aortic Endothelial Cells. *Am J Hypertens*.13 : 552 – 555

- Duke J. A.. 2002. *Phytochemical and Etnobotanical databases; List of chemicals*. <http://sun.ars-grin.gov:8080/npgspub/xsql/duke/plantdisp.xsql?taxon=725>. 24 Agustus 2015.
- Fakeye, T.O., Pal, A., Bawankule, D.U., and Khanuja, S.P.S. 2008. Immunomodulatory Effect of Extracts of *Hibiscus sadbariffa* L. (Family Malvaceae) in a Mouse Model, *Phytother.Res.* 22, 664-668.
- Fatmawati. 2010. Manfaat Teh Rosella Bagi Kesehatan.
- Fawcett, D.W. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Ed. 12. Jakarta : EGC.
- Gajawat S, Sancheti G and Royal PK. 2006. *Protection Against Lead Induced Hepatic Lesion in Swiss Albino Mice by Absorbis Acid*. *Pharmacologonline*. 1:140-149.
- Galina, S.K. 2008. Medicinal Plants - Hibiscus, Rosella. Diunduh tanggal 3 Juni 2015 dari <http://www.truestarhealth>.
- Goldman, R. and Klantz. 2003. *The New Anti-Aging Revolution*. Australasian Edition p.22-24, 191-194.
- Guyton A.C. and John E.H. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-9. Irawati S, Ken A.T, Alex S, penerjemah; Irawati S, editor. EGC: Penerbit Buku Kedokteran. Terjemahan dari: *Textbook of Medical Physiology*.
- Gurer, H. and N. Ercal. 2000. Can Antioxidants be Beneficial in The Treatment of Lead Poisoning. *Free Radical Biology and Medicine*. 29 (10): 927-945.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford University Press dalam Henry, J. 2014. *Advances in Food and Nutrition Research*. Volume 71-Academic Press
- Hariono, B. 2005. Efek Pemberian Plumbum (Timah Hitam) Anorganik pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), *J. Sain Vet* Vol 23 No. 2 Th. 2005. Bagian Patologi Klinik FKH UGM, Yogyakarta: 107-108
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksi dan Terhadap Radikal Bebas Pada Usia Lanjut. *Journal MIPA*. 14 (1) : 52-59
- Hernani dan Rahardjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta :Penebar Swadaya
- Himawan, S. 1992. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: UI Press.
- Ismail, A., Ikram, E.H.K., and Nazri, H.S.M., 2008. Rosella (*Hibiscus sadbariffa* L.) Seeds Nutritional Composition Protein Quality and Health Benefit, *Invited and Review Food*, 2(1), 1-16.

- Iqbal K. and Khan A, 2004. Biological Significance of *Ascorbic acid* (Vitamin C) in Human Health – A Review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3 (1): 5-13.
- Jaeschke, H., Gores J.G, Cederbaum I.A, Hinson A.J, Pessayre D and Lemasters J.J. 2002. Mechanisms of Hepatotoxicity, *Toxicological sciences*, No.65:166-176.
- Jing, P. 2006. Purple Corn *Anthocyanins*: Chemical Structure, Chemopreventive Activity and Structure Function Relationship. PhD thesis, The Ohio State University. U.S.A. 35-55
- Junquiera LC and Carneiro J, 2007. *Histologi Dasar*, Penerjemah. A Dharma, Jakarta: EGC, Hal. 318-331.
- Kaplowitz, N. 2002. Biochemical and Cellular Mechanism of Toxic Liver Injury. *Semin. Liver. Dis.* 22 : 13-44
- Kasno, P. A. 2008. *Patologi Hati dan Saluran Empedu Ekstra Hepatik*. Semarang: Balai Penerbit Universitas Diponegoro.
- Kay, C, 2004. Analysis of The Bioactivity, Metabolism, and Pharmacokinetics of *Anthocyanins* in Humans. PhD Thesis. University of Guelph, Ontario, Canada: 46-72.
- Khare, C.P. 2007. *Indian Medicinal Plants*. New Delhi: Springer Science and Business Media LLC. Hal.434-435.
- Krisnansari D., K. Diah S. Hidayat, dan R.B.A. Viva. 2014. Efek Propolis Terhadap Fungsi dan Perlemakan Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia. Jurusan Kedokteran FKIK. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Kristiana, L dan Herti M. 2008. *Khasiat dan Manfaat Rosela*. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta. Hlm 3-7, 25-30
- Krocova Z, Macela A, Kroca M, Hernychova L. 2000. The Immunomodulatory Effect(s) of Lead and Cadmium on The Cells of Immune System *In vitro*. *Toxicol In Vitro* 14:33–40.
- Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan, Sumber & Manfaatnya*. Antioxidant Center Diunduh tanggal 18 Juni 2015 dari :[http://antioxidant-center.com/index.php/Antioksidan/3Antioksi dan Sumber - Sumber Manfaat.html](http://antioxidant-center.com/index.php/Antioksidan/3Antioksi%20dan%20Sumber%20-%20Sumber%20Manfaat.html). Diakses pada tanggal, 23 Desember 2015.
- Kumar V, Abbas A. K and Fauso N, 2009. Adaptasi, Cedera dan Kematian Sel, dalam Robbins and Cotran: *Dasar Patologi Penyakit*, 7th ED, Trans, BU pendit, Jakarta: EGC, Hal. 13-37.

- Kuncahyo, I., Sunardi. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl* (DPPH). Seminar Nasional Teknologi 2007 (SNT 2007).pp: E1-9.
- Kurniasih, Y. 2002. Studi Kandungan *Pb* dan *Cu* Pada Ikan Mujair (*Tilapia mosambica*) di Muara Sungai Badung. Jurnal Kimia Lingkungan 3 (2): 97-100.
- Kurniawan, A. 2012. Uji Aktivitas Ekstrak N- heksan Biji Kluwak (*Pangium edule* .reinw) Terhadap Gambaran Histopatologik Hepar Tikus yang Diinduksi CCl_4 . Skripsi. UAD. Yogyakarta
- Kusumardiyana, S., Melati, I., Nawawi, A. 2007. *Detail Penelitian Obat Bahan Alam*. Diambil dari: <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id> (15 July 2015)
- Kusriningrum, R. 2006. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Kusumawati, D., 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta :Gadjah Mada University Press.
- Lestario, L. N., P. Hastuti, S. Raharjo, dan Tranggono. 2002. Sifat Antioksidatif Ekstrak Buah Duwet (*Syzygium cumini*). Agritech, Yogyakarta.
- Lazze, M.C., Pizzala, R., Savio, M., Stivala, L.A., Prospero, E., Bianchi, L. 2003. *Anthocyanins* Protect Against DNA Damage Induced by *Tert-butyl hydroperoxide* in Rat Smooth Muscle and Hepatoma Cells. Mutation Research 535: 103-115.
- Libriani, R. 2007. Kajian Imunopatologi Sistem Limforetikuler Mencit (*Mus musculus*) pada Persembuhan Luka Operasi dengan Pemberian Minyak Obat Luka Rantau [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Lin, W.L., Hsieh, Y.J., Chou, F.P., Wang, C.J., Cheng, M.T., Tseng, T.H. 2003. *Hibiscus* Protocatechuic Acid Inhibits *Lipopolysaccharide* Induced Rat Hepatic Damage. *Arch. Toxicol*77: 42-47.
- Liu, C.L., Wang, J.M., Chu, C.Y., Cheng, M.T., Tseng, T.H. 2002. *In vivo* Protective Effect of Protocatechuic Acid on *Tert-butyl hydroperoxide*-Induced Rat Hepatotoxicity. *Food Chem. Toxicol*40: 635-641.
- Lu, F.C. 1995. Toksikologi Dasar, Azas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko. Edisi Kedua. Jakarta: Penerbit UI. Hal 224-235.
- Mahadevan, N., Shivali, and Kamboj, P. 2009. *Hibiscus sadbariffa* Linn. – An Overview, *Review Paper Natural Product Radiance*, 8(1), 77-78.

- Mardiah dan Alifa. 2009. *Budidaya dan Pengolahan Rosella Si Merah Segudang Manfaat*. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Maryani, H. dan L. Kristiana. 2008. Khasiat dan Manfaat Rosella. Dalam: Astuti, Purwa, Penyunting. Edisi ke-2. Jakarta : PT. Agromedia Pustaka. Hal 2-4, 6-7, 25-27
- McKee, T. and J.R. McKee. 2003. *Biochemistry: The Molecular Basis of Life*. Edisi III. Boston: The Mc Graw-Hill. Hal.68-71.
- Mescher, A.L, 2010. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas, 12th Ed, United States: The Mc Graw-Hill Companies, <http://www.accessmedicine.com>*
- Mills, S.E. 2007. *Histology for pathologists, 3rd Ed, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, Pp. 686-691.*
- MSDS (Material Safety Data Sheet). 2005. Lead : Health, Safety and Environmental Departement. Canada Metal.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi Dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan *Hematoksin Eosin (H.E)*. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti 1001. Bogor.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., and Rodwell V.W. 2000. *Biokimia Harper*. Edisi 25. Jakarta :EGC. hal: 609-612.
- Ngatidjan. 1991. Petunjuk Laboratorium Metode Laboratorium. Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM. Yogyakarta.pp: 94-152.
- Nurfarida, D. 2006. Kasiat Bunga Rossela. <http://www.tanamanherbal.com> (27 Juni 2009)
- Ojokoh, O.A. 2006. Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Calyx Diet and Histopatological Changes in Liver Albino Rats. *J Food Tec* 5(2): 110-113.
- Olaleye, M.T. 2007. Cytotoxicity and Antibacterial Activity of Methanolic Extract of *Hibiscus sabdariffa*. Federal University of Technology, Nigeria: 10-13.
- Pagoray, H. 2001. *Kandungan Merkuri dan Kadmium Sepanjang Kali Donan Kawasan Industri Cilacap*. FRONTIR (33). Diambil dari: <http://unmul.ac.id/dat/pub/frontir/henny.pdf>. (20 Juli 2015)
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta :Rineka Cipta.
- Patrick, L. 2006. The Role of Free Radical Damage and The use of Antioxidants in The Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Alternative Medical Review*. 11(2): 114-127

- Pham-Huy, L.A.P., He, H., Pham-Huy, C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*4: 89-96.
- Price, S.A and Wilson, L.M. 1989. Patofisiologi. Edisi 2, Bagian 1. Terjemahan: Adji Dharma. EGC. Jakarta. Hal: 20-23
- Raharjo, M. 2009. Dampak Pencemaran Udara Pada Lingkungan dan Kesehatan Manusia. Balai Lingkungan Hidup Kota Semarang
- Recanelli, V., B. Rehemann. 2006. The Liver as an Immunological Organ. *Hepatology* 43(2):1.
- Ressang, A. A. 1984. *Patologi Khusus Veteriner Edisi 2*. N. V Percetakan. Bali.
- Riyatun, S. W. di Sugiarti, A.D. Wijayadan Y. Sardjono. 2004. Indikasi Pencemaran Merkuri (Hg) di Sungai Bengawan Solo. *BioSMART* 6 (2) : 138-142.
- Robbins dan Kumar. 1995. Buku Ajar Patologi Anatomi I. Edisi IV. Alih Bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, pp: 8-10
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan Penyelamat Sel-sel Tubuh Manusia. *BioTrends* 4 (1): 5-1
- Rosita, Y. 2011. Dampak Plumbum Dosis Tunggal Terhadap Gambaran Sel Hati pada Mencit (*Mus musculus* L.). *Syifa MEDIKA*. Vol 1, No 2.
- Ross, M. H, and Pawlina W. 2011. *Histology: A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*, 6th ED, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, Pp. 628-636.
- Rush, J.W.E., S.G. Denniss. and D.A. Graham. 2005. Vascular Nitric Oxide and Oxidative Stress: Determinants of Endothelial Adaptations to Cardiovascular Disease and to Physical Activity. *Canadian Journal of Applied Physiology*.30(4): 442-474.
- Sartini, L. Christiana dan Frengky. 2014. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dari Infus Kelopak Bunga Rosella yang Difermentasi dengan *Lactobacillus*. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 7, No. 1
- Saryan, L.A and Zenz C. 1994. Lead and Its Compounds. In : *Occupational Medicine*. Edisi 3. New York : 506-539.
- Shalilah, P.A. 2008. Kemampuan Ekstrak Kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) untuk Mencegah Kerusakan Jaringan Testis Mencit (*Mus*

- musculus*) Akibat induksi 2- methoxyethanol. Universitas Airlangga, Surabaya
- Sipos, P., Szentmihalyi, K., Feher, E., Abaza, M., Szilagy, M., Blazovics, A. 2003. Some Effects of Lead Contamination on Liver and Gallbladder Bile. *Acta Biologica Szegediensis*. 47(1-4): 139-142
- Siregar, P. R. 2004. Hasil – hasil Penelitian Menunjukkan Pencemaran di Teluk Buyat Diambil dari: http://www.walhi.or.id/kampanye/tambang/buanglimbah/040725_penelitianpenchuyat_Li. (28 Juli 2015)
- Snell, R.S, 2011. Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem, Penerjemah: L Suiarto, Jakarta: EGC, Hal. 122-127.
- Sokol, R.Z, Madding C.E, and Swerdloff. 1985. Lead Toxicity and The *Hypothalamic-piyuitary-testicular axis*. *Biology of Reproduction* 33: 722-728.
- Suciani, S. 2007. Kadar Timbal Dalam Darah Polisi Lalu Lintas dan Hubungannya dengan Kadar Hemoglobin (Studi Pada Polisi Lalu Lintas yang Bertugas di Jalan Raya Kota Semarang) Diambil dari:http://eprints.undip.ac.id/15877/1/Sri_Suciani.pdf. [Diakses Maret 2015].
- Sudiono,J., Kurniadhi B., Hendrawan A., dan Djimantoro B. 2001. Penuntun Praktikum Patologi Anatomi. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Suryohudoyo, P. 2000. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Perpustakaan Nasional RI. Jakarta. Penerbit CV Sagung Seto.hal: 31-47.
- Suwandi T, 2012. Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosella Menurunkan *Malondialdehid* Pada Tikus yang diberi Minyak Jelantah, Thesis : Program Pascasarjana Universitas Udayana, Bali
- Swarayana, I.M.I, I.W. Sudiradan I.K. Berata. 2012. Perubahan Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Ekstrak Daun Ashibata. *Buletin Veteriner Udayana* 4(2) : 199-125.
- Syahrizal D, 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap *Enzim transaminase* dan Gambaran Histopatologis Hati Mencit yang Dipapar *Plumbum*, Tesis Program Pascasarjana, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Szocs, K. 2004. Endothelial Dysfunction and Reactive Oxygen Species Production in Ischemia / Reperfusion and Nitrate Tolerance.*General Physiology Biophysics*. 23: 265-295

- Tanjong, A. 2011. Pengaruh Konsetrasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sadbariffa* Linn.) Terhadap Koloni *Candida albicans* yang Terdapat Pada Plat Gigi Tiruan. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin
- Usoh, I.F., E.J.Akpan, E.O. Etim and E.O. Farombi. 2005. Antioxidant Action of Dried Flower Extract of *Hibiscus sabdariffa* L. on Sodium Arsenite-Induced Oxidative Stress in Rats. *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol 4 (3) : 134 – 141.
- Utami, T.S., Arbianti, R., Hermansyah, H., Reza, A., Rini. 2009. Perbandingan Aktifitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpupur (*Dilleniaindica*) dari Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA. Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia-SNTKI 2009. pp:1-4.
- Wardanela, M. 2008. Studi Histopatologi Pengaruh Pemberian Enterotoksin Enterobacter sakazaki Pada Mencit (*Mus musculus*) Neotatus. Skripsi, Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Wardhayani, S. 2006. Analisis Risiko Pencemaran Bahan Toksik Timbal (Pb) Pada Sapi Potong Di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah Jatibarang [Tesis]. Fakultas Kesehatan Lingkungan. Universitas Diponegoro
- Wibawan, I.W.T., D.S. Retno, C.S. Damayanti, dan T.B. Tauffani. 2003. Diktat Imunologi. FKH-IPB. Bogor: IPB Press.
- Winarno, F.G. 2008. Kimia Pangan dan Gizi. Bogor : Mbrion Press.
- Wiyarsi, A. 2010. Khasiat Bunga Rosella (*Hibiscus sadbariffa* L). Tersedia: <http://staff.uny.ac.id/sites/default/files/tmp/PPM%20%Bunga%Rosella.pdf>, diakses 25 Agustus 2015.
- WHO - World Health Organization. 1997. Lead Environmental Health Criteria No. 3. Geneva. WHO
- Wulandari, T., M. Harini, S. Listyawati. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Kadar *Glutamat Piruvat Transaminase* Serum Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Diazinon. *Bioteknologi* 4.4(2): 53-58.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Penentuan Dosis Konversi

1. Penentuan dosis *Pb asetat*

Σ mencit	= 25 ekor
BB mencit	= 20 – 25 gram
Pemberian	= 20 mg/kg BB
20 mg/1000 g BB	= 0,02 mg/g BB/20 g BB
	= 0,4mg/ekor

2. Penghitungan Dosis Rosella

- **Dosis 200 mg/kg BB** = 200 mg/1000 g BB / 20 g BB
= 4 mg/ekor
- **Dosis 400 mg/kg BB** = 400 mg/1000 gram BB / 20 g BB
= 8 mg/ekor
- **Dosis 800 mg/kg BB** = 800 mg/1000 gram BB
= 16 mg/ekor

Lampiran 2. Pembuatan dan Pewarnaan Sediaan Histopatologi Organ Hepar

Proses pembuatan preparat histopatologi hepar dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya melalui tahapan – tahapan sebagai berikut :

- 1) Proses Fiksasi (perendaman jaringan dalam bahan pengawet yaitu larutan *Bufferd Neutral Formalin* (BNF) 10% dengan pH berkisar 6,5 - 7,5. Perbandingan antara organ dan larutan yaitu 1 : 10 supaya fiksasi jaringan dengan larutan tersebut berlangsung sempurna dengan waktu fiksasi minimal dua hari (Muntiha, 2001).
- 2) Proses Dehidrasi dilakukan bertahap dengan menggunakan alat auto technicon selama 20 jam menggunakan ethanol 70% selama 1 jam, ethanol 80% selama 2 jam , ethanol 90% selama 2 jam, ethanol absolut selama 2 jam, alkohol absolut selama 2 jam.
- 3) Proses Clearing (Penjernihan) yang bertujuan mentransparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan menggunakan larutan xylol selama 1 jam, xylol selama 2 jam dan xylol selama 2 jam.
- 4) Proses Impregnasi dengan tujuan menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (embedding) menggunakan paraffin cair selama 2 jam dengan suhu $56^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$, paraffin cair selama 2 jam dengan suhu $56^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$.
- 5) Proses Embedding (pengeblokan) menggunakan tissue embedding dengan tujuan memudahkan penyayatan dengan mikrotom
- 6) Penyayatan bahan yang sudah diblok dimasukkan ke dalam water bath dengan temperatur 40°C .

- 7) Pewarnaan HE dilakukan secara berurutan:
- a) Deparafinisasi dengan memasukkan hasil sayatan jaringan secara urut ke dalam larutan xylol selama 5 menit, xylol selama 5 menit, xylol selama 5 menit
 - b) Hidrasi menggunakan larutan alkohol absolut selama 4 menit, alkohol 96% selama 3 menit, alkohol 90% selama 3 menit, alkohol 80% selama 2 menit, alkohol 70% selama 2 menit kemudian letakkan dalam air yang mengalir selama 10 menit.
 - c) Cat utama menggunakan *Mayer's Hematoksilin* atau *Harris's Hematoksilin* selama 5 menit
 - d) Cat pembanding menggunakan larutan eosin 1% selama 3 - 5 menit.
 - e) Dehidrasi menggunakan alkohol 70% selama 2 menit, alkohol 80% selama 2 menit, alkohol 90% selama 3 menit, alkohol 96% selama 4 menit, alkohol absolut selama 5 menit.
 - f) Clearing menggunakan larutan xylol selama 5 menit, xylol selama 5 menit, xylol selama 5 menit,
 - g) Mounting dengan entelan atau Canada balsam
 - h) Pengamatan di bawah mikroskop.

Lampiran 3. Data Hasil Pemeriksaan Derajat Kerusakan Histopatologi Hepar

Perlakuan	N	Nekrosis	Degenerasi	Aktifasi Sel Kupffer	Dilatasi Sinusoid	Total Kerusakan
K(-)	1	3	5	0	2	10
	2	3	0	3	5	11
	3	2	0	1	2	5
	4	2	0	3	2	7
	5	4	3	3	1	11
K(+)	1	9	3	4	4	20
	2	6	4	3	4	17
	3	7	3	5	7	22
	4	8	10	8	7	33
	5	3	4	8	4	19
P1	1	6	2	4	6	18
	2	4	0	2	4	10
	3	2	2	3	2	9
	4	4	2	3	4	13
	5	4	1	4	5	14
P2	1	4	2	3	1	10
	2	4	2	2	2	10
	3	4	2	1	3	10
	4	5	4	3	4	16
	5	4	6	4	3	17
P3	1	7	2	2	3	14
	2	6	1	3	4	14
	3	7	5	3	2	17
	4	7	4	3	3	17
	5	7	2	1	3	13

Penilaian derajat kerusakan hepar menurut kriteria Arsad *et al.* (2014) dengan ketentuan: Skor 0 = Tidak terdapat perubahan; Skor 1 = Kerusakan < 30%; Skor 2 = Kerusakan 30% - 50%; Skor 3 = Kerusakan > 50%. Kriteria penilaian kerusakan yang diamati adalah nekrosis, degenerasi, aktivasi sel *kupffer* dan dilatasi sinusoid.

Lampiran 4. Hasil analisis statistik dengan program *spss 16 for windows***1 Analisis Statistik Nekrosis****NPar Tests****Kruskal-Wallis Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank
Nekrosis	1	5	4.90
	2	5	18.40
	3	5	10.10
	4	5	11.40
	5	5	20.20
	Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Nekrosis
Chi-Square	15.225
df	4
Asymp. Sig.	.004

Means**Case Processing Summary**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Nekrosis * Perlakuan	25	100.0%	0	.0%	25	100.0%

Report

Nekrosis

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation
1	2.80	5	.837
2	6.60	5	2.302
3	4.00	5	1.414
4	4.20	5	.447
5	6.80	5	.447
Total	4.88	25	1.986

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	1	5	3.40	17.00
	2	5	7.60	38.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-2.227
Asymp. Sig. (2-tailed)	.026
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	1	5	4.10	20.50
	3	5	6.90	34.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	20.500
Z	-1.534
Asymp. Sig. (2-tailed)	.125
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	1	5	3.40	17.00
	4	5	7.60	38.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-2.356
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	1	5	3.00	15.00
	5	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.712
Asymp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	2	5	7.10	35.50
	3	5	3.90	19.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.697
Asymp. Sig. (2-tailed)	.090
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	2	5	7.00	35.00
	4	5	4.00	20.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	20.000
Z	-1.616
Asymp. Sig. (2-tailed)	.106
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	2	5	5.70	28.50
	5	5	5.30	26.50
Total		10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	11.500
Wilcoxon W	26.500
Z	-.224
Asymp. Sig. (2-tailed)	.823
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	3	5	5.20	26.00
	4	5	5.80	29.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.386
Asymp. Sig. (2-tailed)	.700
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	3	5	3.10	15.50
	5	5	7.90	39.50
Total		10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	15.500
Z	-2.629
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	4	5	3.00	15.00
	5	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

2. Analisis Statistik Degenerasi**NPar Tests****Kruskal-Wallis Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank
Degenerasi	1	5	9.20
	2	5	19.20
	3	5	7.90
	4	5	15.00
	5	5	13.70
	Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Degenerasi
Chi-Square	8.037
df	4
Asymp. Sig.	.090

Means**Case Processing Summary**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Degenerasi * Perlakuan	25	100.0%	0	.0%	25	100.0%

Report**Degenerasi**

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation
1	1.60	5	2.302
2	4.80	5	2.950
3	1.40	5	.894
4	3.20	5	1.789
5	2.80	5	1.643
Total	2.76	25	2.241

3. Analisis Statistik Aktivasi Sel Kupffer

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Aktivasi_Sel_Kuffer	1	5	8.60
	2	5	21.10
	3	5	14.60
	4	5	11.10
	5	5	9.60
	Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Chi-Square	10.440
df	4
Asymp. Sig.	.034

Means

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Aktivasi_Sel_Kuffer * Perlakuan	25	100.0%	0	.0%	25	100.0%

Report

Aktivasi_Sel_Kuffer

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation
1	2.00	5	1.414
2	5.60	5	2.302
3	3.20	5	.837
4	2.60	5	1.140
5	2.40	5	.894
Total	3.16	25	1.841

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	1	5	3.30	16.50
	2	5	7.70	38.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.378
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	1	5	4.20	21.00
	3	5	6.80	34.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.453
Asymp. Sig. (2-tailed)	.146
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	1	5	4.90	24.50
	4	5	6.10	30.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	9.500
Wilcoxon W	24.500
Z	-.671
Asymp. Sig. (2-tailed)	.502
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test
Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	1	5	5.20	26.00
	5	5	5.80	29.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.354
Asymp. Sig. (2-tailed)	.723
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	2	5	7.20	36.00
	3	5	3.80	19.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.826
Asymp. Sig. (2-tailed)	.068
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	2	5	7.50	37.50
	4	5	3.50	17.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-2.128
Asymp. Sig. (2-tailed)	.033
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

NPar Test
Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	2	5	7.70	38.50
	5	5	3.30	16.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.378
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	3	5	6.30	31.50
	4	5	4.70	23.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-.876
Asymp. Sig. (2-tailed)	.381
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	3	5	6.70	33.50
	5	5	4.30	21.50
Total		10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	21.500
Z	-1.346
Asymp. Sig. (2-tailed)	.178
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Aktivasi_Sel_Kuffer	4	5	5.80	29.00
	5	5	5.20	26.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Aktivasi_Sel_Kuffer
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.736
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

4. Analisis Statistik Dilatasi Sinusoid

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Dilatasi_Sinusoid	1	5	7.90
	2	5	20.00
	3	5	16.80
	4	5	9.20
	5	5	11.10
	Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Dilatasi_Sinusoid
Chi-Square	10.378
df	4
Asymp. Sig.	.035

Means

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Dilatasi_Sinusoid * Perlakuan	25	100.0%	0	.0%	25	100.0%

Report

Dilatasi_Sinusoid

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation
1	2.40	5	1.517
2	5.20	5	1.643
3	4.20	5	1.483
4	2.60	5	1.140
5	3.00	5	.707
Total	3.48	25	1.636

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	1	5	3.60	18.00
	2	5	7.40	37.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	18.000
Z	-2.041
Asymp. Sig. (2-tailed)	.041
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	1	5	4.00	20.00
	3	5	7.00	35.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	20.000
Z	-1.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.104
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	1	5	5.00	25.00
	4	5	6.00	30.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-.542
Asymp. Sig. (2-tailed)	.588
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	1	5	4.30	21.50
	5	5	6.70	33.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	21.500
Z	-1.310
Asymp. Sig. (2-tailed)	.190
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	2	5	6.20	31.00
	3	5	4.80	24.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.783
Asymp. Sig. (2-tailed)	.434
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	2	5	7.70	38.50
	4	5	3.30	16.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.386
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	2	5	7.70	38.50
	5	5	3.30	16.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.410
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	3	5	7.10	35.50
	4	5	3.90	19.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.702
Asymp. Sig. (2-tailed)	.089
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	3	5	6.90	34.50
	5	5	4.10	20.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	20.500
Z	-1.504
Asymp. Sig. (2-tailed)	.133
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dilatasi_Sinusoid	4	5	5.00	25.00
	5	5	6.00	30.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Dilatasi_Sinusoid
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-.561
Asymp. Sig. (2-tailed)	.575
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 ^a

5 Analisis Statistik Total Kerusakan**NPAR TESTS****Kruskal-Wallis Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank
Total_Kerusakan	1	5	5.60
	2	5	22.50
	3	5	11.10
	4	5	10.50
	5	5	15.30
	Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Total_Kerusakan
Chi-Square	14.992
df	4
Asymp. Sig.	.005

Means**Case Processing Summary**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Total_Kerusakan * Perlakuan	25	100.0%	0	.0%	25	100.0%

Report**Total_Kerusakan**

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation
1	8.80	5	2.683
2	22.20	5	6.301
3	12.80	5	3.564
4	12.60	5	3.578
5	15.00	5	1.871
Total	14.28	25	5.756

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	1	5	3.00	15.00
	2	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	1	5	4.10	20.50
	3	5	6.90	34.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	20.500
Z	-1.471
Asymp. Sig. (2-tailed)	.141
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	1	5	4.50	22.50
	4	5	6.50	32.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	22.500
Z	-1.081
Asymp. Sig. (2-tailed)	.280
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	1	5	3.00	15.00
	5	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.635
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	2	5	7.80	39.00
	3	5	3.20	16.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.402
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	2	5	7.90	39.50
	4	5	3.10	15.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	15.500
Z	-2.546
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	2	5	7.80	39.00
	5	5	3.20	16.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.440
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	3	5	5.50	27.50
	4	5	5.50	27.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	3	5	4.50	22.50
	5	5	6.50	32.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	22.500
Z	-1.064
Asymp. Sig. (2-tailed)	.287
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^a

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total_Kerusakan	4	5	4.40	22.00
	5	5	6.60	33.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Total_Kerusakan
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	22.000
Z	-1.182
Asymp. Sig. (2-tailed)	.237
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^a

Lampiran 5. Penentuan Notasi Subscribe

1. Nekrosis

	P3	K(+)	P2	P1	K(-)
a	_____				
b	_____				
c	_____				

2. Aktifasi Sel Kupffer

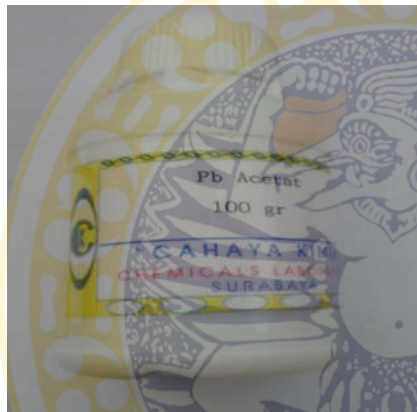
	K(+)	P1	P2	P3	K(-)
a	_____				
b	_____				
c	_____				

3. Dilatasi Sinusoid

	K(+)	P1	P3	P2	K(-)
a	_____				
b	_____				
c	_____				

4. Total Kerusakan

	K(+)	P3	P1	P2	K(-)
a	_____				
b	_____				
c	_____				

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian**Ekstrak Bunga Rosella****Dosis Ekstrak Bunga Rosella****Pb acetat****Hewan Coba Mencit****Mortir dan Stemper****Sonde Lambung 1 mL**