

**PENGARUH EKSTRAK GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb.)
SEBAGAI PREVENTIF FIBROSIS HEPAR PADA
TIKUS (*Rattus norvegicus*) BERDASARKAN
KADAR BILIRUBIN TOTAL DAN
ALBUMIN**

SKRIPSI



Oleh:
SARI MENTARI T
135130100111048

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH EKSTRAK GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb.)
SEBAGAI PREVENTIF FIBROSIS HEPAR PADA
TIKUS (*Rattus norvegicus*) BERDASARKAN
KADAR BILIRUBIN TOTAL DAN
ALBUMIN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

SARI MENTARI T

135130100111048



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pengaruh Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) Sebagai Preventif
Fibrosis Hepar Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan
Kadar Bilirubin Total dan Kadar Albumin**

Oleh:

SARI MENTARI T

135130100111048

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulani'am, drh. DES

NIP. 19600903 1898802 2 001

drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet

NIP. 198805182015041003

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulani'am, drh. DES

NIP. 19600903 1898802 2 001



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sari Mentari T

NIM : 135130100111048

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Pengaruh Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) Sebagai Preventif Fibrosis Hepar Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan Kadar Bilirubin Total dan Kadar Albumin.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 10 Agustus 2018

Yang menyatakan,

(Sari Mentari Tarigan)

NIM. 135130100111048

**Pengaruh Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) Sebagai Preventif
Fibrosis Hepar Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan
Kadar Bilirubin Total dan Albumin**

ABSTRAK

Fibrosis hepar merupakan salah satu akibat dari kerusakan hepar kronik yang ditandai dengan akumulasi berlebihan protein *Extracellular Matrix* (ECM) termasuk kolagen dengan gejala yang muncul seiring bertambahnya tingkat keparahan fibrosis. Pembuatan hewan model fibrosis hepar dilakukan dengan menggunakan hewan coba yang diinduksi CCl₄. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui indikasi ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai alternatif tindakan preventif pada hewan model tikus fibrosis hepar berdasarkan kadar albumin dan bilirubin total. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus jantan berumur 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram, Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan lima kelompok, kontrol positif (CCl₄), kelompok kontrol negatif, kelompok preventif dosis 130 mg/kg BB (I), 260 mg/kg BB (II), dan 390 mg/kg BB (III). Pengukuran kadar albumin dan kadar bilirubin total menggunakan spektrofotometer dan dianalisis menggunakan ragam *one-way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* alfa=5%. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak gambir sebagai preventif pada tikus model fibrosis hepar dengan dosis efektif 390 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar albumin serum dan menurunkan kadar bilirubin total dari kontrol positif. Kesimpulan penelitian ini bahwa ekstrak gambir dapat digunakan sebagai preventif fibrosis hepar pada tikus yang diinduksi karbon tetraklorida.

Kata kunci: Gambir, fibrosis hepar, CCl₄, kadar albumin, bilirubin total.

Effects of Gambir Extract (*Uncaria gambir Roxb.*) As Preventive Fibrosis Hepar On Rats (*Rattus norvegicus*) Based On Total Bilirubin and Albumin Levels

ABSTRACT

Hepatic fibrosis is one result of chronic liver damage characterized by excessive accumulation of Extracellular Matrix (ECM) proteins including collagen with symptoms that appear with increasing severity of fibrosis. Animal model making of hepatic fibrosis was performed using CCl₄ induced animal. This study was conducted to determine the indications of gambir extract (*Uncaria gambir Roxb.*) As an alternative preventive action in mouse model of liver fibrosis based on total albumin and bilirubin levels. The study used male rats from 8 to 12 weeks old with weight 150-200 grams, Completely Randomized Design (CRD) using five groups, positive control (CCl₄), negative control group, dose preventive group 130 mg/kg body weight (I), 260 mg/kg BW (II), and 390 mg/kg BW (III). Measurements of albumin content and total bilirubin content were measured using a spectrophotometer and analyzed by variety one-way ANOVA and followed by testing Tukey alfa = 5%. The results of this study indicate that giving gambir extract as preventive in mouse model of hepatic fibrosis with effective dose of 390 mg/kg BW can increase serum albumin level and decrease total bilirubin level from positive controls. The conclusion of this research that gambir extract can be used as a preventive liver fibrosis in rats induced by carbon tetrachloride.

Keywords: Gambir, hepatic fibrosis, CCl₄, albumin levels, total bilirubin.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan segala kasih dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) Sebagai Preventif Fibrosis Hepar Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan Kadar Bilirubin Total dan Kadar Albumin”**.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, yaitu:

1. Prof. Dr. Aulani'am, drh. DES selaku pembimbing I dan drh. Viski Fitri Hendrawan, M. Vet selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat dan arahan kepada penulis.
2. Drh. Ahmad Fauzi, M. Sc dan drh. Rahadi Swastomo, M.Biomed selaku dosen penguji atas tanggapan dan saran yang diberikan.
3. Prof. Dr. Aulani'am, drh. DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).
4. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Ayah terkasih (P. Tarigan) dan Ibu tercinta (I. Ginting) yang telah banyak memberikan dukungan, doa dan pengorbanan baik secara moril maupun materil, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Secara khusus penulis mengucapkan terima kasih kepada kedua kakak yaitu Lisa Laurensia Tarigan dan Yohanes Tarigan beserta adik terkasih

Yudha Satria Tarigan yang selalu memberikan semangat dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

6. Serta penulis juga menyampaikan terima kasih kepada teman-teman seperjuangan dalam penelitian ini, yaitu Veppy Yulanda, Khairuni Amini, dan Ahmad Basori, atas semangat, kerja sama dan motivasi yang diberikan.
7. Keluarga besar DEXA (2013-D) dan angkatan 2013 FKH UB yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.
8. Seluruh staf dan karyawan FKH UB, yang telah membantu proses administrasi dalam membuat skripsi.

Penulis berharap skripsi ini dapat diterima, sehingga dapat memberikan pengalaman, serta wawasan baru terhadap penulis. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis memohon maaf atas kekurangan tersebut.

Malang, 10 Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Hepar	5
2.2 Fibrosis Hati	6
2.2.1 Fibrosis Hepar karena Induksi Karbn Tetraklorida (CCl ₄)	8
2.2.2 Kadar Bilirubin Total Pada Fibrosis Hati	9
2.2.3 Kadar Albumin Pada Fibrosis Hati	12
2.3 Hewan Model Tikus	14
2.4 Gambir	15
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	18
3.1 Kerangka Konseptual	18
3.2 Hipotesis Penelitian	20



BAB IV METODE PENELITIAN	22
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	22
4.2 Alat Dan Bahan Penelitian	22
4.2.1 Alat Penelitian	22
4.2.2 Bahan Penelitian	22
4.3 Tahapan Penelitian	23
4.3.1 Rancangan Penelitian	23
4.3.2 Sampel Penelitian	23
4.3.3 Variabel Penelitian	25
4.4 Prosedur Kerja.....	25
4.4.1 Persiapan Hewan Coba.....	25
4.4.2 Pembuatan Ekstrak Gambir	26
4.4.3 Pemberian Ekstrak Gambir sebagai Tindakan Pencegahan	26
4.4.4 Pemberian CCl ₄ untuk Pembuatan Hewan Coba Fibrosis Hepar	26
4.4.5 Pengukuran Kadar Albumin	27
4.4.6 Pengukura Kadar Bilirubin Total	28
4.5 Analisis Data	28
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	29
5.1 Pengaruh Ekstrak Gambir Terhadap Kadar Albumin	29
5.2 Pengaruh Ekstrak Gambir Terhadap Bilirubin.....	36
BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN	43
6.1 Kesimpulan	43
6.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.4 Gambir.....	16
3.1 Kerangka Konseptual	18



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rencana Penelitian.....	24
5.1 Hasil Uji Tukey Rata-rata Kadar Albumin	31
5.2 Hasil Uji Tukey Rata-rata Kadar Bilirubin Total	37



DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Simbol/ Singkatan	Keterangan
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
ALT	: <i>Alanine Transaminase</i>
AST	: <i>Aspartat aminotransferase</i>
BNJ	: <i>Beda Nyata Jujur</i>
BB	: <i>Berat Badan</i>
CCl ₃	: <i>Triklorometil</i>
CCl ₃ O ₂	: <i>Triklorometil Peroksil</i>
CCl ₄	: <i>Carbon Tetrachlorida</i>
DMN	: <i>Dimetylnitrosamine</i>
DSA	: <i>Diazotized Sulphanilic Acid</i>
dL	: <i>Desiliter</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
g	: <i>gram</i>
HE	: <i>Hematoxylin-Eosin</i>
HSC	: <i>Hepatic Stellate Cells</i>
IP	: <i>Intraperitoneal</i>
Kg	: <i>Kilogram</i>
mL	: <i>milliliter</i>
pH	: <i>Power of Hydrogen</i>
RAL	: <i>Rancangan Acak Lengkap</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
TAA	: <i>Thioacetamide</i>

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran	
1. Surat Keterangan Laik Etik.....	49
2. Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Gambir	50
3. Uji Fitokimia Katekin dari Ekstrak Gambir.....	51
4. Kerangka Operasional.....	52
5. Pembuatan Ekstrak Gambir	53
5.1 Proses Ekstraksi.....	53
5.2 Proses Evaporasi.....	53
6. Diagram Tahapan Penelitian.....	54
6.1 Pengambilan Darah pada Hewan Coba (Pembuatan Serum Darah).....	54
7. Perhitungan Dosis Ekstrak Gambir.....	55
8. Perhitungan Dosis Induksi CCl ₄	58
9. Proses induksi CCl ₄	60
10. Prosedur pengukuran Kadar Bilirubin Total.....	61
11. Hasil Uji Kadar Albumin	62
12. Hasil Uji Bilirubin Total	63
13. Hasil Uji Statistik Kadar Albumin	64
14. Hasil Uji Statistik Kadar Bilirubin Total	67
15. Persentasi Kadar Albumin Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	70
16. Persentasi Kadar Bilirubin Total Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	71
17. Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Kontrol Negatif dan Positif.....	72

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit hepar kronis yang dapat terjadi karena kerusakan hepar yang disebabkan oleh zat toksik maupun karena adanya infeksi adalah fibrosis hepar. Fibrosis hepar ditandai dengan adanya akumulasi berlebihan protein *Extracellular Matrix* (ECM) termasuk kolagen (Achmad, 2012). Salah satu efek yang ditimbulkan dari fibrosis hepar pada awalnya tidak begitu terlihat bagi tubuh, karena fibrosis termasuk salah satu penyakit kronis yang terjadi di hepar.

Kerusakan hepar dapat terjadi karena interaksi antara radikal bebas hasil metabolisme obat dan metabolisme tubuh dengan biomolekul penyusun sel hepar. Interaksi radikal bebas merusak membran sel dan menyebabkan perubahan. Kondisi ini akan menimbulkan gangguan fungsi hepar, diantaranya adalah gangguan sintesis protein albumin yang menyebabkan hipoalbuminemia (Evan, 2002). Pada kondisi kerusakan hepar juga akan menyebabkan terganggunya sirkulasi bilirubin, sebagai hasil pemecahan dari sel darah merah juga akan terganggu. Menurut Tolman (2000) kadar total bilirubin berkisar antara 0,02-1 mg/dL, dan peningkatan kadar total bilirubin akan menunjukkan adanya gangguan pada hepar.

Kejadian fibrosis hepar pada hewan kecil terutama pada kucing jarang terjadi tapi sebaliknya sering terjadi pada anjing. Menurut Williams *et al* (2005), prevalensi penyakit hati pada hewan khususnya hewan kecil mencapai angka 10% dari seluruh

kejadian penyakit sistemik pada hewan kecil. Walaupun kasus fibrosis hati ini umum pada hewan kecil khususnya anjing, tetapi untuk terapinya sendiri masih belum diketahui sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut.

Bahan alam dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif untuk pengobatan fibrosis hepar dikarenakan harganya yang relatif murah dan efek samping yang mungkin ditimbulkan lebih sedikit. Salah satu bahan alam yang biasa digunakan adalah gambir (Wahyuningsih, 2006). Gambir mengandung senyawa fenol yaitu flavonoid. Gambir memiliki kandungan flavonoid yang tinggi dimana kandungan flavonoid utama yang digunakan sebagai hepatoprotektan pada gambir adalah katekin. Katekin yang berfungsi sebagai hepatoprotektor mampu menetralkan radikal bebas dengan menurunkan reaksi oksidasi lipid (Fahrudin, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai preventif fibrosis hepar dapat menurunkan kadar bilirubin total pada tikus (*Rattus norvegicus*) model fibrosis hepar.
2. Apakah ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai preventif fibrosis hepar dapat meningkatkan kadar albumin pada tikus (*Rattus norvegicus*) model fibrosis hepar.

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan dan dengan adanya *Ethical Clearance* No: 816-KEP-UB, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar umur 8-12 minggu dengan berat badan antara 150-200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya (Achmad, 2012).
2. Pembuatan hewan model fibrosis hepar pada tikus dilakukan dengan induksi CCl_4 secara intraperitoneal. Dosis yang digunakan adalah 2 mL/kg BB yang diberikan 3 kali seminggu selama 4 minggu (Achmad, 2012). (Lampiran 5)
3. Ekstraksi gambir (*Uncaria gambir Roxb*) dilakukan di Laboratorium UPT Materia Medika, Kota Batu dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, perbandingan 1:4 (Fahrudin, 2015).
4. Dosis ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb*) yaitu 130 mg/ kg BB (dosis 1), 260 mg/kg BB (dosis 2), dan 390 mg/kg BB (dosis 3) diberikan secara peroral. Penentuan dosis ekstrak gambir dengan modifikasi berdasarkan pada penelitian Fahrudin (2015).
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar albumin dan kadar bilirubin menggunakan spektrofotometer.

1.4 Tujuan

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui indikasi pemberian ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai preventif fibrosis hepar untuk menurunkan kadar bilirubin total pada tikus (*Rattus norvegicus*) model fibrosis hepar.
2. Mengetahui indikasi ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai preventif fibrosis hepar untuk meningkatkan kadar albumin pada tikus (*Rattus norvegicus*) model fibrosis hepar.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam kajian ilmiah tentang manfaat dari gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai tindakan preventif terhadap fibrosis hepar pada hewan terutama hewan kecil karena kasus fibrosis umum pada hewan kecil.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hepar

Hepar adalah organ metabolik terbesar dan juga merupakan organ pertama yang menghadapi proses pencernaan nutrisi, vitamin, logam, obat-obatan, dan bahan toksik dari lingkungan yang masuk ke dalam vena porta (Sherwood, 2009). Hepar menjadi pusat metabolisme dalam tubuh yang di dukung oleh letak anatomisnya. Hati menerima pendarahan dari sirkulasi sistemik melalui arteri hepatica dan menampung aliran darah dari sistem porta yang mengandung zat makanan yang diabsorpsi oleh usus. Karena itulah fungsi dari organ hati penting untuk diketahui dalam menilai kesehatan (Pincus, 2007).

Hepar tikus terbagi menjadi empat lobus yaitu lobus dexter, lobus sinister, lobus median, dan lobus caudatus (Boorman, 2006). Hepar terletak di bawah rongga abdomen atas yang pada keadaan segar warnanya merah tua atau merah coklat. Warna merah pada hepar disebabkan oleh banyaknya kandungan darah pada hepar itu sendiri. Setiap lobus hepar dibagi menjadi lobulus, yang merupakan unit mikroskopik dan fungsional organ. Setiap lobulus berbentuk heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hepar berbentuk kubus yang tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Diantara lempengan sel hepar terdapat kapiler-kapiler yang dinamakan sinusoid, yang juga merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid ini dibatasi oleh sel fagositik atau *sel Kupffer* yang berasal dari sirkulasi dan termasuk dalam system fagosit

mononuklear berfungsi untuk menelan bakteri dan benda asing dalam darah (Lestari, 2012).

Hepar memiliki berbagai fungsi, untuk metabolisme hampir semua zat makanan seperti karbohidrat, protein, lipid, vitamin, mineral, dan hormone (Lee, 2003; Dufour, 2000). Fungsi hati juga dibedakan pada beberapa hal yaitu dengan fungsi sintesisnya (glikogenesis, albumin, factor koagulasi, fosfolipid, kolesterol, trigliserida, apolipoprotein, enzim, lecithinecholesterolacyl transferase (LCAT), eksresi (asam empedu, garam empedu, pigmen empedu, dan obat-obatan), detoksikasi seperti amoniak dan bilirubin, penyimpanan (vitamin A, D, B12, mineral Fe, dan Cu), filtrasi fagositosis (zat toksik dan bakteri oleh sel kuffer), dan katabolisme (hormon estrogen dan obat-obatan) (Dufour, 2000; Pincus, 2007).

2.2 Fibrosis Hati

Fibrosis hepar merupakan akumulasi berlebihan dari protein matriks ekstraseluler termasuk kolagen yang terjadi pada sebagian besar jenis penyakit hepar kronis. Akumulasi protein ECM mendistorsi struktur hepar dengan membentuk bekas luka berserat, yang kemudian mejadi sirosis (Bataller *and* Brenner, 2005). Penumpukan protein matriks ekstraseluler yang berlebihan menyebabkan gangguan arsitektur hati , yang membentuk jaringan ikat yang diikuti regenerasi sel hepatosit. Dan bila fibrosis berjalan secara progresif, dapat menyebabkan sirosis hati (Amirudin, 2007). Sirosis menghasilkan disfungsi hepatoseluler dan ketahanan intrahepatik meningkat menjadi aliran darah yang menyebabkan kegagalan hepar dan hipertensi portal (Bataller *and* Brenner, 2005).

Fibrosis hati terjadi berawal dari usaha hati untuk menyembuhkan luka atau cedera. Pada hepar terdapat sel *hepatic Stellat cells* (HSC). HSC terdapat pada space of dissed tempat penyimpanan vitamin A, namun pada saat terjadi cedera pada hati maka HSC akan berfokus pada tempat terjadinya luka dan mensekresi sejumlah jaringan parut atau *Extracellular Matrix* (ECM). Pada penderita fibrosis hati tidak dapat dideteksi sejak dini, karena pada saat hati menghasilkan ECM hati masih bekerja, namun produksi ECM akan terus meningkat (Amirudin, 2007). Salah satu cara menilai derajat fibrosis hati dapat dilakukan dengan biopsy hati tetapi memiliki berbagai efek samping yang tinggi berupa perdarahan dan nyeri. Cara lain untuk menilai fibrosis hati yaitu dengan menggunakan pemeriksaan *magnetic resonance imaging* (MRI), dan fibroscan. Hanya pemeriksaan ini membutuhkan biaya yang tinggi. Pemeriksaan fibrosis hati yang sederhana adalah pemeriksaan aspartate aminotransferase to platelet ratio index (APRI) sehingga dapat lebih mudah dan cepat menilai kejadian fibrosis hati. Skor APRI merupakan pemeriksaan *indirect marker* dengan dua parameter pemeriksaan laboratorium yaitu Aspartat aminotransferase (AST) dan jumlah platelet yang sangat mudah dilakukan dan biaya yang relatif murah. Wai (2003) membuat rumus indeks rasio aspartat aminotransferase dan platelet (Skor APRI) sebagai berikut: Aspartat aminotransferase (AST)/ batas atas normal x (100 xAT).

2.2.1 Fibrosis Hepar karena Induksi Carbon Tetrachlorida (CCl₄)

Karbon tetrachloride termasuk pada golongan hidrokarbon alifatik terhalogenasi dan bersifat toksik terhadap hati, jantung, dan ginjal. Pemberian CCl₄ sebanyak 5 mL akan menyebabkan kerusakan hati dan ginjal sekaligus dalam jangka

waktu sekitar 1-3 hari (Olson, 2004). Tanda dan gejala dari kerusakan hati akan terlihat setelah beberapa jam sampai 2-3 hari setelah konsumsi CCl_4 (Hardman *and* Limbird, 2001).

Menurut Liedtke *et al* (2013), berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada ketiga senyawa tersebut, yaitu CCl_4 , *thioacetamide* (TAA), serta *dimethylnitrosamine* (DMN) dinyatakan bahwa CCl_4 lebih unggul dari kedua senyawa yang lain karena CCl_4 tidak bersifat mutagenik ataupun karsinogenik, dan menimbulkan efek fibrosis cepat serta efektif. Pemberian CCl_4 yang efektif adalah melalui intraperitoneal, karena pembuluh darah yang berada pada rongga abdomen tidak begitu banyak. Sehingga zat toksik yang terkandung dalam CCl_4 dapat diserap secara perlahan oleh tubuh. Apabila CCl_4 diberikan secara peroral akan berpengaruh langsung terhadap fungsi organ pencernaan. Sedangkan pemberian melalui intravena dapat menyebabkan kematian karena senyawa tersebut akan disirkulasikan secara langsung ke seluruh bagian tubuh.

Menurut Fahrudin (2015), metabolisme CCl_4 menghasilkan senyawa metabolit reaktif CCl_3 dan CCl_3O_2 . Kedua metabolit tersebut akan menimbulkan reaksi oksidasi berantai yang mengakibatkan kerusakan pada struktur sel hepar dan berlanjut pada kematian sel. Kerusakan sel hepar akan digantikan oleh jaringan kolagen. Kolagen merupakan salah satu ECM sebagai indikasi terjadi fibrosis hepar. Fibrosis hepar yang terdistribusi luas pada jaringan, mengindikasikan terjadinya kerusakan sel dan jaringan yang semakin parah dan keadaan fibrosis hepar yang berkurang merupakan kondisi pemulihan dari jaringan atau sel hepar yang rusak.

Pemberian CCl_4 dalam dosis tinggi dapat merusak endoplasmik retikulum, mengakumulasi lipid, mengurangi sintesis protein, mengacaukan proses oksidasi, menurunkan bobot badan, menyebabkan pembengkakan hepar, sehingga bobot hepar menjadi bertambah, dan pemberian jangka panjang dapat menyebabkan nekrosis sentrilobular serta degenerasi lemak di hepar (Panjaitan, 2007).

2.2.2 Kadar Bilirubin Total pada Fibrosis Hati

Bilirubin merupakan suatu produk pengurai eritrosit, 80-86% nya berasal dari hemoglobin dan sisanya berasal dari protein yang mengandung heme contohnya P450, myoglobin dan lain-lain (Sherlock and Dooley, 2002; Fevery, 2008). Dalam hati, Hepatosit melepaskan ikatan dan mengkonjugasi dengan asam glukuronat sehingga bersifat larut air. Proses konjugasi melibatkan enzim glukoroniltransferase, selain dalam bentuk diglukoronida dapat juga berbentuk monoglukoronida atau ikatan dengan glukosa, xylosa dan sulfat. Bilirubin terkonjugasi dikeluarkan melalui proses energi ke dalam system bilier (Sedlak and Snyder, 2009). Bilirubin tidak terkonjugasi bersirkulasi dalam darah, berikatan dengan albumin membentuk kompleks bilirubin-albumin sehingga memiliki sifat larut lemak. Metabolisme bilirubin tidak terkonjugasi berlangsung dalam tiga langkah. Langkah pertama yaitu pengambilan bilirubin oleh sel-sel hepar dengan melepaskan ikatan albumin. Langkah kedua adalah bilirubin dikonjugasi dengan asam glukuronat. Langkah ketiga yaitu bilirubin terkonjugasi diekskresikan melalui saluram empedu ke usus halus. Pada usus halus, bilirubin terkonjugasi didekonjugasi oleh mikroba usus halus menjadi urobilinogen. Sebagian urobilinogen kembali lagi ke hepar melalui sistem sirkulasi enterohepatik dan

diresekreikan kembali kedalam cairan empedu (Harlina dan Huminto, 2011; Corwin, 2009; Sherlock and Dooley, 2002).

Bilirubin dapat dikatakan sebagai substansi hasil pemecahan sel darah merah setelah 120 hari. Sifat bilirubin yang sukar larut dalam air ini menyebabkan di perlukannya molekul karier untuk transpor bilirubin dari tempat produksi di retikuloendotelial ke dalam hati untuk ekskresi. Molekul karier yang dimaksud adalah albumin, dan setiap molekul albumin mampu mengikat satu molekul bilirubin. Bilirubin memiliki peran yang sangat penting yaitu sebagai antioksidan endogen dimana konsentrasinya dapat meningkat akibat konsumsi berlebihan dari radikal bebas. Ketika bilirubin mulai bertindak sebagai antioksidan, maka bilirubin sendiri akan teroksidasi menjadi biliverdin. (Sedlak *et al*, 2004).

Kerusakan hati akan mempengaruhi enzim-enzim pada hati, bilirubin, dan protein dalam serum. Dari penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa pemberian CCL₄ akan meningkatkan kadar bilirubin total, enzim ALT, AST, dan ALP, sebaliknya kadar protein total dalam serum akan menurun 3, 14-16. Sehingga daya proteksi suatu senyawa terhadap CCL₄ dapat dinilai dari kemampuannya dalam menghambat peroksidasi lipid, menekan aktivitas enzim ALT dan AST dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (Sedlak *and* Snyder, 2009).

Bilirubin total merupakan biomarker yang berkaitan dengan gangguan homeostasis bilirubin. Pada saat bilirubin total meningkat maka menunjukkan adanya gangguan fungsi hepar yang menyebabkan kerusakan hepar (Gupta, 2014). Kadar bilirubin yang meningkat disebabkan oleh beberapa hal yaitu produksi bilirubin yang

meningkat (berlebihan), adanya gangguan fungsi hati, dan gangguan pengeluaran bilirubin contohnya terjadi sumbatan pada saluran empedu (batu/tumor) sehingga bilirubin tidak dapat keluar dan mengakibatkan peningkatan kadar bilirubin itu sendiri (Dannery et al, 2001). Juga beberapa factor yang menyebabkan peningkatan kadar bilirubin total adalah kebocoran bilirubin dari sel-sel hati atau sel duktuli sehingga bilirubin dapat masuk dalam aliran darah dan dapat memasuki semua cairan tubuh seperti cairan otak, cairan asites atau mewarnai kulit, *sclera*, dan lainnya (Dannery et al, 2001).

Pada gangguan fungsi hepar akibat kerusakan fungsi hepar, kadar bilirubin dalam darah akan meningkat. Keadaan ini akan menyebabkan ikterus, yaitu peningkatan kadar bilirubin dalam plasma yang akan tampak secara klinis. Kondisi klinis yang terlihat biasanya adanya warna kuning pada mukosa, kulit dan sklera mata. Kadar bilirubin normal tikus berkisar antara 0,02-1 mg/dL (Tolman, 2000). Perubahan ini terjadi bila kadar bilirubin total lebih besar dari 2,5 mg/dL.

2.2.3 Kadar Albumin Pada Fibrosis Hati

Albumin merupakan protein pengangkut utama yang disintesa di hepar yang berfungsi untuk menjaga tekanan osmotik cairan intravaskuler dan jaringan (Guyton and Hall, 2006) dengan waktu paruh kurang lebih 21 hari. Albumin juga mengisi 50% protein dalam darah dan juga menentukan 75% tekanan onkotik koloid. Kadar albumin dalam serum dapat berkurang pada kondisi nutrisi yang tidak baik, penyakit inflamasi dan penyakit hati lanjut (Fulk *et al*, 2010). Albumin juga sangat berperan penting dalam transportasi berbagai molekul termasuk bilirubin, asam lemak bebas, obat-obatan dan

hormon (Nagao *et Sata*, 2010). Kadar albumin pada kasus fibrosis mengalami penurunan, dan kondisi hipoalbumin ini sangat berhubungan dengan mortalitas (Friedman *et Fadem*, 2010).

Ada dua faktor yang dapat mempengaruhi pengaturan sintesis albumin diantaranya adalah asupan nutrisi khususnya protein dan penyakit. Kadar albumin juga dapat turun pada pasien dengan gangguan inflamasi dan sakit yang lain (Friedman *et Fadem*, 2010). Hipoalbumin dapat disebabkan hal yang bervariasi termasuk di dalamnya yaitu sindroma nefrotik, gagal jantung, penyakit hati dan malnutrisi.

Pada gangguan fungsi hati kadar albumin yang rendah umumnya terjadi karena gagal hati yang kronis. Dalam penelitiannya Nagao *et Sata*, (2010) menyimpulkan bahwa kadar albumin serum sebagai faktor resiko yang independen untuk mortalitas di karenakan berbagai sebab pada populasi yang lebih tua dan merupakan indikator prognostik yang penting.

Penurunan albumin biasanya dikaitkan pada dua faktor, yaitu berat dan lamanya penyakit. Cadangan sintesis protein oleh hepatosit besar, sehingga bila terjadi penurunan kadar albumin maka dipastikan terjadi kerusakan hepatosit yang luas. Fulk *et al* (2010) menyatakan bahwa albumin disintesa di hepar dengan waktu paruh kurang lebih 21 hari, sedangkan menurut Amiruddin (2002) waktu paruh albumin cukup lama yaitu sekitar 20 hari. Pada waktu paruh yang cukup lama ini bila penurunan kadar albumin ini terjadi maka diperkirakan kerusakan hepar sudah berlangsung lama.

Mekanisme langsung yang berhubungan dengan kematian yang disebabkan karena hipoalbumin masih belum jelas. Vincent *at al* (2014) menyatakan bahwa,

penurunan kadar albumin menyebabkan gangguan pada homeostasis normal, metabolisme dan pengiriman obat beserta efikasinya, sehingga perlu dilakukan penyesuaian dalam pemberian obatnya. Hipoalbumin juga dapat menyebabkan edema, salah satunya yaitu edema paru yang dapat menyebabkan kematian.

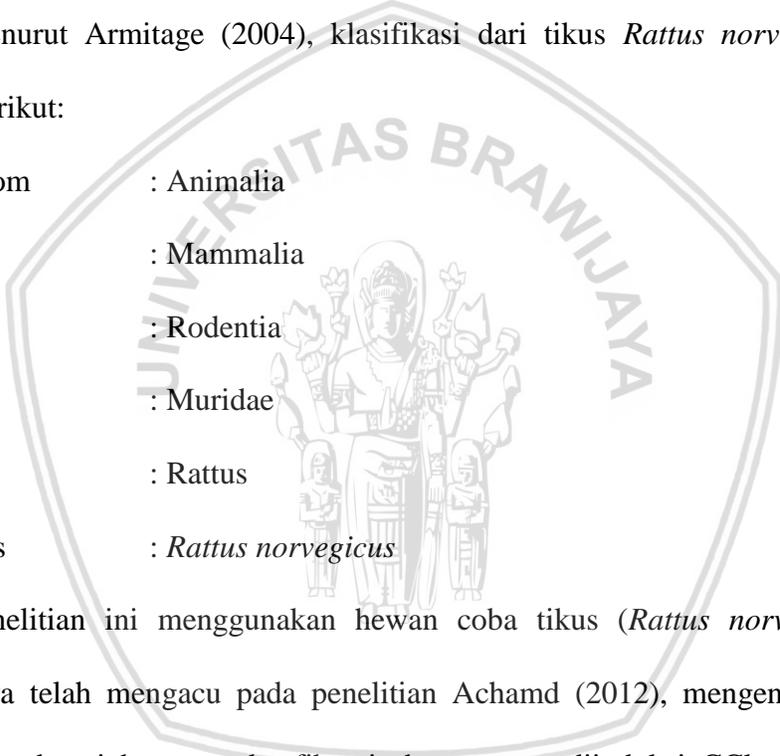
Hepar sangat berperan penting dalam mensintesa protein. Sumber protein serum yang disintesa di hepar adalah albumin, fibrinogen, plasminogen, transferin, faktor-faktor koagulasi dan globulin semuanya disintesis dalam sel-sel parenkim hepar. Perubahan fraksi protein yang paling sering terjadi pada penyakit hepar ini adalah penurunan kadar albumin dan kenaikan kadar globulin. Menurut Sutedjo (2007) kadar albumin normal pada tikus jantan berkisar antara 2,5-5,0 g/dL. Kadar albumin yang menurun secara teratur terjadi karena penyakit hepar sudah berlangsung lebih dari tiga minggu (Sacher and McPherson, 2004).

2.3 Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hewan model merupakan salah satu hewan khusus yang dikembangkan untuk keperluan penelitian secara biologic. Hewan model digunakan sebagai model penelitian yang berkaitan dengan pengaruh obat atau bahan kimia. Terdapat tiga galur atau varietas tikus *Rattus norvegicus* yang biasa digunakan sebagai hewan percobaan yaitu galur Sprague Dawley, Wistar, dan Long Evans (Armitage, 2004). Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Rattus norvegicus* galur Wistar jantan. Tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) lebih besar daripada famili tikus pada umumnya. Tikus ini memiliki panjang mencapai 40 cm, jika diukur dari hidung sampai ujung ekor dengan berat 140-500 gram. Tikus betina biasanya memiliki ukuran tubuh

yang lebih kecil dibandingkan tikus jantan, dan memiliki kematangan seksual pada umur 4 bulan dan dapat hidup selama 4 tahun. Beberapa alasan tikus digunakan sebagai hewan coba karena tikus memiliki daya adaptasi yang baik, penanganan dan pemeliharaannya mudah, biaya yang dibutuhkan tidak mahal, umur relatif pendek (Purwaningtyas, 2016).

Menurut Armitage (2004), klasifikasi dari tikus *Rattus norvegicus* adalah sebagai berikut:



Kingdom	: Animalia
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) yang sebelumnya telah mengacu pada penelitian Achamd (2012), mengenai tikus yang digunakan sebagai hewan coba fibrosis hepar yang diinduksi CCl₄. Penelitian ini menggunakan tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.) yang berusia sekitar 8-12 minggu dengan bobot badan berkisar 150-200 gram. Tikus dipelihara menggunakan kandang dari *polycarbonate* serta mendapatkan pakan dan minum secara *ad libitum*. Tikus diaklimatisasi selama tujuh hari pada ruangan dengan siklus 1 jam (terang/gelap), kelembaban 70% ± 2%, suhu 22° C ± 2° C.

2.4 Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.)

Menurut Departemen Kesehatan RI (1989), berdasarkan ilmu taksonomi, adapun klasifikasi tumbuhan gambir adalah:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Asteridae
Familia	: Rubiaceae
Genus	: <i>Uncaria</i>
Spesies	: <i>Uncaria gambir</i> Roxb



Gambar. Kiri: Daun dan Bunga Gambir (sumber. InetArticle.com), Kanan: Gambir (sumber.gambirgold.com).

Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) merupakan tumbuhan yang tumbuh di kawasan tropis dan digunakan sebagai antidiare dan astringen di Asia (Anggraini dkk., 2011). Tumbuhan ini dikenal di Sumatera sebagai gambee, gani, kacu, sontang, gambe, gambie, gambu, gimber, pengilom, dan sepelet. Di Jawa dikenal sebagai santun dan ghambhir. Di Kalimantan dikenal sebagai gamelo, gambit, game, gambiri, gata dan

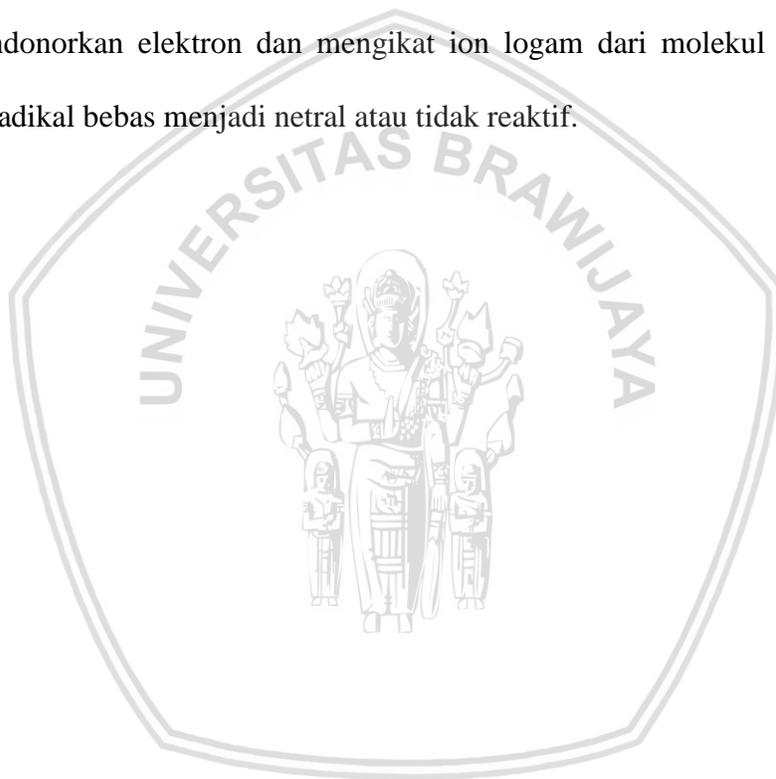
gaber. Di Nusa Tenggara dikenal sebagai Tagambe, gembele, gamelo, gambit, gambe, gambiri, gata dan gaber. Di Maluku dikenal sebagai kampir, kambir, ngamir, gamer, gabi, tagabere, gabere, gaber dan gambe (Anonim b, 2000).

Gambir adalah sejenis getah yang dikeringkan dan berasal dari ekstrak remasan daun dan ranting tumbuhan yang bernama sama. Nama lainnya adalah *catechu*, *gutta gambir*, *catechu pallidum (pale catechu)* (Agoes, 2010). Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara terutama pulau Sumatera dan dibudidayakan terutama di daerah Sumatera Barat (Badan POM RI, 2010). Tumbuhan ini hidup di area terbuka di dalam hutan, kawasan hutan yang lembab, area terbuka bebas peladangan atau pinggir hutan pada ketinggian 200 – 900 m dpl (Sampurno dkk., 2007).

Potensi yang dimiliki gambir tidak terlepas dari senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Gambir mengandung golongan polifenol seperti senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid dan senyawa polifenol lainnya. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang terbesar di alam (Frinanda, 2014). Flavonoid utama yang terkandung di dalam gambir adalah katekin. Katekin yang terkandung pada produk gambir di Indonesia antara 25-95% tergantung pada proses pengolahannya. Selain katekin, terdapat senyawa kimia lain dalam gambir meliputi *quercetin*, asam *catechutannat*, *pyrocatechol*, *gambir fluoresensi*, *red catechu*, *fixed oil*, lilin, tanin, dan alkaloid (Fahrudin, 2015).

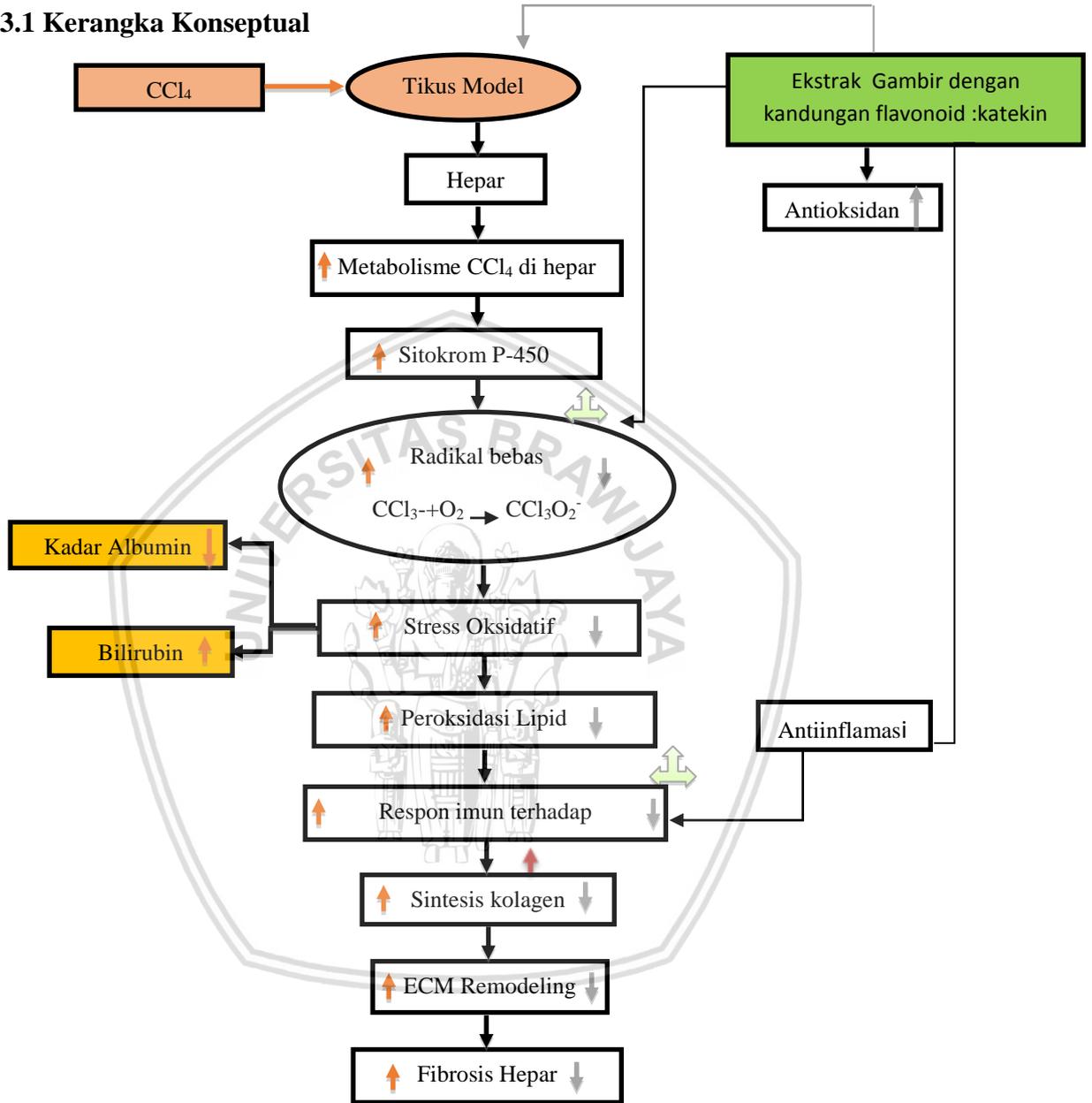
Gambir berpotensi sebagai hepatoprotektor dengan menurunkan reaksi oksidasi lipid (Fahrudin, 2015). Gambir memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, flavonoid

merupakan salah satu komponen yang terkandung dalam tanaman dan dapat ditemukan pada semua tanaman vaskuler. Kandungan flavonoid utama yang berperan sebagai hepatoprotektor pada gambir adalah katekin (Pambayun, 2007). Struktur kimia dari katekin mempunyai gugus OH pada tiga cincin aromatik yaitu dua gugus fenol (cincin A dan B) dan satu gugus dihidropin (cincin C). Atom H yang berasal dari gugus OH dapat mendonorkan elektron dan mengikat ion logam dari molekul radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi netral atau tidak reaktif.



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

- Variabel bebas
- Variabel terkontrol
- Variabel tergantung
- Menghambat
- Pengaruh pemberian ekstrak gambir
- Pengaruh induksi CCl₄

Pada penelitian ini awalnya tikus diberikan ekstrak gambir pada minggu kedua setelah aklimatisasi yang diharapkan mampu memberikan cadangan antioksidan untuk memenuhi kebutuhan antioksidan tubuh hewan. Gambir memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, flavonoid merupakan salah satu komponen yang terkandung dalam tanaman dan dapat ditemukan pada semua tanaman vaskuler. Kandungan flavonoid utama yang berperan sebagai hepatoprotektor pada gambir adalah katekin, sehingga dapat dikatakan bahwa gambir berpotensi sebagai hepatoprotektan.

Pemasukan radikal bebas berupa CCl_4 secara intraperitoneal ke dalam tubuh tikus (*Rattus norvegicus*) akan mengikuti aliran darah beredar ke seluruh tubuh, dan akan dimetabolisme di hepar. CCl_4 akan melalui proses metabolisme oleh sitokrom P450 yang merupakan sistem enzim oksidase yang berperan dalam metabolisme obat-obatan yang terdapat dalam retikulum endoplasma halus sel hepar (hepatosit), didalam hepar dan menghasilkan $\text{CCl}_3\cdot$. $\text{CCl}_3\cdot$ merupakan ikatan rangkap asam lemak tak jenuh pada molekul fosfolipid yang menyebabkan oksidatif lemak. Radikal bebas ini merupakan molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Sehingga, perlu menarik elektron dari molekul lain untuk menstabilkan elektronnya. $\text{CCl}_3\cdot$ bereaksi dengan oksigen menghasilkan radikal triklorometil peroksil ($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$) yang sangat reaktif sebagai radikal bebas. Peningkatan radikal bebas yang tidak diimbangi dengan jumlah antioksidan endogen dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif akan tersebar pada sel target menyebabkan kenaikan pada bilirubin dan

penurunan pada kadar albumin dan molekul pertama yang akan diserang adalah lipid. Lipid berfungsi sebagai pelindung sel yang akan menghasilkan radikal lipid. Adanya oksigen pada lipid akan bereaksi menjadi radikal lipid peroksida dan akan terus menyerang molekul-molekul lain yang disebut dengan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid memiliki sifat merusak membran sel yang disebut dengan efek detergen. Peroksidasi lipid ini yang akan menyebabkan respon imun terhadap inflamasi meningkat sampai terjadi kerusakan pada sel hati yang merupakan salah satu faktor pembentukan jaringan ikat pada hepar.

Pemberian ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai preventif diharapkan akan meningkatkan antioksidan di dalam tubuh. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dari ekstrak gambir mempunyai kemampuan untuk menetralkan senyawa radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa yang bersifat oksidan. Dikarenakan adanya antioksidan yang meredam radikal bebas sehingga akan menyebabkan keadaan stres oksidatif mengalami penurunan di dalam sel dan mempengaruhi proses peroksidasi lipid. Ekstrak tumbuhan gambir yang sudah diberikan secara berkala berfungsi menghambat karbon tetraklorida dan menekan respon imun terhadap inflamasi sehingga tidak terjadi inflamasi atau kerusakan hati dan fibrosis tidak terjadi.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rangkaian konseptual penelitian yang telah tercantum, maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb*) secara preventif dapat menurunkan kadar bilirubin total pada tikus model fibrosis hepar.
2. Gambir (*Uncaria gambir Roxb*) secara preventif dapat meningkatkan kadar albumin.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak gambir dan pemeliharaan hewan coba, induksi CCl_4 dan perlakuan pada hewan percobaan dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pengujian kadar Albumin dan kadar Bilirubin total dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan selama 6 minggu dari bulan Juni-Agustus 2017.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain kandang tikus, timbangan mikro, plastik klip, *aluminium foil*, sonde lambung, spuit, cawan petri, tabung reaksi, alat-alat bedah berupa gunting, scalpel dan blade, pinset, *ice box*, *freezer*, rak pengecatan, gelas penutup, gelas objek, sentrifus, wrap, vortex, tabung eppendoft, mikropipet, spuit, papan bedah, desikator, kertas saring, inkubator, *vacutainer*, kapas steril, *tissue*, masker, glove, dan alat uji *spektrofotometershimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601*.

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain tikus jantan galur wistar umur 8 sampai 12 minggu dengan berat badan 150-200 gram dan CCl_4 , gambir, etanol absolut, etanol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 95%), etanol 96%,

aquades, xylol, pewarna eosin, pewarna *Masson Trichome*, parafin cair, NBF 10%, xantine oxidase, *olive oil*, dan NaCl fisiologis.

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), karena media yang dipergunakan dalam penelitian homogen (Kusriningrum, 2008). Penelitian ini membagi hewan coba menjadi lima kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Kelompok (A) adalah kontrol negatif berisi tikus yang sehat, kelompok (B) adalah kontrol positif yang diinduksi CCl_4 dosis 2 mL/ kg BB intraperitoneal 3 kali seminggu selama 4 minggu, kelompok (C) tikus yang diberi ekstrak gambir dengan dosis 130 mg/kg BB + induksi CCl_4 , kelompok (D) tikus yang diberi ekstrak gambir dengan dosis 260 mg/kg BB + induksi CCl_4 dan kelompok (E) adalah tikus yang diberi ekstrak gambir 390 mg/kg BB + induksi CCl_4 .

4.3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar berumur 8 sampai 12 minggu dengan berat badan 150-200 gram, hewan coba yang digunakan sebanyak 20 ekor dan diaklimatisasi / diadaptasikan selama tujuh hari terlebih dahulu untuk penyesuaian dengan kondisi laboratorium beserta pakannya. Adapun estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2008):

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan: t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan diatas, maka disimpulkan bahwa dalam 5 macam kelompok perlakuan diperlukan jumlah tikus sebanyak 4 kali ulangan dalam setiap kelompok, sehingga dibutuhkan total 20 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba.

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang ditunjukkan pada Tabel 4.1 di bawah ini.

Tabel 4.1 Rencana Penelitian

Kelompok Perlakuan	Perlakuan
A (Kontrol negatif)	Tikus tanpa perlakuan
B (Kontrol positif, sakit)	Tikus yang diinduksi CCL ₄ dosis 2 mL/kg BB
C (Perlakuan 1)	Tikus diberi ekstrak gambir dosis 130 mg/kg BB + induksi CCL ₄ dosis 2 mL/kg BB
D (Perlakuan 2)	Tikus diberi ekstrak gambir dosis 260 mg/kg BB + induksi CCL ₄ dosis 2 mL/kg BB
E (Perlakuan 3)	Tikus diberi ekstrak gambir dosis 390 mg/ kg BB + induksi CCL ₄ dosis 2 mL/kg BB
Keterangan	CCL ₄ diberikan 3x1 minggu selama 4 minggu (minggu ke 3-6). Ekstrak Gambir diberikan setiap hari (mulai dari minggu ke 2-6).

4.3.3 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Variabel bebas : Ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*).
- Variabel tergantung : Kadar albumin dan bilirubin total dalam serum
- Variabel terkendali : CCl₄, homogenitas tikus (*Rattus norvegicus*) yang terdiri dari strain, jenis kelamin, umur, berat badan, pakan, suhu ruangan, dan kelembapan kandang.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar umur 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Tikus yang digunakan dalam penelitian diadaptasikan selama tujuh hari terhadap lingkungan yang bertujuan untuk mengurangi stress pada hewan coba, serta tikus diberikan pakan berupa ransum basal pada semua tikus secara *ad libitum*. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdapat 4 ekor tikus dan masing-masing kelompok dimasukkan ke dalam satu kandang. Kandang tikus yang digunakan harus berlokasi pada tempat yang bebas dari kebisingan, kegaduhan, dan terhindar dari asap industri beserta polutan lainnya. Lantai kandang yang dibuat harus mudah dibersihkan serta kandang sesuai dengan suhu ruang. Setelah masa perlakuan selesai hewan coba di matikan dengan cara dilakukannya dislokasi cervicalis. Hewan kemudian dinekropsi untuk diambil sampel darahnya. Kemudian darah akan di sentrifus untuk mendapatkan serum

dari darahnya, setelah serum didapatkan maka dilakukan analisis serum untuk mendapatkan hasil. Pada metode ini yaitu metode spektrofotometri, serum ditambahkan kedalam larutan natrium asetat dan kafein-natrium benzoate. Natrium asetat berfungsi sebagai buffer pH reaksi diazo (Riswanto, 2009).

4.4.2 Pembuatan Ekstrak Gambir

Pembuatan ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Produk gambir dihaluskan dan dimaserasi (rendam) dengan menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:4. Ekstrak gambir yang kering disimpan pada desikator dan dilakukan penimbangan terhadap ekstrak kering yang diperoleh (Fahrudin, 2015) (Lampiran 2).

4.4.3 Pemberian Ekstrak Gambir sebagai Tindakan Pencegahan (Preventif)

Pemberian ekstrak gambir sebagai tindakan pencegahan (preventif) diberikan secara per oral dengan menggunakan sonde. Pemberian dilakukan setiap hari, dari hari ke 8 sampai hari ke 42 hari (minggu ke 2-6). Pemberian ekstrak gambir dengan menggunakan dosis yang sudah ditentukan, yaitu: kelompok C menggunakan dosis 130 mg/kg BB, kelompok D dengan menggunakan dosis 260 mg/kg BB, dan kelompok E dengan menggunakan dosis 390 mg/kg BB (Fahrudin, 2015) (Lampiran)

4.4.4 Pemberian CCl₄ untuk Pembuatan Hewan Coba Fibrosis Hepar

Pembuatan hewan coba fibrosis hepar dengan *Ethical Clearence* No: 816-KEP-UB dilakukan dengan menggunakan Karbon tetraklorida (CCl₄) yang dilarutkan ke dalam *olive oil* yang diinduksikan secara intraperitoneal (IP) pada

kelompok B (Kontrol positif), kelompok C (Perlakuan I), Kelompok D (Perlakuan II), dan kelompok E (Perlakuan III) dengan dosis sebanyak 2 mL/kg BB tiga kali seminggu selama 4 minggu yaitu dari minggu ke 3 sampai 6. Pada penelitian ini terlihat bahwa sudah terjadi fibrosis hepar pada kontrol positif (kelompok B).

4.4.5 Pengukuran Kadar Albumin

Sebelum pengambilan darah pada jantung tikus, terlebih dahulu dilakukan eutanasi dengan menggunakan metode dislokasi pada leher, setelah itu segera dilakukan pembedahan pada bagian abdomen sampai rongga thoraks tikus sehingga terlihat organ jantung pada rongga thoraks. Diposisikan rebah dorsal pada papan pembedahan dengan masing-masing pada kaki tikus ditusuk dengan jarum pentul untuk mengurangi pergerakan. Tikus yang sudah dibedah, kemudian diambil darahnya sebanyak 5 mL melalui jantung. Darah diletakkan dalam tabung venoject dan didiamkan selama 30 menit dengan posisi berdiri tegak, kemudian disentrifus untuk mendapatkan serum. Selanjutnya, serum yang terletak pada bagian atas diambil dan dipisahkan untuk analisis kadar albumin. Pengujian kadar albumin diukur menggunakan spektrofotometer (Agu, 2002). Metode yang digunakan untuk pengukuran kadar albumin ini menggunakan metode spektrofotometri, dengan cara penambahan reagen pada sampel albumin, setelah itu diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit dan diukur absorban pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm (Masdiana, 2018).

4.4.6 Pengukuran Kadar Bilirubin Total

Pengukuran kadar bilirubin dilakukan menggunakan metode spektrofotometri. Penentuan kadar bilirubin total dilakukan menggunakan reagen diazo untuk membentuk kompleks warna dan selanjutnya dapat diukur dengan spektrofotometri (Michaelsson, 2008). Prinsip kerja dari metode spektrofotometri adalah bilirubin bereaksi dengan DSA (diazotized sulphanic acid). Penggunaan asam sulfanilat dalam reagen diazo ini berfungsi memberikan suasana asam yang membantu membentuk pembentuk kompleks warna merah. Daya serap warna dari senyawa ini dapat langsung digunakan terhadap sampel bilirubin pada panjang gelombang 546 nm (Riswanto, 2009) (Lampiran 10).

4.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dengan pengukuran Kadar Albumin dan Bilirubin total dengan menggunakan spektrofotometri dianalisa dengan menggunakan ragam *analysis of variance* (ANOVA) dengan menggunakan program SPSS (*Statistic Product of Service Solution*) 16.0 for windows dengan tujuan untuk melihat signifikansi pengaruh pemberian ekstrak gambir. Apabila terdapat perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji Tukey atau Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 5\%$) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dengan terapi yang diberikan. Uji BNJ biasanya digunakan untuk mengetahui perlakuan yang memberi pengaruh paling nyata (Singgih, 2008).

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai Preventif Fibrosis Hepar Terhadap Kadar Albumin.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini berupa penurunan kadar albumin dan peningkatan kadar bilirubin total pada tikus model fibrosis hepar yang diinduksi carbon tetrachloride (CCl₄). Parameter albumin pada penelitian ini digunakan karena albumin merupakan salah satu protein serum dalam jumlah besar yang disintesa di hepar yang kemudian pada kondisi kerusakan hepar mengalami penurunan atau menjadi lebih rendah (Evans, 2002). Hewan model fibrosis hepar dibuat dengan memberikan induksi karbon tetraklorida dengan dosis volume 0,3 mL/150g BB yang diberikan sebanyak 3 kali dalam seminggu selama 4 minggu dengan peningkatan volume setiap minggunya pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) secara intraperitoneal. Kerusakan hepar akibat penginduksian karbon tetraklorida yang dilakukan pada hewan model tikus akan ditandai dengan penurunan kadar albumin.

Mekanisme ekstrak gambir sebagai preventif fibrosis awalnya tikus diberikan ekstrak gambir pada minggu kedua setelah aklimatisasi yang diharapkan mampu memberikan cadangan antioksidan untuk memenuhi kebutuhan antioksidan tubuh, setelah satu minggu pemberian ekstrak gambir lebih dulu sebanyak tiga kali seminggu, dilakukan pemasukan radikal bebas berupa CCl₄ pada minggu berikutnya secara intraperitoneal ke dalam tubuh tikus (*Rattusnorvegicus*). CCl₄ mengikuti aliran darah beredar ke seluruh tubuh, dan

akan dimetabolisme di hepar. CCl_4 akan melalui proses metabolisme oleh sitokrom P450 yang merupakan sistem enzim oksidase yang berperan dalam metabolisme obat-obatan yang terdapat dalam retikulum endoplasma halus sel hepar (hepatosit), didalam hepar dan menghasilkan CCl_3^- . CCl_3^- merupakan ikatan rangkap asam lemak tak jenuh pada molekul fosfolipid yang menyebabkan oksidatif lemak. CCl_3^- bereaksi dengan oksigen menghasilkan radikal triklorometil peroksil (CCl_3O_2^-) yang sangat reaktif sebagai radikal bebas. Peningkatan radikal bebas yang tidak diimbangi dengan jumlah antioksidan endogen dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif akan tersebar pada sel target menyebabkan penurunan kadar albumin. Molekul pertama yang akan diserang adalah lipid, adanya oksigen pada lipid akan bereaksi menjadi radikal lipid peroksida dan akan terus menyerang molekul-molekul lain yang disebut dengan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan respon imun terhadap inflamasi meningkat sampai terjadi kerusakan pada sel hati yang merupakan salah satu faktor pembentukan jaringan ikat pada hepar.

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dari ekstrak gambir mempunyai kemampuan untuk menetralsir senyawa radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa yang bersifat oksidan. Dikarenakan adanya antioksidan yang menetralsir radikal bebas, sehingga keadaan stres oksidatif mengalami penurunan di dalam sel dan mempengaruhi proses peroksidasi lipid. Ekstrak tumbuhan gambir yang sudah diberikan secara berkala berfungsi

menghambat karbon tetraklorida dan menekan respon imun terhadap inflamasi sehingga tidak terjadi inflamasi atau kerusakan hati dan fibrosis tidak terjadi.

Berdasarkan hasil analisa uji *one-way* ANOVA dan uji *Tukey* (Tabel 5.1) menunjukkan bahwa P3 (390 mg/kg BB) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif, P1, dan P2, tetapi tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif. Pada perlakuan yang lain yaitu P1 (dengan dosis 130 mg/kg BB) dan P2 (dengan dosis 260 mg/kg BB) menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif maupun negatif.

Pencegahan kerusakan hepar pada penelitian ini diamati dengan melakukan pengukuran kadar albumin. Pengukuran kadar albumin serum pada organ tikus model kerusakan hepar yang di beri ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai preventif ditampilkan pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Rata-rata kadar albumin pada hepar tikus kontrol, tikus yang diinduksi karbon tetraklorida, dan tikus yang diberi ekstrak gambir sebagai preventif.

Kelompok	Rata-rata Kadar Albumin (g/dL)	Persentase Penurunan (%)	Persentase Kenaikan (%)
Kontrol Negatif	2,85±0,24 ^d	-	-
Kontrol Positif	1,25±0,19 ^a	-	128
Perlakuan 1 (130 mg/kgBB)	1,67±0,15 ^b	34	-
Perlakuan 2 (260 mg/kgBB)	2,22±0,09 ^c	78	-
Perlakuan 3 (390 mg/kgBB)	2,75±0,24 ^d	120	-

Keterangan: Notasi a, b, c, dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan.

Pada tabel 5.1 kelompok kontrol positif yang diinduksi karbon tetraklorida menunjukkan penurunan kadar albumin sebagai hasil karena penginduksian karbon tetraklorida dosis 0,3 mL/150g BB yang diinduksi 3 kali dalam seminggu selama 4 minggu tanpa pemberian ekstrak gambir. Pemberian dosis 0,3 mL/150 g BB selama 4 minggu ini bertujuan untuk merusak hepar tikus. Pemberian dosis ini menyebabkan jumlah radikal bebas (ROS) dalam tubuh mengalami peningkatan tanpa diimbangi peningkatan jumlah antioksidan. Produk dari ROS itu sendiri berupa hidrogen peroksida, radikal hidroksil, radikal superoksida dan nitrit oksida. Senyawa ini memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, bersifat sangat reaktif dan terbentuk secara bebas didalam tubuh sehingga senyawa ini akan mengikat lipid pada membran sel untuk mencapai keseimbangannya. Akibatnya terjadi kerusakan pada sel hepar dan mengganggu fungsi sintesis protein oleh hepar sehingga menyebabkan penurunan kadar albumin dalam tubuh.

Pada tikus kelompok P1 dan P2 memiliki kadar albumin yang tidak signifikan dengan kontrol positif maupun negatif. Hal ini menunjukkan bahwa P1 sebagai dosis 1 (130 mg/kg BB) dan P2 sebagai dosis 2 (260 mg/kg BB) memiliki kadar albumin lebih baik dari kontrol positif tetapi belum mampu menyerupai kadar albumin pada kontrol negatif, sehingga kedua kelompok ini memiliki notasi yang berbeda dengan kontrol positif dan negatif. Hasil ini juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak gambir dapat meningkatkan kadar albumin, namun pada dosis ini belum mampu menyamai kadar albumin normal seperti kadar albumin pada kontrol negatif. Hal ini terjadi karena pada kedua dosis gambir yang juga

mengandung kandungan flavonoid yang kandungan utamanya merupakan katekin yang berpotensi sebagai antioksidan yang akan menetralkan radikal bebas (Wibawa, 2010) masih belum tepat agar mampu menjaga keseimbangan antara oksidan dan antioksidan di dalam tubuh akibat CCl₄.

Pada kelompok tikus perlakuan 3 (dengan dosis 390 mg/kg BB) pada tabel diatas menunjukkan peningkatan kadar albumin dan memiliki notasi yang sama dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok dengan dosis 390 mg/kgBB mampu meningkatkan kadar albumin secara signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan ini dapat mencegah terjadinya fibrosis hepar. Hal ini terjadi karena ekstrak gambir yang diberikan sebagai preventif dengan dosis 390 mg/kg BB mampu menyeimbangi tikus yang diinduksi CCl₄ dengan dosis 0,3 mL/150 g BB dengan cara meningkatkan kadar albumin dalam tubuh. Peningkatan kadar albumin ini menunjukkan bahwa di dalam ekstrak gambir terdapat kandungan flavonoid yang tinggi dengan katekin sebagai kandungan utamanya (Pambayun, 2007). Kandungan katekin dalam ekstrak gambir tersebut yang berpotensi menjadi antioksidan (Nakagawa, 2005) terhadap oksidan yang berasal dari induksi CCl₄. Sehingga dapat dikatakan dosis 390 mg/kg BB pada perlakuan 3 merupakan dosis preventif optimum untuk meningkatkan kadar albumin dalam menyeimbangi induksi CCl₄ karena hasil menunjukkan P3 tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif.

Pada penelitian ini dilihat hasil dari beberapa kelompok perlakuan menunjukkan bahwa ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) dapat berperan

sebagai preventif fibrosis hepar dengan cara meningkatkan antioksidan sehingga kadar albumin dalam tubuh juga akan meningkat. Adapun dosis yang paling efektif dari ketiga perlakuan yang telah dilakukan adalah dosis 390 mg/kg BB.

Hepar memetabolisme hampir setiap obat atau toksin yang masuk ke dalam tubuh, tetapi beberapa obat atau toksin yang dimetabolisme tersebut dapat langsung menyebabkan toksisitas hepar. CCl_4 merupakan salah satu jenis hepatotoksikan yang langsung dapat menyebabkan toksikan pada hepar. Metabolisme kerja obat di hepar melalui dua fase. Pada fase I, obat atau toksin akan diubah menjadi polar melalui proses oksidasi dan hidroksilasi yang dikatalis oleh enzim sitokrom P450. Reaksi ini dapat menghasilkan pembentukan metabolit yang lebih bersifat toksin daripada senyawa obat sebelumnya sehingga menyebabkan kerusakan hepar. Pada fase II terjadi proses konjugasi dengan senyawa asam asetat, asam amino, sulfat, dan glukoronat. Obat dengan berat molekul yang lebih tinggi akan di ekskresikan di empedu, sedangkan molekul yang lebih kecil dan bersifat larut air akan di ekskresikan di ginjal (Bigoniya *et al.*, 2009). Proses metabolisme CCl_4 berlangsung pada fase pertama dimana CCl_4 dikatalis oleh enzim sitokrom P450 di retikulum endoplasma. Induksi CCl_4 menyebabkan stress oksidatif (ROS) didalam hepatosit setelah melewati jalur bioaktivasi sitokrom P450 yang terdapat di retikulum endoplasma. Membran lipid pada bagian *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) sangat rentan terhadap radikal bebas sehingga peningkatan ROS akan menyebabkan kerusakan pada membran lipid (Chang *et al.*, 2013; Begriche *et al.*, 2011).

Menurut Bratawidjaja (2010), Radikal bebas seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) dihasilkan makrofag untuk membunuh mikroorganisme dalam tubuh. Radikal bebas dalam tubuh dapat distabilkan oleh antioksidan endogen, namun jika radikal bebas sudah berlebih didalam tubuh maka akan menyebabkan ketidakseimbangan antara oksidan radikal bebas dengan antioksidan endogen sehingga menyebabkan stres oksidatif (Heater *et al.*, 2012). Penurunan kadar albumin menunjukkan bahwa metabolit reaktif hasil induksi karbon tetraklorida memicu adanya stress oksidatif yang menimbulkan gangguan hepar. Jika hepar mengalami gangguan, maka terkait dengan fungsi hepar dalam mensintesis protein, kemampuan hepar dalam mensintesis protein juga menurun.

Antioksidan memiliki beberapa pengertian, dalam pengertian kimia antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron sedangkan dalam pengertian biologi yaitu semua senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Menurut Winarsi (2007), Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan dihambat masuk termasuk enzim dan protein pengikat logam. Antioksidan digolongkan menjadi dua berdasarkan asal dan pembentukannya yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang secara alami terdapat dalam tubuh baik intra maupun ekstraseluler, sedangkan antioksidan eksogen yaitu antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Biasanya berasal dari bahan-bahan alami (Widoawati dkk., 2005). Ekstrak gambir memiliki aktivitas antioksidan eksogen yang bermanfaat untuk menetralsir dan mengeliminasi

radikal bebas dalam tubuh dan juga membantu meningkatkan jumlah antioksidan endogen dalam tubuh.

Albumin adalah jenis protein dengan jumlah terbanyak di dalam tubuh yang membentuk plasma darah dan diproduksi pada organ hati. Hipoalbuminemia adalah tanda medis ketika kadar albumin dalam darah menjadi rendah di bawah normal. Mekanisme langsung yang menyebabkan hipoalbumin berhubungan dengan kematian yang masih belum jelas diketahui. Vincent *et al* (2014) menyatakan bahwa penurunan kadar albumin menyebabkan gangguan pada homeostasis normal dan metabolisme serta pengiriman obat dan efikasinya, sehingga pemberian obat perlu dilakukan penyesuaian. Hipoalbumin juga dapat menyebabkan terjadinya edema, salah satunya adalah edema paru, yang dapat menyebabkan terjadinya kematian. Hipoalbumin dapat disebabkan karena kondisi yang bervariasi, termasuk didalamnya sindroma nefrotik, gagal jantung, penyakit hati, dan malnutrisi.

5.2 Pengaruh Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai Preventif Fibrosis Hepar Terhadap Kadar Bilirubin Total.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak gambir terhadap pencegahan peningkatan kadar bilirubin total akibat pemberian CCl_4 dengan volume 0,3 mL/150g BB sebanyak 3 kali seminggu selama 4 minggu dengan konsentrasi bertingkat setiap minggunya. Bilirubin total merupakan biomarker yang dikaitkan dengan gangguan homeostatis bilirubin. Kadar bilirubin total yang semakin meningkat menunjukkan adanya gangguan fungsi hepar yang

dapat menyebabkan kerusakan hepar (Grupta, 2014). Bilirubin total juga merupakan salah satu parameter spesifik dari kerusakan hepar. Perbandingan kadar bilirubin total tikus pada kelompok perlakuan ditampilkan pada **Tabel 5.2**

Tabel 5.2 Rata-rata kadar bilirubin total pada hepar tikus kontrol, tikus yang diinduksi karbon tetraklorida, dan tikus yang diberi ekstrak gambir sebagai preventif.

Kelompok	Rata-rata Kadar Albumin (g/dL)	Persentase Penurunan (%)	Persentase Kenaikan (%)
Kontrol Negatif	0,57±0,17 ^d	-	-
Kontrol Positif	2,20±0,21 ^a	-	74
Perlakuan 1 (130 mg/kgBB)	1,67±0,09 ^b	24	-
Perlakuan 2 (260 mg/kgBB)	1,22±0,15 ^c	44	-
Perlakuan 3 (390 mg/kgBB)	0,82±0,15 ^d	62	-

Keterangan: Notasi a, b, c, dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan.

Kelompok kontrol positif (Tabel 5.2) yang diinduksi karbon tetraklorida menunjukkan peningkatan kadar bilirubin sebagai hasil, dan kenaikan paling tinggi terjadi pada kontrol positif karena pada kelompok kontrol positif ini diinduksi CCl_4 dosis 0,3 mL/150g BB yang diinduksi 3 kali dalam seminggu selama 4 minggu tanpa pemberian preventif ekstrak gambir sebelumnya. Pada K+ didapatkan hasil 2,20±0,21 sedangkan menurut Tolman (2000) kadar bilirubin normal tikus berkisar antara 0,02-1 mg/dL. Peningkatan kadar bilirubin pada P1 dan P2 juga terjadi hanya tidak setinggi pada kelompok K+, dikarenakan pada

perlakuan 1 dan 2 sudah mendapat perlakuan yaitu pemberian preventif ekstrak gambir sebelum diinduksi CCl_4 sehingga antioksidan yang dihasilkan gambir sebelumnya dapat menekan oksidan yang masuk, tetapi pada kondisi ini belum dapat dikatakan sebagai dosis preventif yang baik karena hasil bilirubin total P1 dan P2 belum dapat menyeimbangi kadar bilirubin total dari K-. Kadar bilirubin total pada kelompok P1(dosis 130 mg/kgBB) dan P2 (dosis 260 mg/kgBB) memiliki hasil yang secara statistika berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif dan negatif.

Perlakuan yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif yaitu perlakuan 3. Hasil dari K- sebagai hewan sehat atau tanpa perlakuan yang didapat dari hasil statistik yaitu $0,57 \pm 0,17$. Menurut Tolman (2000) kadar bilirubin normal tikus berkisar antara 0,2-1 mg/dL. Hasil dari Perlakuan 3 didapat berkisar $0,82 \pm 0,15$, sehingga bila dikaitkan dengan hasil K- maka, perlakuan 3 tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan P3 (dengan dosis 390 mg/kgBB) merupakan dosis ekstrak gambir yang paling efektif dibandingkan dosis ekstrak pada P1 dan P2, yang mampu menyeimbangi tikus yang diinduksi CCl_4 dengan dosis 0,3 mL/150gBB. Respon yang ditunjukkan oleh kadar bilirubin total hampir sama dengan K- sebagai kadar normal. Ekstrak gambir pada perlakuan 3 dosis 390 mg/kgBB yang digunakan sebagai preventif fibrosis ini menunjukkan tidak adanya peningkatan kadar bilirubin total, sehingga dapat dikatakan bahwa dosis ini merupakan dosis yang efektif untuk mencegah fibrosis hepar dibandingkan perlakuan dengan dosis yang lainnya.

Mekanisme ekstrak gambir sebagai preventif fibrosis awalnya tikus diberikan ekstrak gambir pada minggu kedua setelah aklimatisasi yang diharapkan mampu memberikan cadangan antioksidan untuk memenuhi kebutuhan antioksidan tubuh. Peningkatan radikal bebas yang tidak diimbangi dengan jumlah antioksidan endogen dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif akan tersebar pada sel target menyebabkan peningkatan kadar bilirubin total. Molekul pertama yang akan diserang adalah lipid, adanya oksigen pada lipid akan bereaksi menjadi radikal lipid peroksida dan akan terus menyerang molekul-molekul lain yang disebut dengan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan respon imun terhadap inflamasi meningkat sampai terjadi kerusakan pada sel hati yang merupakan salah satu faktor pembentukan jaringan ikat pada hepar. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dari ekstrak gambir mempunyai kemampuan untuk menetralsir senyawa radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa yang bersifat oksidan. Dikarenakan adanya antioksidan yang meredam radikal bebas sehingga keadaan stres oksidatif mengalami penurunan di dalam sel dan mempengaruhi proses peroksidasi lipid. Ekstrak tumbuhan gambir yang sudah diberikan secara berkala berfungsi menghambat karbon tetraklorida dan menekan respon imun terhadap inflamasi sehingga tidak terjadi inflamasi atau kerusakan hati dan fibrosis tidak terjadi.

Bilirubin merupakan produk penguraian eritrosit yang sebagian besar (80-85%) berasal dari hemoglobin dan sisanya berasal dari protein yang mengandung

heme contohnya sitokrom P450, *myoglobin* dan lain-lain (Sherlock and Dooley, 2002; Fevery, 2008).

Peningkatan kadar bilirubin total disebabkan adanya pengaruh yang signifikan dari induksi CCl₄ dengan dosis tinggi sekali pemberian, yang dapat menyebabkan hepatic steatosis akibat hepatotoksik yang dapat meningkatkan kadar bilirubin total. Hal ini didukung oleh Al-Yahya *et al* (2013), dalam penelitiannya yang menyatakan bahwa kadar bilirubin pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄ mengalami peningkatan yang signifikan. Bilirubin bebas yang berada dalam darah harus diikat oleh albumin terlebih dahulu untuk dibawa ke hepar, dimana di hepar akan dikonjugasi menjadi bilirubin terkonjugasi dan disekresikan bersama empedu sehingga apabila kadar albumin menurun dengan pemberian CCl₄ dosis 0,3 mL/150g BB, maka kadar bilirubin total akan mengalami peningkatan.

Menurut Tolman (2000) kadar bilirubin normal tikus berkisar antara 0,2-1 mg/dL. Pada kelompok kontrol negatif, kadar serum bilirubin total masih dalam kondisi normal sehingga dapat dibuktikan bahwa fungsi metabolisme hepar dalam memetabolisme bilirubin tidak mengalami gangguan. Kondisi dimana hepar mengalami kerusakan juga akan menyebabkan terjadinya penurunan fungsi pada hepar sehingga salah satu biomarker kerusakan hepar yaitu bilirubin total yang terdapat dalam darah juga mengalami penurunan fungsi metabolisme. Keadaan dimana kadar bilirubin total yang mengalami peningkatan dalam darah akan menunjukkan kemungkinan adanya gangguan fungsi hepar yang dapat

menyebabkan kerusakan hepar (Gupta, 2014). Salah satu faktor penyebab peningkatan kadar bilirubin total yaitu hepar tidak mampu membuang zat buangan sehingga menyebabkan keluarnya bilirubin dari hepar kemudian masuk kedalam aliran darah dan memasuki semua cairan tubuh (Panjaitan, dkk, 2007). Hal ini terjadi dengan terlihatnya peningkatan bilirubin total secara signifikan sehingga fungsi metabolisme hepar terganggu.

Hepar memetabolisme hampir setiap obat atau toksin yang masuk ke dalam tubuh, tetapi beberapa obat atau toksin yang dimetabolisme tersebut dapat langsung menyebabkan toksisitas hepar. CCl_4 merupakan salah satu jenis hepatotoksikan yang langsung dapat menyebabkan toksikan pada hepar. Metabolisme kerja obat di hepar melalui dua fase. Pada fase I, obat atau toksin akan diubah menjadi polar melalui proses oksidasi dan hidroksilasi yang dikatalis oleh enzim sitokrom P450. Reaksi ini dapat menghasilkan pembentukan metabolit yang lebih bersifat toksin daripada senyawa obat sebelumnya sehingga menyebabkan kerusakan hepar. Pada fase II terjadi proses konjugasi dengan senyawa asam asetat, asam amino, sulfat, dan glukoronat. Obat dengan berat molekul yang lebih tinggi akan di ekskresikan di empedu, sedangkan molekul yang lebih kecil dan bersifat larut air akan di ekskresikan di ginjal (Bigoniya *et al.*, 2009). Proses metabolisme CCl_4 berlangsung pada fase pertama dimana CCl_4 dikatalis oleh enzim sitokrom P450 di retikulum endoplasma. Induksi CCl_4 menyebabkan stress oksidatif (ROS) didalam hepatosit setelah melewati jalur bioaktivasi sitokrom P450 yang terdapat di retikulum endoplasma. Membran lipid

pada bagian *polyunsaturatedfatty acid* (PUFA) sangat rentan terhadap radikal bebas sehingga peningkatan ROS akan menyebabkan kerusakan pada membran lipid (Chang *et al.*, 2013; Begriche *et al.*, 2011).

Antioksidan memiliki beberapa pengertian, dalam pengertian kimia antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron sedangkan dalam pengertian biologi yaitu semua senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Antioksidan digolongkan menjadi dua berdasarkan asal dan pembentukannya yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang secara alami terdapat dalam tubuh baik intra maupun ekstraseluler, sedangkan antioksidan eksogen yaitu antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Biasanya berasal dari bahan-bahan alami (Widoawati dkk., 2005). Ekstrak gambir memiliki aktivitas antioksidan eksogen yang bermanfaat untuk menetralkan dan mengeliminasi radikal bebas dalam tubuh dan juga membantu meningkatkan jumlah antioksidan endogen dalam tubuh.

Gambir berpotensi sebagai hepatoprotektan dengan menurunkan reaksi oksidasi lipid (Fahrudin, 2015). Ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) memiliki kandungan senyawa flavonoid dengan kandungan katekin didalamnya yang mampu menetralkan radikal bebas akibat pemberian CCl₄ dengan dosis dan jangka waktu tertentu. Gambir dapat berperan sebagai antioksidan sehingga akan mengurangi pembentukan radikal bebas yang dapat mencegah adanya proses peroksidasi lipid yang juga mengurangi resiko terjadinya kerusakan sel hepar.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak gambir sebagai preventif dapat menurunkan kadar bilirubin total pada tikus model fibrosis hepar dengan dosis terbaik adalah 390 mg/kg BB.
2. Pemberian ekstrak gambir sebagai preventif pada tikus model fibrosis hepar meningkatkan kadar albumin dengan dosis terbaik adalah 390 mg/kg BB.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping dari pemberian ekstrak gambir.
2. Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut tentang pemberian ekstrak gambir dengan dosis yang melebihi dari dosis hasil pada penelitian ini, agar didapat hasil yang lebih efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, A. 2012. *Uji Bioaktivitas Losartan Terhadap Jaringan Fibrosis Hati Tikus yang di Induksi Karbon Tetraklorida (CCl₄)*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, Vol. 17, No.2, 2012, halaman 92-97.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2005. *Toxicological Profile for Carbon Tetrachlorida (Update)*. Atlanta, GA: U.S Department of Public Helath and Human Services, Public Health Service.
- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika.
- Agu, W.E., and A.N. Egbuji. 2002. Urine Albumin Levels in Mice Infected with Trypanosoma brucei. *Veterinarski Archiv* 72(2): 101-108.
- Amirudin, R. 2006. *Fisiologi dan Biokimiawi Hati*. Dalam : *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid II*. Edisi IV. Jakarta : Balai Penerbit FKUI,p : 417.
- Amirudin, R. 2007. *Fibrosis Hati Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati Edl*. Jakarta : Jayabadi.
- Amos, 2010. *Kandungan Katekin Gambir Sentra Produksi di Indonesia*. *Jurnal Standarisasi*. 12 (3), 149-155.
- Anggraini T., Tai A., Yoshino T. and Itani T. 2011. *Antioxidative Activity and Catechin Content of Four Kinds of Uncaria gambir Extracts from West Sumatra, Indonesia*. *African J. of Biochem Res.*, 5 (1), 33 – 38.
- Anom, T.I. 2010. *Pendekatan Diagnosis dan Terapi Fibrosis Hati*. *Jurnal Penyakit Dalam*, volume 11 nomor 1.
- Armitage, D. 2004. *Rattus norvegicus*. Animal Diversity Web Online. http://animaldiversity.org/accounts/Rattus_norvegicus/. diakses 5 januari 2017.
- Badan POM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal Volume Kelima Edisi Pertama*. Direktorat Obat Asli Indonesia.
- Bataller, R and Brenner, D. A. 2005. *The Liver Fibrosis*. *Journal of Clinical Investigation*: 115 (2) 179-183.
- Begrliche, K., Massart, J., Robin, M.A., Sanchez, A.B and Fromenty, B. 2011. Drug-Induced Toxicity on Mitochondria and Lipid Metabolism: Mechanistic Diversity and Deleterious Consequences For The Liver. *Journal of Hepatology*. 54: 773-794.
- Bigoniya, P., Singh C.S. and Shukla A. 2009. A Comprehensive Review of different Liver Toxicants Used in Experimental Pharmacology. *International Journal pf Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 1(3): 124-135

- Boorman, G.A. 2006. *Pathology of The Fischer Rat: Reference and Atlas*. Academic Press. California
- BPOM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal Vol.5*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Bratawidjaja, K.G., dan I. Rengganis. 2010. *Imunologi Dasar*. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia: Jakarta.
- Chang, F.J., Li, B., Shun, M.L., Raj, K.Y., Hyung, R.K. and Han, J.C. 2013. *Mechanism of The Inhibitory Effects of Eucommia ulmoides Oliv. Cortex Extracts (EUCE) in The CCl₄-Induced Acute Liver Lipid Accumulation in Rats. International Journal of Endocrinology*. 11.
- Corwin, E.J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi Edisi ke-3*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta. 646-654.
- Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. 2001. *Neonatal Hyperbilirubinemia*. N Engl J Med. 344(8): 581-90.
- Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Laboratory Medicine Practice Guidelines. Laboratory guidelines for screening, diagnosis and monitoring hepatic injury. The National Academy of Clinical Biochemistry. 2000.
- Evans, W.T. 2002. Review Article: Albumin As A Drug- Biological Effects Of Albumin Unrelated To Oncotic Pressure. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16(Suppl.5):6-11
- Fahrudin, F., D. D. Solihin, N. Kusumorini, S. Ningsih. 2015. *Efektifitas Ekstrak Gambir (Uncaria gambir (Hunter) Roxb.) Sebagai Hepatoprotektor pada Tikus (Rattus norvegicus L.) yang Diinduksi CCl₄*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol. 13, No. 2 ISSN 1693-1831. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Feverly, J. 2008. *Bilirubin In Clinical Practice: A Review*. Laboratory of Hepatology, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium.
- Gilman, A. G., J. G. Hardman, and L. E. Limbird (Eds). 2001. *The Pharmacological Basic of Therapeutics*. Vol 2. 10th ed. Graw Hill. 1274-1279
- Gupta, R.C.2014. *Biomarker in Toxicology*. Elsevier Inc.: San Diego. 241-162.
- Handayani, Fitri, Siswanto, Eka, Pangesti, Trisna. 2015. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Gambir (Uncaria Gambir R) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kulit Punggung Mencit Putih Jantan*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2). 133-139.

- Harlina, E. dan Huminto, H. 2011. *Patologi Hepar dan Pankreas*. [Artikel] Bagian Patologi. Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Hokenberry, M.J., & Wilson, D. 2007. *Nursing Care of Infants and Children*. 8th Ed. St. Louis: Mosby Elsevier.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lestari, B.M. 2007. Peran Sel Kupffer pada Steatohepatitis Alkohol. *Jurnal Biomedik Vol. 4, No.2: 79-87*
- Liedtke, C., T. Luedde, T. Sauerbruch, D. Scholten, K. Streetz, F. Tacke, R. Tolba, C. Trautwein, J. Trebicka, and R. Weiskirchen. 2013. *Experimental Liver Fibrosis Research: Update on Animal Models, Legal Tissue and Translational Aspects: Fibrogenesis and Tissue Repair*. *Biomed Central*, 6:19.
- Michaelsson, M. 2008. Bilirubin Determination In Serum and Urine. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 13. Supp 56
- Nagao Y., Sata. M. 2010. *Serum Albumin and Mortality Risk in a Hyperendemic Area of HCV Infection in Japan*. *Virology Journal*; 7:37.
- Panjaitan R.G.P., Handharyani, E., Chairul, M., Zakiah, Z., dan Manalu, W. 2007. *Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus*. *Makara, Kesehatan*, Vol. 11, No. 1: 11-16.
- Pambayun R., dkk. 2007. *Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (Uncaria gambir Roxb)*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 18(3):141-146.
- Pincus MR, Tierno P, Dufour DR. Evaluation of liver function. Dalam: McPherson RA, Pincus MR. (eds). *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 21th ed, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007 p 263-76.
- Sacher R.A., dan R.A. McPherson. 2004. *Uji Fungsi Hepar. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi ke-11*. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2004; 360-84
- Sedlak TW, Snyder SH. 2004. *Bilirubin Benefits: Cellular Protection by a Biliverdin Reductase Antioxidant Cycle*. *Pediatrics*. 2004;113(6):1776-82.
- Sedlak TW, Saleh M, Higginson DS, Paul BD, Juluri KR, Snyder SH. 2009. *Bilirubin and Glutathione Have Complementary Antioxidant and Cytoprotective Roles*. *PNAS*. 2009;106(13): 5171-6.
- Sherlock, S. and Dooley, J. 2002. *Disease of The Liver and Biliary System 7th Edition*. Blackwell Publishing Company: France. 20-23, 205-207, 219.

- Soleh D, IG Arinton, Wahyu S. 2011. Hubungan APRI (AST- Platelet Ratio Indeks) Terhadap Derajat Fibrosis Pasien Penyakit Hati Kronis. Fakultas Kedokteran. Universitas Jendral Sudirman. Mandala of Health. Vol 5 No.2
- Sutedjo, SKM. 2007. Mengenal Penyakit Melalui Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Amara Books, Yogyakarta.
- Tolman, K.G., and R. Rej. 2000. Liver Function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editor. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 2000. P. 1125-77.
- Venukumar, M.R. and M.S. Latha. 2002. *Hepatoprotective Effect of The Methanol Extract of Curliigo Orchioides in CCl₄ Treated Mae Rats. Indian Journal of Pharmacology* 34: 269-275.
- Vincent JL., Russell JA., Jacob M., Martin G., Guidet B., Wernerman J., Roca RF., McCluskey SA., Gattinoni L. 2014. Albumin Administration in Acutely Ill: What is New and Where Next?; *Critical Care* 18:231.
- Wahyuningsih, S., Afifah B., Sutjiatmo. 2006. Uji Aktivitas Hepatoprotektan Ekstrak Air Akar Kuning (*Fibraurea Lour*) pada Tikus Putih Betina Galur Wistar. *Aristoteles Vol.4 No.1*.
- Wai, C.T., Greenon, J.L., Fontana, R.J., Marrero, J.A., Lok, A.S. 2003. *A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. Hepatology*, 38 : 518-26.
- Wibawa, D.N. 2010. Pendekatan Diagnosis dan Terapi Fibrosis Hati. SMF Ilmu Penyakit Dalam FK UNUD Denpasar: *Jurnal Penyakit Dalam Vol.11, No.1*.
- Williams, D.A, Center S., Nicola, D., and Poteet, B. 2005. *Roundtable Discussion: Diagnosing Liver Disease*. IDEXX Laboratories.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kasinumedia: Yogyakarta.
- Winaya dan Suarsana. 2005. *Perubahan Morfologi Hati dan Ginjal Mencit yang diinduksi Karbontetraklorida (CCL₄)*. Jurnal Penelitian. Denpasar. Jurnal Veteriner Vol. 6, No.1: 21-24.