

**EFEK KOMBINASI *Curcuma xanthorrhiza* DAN *Nigella sativa*
TERHADAP EKSPRESI *HEPATOCTYTE GROWTH FACTOR- α*
DAN PROLIFERASI HEPATOSIT PADA TIKUS YANG DIINDUKSI
CCI₄**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh :

Erlie Lindawati Poernomo

NIM: 125070500111016

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**EFEK KOMBINASI *Curcuma xanthorrhiza* DAN *Nigella sativa*
TERHADAP EKSPRESI *HEPATOCTYTE GROWTH FACTOR- α*
DAN PROLIFERASI HEPATOSIT PADA TIKUS YANG DIINDUKSI
CCI₄**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh :

Erlie Lindawati Poernomo

NIM: 125070500111016

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak.....	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat.....	5

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hati.....	6
2.1.1 Pengertian Hati.....	6
2.1.2 Struktur Hati.....	7
2.1.3 Enzim Hati.....	10
2.2 Fibrosis Hati.....	11
2.2.1 Pengertian Fibrosis Hati.....	11
2.2.2 Etiologi Fibrosis Hati.....	12
2.2.3 Prevalensi Fibrosis Hati.....	13
2.2.4 Patofisiologi Fibrosis Hati.....	14
2.2.5 Agen Anti-Fibrogenik Hati.....	20
2.3 Regenerasi Hati.....	21
2.3.1 Proses Regenerasi Hati.....	21
2.3.2 Agen-Agen Pemicu Regenerasi Hati.....	24
2.3.2.1 Penghambat <i>Angiotensin-converting Enzyme</i>	24
2.3.2.2 Oroxylin A.....	24
2.3.2.3 <i>Elephantopus scaber</i>	25
2.4 Karbon Tetraklorida (CCl ₄).....	25
2.4.1 Pengertian Karbon Tetraklorida.....	25

2.4.2 Toksisitas CCl ₄	26
2.4.3 Model Hewan Coba Fibrosis Hati dengan CCl ₄	29
2.5. <i>Hepatocyte Growth Factor</i> (HGF).....	32
2.5.1 Pengertian HGF.....	32
2.5.2 Pengaruh HGF terhadap Fibrosis.....	33
2.5.3 Peran HGF dalam Regenerasi Hati.....	36
2.6 Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>).....	39
2.6.1 Pengertian Temulawak.....	39
2.6.2 Morfologi Tanaman Temulawak.....	40
2.6.3 Taksonomi Tanaman Temulawak.....	40
2.6.4 Kandungan dalam Tanaman Temulawak.....	41
2.6.5 Efek Temulawak terhadap Fibrosis.....	42
2.6.6 Efek Temulawak terhadap Regenerasi.....	43
2.7 Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	44
2.7.1 Pengertian Jintan Hitam.....	44
2.7.2 Morfologi Tanaman Jintan Hitam.....	45
2.7.3 Taksonomi Tanaman Jintan Hitam.....	45
2.7.4 Kandungan dalam Tanaman Jintan Hitam.....	45
2.7.5 Efek Jintan Hitam terhadap Fibrosis.....	48
2.8 Silymarin.....	50
2.8.1 Pengertian Silymarin.....	50
2.8.2 Kandungan Silymarin.....	50
2.8.3 Efek Silymarin terhadap Fibrosis.....	51
2.8.4 Efek Silymarin terhadap Regenerasi.....	52
2.9 <i>L-Ornithin-L-Aspartate</i> (LOLA).....	53
2.9.1 Pengertian LOLA.....	53
2.9.2 Efek terhadap Regenerasi.....	54

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep.....	55
3.2 Hipotesis Penelitian.....	57

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian.....	59
4.2 Subjek dan Sampel Peneliti.....	59
4.2.1 Kriteria dan Teknik Pengambilan Sampel.....	59
4.2.2 Besaran Sampel.....	59
4.2.3 Kelompok Penelitian.....	60
4.3 Variabel Penelitian.....	63
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	63
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	64
4.5.1 Pemeriksaan Fitokimia.....	64
4.5.2 Perawatan Hewan Coba.....	64
4.5.3 Induksi CCl ₄ dan Pemberian Terapi pada Hewan Coba.....	64
4.5.4 Induksi 5-Bromo-2'- <i>deoxyuridine</i> (BrdU).....	64
4.5.5 Pembedahan Hewan Coba.....	65
4.5.6 Pengukuran Variabel Tergantung.....	65
4.6 Definisi Operasional.....	65

4.7	Prosedur Penelitian.....	67
4.7.1	Pemeriksaan Fitokimia.....	67
4.7.1.1	Pemeriksaan Alkaloid	67
4.7.1.2	Pemeriksaan Triterpenoid	67
4.7.1.3	Pemeriksaan Saponin	67
4.7.1.4	Pemeriksaan Flavonoid	68
4.7.1.5	Pemeriksaan Tanin dan Polifenol.....	68
4.7.1.6	Pemeriksaan Minyak Atsiri	68
4.7.2	Perawatan Hewan Coba	68
4.7.3	Induksi Fibrosis dengan CCl ₄ dan Pemberian Terapi	69
4.7.4	Injeksi 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU).....	69
4.7.5	Pembedahan Hewan Coba.....	69
4.7.6	Pengukuran Variabel Tergantung	70
4.8	Analisa Data.....	73
4.9	Alur Penelitian	75

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1	Hasil Uji Kualitatif Fitokimia.....	76
5.2	Eksprei <i>Hepatocyte Growth Factor-α</i> (HGF- α).....	77
5.3	Proliferasi Hepatosit.....	81
5.4	Analisis Hasil.....	86

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1	Uji Fitokimia Kombinasi Ekstrak <i>Curcuma xanthorrhiza</i> dan <i>Nigella sativa</i>	88
6.2	Efek terhadap Eksprei <i>Hepatocyte Growth Factor-α</i>	88
6.2.1	Efek Kombinasi <i>Curcuma xanthorrhiza</i> dan <i>Nigella sativa</i> terhadap Eksprei <i>Hepatocyte Growth Factor-α</i>	88
6.2.2	Efek Silymarin terhadap Eksprei <i>Hepatocyte Growth Factor-α</i>	89
6.2.3	Efek LOLA terhadap Eksprei <i>Hepatocyte Growth Factor-α</i>	89
6.3	Efek terhadap Proliferasi Hepatosit.....	90
6.3.1	Efek Kombinasi <i>Curcuma xanthorrhiza</i> dan <i>Nigella sativa</i> terhadap Proliferasi Hepatosit	91
6.3.2	Efek Silymarin terhadap Proliferasi Hepatosit.....	93
6.3.3	Efek LOLA terhadap Proliferasi Hepatosit	94
6.4	Hubungan Peningkatan Eksprei HGF- α dan Proliferasi Hepatosit.....	94

BAB 7 PENUTUP

7.1	Kesimpulan.....	97
7.2	Saran	97

DAFTAR PUSTAKA	99
-----------------------------	----

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Hati	7
Gambar 2.2 Pewarnaan <i>Hematoxylin-Eosin</i> pada Hati Tikus Kelompok Kontrol dan Kelompok Ccl_4 Masing-Masing dengan Skala 1 : 250 μm	8
Gambar 2.3 Pewarnaan Imunohistokimia Ekspresi CYP2E pada Hati Tikus	10
Gambar 2.4 Perubahan yang Muncul pada Jaringan Hati Normal dan Hati dengan Fibrosis Berat	17
Gambar 2.5 Diagram Sistematis Respon Jejas Hati Akut pada Daerah Sekitar Vena Sentral	19
Gambar 2.6 Sel-Sel Endotel Sinusoid Hati dalam Keadaan Normal, Fibrosis dan Regenerasi	22
Gambar 2.7 Struktur Kimia Karbon Tetraklorida	26
Gambar 2.8 Jalur Biotransformasi Ccl_4	28
Gambar 2.9 Gambaran Tiga Dimensi Kolagen Sel Endotel Manusia yang Distimulasi HGF	35
Gambar 2.10 Hasil Imunohistokimia HGF pada Jaringan Hati	37
Gambar 2.11 Jalur Pensinyalan Faktor Pertumbuhan Saat Regenerasi Hati	38
Gambar 2.12 Struktur Kimia Kurkumin, Desmetoksi-Kurkumin dan Bisdesmetoksi-Kurkumin	41
Gambar 2.13 Struktur Kimia Xanthorrhizol	42
Gambar 2.14 Struktur Flavolignan dalam Silymarin	51
Gambar 2.15 Silymarin Meningkatkan Regenerasi Hati, Bekerja pada Siklus Sel	53
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	55
Gambar 4.1 Alur Penelitian	75
Gambar 5.1 Ekspresi <i>Heptaocyte Growth Factor-α</i> pada Pewarnaan Imunohistokimia	78
Gambar 5.2 Grafik Rata-rata Ekspresi HGF- α	80

Gambar 5.3	Proliferasi Hepatosit yang Dilabel BrdU pada Pewarnaan Imunohistokimia	82
Gambar 5.4	Grafik Rata-rata Proliferasi Hepatosit	85
Gambar 6.1	Ilustrasi Ikatan pada HGF heterodimer	96

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Tipe Sel dalam Jaringan Hati dan Fungsinya	9
Tabel 2.2 Faktor yang Berperan dalam Perkembangan Penyakit Hati	12
Tabel 2.3 Faktor-Faktor Endogen yang Meregulasi Fibrogenesis Hati	18
Tabel 2.4 Penelitian Menggunakan Agen Antifibrogenik Hati	20
Tabel 2.5 Model Hewan Fibrosis Hati, Sistem Aktivasi dan Mekanisme	29
Tabel 2.6 Tingkat Progresivitas Penyakit Hati Setelah Diinduksi Ccl ₄	31
Tabel 2.7 Hasil Penelitian Menggunakan Hewan Coba Tanpa HGF dan c- Met	39
Tabel 2.8 Konstituen Aktif <i>Nigella Sativa</i>	46
Tabel 2.9 Kandungan Nutrisi dan Kandungan Aktif <i>Nigella Sativa</i>	47
Tabel 4.1 Desain Eksperimen dan Hewan Coba	60
Tabel 4.2 Konversi Dosis	61
Tabel 5.1 Hasil Uji Kualitatif Fitokimia	76
Tabel 5.2 Gambar dan Keterangan Hepatosit yang Mengekspresikan <i>Hepatocyte Growth Factor-α</i>	78
Tabel 5.3 Rata-rata dan Simpangan Baku Ekspresi HGF- α	79
Tabel 5.4 Gambar dan Keterangan Proliferasi Hepatosit	83
Tabel 5.5 Rata-rata dan Simpangan Baku Proliferasi Hepatosit	84

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Keterangan Laik Etik Penelitian.....	107
Lampiran 2	Dokumentasi Uji Kualitatif Fitokimia Jamu Kombinasi <i>Curcuma xanthorrhiza</i> dan <i>Nigella sativa</i>	108
Lampiran 3	Tahapan Analisis Hepatosit yang Positif Mengalami Proliferasi Menggunakan ImageJ	109
Lampiran 4	Ekspresi <i>Hepatocyte Growth Factor-α</i>	113
Lampiran 5	Proliferasi Hepatosit	133
Lampiran 6	Hasil Statistik Ekspresi <i>Hepatocyte Growth Factor-α</i>	153
Lampiran 7	Hasil Statistik Proliferasi Hepatosit.....	155
Lampiran 8	Pernyataan Keaslian Tulisan.....	157
Lampiran 9	Dokumentasi Penelitian.....	158

DAFTAR SINGKATAN

SINGKATAN

LOLA	: <i>L-ornithin-L-aspartate</i>
UDCA	: <i>Asam Ursodeoksilat</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
TGF- α	: <i>Transforming Growth Factor-α</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
ACE	: <i>Angiotensin Converting Enzyme</i>
c-Met	: <i>protein tirosin kinase Met</i>
PXR	: <i>Pregnane X Receptor</i>
TLR4	: <i>Toll-like Receptor 4</i>
PI3K	: <i>phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)</i>
PT	: <i>PortalTract (Saluran Portal)</i>
PV	: <i>Periportal Venule (Vena Porta)</i>
BD	: <i>Bile Duct (Kandung Empedu)</i>
CV	: <i>Central Vein (Vena Sentral)</i>
CCl ₄	: <i>Carbon Tetrachloride (Karbon Tetraklorida)</i>
HSC	: <i>Hepatic Stellate Cell (Sel Stelata Hepatik)</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NKT	: <i>Natural Killer T</i>
CYP	: <i>Cytochrome P450 (Sitokrom P450)</i>
CYP2E	: <i>Cytochrome P450 Family 2 Subfamily E</i>
ECM	: <i>ExtracellularMatrix (Matriks Ekstraselular)</i>
HFE	: <i>Human Hemochromatosis Gene (Gen Hematokromatosis)</i>
TGF- β 1	: <i>Transforming Growth Factorβ1</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factorα</i>
ApoE	: <i>Apolipoprotein E</i>
MEH	: <i>Microsomal Epoxide Hydrolase (Hidrolase Epoksida Mikrosomal)</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemotactic Protein-1 (Protein Kemotaktik Monosit Tipe 1)</i>
MCP-2	: <i>Monocyte Chemotactic Protein-2 (Protein Kemotaktik Monosit Tipe 2)</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
ADH	: <i>Alcohol Dehydrogenase</i>
ALDH	: <i>Aldehyde Dehydrogenase</i>
CTLA-4	: <i>Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4 (Antibodi Limfosit T Sitotoksik tipe 4)</i>
TAP2	: <i>Transporter-associated Antigen Processing type 2</i>
MnSOD	: <i>Manganase Superoxide Dismutase</i>
HLA	: <i>Human Leucocyte Antigen</i>
GGT	: <i>Gamma Glutamil-Transpeptidase</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
NO	: <i>Nitric Oxide (Nitrit Oksida)</i>
ET-1	: <i>Endothelin-1</i>

PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
HIF-1	: <i>Hypoxia-inducible factor-1</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TIMP	: <i>Tissue Inhibitors of Metalloproteinase</i>
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
PA	: <i>Periportal Arteriole</i>
IFN- α	: <i>Interferon Alfa</i>
IFN- γ	: <i>Interferon Gamma</i>
PPAR γ	: <i>Peroxisome-Proliferator-Activated Receptor- γ</i>
FXR	: <i>Farnesoid X Receptor</i>
AT	: <i>Angiotensin</i>
CAMP	: <i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
SCF	: <i>Stem Cell Factor</i>
C3a	: protein hasil pembelahan komponen komplemen3
C5a	: protein hasil pembelahan komponen komplemen5
HB-EGF	: <i>heparin-binding EGF-like growth factor</i>
α -SMA	: <i>α-Smooth Muscle Actin</i>
AR	: <i>amphiregulin</i>
LSEC	: <i>Liver Sinusoidal Endothelium Cell</i> (Sel endotel sinusoid hati)
LPS	: Lipopolisakarida
T3	: Triiodothyronine
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i> (Asam Deoksiribonukleat)
AT-1	: reseptor angiotensin II tipe 1
mRNA	: <i>Messenger-Ribonucleic Acid</i>
IGF	: <i>Insulin Growth Factor</i>
CCl ₃	: <i>Trichloromethyl</i> (Triklorometil)
CCl ₃ OO	: <i>Trichlorometyl-Peroxy</i> (Triklorometil-Peroksi)
Ca ²⁺	: Ion Kalsium
PLA2	: <i>Phospholipase A2</i> (Fosfolipase A2)
i.p.	: Intreparitoneal
i.v.	: Intravena
ALT	: <i>Alanin Transaminase</i> (Alanin Transaminase)
ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i> (Alkalin Fosfat)
FMO	: <i>Flavin-containing Mono-Oxygenase</i>
AST	: <i>Aspartate Aminotransferase</i> (Aminotransferase Aspartat)
uPA	: <i>urokinase plasminogen factor</i>
Elam-1	: <i>endothelial-leukocyte adhesion molecule-1</i>
VCAM-1	: <i>vascular cell adhesion molecule-1</i>
HLA-Dr	: <i>Human Leukocyte Antigen - antigen D Related</i>
ets-1	: <i>E26 transformation-specific</i>
D-gal	: D-Galaktosamin
IgG	: Imunoglobulin G
EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
mTOR	: <i>mammalian target of rapamycin</i>
RT-PCR	: <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
PCNA	: <i>Proliferating Cell Nuclear Antigen</i>
BrdU	: 5-Bromo-2'-deoxyuridine
TUNEL	: <i>Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End Labeling</i>

TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
TBHP	: <i>Tert-Butil Hidroperoksida</i>
Akt	: <i>Serine/ threonine kinase B</i>
GSH	: <i>Glutathione (Glutation)</i>
XIAP	: <i>X linked inhibitor of apoptosis</i>
FLIP	: <i>FLICE-inhibitory protein</i>
c-FLIP _L	: <i>Cellular FLICE-inhibitory protein (L)</i>
LDH	: <i>Lactate Dehydrogenase (Laktat Dehidrogenase)</i>
NF-κB	: <i>Nuclear factor - kappa B</i>
E2F	: <i>gen pengkode faktor transkripsi</i>
pRB	: <i>protein RB (bekerja sebagai tumor supresor, meregulasi pertumbuhan sel)</i>
RAAS	: <i>renin–angiotensin-aldosterone system</i>
ERK1/2	: <i>Extracellular signal-regulated kinases 1/2</i>
STAT3	: <i>Signal transducer and activator of transcription 3,</i>
CMC	: <i>Carboxymethyl cellulose</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
TBS	: <i>Tris Buffered Saline</i>
CO ₂	: <i>Carbon Dioxide (Karbon Dioksida)</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
BCIP/ NBT	: <i>5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate/ nitro blue tetrazolium</i>
IgG-AP	: <i>Imunoglobulin G Alkaline Phosphatase-linked</i>
HCl	: <i>Hidrogen klorida</i>
Mg	: <i>Magnesium</i>