

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70 %
LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP PERBAIKAN KERUSAKAN SEL
HEPATOSIT TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
GALUR (*Sparague Dawley*) YANG DIINDUKSI ETANOL**

(Skripsi)

OLEH

MUHAMMAD REIVAN PUTRA ATHORIQ



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2022**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70 %
LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP PERBAIKAN KERUSAKAN SEL
HEPATOSIT TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
GALUR (*Sparague Dawley*) YANG DIINDUKSI ETANOL**

Oleh:

MUHAMMAD REIVAN PUTRA ATHORIQ

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memproleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2022**

ABSTRACT

THE EFFECT OF Ethanol Extract 70 % ALOE VERA (*Aloe vera*) ON THE REPAIR OF HEPATOCYTES DAMAGE IN WHITE RAT (*Rattus norvegicus*) LIVER CELLS *Sprague dawley* STRAIN INDUCED BY ETHANOL

By

MUHAMMAD REIVAN PUTRA ATHORIQ

Background: Chronic consumption of alcohol (ethanol) can increase the occurrence of alcohol-induced liver disease by increasing the production of oxidative stress in the liver which can damage liver function and structure. Antioxidants contained in Aloe vera can reduce the production of free radicals due to their metabolism in the liver. This research aims to determine the differences in the repair of hepatocyte cell damage in white rats with the administration of aloe vera extract induced by ethanol.

Methods: This research used a purely experimental methods with a post-test only control group design, with a sample of 30 rats devided into 5 groups, as follow negative control group (K1) given standar feed and aquadest, positive control group (K2) given 40% ethanol 1,8mL/day peroral, treatment group (P1,P2,P3) given 40% ethanol 1,8mL/day peroral followed by aloe vera extract with doses 200, 300, and 400 mg/day peroral for 14 days. Then, hepar of the rat is taken for microscopic examination.

Results: The scores obtained at K1 = 0.16, K2 = 2.6, P1 = 1.84, P2 = 1.76, P3 = 1.28, then analyzed using the Kruskal-Wallis test and continued with the Mann Whitney test, the results obtained significant mean differences between the groups. K2 with P1, P2, and P3

Conclusion : There are differences in the repair of hepatocyte cell damage in white rats with the administration of aloe vera extract induced by ethanol

Keywords: Aloe Vera, Antioxidant, Hepatocytes

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70 % LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP PERBAIKAN KERUSAKAN SEL HEPATOSIT HEPAR TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR (*Sparague Dawley*) YANG DIINDUKSI ETANOL

OLEH

MUHAMMAD REIVAN PUTRA ATHORIQ

Latar Belakang : Kegiatan mengkonsumsi alkohol (etanol) secara kronik mampu meningkatkan terjadinya penyakit hati akibat alkohol dengan meningkatkan produksi stress oksidatif pada hepar yang mampu merusak fungsi dan struktur hepar. Antioksidan yang terkadung dalam lidah buaya (*Aloe vera*) dapat meredam produksi radikal bebas akibat hasil metabolismenya di hepar. Penelitian ini bertujuan untuk melihat perbedaan perbaikan kerusakan sel hepatosit tikus putih dengan pemberian ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) yang diinduksi etanol

Metode : Penelitian ini menggunakan jenis eksperimental murni dengan rancangan *post-test only control group design*, dengan hewan uji coba sebagai sampel sebanyak 30 yang terbagi menjadi 5 kelompok, kelompok kontrol negatif (K1) yang diberikan pakan standar dan minum aquades *ad libidum*, kelompok kontrol positif (K2) yang diberikan perlakuan etanol 40% dengan dosis 1,8mL/hari, kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) yang diberikan perlakuan etanol 40% peroral dengan dosis 1,8mL/hari kemudian dilanjutkan dengan ekstrak etanol 70% *aloe vera* dengan dosis bertingkat 200, 300 dan 400mg/KgBB/hari selama 14 hari. Lalu hepar diambil untuk dilihat dan analisis secara mikroskopis

Hasil : Skoring yang didapatkan pada K1=0.16, K2=2.6, P1=1.84, P2=1.76, P3=1.28, Kemudian dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*, didapatkan hasil perbedaan rerata yang bermakna antara kelompok K2 dengan P1, P2, dan P3

Kesimpulan : Terdapat perbedaan perbaikan kerusakan sel hepatosit tikus putih dengan pemberian ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) yang diinduksi oleh etanol

Kata Kunci : Aloe Vera, Antioksidan, Hepatosit

Judul Skripsi

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70 % LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP PERBAIKAN KERUSAKAN SEL HEPATOSIT TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR (*Spárague Dawley*) YANG DIINDUKSI ETANOL

Nama Mahasiswa

Muhammad Reivan Putra Athoriq

No. Pokok Mahasiswa

: 1818011038

Program Studi

: PENDIDIKAN DOKTER

Fakultas

: KEDOKTERAN

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

**dr. Anggi Setiorini, S.Ked., M.Sc.,
AIFO-K
NIP. 198802182019032007**

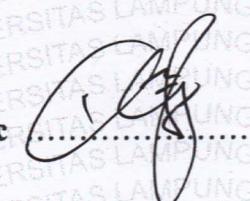
**dr. Rasmi Zakiah Oktarlina,
S.Ked., M.Farm
NIP. 1984102020009122005**

2. Dekan Fakultas Kedokteran

**Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M, M.Kes
NIP. 197206281997022001**

MENGESAHKAN

1. **Tim Pengaji**

Ketua : **dr. Anggi Setiorini, S.Ked., M.Sc** 

Sekretaris

: **dr. Rasmi Zakiah Oktarlinia, S.Ked.**

M.Farm

Pengaji

Bukan Pembimbing : **Dr. Hendri Busman, M.Biomed**

2. **Dekan Fakultas Kedokteran**



Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, S.K.M., M.Kes

NIP. 197206281997022001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 28 Maret 2022

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama :Muhammad Reivan Putra Athoriq

NPM :1818011038

Program Studi : Pendidikan Dokter

Judul Skripsi : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70 % LIDAH
BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP PERBAIKAN KERUSAKAN
SEL HEPATOSIT TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
GALUR (*Sparague Dawley*) YANG DIINDUKSI ETANOL

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah Skripsi ini bebas plagiat. Apabila di kemudian hari terbukti plagiat dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia diberi sanksi sesuai peraturan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 29 Maret 2022

Mahasiswa,



Muhammad Reivan Putra Athoriq

1818011038

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Muhammad Reivan Putra Athoriq, dilahirkan di Pringsewu, 25 Mei 2001 sebagai anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Saripudin, S.Pd dan Ibu Wim Teristinawaty, SKM.

Riwayat pendidikan penulis menyelesaikan Taman Kanak-Kanak (TK) Al-Iqra Kedondong pada tahun 2005. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan pada Madrasah Ibtidaiyah Negri 1 Pesawaran pada 2013. Pendidikan Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di Madrash Tsanawiyah Negri 1 Pesawaran pada tahun 2016 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negri 1 Gadingrejo pada tahun 2018.

Penulis terdaftar menjadi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2018 melalui jalur seleksi SNMPTN. Selama menjadi mahasiswa, penulis berkontribusi dalam Medical Gathering tahun 2018 yang merupakan acara tahunan bagi mahasiswa baru, menjadi panitia diesnatalis FK Unila yang ke-17. Selain itu, penulis juga aktif dalam organisasi menjadi anggota muda FSI (Forum Studi Islam)dan Lunar pada tahun 2019 dan menjadi Ketua Umum FSI Ibnu Sina periode 2019-2020.



*Karya Ini Kupersembahkan Untuk Kedua Orang
Tuaku dan Keluarga Besar Tercinta*

*Untuk Semua Pihak yang Telah Mensupport dan
Mendoakan dan Berarti Bagi Hidupku*

*“dan Dia Memberinya Rezeki dari Arah yang Tidak
disangka-sangkanya. Dan Barang Siapa Bertawakal
Kepada Allah, Niscaya Allah Akan Mencukupkan
(Keperluannya). Sesungguhnya Allah melaksanakan
Urusannya. Sungguh, Allah Telah Mengadakan
Ketentuan Bagi Setiap Sesuatu.”*

(At-Talaq [65]:3)

SANWACANA

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70 % LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) TERHADAP PERBAIKAN KERUSAKAN SEL HEPATOSIT TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR (*Sparague Dawley*) YANG DIINDUKSI ETANOL”** sebagai salah satu syarat untuk memproleh gelar sarjana kedokteran di Universitas Lampung.

Penulis menyadari dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapat masukan, dukungan, bimbingan dan saran serta kritik yang membangun dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menghaturkan ucapan terimakasih dengan tulus yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT sebagai Zat yang selalu memberikan rahmat dan karuniaNya serta berbagai nikmat baik kesehatan, keimanan dan kesempatan, sehingga penulis mampu kuat dalam menyelesaikan skripsi ini,
2. Kedua orang tus, Bapak Saripudin, S.Pd dan Ibu Wim Teristinawaty, S.KM. Terimakasih atas segala kasih sayang, perhatian, dukungan, support dan doa di setiap jalan perjuangan yang penulis tempuh untuk memantapkan langkah menggapai masa depan.
3. Kakak, kembaran dan adikku, Digma, Reihan dan Risyad yang sudah memberikan masukan, support, serta doa untuk penulis tetap kokoh dalam menempuh masa depan.
4. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si selaku Rektor Universitas Lampung.
5. Ibu Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, SKM, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
6. Ibu dr. Anggi Setiorini, S.Ked., M.Sc., AIFO-K., selaku pembimbing utama atas kesediannya meluangkan waktu, tenaga dan pikiran di tengah kesibukannya untuk mengajarkan, membuka pikiran penulis,

memberikan masukan, serta memberikan dorongan kepada penulis agar adapt menyelesaikan skripsi ini.

7. Ibu dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm selaku pembimbing kedua penulis yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga serta nasihat-nasihat kepada penulis di tengah kesibukannya.
8. Bapak Dr. Hendri Busman, M.Biomed selaku pembahas utama yang telah memberikan masukan, saran, kritik yang membangun serta ilmu penelitian kepada penulis dalam proses penyusunan skripsi ini.
9. Dr. dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed selaku pembimbing akademik yang selalu menjadi orang tua bagi penulis, terimakasih atas segala doa, nasihat-nasihat dan masukan kepada penulis selama proses menimba ilmu di Fakultas Kedokteran.
10. Keluarga besar F18RINOGEN yang telah membersamai dan saling mendukung dalam proses proses menimba ilmu di Fakultas Kedokteran.
11. Keluarga kecil PA dr.Syazili 2018 yang bisa menjadi rumah kedua bagi penulis, tempat bertukar pikiran, proses belajar dan berbagai hal lainnya, semoga kelak di masa yang akan datang keluarga ini tetap utuh serta jalan sukses membersamai kita.
12. Terima kasih kepada keluarga besar Rumah Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas segala bantuan dalam proses penelitian penulis.
13. Terima kasih kepada Mas Bayu, Bu Nur, Pak Buchori, dan Pak Kalyadi yang sudah bersedia meluangkan waktunya dan berbagi ilmu kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
14. Kelompok BAMBANG, Dhani Achmad Maulana dan Avicenna Muhammad Archie, terimakasih telah menerima penulis dan atas kerjasama dalam penelitian yang menghabiskan waktu, pikiran dan tenaga serta menguji mental, semoga kelak kita sukses pada jalannya masing-masing.
Akhir kata penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna pada penulisan skripsi ini. Untuk itu, Penulis berharap segala kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap, penelitian yang dilakukan dan penyusunan skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca. Terima kasih banyak kepada seluruh pihak yang sudah memberikan dukungan,

bimbingan, saran, dan masukkannya kepada penulis dan mendapatkan balasan dari Allah SWT.

Bandar Lampung, 28 Maret 2022
Penulis,

Muhammad Reivan Putra Athoriq
1818011038

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR SINGKATAN	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penulisan.....	5
1.4 ManfaatPenelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	5
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi.....	5
1.4.3 Manfaat Bagi Peneliti Lain	6
1.4.4 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Alkohol	7
2.1.1 Definisi Alkohol	7
2.1.2 Klasifikasi Alkohol	7
2.1.3 Metabolisme Alkohol	8
2.2 Anatomi Hepar.	10
2.3 Fisiologi Hepar.	11
2.4 HistologiHepar.....	13
2.5 Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>).....	14
2.5.1 Definisi Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>).....	14
2.5.2 Taksonomi Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>).....	15
2.5.3 Morfologi Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>)	15
2.5.4 Kandungan Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>)	16
2.5.5 Manfaat Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>)	17

2.5.5.1 Antiinflamasi	17
2.5.5.3 Anti Kanker.....	17
2.5.5.4 Antioksidan dan Hepatoprotektor.....	18
2.6 TikusPutih (<i>RattusNorvegicus</i>).....	19
2.6.1 Klasifikasi.....	19
2.7 KerangkaTeori	19
2.8 Kerangka Konsep	22
2.9 HipotesisPenelitian	22
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	 23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Rancangan Penelitian	23
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
3.4 Populasi dan Sampel.....	24
3.4.1 Populasi	24
3.4.2 Sampel Penelitian	24
3.4.3 Kriteria Inklusi.....	26
3.4.4 Kriteria Eksklusi	27
3.5 Alat dan Bahan	27
3.5.1 Alat	27
3.5.2Bahan	27
3.5.3 Alat dalam Pembuatan Preparat Histologi.....	28
3.5.4 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi	28
3.6 Identifikasi Variabel Penelitian	29
3.6.1 Variabel Bebas.....	29
3.6.2 Variabel Terikat	31
3.7 Definisi Operasional	30
3.8 Prosedur Penelitian	31
3.8.1 Adaptasi Hewan Coba	31
3.8.2 Pemberian Dosis Etanol 40%	31
3.8.3 Teknik Pembuatan Ekstrak Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>)	31
3.8.4 Pemberian Ekstrak Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>)	32
3.8.5 Prosedur Pembuatan Sediaan Mikroskopis.....	33
3.8.6 Pengamatan Dengan Mikroskop	36
3.9 Alur Penelitian	37

3.10 Pengolahan dan Analisis Data	38
3.10.1 Pengolahan Data.....	38
3.10.2 Analisis Data	38
3.11 <i>Ethical Clearance</i>	39
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 40
4.1 Hasil Penelitian.....	41
4.1.1 Gambaran Histopatologi Hepatosit Hepar Tikus Putih	41
4.1.2 Analisis Histopatologi Hepar Tikus.....	48
4.2 Pembahasan	52
 BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	 60
5.1 Simpulan	60
5.2 Saran	60
 DAFTAR PUSTAKA	 61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Fungsi Utama Hepar	12
2. Taksonomi Lidah Buaya	15
3. Kandungan Lidah Buaya.....	17
4. Taksonomi Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>).....	29
5. Kriteria Penilaian Derajat Histopatologi Sel Hepar Menggunakan Kriteria Suzuki	30
6. Hasil Skoring Rerata Subjek Penelitian.....	48
7. Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> dan <i>Kruskal-Wallis</i>	51
8. Uji <i>Mann Whitney</i>	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Jalur Metabolisme Alkohol.....	10
2. Anatomi hepar anterior	11
3. Histologi Hepar	14
4. Tanaman Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>)	16
5. Struktur <i>Aloe-emodin</i>	28
6. Kerangka Teori	21
7. Kerangka Konsep.....	22
8. Alur Penelitian	37
9. Histopatologi Kelompok Kontrol Negatif (K1)	41
10. Histopatologi Kelompok Kontrol Positif (K2).....	42
11. Histopatologi Kelompok Perlakuan 1 (P1)	43
12. Histopatologi Perbaikan Kelompok Perlakuan 1 (P1).	44
13. Histopatologi Kelompok Perlakuan 2 (P2)	45
14. Histopatologi Perbaikan Kelompok Perlakuan 2 (P2).	46
15. Histopatologi Kelompok Perlakuan 3 (P3)	47
16. Histopatologi Perbaikan Kelompok Perlakuan 3 (P3).	48

DAFTAR SINGKATAN

ADH	Asetildehida
ALDH	Aldehid Dehydrogenase
ATP	Adenosin tripospat
BPOM	Badan Pengawas Obat dan Makanan
DEPKES	Departemen Kesehatan
MEOS	<i>Microsomal Enzyme Oxidizing System</i>
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
NADH	<i>Nicotinamide Adenosine Dinucleotide Hydrogen</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	<i>Superoxide dismutase</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Etanol merupakan satu dari sekian banyak bentuk dari alkohol, selama 8000 tahun dalam sejarah manusia berada di tempat yang penting. Salah satu jenisnya bir dan anggur yang dijadikan konsumsi keseharian pada masyarakat barat sampai abad ke-19 (Masters, 2014). Alkohol sendiri memiliki sifat hidrofilik dan polar, dikarena atom O yang dimilikinya memiliki sifat elektromagnetik, sehingga banyak gugus hidroksil –OH yang akan mudah larut dalam air(Tortora dan Derrickson, 2014). Alkohol juga merupakan zat adiktif, dalam penggunaannya sering kali alkohol menyebabkan ketergantungan bagi para pecandunya (WHO, 2018).

WHO tahun 2018 dalam datanya menuliskan sekitar 237 juta berjenis kelamin pria dan 46 juta berjenis kelamin wanita penduduk dunia memiliki gangguan penggunaan alkohol, dengan angka kematian mencapai 3,3 juta setiap tahunnya. Prevalensi tertinggi gangguan penggunaan alkohol di antara pria dan wanita di wilayah Eropa (14,8% dan 3,5%) dengan rata-rata mengkonsumsi alkohol 6,4 liter per hari pada usia 15 tahun ke atas (WHO, 2018). *Global status*

report on alcohol and health 2018 menyatakan bahwa penggunaan alkohol pada masyarakat Indonesia dengan jumlah penduduk 260.581.100 terdapat 2.084.648 masyarakat Indonesia mengalami ketergantungan karena penyalahgunaan alkohol atau sekitar 0,8% pada wanita dan pria serta sekitar 1.824.067 penduduk Indonesia mengalami ketergantungan alkohol atau sekitar 0,7% pada wanita dan pria (WHO, 2018).

Terdapat beberapa golongan alkohol dalam bentuk minuman, yaitu golongan A atau biasa dikenal dengan (bir) memiliki kadar etanol 1% sampai 5% yang dapat menyebabkan bicara tidak jelas dan mabuk emosional, golongan B atau biasa dikenal (*champagne, wine*) memiliki kadar etanol sebesar 5% sampai 20% yang dapat menyebabkan kehilangan ataksia, sensorik serta gangguan pengelihatan, golongan C atau biasa dikenal (*whisky*) memiliki kadar etanol 20% sampai 50% yang dapat menyebabkan gejala ataksia yang parah, hilang kesadaran dan sering terjadi konvulsi (BPOM RI, 2016). Proporsi konsumsi minuman beralkohol dan jenis minuman pada masyarakat Indonesia dengan usia 15 tahun ke atas terbanyak diminati adalah wine sebesar 76%, bir 18%, spirit 5% dan lainnya 1% dengan konsumsi pada wanita 1,5 liter dan pria 4,2 liter (WHO, 2018). Berdasarkan data Riskesdas (2018), sebesar 3% masyarakat Indonesia dengan usia 10 tahun ke atas melakukan kegiatan konsumsi minuman beralkohol dengan jenis terbanyak adalah minuman tradisional sebesar 38,7 %, bir 29,5%, Aggur-arak 21,6%, whisky 3,8%, oplosan 3,3% dan campuran 3,1% (Depkes RI, 2018).

Alkohol yang dikonsumsi manusia sekitar 90% nya akan dioksidasi di hepar dan sebagiannya akan melalui paru dan urin (Master, 2014). Hepar sendiri memiliki berat 1,5 kg atau berkisar 2% berat dari manusia dewasa. Memiliki fungsi dalam pembentukan dan eksresi cairan empedu yang memegang peranan dalam proses pencernaan dan absorpsi lemak dalam usus halus. Hepar juga memiliki fungsi pengawaracunan yang berguna dalam mendetok zat berbahaya untuk tubuh. (Glenda, 2015).

Metabolisme alkohol oleh hepar terutama melalui dua enzim yaitu Alkohol Dehidrogenase (ADH) dan Aldehid Dehydrogenase (ALDH) (Patel *et al.*, 2021). Etanol di metabolisme dalam sitosol hepatosit oleh ADH menjadi asetaldehida, yang selanjutnya dimetabolisme di mitokondria oleh ALDH menjadi asetat (Huang Y *et al.*, 2011). Reaksi ADH dan ALDH menyebabkan akumulasi *Nicotinamide Adenosine Dinucleotide Hydrogen* (NADH) dan penurunan rasio NAD+/NADH akibatnya yang memiliki efek signifikan pada gangguan metabolismik seperti hipoglikemi pada keracunan alkohol akut, asidosis laktat, dan alkoholisme kronis (Ceni *et al.*, 2014). Tiga jalur utama metabolisme etanol oleh hepar melalui *Microsomal Enzyme Oxidizing System* (MEOS), jalur mitokondria dan jalur alkohol dehidrogenase atau sitosol dengan produksi sampingan berupa zat toksik yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS diproduksi di hepatosit melalui induksi sitokrom P450 2E1 yang menyebabkan stres oksidatif, cedera hepatosit oleh ROS dan merupakan penentu utama cedera hati alkoholik dan fibrosis. Produksi ROS ini akan menghasilkan penurunan antioksidan glutathione (Huang Y *et al.*, 2011).

Indonesia memiliki banyak pengobatan tradisional menggunakan tanaman, tidak terkecuali *Aloe vera* tanaman dengan segudang manfaat untuk kesehatan tubuh (Moghaddi dan Verma, 2011). *Aloe vera* memiliki banyak manfaat seperti proteksi kerusakan hepar, sebagai anti peradagan, antikanker, serta dalam penggunaan luar dapan bermanfaat sebagai kosmetik dan proteksi terhadap kulit (Marzanna *et al.*, 2019). Tanaman ini mengandung banyak senyawa seperti karbohidrat mono dan polisakarida (asemanan dan glukomanan), vitamin, mineral, dan flavonoid yang memiliki kandungan antioksidan yang tinggi (glukomanan dan asemanan) (Moghaddi dan Verma, 2011).

Penelitian oleh Cui *et al.* (2014), menyatakan bahwa stres oksidatif memiliki peran penting dalam perkembangan dari penyakit hati akibat alkohol. Penggunaan alkohol dikaitkan dengan peningkatan peroksidasi lipid, kerusakan ke mitokondria, generasi radikal bebas dan penurunan dalam pertahanan antioksidan hati, memberikan meyakinkan bukti terhadap peran patogenik stres oksidatif. Kandungan polisakarida (glukomanan dan asemanan), flavonoid dan antrakuinon yang diisolasi dari *Aloe vera* memiliki efisiensi antioksidan yang tinggi. Penelitian ini mengamati bahwa tikus yang diinduksi dengan alkohol kemudian diberi perlakuan *Aloe vera* dikaitkan dengan penurunan ROS dan Malondialdehyde (MDA) sebagai penanda stres oksidatif. Redaman stres oksidatif yang diinduksi alkohol oleh lidah buaya

sebagian karena kemampuannya untuk mengurangi peroksidasi lipid dan menangkal radikal bebas (Cui *et al.*, 2014).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan masalah yang ditemukan didapatkan rumusan masalah yaitu apakah terdapat perbaikan kerusakan sel hepatosit hepar tikus putih jantan dengan pemberian ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera*) yang diinduksi oleh etanol?

1.3 Tujuan Penulisan

Untuk mengukur tingkat perbaikan kerusakan sel hepatosit hepar tikus putih dengan pemberian ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera*) yang diinduksi oleh etanol.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian yang dilakukan mampu menjadi tempat aplikasi ilmu yang telah ditekenuni selama perkuliahan dan mampu menambah wawasan keilmuan penulis.

1.4.2 Manfaat Bagi Institusi

Sumber informasi serta memperkaya keilmuan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

1.4.3 Manfaat Bagi Peneliti Lain

Sebagai dasar dalam melakukan penelitian lanjutan terkait efek ekstrak lidah buaya terhadap sel hepatosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur (*Sparague dawley*) yang diinduksi etanol .

1.4.4 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian mampu menjadi tempat informasi berkelanjutan mengenai pengaruh pemberian ekstrak lidah buaya terhadap sel hepatosit tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur (*Sparague dawley*) yang diinduksi etanol.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alkohol

2.1.1 Definisi Alkohol

Alkohol tersusun atas gugus –OH yang membentuk ikatan bersama dengan rantai atom –C lain (Dorland, 2015). Golongan dari alkohol yang lazim penggunaanya dalam keseharian methanol dengan rumus senyawa $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, serta etanol dengan rumus senyawa $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ yang diberi nama etil alkohol (etanol). Kandungan alkohol yang banyak ditemukan pada minuman keras adalah golongan etanol. Sebagian besar etanol yang terdistribusi dalam darah akan mengalami perubahan menjadi asetaldehida oleh alkohol dehydrogenase di dalam sitosol hepatosit (Katzung *et al.*, 2012).

2.1.2 Klasifikasi Alkohol

Minuman beralkohol terbagi menjadi dua kelas, yaitu etanol dan metanol. Etanol merupakan jenis alkohol yang mempunyai struktur kimia paling sederhana, namun paling toksik bagi manusia. Keracunan dari etanol biasanya karena overdosis sehingga menyebabkan asidosis

metabolik. Karena etanol dimetabolisme di hepar dan menyebabkan kerusakan hepar karena radikal bebas, serta asam format yang menghambat dari aktifitas oksidasi mitokondrial sitokrom yang menyebabkan hipoksia jaringan (Pohanka, 2016).

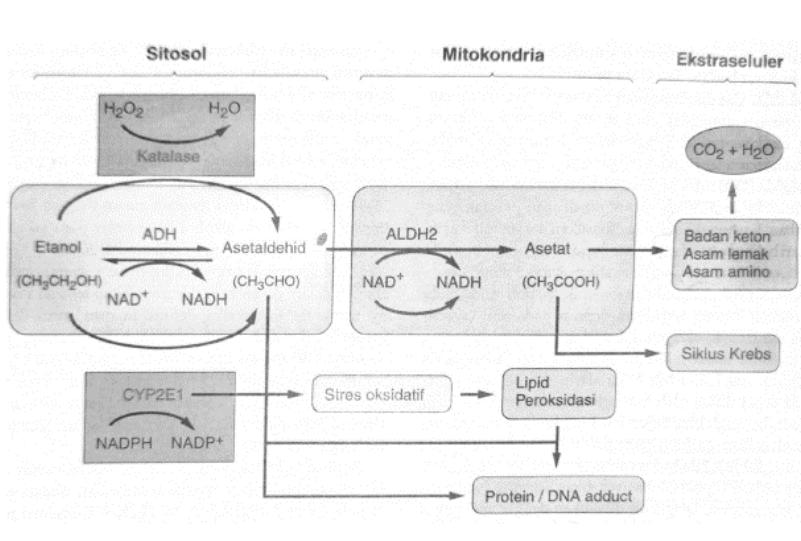
Minuman beralkohol memiliki tiga golongan, yaitu minuman golongan beralkohol A, golongan beralkohol B, dan golongan beralkohol C. Golongan A, berkadar etanol sebesar 1 sampai 5% seperti *beer*. Golongan B, berkadar etanol sebesar 5 sampai 20% seperti *champagne* dan *wine*. Golongan C, berkadar etanol sebesar 20 sampai 55% seperti *wishky* (Kemenperin RI, 2012 ; BPOM RI 2016).

2.1.3 Metabolisme Alkohol

Alkohol akan di metabolisme pada hepar sebagai tempat metabolisme utama yang melibatkan tiga jalur yaitu jalur alur *Microsomal Enzyme Oxidizing System* (MEOS), mitokondria dan jalur alkohol dehidrogenase atau sitosol. Produk sampingan hasil metabolisme ini berupa zat toksik berupa *Reactive oxidative stress* (ROS) (Bruha *et al.*, 2010; Masters, 2014). ROS terutama dihasilkan di sel hepatosit melalui induksi sitokrom P450 2E1 yang menyebabkan stres oksidatif, cedera hepatosit dan merupakan penentu utama cedera hati alkoholik dan fibrosis. Produksi ROS ini juga akan menghasilkan penurunan antioksidan glutathione (Huang Y *et al.*, 2011).

Jalur utama dimetabolismenya alkohol melibatkan enzim sitosol yang akan mengkatalisis perubahan alkohol menjadi asetildehida yang dikenal dengan ADH. Enzim ini terdapat banyak di hepar. Selama proses perubahan etanol oleh ADH menjadi asetaldehida, ion hidrogen akan dipindahkan dari etanol ke kofaktor nikotinamida adenine dinukleotida (NAD⁺) dalam rangka pembentukan NADH. Hasil akhirnya, akan menyebabkan kelebihan ekivalen pereduksi NADH di hepar. Kelebihan produksi NADH akan menimbulkan gangguan metabolismik yang beriiringan dengan alkoholisme kronik serta hipoglikemi pada keracunan alkohol kronik (Katzung *et al.*, 2012).

Sistem kedua melalui pengoksidasi etanol di mikrosom atau biasa dikenal dengan MEOS. Dikenal dengan sistem oksidase berfungsi campuran yang akan menggunakan dan mengubah NADPH sebagai suatu kofaktor dalam proses metabolisme etanol. Aktivitas MEOS akan meningkat dalam pengkonsumsian alkohol yang kronik. Hasilnya, konsumsi alkohol yang kronik akan terjadi peningkatan bermakna dalam proses metabolisme etanol dan klirens berbagai obat yang dipranrai oleh sitokrom P450 yang membentuk sistem MEOS serta akan membentuk produk sisa berupa zat toksin. Jalur terakhir melalui metabolisme asetaldehida dengan produk akhir asetildehida ini berupa asetat, yang mampu dipecah kembali menjadi CO₂ dan air, serta digunakan dalam pembentukan asetil-KoA (Katzung *et al.*, 2012).



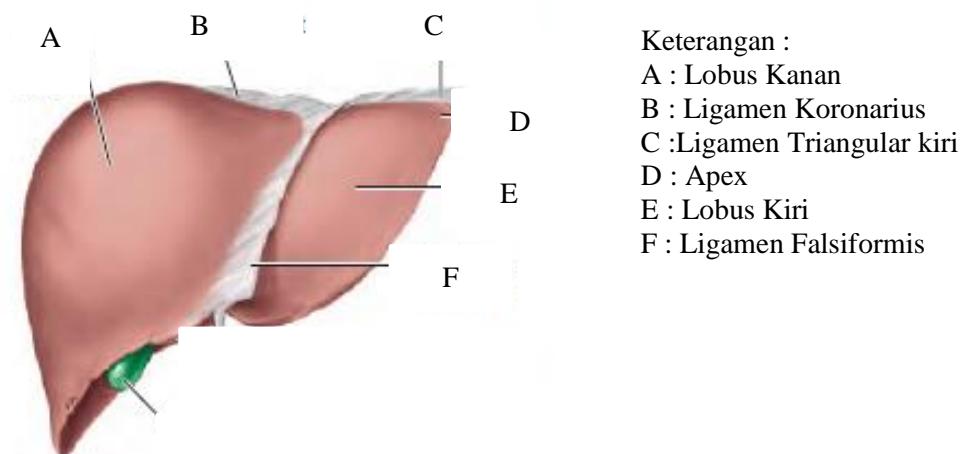
Gambar 1. Jalur Metabolisme Alkohol (Huether dan Mccance, 2019)

2.2 Anatomi Hepar

Hepar memiliki persentase sebesar 2-3% dari berat tubuh manusia dewasa dengan berat sekitar 1,5 kilogram. Organ ini terletak pada cavum abdomen tepatnya pada regio superior dekstra. Hepar terbagi menjadi 4 lobus, pada bagian anterior terbagi menjadi lobus dekstra dan sinistra, pada bagian posterior dan inferior terbagi menjadi lobus kaudatus dan kuadratus sementara itu, dalam kepentingan operasi hepar terbagi menjadi 8 segmen (Moore *et al.*, 2013).

Hepar memiliki beberapa ligamen untuk melekat. Ligamentum falsiformis merupakan perlekatan yang timbul pada umbilikus dan berlanjut ke aspek anterior hepar dalam kontinuitas dengan fisura umbilikalis. Ligamentum falsiformis berjalan ke arah kranial sepanjang permukaan anterior hepar, menyatu dengan peritoneum hepaticum yang meliputi posterosuperior menjadi bagian anterior ligamen koroner kiri dan kanan. Ligamentum teres

(ligamentum rotundum) yang terletak di bawah ligamentum falsiformis merupakan sisa dari vena umbilikalis obliterasi (ductus venosus) yang berjalan dari umbilikus ke fisura umbilikalis yang mana ligamen ini akan bersambung dengan ligamentum venosum saat bergabung dengan cabang kiri vena porta. Ligamentum venosum terletak di dalam fisura pada permukaan inferior hepar antara lobus kaudatus di posterior dan lobus kiri di anterior, di mana ligamen ini juga dimasuki oleh lipatan peritoneum omentum minus (ligamentum gastrohepatik) (Abdel M dan Bloomston, 2010).



Gambar 2. Anatomi hepar anterior (Moore *et al.*, 2013).

2.3 Fisiologi Hepar

Organ hepar akan menyaring darah hasil dari pencernaan dan saluran lain dalam rangka modifikasi zat tertentu dan proses pengawaracunan. Darah menuju hepar dari saluran cerna akan masuk melalui vena porta yang akan mengalir melewati sinusoid yang akan menuju vena sentralis dan kemudian akan masuk ke dalam vena cava inferior kembali. Sewaktu melalui lempeng

hepatosit, darah mengalami modifikasi kimiawi yang ekstensif (Cullen dan Stalker, 2016).

Menurut Cullen dan Stalker, (2016), hepar memiliki banyak fungsi kompleks disajikan pada tabel berikut :

Tabel 1. Fungsi Utama Hepar

Membentuk dan mensekresikan empedu
Metabolisme nutrient dan vitamin
<ul style="list-style-type: none"> • Glukosa • Asam amino • Lemak • Vitamin laruk-lemak • Vitmin larut-air
Inaktivasi berbagai bahan
<ul style="list-style-type: none"> • Toksin • Hormon • Steroid
Pembentukan protein plasma
<ul style="list-style-type: none"> • Protein fase akut • Albumin • Faktor pembekuan
Imunitas
<ul style="list-style-type: none"> • Sel kuffer

Sumber : Cullen dan Stalker (2016).

Hepar melakukan beberapa fungsi vital dalam mempertahankan kadar glukosa dalam darah agar tetap normal, selain dengan cara akan glikogenolisis hepar juga mampu melakukan proses pembuatan glukosa dari zat yang bukan merupakan karbohidrat atau biasa dikenal dengan glukoneogenesis. Ketika kadar glukosa terlalu tinggi dalam darah hepar juga akan memulai suatu proses pengubahan glukosa menjadi glikogen untuk disimpan (Tortora, 2012).

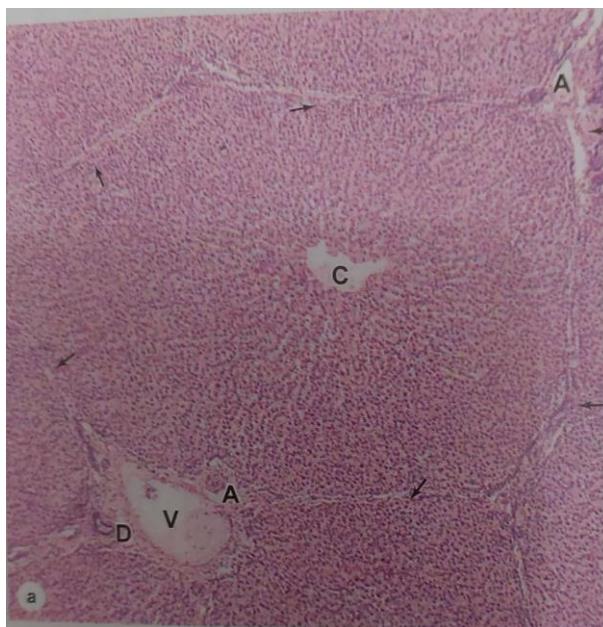
Hepar juga memiliki fungsi detoksifikasi, hepar mendetoksifikasi darah dari bahan-bahan yang berasal dari usus atau bagian tubuh lain. Sebagian dari

fungsi ini bersifat fisik bakteri dan partikel lain dijaring dan diuraikan oleh sel-sel Kupffer yang memiliki letak strategis. Reaksi-reaksi sisanya bersifat biokimiawi, dan diperantarai dalam tahap-tahap awalnya oleh sejumlah besar enzim sitokrom P450 yang diekspresikan di hepatosit. Enzim-enzim ini mengubah xenobiotika dan toksin lain menjadi metabolit inaktif yang kurang lipofilik. Reaksi detoksifikasi terbagi dalam 2 fase, fase I diantaranya proses pengoksidasi, hidroksilasi, dan reaksi lain dengan perantara enzim P450 dan fase II (esterifikasi). Hasil metabolit disekresikan ke dalam empedu pada akhirnya untuk dieliminasi melalui kanal cerna. Dalam hal ini, selain mengeluarkan obat, hepar berperan dalam metabolisme hampir semua hormon steroid. Karena itu, penyakit hepar dapat menyebabkan peningkatan berlebihan aktivitas sistem hormon terkait (Cullen dan Stalker, 2016).

2.4 Histologi Hepar

Hepatosit merupakan sel fungsional utama penyusun hepar yang merupakan sel kuboid besar atau epitel polihendral memiliki inti bulat terletak di pusat dan sitoplasma esinofilik yang memiliki banyak mitokondria. Sel hepatosit sering memiliki inti 2 dan sekitar 50% nya adalah poliploid. Hepatosit juga termasuk ke dalam sel yang memiliki banyak fungsi di dalam tubuh seperti fungsi eksokrin dalam mensekresikan komponen empedu, sintesis dan sekresi endokrin protein plasma terutama ke dalam darah, pemecahan (detoksifikasi serta konjugasi) toksin yang tercerna termasuk obat-obatan serta pembuangan eritrosit yang tidak berguna lagi (oleh sel kupffer). Hepatosit memiliki tempat untuk membentuk ratusan lempeng tidak beraturan tersusun radial

mengelilingi vena sentralis yang disebut parenkim, lempeng tersebut ditunjang oleh serat retikulin yang pada setiap perifernya membentuk suatu triad porta yang tersusun atas sebuah venul, arteriol, dan satu atau dua duktuli biliaris kecil. Sinusoid terdapat diantara anastomosis lempeng hepatosit lobulus hepar. Darah vena dan arteri bercampur pada sinusoid hepar yang tidak beraturan. Ia memiliki lapisan sel endotel berfenestra yang dikelilingi oleh lamina basal (Mescher A, 2016).



Gambar 3. Histologi Hepar (C=Vena sentralis, A=Arteiol, V=Venul, D=Duktus Biliaris) (Mescher, 2016)

2.5 Lidah Buaya (*Aloe vera*)

2.5.1 Definisi Lidah Buaya (*Aloe vera*)

Lidah buaya atau lazim dikenal dengan sebutan *Aloe vera* dalam bahasa latin merupakan tanaman dari Afrika dan mulai dikenal masyarakat Indonesia kurang lebih pada abad ke-17. Lidah buaya memiliki kemampuan tahan terhadap kekeringan dan efisien dalam penggunaan air (Furnawanithi, 2007).

2.5.2 Taksonomi Lidah Buaya (*Aloe vera*)

Menurut Ahlawat dan Khatbar (2011), taksonomi *Aloe vera* sebagai berikut :

Tabel 2. Taksonomi Lidah Buaya

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Superdivision	Spermatophyta
Divisi	Magnoliophyta
Kelas	Liliopsida
Subkelas	Lilidae
Ordo	Liliales
Famili	Aloaceae
Genus	Aloe L
Spesies	Aloe vera (L.)

Sumber : Ahlawat dan Khatbar (2011).

2.5.3 Morfologi Lidah Buaya (*Aloe vera*)

Setiap satu lidah buaya normalnya mempunyai 12 daun dengan panjang 25 cm dengan bobot sekitar 1,5 kg saat siap dipanen, memiliki morfologi seperti duri gergaji disepannjang tepi daun (Ahlawat dan Khatkar, 2011). Batang lidah buaya akan menjadi tempat bagi tunas anakan dari lidah buaya berbentuk hamper bulat dengan monopodial sifatnya dengan tampak yang sangat pendek hingga tidak terlihat dikarenakan tertutup bagian daun yang rapat. Daunnya ditutupi oleh kutikula yang tebal dan daun yang berurutan memiliki lebih sedikit bintik keputihan dan abu-abu kehijauan berwarna (Ahlawat dan Khatkar, 2011).



Gambar 4. Tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera*) (Kumar *et al.*, 2019)

2.5.4 Kandungan Lidah Buaya (*Aloe vera*)

Aloe vera mengandung sejumlah besar senyawa bioaktif seperti flavonoid, terpenoid, lektin, lemak asam, antrakuinon mono dan polisakarida (pektin, hemiselulosa, glukomanan), tanin, sterol (campesterol, sitosterol), enzim, asam salisilat, mineral dan vitamin (Sahu *et al.*, 2013 ; Harlev *et al.*, 2012). Komposisi kimia yang kaya dari tanaman tergantung pada sejumlah besar faktor kondisi budidaya, cuaca, waktu panen, dan spesies lidah buaya. Lidah buaya optimal dipanen setelah berusia 3 tahun dari waktu penanaman, dikarenakan memiliki kandungan polisakarida tertinggi (6,55 g/kg) dan flavonoid (4,70 g/kg) (Liu *et al.*, 2010).

Menurut Marzanna *et al.*, (2019), *Aloe vera* mengandung sejumlah senyawa bioaktif diantaranya :

Tabel 3 Kandungan Lidah Buaya

Senyawa	Kandungan
Asam amino non esensial dan esensial	Asam aspartat, alanine, glisin dan semacamnya
Enzim	Glutathione peroksidase
Protein	Lektin
Hormon	Auksin dan gibberelin
Senyawa non-organik	Kalsium, kalium, magnesium, fosfor
Sakarida	Manosa, glukosa, flavonoid
Karbohidrat	Mannan asetat, glukomanan asetat,
Antrakuinon	Aloe-emodin, barbaloin
Vitamin	C, B12, B6, B2, B1,

Sumber : Marzanna *et al.*, (2011).

2.5.5 Manfaat Lidah Buaya (*Aloe vera*)

2.5.5.1 Antiinflamasi

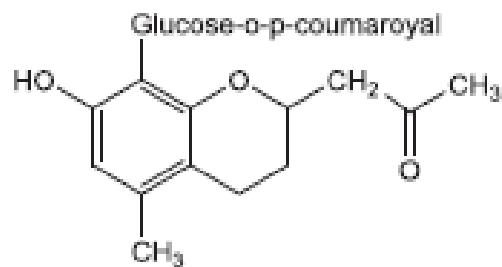
Tanaman lidah buaya dapat menghambat proses inflamasi dengan mengurangi adhesi leukosit. Penggunaan *Aloe vera* telah dibuktikan mampu meningkatkan aktivitas fagositosis dan prolifatif dengan cara menghambat jalur siklooksigenase serta mengurangi produksi prostaglandin E2, yang berperan dalam peradangan (Park K dan Sung, 2009).

2.5.5.3 Anti Kanker

Aloin yang terkadung dalam *Aloe vera* telah diusulkan sebagai pilihan terapi potensial dalam kanker. Pengobatan aloin telah menunjukkan penghambatan *in vitro* yang signifikan dari respon angiogenik yang diinduksi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dari sel endotel manusia. Aloin dapat menghambat angiogenesis tumor (Pan *et al.*, 2013).

2.5.5.4 Antioksidan dan Hepatoprotektor

Antrakuinon yang terkandung dalam lidah buaya mampu bertindak sebagai antioksidan dan terlibat dalam radikal bebas yang merupakan reaksi yang dimediasi selama respon inflamasi. ROS dan reaksi radikal bebas terlibat dalam respon inflamasi dan dapat berkontribusi pada nekrosis hati. Kandungan Aloe vera antrakuinon terutama aloe-emodin memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi sehingga menyebabkan perubahan molekuler pada sel hepar yang telah terinduksi alkohol sebelumnya. Antrakuinon cenderung melindungi terhadap kematian hepatosit dan respon inflamasi lipid peroksidasi (Dalia *et al.*, 2017). Kandungan Flavonoid, asemanan dan glukomanan juga mempunyai kadar antioksidan yang cukup tinggi yang mampu menangkal reaksi radikal bebas oleh ROS (Cui *et al.*, 2014).



Aloe-emodin

Gambar 5. Struktur Aloe-emodin (Kumar *et al.*, 2019)

2.6 Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)

2.6.1 Klasifikasi

Tikus putih (*Rattus novergicus*) dikenal sebagai tikus Norwegia. Tikus putih (*Rattus novergicus*) biasanya sering digunakan sebagai bahan untuk eksperimen sebagai hewan percobaan atau hewan laboratorium. Tikus putih digunakan sebagai bahan untuk eksperimen karena memiliki organ tubuh yang mirip dengan karakter organ tubuh manusia (Liss *et al*, 2015). Menurut (Simanjuntak, 2013) klasifikasi taksonomi tikus putih disajikan dalam tabel dibawah ini.

Tabel 4. Taksonomi Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Kingdom	Animalia
Filum	Chordota
Subfilum	Vertebrata
Kelas	Mamalia
Subkelas	Theria
Ordo	Rodensia
Subordo	Sciurognathia
Famili	Muridae
Subfamili	Muridae
Genus	Rattus

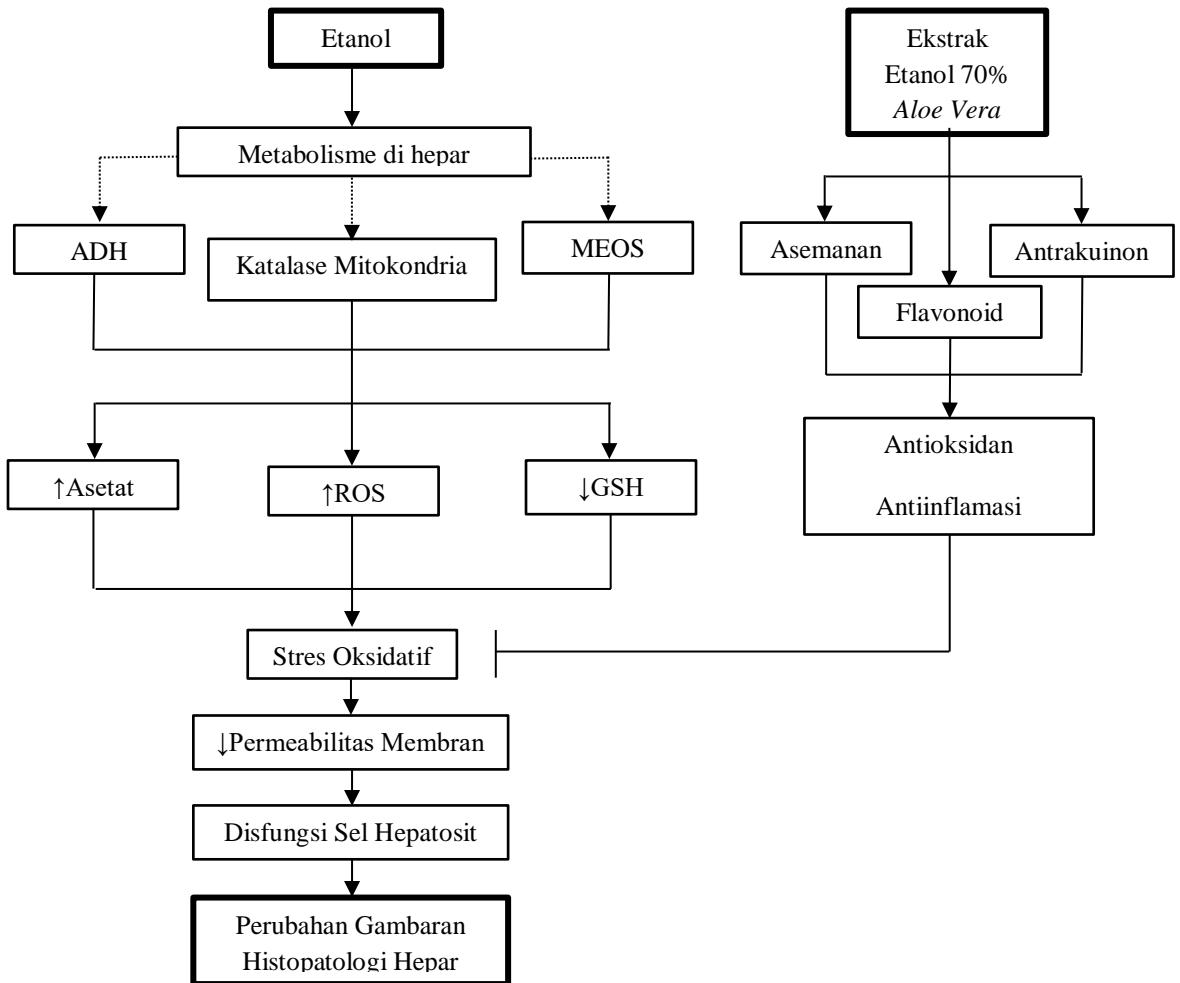
Sumber : (Simanjuntak, 2013).

2.7 Kerangka Teori

Alkohol merupakan zat adiktif yang telah digunakan sejak berabad-abad oleh manusia, dalam penggunaannya sering kali alkohol menyebabkan ketergantungan bagi para pecandunya (WHO, 2018). Konsumsi alkohol secara berlebihan dapat menjadi penyebab kerusakan berbagai organ, tidak terkecuali organ kelenjar terbesar yaitu hepar (Masters, 2014). Alkohol akan di metabolisme pada hepar sebagai tempat metabolisme utama yang melibatkan

tiga jalur yaitu jalur alur (MEOS), jalur katalase mitokondria dan jalur alkohol dehidrogenase atau sitosol. Produk sampingan hasil metabolisme ini berupa zat toksik berupa (ROS) (Bruha *et al.*, 2010; Masters, 2014). ROS terutama dihasilkan di sel hepatosit melalui induksi sitokrom P450 2E1 yang menyebabkan stres oksidatif, cedera hepatosit dan merupakan penentu utama cedera hati alkoholik dan fibrosis. Produksi ROS ini juga akan menghasilkan penurunan antioksidan glutathione (Huang Y *et al.*, 2011).

Lidah buaya memiliki kandungan antioksidan seperti asemanan dan flavonoid yang dapat mencegah dan mengurangi stress oksidatif dengan mengurangi jumlah ROS akibat hasil metabolisme alkohol di hati oleh sel hepatosit, antrakuinon khusunya aloe-emodin yang mampu menekan proses inflamasi dan melindungi kematian sel hepatosit (Cui *et al.*, 2014; Dalia *et al.*, 2017).



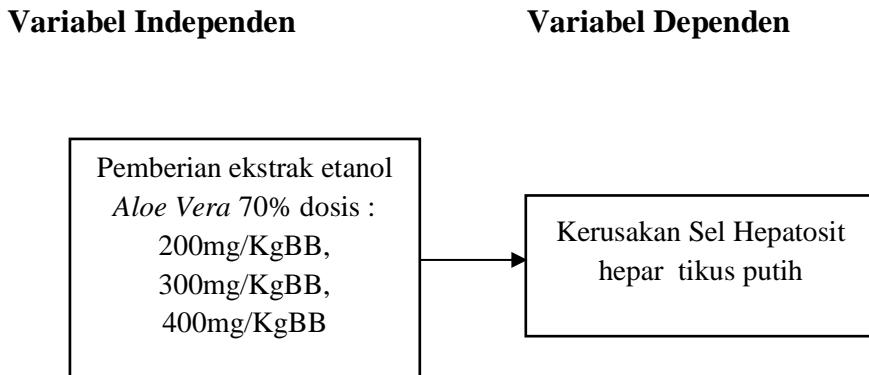
(Cui *et al.*, 2014; Dalia *et al.*, 2017)

Keterangan :

- : Variabel diteliti
- : Variabel tidak diteliti
- : Jalur Metabolisme
- ↑ : Meningkat
- ↓ : Menurun
- : Menyebabkan
- |— : Dihambat

Gambar 6. Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian :

Ho : Tidak terdapat perbedaan perbaikan kerusakan sel hepatosit tikus putih dengan pemberian ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera*) yang diinduksi oleh etanol

Ha : Terdapat perbedaan perbaikan kerusakan sel hepatosit tikus putih dengan pemberian ekstrak etanol lidah buaya (*Aloe vera*) yang diinduksi oleh etanol

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true eksperimental* untuk mengetahui dari gambaran mikroskopis sel hepatosit tikus jantan (*Rattus novergicus*) galur (*Sprague dawley*) setelah diinduksi etanol 40% dan perlakuan ekstrak etanol 70% lidah buaya. Hasil dari pengambilan data dilakukan setelah akhir pemberian perlakuan.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *post-test only control group design*, untuk mengamati perbandingan dan perbedaan yang terjadi pada 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif yang diberikan etanol 40% saja tanpa terapi dan tiga kelompok perlakuan yang diberikan etanol 40% dan terapi ekstrak lidah buaya dengan dosis bertingkat.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Dilaksanakan pada Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, intervensi dan perlakuan dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan preparat dan pengamatan dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran. Pembuatan eksrak lidah buaya dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Rentang waktu untuk dilakukan penelitian selama 2 bulan, yaitu pada bulan November – Desember 2021.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Tikus putih (*Rattus novergicus*) berjenis kelamin jantan galur (*Sprague dawley*) usia 10 sampai 12 pekan, dengan masa tubuh 200-250 gram yang sudah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

3.4.2 Sampel Penelitian

Sebanyak 25 ekor sampel hewan uji yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Berdasarkan rumus Frederer (1977) dengan rumus:

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

Keterangan :

t : Kelompok percobaan

n : Jumlah sampel dalam 1 kelompok percobaan

Karena pada penelitian ini akan menggunakan 5 kelompok percobaan, dimana perhitungan besar sampel yang dimasukkan ke dalam rumus Freiderer adalah :

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

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

$$(n-1)(4) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Jadi, sampel yang dipergunakan dalam satu kelompok adalah 5 ekor tikus berjenis kelamin jantan galur *Sprague dawley*, dengan dibagi menjadi 5 kelompok. Sehingga 5 ekor tikus di kali dengan 5 kelompok yang diberi perlakuan, dan didapatkan sekitar 25 ekor tikus berjenis kelamin jantan galur *Sprague dawley* yang akan diberi percobaan.

Untuk menghindari drop out, maka dapat dilakukan perhitungan pada penelitian eksperimental ini dengan rumus sebagai berikut:

$$N : \frac{n}{1-f}$$

Keterangan :

N : merupakan jumlah sampel yang sudah dikoreksi

n : merupakan jumlah sampel awal

f : merupakan prediksi *drop out* (10%)

Sehingga didapatkan hasil :

$$N : \frac{5}{1-f}$$

$$N : \frac{5}{1 - 10\%}$$

$$N : \frac{5}{0,9}$$

$$N : 5,9$$

$$N : 6$$

Berdasarkan sampel di atas, sekitar 1 ekor tikus putih jantan akan ditambahkan di tiap masing masing kelompok perlakuan, sehingga menjadi 6 ekor per kelompok untuk mengurangi peluang drop out. Secara total akan membutuhkan 30 ekor tikus putih jantan sebagai sampel.

3.4.3 Kriteria Inklusi

- a) Tikus berjenis kelamin jantan (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan (200-250 gram);
- b) Sebelum dilakukan adaptasi berusia 10 pekan;
- c) Tampak terlihat sehat, bergerak tanpa halangan atau aktif , dan tidak adanya cacat secara anatomis

3.4.4 Kriteria Eksklusi

- a) Adanya kelainan kulit;
- b) Terjadi penurunan berat badan yang drastis pada masa adaptasi sampai 10% dari berat badan;
- c) Hewan uji mati ketika perlakuan

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu :

- a) Neraca analitik
- b) Botol minum tikus
- c) Tempat makan tikus
- d) Spuit 3 cc
- e) Minor set
- f) Sarung tangan steril sekali pakai
- g) Kandang tikus uji coba
- h) Sonde
- i) Kapas alkohol
- j) Mikroskop

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan :

- a) Tikus putih berjenis kelamin jantan galur *Sprague dawley*
- b) Minum tikus dan makanan tikus
- c) Ekstrak lidah buaya

- d) Etanol 40%
- e) Etanol 70%

3.5.3 Alat dalam Pembuatan Preparat Histologi

Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat:

- a) *Object glass*
- b) *Deck glass*
- c) *Tissue cassette*
- d) *Rotary microtome*
- e) *Oven*
- f) *Waterbath*
- g) *Platening table*
- h) *Autotechnicome processor*
- i) *Staining jar*
- j) *Staining rack*
- k) Kertas saring
- l) *Histoplast*
- m) *Paraffin dispenser*

3.5.4 Bahan dalam pembuatan Preparat Histologi

- a) Buffer formalin 10%
- b) Aquades
- c) *Hematoxylin Eosin* (HE)
- d) Parrafin
- e) Alkohol konsentrasi 70%, 96%, dan xylol 1:1
- f) Etanol

- g) Entelan
- h) Alkohol absolut

3.6 Identifikasi Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Ekstrak etanol 70% Aloe vera dengan dosis bertingkat.

3.7 Definisi Operasional

Tabel 5. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Pemberian ekstrak etanol 40% etanol 70% Lidah buaya dan etanol 40%	Pemberian etanol 40% 1,8 ml pada kelompok K2. Pemberian etanol 40% 1,8 ml dan ekstrak etanol 70% lidah buaya pada kelompok P1 P2 dan P3.	Spuit 10 cc dan sonde serta gelas ukur	Pengukuran konsentrasi ekstrak lidah buaya menggunakan gelas ukur dan neraca analitik	Lidah buaya P1 : 200 mg/kgBB P2 : 300 mg/kgBB P3: 400 mg/kgBB	Ordinal
2	Menilai kerusakan gambaran histologi sel hepatosit dari hepar	Untuk melihat gambaran mikroskopis sel hepatosit tikus putih diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 200x dengan menilai derajat kerusakan hepar	Mikroskop cahaya	Mengamati sediaan mikroskopis dengan menggunakan mikroskop pada vena sentralis hepar	Kriteria penilaian perubahan sel hepatosit hepar dilihat dengan sistem skoring Suzuki (kategori kerusakan): 0: tidak ada kongesti, vakuolisasi, dan nekrosis 1: kongesti dan vakuolisasi minimal single cell necrosis 2: kongesti dan vakuolisasi mild, necrosis mild	Ordinal

	3: kongesti dan vakuolisasi moderate, necrosis moderate
	4: kongesti dan vakuolisasi severe, necrosis severe

3.6.1 Variabel Terikat

Kerusakan gambar histologi Hepar pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley*.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Adaptasi Hewan Coba

Adaptasi dilakukan selama tujuh hari bertempat di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan sebelumnya tikus putih telah dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Selama proses adaptasi hewan uji diberikan pakan dan minum secukupnya serta dilakukan penggantian sekam kandang dan pembersihan setiap 3 sampai 4 hari sekali.

3.8.2 Pemberian Dosis Etanol 40%

Pemberian etanol 40% sebanyak 1,8 ml akan diberikan pada kelompok uji K2, P1, P2 dan P3 selama 14 hari.

3.8.3 Teknik Pembuatan Ekstrak Lidah Buaya

1. Duri dan kulit pada tanaman lidah buaya dibersihkan, kemudian dilakukan penghalusan dengan *blender*

2. *Blender* lidah buaya segar yang sudah dipotong-potong sebelumnya
3. Masukan lidah buaya yang sudah diblender ke dalam tabung, kemudian tambahkan etanol 70%
4. Diamkan pada suhu ruangan selama 3x24 jam
5. Kemudian saring filtratnya
6. Kemudian disuling dalam vakum evaporator berputar dengan suhu 40⁰C.

3.8.4 Pemberian Ekstrak Lidah Buaya

Untuk pemberian intervensi ekstrak etanol lidah buaya, hewan coba akan dilakukan pengelompokan berdasarkan perlakuan. Adapun kelima kelompok perlakuan tersebut, yaitu :

1. Kelompok (K1) yang merupakan kelompok kontrol negatif. Tikus putih tidak diberikan perlakuan hanya pemberian makan dan minum selama 14 hari berturut turut.
2. Kelompok (K2) yang merupakan kelompok kontrol positif. Tikus putih akan diberikan perlakuan yaitu dengan pemberian etanol 40% berdosis 1,8 ml/hari menggunakan sonde secara peroral selama 14 hari.
3. Kelompok (P1) yang merupakan kelompok perlakuan 1. Tikus putih akan diberikan perlakuan yaitu pemberian etanol 40% berdosis 1,8 ml/hari. Lalu dilanjutkan dengan penyondean

ekstrak etanol lidah buaya setelah pemberian etanol 40% dengan dosis sebanyak 200 mg/kgBB.

4. Kelompok (P2) yang merupakan kelompok perlakuan 2. Tikus putih akan diberikan perlakuan yaitu pemberian etanol 40% berdosis 1,8 ml/hari. Lalu dilanjutkan dengan penyondean ekstrak etanol lidah buaya setelah pemberian etanol 40% dengan dosis sebanyak 300 mg/kgBB
5. Kelompok (P3) yang merupakan kelompok perlakuan 3. Pada kelompok ini tikus putih akan diberikan perlakuan yaitu pemberian etanol 40% berdosis 1,8 ml/hari. Lalu dilanjutkan dengan penyondean ekstrak etanol lidah buaya setelah pemberian etanol 40% dengan dosis sebanyak 400 mg/kgBB.

3.8.5 Prosedur Pembuatan Sediaan Mikroskopis

1. Fiksasi

Fiksasi jaringan menggunakan larutan *Buffer Neutral Formalin* 10% selama 48 jam sampai mengeras. Dilakukan *trimming* setebal ± 0,5 cm setelah sampel organ terfiksasi sempurna, lalu dimasukkan dalam *tissue cassette* yang kemudian diletakkan ke dalam *automatic tissue processor*.

2. Dehidrasi

Sampel direndam pada alkohol berkonsentrasi 75%, 95%, dan alkohol 100% selama kurang lebih 2 jam. Proses ini dilakukan untuk menghilangkan kadar air pada jaringan serta mencegah pengeringan dari jaringan itu sendiri.

3. Pembersihan

Setelah dilakukan pengeringan dengan alkohol, selanjutnya adalah pembersihan dengan menggunakan larutan xylol 1 dan 2, selama 45 menit

4. Impregnasi

Memberikan larutan parafin selama 45 menit – 1 jam dengan oven 65°C .

5. *Blocking*

Tahapan proses ini dilakukan dengan parafin menggunakan alat *tissue embedding console* yang bertujuan untuk menanam jaringan dalam blok parafin itu sendiri

6. *Cutting*

- a. Dinginkan blok paraffin
- b. Lakukan pada bagian yang dingin.
- c. Lakukan pemotongan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife* dengan pemotongan kasar kemudian halus.
- d. Pilih potongan terbaik, apungkan di atas air, lalu tekan sebagian sisi dengan jarum runcing untuk menghilangkan kerutan.
- e. Pindahkan lembaran jaringan ke dalam *water bath* bersuhu 60°C
- f. Ambil lembaran jaringan dengan slide yang bersih, lalu tempatkan ditengah atau pada sepertiga atas atau bawah.

- g. Letakkan pada inkubator bersuhu 37°C selama 1 hari hingga jaringan terlihat melekat.

7. Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE)

Secara berurutan masukkan slide ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut:

1. Deparaffinisasi dalam:
 - a. Larutan xylol I (5 menit)
 - b. Larutan xylol II selama (5 menit)
 - c. Etanol absolut (1 jam)
2. Hidrasi dalam:
 - a. Alkohol 96% (3 menit)
 - b. Alkohol 70% (3 menit)
 - c. Aquades (10 menit)
 - d. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - *Hematoxylin* (15 menit)
 - Siram dengan air
 - Warnai dengan eosin maksimal 1 menit
 - e. Dehidrasi dengan menggunakan:
 - Alkohol 70% (3 menit)
 - Alkohol 96% (3 menit)
 - Alkohol absolut (3 menit)
 - f. Penjernihan dengan:
 - Larutan xylol I (2 menit)
 - Larutan xylol II (2 menit)

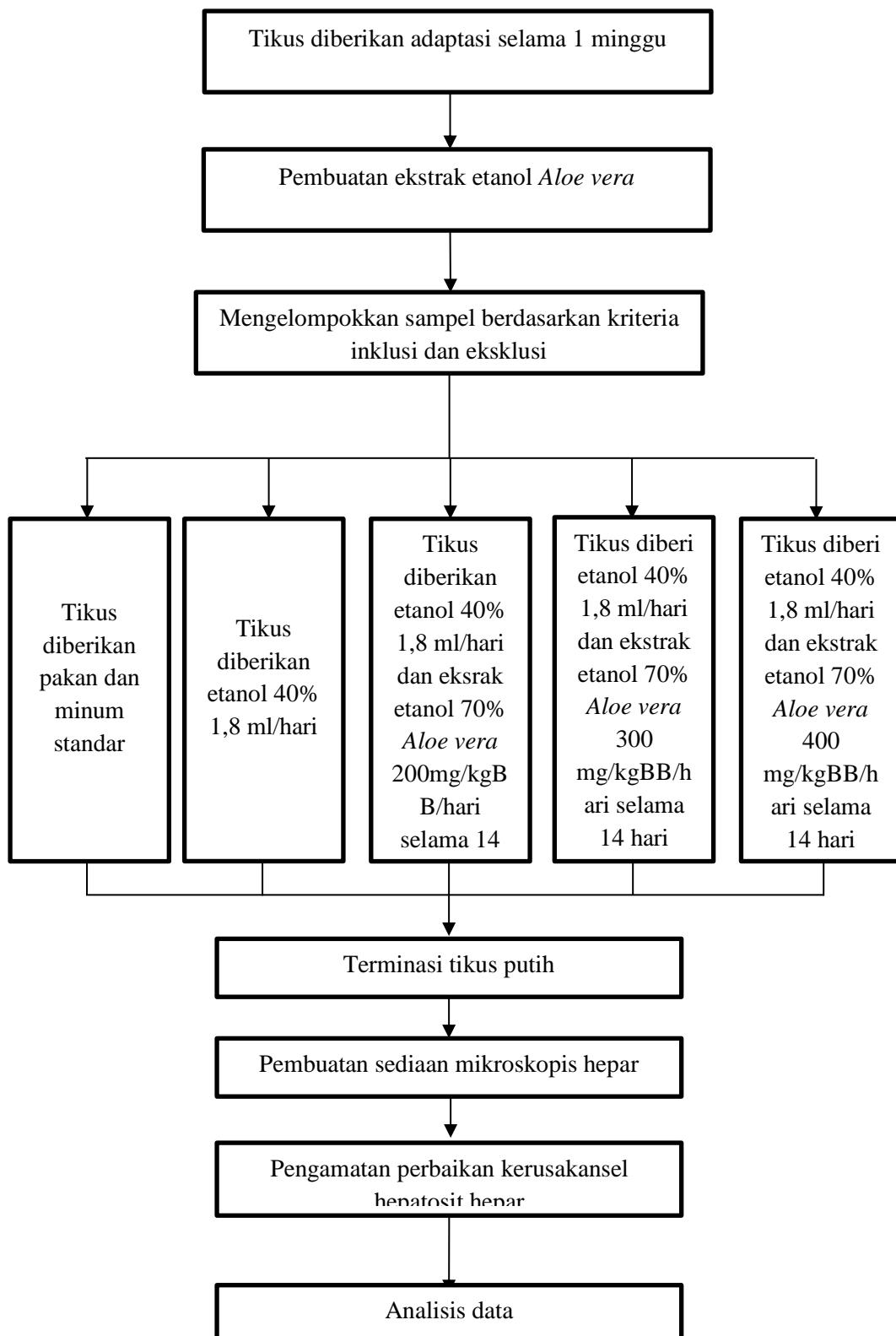
8. Pemasangan

Proses ini dilakukan setelah pewarnaan dimana gelas objek ditempatkan di kertas tisu kemudian diberi tetesan bahan *mounting* (entelan) lalu ditutup *cover glass*. Perhatikan agar tidak terbentuk gelembung udara.

3.8.6 Pengamatan Dengan Mikroskop

Pengamatan dilakukan dengan meletakkan dibawah mikroskop cahaya dengan pengamatan pada 5 lapang pandang dengan menggunakan perbesaran lensa okuler 10x dan objektif 20x sehingga perbesaran total yaitu 200x. Untuk mengamati gambaran histopatologi pada pengamatan ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, serta akan diinterpretasikan oleh ahli Patologi Anatomi.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

3.10 Pengolahan dan Analisis Data

3.10.1 Pengolahan Data

Data diolah menggunakan *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 25.0* yang merupakan *software* penegolah data, dengan langkah sebagai berikut:

- a. Editing : memeriksa ulang data
- b. Koding : mengubah data menjadi karakter tertentu
- c. Data *entry*: meng-*input* data ke *software*
- d. Verifikasi : pengecekan kembali data di dalam software
- e. *Output* : hasil analisis data

3.10.2 Analisis Data

Proses ini dikerjakan setelah memproleh hasil dari pengamatan histopatologi di bawah mikroskop. Dikarenakan skala ukur yang digunakan dalam penelitian berbentuk ordinal-ordinal maka di lakukan analisis data menggunakan uji non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*. Jika didapatkan hasil nilai $p<0,05$ dari uji *Kruskal-Wallis*, maka hipotesisnya dapat diterima dan selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* dalam rangka melihat perbedaan diantara kelompok secara bermakna.

3.11 *Ethical Clearance*

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat 382/UN26.18/PP.05.02.00/2022.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Terdapat perbedaan perbaikan kerusakan sel hepatosit tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan pemberian ekstrak etanol 70% lidah buaya (*Aloe vera*) yang diinduksi oleh etanol 40%, terutama pada kelompok perlakuan 3 (P3) dengan hasil rerata skoring paling rendah dan memiliki gambaran histopatologi paling baik.

5.2 Saran

1. Perlu dilanjutkan penelitian terkait dosis efektif pemberian ekstrak etanol lidah buaya terhadap perbaikan kerusakan sel hepatosit yang diinduksi etanol.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait pengaruh dari berbagai macam pelarut yang digunakan dalam melarutkan ekstrak baik dari polar, non-polar dan semi-polar dan kemudian dibandingkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel SR, Bloomston M. 2010. Liver anatomy. *The Surgical clinics of North America*, 90(4):643–653.
- Ahlawat KS, Khatkar BS. 2011. Processing, food applications and safety of aloe vera products: A review. *Journal of Food Science and Technology*. (48):525-533.
- An L, Wang X, Cederbaum AI. 2012. Cytokines in alcoholic liver disease. *Arch Toxicol* 86:1337–1348.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI. 2016. Standar keamanan dan mutu minuman beralkohol. Jakarta: Direktorat Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Boudreau MD, Beland FA. 2006. An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe Barbadensis (miller), Aloe vera. *Journal Environ Sci Health Part C*. (24):103–154.
- Bruha R, Dvorak K, Petrtyl J. 2010. Alcoholic liver disease. *World Journal of Hepatology*. 4(3): 81–90.
- Ceni E, Mello, T, Galli A. 2014. Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism. *World journal of Gastroenterology*, 20(47), 17756–17772.
- Cullen JM, Stalker MJ. 2016). Liver and Biliary System. *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 2 : 258–352.
- Cui Y, Ye Q, Wang H, Li Y, Yao W, Qian H. 2014. Hepatoprotective potential of Aloe verapolysaccharides against chronic alcohol-induced hepatotoxicity in mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(9):1764–1771.
- Dalia et al. 2017. Aloe vera: Ancient knowledge with new frontiers. *Trends in Food Science & Technology* 61 : 94-102.

DEPKES RI. 2018. Hasil utama riset kesehatan dasar 2018. Jakarta:Departemen Kesehatan RI.

Dorokhov YL. Anastasia EV. Shindyapina. Sheshukova. Tatiana. 2015. Metabolic Methanol:Molecular Pathways and Physiological Roles. *Physiol Rev.* 95: 603-644.

Furnawanithi I. 2007. Khasiat dan Manfaat Lidah Buaya Si Tanaman Ajaib Ed.8. Jakarta Selatan: PT. AgroMedia Pustaka, Hal. 1-29.

Gibson NE. 2014. Efek Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera Linn.*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Jantan Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura.* 3(1).

Glenda NL. Gangguan Hati, Kandung Empedu, dan Pankreas. Dalam: Sylvia A. Loraine M. 2015. Patofisiologi. Edisi ke-6. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Hamman JH,. (2008). Composition and applications of Aloe vera leaf gel. *Molecules* 13:1599–1616.

Harlev E, Nevo E, Lansky E, Ofir R, Bishayee A. 2012. Anticancer potential of aloes: antioxidant, antiproliferative, and immunostimulatory attributes. *Planta Med* (78):843–852.

Hartanto YB. Nirmala WK. Dharmawan D. Surya M. Suyono J. Setiono S. *et al.* 2015. Alcohol. Dalam: Kamus saku kedokteran Dorland. Ed:29. Singapura: Elsevier.

Marzanna H, Dziedzic K, Górecka D, Jędrusek-Golińska A, Gujska E. 2019. Aloe vera (L.) Webb.: Natural Sources of Antioxidants - A Review. *Plant foods for human nutrition* (Dordrecht, Netherlands), 74(3):255–265.

Mescher AL. 2016. Histologi Dasar Junqueira : Teks dan Atlas. Edisi Ke-14. Jakarta : EGC.

Huang Y, Yang S, Kao JH. 2011. Pathogenesis and management of alcoholic liver cirrhosis: a review. *Hepatic medicine : evidence and research.* (3) 1–11.

Huether, Sue E, Mccance, Kathryn L. 2019. Buku ajar Patofisiologi. Edisi ke-6. Jakarta : Elsevier.

Joung J, Cho J, Kim Y, Choi S, Son C. A. 2019. literature review for the mechanisms of stress-induced liver injury. *Brain Behav.* Epub 2019 Feb 13. PMID: 30761781; PMCID: PMC6422711.

- Kumar R, Singh AK, Gupta A, Bishayee A, Pandey AK. 2019. Therapeutic potential of Aloe vera-A miracle gift of nature. *Phytomedicine*. Jul;60:152996. doi: 10.1016/j.phymed.2019.152996. Epub 2019 Jun 20. PMID: 31272819.
- Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y. 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci.* 16(11):26087-124.
- Liss C, Litwak K, Tilford D, Reinhardt V. 2015. Rats. Dalam: Animal Welfare Institute. Comfortable quarters for laboratory animals. Edisi ke-10. Washington DC: Animal Welfare Institute. hlm. 20.
- Liu Y, Nair MG. 2010. An efficient and economical MTTassay for determining the antioxidant activity of plant natural product extracts and pure compounds. *J Nat Prod* (73):1193–1195.
- Lu J, Xiao W, Geng Z, Liu D and Wang Y. 2012. Effect of aloe polysaccharides pretreatment on the cerebral inflammatory response and lipid peroxidation in severe hemorrhagic shock rats first entering high altitude. *Chin J Surg* 50:655–658.
- Masters SB. 2014. Golongan alkohol. Dalam: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, penyunting. Farmakologi dasar dan klinik. Edisi ke-12. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 389.
- Menteri Perindustrian RI. 2012. Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia nomor 71 tahun 2012 tentang pengendalian dan pengawasan industri minuman beralkohol. Jakarta: Sekretariat Negara.
- Mittal M, Siddiqui M, Tran K, Reddy S dan Malik A. 2014. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & Redox Signaling*. 20(7):1126–1167.
- Moghaddasi S, Verma SK. 2011. Aloe vera their chemicals composition and applications: a review. *Journal of Biol Med.* 2(1):466–471.
- Moore K, Dalley, Anne MR. 2013. Anatomi Berorientasi Klinis. Jakarta: Erlangga.
- Murti FK, Amarwati S, Wijayahadi N. 2016. Pengaruh ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi etanol dan soft drink. *Diponegoro Medical Journal (Jurnal Kedokteran Diponegoro)*. 5(4) : 871-883.
- Riskesdas. 2018. Laporan riset kesehatan dasar provinsi Lampung 2018. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Ro JY, Lee BC, Kim JY, Chung YJ, Chung MH, Lee SK. *et al.* 2000. Inhibitory mechanism of aloe single component (alprogen) on mediator release in Guinea pig lung mast cells activated with specific antigenantibody reactions. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 292, 114-121.
- Sahu PK, Giri DD, Singh R, *et al* 2013. Therapeutic and medicinal uses of Aloe vera: a review. *Pharmacol Amp Pharm* 4:599–610.
- Sánchez-Valle V, Chávez-Tapia NC, Uribe M, Méndez-Sánchez N. 2012 Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review. *Curr Med Chem*. 19(28):4850-60.
- Shield KD, Parry C, Rehm J. 2013. Chronic diseases and conditions related to alkohol use. *Alkohol Research Current Reviews*.35(2): 155-71.
- Simanjuntak. 2013. Histomorfologi tubulus seminiferus dan kelenjar prostat tikus. [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Tortora GJ. Derrickson B. 2014. The chemical level of organization. Principles of anatomy and physiology. Edisi ke-14. United States of America: Jhon Wiley and Sons, Inc.
- Tseilikman V, Kozochkin D, Synitsky A, Sibiriak S, Tseilikman O, Katashinsky E, Simbirtsev A. 2012. Does stress-induced re- lease of interleukin-1 cause liver injury? *Cellular and Molecular Neurobiology*, 32(7), 1069–1078.
- Tulpule K. Dringen R, 2013. Formaldehyde in brain. An overlooked player neurogeneration. *Jurnal of Neurochem*. 127(1) : 7-21.
- Pan Q, Pan H, Lou, H, Xu Y, Tian L. 2013. Inhibition of the angiogenesis and growth of aloin in human colorectal cancer in vitro and in vivo. *Cancer Cell International*, 13:69.
- Park, MY, Kwon HJ, Sung MK. 2009. Evaluation of aloin and aloe-emodin as anti-inflammatory agents in aloe by using murine macrophages. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 73 : 828-832.
- Patel R, Mueller M. Alcoholic Liver Disease. [Updated 2021 Jul 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546632/>
- Pavlova SI, Jin L, Gasparovich SR, Tao L. 2013. Multiple alkohol dehydrogenases but no functional acetaldehyde dehydrogenase causing excessive

- acetaldehyde production from ethanol by oral streptococci. *Microbiology*. 159(7): 1437-46.
- Pohanka M. 2016. Toxicology and the biological role of methanol and ethanol: current view. *Journal of Biomed Pap Med Faculty University of Palacky Olomouc Czech Republic*. 160(1):54-63.
- WHO. 2018. Global status report on alcohol and health 2018. World Health Organization.
- Yurista SR, Ferdian RA, Sargowo D. 2016. Prinsip 3Rs dan pedoman ARRIVE pada studi hewan coba. *Jurnal Kardiologi Indonesia*. 37(3):156-63.