

PERBAIKAN KERUSAKAN SEL-SEL HEPATOSIT MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄) OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa* L.)

(Skripsi)

Oleh

**MALA IRMA PRAMITA
1917021055**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

PERBAIKAN KERUSAKAN SEL-SEL HEPATOSIT MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄) OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa* L.)

Oleh

Mala Irma Pramita

Skripsi

**Sebagai Salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

PERBAIKAN KERUSAKAN SEL-SEL HEPATOSIT MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄) OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa* L.)

Oleh

MALA IRMA PRAMITA

Hati merupakan organ dalam tubuh manusia yang berperan penting dalam proses detoksifikasi, sintesis, penyimpanan dan metabolisme zat dalam tubuh. Sel-sel hepatosit menjadi penyusun utama organ hati yang memiliki aktivitas tinggi sehingga mudah rusak. Kerusakan sel hepatosit dapat disebabkan oleh virus, konsumsi alkohol berlebih, obat-obatan dan paparan zat toksik. Kerusakan tersebut berupa sirosis hepatis, fibrosis, karsinoma, degenerasi sel, steatosis dan nekrosis hati. Ekstrak etanol daun bungur (EEDB) (*Lagerstroemia speciosa* L.) diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, kuinon, saponin, steroid/triterpenoid serta memiliki aktivitas antivirus, antibakteri, antioksidan, anti-inflamasi, dan anti-apoptosis. Pemberian karbon tetraklorida (CCl₄) bertujuan untuk menginduksi kerusakan pada hati. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui dosis terbaik dari ekstrak etanol daun bungur terhadap perbaikan kerusakan sel hepatosit mencit (*Mus musculus* L.) akibat paparan karbon tetraklorida (CCl₄). Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit jantan untuk 5 kelompok perlakuan dengan metode rancangan acak lengkap sebagai berikut: K+ (0,1 ml/20gBB CCl₄), K- (tidak diberi perlakuan), pemberian CCl₄ dan EEDB dengan dosis 5 mg/20gBB (P1), 10 mg/20gBB (P2), dan 15 mg/20gBB (P3). Mencit diberikan perlakuan CCl₄ secara intraperitoneal selama 3 hari dan perlakuan EEDB secara oral selama 14 hari, selanjutnya dilakukan pengambilan organ hati. Analisis statistik menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 5 mg/20gBB dan 10 mg/20gBB berpengaruh terhadap perbaikan kerusakan sel hepatosit mencit akibat paparan CCl₄.

Kata kunci: Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.), CCl₄, histopatologi, kerusakan hepatosit, mencit (*Mus musculus* L.).

ABSTRACT

REPAIR OF HEPATOCYTE DAMAGE OF MICE INDUCED BY CARBON TETRACHLORIDE (CCl₄) BY ETHANOL EXTRACT OF BUNGUR LEAVES (*Lagerstroemia speciosa* L.)

By

MALA IRMA PRAMITA

The liver is an organ in the human body that plays a vital role in detoxifying, synthesizing, storing, and metabolizing substances. Hepatocyte cells are the liver's main constituent with high activity and are easily damaged. Viruses, excessive alcohol consumption, drugs, and exposure to toxic substances can cause hepatocyte cell damage. This damage involves liver cirrhosis, fibrosis, carcinoma, cell degeneration, steatosis, and liver necrosis. Bungur leaf ethanol extract (EEDB) (*Lagerstroemia speciosa* L.) contains secondary metabolites in flavonoids, tannins, quinones, saponins, and steroids/triterpenoids. It has antiviral, antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic activities. Administration of carbon tetrachloride (CCl₄) aims to induce liver damage. This research aims to see the effect of ethanol extract from Bungur leaves on repairing damage to mouse hepatocyte cells (*Mus musculus* L.) due to exposure to carbon tetrachloride (CCl₄). This study used 30 male mice for five treatment groups with a completely randomized design method as follows: K⁺ (0.1 ml/20gBW CCl₄), K⁻ (not treated), administration of CCl₄ and EEDB at a dose of 5 mg/20gBW (P1), 10 mg/20gBW (P2), and 15 mg/20gBW (P3). Mice were given CCl₄ treatment intraperitoneally for three days and EEDB treatment orally for 14 days, then the liver was removed. Statistical analysis used the *Kruskal-Wallis* non-parametric test. The study showed that doses of 5 mg/20gBW and 10 mg/20gBW affected repairing damage to mouse hepatocyte cells due to exposure to CCl₄.

Keywords: Bungur, CCl₄, Histopathology, Hepatocyte Damage, Mice.

Judul Skripsi : **PERBAIKAN KERUSAKAN SEL-SEL HEPATOSIT MENCIT (*Mus musculus L.*) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄) OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa L.*)**

Nama Mahasiswa : *Mala Irma Pramita*

NPM : 1917021055

Jurusan : Biologi

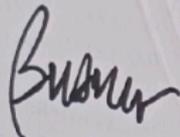
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI,

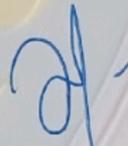
1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

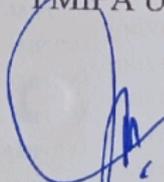


Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed.
NIP. 195901011987031001



Dzul Fithria Mumtazah, M.Sc
NIP. 199105212019032020

2. Ketua Jurusan Biologi
FMIPA Unila



Dr. Jani Master, S.Si., M.Si
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed.**

Busman

Sekretaris : **Dzul Fithria Mumtazah, M.Sc.**

Dzul

Penguji Utama : **Dra. Endang Linirin Widiastuti, M.Sc., Ph.D.**

Widiastuti

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **17 November 2023**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mala Irma Pramita
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917021055
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Perbaikan Kerusakan Sel-sel Hepatosit Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄) oleh Ekstrak Etanol Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa L.*)”** adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Kemudian, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan.

Demikian pernyataan ini saya buat. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, November 2023

Yang menyatakan,



Mala Irma Pramita

NPM. 1917021055

RIWAYAT HIDUP



Mala Irma Pramita. Lahir di Tangerang pada 16 Oktober 2001 dari pasangan Bapak Abdul Fatah dan Ibu Siti Magelung Sari. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara yang bertempat tinggal di Desa Cikentrung, Kecamatan Cadasari, Kabupaten Pandeglang, Provinsi Banten. Penulis mulai bersekolah di TK RA Al-Wardah Pandeglang pada tahun 2004-2007. 2007 penulis melanjutkan sekolah di SDN 1 Cikentrung sampai 2013. Penulis melanjutkan sekolah menengah pertama di MTsN 1 Pandeglang pada tahun 2013-2016 dan dilanjutkan dengan sekolah menengah atas di SMAN 1 Pandeglang hingga lulus pada tahun 2019. Setelah lulus dari sekolah menengah atas, penulis mengikuti Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi (SBMPTN) dan berhasil menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Selama jadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten di laboratorium botani, asisten praktikum pada mata kuliah Mikrobiologi Umum dan praktikum mata kuliah Fisiologi Mikroba. Pada tahun 2019, penulis melaksanakan Karya Wisata Ilmiah (KWI) di Desa Tambah Dadi, Kecamatan Purbolinggo, Lampung Timur, Provinsi Lampung. Penulis juga aktif dalam kegiatan organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Universitas Lampung sebagai Kepala Biro Kesekretariatan dan Logistik pada tahun 2020-2021. Selain itu, penulis juga aktif dalam Unit Kegiatan Mahasiswa SAINTEK Universitas Lampung sebagai Sekretaris Bidang Kesekretariatan dan Rumah Tangga pada tahun 2020 dan sebagai Sekretaris Umum pada tahun 2021.

Bulan Februari 2022 penulis melaksanakan kegiatan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang, Banten dan menghasilkan laporan dengan judul **“Pengujian Mutu Obat Ikan Sediaan Probiotik di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang”**. Kemudian pada bulan Juni-Agustus 2022 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Negeri Agung, Kecamatan Gunung Pelindung, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Sebagai penutup akhir perkuliahan, penulis membuat skripsi yang berjudul **“Perbaikan Kerusakan Sel-sel Hepatosit Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄) dengan Menggunakan Ekstrak Etanol Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa L.*)**.

MOTTO

“Gantungkanlah cita-citamu setinggi langit. Bermimpilah setinggi langit. Jika engkau terjatuh, engkau akan jatuh diantara bintang-bintang”

-Ir. Soekarno

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah:5-6)

“Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain”

(QS. Al-Insyirah:7)

“Believe in the power of the universe and the power within yourself”

(Kim Jongin)

“Do what you love, love what you do”

(Bunbun)

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmaanirrahiim

*Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih dan
Maha Penyayang*

*Sembah sujud dan syukur kepada Allah SWT. yang telah
memberikan kekuatan dan kemudahan hingga akhirnya
skripsi ini dapat terselesaikan. Shalawat serta salam yang
selalu terlimpahkan keharibaan Rasulullah SAW.*

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada:

*Bapak dan Ibuku tercinta sebagai tanda baktiku, hormat dan
rasa terima kasih yang tiada terhingga atas segala
dukungan, ridha dan cinta kasih yang membersamai
langkahku dalam perjalanan ini.*

*Adikku tersayang yang selalu menyampaikan harapannya,
mendo'akan dan selalu memberikan semangat.*

*Bapak dan Ibu dosen yang membimbing dan memberikan
ilmunya yang sangat bermanfaat sehingga membantuku
dalam mencapai kesuksesan.*

*Saudara, Sahabat dan Teman-teman yang memberikanku
semangat, perhatian, kebaikan, waktu dan tenaganya,
semoga Allah SWT membalasnya dengan yang lebih baik.*

Serta Almamaterku tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,
Alhamdulillahirabbil 'alamin.*

Dengan mengucap puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan kekuatan, kemudahan, kesabaran dan petunjuk hingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul: **“Perbaikan Kerusakan Sel-sel Hepatosit Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄) dengan Menggunakan Ekstrak Etanol Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa L.*)”** sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Sains (S.Si) di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Shalawat serta salam senantiasa kita haturkan kepada suri tauladan kita, Rasulullah SAW. Atas terselesaikannya penyusunan skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih atas masukan, dukungan, motivasi dan bantuan kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Abdul Fatah dan Ibu Siti Magelung Sari serta adikku tersayang Tahta Gumelar yang selalu mendo'akan, memberikan semangat, motivasi dan melimpahkan kasih sayang kepada penulis.
2. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed. selaku pembimbing I yang dengan sabar membimbing, mengarahkan dan memberikan banyak ilmunya kepada penulis selama perkuliahan dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Dzul Fithria Mumtazah, M.Sc. selaku pembimbing II yang dengan sabar membimbing, memberikan arahan dan banyak ilmunya kepada penulis selama perkuliahan dan penyusunan skripsi.

4. Ibu Dra. Endang Linirin Widiastuti, M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembahas atas seluruh ilmu, saran dan arahnya kepada penulis selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
5. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik atas arahan dan motivasinya kepada penulis.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
8. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si. selaku Kepala Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lampung.
9. Seluruh dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
10. Seluruh staff, laboran dan karyawan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
11. Keluarga besar Kakek Alm. Garbin Armadi dan keluarga besar Aki Alm. Idim Dimiyati yang selalu mendoa'akan dan memberikan motivasi kepada penulis.
12. Sahabat-sahabatku Silpia Marsela Sapitri, Luthfiyyan Nisha, Sabrina Naila Dastiana, dan Upik Mailiani yang selalu menemani dan mendukung setiap proses perkuliahan penulis.
13. Teman seperjuanganku dalam penelitian ini Dinda Shafa Tiarannisa dan Chyntia Bella Laureta yang banyak membantu penulis selama penelitian.
14. Pondok Ratu gengs Leni Agustin, Dilla Nurlaela, Salimah Johariah Nuraini, Syifa Riandani Azzahra, Siska Emilia Putri dan Naila Ulya Azhari yang selalu menemani, menghibur dan memotivasi selama penulisan skripsi ini.
15. Pimpinan KALOG Nadhifa Putri Diamanda dan Intan Kartika Sari yang selalu berbagi canda tawa dan motivasi kepada penulis.
16. Teman-teman KKN Negeri Agung 2022 Siska, Anjeli, Abid, Bang Juan dan yang lain.
17. Teman-teman seperjuangan angkatan 2019 Ubaid, Mega, Dewi, Salsa, Ayu, Elpi, Viki, Farhan, Ilyas, Tio, Imron, David, dan seluruh rekan yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu atas kebersamaan dan canda tawanya.

18. Artis favoritku EXO, Kim Jongin, Kim Junmyeon, Do Kyungsoo, Park Chanyeol, Byun Baekhyun, Oh Sehun, Kim Jongdae, Kim Minseok, Zhang Yixhing.
19. Almamater tercinta, Universitas Lampung.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan kepada semua yang telah membantu penulis dalam proses perkuliahan dan penyusunan skripsi. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penyusunan skripsi ini dan jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, aamiin.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Bandar Lampung, November 2023

Penulis,

Mala Irma Pramita

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
MENGESAHKAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
RIWAYAT HIDUP	v
MOTTO	vii
PERSEMBAHAN.....	viii
SANWACANA	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Kerangka Pemikiran	3
1.4 Hipotesis	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Hati.....	5
2.1.1 Struktur Anatomi Hati	5
2.1.2 Sel-sel Hepatosit.....	7
2.2 Gangguan pada Hati.....	10
2.2.1 Kerusakan Sel Hepatosit	10
2.2.2 Nekrosis.....	13
2.2.3 Apoptosis.....	14
2.2.4 Degenerasi Sel.....	15

2.2.5	Hepatitis.....	17
2.3	Tanaman Bungur (<i>Lagerstroemia speciosa</i> L.)	18
2.4	Karbon Tetraklorida (CCl ₄)	21
2.5	Mencit (<i>Mus musculus</i> L.)	24
BAB III. METODE PENELITIAN		27
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian.....	27
3.2	Rancangan Penelitian.....	27
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	28
	3.3.1 Populasi Penelitian	28
	3.3.2 Sampel Penelitian	28
3.4	Identifikasi Variabel	28
	3.4.1 Variabel Bebas	28
	3.4.2 Variabel Terikat.....	29
3.5	Definisi Operasional	29
	3.5.1 Karbon tetraklorida (CCl ₄)	29
	3.5.2 Ekstrak Etanol Daun Bungur.....	29
	3.5.3 Sel Hepatosit Mencit	30
3.6	Alat dan Bahan.....	30
	3.6.1 Alat Penelitian	30
	3.6.2 Bahan Penelitian.....	31
3.7	Prosedur Penelitian	31
	3.7.1 Persiapan Hewan Uji	31
	3.7.2 Kelompok Perlakuan	31
	3.7.3 Persiapan Bahan Perlakuan	33
	3.7.4 Perlakuan pada Hewan Percobaan	35
	3.7.5 Pengolahan Data.....	37
3.8	Diagram Alir Penelitian	38
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		39
4.1	Hasil Penelitian	39
	4.1.1 Skoring Kerusakan Sel Hepatosit.....	39
	4.1.2 Gambaran Kerusakan Sel Hepatosit.....	41
4.2	Pembahasan	45

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Anatomi hati manusia	5
Gambar 2. Lobulus hati manusia.....	6
Gambar 3. Histopatologi Hepatosit Hati Mencit Normal ICR Jantan (Perbesaran 400x, pewarnaan HE).....	8
Gambar 4. Struktur Hati Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) dari tiap-tiap perlakuan	13
Gambar 5. Sel Hepatosit Mencit yang mengalami: D. Degenerasi sel, E. Nekrosis.....	14
Gambar 6. Apoptosis pada tikus B6C3F1/N jantan dari penelitian subkronis...	15
Gambar 7. Vakuolasi sitoplasma perubahan lemak konsisten dengan glikogen dan perubahan lemak makrovesikular pada tikus B6C3F1 jantan dari penelitian kronis	16
Gambar 8. Tanaman (a), daun (b) dan bunga (c) Bungur.....	18
Gambar 9. Gambaran Sirosis pada hati tikus yang diberikan CCl ₄ selama 10 minggu.....	23
Gambar 10. Hepatosit kelompok K1 (CMC-Na 0,25%) dan K2 (CCl ₄ 1 ml/KgBB).....	23
Gambar 11. Mencit (<i>Mus musculus L.</i>).....	25
Gambar 12. Gambaran hepatosit mencit kelompok K1 yang diberikan CCl ₄ 0,1 ml/20gBB	42
Gambar 13. Gambaran hepatosit mencit kelompok K2 yang hanya diberikan pakan	42
Gambar 14. Gambaran kelompok P1 yang diberikan CCl ₄ 0,1 ml/20gBB dan EEDB 5 mg/20gBB	43

Gambar 15. Gambaran kelompok P2 yang diberikan CCl ₄ 0,1ml/20gBB dan EEDB 10 mg/20gBB	44
Gambar 16. Gambaran kelompok P3 yang diberikan CCl ₄ 0,1ml/20gBB dan EEDB 15 mg/20gBB.....	44
Gambar 17. Hasil Uji Post-Hoc Mann-Whitney	70

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan senyawa kimia daun bungur.....	20
Tabel 2. Peta kandang mencit.....	27
Tabel 3. Kelompok Perlakuan	32
Tabel 4. Skoring tingkat perubahan sel hepatosit mencit setelah perlakuan.....	37
Tabel 5. Hasil uji statistik Kruskal-Wallis skor kerusakan sel hepatosit mencit setiap kelompok perlakuan	39
Tabel 6. Hasil Uji Normalitas.....	67
Tabel 7. Hasil Uji Homogenitas	67
Tabel 8. Uji NPar.....	67
Tabel 9. Uji Kruskal-Wallis	68
Tabel 10. Uji Statistik Kruskal-Wallis	68
Tabel 11. Standar Deviasi.....	68
Tabel 12. Berat badan mencit sebelum perlakuan dan setelah perlakuan.	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Dosis	61
Lampiran 2. Dokumentasi Kegiatan.....	62
Lampiran 3. Preparat hati mencit	63
Lampiran 4. Data Hasil Skoring Gambaran Sel Hepatosit Mencit	64
Lampiran 5. Hasil Perhitungan Data	67
Lampiran 6. Penimbangan Berat Badan Mencit selama Perlakuan	71

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Hati merupakan salah satu organ di dalam tubuh yang berperan penting dalam proses metabolisme, detoksifikasi, sintesis dan penyimpanan zat (Rohmatin, dkk., 2015). Suplai darah dari saluran pencernaan ke hati sebanyak 80%, mengandung bahan toksik yang diabsorpsi usus, yang selanjutnya dibawa ke hati melalui vena porta. Oleh karena itu, hati merupakan organ yang sering mengalami kerusakan akibat masuknya zat toksik (Wahyuningtyas, dkk., 2018).

Penyusun utama struktur hati adalah sel hepatosit. Hepatosit memiliki satu atau dua inti bulat dengan nukleolus berjumlah satu atau lebih, sel-selnya bertumpuk dan membentuk lapisan sel. Hepatosit memiliki banyak retikulum endoplasma (RE) kasar dan halus yang berfungsi dalam proses oksidasi, metilasi dan konjugasi yang bermanfaat saat proses detoksifikasi zat sebelum diekskresi (Maulina, 2018). Sel-sel hepatosit pada hati merupakan sel yang mempunyai aktivitas tinggi, sehingga mudah rusak, namun juga mempunyai sifat mudah beregenerasi untuk menggantikan sel yang rusak (Wahyuningtyas, dkk., 2018).

Kerusakan hati dapat disebabkan oleh peradangan yang sebagian besar merupakan akibat infeksi virus hepatitis, paparan alkohol, keracunan obat-obatan atau bahan kimia (Yenny, dkk., 2010). Paparan alkohol pada hati menyebabkan terjadinya perlemakan hepatosit, nekrosis, steatosis, steatohepatitis dan sirosis (Hendri, dkk., 2017). Paparan zat kimia seperti produk pemanis buatan juga dapat menyebabkan kerusakan pada sel hepatosit berupa piknosis atau pengerutan inti, degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik dan nekrosis (Utomo, dkk., 2012).

Indonesia termasuk negara terbesar kedua di Asia Tenggara setelah Myanmar yang memiliki endemisitas Hepatitis B tertinggi. Terdapat 10 dari 100 penduduk Indonesia yang terinfeksi Hepatitis B atau C, berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2014 menggunakan uji saring darah donor PMI. Diperkirakan sekitar 28 juta penduduk Indonesia yang terinfeksi Hepatitis B dan C, 14 juta di antaranya berpotensi mengalami kanker hati. Situasi seperti ini akan sangat berpengaruh terhadap angka kematian, status kesehatan masyarakat, angka harapan hidup, dan berdampak pula pada bidang sosial dan ekonomi (Kemenkes RI, 2014).

Daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.) merupakan tanaman yang biasa digunakan sebagai tumbuhan obat. Pada penelitian sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak daun tanaman bungur dapat menekan toksisitas hati dengan penghambatan kerusakan oksidatif. Hal tersebut mendukung keberadaan senyawa aktif farmakologis dalam ekstrak bungur yang memiliki aktivitas antioksidan, anti-inflamasi dan anti-apoptosis yang kuat (Pal, dkk., 2020). Sementara, ekstrak daunnya banyak digunakan sebagai antidiabetik, antiobesitas yang dapat menurunkan kadar lemak dalam hati, mengobati diare, antivirus, antibakteri, antioksidan, anti-inflamasi, anti-apoptosis dan mengobati asam urat. Ekstrak daun bungur mengandung asam korosolat 1%, asam ursolat, asam sialat, asam alfitolat, asam ellagat, kumarin dan neo lignan (Huang, dkk., 2013). Sehingga ekstrak daun bungur dapat dimanfaatkan sebagai pereda atau agen terapeutik dari efek zat toksik pada sel hepatosit.

Mencit digunakan sebagai hewan penelitian karena memiliki sifat genetik, struktur anatomi, fisiologi yang mirip dengan manusia, mengalami siklus hidup yang relatif pendek dan relatif mudah dipelihara (Mutiarahmi, 2021). Pada penelitian ini digunakan mencit jantan, karena kondisi hormonal yang dimiliki mencit jantan lebih stabil dibandingkan mencit betina dan lebih mudah ditangani sehingga hasil penelitian bisa lebih akurat (Muhtadi, 2014). Karbon tetraklorida (CCl₄) digunakan untuk

menginduksi peradangan pada hati hewan uji coba, karena peradangan yang terbentuk pada histopatologi hati yang diinduksi CCl₄ merepresentasikan kebanyakan hati dari peradangan yang ditimbulkan oleh penyakit hepatitis pada manusia. Karbon tetraklorida menyebabkan perubahan morfologi sel, seperti kematian sel (nekrosis), terhambatnya proses sintesis lipoprotein, sirosis hati, degenerasi sel, dan penimbunan lemak (steatosis) (Rohmatin, dkk., 2015; Maulina, 2018).

Berdasarkan latar belakang yang sudah dipaparkan, maka dilaksanakan penelitian untuk mengetahui dosis terbaik dari ekstrak etanol daun bungur dalam memperbaiki kerusakan oksidatif pada hati mencit akibat paparan zat toksik karbon tetraklorida (CCl₄), sehingga dapat memberikan informasi sebagai landasan ilmiah pemanfaatan daun bungur untuk penelitian selanjutnya.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis terbaik dari ekstrak etanol Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.) dengan beberapa varian dosis terhadap proses perbaikan sel-sel hepatosit mencit yang mengalami kerusakan setelah diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).

1.3 Kerangka Pemikiran

Tanaman Bungur atau *Lagerstroemia speciosa* L. memiliki banyak kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tanamannya terutama bagian daun. Pada penelitian sebelumnya, diketahui bahwa di dalam simplisia daun bungur terdapat kandungan lebih dari empat belas senyawa aktif, yaitu delapan senyawa asam *ellagic*, *coumarin*, empat senyawa triterpen dan satu neoglinan. Daun bungur memiliki kandungan flavonoid yang telah teruji sebagai antioksidan. Selain itu, efek farmakologis dari ekstrak daun bungur dapat menghambat kerusakan oksidatif pada hati.

Akibat dari paparan karbon tetraklorida (CCl₄), sel-sel hepatosit mencit akan mengalami kerusakan secara oksidatif. Kerusakan sel tersebut berupa perubahan bentuk, nekrosis atau perubahan morfologi sel yang menunjukkan kematian, dan sirosis hati. Kerusakan pada hepatosit akibat paparan CCl₄ disebabkan oleh pembentukan radikal bebas, penurunan enzim-enzim antioksidan dan peroksidasi lipid. Setelah paparan (CCl₄) selama 15 jam dapat terlihat pada zona sentrilobuler berupa steatosis (penimbunan lemak) pada hepatosit. Steatosis dapat terjadi ketika terjadi gangguan keseimbangan antara sintesis trigliserida dengan sekresi VLDL. Kerusakan hati akibat pengaruh CCl₄ diharapkan dapat merepresentasikan kerusakan hati secara alami di dalam tubuh hewan coba.

Daun tanaman bungur memiliki kandungan yang baik untuk mengatasi stress oksidatif akibat paparan radikal bebas dalam penelitian ini yaitu karbon tetraklorida (CCl₄), yaitu kandungan antioksidan. Antioksidan tersebut dapat mengatasi kerusakan yang terjadi pada sel hati tepatnya pada sel hepatosit dengan mengurangi stress oksidatif tersebut dan mengembalikan keadaan sel-sel hepatosit ke keadaan semula, diharapkan ekstrak daun bungur yang diuji cobakan pada hewan coba dapat memperbaiki kerusakan hati akibat paparan CCl₄.

1.4 Hipotesis

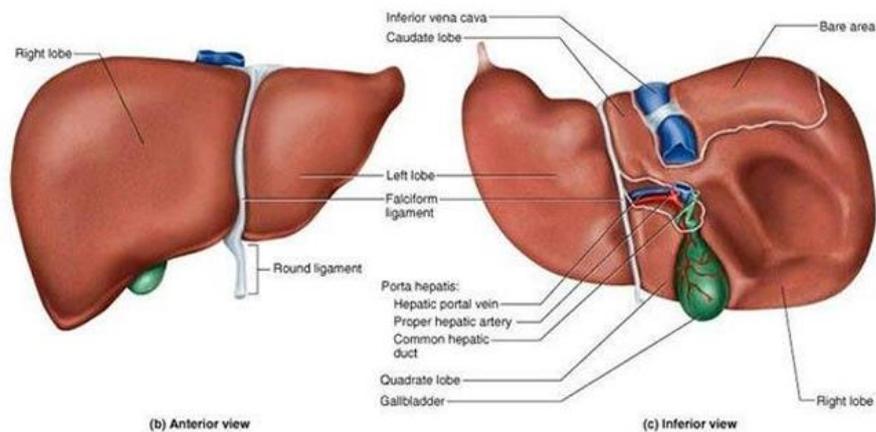
Hipotesis pada penelitian ini adalah didapatkan varian dosis terbaik ekstrak daun bungur (*Lagerstreomia speciosa* L.) yang dapat memperbaiki kerusakan sel-sel hepatosit mencit akibat paparan karbon tetraklorida (CCl₄).

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hati

2.1.1 Struktur Anatomi Hati

Hati merupakan organ kelenjar dengan ukuran terbesar dalam tubuh, memiliki berat sekitar 2,5% dari berat tubuh. Hati berstruktur halus, lentur, lunak dan berada di bagian atas rongga abdomen tepatnya di bagian regio hipokondrium. Sebagian besar hati berada di bawah *arcus costalis* kanan dan *diaphragma* setengah bagian kanan, memisahkan hati dari jantung, perikardium, paru-paru dan pleura (Waugh & Grant, 2011). Anatomi hati ditunjukkan pada Gambar 1.

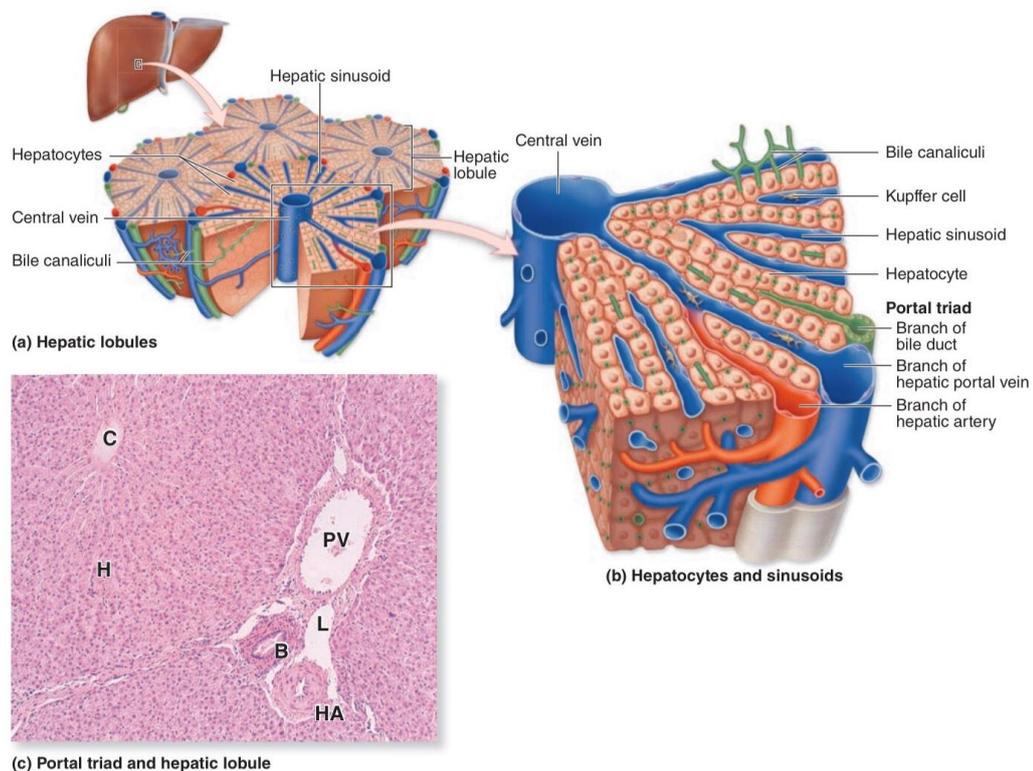


Gambar 1. Anatomi hati manusia (Handayani, 2021).

Hati ditutupi oleh lapisan fibrosa tipis yang tidak elastis yang disebut *capsula fibrosa perivascularis* (Glisson) dan sebagian tertutupi oleh lapisan peritoneum yang membentuk ligamen penunjang pelekatan hati pada permukaan *diaphragma*.

Hati berwarna merah tua atau kecoklatan dalam keadaan segar, warna tersebut disebabkan oleh adanya darah yang sangat banyak di dalam organ hati (Maulina, 2018).

Hati memiliki 4 lobus yang terdiri dari 2 lobus berukuran paling besar dan jelas terletak di sebelah kanan dan lobus sebelah kiri yang berbentuk baji dan berukuran lebih kecil. Di antara kedua lobus tersebut terdapat saluran keluar masuknya pembuluh darah, saraf, vena portae hepatis, dan duktus. Lobus sebelah kanan yang berukuran besar terdiri atas 2 lobus, yaitu *lobus caudatus* dan *lobus quadratus* yang di sekitarnya terdapat *vena cava inferior*, *vesical biliaris*, *fisurra* untuk *ligamentum venosum* dan *fisurra* untuk *ligamentum teres hepatis* (Snell, 2012).

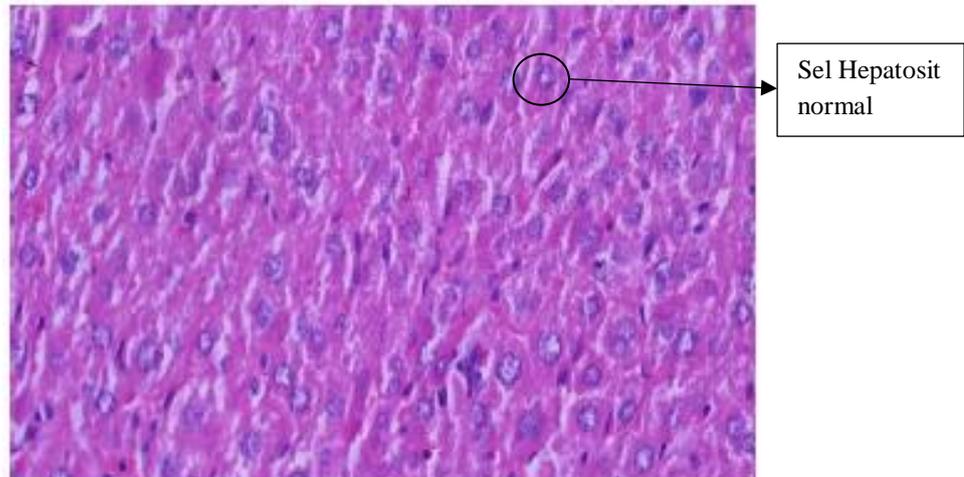


Gambar 2. Lobulus hati manusia. C: Vena sentral; H: Piringan hepatosit; L: Limpatik; PV: Vena portal ;HA: Arteri hepatic; dan B: *Bile ductus*. Perbesaran 220x. Pewarnaan HE (Mescher, 2021).

Hati memiliki banyak lobulus yang terdiri dari hepatosit, saluran sinusoid yang dikelilingi oleh endotel vaskuler dan sel kupffer, bagian-bagian tersebut merupakan bagian dari sistem retikuloendotelial. Hati tersusun atas lobulus-lobulus hepatis, lobulus merupakan sel-sel yang menyusun hati yang berbentuk heksagonal. Pada gambar 2. Digambarkan bahwa di antara lobulus-lobulus terdapat canalis hepatis yang mengandung cabang-cabang arteria hepatica, vena porta, cabang dari duktus *choledochus* (trias hepatis). Vena sentralis pada masing-masing lobus akan bermuara ke vena hepatica. Darah pada arteri dan vena bergerak di antara sel hepatosit melalui sinusoid menuju vena sentralis (Snell, 2012).

2.1.2 Sel-sel Hepatosit

Sel-sel hepatosit merupakan penyusun utama struktur organ hati. Sel-sel hepatosit saling bertumpukan dan membentuk lapisan sel, memiliki satu atau dua inti dengan satu atau lebih nukleolus (Gambar 3). Sel-sel hepatosit membentuk kelompok dalam susunan-susunan yang saling berhubungan yang kemudian membentuk unit struktural yang disebut lobulus hati. Struktur lobulus hati memiliki 3 kelompok yang berbeda, yaitu lobulus klasik, saluran portal dan asinus hati. Lobulus klasik merupakan bagian yang strukturnya berbentuk heksagonal dengan pusat vena sentralis. Saluran portal yaitu struktur berbentuk segitiga dengan vena sentralis di bagian ujung-ujungnya serta saluran portal atau segitiga Kiernan sebagai pusat. Asinus hati yaitu unit terkecil hati (Mescher, 2017).



Gambar 3. Histopatologi Hepatosit Hati Mencit Normal ICR Jantan (Perbesaran 400x, pewarnaan HE) (Sijid, dkk., 2020)

Ribuan lobulus kecil menyusun hepatosit, setiap lobulus memiliki 3-6 area portal pada bagian perifer dan suatu venula yang disebut vena centralis pada bagian pusatnya. Di antara hepatosit terdapat taut celah, yang menjadi tempat komunikasi antar sel dan koordinasi aktivasi sel-sel. Trias porta menyusun zona portal yang posisinya ada di sudut lobulus, trias porta merupakan jaringan ikan dengan suatu venula (cabang vena porta), duktus epitel kuboid (cabang sistem duktus biliaris) dan arteriol (cabang arteri hepatica) (Mescher, 2017).

Sel hepatosit memiliki banyak retikulum endoplasma (RE) di dalam selnya, RE kasar maupun RE halus. Organel ini berfungsi dalam proses oksidasi, metilasi dan konjugasi yang berperan dalam menginaktifkan atau mendetoksifikasi berbagai zat sebelum diekskresi. Retikulum endoplasma (RE) kasar berfungsi untuk mensintesis protein plasma dan lebih sering terlihat jelas pada sel hepatosit yang berada dekat area portal. Sedangkan retikulum endoplasma (RE) halus merupakan sistem labil yang mudah bereaksi terhadap molekul yang diterima oleh sel hepatosit, posisinya terdistribusi difusi pada seluruh bagian sitoplasma (Mescher, 2017).

Hepatosit memiliki kandungan glikogen yang tampak secara ultrastruktural sebagai granul padat elektron yang kasar dan berkumpul dalam sitosol dekat dengan RE halus. Sel hepatosit juga menyimpan trigliserida yang berupa droplet lipid kecil dan tidak menyimpan protein dalam granula sekretorik, melainkan langsung dilepaskan ke aliran darah secara kontinu. Pada setiap sel hepatosit terdapat hingga 50 buah badan Golgi yang berperan dalam pembentukan lisosom dan sekresi protein, glikoprotein dan lipoprotein ke dalam plasma. Lisosom pada sel hepatosit sangat penting dalam pergantian dan degradasi organel intrasel. Peroxisom juga banyak dijumpai sebagai organel untuk pengoksidasi kelebihan asam lemak. Obat yang dinonaktifkan pada hati, dalam keadaan tertentu akan meningkatkan penambahan jumlah RE halus dalam setiap sel hepatosit, sehingga proses detoksifikasi hati dapat meningkat (Mescher, 2017).

Hepatosit mengeluarkan cairan empedu ke dalam saluran halus yang disebut kanalikulus biliaris yang posisinya terletak di antara sel-sel hepatosit. Kanalikulus menyatu di bagian tepi lobulus hati pada daerah porta sebagai duktus biliaris yang kemudian mengalir ke dalam duktus hepaticus yang membawa empedu keluar dari hati. Di dalam lobulus hati, cairan empedu mengalir melalui kanalikuli biliaris yang kemudian menuju ductus biliaris pada daerah porta, sedangkan darah mengalir pada sinusoid menuju vena centralis sehingga cairan empedu dan darah tidak akan bertemu (Eroschenko, 2012).

Sel-sel hepatosit pada hati merupakan sel yang mempunyai aktivitas tinggi, sehingga mudah rusak, namun juga mempunyai sifat mudah beregenerasi dengan cara mitosis untuk menggantikan sel yang rusak. Kerusakan sel hepatosit ditandai dengan pembengkakan sel dan atrofi pada sel hepatosit akibat mitosis sel terhambat. Perubahan struktur sel yang berupa pembengkakan sel

disebut sebagai perubahan degeneratif. Kerusakan degeneratif sifatnya reversibel yaitu bisa diperbaiki apabila penyebabnya segera dihilangkan (Utari dan Saraswati, 2009).

2.2 Gangguan pada Hati

2.2.1 Kerusakan Sel Hepatosit

Hati merupakan organ ekskresi yang berfungsi sebagai organ yang mendetoksifikasi zat-zat toksik, semakin lama dan dalam waktu yang panjang hati terpapar zat toksik maka perubahan pada sel-sel hati akan terlihat dan menjadi tanda bahwa terjadi kerusakan pada hati. Ketika hati terpapar oleh obat dan zat-zat kimia dalam jangka panjang maka sel-sel hepatosit akan mengalami perubahan yang kemudian menurunkan kemampuan regenerasi sel seperti degenerasi lemak dan nekrosis yang menyebabkan kerusakan permanen sampai kematian sel (Anggraeny, dkk., 2014). Hati merupakan organ yang rentan mengalami kerusakan, karena peran pentingnya dalam proses metabolisme, detoksifikasi, konjugasi dan penyaringan paparan zat-zat toksik yang diterima tubuh dari makanan yang dikonsumsi yang kemudian akan memperparah kerusakan pada hati (Maulina, 2018).

Penyakit hati atau kerusakan hati menjadi salah satu penyakit yang mengancam jiwa. Penyakit kelainan atau kerusakan hati ini disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya yaitu konsumsi minuman mengandung alkohol. Konsumsi alkohol dalam waktu panjang dan secara berlebih akan meningkatkan cedera jaringan yang ada pada organ hati, karena hati merupakan organ utama yang berfungsi untuk metabolisme alkohol (Osna, dkk., 2017). Paparan alkohol pada hati menyebabkan terjadinya perlemakan hepatosit, nekrosis, steatosis, steatohepatitis dan sirosis (Hendri, dkk., 2017). Konsumsi bahan kimia secara terus menerus dalam jangka waktu yang lama dapat meningkatkan akumulasi kandungan toksik yang

kemudian akan diikuti dengan kerusakan organ hati (Kardena dan Winaya, 2011).

Kerusakan pada sel-sel hepatosit dapat berupa nekrosis hepatosit, kolestasis, dan timbulnya disfungsi hati secara perlahan-lahan akibat dari paparan zat toksik (Amalina, 2009). Adapun faktor yang mempengaruhi kerusakan hati akibat paparan zat toksik antara lain jenis zat kimia, dosis zat kimia yang diterima hati, lama waktu paparan zat toksik tersebut diterima seperti akut, kronik atau subkronik. Perubahan struktur dan fungsi pada sel-sel hepatosit hati dapat terjadi akibat dari berbagai agen penyebab seperti virus, obat-obatan (seperti tetrasiklin, aspirin dan isoniazid) dan alkohol. Agen tersebut dapat menyebabkan gangguan fungsi berupa sirosis hepatis, fibrosis, dan karsinoma (Madiah, dkk., 2017; Sari, dkk., 2014). Gangguan fungsi yang terjadi biasanya terjadi bersamaan dengan kerusakan secara morfologi, yaitu terjadinya degenerasi dan akumulasi intraseluler, regenerasi, inflamasi, fibrosis dan nekrosis (Niendya, dkk., 2011).

Degenerasi sel merupakan perubahan bentuk struktur normal sel sebagai awal tanda kerusakan sel yang disebabkan oleh zat toksin sebelum terjadi kematian sel (Sijid, dkk., 2020). Radang merupakan reaksi fisiologi lokal akibat cedera jaringan, peradangan pada hati terjadi dimulai pada vena sentralis yang berfungsi sebagai tempat penampungan darah dari arteri hepatis dan vena porta mengalami infiltrasi sel radang limfosit akibat rusaknya sel endotel akibat zat toksik. Semakin sering paparan zat toksik terjadi, maka infiltrasi sel radang akan berdifusi dan menyebar dari daerah vena porta ke daerah sentralis (Makiyah dan Khumaisah, 2018).

Steatosis merupakan suatu degenerasi yang dapat terjadi karena dapat ditimbulkan oleh berbagai mekanisme yang berbeda,

khususnya pada hepatosit. Hepatosit dapat terlibat aktif dalam metabolisme lipid dalam keadaan normal, sehingga lipid dapat terakumulasi di hati. Steatosis hepatosit sering ditemukan pada zona sentrilobuler, dapat terlihat dalam 3 pola pada keadaan patologis, yaitu steatosis perifer, sentral dan diffus. Steatosis perifer biasa disebabkan oleh gangguan nutrisi, steatosis diffus terjadi akibat paparan kronis alkohol, sedangkan steatosis sentral disebabkan oleh keadaan hipoksia dan paparan zat toksik seperti CCl_4 (Maulina, 2018).

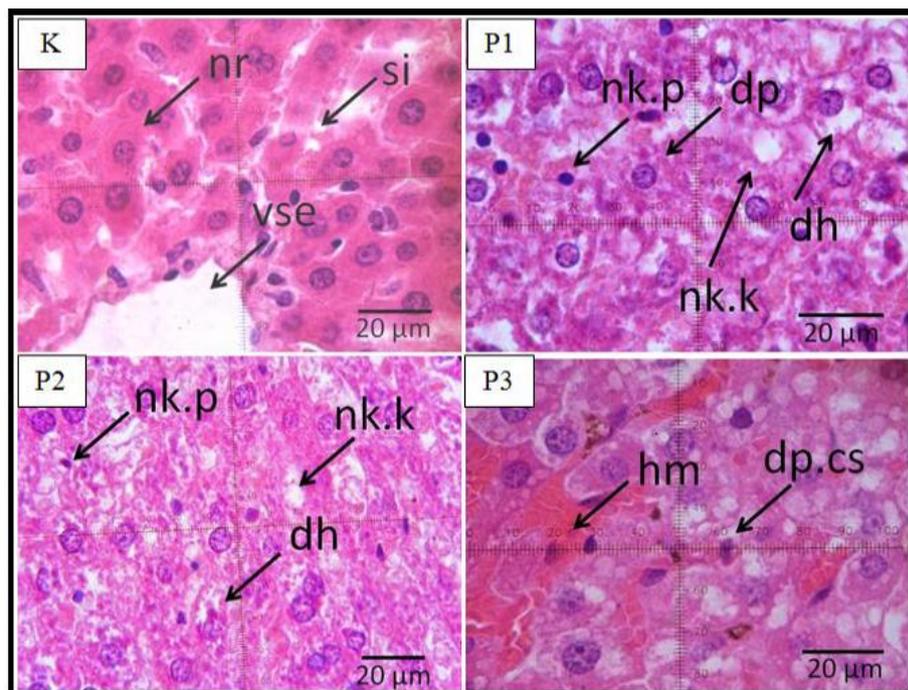
Steatosis merupakan pola kerusakan hepatosit yang bersifat reversibel. Pada kerusakan reversibel, deplesi ATP yang terjadi akibat adanya gangguan pada struktur dan fungsi sel dapat dikoreksi, sehingga sel dapat pulih seperti keadaan normal. Deplesi ATP dapat dikoreksi dengan mempertahankan produksi ATP melalui respirasi aerob, sehingga rasio natrium dan kalium serta pH sel dapat diperbaiki (Maulina, 2018).

Hati merupakan organ yang memiliki kapasitas regenerasi yang tinggi (Mescher, 2017). Regenerasi cepat dapat berlangsung pada hati rodentia percobaan seperti tikus putih akibat destruksi sebagian besar lobulus setelah pemberian CCl_4 . Diberikan CCl_4 dengan dosis 1 ml/KgBB sebanyak 4 kali dalam 2 minggu untuk induksi kerusakan hati. Adanya jeda waktu dalam pemberian CCl_4 pada kelompok ini diduga memicu suatu efek pemulihan. Reaksi pemulihan terjadi sebagai mekanisme adaptasi sel terhadap rangsangan tertentu apabila rangsangan tersebut dihentikan. Reaksi pemulihan atau regenerasi sel memungkinkan sel dapat kembali seperti keadaan sebelumnya, namun regenerasi yang sempurna terhadap lobulus hati setelah pemberian CCl_4 berlangsung dalam 5 atau 6 hari (Maulina, 2018).

Pemberian berulang CCl_4 , walaupun dengan dosis kecil dapat mencegah hati untuk beregenerasi sempurna, karena cedera yang ditimbulkan merusak komponen matriks ekstraseluler. Kerusakan matriks ekstraseluler mencegah terjadinya proses regenerasi hati karena polaritas sel untuk penyusunan ulang struktur-struktur hepatosit tidak dapat dipertahankan (Maulina, 2020).

2.2.2 Nekrosis

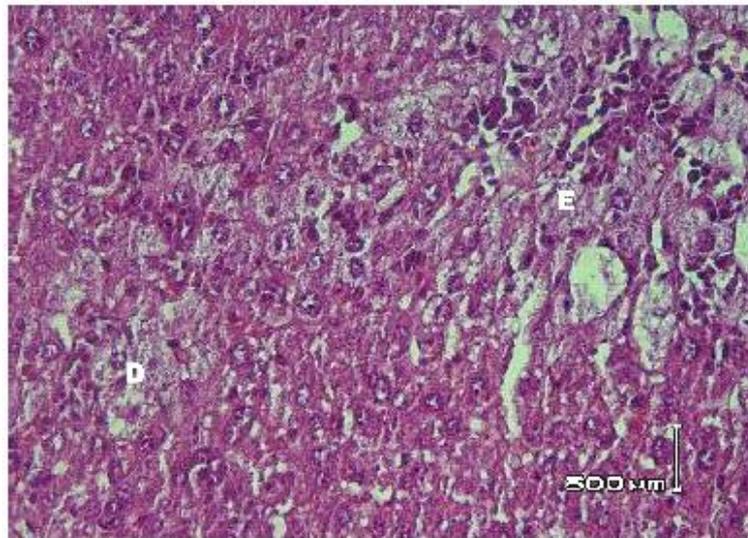
Nekrosis merupakan kematian sel atau jaringan pada organ individu hidup. Inti sel yang mati tersebut akan terlihat lebih kecil, serabut retikuler dan kromatin akan terlihat berlipat-lipat kemudian sel akan menjadi kariolisis atau pecah isi sel seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4. Sel yang mengalami nekrosis tidak dapat lagi kembali seperti semula. Pada titik akhir nekrosis, sel akan mengalami kematian (Krishna, 2017).



Gambar 4. Struktur Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dari tiap-tiap perlakuan. Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Perbesaran 1000x. Ket. (nr). Sel hepatosit normal, (si). Sinusoid, (vce). Vena sentralis, (dp). Degenerasi parenkim, (dh). Degenerasi hidropik, (hm). Hemoragi (pendarahan), (nk.p). Nekrosis

(piknotik – inti sel mengecil), (**nk.k**). Nekrosis (kariolisis – inti sel menghilang) (Januar, 2014).

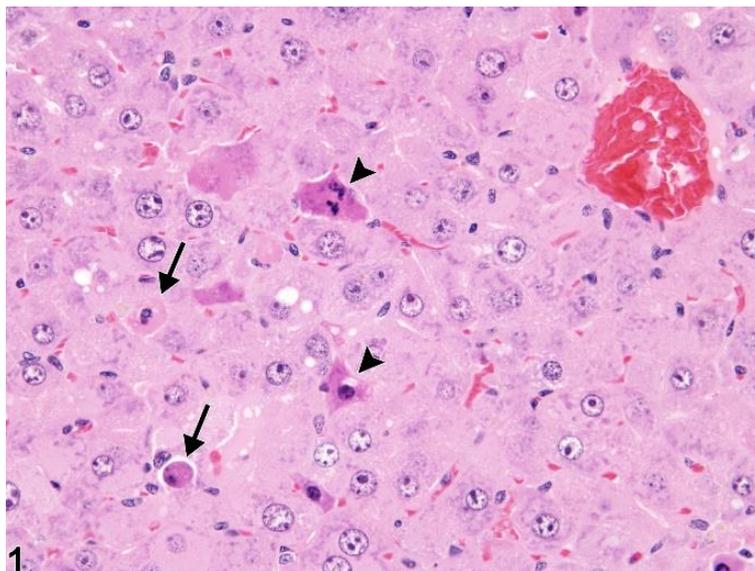
Sel-sel hepatosit yang mengalami nekrosis yang ditunjukkan pada Gambar 5. memiliki bentuk sel yang tidak teratur, sehingga pada pengamatan secara mikroskopis terlihat susunannya tidak teratur. Akibatnya sinusoid yang berbatasan dengan hepatosit mengalami dilatasi atau pelebaran. Dilatasi tersebut juga dapat disebabkan oleh tingginya kadar toksik dalam darah menuju vena sentralis melalui sinusoid (Madihah, dkk., 2017).



Gambar 5. Sel Hepatosit Mencit yang mengalami: D. Degenerasi sel, E. Nekrosis. Pewarnaan HE, Perbesaran 400x (Sijid, dkk., 2020)

2.2.3 Apoptosis

Apoptosis merupakan kerusakan sel yang terjadi secara terprogram (*energy-dependent*) yang biasanya terjadi sebagai kematian hepatosit individu. Berbeda dengan nekrosis, proses terjadinya apoptosis diatur dan dikendalikan secara genetik. Apoptosis masing-masing hepatosit dapat terjadi secara spontan seiring bertambahnya usia dan penggantian hepatosit, atau setelah cedera seperti paparan xenobiotik hepatotoksik atau tekanan oksigen rendah dalam sirkulasi darah. Biasanya tidak ada peradangan yang berhubungan dengan apoptosis (Maronpot, 2023).



Gambar 6. Apoptosis pada tikus B6C3F1/N jantan dari penelitian subkronis. Pewarnaan HE, perbesaran 400x (Maronpot, 2023).

Pada Gambar 6. terdapat sel-sel yang sedikit mengecil, berbentuk tidak beraturan yang konsisten dengan apoptosis tahap awal (kepala panah) dan sel-sel yang lebih kecil dan bulat yang konsisten dengan apoptosis tahap akhir (panah); keduanya memiliki sitoplasma hipereosinofilik dan inti kecil yang terfragmentasi (Maronpot, 2023).

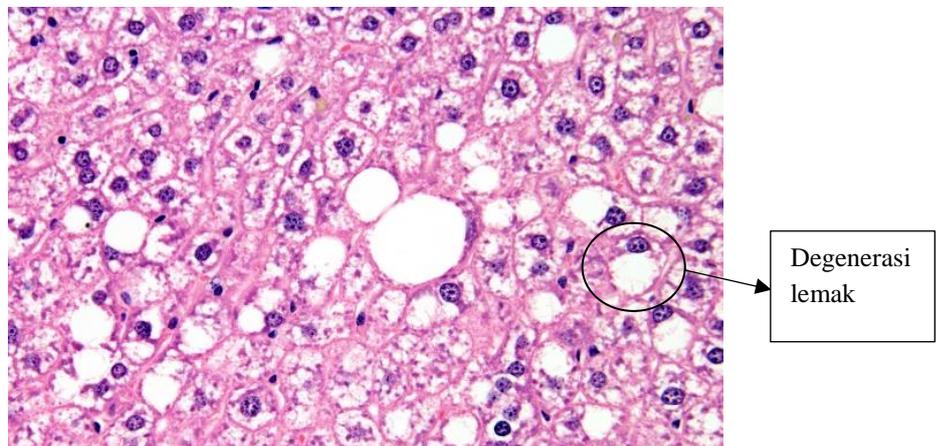
2.2.4 Degenerasi Sel

Degenerasi sel hepatosit merupakan tahap awal terjadinya kerusakan yang ditandai dengan adanya sel hepatosit yang menggelap dan mengalami pembengkakan sel yang diakibatkan oleh peningkatan degradasi glikogen. Degenerasi yang terjadi pada sel hepatosit dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan sel berupa nekrosis (Lailatul, dkk., 2015). Degenerasi sel hepatosit ada beragam (Gambar 4.), yaitu degenerasi albuminosa atau degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan degenerasi melemak.

Degenerasi albuminosa atau degenerasi parenkimatososa disebut sebagai degenerasi paling ringan yang ditandai dengan pembengkakkan sitoplasma, keruhnya sitoplasma dan sitoplasma bergranula. Degenerasi parenkimatososa terjadi akibat sel yang cedera tidak mampu mengeliminasi air sehingga tertimbun di dalam sel menyebabkan pembengkakkan dan nampak bergranula (Hapsari, 2010).

Menurut Kumar dkk. (2009) yang dikutip dari Maulina (2018) degenerasi hidropik muncul karena sel tidak mampu mempertahankan homeostasis ion dan cairan sehingga mengakibatkan hilangnya fungsi pompa ion dependen-energi pada membran plasma. Degenerasi hidropik ditandai dengan sitoplasma mengalami vakuolisasi dengan vakuola-vakuola tampak jernih tanpa mengandung lemak atau glikogen.

Degenerasi melemap ditandai dengan vakuola-vakuola yang berisi lemak dan menekan inti sel ke bagian tepi sel (Gambar 7). Degenerasi melemap pada hati menunjukkan ketidakseimbangan proses metabolisme, sehingga terjadi perubahan metabolisme dan penurunan fungsi hati akibat akumulasi lemak pada sitoplasma (Wijaya, dkk., 2014).



Gambar 7. Vakuolasi sitoplasma perubahan lemak konsisten dengan glikogen dan perubahan lemak makrovesikular pada tikus B6C3F1 jantan dari penelitian kronis (Maronpot, 2023).

2.2.5 Hepatitis

Hepatitis merupakan penyakit yang berupa peradangan pada hati akibat terpapar bahan kimia atau obat-obatan dan agen penyebab infeksi yaitu virus. Berdasarkan penyebabnya, hepatitis dibagi menjadi hepatitis infeksi dan hepatitis non infeksi. Hepatitis infeksi yaitu penyakit hepatitis yang timbul akibat adanya infeksi dari Virus Hepatitis A, B, C, D, E atau virus lainnya. Sedangkan hepatitis non-infeksi yaitu terjadinya radang akibat hati terpapar bahan kimia, zat toksik, alkohol dan obat-obatan. Hepatitis non-infeksi termasuk penyakit yang tidak menular atau *drug induced Hepatitis* karena penyebabnya bukan oleh agen infeksi seperti virus dan mikroorganisme lain (Siswanto, 2020).

Hepatitis merupakan peradangan atau infeksi yang disebabkan oleh virus hepatitis yang menyerang organ hati berupa peradangan atau infeksi pada sel-sel hati. Virus hepatitis akan membuat sel-sel hati mengalami pembengkakan dan pelunakan hati. Gejala yang ditimbulkan tidak terlalu khas, sehingga penderitanya akan mengalami keterlambatan diagnosis. Hepatitis merupakan peradangan difusi yang juga disebabkan oleh reaksi toksik dari konsumsi obat-obatan serta bahan-bahan kimia (Siswanto, 2020).

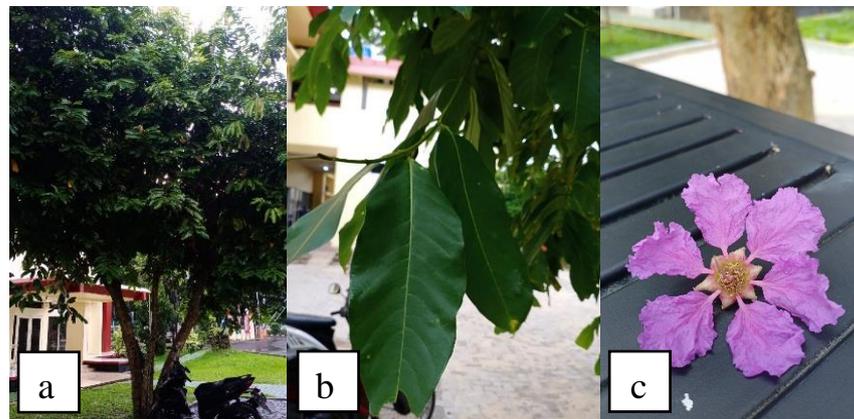
Penyakit hepatitis dapat disebabkan oleh banyak faktor, seperti infeksi virus, penyakit autoimun primer (hepatitis lupoid), konsumsi obat-obatan misalnya metildopa, parasetamol, nitrofurantoin, oksifenisatin, isoniazid dan lain-lain, konsumsi alkohol, defisiensi alfa-1-antitripsin dan akibat terpapar zat toksik (hepatitis toksik) (Maulina, 2018).

Hepatitis toksik ini dapat terjadi akibat paparan bahan kimia, logam berat yang bersifat toksik dan bahan tambahan makanan (BTM) yang dikonsumsi secara berlebihan. Karbon tetraklorida

(CCl₄) menjadi salah satu bahan kimia yang bersifat toksik yang dapat menyebabkan kerusakan pada hati. Pada pemeriksaan jaringan histopatologi hati, efek toksisitas CCl₄ terlihat pada jaringan berupa degenerasi sel, penimbunan lemak (steatosis) dan nekrosis yang merusak struktur sel (Maulina, 2018).

2.3 Tanaman Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.)

Tanaman Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.) memiliki ukuran besar diameter batangnya mencapai 150 cm, pada umumnya memiliki tinggi 25-30 m dan memiliki diameter batang sekitar 60-80 cm. Batangnya berwarna coklat muda dengan bentuk yang agak bengkok namun pada percabangan batang tetap lurus beralur agak dalam dan percabangannya dimulai dari bagian pangkal (Suradji, 2017). Daun bungur memiliki daun tunggal dan tangkainya pendek, berbentuk oval atau memanjang dan bertekstur seperti kertas (Gambar 8). Berukuran panjang daun antara 9-28 cm dan lebarnya 4-12 cm dengan berwarna hijau tua. Memiliki bunga berwarna ungu majemuk dan tersusun dalam malai, memiliki ukuran 10-15 cm, terletak di ketiak daun atau ujung batang (Rahmah, dkk., 2021).



Gambar 8. Tanaman (a), daun (b) dan bunga (c) Bungur.

Taksonomi tanaman bungur dikutip dari Rahmah (2021) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Myrtales
Suku : Lythraceae
Marga : *Langerstroemia*
Jenis : *Lagerstroemia speciosa* L.

Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.) adalah salah satu tumbuhan obat yang tumbuh di Indonesia. Dalam pengobatan tradisional, bagian biji, daun maupun kulit kayu tanaman ini biasa dimanfaatkan sebagai obat, biasanya dikonsumsi dalam bentuk rebusan yang digunakan untuk mengobati diabetes, tekanan darah tinggi, diare, disentri, kencing batu dan kencing darah (Rochman, 2012).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Trisia dan Augustina (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.) memiliki kandungan saponin, alkaloid, flavonoid, steroid dan tanin. Batang bungur ini memiliki kandungan flavonoid, tannin dan steroid yang tinggi. Ekstrak batang bungur berpengaruh terhadap perbaikan sel, terbukti pada histopatologi pankreas, hati dan ginjal menunjukkan gambaran perbaikan sel terbaik mendekati kontrol normal pada pemberian ekstrak dosis 500mg/kgBB.

Telah diketahui kandungan pada daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.) di antaranya adalah kandungan senyawa triterpen glikosida, asam arjunilat, asam oleanolat, asam korosolat, elagitanin, dan beta-sitosterol. Kandungan asam korosolat pada daun bungur *L. speciosa* L. yang berwarna kuning kemerahan lebih tinggi dibandingkan pada daun berwarna hijau dan bagian tanaman lain seperti bunga, akar dan biji (Woo, dkk., 2016). Asam korosolat telah diketahui memiliki aktivitas yang cukup poten sebagai

senyawa yang bertanggung jawab dalam penghambat alfa-glukosidase dan sebagai antioksidan (Koshio, dkk., 2012). Dibuktikan juga oleh Mochtar (2016) pada penelitiannya pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Kandungan senyawa kimia daun bungur (Mochtar, 2016)

No.	Jenis Analisis	Jumlah	Satuan	Hasil
1	Kapasitas Antioksidan	1	ppm GAEAC	36,8
2	Kadar Total Fenol	1	%GAE	2,31
3	Kadar Tanin	1	%TAE	80,42
4	Kadar Flavonoid	1	%QE	13,65

Keterangan:

GAEAC : *Garlic Acid Equivalent Antioksidant Capacity*

GAE : *Garlic Acid Equivalent*

TAE : *Tanin Acid Equivalent*

QE : *Quarsetic Equivalent*

Ekstrak etanol daun bungur memiliki berbagai senyawa fitokimia yaitu flavonoid, fenol, tanin, kuinon, saponin, steroid/triterpenoid (Roni, 2018). Senyawa fenolik memiliki aktivitas antihiperlikemik, misalnya senyawa fenolik yaitu flavonoid memiliki peran sebagai agen antioksidan alami (Patel, dkk., 2012). Hasil ekstrak etanol daun bungur pada penelitian Riyanti (2019) terbukti mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, tanin, kuinon, saponin, steroid/triterpenoid.

Flavonoid memiliki aktivitas hipoglikemik yang dapat menghambat enzim pemecah karbohidrat pada saluran pencernaan. Flavonoid juga berperan sebagai antioksidan, aktivitas tersebut akibat adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekul flavonoid. Pada saat senyawa-senyawa tersebut bereaksi dengan radikal bebas, mereka akan membentuk radikal baru yang lebih stabil (Trisia & Augustina, 2016).

Daun bungur memiliki kandungan senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menurunkan oksidasi LDL (*Low Density Lipoprotein*), mencegah inflamasi pada endotel dan meningkatkan

produksi NO (*nitric oxide*). Oksidasi LDL akan menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang bersifat toksik, ketika berikatan dengan NO akan membentuk peroksinitrik oksidan. Oksidasi kolesterol ini dapat memacu terjadinya proses aterogenesis. NO (*Nitric Oxide*) merupakan vasodilator endogenus yang mempunyai kemampuan anti aterogenesis (Umarudin, 2012).

2.4 Karbon Tetraklorida (CCl₄)

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan senyawa kimia yang diproduksi dalam jumlah besar dalam berbagai industri *refrigerant* dan industri bahan bakar. Karbon tetraklorida (CCl₄) juga digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis *chloroflourocarbons* dan senyawa kimia lainnya. Menurut *The National Toxicology Program's fifth Annual Report on Carcinogen* karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan senyawa kimia yang sangat toksik dan harus dihindari karena bersifat karsinogen, oleh karenanya hanya digunakan dalam industri dan tidak untuk penggunaan rumah tangga (Maulina, 2018).

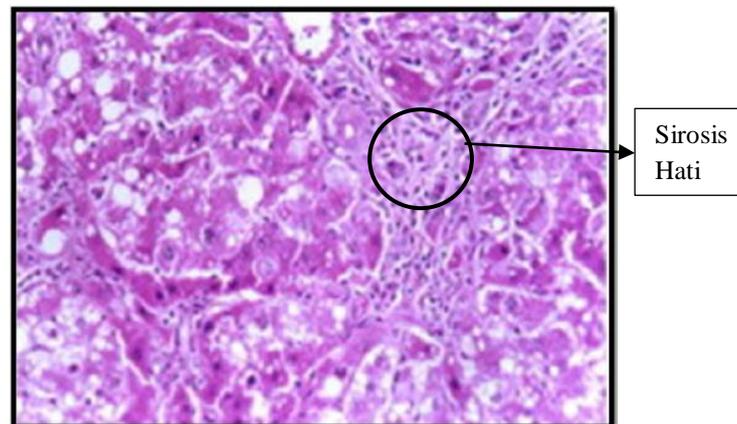
Sifat toksik dari CCl₄ sudah banyak diteliti dan sangat berpengaruh pada berbagai organ termasuk saraf pusat, hati, ginjal dan peredaran darah meskipun dosis yang diterima itu sangat kecil. Karbon tetraklorida (CCl₄) menjadi sangat toksik karena merupakan senyawa yang berperan sebagai pelarut lipid, sehingga senyawa ini dapat dengan mudah melewati membran sel dan kemudian akan terdistribusi ke seluruh organ dalam tubuh (Maulina, 2018).

Dikutip dalam buku Maulina (2018) toksisitas dari CCl₄ terhadap retikulum endoplasma (RE) bersifat tidak langsung dan muncul akibat gangguan di dalam proses fosforilasi oksidatif di dalam membran mitokondria. Karbon tetraklorida dalam tubuh akan akan di katalisis oleh enzim sitokrom P450 kemudian mengalami biotransformasi menjadi reaktif (metabolit reaktif). Metabolit reaktif yang dimaksud yaitu radikal

bebas triklorometil (CCl_3) yang terbentuk dari pembelahan homolitik CCl_4 .

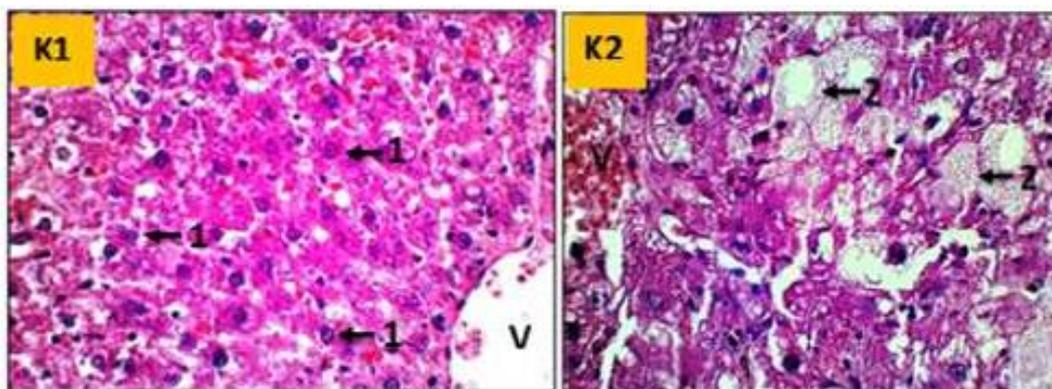
Radikal bebas (CCl_3) ketika berada di dalam sel akan mempengaruhi kerja dari mitokondria dalam proses respirasi sel. Radikal bebas tersebut akan mengikat protein dan lipid tidak jenuh secara kovalen yang kemudian akan menyebabkan peroksidasi lipid. Proses respirasi sel bertujuan untuk menghasilkan energi yang diperlukan untuk pemeliharaan fungsi dan struktur dari retikulum endoplasma (RE). Retikulum endoplasma kasar/granular yang terdapat ribosom di seluruh bagiannya berfungsi sebagai untuk sintesis protein yang hasilnya untuk mitokondria. Ketika sel kekurangan energi akan mengganggu sistem kerja dari sel tersebut yang menyebabkan penurunan daya untuk proses pengeluaran trigliserida hati ke dalam plasma (Maulina, 2018).

Pembentukan radikal bebas yang berlebihan pada tubuh akan menyebabkan stress oksidatif yang kemudian akan menimbulkan gangguan fungsi pada hati. CCl_4 atau karbon tetraklorida ini biasa digunakan sebagai untuk menginduksi peradangan hati pada hewan uji coba, karena peradangan yang terbentuk pada histopatologis hati mirip dengan yang ditimbulkan oleh penyakit akibat virus hepatitis pada manusia. Kerusakan hati yang diakibatkan oleh zat toksik CCl_4 di antaranya adalah perubahan morfologis pada sel yang menunjukkan kematian sel atau nekrosis, terhambatnya proses sistesis lipoprotein yang membawa triglierida keluar dari hati, dan terjadinya sirosis hati yaitu ketidak-efisiensi fungsi regeneratif sel-sel hati (Widiyanto, 2003).



Gambar 9. Gambaran Sirosis pada hati tikus yang diberikan CCl_4 selama 10 minggu. Pewarnaan HE, pembesaran 200x (Maulina, 2018).

Paparan CCl_4 dapat menimbulkan steatosis sentral yang mencakup sepertiga sampai setengah setiap lobulus hati, toksisitas akut akibat CCl_4 mengakibatkan akumulasi lipid yang cepat pada hepatosit sebelum munculnya nekrosis (Maulina, 2018). Pada penelitian Maulina (2013) didapatkan hasil pengamatan histopatologi hati pada pemberian CCl_4 1 ml/KgBB dapat meningkatkan persentase steatosis hepatosit dengan perbedaan sangat nyata pada K2 yaitu mencapai 28,71% dibandingkan dengan kelompok K1 yang diberikan *carboxy methyl cellulose-natrium* (CMC-Na) 0,25% dan *olive oil* menunjukkan rerata persentase yang paling rendah, yaitu 1,95% (Gambar 10.).



Gambar 10. Hepatosit kelompok K1 (CMC-Na 0,25%) dan K2 (CCl_4 1 ml/KgBB). Keterangan: V= vena sentralis. Pewarnaan HE, perbesaran 100x (Maulina, 2013).

Mekanisme steatosis sel akibat CCl₄ melibatkan pembentukan radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid dan penurunan enzim-enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), glutathion reduktase (GSH) dan glutathion-S-transferase (Maulina, 2018; Rasool, 2012). Metabolit CCl₄ berupa radikal bebas reaktif dapat menghambat β -oksidasi asam lemak, menurunkan sekresi lipid seluler dan mengganggu aktivitas badan Golgi sehingga mengakibatkan penghambatan sekresi VLDL dan terganggunya mekanisme kopling trigliserida dengan molekul pembawa lipoprotein yang tepat. Penekanan terhadap aktivitas trigliserida lisosomal lipase dapat mengakibatkan akumulasi trigliserida pada sel-hepatosit tikus. Penimbunan lipid pada sel-hepatosit seiring dengan adanya gangguan fungsi membran plasma yang mengikat enzim akibat induksi CCl₄ (Khalaf, dkk., 2009).

Steatosis hepatosit akibat CCl₄ dimulai dengan adanya gangguan pada mitokondria sehingga mengakibatkan penurunan kalsium pada mitokondria dan RE, namun sebaliknya terjadi peningkatan kalsium di dalam sitosol (Khalaf, dkk., 2009). Peningkatan konsentrasi kalsium sitosol ini mengakibatkan aktivasi sejumlah enzim katabolik, salah satunya enzim ATP-ase (Kumar, dkk., 2009). Aktivasi enzim ini menyebabkan penurunan sintesis ATP sehingga mengakibatkan gangguan pada sintesis protein. Gangguan pada sintesis protein akan menghambat sintesis satuan protein dari lipoprotein dan penekanan konjugasi trigliserida dengan lipoprotein. Hal ini mengakibatkan lipoprotein tidak terbentuk sehingga transpor lipid terganggu. Terganggunya transpor lipid akan menyebabkan akumulasi lipid dalam hepatosit sehingga mengakibatkan steatosis (Maulina, 2018).

2.5 Mencit (*Mus musculus L.*)

Mencit (Gambar 11.) merupakan mamalia yang biasa digunakan untuk keperluan laboratorium sebagai hewan percobaan, sebanyak 40% studi

menggunakan mencit sebagai model laboratorium (Nugroho, 2018). Mencit digunakan sebagai hewan percobaan di laboratorium karena memiliki siklus hidup yang relatif pendek, banyaknya jumlah anak per kelahiran, memiliki karakteristik reproduksi yang mirip dengan mamalia lain, juga struktur anatomi, fisiologi dan genetik yang mirip dengan manusia (Fianti, 2017; Hermann, dkk., 2019).



Gambar 11. Mencit (*Mus musculus* L.)

Genome mencit, sapi, babi dan manusia sangat mirip, sehingga mencit digunakan sebagai model untuk mempelajari anatomi, pengetahuan dasar genetika kualitatif dan kuantitatif, bidang fisiologi, farmakologi, toksikologi, patologi, histopatologi hingga psikiatri (Kartika, 2013; Mutiarahmi, 2021). Mencit yang banyak di Indonesia berasal dari hasil divergen dari mencit di Asia Barat Daya (Suzuki, dkk., 2013).

Klasifikasi mencit menurut Lane-Petter (1976) dan Ungerer dkk. (1985) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Sub famili	: Murinae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i> L.

Penggunaan mencit jantan pada penelitian ini dikarenakan mencit jantan tidak mengalami siklus estrus, tidak memiliki hormon estrogen, kondisi hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina dan mudah dikendalikan. Tingkat stress pada mencit jantan juga lebih rendah dibandingkan dengan mencit betina, yang memungkinkan dapat mengganggu proses penelitian (Muhtadi, dkk., 2014).

Mencit yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan uji normal laboratorium dengan menimbang berat badan (Lampiran 5), memeriksa kesehatan dan tubuh mencit sebelum penelitian. Menurut Burkholder (2012) mencit yang baik digunakan untuk penelitian adalah mencit yang sehat, ditandai dengan tidak adanya kerontokan rambut, bergerak aktif, nafsu makan baik, ukuran tubuh yang baik (tidak terlalu kurus maupun obesitas), dan tidak memiliki kelainan pada bagian kepala, perut, maupun anggota gerak tubuhnya.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada bulan Januari 2023 hingga Februari 2023.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai acuan penempatan mencit pada setiap kelompok perlakuan yang dilakukan secara random/acak. Rancangan yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 6 ulangan, dalam rancangan ini tidak terdapat lokal kontrol, sehingga sumber keragaman yang diamati hanya perlakuan dan galat. Pengacakan perlakuan pada unit-unit percobaan dilakukan menggunakan tabel bilangan acak, sistem lotre manual atau menggunakan komputer (Susilawati, 2015). 30 ekor mencit jantan berumur 3 bulan, dengan berat 30-40 gram dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu K(+), K(-), P1 (5 mg/20gBB), P2 (10 mg/20gBB), P3 (15 mg/20gBB) ekstrak etanol daun bungur.

Tabel 2. Peta kandang mencit.

P2U6	P3U2	P1U6	P1U3	P2U4
K2U1	P2U1	P3U3	K1U5	K2U5
K2U3	P2U3	P3U1	K1U2	P1U1
K1U6	K1U4	P3U4	K2U2	P2U2
K1U1	K1U3	P2U5	P1U5	P3U5
K2U6	P3U6	K2U4	P1U4	P1U2

Keterangan:

K: Kontrol (K1, K2)

P: Perlakuan yang dilakukan (P1, P2, P3)

U: Ulangan

U1	U2	U3
U4	U5	U6

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah hewan coba mencit (*Mus musculus* L.) jantan.

3.3.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, dengan masing-masing perlakuan menggunakan 6 sampel mencit. Penentuan jumlah sampel diperoleh dengan menggunakan rumus Federer (1977):

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

Keterangan: t = Jumlah kelompok perlakuan

n = Jumlah sampel per kelompok perlakuan

Karena $t = 5$, maka:

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Jadi, jumlah mencit yang disarankan untuk penelitian ini minimal berjumlah lebih dari sama dengan 6 ekor setiap kelompok perlakuan.

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah keadaan sel-sel hepatosit mencit yang mengalami kerusakan, nekrosis, apoptosis dan sel normal.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Karbon tetraklorida (CCl₄)

Karbon tetraklorida yang digunakan, sebelumnya diencerkan menggunakan minyak jagung dengan perbandingan 1:1 yang kemudian memiliki konsentrasi 50%. Setiap mencit yang diberikan perlakuan diinjeksikan dengan larutan karbon tetraklorida (CCl₄) sebanyak 0,1 ml/20 gBB mencit, kecuali mencit kontrol negatif. CCl₄ diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal menggunakan *sprit* volume 1 ml. CCl₄ diberikan 1 kali sehari selama 3 hari berturut-turut, setelah mengaklimasi mencit selama 7 hari (Rohmatin, 2015).

3.5.2 Ekstrak Etanol Daun Bungur

Daun bungur yang digunakan berasal dari halaman Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Daun bungur untuk membuat ekstrak yaitu sebanyak 1000 gram simplisia, yang kemudian dibuat ekstrak dengan dilarutkan ke dalam 10 liter etanol 96% dengan metode maserasi. Ekstrak daun bungur yang diaplikasikan pada hewan uji coba dengan cara diinjeksikan pada mencit secara oral menggunakan jarum sonde lambung, dengan dosis sebanyak 5 mg/20 gBB/hari, 10 mg/20 gBB/hari, dan 15 mg/20 gBB/hari sebanyak 0,3 ml dengan menggunakan *sprit* volume 1 ml dengan jarum sonde lambung (Rohmatin, 2015).

3.5.3 Sel Hepatosit Mencit

Mencit (*Mus musculus* L.) merupakan hewan mamalia yang biasa digunakan sebagai objek untuk pengujian dalam praktikum maupun penelitian. Mencit yang digunakan merupakan mencit jantan galur swiss yang berumur 3-4 bulan dengan berat 30-40 gram. Sebelum perlakuan, mencit di-aklimatisasi pada ruangan tertutup guna menyesuaikan lingkungan hidup mencit dari yang sebelumnya. Aklimatisasi dilakukan selama 7 hari dengan pemberian pakan dan minum rutin, juga kebersihan kandangnya.

Sel-sel hepatosit yang telah terkena CCl_4 akan mengalami degenerasi sel berupa degenerasi hidrofik dan nekrosis (kematian sel). Pemeriksaan histopatologi hati dengan cara fiksasi, dehidrasi dan *clearing*, *embedding*, *blocking*, pemotongan, pewarnaan/engecatan dan mounting (Mardiati & Saraswati, 2014). Selanjutnya yaitu pengamatan sediaan histopatologi hepatosit di bawah mikroskop.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet ukur, gelas ukur, *beaker glass*, erlenmeyer, corong kaca, batang pengaduk, *vortex*, jarum sonde lambung, *sput* volume 1 ml, neraca analitik, pinset, *hot plate*, blender, oven, seperangkat alat bedah (pisau bedah, klorofoam, kapas, papan bedah), seperangkat alat pemeliharaan (kandang mencit, botol minum, serbuk kayu, wadah makanan), *object glass*, *cover glass*, mikrotom, mikroskop cahaya, sarung tangan, masker.

3.6.2 Bahan Penelitian

Hewan percobaan yang digunakan yaitu mencit yang berumur 3-4 bulan, berjenis kelamin jantan, dengan berat 30 – 40 gram. Hewan percobaan yang digunakan diperoleh dari pembudidaya mencit penelitian.

Bahan yang digunakan adalah aquades, CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) 1%, etanol 96%, alkohol 50%, alkohol 70%, alkohol 90%, karbon tetraklorida (CCl₄), minyak jagung, klorofoam, formalin 10%, xylol, parafin, safranin, enthilen, pewarna hematoksilin dan eosin, dan daun bungur.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Persiapan Hewan Uji

Penelitian dilakukan pada hewan coba mencit (*Mus musculus* L.) dengan syarat sebagai berikut: mencit yang sebelumnya sudah dilakukan determinasi, kondisi sehat fisik dan tidak memiliki kelainan, berjenis kelamin jantan, berumur 3 bulan dengan berat badan 30 – 40 gram, pemberian pakan yang sesuai dan seragam. Hewan uji coba dilakukan aklimatisasi selama seminggu sebelum diberi perlakuan untuk mengadaptasikan dengan lingkungan dan makanan barunya, kemudian dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan dengan jumlah 6 ekor setiap perlakuan.

3.7.2 Kelompok Perlakuan

Berikut kelompok perlakuan dan pemberian dosis yang dikerjakan.

Tabel 3. Kelompok Perlakuan

No.	Kelompok	Perlakuan	Keterangan
1	K (+)	CCl ₄ 0,1 ml/20 gBB	Kontrol positif
2	K (-)	Tidak diberi perlakuan	Kontrol negatif
3	P1	CCl ₄ 0,1 ml/20 gBB + Ekstrak 5mg/20 gBB/hari	Kelompok perlakuan P1
4	P2	CCl ₄ 0,1 ml/20 gBB + Ekstrak 10 mg/20 gBB/hari	Kelompok perlakuan P2
5	P3	CCl ₄ 0,1 ml/20 gBB + Ekstrak 15 mg/20 gBB/hari	Kelompok perlakuan P3

Pemberian dosis ditentukan berdasarkan kadar IC₅₀ dari ekstrak etanol daun bungur yaitu sebesar 262,2 ug/ml (Riyanti, dkk., 2020). IC₅₀ merupakan konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) atau bisa disebut juga konsentrasi yang menunjukkan aktivitas antioksidan. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Widyasanti, dkk., 2016). IC₅₀ yang diketahui dijadikan acuan sebagai batas minimum dosis yang diberikan kepada hewan uji coba.

Dosis letal atau LD₅₀ dari ekstrak etanol daun bungur terhadap Sel Mononuklear Darah Periferan Manusia atau *Human PBMCs* (*Peripheral Blood Mononuclear Cells*) diketahui sebesar 811,78 mg/kg (Sirikhansaeng, dkk., 2017). Dosis Letal tengah atau LD₅₀ merupakan tolak ukur statistik setelah pemberian dosis tunggal atau beberapa kali dalam 24 jam yang dapat mematikan 50% hewan coba (BPOM, 2014). LD₅₀ merupakan batas dosis maksimal pemberian ekstrak kepada hewan uji coba, sehingga tidak menyebabkan toksik terhadap hewan uji coba (Sirikhansaeng, 2017).

Oleh karena itu, dibuatlah beberapa varian dosis perlakuan berdasarkan kadar IC₅₀ dan LD₅₀ yang diketahui yaitu 250

mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB. Maka, dibuatlah dosis perlakuan ekstrak etanol daun bungur untuk mencit sebanyak 5 mg/20 gBB/hari, 10 mg/20 gBB/hari, 15 mg/20 gBB/hari .

3.7.3 Persiapan Bahan Perlakuan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini untuk setiap kelompok perlakuan adalah karbon tetraklorida (CCl_4) yang digunakan untuk menginduksi kerusakan hati pada sel-sel hepatosit. Ekstrak daun bungur yang digunakan sebagai perlakuan kepada hewan coba.

a. Pembuatan Sediaan Karbon Tetraklorida (CCl_4)

Pemberian CCl_4 pada mencit dapat memberikan efek toksik pada dosis 0,1 ml/20 gBB (Rohmatin, 2015). Pengenceran dilakukan dengan melarutkan CCl_4 dengan minyak jagung dengan perbandingan 1:1 untuk membentuk konsentrasi 50% kemudian diaduk hingga rata. Larutan karbon tetraklorida (CCl_4) dilarutkan pada minyak jagung dikarenakan CCl_4 merupakan senyawa kimia yang mudah larut pada minyak (Yuce, 2014).

b. Pembuatan Ekstrak Daun Bungur

Daun bungur yang sebelumnya sudah dilakukan determinasi selanjutnya dilanjutkan proses pemetikan dari pohonnya. Daun yang sudah dipetik lalu dibersihkan dengan air mengalir, kemudian kering-anginkan agar air yang masih ada pada daun cepat hilang. Daun yang sudah tidak berair dimasukkan ke dalam oven untuk dikeringkan pada suhu 60°C selama 2 hari. Kemudian daun bungur yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender, hasilnya diayak hingga dapat tepung halus. Selanjutnya 1000 gram tepung daun bungur dilarutkan dengan 10 liter etanol 96% dengan perbandingan 1:10 selama 3 x 24 jam menggunakan metode maserasi. Kemudian ekstrak

disaring menggunakan kertas saring, selanjutnya evaporasi hingga didapat ekstrak daun bungur dengan konsentrasi 100%.

Dosis perlakuan dibuat dengan menambahkan pengemulsi CMC (*Carboxy Methyl Celullose*) 1% pada ekstrak etanol daun bungur. Dosis yang digunakan dibuat tidak melebihi batas letal, sehingga didapatkan variasi dosis sebagai berikut:

1. Dosis 5 mg/20 gBB ekstrak daun bungur
2. Dosis 10 mg/20 gBB ekstrak daun bungur
3. Dosis 15 mg/20 gBB ekstrak daun bungur

Jumlah ekstrak etanol daun bungur yang digunakan selama penelitian sebagai berikut:

$$P1 = 5 \text{ mg} \times 18 \text{ (mencit)} \times 10 \text{ (hari)} = 900 \text{ mg} = 0,9 \text{ gram}$$

$$P2 = 10 \text{ mg} \times 18 \text{ (mencit)} \times 10 \text{ (hari)} = 1800 \text{ mg} = 1,8 \text{ gram}$$

$$P3 = 15 \text{ mg} \times 18 \text{ (mencit)} \times 10 \text{ (hari)} = 2700 \text{ mg} = 2,7 \text{ gram}$$

Pemberian ekstrak secara oral pada mencit (Volume)

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian} &= \text{berat mencit} \times \text{persen pemberian} \\ &= 20 \text{ gram} \times 1\% \\ &= 20 \text{ gram} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ gram}} \\ &= 0,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total volume} &= 0,2 \text{ ml} \times 18 \text{ (mencit)} \times 10 \text{ (hari)} \\ &= 36 \text{ ml (pelarut CMC 1\%)} \end{aligned}$$

Stok dosis perlakuan ekstrak daun bungur selama penelitian sebagai berikut:

$$\text{Dosis P1} = 0,9 \text{ gram ekstrak daun bungur} + 36 \text{ ml CMC 1\%}$$

$$\text{Dosis P2} = 1,8 \text{ gram ekstrak daun bungur} + 36 \text{ ml CMC 1\%}$$

$$\text{Dosis P3} = 2,7 \text{ gram ekstrak daun bungur} + 36 \text{ ml CMC 1\%}$$

3.7.4 Perlakuan pada Hewan Percobaan

a. Pemberian Bahan Perlakuan pada Hewan Percobaan

Setiap mencit yang diberikan perlakuan, sebelumnya diinjeksikan dengan karbon tetraklorida (CCl_4) sebanyak 0,1 ml - kecuali mencit kontrol negatif. CCl_4 diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal menggunakan *sprit* volume 1 ml. CCl_4 diberikan 1 kali sehari pada hari ke 1 – 3 secara berturut-turut, setelah mengaklimasi mencit selama 7 hari (Rohmatin, 2015).

Pemberian ekstrak daun bungur secara oral dengan dosis yang sudah ditentukan perkelompok sebanyak 0,3 ml dengan menggunakan *sprit* volume 1 ml dan jarum sonde lambung. Ekstrak etanol daun bungur sebelumnya ditambahkan CMC 1% sebagai bahan pengikat, penstabil dan pengemulsi (BPOM RI, 2021). Pemberian ekstrak daun bungur dilakukan setiap hari pada hari ke 4 – 16 secara berturut-turut, kemudian pada hari ke-17 dilakukan pengambilan data.

b. Pengambilan Sampel

Setelah perlakuan yang sudah dilakukan selama 16 hari, kemudian mencit dibius dengan menggunakan kloroform selanjutnya dilakukan pembedahan pada bagian perut secara horizontal dan vertikal. Setelah dilakukan pembedahan, organ hati diambil dan ditaruh dalam tabung organ dan diberi formalin 10% selama 24 jam (Rohmatin, 2015).

c. Pembuatan Preparat Histologi

Berikut tahapan pembuatan preparat histologi hati (Rohmatin, 2015).

1. Hati yang sudah diambil dan disimpan dalam formalin 10% selama 24 jam kemudian dilakukan perlakuan selanjutnya.

2. Dehidrasi dengan merendam organ hati pada alkohol 50%, 70% dan 2 kali alkohol absolut secara bertingkat, masing-masing selama 30 menit.
3. *Clearing* dengan menggunakan perbandingan alkohol dan *xylol* (3:1, 1:1, 1:3) dan dua kali *xylol* di rendam masing-masing selama 60 menit.
4. Infiltrasi dengan *xylol* dan *paraffin* dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3 dan 1 kali *paraffin* murni selama 1 jam perendaman pada suhu 46°C-52°C.
5. *Blocking* dengan *paraffin* keras pada suhu 46°C-52°C selama 1 jam.
6. Potong dengan menggunakan mikrotom dengan ukuran 3-5 milimikro dan kemudian potongan direkatkan pada kaca objek.
7. Deparafinisasi dengan perendaman *xylol* 2 kali alkohol absolut, 70%, 50% dan 30% dengan perendaman selama 3 menit.
8. Terakhir dilakukan pewarnaan menggunakan *safranin* setelah selesai kemudian diamati menggunakan mikroskop.

Pewarnaan *safranin* dilakukan dengan tahapan sebagai berikut.

1. Setelah dilakukan deparafinisasi, selanjutnya direndam dengan safranin selama 3 menit.
2. Setelah itu didehidrasi dengan alkohol bertingkat 50%, 70% dan 2 kali alkohol absolute.
3. Kemudian dilakukan pemberian *xylol* selama 5 menit, setelahnya *mounting* dengan menggunakan perekat entelen lalu dipanaskan pada suhu 46°C-52°C di dalam inkubator selama 24 jam.
4. Setelah 24 jam dapat diamati menggunakan mikroskop.

3.7.5 Pengolahan Data

Preparat kemudian dianalisis dengan *scoring* membandingkan setiap preparat hepatosit setiap lapang pandang. Hasil pengamatan histopatologi diberi skor pada tiap preparat masing-masing kelompok perlakuan. Perubahan hepatosit mencit yang normal diberi skor nol (0) dan yang mengalami perubahan atau kelompok perlakuan dan kelompok negatif diberi skor 1-3 tergantung bagaimana perubahannya (Tabel 5.) (Agata, 2017).

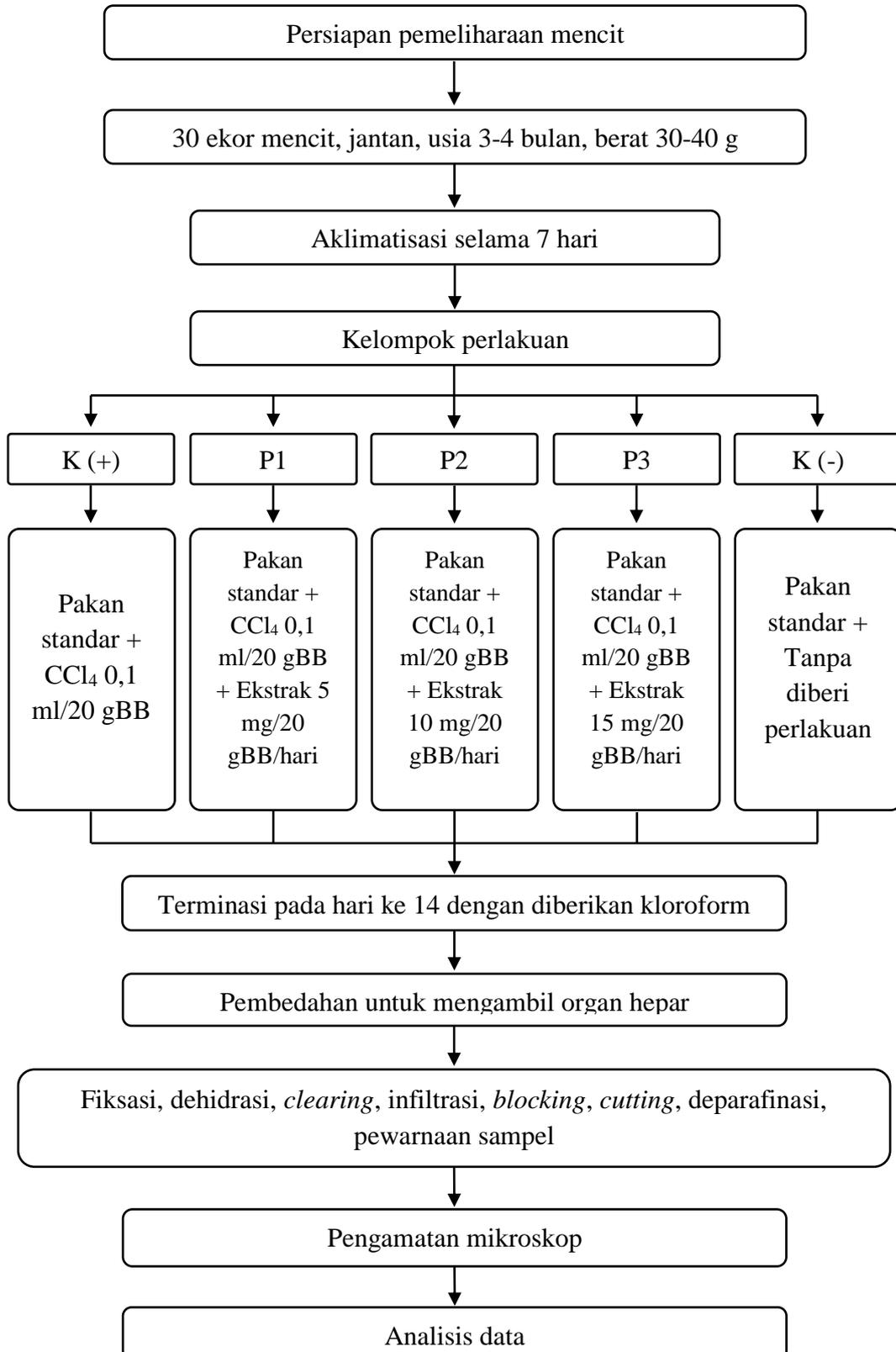
Tabel 4. Skoring tingkat perubahan sel hepatosit mencit setelah perlakuan

Tingkat perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak terjadi perubahan pada histopatologi	0
Ringan (<i>mild</i>)	Kerusakan kurang dari sepertiga dari seluruh lapang pandang	1
Sedang (<i>moderate</i>)	Kerusakan sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapang pandang	2
Berat (<i>severe</i>)	Kerusakan lebih dari dua pertiga dari seluruh lapang pandang	3

Data skoring yang diperoleh selanjutnya diuji menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistics Ver. 25. Dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dengan signifikansi ($p < 0.05$) dan dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test* dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan.

3.8 Diagram Alir Penelitian

Berikut diagram alir penelitian yang dilaksanakan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.



BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka ditarik kesimpulan bahwa penggunaan ekstrak etanol daun bungur dengan dosis 5 mg/20gBB dan 10 mg/20gBB mampu membantu memperbaiki kerusakan sel hepatosit akibat paparan CCl₄ dibandingkan dosis 15 mg/20gBB.

5.2 Saran

Dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji aktivitas SGPT-SGOT hepar mencit yang diberikan ekstrak etanol daun bungur sebagai hepatoprotektor.

DAFTAR PUSTAKA

- Agata, A., Widiastuti, E. L., Susanto, G. N., & ' S. (2017). Respon Histopatologis Hati Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo(α)Piren terhadap Pemberian Taurin dan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*). *Jurnal Natur Indonesia*, 16(2), 54. <https://doi.org/10.31258/jnat.16.2.54-63>
- Ansar, M., Rahmadani, A., & Fadraersada, J. (2017). Uji Aktivitas Sub Fraksi Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* (L) pers) Sebagai Antibakteri dan Antioksidan. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 6(1), 179–184. <https://doi.org/10.25026/mpc.v6i1.281>
- Anggraeny, E., Tjandrakirana, Ducha, N. (2015). Pengaruh pemberian filtrat tauge kacang hijau terhadap histologi hati mencit yang terpapar MSG. *LenteraBio*; 3(3): 186-191
- Atalla, R.A. (2023). PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN JAMUR *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds PENYEBAB ANTRAKNOSA PADA BUAH CABAI MERAH (*Capsicum annum* L.). [Skripsi]. Bandarlampung. Universitas Lampung.
- BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan) Republik Indonesia. (2014). Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo. Perka BPOM nomor 875 tahun 2014.
- BPOM (Badan Pengawasan Obat dan Makanan) Republik Indonesia. (2021). Pedoman Uji Farmakodinamik Praklinik Obat Tradisional. Peraturan BPOM Nomor 18 Tahun 2021.
- Burkholder, T., Foltz, C., Karlsson, E., Linton, C. G., & Smith, J. M. (2012). Health Evaluation of Experimental Laboratory Mice. *Current protocols in mouse biology*, 2, 145–165. <https://doi.org/10.1002/9780470942390.mo110217>

- Chan E.W.C., Tan L.N., Wong S.K. (2014). Phytochemistry and pharmacology of *Lagerstroemia speciosa*: a natural remedy for diabetes. *Int. J. Herbal Med.* 2014;2:100–105.
- Eroschenko, VP. (2012). *Atlas Histologi difiore: dengan korelasi fungsional* Ed.11. EGC. Jakarta.
- Fawcett, DW (2002), *Buku ajar histologi*, 12th Ed, trans. J Tambayong, EGC, Jakarta, Hal. 583-606.
- Federer, W. T. (1977). *Experimental Design Theory And Application, Third Edition*. Oxford and IBH Publishing Co, New Delhi Bombay Calcuta.
- Fianti LL. (2017). Efektivitas perasan daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*). [Disertasi]. Bandung. Universitas Pasundan.
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., & Susilowati, R., (2015), Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina* Sp., *Chlorella* Sp., dan *Nannochloropsis* Sp. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 10(2), 101-109
- Handayani, S. (2021). *Anatomi dan Fisiologi Tubuh Manusia*. Bandung: Media Sains Indonesia
- Hardiningtyas, S. D., Purwaningsih, S., & Handharyani, E. (2014). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN EFEK HEPATOPROTEKTIF DAUN BAKAU API-API PUTIH. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1). <https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i1.8140>
- Hendri, Yanti, A. H., & Setyawati, T. R. (2017). Tingkat Kerusakan Hepatosit Mencit yang Diinduksi Alkohol 40%. *Jurnal Protobiont*, 6(1), 15–19.
- Herrmann K, Pistollato F, Stephens ML. (2019). Beyond the 3Rs: expanding the use of human-relevant replacement methods in biomedical research. *Altex* 36(3): 343-352.
- Huang, G. H., Zhan, Q., Li, J. L., Chen, C., Huang, D. D., Chen, W. S., & Sun, L. N. (2013). Chemical constituents from leaves of *Lagerstroemia speciosa* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 109–112. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.08.029>
- Iracheta-Vellve, A.; Petrasek, J.; Gyongyosi, B.; Satishchandran, A.; Lowe, P.; Kodys, K.; Catalano, D.; Calenda, C.D.; Kurt-Jones, E.A.; Fitzgerald, K.A.; dkk. (2016). Endoplasmic Reticulum Stress-induced Hepatocellular

Death Pathways Mediate Liver Injury and Fibrosis via Stimulator of Interferon Genes. *J. Biol. Chem.* 291, 26794–26805.

- Januar, R., Yusfiati, Y. & Fitmawati, F. (2014). Struktur Mikroskopis Hati Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Akibat Pemberian Ekstrak Tanaman *Tristaniopsis Whiteana* Griff. *JOM FMIPA*, 1(2), 392–401.
- Jeong, T.B.; Kwon, D.; Son, S.W.; Kim, S.H.; Lee, Y.-H.; Seo, M.-S.; Kim, K.S.; Jung, Y.-S. (2020). Weaning Mice and Adult Mice Exhibit Differential Carbon Tetrachloride-Induced Acute Hepatotoxicity. *Antioxidants*, 9, 201. <https://doi.org/10.3390/antiox9030201>
- Kamilatussaniah, Y. A., & Iswari, R. (2015). Pengaruh Suplementasi Madu Kelengkeng terhadap kadar TSA dan MDA Tikus Putih yang Diinduksi Timbal (Pb). *Jurnal MIPA*, 38(2), 108–114
- Kardena, I. M., & Winaya, I. B. O. (2011). Kadar Perasan Kunyit yang Efektif Memperbaiki Kerusakan Hati Mencit yang Dipicu Karbon Tetraclhorida. *J. Vet.*, 12(1), 34-39.
- Kartika, A. A., Siregar, H., H. C., & Fuah, A. M. (2013). Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus Norvegicus*) dan Mencit (*Mus Musculus*) di Fakultas Peternakan IPB. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 1(3), 147–154.
- Kementrian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi. (2014). *Situasi dan Analisis Hepatitis*. Jakarta Selatan.
- Khalaf, AA, Mekawy, ME, Moawad, MS and Ahmed, AM. (2009). Comparative study on the protective effects of some antioxidants againts CCl4 hepatotoxicity in rats', *Egyptian Journal of Natural Toxins*; 6(1): 59-82
- Khan, R. A., Khan, M. R., & Sahreen, S. (2012). CCl4-induced hepatotoxicity: protective effect of rutin on p53, CYP2E1 and the antioxidative status in rat. *BMC complementary and alternative medicine*, 12, 178. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-178>
- Koshio, K., Murai, Y., Sanada, A., Taketomi, T., Yamazaki, M., Kim, T.-S., dan Iwashina, T. (2012). Positive relation between anthocyanin and corosolic acid Contents in leaves of *Lagerstroemia speciose*. *Tropical Agriculture and Development*, 56(2), 49–52.
- Krishna M. (2017). Patterns of necrosis in liver disease. *Clinical liver disease*, 10(2), 53–56. <https://doi.org/10.1002/cld.653>

- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Lailatul NF, Diana LY dan Mudjiwijono H. (2015). Efek Pemberian Asam Alfa Lipoat terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histologi pada Hati Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 1. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* Vol.28(3):170-177.
- Lane-Petter, W. (1976). *The Laboratory Mouse*. In : C. W. Hume. *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. Churchill Livingstone. Edinburg, New York.
- Liu, H.; Wang, Z.; Nowicki, M.J. (2014). Caspase-12 mediates carbon tetrachloride-induced hepatocyte apoptosis in mice. *World J. Gastroenterol.* 20, 18189–18198.
- Madihah, R. N., Malini, D. M., Faiza, A. H., & Iskandar. (2017). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap Tikus Wistar Betina. *Pros. Semin. Nas. Masy. biodiversitas Indones*, 3(1), 33–38.
- Mahardika, G. G., Dewi, N. W. S., & Aman, IGM. (2020). Ekstrak Etanol Daun Sambilotto (*Andrographis paniculata*) Menurunkan HAI (*Histology Activity Indeks*)-*Knodell Score* pada Hati Mencit (*Mus musculus*) Jantan Yang Diinduksi CCl₄. ISSN: 2597-8012 *JURNAL MEDIKA UDAYANA*, VOL. 9 NO.4, APRIL, 2020
- Makiyah, A., & Khumaisah, L. L. (2018). Studi Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih Strain Wistar yang Diinduksi Aspirin Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl) Selama 7 Hari. *Artikel Penelitian*, 50(2), 93-101.
- Mardiati, S.M., & T.R. Saraswati. (2014). *Buku Penuntun Praktikum Mikroteknik Hewan*. Semarang: Fakultas Sains dan Matematika Jurusan Biologi Universitas Diponegoro Semarang.
- Maronpot, R.R. (2023). Liver , Hepatocyte – Apoptosis Liver , Hepatocyte – Apoptosis, 1–2. Diakses pada 02 September 2023, dari <https://ntp.niehs.nih.gov/atlas/nnl/hepatobiliary-system/liver/Hepatocyte-Apoptosis>
- Maulina, M., (2018). *Zat-zat yang Mempengaruhi Histopatologi Hati*. UNIMAL PRESS. Universitas Malikussaleh, Lhokseumawe.

- Mescher, A. L. (penulis); Jan, T. (alih bahasa). (2017). *Histologi dasar junqueira : teks & atlas / Anthony L. Mescher ; alih bahasa, dr. Jan Tambayong*. Jakarta :: Penerbit Buku Kedokteran EGC,.
- Mescher, A.L.(Ed.), (2021). *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas, 16e*. McGraw Hill. Diakses pada 16 Oktober 2023, dari <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3047§ionid=255122131>
- Mochtar, F. (2016). Ekstrak Daun Bungur (*Lagerstoemia speciosa* L.) Memperbaiki Profil Lipid Tikus Wistar Jantan Dislipidemia. [Tesis]. Denpasar. Universitas Udayana
- Mousa, A. M., El-Sammad, N. M., Abdel-Halim, A. H., Anwar, N., Khalil, W. K. B., Nawwar, M., Hashim, A. N., Elsayed, E. A., & Hassan, S. K. (2019). *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers Leaf Extract Attenuates Lung Tumorigenesis via Alleviating Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis. *Biomolecules*, 9(12), 871. <https://doi.org/10.3390/biom9120871>
- Muhtadi., Suhendi, A., Wahyuningtyas, N., & Sutrisna, E. (2014). Uji Praktikum Antihiperurisemia secara In Vivo pada Mencit Putih Jantan Galur Balb-C dari Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Walp) dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Biomedika*. Vol. 6 (1): 17-23. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v6i1.283>
- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Use of Mice as Experimental Animals in Laboratories that Refer to The Principles of Animal Welfare: A Literature Review. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–145. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.10.1.134>
- Niendya, W.A., Muhammad, A.D & Teguh, S. (2011). Rasio Hati Bobot-Tubuh Mencit (*Mus musculus*) setelah Pemberian Diazepam, Formalin, dan Minuman Beralkohol. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* XI(1) Maret 2011.
- Nugroho, A.A. (2013). *Uji Toksisitas Akut Fraksi Etanol Dari Ekstrak Etanol Daun Murbei (Morus australis Poir.) Terhadap Tikus Putih Serta Histopatologi Hati dan Ginjal*. Skripsi. Program studi farmasi. Fakultas farmasi dan sains. Universitas Muhammadiyah Prof. Hamka. Jakarta.
- Nugroho, RA. (2018). *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawarman University Press. Samarinda
- Osna, A. N., Donohue, T. M., Kharbanda, K. K. (2017). Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Research*, 38(2), 147-161.

- Pal, L.C., Kumar, A., Pande, V., & Rao, ChV. (2020) Hepatoprotective Effect of Bioactive Fraction of *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. Park Against Monosodium Glutamate-Induced Liver Toxicity. *Pharmacogn Journal*. 2020; 12(6)Suppl: 1630-1640 DOI: 10.5530/pj.2020.12.223
- Patel, D. K., Kumar, R., & Hemalatha, D. L. (2012). Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, pp. 239-250.
- Pitaloka, E.D.V. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa*[L.] Pers.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) Hiperkolesterolemia. [Skripsi]. Bandarlampung. Universitas Lampung.
- Rahmah, S. M., Dharmono, D., & Prahatama Putra, A. (2021). Kajian Etnobotani Tumbuhan Bungur (*Lagerstroemia Speciosa*) di Kawasan Hutan Bukit Tamiang Kabupaten Tanah Laut sebagai Buku Ilmiah Populer. *BIODIK*, 7(01), 1–12. <https://doi.org/10.22437/bio.v7i01.12048>
- Rasool, M., Sabina, EP., Mahinda, PS. & Gnanaselvi, BC. (2012). Mangiferin, a Natural Polyphenol Protects The Hepatic Damage in Mice Caused by CCl₄ Intoxication. *Comparative Clinical Toxicology*. Vol. 21, No. 5:865-872
- Riyanti, S., & Windyaswari, A. S. (2019). Potensi Daun Bungur (*Lagerstroemia loudonii* Teijsm . & Binn .) Gugur Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Seminar Nasional Farmasi 8 & TOI 56*. Universitas Andalas. 2019:16–19.
- Riyanti, S., Dewi, P. S., Windyaswari, A. S., & Azizah, S. A. N. (2020). Alpha-glucosidase inhibitory activities of bungur (*Lagerstroemia loudonii* Teijsm. & Binn.) leaves and fruits. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 462(1).
- Rochman, J. (2012). Studi Aktivitas Ekstrak Daun Bungur Dan Maitan (*Lunasia Amara Blanco*) Sebagai Antioksidan Serta Inhibitor –Amilase Dan – Glukosidase. (Skripsi). Jember : Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Unversitas Jember. 2012 ; 6-7
- Rohmatin, A. R., Susetyarini E. & Hadi, S. (2015). Kerusakan Sel Hati Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang di Induksi Karbon Tetraklorida (CCl₄) setelah Diberi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.). Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS 2015. Solo

- Roni, A., Suganda, A. G., & Hartati, R. (2018). Isolasi Senyawa 5, 3', 4'Trihidroksi Flavonol dari Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 82-90.
- Sahu, B. D., Kuncha, M., Rachamalla, S. S., & Sistla, R. (2015). *Lagerstroemia speciosa* L. attenuates apoptosis in isoproterenol-induced cardiotoxic mice by inhibiting oxidative stress: possible role of Nrf2/HO-1. *Cardiovascular toxicology*, 15(1), 10–22. <https://doi.org/10.1007/s12012-014-9263-1>
- Sari, D. P., Hadisusanto, S., & Istriyati. (2014). Struktur Histologis Hati, Intestinum, dan Ren Burung Cerek Jawa (*Charadrius javanicus* Chasen 1938) Dengan Kontaminasi DDT di Delta Sungai Progo Yogyakarta. *Biogenesis*, 2(2), 126-131.
- Sijid, S. A., Muthiadin, C., Zulkarnain, Z., & Hidayat, Ar. S. (2020). Pengaruh Pemberian Tuak terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) ICR Jantan. *Jurnal Pendidikan Matematika Dan IPA*, 11(2), 193. <https://doi.org/10.26418/jpmipa.v11i2.36623>
- Sirikhansaeng, P., Tanee, T., Sudmoon, R., & Chaveerach, A. (2017). Major Phytochemical as γ -Sitosterol Disclosing and Toxicity Testing in *Lagerstroemia* Species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7209851>
- Siswanto. (2020). *Epidemiologi Penyakit Hepatitis*. Mulawarman University Press. Samarinda
- Snell, R.S. (2012). *Anatomi klinis berdasarkan sistem*, trans. L Sugiharto, EGC, Jakarta, Hal. 122-127.
- Sumardika, I.W., & Jawi, I.M. (2011). Ekstrak Air Daun Ubijalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus Yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Jurnal Ilmiah Kedokteran* 43 (2): 67-70.
- Suradji dan Mey S. (2017). Perbenihan Tanaman Hutan (*Lagerstroemia speciosa*). *Jurnal Informasi Singkat Benih* no.105. BPTH Sumatera
- Susilawati, Made. (2015). *Bahan ajar perancangan percobaan. Jurusan Matematika Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana 2015* (pp. 11–16). Universitas Udayana.
- The National Institute for Occupational Safety and Health. (2017). Carbon Tetrachlorida. Available from: <https://www.cdc.gov/nioshrtecs/FG4AC4A0.html>. 2017.

- Tiarannisa, D.S. (2023). Gambaran Histologi Duktus Laktiferi dan Vaskularisasi Kelenjar Mammae Mencit Betina (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi 7,12-dimethyl-benz(a)anthracene (DMBA) Setelah Pemberian Ekstrak Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa L.*). [Skripsi]. Bandarlampung. Universitas Lampung.
- Trisia, A., & Augustina, I. (2022). Gambaran Histopatologi Pankreas, Hati ,Ginjal Rattus Norvegicus Dengan Pemberian Ekstrak *Lagerstroemia speciosa L.* Pers. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 7(1), 754–768. <https://doi.org/10.37304/jkupr.v7i1.580>
- Ullah, H., Khan, A., Baig, M. W., Ullah, N., Ahmed, N., Tipu, M. K., Ali, H., & Khan, S. (2020). Poncirin attenuates CCL4-induced liver injury through inhibition of oxidative stress and inflammatory cytokines in mice. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 115. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02906-7>
- Umarudin, Susanti, R., & Yuniastuti, A. (2012). Efektifitas ekstrak tanin seledri terhadap profil lipid tikus putih hiperkolesterolemi. *Unnes Journal of Life Science*, 1(2), 78–85.
- Ungerer T., Sukra, J., Rahardja, L., Djuwita, I., Wirakratakusuma, M.A., Widjajakusuma R, Sumantadinata, K., Suparna dan Majestika. (1985). *Biologi Reproduksi Hewan Percobaan Laboratorium Dalam Rangka Pengadaan dan Pengembangan Sarana Penelitian Serta Pendayagunaan Scanning Electrone Microscope*. Jakarta: Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat, Ditjen. Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI, 1985.
- Utari, K.D., T.R. Saraswati. (2009). Efek Rebusan Daun Tapak Dara pada Dosis dan Frekuensi yang Berbeda terhadap Kerusakan dan Akumulasi Glikogen pada Hati Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Bioma*. 11(1): 1-5.
- Utomo, Y., Hidayat, A., Dafip, M., & Sasi, F. (2012). Studi Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus L.*) Yang Diinduksi Pemanis Buatan. *Jurnal MIPA Unnes*, 35(2), 122–129.
- Wahyuningtyas, P., Sitaswi, A.J., dan Mardiaty, S.M. (2018). *Hepatosomatic Index (HSI) dan Diameter Hepatosit Mencit (Mus musculus L.) setelah Paparan Ekstrak Air Biji Pepaya (Carica papaya L.)*. *Jurnal Biologi*. Volume 7 No 1, Hal. 8-17.
- Waugh, A., Grant, A. (2011). *Dasar-dasar anatomi dan fisiologi*, trans. E Nurrachmah and R Angriani, Salemba Medika, Jakarta, Hal. 192-196.

- Wijaya, S. M. M., Lindiana, & Setiati, N. (2014). Administration of Extract of Mango's Mistletoes on Liver Histology of Codein-Induced Rats. *Journal of Biology & Biology Education*, 6(2), 104–110. Retrieved from <http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/biosaintifika>
- Woolbright, B. L., & Jaeschke, H. (2018). Mechanisms of Inflammatory Liver Injury and Drug-Induced Hepatotoxicity. *Current pharmacology reports*, 4(5), 346–357. <https://doi.org/10.1007/s40495-018-0147-0>
- Woo, K. W., Cha, J. M., Choi, S. U., & Lee, K. R. (2016). A new triterpene glycoside from the stems of *Lagerstroemia indica*. *Archives of Pharmacal Research*. 2016: 39(5):631–635.
- Yenny., Herwana, E., Marwoto, W., dan Setiabudy, R. (2010). Efek *schizandrine* C terhadap kerusakan hati akibat pemberian parasetamol pada tikus. *Universa Medicina*; 24(4): 161-166.
- Yüce, A., Türk, G., Çeribaşı, S., Güvenç, M., Çiftçi, M., Sönmez, M., Özer Kaya, Ş., Çay, M., & Aksakal, M. (2014). Effectiveness of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark oil in the prevention of carbon tetrachloride-induced damages on the male reproductive system. *Andrologia*, 46(3), 263–272. <https://doi.org/10.1111/and.12072>