

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BATANG  
BAKAU MINYAK (*Rhizopora apiculata*) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN  
GALUR *Sprague Dawley* YANG DIINDUKSI  
GENTAMISIN DOSIS TOKSIK**

(Skripsi)

Oleh  
**FANIA ASFI RAHMASARI**  
NPM 2118011112



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BATANG  
BAKAU MINYAK (*Rhizopora apiculata*) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN  
GALUR *Sprague Dawley* YANG DIINDUKSI  
GENTAMISIN DOSIS TOKSIK**

Oleh

**FANIA ASFI RAHMASARI**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Jurusan Pendidikan Dokter  
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizopora apiculata*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague Dawley* YANG DIINDUKSI GENTAMISIN DOSIS TOKSIK**

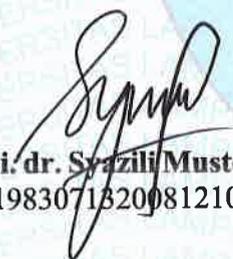
Nama Mahasiswa : Fania Asfi Rahmasari

No. Pokok Mahasiswa : 2118011112

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



  
**Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed**  
NIP 198307132008121003

  
**Ramadhana Komala, S.Gz., M.Si**  
NIP 2130102110003734

2. Dekan Fakultas Kedokteran



**Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**  
NIP 197601202003122001

**MENGESAHKAN**

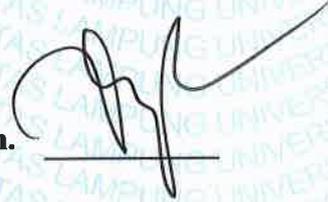
1. Tim Penguji  
Ketua

: **Dr. Si. dr. Syazilli Mustofa, S.Ked., M.Biomed**



Sekretaris

: **Ramadhana Komala, S.Gz., M.Si**



Penguji

Bukan Pembimbing : **dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm.**

2. Dekan Fakultas Kedokteran

**Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**  
NIP.197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **9 Januari 2025**

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fania Asfi Rahmasari

NPM : 2118011112

Program Studi : Pendidikan Kedokteran

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizopora apiculata*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR Sprague Dawley YANG DIINDUKSI GENTAMISIN DOSIS TOKSIK**

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah Skripsi ini merupakan **HASIL KARYA SAYA SENDIRI**. Apabila di kemudian hari terbukti adanya Plagiarisme dan Kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia diberi sanksi.

Bandar Lampung, 9 Januari 2025



Fania Asfi Rahmasari  
2118011112

## RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan anak perempuan bungsu dari 3 bersaudara yang dilahirkan pada hari Sabtu, 7 Juni 2003 di Kota Semarang, Jawa Tengah. Penulis adalah anak dari Bapak Drs. H. Fahrudin dan Ibu Dr. Dra. Hj. Mei Sulistyoningsih, M.Si, serta memiliki dua orang kakak, bernama Baihaqi Fahmeiza Yusuf dan Adinda Meidina Ratnasari.

Tingkat pendidikan penulis diselesaikan di kota yang berbeda-beda. Penulis menyelesaikan Taman Kanak-Kanak di TK Darussalam Khodijah pada tahun 2009, Sekolah Dasar di SD Negeri Gayamsari 02 pada tahun 2015, Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 2 Semarang pada tahun 2018, dan Sekolah Menengah Atas di *boarding school* SMA Pradita Dirgantara, Solo pada tahun 2021.

Pada tahun 2021, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswi penulis aktif mengikuti kegiatan organisasi, kepanitiaan, asisten dosen, dan perlombaan non akademik. Penulis aktif di organisasi seperti BEM FK Unila dan menjabat sebagai Kepala Dinas Bisnis dan Kemitraan (2024-2025), CIMSA FK Unila sebagai *Fundraising and Merchandise Coordinator* (2022-2023) dan *Exchange Facilitator*, SCORA CIMSA Indonesia sebagai *Fundraising and Merchandise Team* (2022-2023), dan Ikatan Senat Mahasiswa Kedokteran Indonesia (ISMKI) Wilayah 1 sebagai *Staff Funding and*

*Partnership* (2021-2022). Penulis juga pernah mengemban amanah sebagai Koordinator Dana Internal Dies Natalis FK Unila ke-20. Penulis aktif sebagai asisten dosen (asdos) Histologi pada tahun 2023. Selama perkuliahan, penulis pernah mengikuti dan menjuarai perlombaan non akademik, seperti Juara II Putri Duta Generasi Berencana Universitas Lampung, Top 10 Duta Generasi Berencana Provinsi Lampung, dan Juara I Lomba *Make Up Challenge*.

*Bismillahirrohmanirrohim.*

Dengan memohon izin dan ridho-Nya, Karya sederhana ini saya persembahkan untuk Ibu, Ayah, keluarga besar, dokter Syazili, bapak Ramadhana, dokter Rasmi, dan semua pihak yang telah memberikan doa serta dukungan hingga saat ini.

وَإِنَّ اللَّهَ لَمَعَ الْمُحْسِنِينَ وَالَّذِينَ جَاهَدُوا فِينَا لَنَهْدِيَنَّهُمْ سُبُلَنَا

"Dan orang-orang yang bersungguh-sungguh untuk (mencari keridaan) Kami, benar-benar akan Kami tunjukkan kepada mereka jalan-jalan Kami. Dan sesungguhnya Allah benar-benar beserta orang-orang yang berbuat baik"

(Q.S. Al-'Ankabut 69)

## SANWACANA

Assalammu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan judul "*Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Bakau Minyak (Rhizopora apiculata) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Gentamisin Dosis Toksik*".

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, bantuan, motivasi, saran, kritik dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT, Tuhan Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan skripsi dengan baik;
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed., selaku pembimbing 1 penulis yang dengan penuh kesabaran meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan masukan, kritik, serta saran selama proses penyusunan skripsi ini. Kedisiplinan, ketegasan, dan ketekunan beliau selama proses membimbing memberikan penulis semangat dan motivasi untuk segera menyelesaikan skripsinya dengan baik;
5. Bapak Ramadhana Komala, S.Gz.,M.Si, selaku pembimbing II, yang dengan penuh kesabaran telah meluangkan waktu untuk membimbing,

memberikan kritik, saran, dan masukan selama penyusunan skripsi ini. Beliau banyak memberikan masukan untuk penulisan skripsi dan pengolahan data kepada penulis. Terima kasih banyak bapak atas ilmu yang telah diberikan;

6. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm., selaku pembahas, yang dengan penuh kesabaran telah meluangkan waktu untuk membimbing, membantu, serta memberikan masukan, saran, dan kritik selama penyusunan skripsi ini. Beliau senantiasa memberikan arahan dengan lembut namun tetap lugas dan jelas. Terima kasih, dokter, atas waktu dan ilmu yang telah diberikan;
7. drh. Sulinawati dan para petugas Balai Veteriner Lampung yang telah membantu dan membimbing penulis selama mengambil sampel penelitian hingga penyusunan skripsi;
8. dr. Novita Carolia, S.Ked., M.Sc., selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberi dukungan selama melaksanakan studi;
9. Para dosen dan seluruh *staff* serta karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yang telah memberikan ilmu, bimbingan, waktu, serta dukungan selama penulis menempuh pendidikan di fakultas ini. Semoga ilmu yang bapak, ibu, dan dokter berikan dapat menjadi amalan jariah;
10. Kepada Ayah dan Ibu tercinta, yang telah menjadi orang tua terbaik untuk penulis dan memberikan kasih sayang, doa, semangat, tempat berkeluh kesah, dan dukungan tanpa batas selama ini. Terima kasih atas setiap nasihat, kesabaran, restu dan keyakinan yang selalu diberikan kepada penulis dalam menjalankan pendidikan ini. Semoga segala doa dan perjuangan Ayah dan Ibu senantiasa mendapatkan balasan terbaik dari Allah SWT;
11. Mbak Adinda Meidina Ratnasari dan Mas Baihaqi Fahmeiza Yusuf yang senantiasa memberikan motivasi, dukungan, dan pertolongan di saat keadaan susah. Terimakasih banyak karena menjadikan penulis sebagai adik yang disayangi;

12. Ridwan Hardiansyah, sebagai teman seperjuangan selama perkuliahan. Terima kasih karena telah memberikan dukungan dan bantuan dalam setiap keadaan;
13. Vania Sani, Maliya Finda, Shallu Afdha, Iffah Salma, dan Anggita Derizky yang telah kebersamai penulis dari awal perkuliahan. Terima kasih sudah memberikan dukungan dan bantuan serta berbagi suka duka selama masa perkuliahan;
14. Teman-teman *Rhizopora apiculata team* (Salwa, Liza, Alif, Yoga, dan Iqbal) yang telah menemani jalannya penelitian skripsi penulis. Terima kasih karena telah saling membantu, berbagi suka duka, dan berbagi ilmu. Semoga kalian selalu dilancarkan urusannya dan sukses;
15. Teman-teman PJ Skripsi (Hafizh Sirojudin, Maharani Kusuma, dan Iqbal Muhammad) yang telah membantu untuk mengatur segala urusan skripsi PSPD 2021 selama ini. Semoga keikhlasan dan bantuan kalian dapat menjadi amal jariyah dan semoga kalian sukses selalu;
16. Dila, Dhea, Alya, sahabat setia penulis sedari SMA yang selalu mendengarkan dan berbagi kisah sejak dulu hingga sekarang. Semoga kita dapat menggapai cita-cita dan sukses bersama;
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu, memberikan pemikiran, dan dukungan dalam pembuatan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis ingin meminta maaf atas kekurangan yang ada dan mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Bandar Lampung, 9 Januari 2025

Penulis

Fania Asfi Rahmasari

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF 96% ETHANOL EXTRACT OF OIL MANGROVE STEM BARK (*Rhizophora apiculata*) ON HISTOLOGICAL FEATURES OF WHITE RAT HEPAR (*Rattus norvegicus*) SPRAGUE DAWLEY MALE INDUCED BY TOXIC DOSE GENTAMICIN

By

FANIA ASFI RAHMASARI

**Background and Objectives:** Gentamicin is an aminoglycoside class antibiotic that is effective against gram-negative bacterial infections but can cause serious side effects such as hepatotoxicity especially at high doses. N-acetyl cysteine (NAC) as a synthetic antioxidant has the potential to overcome Drug Induced Liver Injury (DILI) due to gentamicin with limited evidence of effectiveness. Antioxidant metabolite compounds from *Rhizophora apiculata* stem bark extract are considered to protect liver cells, so this study was conducted to determine the hepatoprotective effect of 96% ethanol extract of *Rhizophora apiculata* stem bark against gentamicin-induced liver damage.

**Methods:** This study used 30 white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague dawley strain which were divided into 6 groups and treated for 8 days. KN (only feed and drink), K+ (gentamicin 80 mg/KgBB and NAC 2x600 mg), K- (only gentamicin 80 mg/KgBB), P1 (gentamicin 80 mg/KgBB and 96% ethanol extract of *Rhizophora apiculata* stem bark 2x14 mg/KgBB), P2 (gentamicin 80 mg/KgBB and 96% ethanol extract of *Rhizophora apiculata* stem bark 2x28 mg/KgBB), P3 (gentamicin 80 mg/KgBB and 96% ethanol extract of *Rhizophora apiculata* stem bark 2x56 mg/KgBB).

**Results:** The average results of Manja Roenigk Scoring are KN: 1.166; K+: 1.340; K-: 2.268; P1: 1.1594; P2: 1.428; and P3: 1.385. P2 and P3 did not have a significant difference with K+.

**Conclusion:** There is a protective effect of 96% ethanol extract of *Rhizophora apiculata* stem bark at doses of 2x14, 2x28, and 2x56 mg/KgBB and there is a better protective effect with an increase from a dose of 2x14 to 2x28/KgBB, but does not occur at a dose of 2x56 mg/KgBB.

Keywords: liver, gentamicin, *Rhizophora apiculata*

## ABSTRAK

### PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizopora apiculata*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague Dawley* YANG DIINDUKSI GENTAMISIN DOSIS TOKSIK

Oleh

FANIA ASFI RAHMASARI

**Latar Belakang dan Tujuan:** Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang efektif melawan infeksi bakteri gram negatif tetapi dapat menyebabkan efek samping serius seperti hepatotoksitas terutama pada dosis tinggi. *N-acetyl Cysteine* (NAC) sebagai antioksidan sintetik berpotensi mengatasi *Drug Induced Liver Injury* (DILI) akibat gentamisin dengan bukti efektivitas yang masih terbatas. Senyawa metabolit antioksidan dari ekstrak kulit batang *Rhizopora apiculata* dinilai yang dapat melindungi sel hati, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek hepatoprotektif dari ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap kerusakan hati akibat gentamisin.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dibagi ke dalam 6 kelompok dan diberi perlakuan selama 8 hari. KN (hanya pakan dan minum), K+ (gentamisin 80 mg/KgBB dan NAC 2x600 mg), K- (hanya gentamisin 80 mg/KgBB), P1 (gentamisin 80 mg/KgBB dan ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* 2x14 mg/KgBB), P2 (gentamisin 80 mg/KgBB dan ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* 2x28 mg/KgBB), P3 (gentamisin 80 mg/KgBB dan ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* 2x56 mg/KgBB).

**Hasil:** Hasil rerata Skoring Manja Roenigk adalah KN:1,166; K+:1,340; K-:2,268; P1:1,1594; P2:1,428; dan P3:1,385. Pada P2 dan P3 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan K+.

**Simpulan:** Terdapat efek protektif dari ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* pada dosis 2x14, 2x28, dan 2x56 mg/KgBB dan terdapat efek protektif yang lebih baik dengan peningkatan dari dosis 2x14 menjadi 2x28/KgBB, tetapi tidak terjadi pada dosis 2x56 mg/KgBB.

Kata kunci: hepar, gentamisin, *Rhizopora apiculata*

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan Umum .....	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat bagi Penulis .....	7
1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain .....	7
1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait.....	7
1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1 Obat Hepatotoksik .....	8
2.1.1 Kategori Obat Hepatotoksik.....	8
2.1.2 Rifampisin .....	11
2.1.3 Paracetamol .....	11
2.2 Gentamisin .....	12
2.2.1 Definisi .....	12
2.2.2 Farmakodinamik dan Farmakokinetik .....	14
2.2.3 Gentamisin sebagai Hepatotoksik .....	15
2.3 Hepar .....	16
2.3.1 Anatomi Hepar .....	16

2.3.2 Fisiologi Hepar .....	18
2.3.3 Histologi Hepar .....	20
2.4 Kerusakan Hepar secara Histologi .....	21
2.4.1 Kerusakan Sel Hepatosit .....	21
2.4.2 Nekrosis.....	22
2.4.3 Degenerasi Sel.....	22
2.5 <i>N-Acetyl Cysteine</i> (NAC) .....	23
2.6 Antioksidan .....	24
2.7 <i>Rhizopora apiculata</i> .....	25
2.7.1 Taksonomi <i>Rhizopora apiculata</i> .....	25
2.7.2 Morfologi <i>Rhizopora apiculata</i> .....	25
2.7.3 Kandungan dan Manfaat <i>Rhizopora apiculata</i> .....	26
2.8 Cara Menguji Hepatoprotektif dari Ekstrak Senyawa Tanaman.....	30
2.8.1 Penilaian Fungsi Hati .....	31
2.8.2 Pengukuran Aktivitas Enzim .....	33
2.8.3 Penemuan Etiologi Penyakit.....	34
2.8.4 Pemeriksaan Histopatologi Hati .....	35
2.9 Gambaran Umum Hewan Coba .....	35
2.10 Kerangka Teori.....	36
2.11 Kerangka Konsep .....	38
2.12 Hipotesis.....	38
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>40</b>
3.1 Jenis dan Desain Penelitian .....	40
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	40
3.2.1 Waktu Penelitian .....	40
3.2.3 Tempat Penelitian .....	40
3.3 Populasi dan Sampel .....	41
3.3.1 Populasi .....	41
3.3.2 Sampel.....	41
3.4 Kelompok Perlakuan .....	43
3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	44
3.5.1 Kriteria Inklusi .....	44

3.5.2 Kriteria Eksklusi.....	44
3.6 Alat dan Bahan .....	44
3.6.1 Alat Penelitian .....	44
3.6.2 Bahan Penelitian.....	45
3.7 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional .....	46
3.7.1 Identifikasi Variabel.....	46
3.7.2 Identifikasi Operasional .....	47
3.8 Prosedur Penelitian.....	48
3.8.1 <i>Ethical Clearance</i> .....	48
3.8.2 Pengadaan Hewan Coba.....	48
3.8.3 Aklimatisasi Hewan Coba.....	48
3.8.4 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang <i>Rhizopora apiculata</i> .....	48
3.8.5 Uji Fitokimia .....	49
3.8.6 Perhitungan Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang <i>Rhizopora apiculata</i> .....	50
3.8.7 Pengenceran Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang <i>Rhizopora apiculata</i> .....	51
3.8.8 Perhitungan Pemberian Dosis Gentamisin.....	52
3.8.9 Perhitungan Pemberian Dosis <i>N-Acetylcysteine</i> (NAC).....	52
3.8.10 Pemberian Gentamisin Dosis Toksik.....	53
3.8.11 Pemberian Dosis Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang <i>Rhizopora apiculata</i> .....	53
3.8.12 Pemberian <i>N-Acetylcysteine</i> (NAC) .....	54
3.8.13 Terminasi Hewan Coba.....	54
3.8.14 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat .....	54
3.8.15 Perhitungan Skoring Histopatologi Sel Hepar .....	57
3.9 Alur Penelitian.....	58
3.10 Analisis Data .....	59
3.10.1 Pengolahan Data.....	59
3.10.2 Analisis Penelitian.....	60
3.11 Etika Penelitian .....	60
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>62</b>
4.1 Hasil .....	62

4.1.1 Hasil Screening Fitokimia .....	62
4.1.2 Gambaran Histopatologi Hepar Tikus.....	65
4.1.3 Analisis Mikroskopis Hepar Tikus.....	71
4.2 Pembahasan .....	74
4.2.1 Pembahasan Skor Kerusakan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus .....	74
4.2.2 Pembahasan Konsentrasi Efektif Ekstrak pada Kelompok Perlakuan .....	78
4.3 Kelebihan Penelitian .....	81
4.4 Keterbatasan Penelitian .....	81
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>83</b>
5.1 Simpulan.....	83
5.2 Saran.....	84
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>85</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>94</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 1.</b> Obat-obatan yang menurut analisis data di LiverTox, berkaitan dengan lebih dari 100 kasus DILI. ....	9
<b>Tabel 2.</b> Obat-obatan dalam kategori B (>12 dan >40 kasus) yang menurut analisis data di LiverTox, berkaitan dengan >30 laporan kasus DILI. ....	10
<b>Tabel 3.</b> Monografi Gentamisin. ....	14
<b>Tabel 4.</b> Kelompok Perlakuan .....	43
<b>Tabel 5.</b> Definisi Operasional Variabel .....	47
<b>Tabel 6.</b> Kriteria Skoring Histopatologi Sel Hepar menggunakan Skor Manja Roenigk .....	58
<b>Tabel 7.</b> Hasil Uji Fitokimia.....	62
<b>Tabel 8.</b> Hasil Rerata Berat Badan Tikus Tiap Kelompok.....	65
<b>Tabel 9.</b> Hasil Rerata Skoring Manja Roenigk.....	71
<b>Tabel 10.</b> Hasil Uji Normalitas <i>Saphiro-Wilk</i> Rerata Skoring .....	72
<b>Tabel 11.</b> Hasil Skoring Kerusakan Histopatologi Sel Hepar .....	73
<b>Tabel 12.</b> Hasil Uji <i>Post-Hoc Games-Howell</i> .....	73

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 1.</b> Struktur Kimia Gentamisin Sulfat .....	12
<b>Gambar 2.</b> Anatomi Hepar Anterior .....	16
<b>Gambar 3.</b> Anatomi Hepar Posterior .....	16
<b>Gambar 4.</b> Gambaran Histologi Hepar .....	20
<b>Gambar 5.</b> Struktur Hati Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) dari setiap perlakuan.	22
<b>Gambar 6.</b> <i>Rhizopora apiculata</i> .....	25
<b>Gambar 7.</b> Struktur Dasar Flavonoid .....	27
<b>Gambar 8.</b> Struktur Tannin.....	28
<b>Gambar 9.</b> Struktur Kimia Saponin .....	29
<b>Gambar 10.</b> <i>Rattus norvegicus</i> galur <i>Sprague dawley</i> .....	35
<b>Gambar 11.</b> Kerangka Teori .....	37
<b>Gambar 12.</b> Kerangka Konsep.....	38
<b>Gambar 13.</b> Alur Penelitian .....	59
<b>Gambar 14.</b> Hasil Uji Flavonoid.....	62
<b>Gambar 15.</b> Hasil Uji Steroid dan Terpenoid .....	63
<b>Gambar 16.</b> Hasil Uji Fenol.....	63
<b>Gambar 17.</b> Hasil Uji Tannin .....	64
<b>Gambar 18.</b> Hasil Uji Saponin.....	64
<b>Gambar 19.</b> Hasil Uji Alkaloid dengan reagen Bouchardat dan Dragendorff.....	65
<b>Gambar 20.</b> Struktur Hati Tikus Putih Kelompok Kontrol Normal (KN).....	66
<b>Gambar 21.</b> Struktur Hati Tikus Putih Kelompok Kontrol Positif (K+).....	67

<b>Gambar 22.</b> Struktur Hati Tikus Putih Kelompok Kontrol Negatif (K-). .....	68
<b>Gambar 23.</b> Struktur Hati Tikus Putih Kelompok Perlakuan 1 (P1).....	69
<b>Gambar 24.</b> Struktur Hati Tikus Putih Kelompok Perlakuan 2 (P2).....	70
<b>Gambar 25.</b> Struktur Hati Tikus Putih Kelompok Perlakuan 3 (P3).....	70
<b>Gambar 26.</b> Grafik perbandingan rerata .....	72

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Antibiotik adalah bahan kimia yang dibuat oleh organisme seperti bakteri dan jamur yang memiliki kemampuan untuk merusak mikroorganisme lain. Bahan-bahan ini biasanya memiliki fungsi bakterisidal (membunuh bakteri) atau bakteriostatik (menghambat perkembangan bakteri atau mikroorganisme lain). Antibiotik tertentu sangat aktif terhadap spesies bakteri tertentu (berspektrum luas). Aminoglikosida, sulfonamid, dan betalaktam adalah beberapa golongan antibiotik. Penggunaan antibiotik, terutama dalam jangka panjang, dapat menyebabkan resistensi bakteri, terutama bakteri gram negatif, dan penurunan fungsi ginjal dan hati (Egawanto, 2019).

Gentamisin merupakan suatu antibiotik golongan aminoglikosida yang memiliki sifat membunuh kuman atau bakterisidal dan efektif untuk mengobati infeksi bakteri gram negatif dengan menghentikan pembentukan protein bakteri. Gentamisin dapat melawan bakteri gram negatif seperti pseudomonas, proteus, dan klebsiella yang memiliki resistensi rendah (Anandita, 2021). Gentamisin yang merupakan zat xenobiotik dapat memberikan efek hepatotoksik, nefrotoksik, dan ototoksik. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Muda *et al.* tahun 2020, terdapat kongesti, perdarahan, dan nekrosis sedang pada sel hati tikus putih yang diberikan gentamisin 100 mg/kgBB selama sepuluh hari secara intraperitoneal. Selain menghambat sistem pertahanan antioksidan hati, gentamisin meningkatkan stres oksidatif dan aktivitas radikal bebas. *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk, dapat merusak membran lipid, protein, dan asam nukleat, menyebabkan toksisitas dan

kerusakan sel hati (Dewi dan Normasari, 2019). Tikus yang terpapar gentamisin dalam dosis berlebihan atau dalam jangka waktu lama akan mengalami perubahan hepatoseluler, sinusoid yang berdilatasi atau memadat, dan mungkin perdarahan (Prasetyo *et al.*, 2019).

Xenobiotik adalah obat-obatan, kimia karsinogen, dan senyawa lainnya yang dimetabolisme di dalam tubuh, dengan hati sebagai organ utama yang melakukannya (Zarwin *et al.*, 2020). Tanpa metabolisme, xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh dalam konsentrasi tinggi, akan menjadi toksik. Metabolisme xenobiotik dibagi menjadi 2 fase. Pertama, tubuh menghidroksilasi senyawa ini oleh enzim mono-oksigenase atau sitokrom oksidase P450 (enzim biokatalis yang memetabolisme sekitar 50% zat xenobiotik). Fase ini menghentikan aktivitas xenobiotik dan membuat senyawa menjadi lebih polar atau larut dalam air. Selanjutnya, pada fase kedua, beberapa enzim tertentu, seperti asam glukuronat, glutathion, sulfat, asetat, atau asam amino tertentu akan mengubah bahan menjadi metabolit polar (Dwininda *et al.*, 2023). Tujuannya adalah untuk meningkatkan kelarutan senyawa xenobiotik dalam air sehingga dapat diekskresikan melalui empedu atau urin (Zarwin *et al.*, 2020).

Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2004, penyakit hepar merupakan penyebab kematian ke delapan belas di dunia, dengan prevalensi 1,3% (Wiyanti *et al.*, 2023). Hepar merupakan salah satu organ tubuh yang sangat penting untuk melakukan berbagai fungsi, termasuk metabolisme glukosa dan lemak, pembuatan protein, seperti albumin, globulin, dan faktor koagulan, ekskresi bilirubin, metabolisme obat dan hormon, dan detoksifikasi (Ridho *et al.*, 2020). Karena terlibat dalam metabolisme dan sekresi xenobiotik, hepar adalah organ yang paling sering mengalami kerusakan akibat gentamisin (Prasetyo *et al.*, 2019). Hepatotoksik atau kerusakan hepar yang diinduksi oleh obat secara terus menerus dapat disebut juga *Drug Induced Liver Injury* (DILI). Tubuh mengalami reaksi DILI karena adanya paparan xenobiotik. DILI dapat

berasal dari efek toksik langsung dari obat itu sendiri, metabolitnya, atau mekanisme kekebalan tubuh yang dimediasi (Anindyaguna *et al.*, 2022).

Pada penelitian sebelumnya, *Drug Induced Liver Injury* (DILI) dapat diatasi menggunakan antioksidan sintetik yang sering digunakan dalam dunia medis, yakni *N-acetyl Cysteine* (NAC). *N-acetyl Cysteine* merupakan supelmen *nutraceutical* yang mudah didapat dan tersedia luas, dengan mekanisme kerjanya ialah sebagai imunoinflamasi, neurotropik, glutamatergic, antioksidan, meningkatkan kadar glutathione intraseluler, dan memodulasi jalur oksidatif (Nuranjumi dan Sukohar, 2019). *N-acetyl Cysteine* bertindak sebagai antioksidan melalui berbagai mekanisme, termasuk pembersihan oksidan, penambahan glutathione, pensinyalan antioksidan, dll (Sahasrabudhe *et al.*, 2023). *Drug Induced Liver Injury* (DILI) memiliki tingkat keparahan yang berbeda dan dapat menyebabkan *Acute Liver Failure* (ALF), yang tidak ada terapi efektifnya. Mengenai pemberian awal NAC dan efek antioksidannya, NAC baru-baru ini digunakan untuk mencegah ALF yang tidak terkait dengan obat asetaminofen (karena virus, autoimun, atau penyebab yang tidak dapat ditentukan atau obat-obatan) (Licata *et al.*, 2022). Pemberian NAC sebagai hepatoprotektif menunjukkan profil keamanan yang memadai. *N-acetyl Cysteine* (NAC) memiliki beberapa manfaat pada pasien ALF yang diinduksi obat non asetaminofen. Namun, karena kurangnya bukti dan keterbatasan yang terdeteksi di berbagai penelitian, manfaatnya harus dikuatkan, serta tindak lanjut yang ketat diperlukan, terutama bila diberikan secara intravena (Cabrera *et al.*, 2022).

Hal ini membuktikan, bahwa antioksidan dapat meredakan efek toksik gentamisin pada hepar. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa berbagai antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tanaman obat dapat digunakan untuk mengurangi stres oksidatif yang diinduksi gentamisin pada hewan percobaan (Dewi dan Normasari, 2019). Senyawa antioksidan dapat digunakan untuk menetralkan, menurunkan, dan menghambat pembentukan radikal bebas sehingga tidak terjadi akumulasi radikal bebas (Arnanda dan Nurwarda,

2019). Namun, tidak semua antioksidan dapat dihasilkan oleh tubuh. Beberapa senyawa antioksidan seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin dan tannin juga terdapat di tumbuhan (Berawi dan Marini, 2018). Salah satunya adalah pada kulit batang tumbuhan bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) (Mustofa dan Ananta, 2022).

Hutan bakau umumnya tumbuh di daerah pesisir kepulauan Indonesia. Habitat yang penuh tekanan ini, yakni bertemunya air laut dan air tawar merupakan tempat tumbuhan bakau tumbuh. Tumbuhan bakau dapat hidup dan beradaptasi pada gradien suhu yang curam dan salinitas yang ekstrim di darat dan laut. Luasnya hutan mangrove di Indonesia diikuti dengan banyaknya jenis mangrove yang terdapat di Indonesia. Jenis-jenis pohon mangrove yang terdapat di Indonesia antara lain *Avicennia sp*, *Sonneratia sp*, *Rhizophora sp*, *Bruguiera sp*, dan *Ceriops sp*. Salah satu tanaman ekosistem hutan mangrove Indonesia adalah *Rhizophora apiculata* (Mustofa dan Namdes, 2024). Berbagai macam kandungan fitokimia unik yang dimiliki oleh tumbuhan bakau membuatnya dapat bertahan hidup di lingkungan yang ekstrim (Vittaya *et al.*, 2022). Dengan demikian, habitat bakau merupakan faktor ekologis yang penting di alam.

Selain pentingnya secara ekologis, berbagai bagian tumbuhan bakau digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional dan diklaim secara efektif dapat mengatasi berbagai macam penyakit pada manusia. Dari 84 spesies bakau, hanya 27 spesies yang ditemukan telah digunakan secara tradisional, tetapi tidak semuanya telah divalidasi secara farmakologis. Aktivitas farmakologis yang paling umum dilaporkan adalah antioksidan, antimikroba, dan antidiabetes (Bibi *et al.*, 2019). Dikutip dari (Mustofa *et al.*, 2022) menyatakan bahwa, aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada kulit batang *Rhizophora apiculata*. Selain itu, kandungan zat aktif antioksidan pada kulit batang *Rhizophora apiculata* dapat membantu melindungi hepatosit tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dari paparan asap rokok (Mustofa dan Anisya, 2020). Penelitian lainnya menunjukkan, bahwa asam fenolat dan

turunan flavonoid yang terkandung pada kulit batang *Rhizopora apiculata* dapat digunakan sebagai obat antibakteri karena tinggi kandungan asam fenolik (Mustofa *et al.*, 2019). Flavonoid memiliki sifat antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antialergi, dan antikanker (Mustofa *et al.*, 2022).

Selain kandungan flavonoid, dihasilkan juga alkaloid dan tannin pada hasil uji fitokimia ekstrak methanol kulit batang *Rhizopora apiculata* (Suhendri *et al.*, 2017). Tannin bermanfaat sebagai astringen yang berfungsi untuk menghentikan terjadinya pendarahan dan mencegah infeksi dengan cara mengukatkan ikatan antar mukosa (Kurniawaty dan Karima, 2021). Tannin bakau sebanding dengan standar sintetis dan tannin komersial lainnya yang dinilai dalam hal daya reduksi yang signifikan, DPPH serta kapasitas penangkap radikal bebas ABTS (Mustofa *et al.*, 2024). Sebagai senyawa utama yang terdapat pada tumbuhan bakau, tannin dapat menangkap radikal bebas sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai stres oksidatif (Mustofa *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, ekstrak kulit batang *Rhizopora apiculata* telah dibuktikan mengandung senyawa antioksidan, sehingga berpotensi sebagai bahan alternatif untuk hepatoprotektif. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan dengan berfokus pada pengaruh ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap gambaran histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi gentamisin dosis toksik.

## 1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah pemberian ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik?
- b. Apakah pemberian *N-acetyl Cysteine* (NAC) memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik?
- c. Bagaimana perbandingan pemberian ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* dengan *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran

histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik?

- d. Apakah terdapat pengaruh peningkatan dosis pada efek hepatoprotektif ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Tujuan umum penelitian ini adalah mengetahui efek hepatoprotektif ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata*.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- a. Mengetahui efek protektif ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- b. Mengetahui efek protektif *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- c. Mengetahui perbandingan pemberian kadar ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* dengan *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- d. Mengetahui adanya pengaruh peningkatan dosis pada pemberian ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat bagi Penulis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dan ide inovasi untuk mengembangkan manfaat antioksidan yang didapat pada ekstrak kulit pohon bakau (*Rhizophora apiculata*).

### **1.4.2 Manfaat bagi Peneliti Lain**

Penelitian ini diharapkan mampu menjadi referensi mengenai efek pemberian ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* dengan *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi gentamisin dosis toksik dan menjadi landasan pertimbangan untuk dilakukan penelitian di kemudian hari.

### **1.4.3 Manfaat bagi Instansi Terkait**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi arsip kepustakaan bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan dapat mendukung visi dan misi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai fakultas kedokteran yang berbasis agromedicine. Pemanfaatan *Rhizophora apiculata* sebagai antioksidan *drug induced liver injury* (DILI) dapat menjadi salah satu aspek farmakologi yang berasal dari tumbuhan.

### **1.4.4 Manfaat bagi Masyarakat**

Penelitian ini diharapkan wawasan dan pengetahuan kepada masyarakat mengenai akibat pemberian gentamisin dosis toksik dan pemanfaatan kulit batang *Rhizophora apiculata* sebagai antioksidan. Selain itu, semoga penelitian ini dapat menjadi ide untuk pengolahan ekstrak kulit bakau (*Rhizophora apiculata*) yang dapat dimanfaatkan sebagai produk jual.

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Obat Hepatotoksik**

Kerusakan hati yang tinggi merusak kemampuan hati untuk mengendalikan tubuh. Obat yang bersifat hepatotoksik dapat menyebabkan penyakit hati akut dan kronis. Hal ini disebut juga dengan *Drug Induced Liver Injury* (DILI). Risiko hepatotoksitas yang diinduksi obat sangat tinggi. Kondisi ini memengaruhi proses metabolisme hati (Robiyanto *et al.*, 2019). Terapi yang diterima pasien sangat kompleks karena kerusakan fungsi hati dan komplikasi lainnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasien dengan gangguan fungsi hati masih menggunakan obat penginduksi kerusakan hati sebesar 35,32% dari 28 jenis obat. Oleh karena itu, sangat penting untuk berhati-hati saat meresepkan obat yang berpotensi memiliki efek hepatotoksik. Ranitidine, asammefenamat, lanzoprazole, cefadroxil, omeprazole, dan acetaminophen adalah beberapa obat yang dapat menyebabkan kerusakan hati (Efmisa *et al.*, 2023; Hawarima *et al.*, 2019).

#### **2.1.1 Kategori Obat Hepatotoksik**

Kategori obat hepatotoksik didasari dari sebuah situs web yang baru didirikan, yakni LiverTox, yang merupakan website dengan informasi terkini, akurat, dan mudah diakses tentang diagnosis, penyebab, frekuensi, dan pola cedera hati yang disebabkan oleh obat resep dan non-resep. Dalam LiverTox, terdapat data mengenai hampir semua obat yang dipasarkan di Amerika Serikat, baik yang dilaporkan menyebabkan DILI maupun yang tidak dilaporkan menyebabkan DILI (Björnsson, 2016).

Pada LiverTox, obat-obatan dibagi secara acak menjadi empat kategori kemungkinan yang berbeda dalam menyebabkan DILI berdasarkan laporan dalam literatur yang dipublikasikan. Kategori A dengan >50 laporan yang dipublikasikan, kategori B dengan >12 dan <50 laporan kasus, kategori C dengan >4 dan <12 laporan kasus, dan kategori D dengan satu hingga tiga kasus. Dalam makalah Hepatologi, obat dikategorikan berdasarkan angka-angka ini dan kategori lain, yakni kategori T, ditambahkan untuk agen yang menyebabkan hepatotoksisitas terutama pada dosis yang lebih tinggi dari dosis terapeutik (Björnsson, 2016).

Tabel 1 menunjukkan indikasi dan/atau kelas obat dari obat kategori A. Obat-obat ini merupakan hepatotoksin yang sangat potensial, dan para dokter harus menyadari hal ini saat mengevaluasi rasio risiko-manfaat terapi obat.

**Tabel 1.** Obat-obatan yang menurut analisis data di LiverTox, berkaitan dengan lebih dari 100 kasus DILI (Björnsson, 2016).

No	Nama Obat	Kelas Obat/ Indikasi
1.	Allopurinol	Gout profilaksis
2.	Amiodarone	Aritmia
3.	Amoxicillin-clavulanate	Antibiotik
4.	Anabolik steroid	<i>Body building</i>
5.	Atrovastatin	<i>Lipid lowering agent</i>
6.	Azathioprine/ 6-Mercaptopurine	Agen immunosupresif
7.	Busulfan	<i>Malignancy</i>
8.	Carbamazepine	Antiepilepsi
9.	Chlorpromazine	Psikosis
10.	Kontrasepsi	Pengontrol kehamilan
11.	Dantrolene	<i>Muscle relaxant</i>
12.	Diclofenac	NSAID
13.	Didanosine	Antimikroba
14.	Disulfiram	<i>Substance abuse agent</i>
15.	Efavirenz	Antimikroba
16.	Erythromycin	Antimikroba
17.	Floxuridine	Antineoplastik
18.	Flucloxacillin	Antimikroba
19.	Flutamide	Antineoplastik
20.	<i>Gold salt</i>	Agen immunosupresif
21.	Halothane	Anestesi
22.	Hydralazine	Antihipertensi
23.	Ibuprofen	NSAID
24.	Infliximab	Agen immunosupresif
25.	Interferon alfa/ peginterferon	Antimikroba
26.	Interferon beta	<i>Multiple sclerosis</i>

27.	Isoniazid	Antituberculosis
28.	Ketoconazole	Antifungal
29.	Methotrexate	Agen immunosupresif
30.	Methyldopa	Antihipertensi
31.	Minocycline	Antibiotik
32.	Nevirapine	Antimikroba
33.	Nimesulide	NSAID
34.	Nitrofurantoin	Antibiotik
35.	Phenytoin	Antiepilepsi
36.	Propyathiuracil	Antitiroid
37.	Quinidine	Aritmia
38.	Pyrazinamide	Antituberkulosis
39.	Rifampisin	Antituberculosis
40.	Simvastatin	<i>Lipid lowering agent</i>
41.	Sulfamethoxazole/ trimethoprim	Antibiotik
42.	Sulfasalazine	Antibiotik
43.	Sulfonamides	Antibiotik
44.	Sulindac	NSAID
45.	Telithromycin	Antibiotik
46.	Thioguanine	Antineoplastik
47.	Ticlopidine	<i>Platelet inhibitor</i>
48.	Valproate	Antiepilepsi

Seperti yang telah disebutkan di atas, sebagian besar obat kategori B memiliki >12 hingga 50 laporan kasus DILI yang telah dipublikasikan memiliki potensi hepatotoksik. Apabila dibandingkan dengan obat kategori A yang sekitar 50% obatnya memiliki hasil yang fatal, DILI lebih jarang terjadi pada kategori B. Pada kategori B, 13/76 (17%) obat dengan >30 kasus yang dilaporkan ditunjukkan pada Tabel 2 (Björnsson, 2016).

**Tabel 2.** Obat-obatan dalam kategori B (>12 dan >40 kasus) yang menurut analisis data di LiverTox, berkaitan dengan >30 laporan kasus DILI (Björnsson, 2016).

No	Nama Obat	Kelas Obat/ Indikasi
1.	Amiodiaquine	Antimikroba
2.	Azithromycin	Antimikroba
3.	Chorzoxazone	<i>Muscle relaxant</i>
4.	Cyproterone	Antineoplastik
5.	Heparin	Antikoagulan
6.	Imatinib	Antineoplastik
7.	Levofloxacin/ ofloxacin	Antimikroba
8.	Oxacillin	Antimikroba
9.	Phenobarbital	Antiepileptik
10.	Stavudine	Antimikroba
11.	Tamoxifen	Antineoplastik
12.	Terbinafine	HIV

Secara keseluruhan, 222/353 (63%) obat dalam LiverTox dengan efek hepatotoksisitas termasuk dalam kategori C dan D. Dibandingkan dengan kategori D, yang hanya satu hingga tiga kasus yang dilaporkan, obat kategori C (<12 dan > 4 laporan kasus) lebih cenderung memiliki laporan *rechallenge* (Björnsson, 2016).

### **2.1.2 Rifampisin**

Rifampisin adalah salah satu obat utama untuk tuberkulosis (TB), dan penggunaan obat ini dapat menyebabkan kerusakan hepar. Indonesia merupakan peringkat kelima negara dengan kasus TB tertinggi (Hawarima *et al.*, 2019). Rifampisin pun masuk ke dalam kategori A pada analisis LiverTox Tabel 1 di atas. Dalam sebuah penelitian yang dilakukan pada hepatosit tikus, efek toksik rifampisin dikaitkan dengan akumulasi lipid dan stres oksidatif. Rifampisin juga dapat meningkatkan kadar fosfatase asam, alkalin fosfatase, laktat dehidrogenase, Alanine aminotransferase (ALT) dan Aspartate aminotransferase (AST), serta trigliserida, kolesterol, dan asam lemak bebas dalam serum). Kerusakan hepar yang disebabkan oleh rifampisin ditunjukkan dengan nekrosis yang tergantung dosis, degenerasi vakuoler, dan infiltrasi sel radang dalam histopatologi (Hawarima *et al.*, 2019).

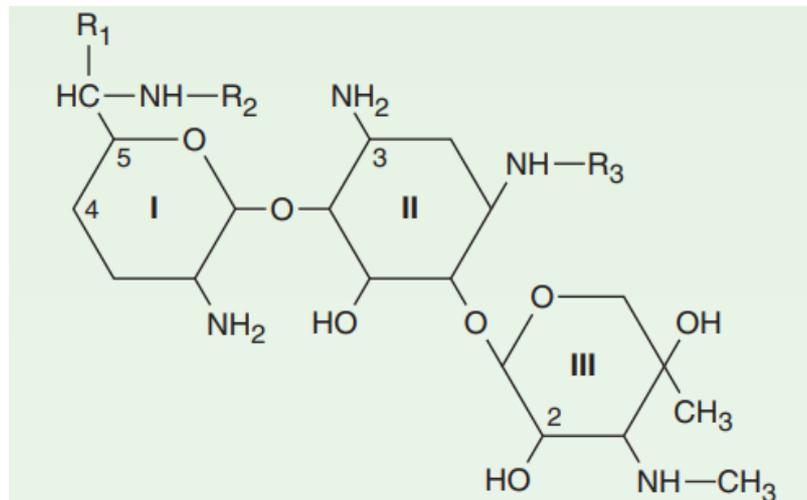
### **2.1.3 Paracetamol**

Parasetamol juga dikenal sebagai N-acetyl-para-aminophenol atau 4-hydroxy acetalinide. Parasetamol dimetabolisme oleh hepar melalui proses oksidasi pada sitokrom P450, yang menghasilkan metabolit yang sangat reaktif, N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI). Senyawa ini dapat terikat pada glutathion hepar. Akibatnya, reaksi ini dapat menyebabkan nekrosis hepar karena perubahan struktur membran sel hepar (Mutia, 2021).

Toksikitas parasetamol akut memiliki empat fase : praklinis, cedera hati, gagal hati, dan pemulihan. Fase satu, juga dikenal sebagai fase praklinis, terjadi segera setelah mengonsumsi parasetamol dengan kadar toksik dan dapat berlangsung selama 12-24 jam. Pada fase ini, seseorang mungkin mengalami gejala non spesifik seperti mual, muntah, diaforesis, atau kelesuan. Pasien baru akan masuk ke fase kedua, yaitu cedera hati, satu hingga dua hari setelah mengonsumsi parasetamol secara berlebihan. Fase ini memiliki hasil pemeriksaan laboratorium klinis yang menunjukkan gejala hepatotoksitas, seperti peningkatan enzim hati, laktat, dan *International Normalized Ratio* (INR). Beberapa kasus cedera hati akan sampai ke fase ketiga atau gagal hati, yang biasanya terjadi pada hari ketiga atau kelima. Gejala yang dapat muncul selama fase gagal hati ini ialah mual dan muntah yang bertambah berat, kelelahan, tubuh kuning, depresi, dan bahkan koma. Terdapat pula peningkatan enzim aminotransferase hati hingga 10.000 IU/L. Nekrosis dan kegagalan hati pada tahap ini dapat berakibat fatal. Setelah normalisasi nilai laboratorium, fase terakhir adalah pemulihan. Sekitar 70% pasien akan sembuh total, sementara 1–2% akan meninggal karena gagal hati (Anindyaguna *et al.*, 2022).

## 2.2 Gentamisin

### 2.2.1 Definisi



**Gambar 1.** Struktur Kimia Gentamisin Sulfat (Vanderah, 2024).

Gentamisin adalah antibiotik golongan aminoglikosida yang diisolasi dari *Micromonospora purpurea*. Antibiotik ini efektif melawan organisme gram-positif dan gram-negatif, serta memiliki banyak sifat yang mirip dengan aminoglikosida lainnya (Vanderah, 2024). Gentamisin memiliki struktur kimia yang dapat dilihat pada Gambar 1. Gentamisin memiliki struktur dasar berupa cincin deoksistreptamin, yang merupakan karakteristik khas dari kelompok aminoglikosida. Cincin deoksistreptamin ini berbentuk sikloheksana yang dilengkapi dengan beberapa gugus hidroksil. Terdapat tiga gula amino yang terikat pada cincin ini, yaitu garosamin, purpurosamin, dan neamin, yang masing-masing terhubung secara glikosidik dengan cincin pusat. Struktur gentamisin juga dilengkapi dengan sejumlah gugus amino yang mendukung kemampuannya untuk berikatan dengan ribosom bakteri dan menghambat sintesis protein. Gentamisin sebenarnya terdiri dari campuran beberapa senyawa yang mirip (C1, C1a, C2, dan lainnya), yang berbeda dalam struktur rantai samping, khususnya dalam jumlah dan posisi gugus metil serta hidroksil. Kombinasi antara inti deoksistreptamin dan berbagai gula amino ini memberikan gentamisin sifat antibiotiknya yang khas (Vanderah, 2024).

Gentamisin memiliki rumus molekul  $C_{21}H_{43}N_5O_7$  dengan berat molekul sekitar 575,5954 g/mol dan ciri-ciri umum yang dapat dilihat pada monografi gentamisin berikut (Tabel 3). Gentamisin umumnya berupa serbuk yang warnanya berkisar dari putih hingga kekuning-kuningan. Gentamisin larut dalam air tetapi tidak larut dalam etanol, aseton, kloroform, eter, dan benzen. Nilai pH dari larutan gentamisin berkisar antara 3,5 hingga 5,5. Gentamisin harus disimpan dalam wadah yang tertutup rapat. Jika gentamisin sulfat digunakan untuk injeksi, pada etiket harus dinyatakan bahwa sediaan tersebut steril atau harus melalui proses pembuatan sediaan injeksi (Kemenkes RI, 2020).

**Tabel 3.** Monografi Gentamisin (Kemenkes RI, 2020).

<b>Monografi Gentamisin</b>	
Rumus molekul	$C_{21}H_{34}N_5O_7$
Berat molekul	575,5954
Pemerian	Serbuk, putih sampai kekuning-kuningan
Kelarutan	Larut dalam air tetapi tidak larut dalam etanol, aseton, kloroform, eter, dan benzen
pH	3,5-5,5
Wadah dan penyimpanan	Dalam wadah tertutup rapat
Penandaan	Jika gentamisin sulfat digunakan untuk penyiapan sediaan injeksi, pada etiket harus dinyatakan steril atau harus melalui proses pembuatan sediaan injeksi

Gentamisin sulfat, dengan konsentrasi 2–10 mcg/mL, menghambat banyak strain stafilokokus, koliform, dan bakteri gram-negatif lainnya secara *in vitro*. Antibiotik ini aktif sendiri, tetapi juga dapat bekerja secara sinergis dengan antibiotik  $\beta$ -laktam melawan *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, dan bakteri gram-negatif lainnya yang mungkin resisten terhadap berbagai antibiotik lainnya. Seperti semua aminoglikosida, gentamisin tidak memiliki aktivitas melawan bakteri anaerob (Vanderah, 2024).

### 2.2.2 Farmakodinamik dan Farmakokinetik

Antibiotik aminoglikosida memiliki farmakokinetik hampir sama dengan semua golongan aminoglikosida yang lain. Pemberian melalui intravena, 15-30 menit setelah pemerian akan didistribusikan ke ekstraseluler dan konsentrasi puncak dalam plasma pada waktu 30-60 menit setelah pemberian. Waktu paruh pemberian aminoglikosida 1,5- 3,5 jam (Vanderah, 2024).

Setelah gentamisin masuk ke dalam darah, obat ini akan menuju ke ginjal untuk difiltrasi. Namun, di ginjal, gentamisin tidak dapat difiltrasi dengan baik karena obat ini merusak sel-sel glomerulus. Gentamisin berikatan dengan ribosom, yang menyebabkan kerusakan sel. Akibat kerusakan tersebut, sel-sel ginjal tidak bisa melakukan filtrasi darah

dengan efektif. Sebagian besar gentamisin akhirnya dikeluarkan melalui urin, sementara sebagian kecil tetap berada di ginjal (Vanderah, 2024).

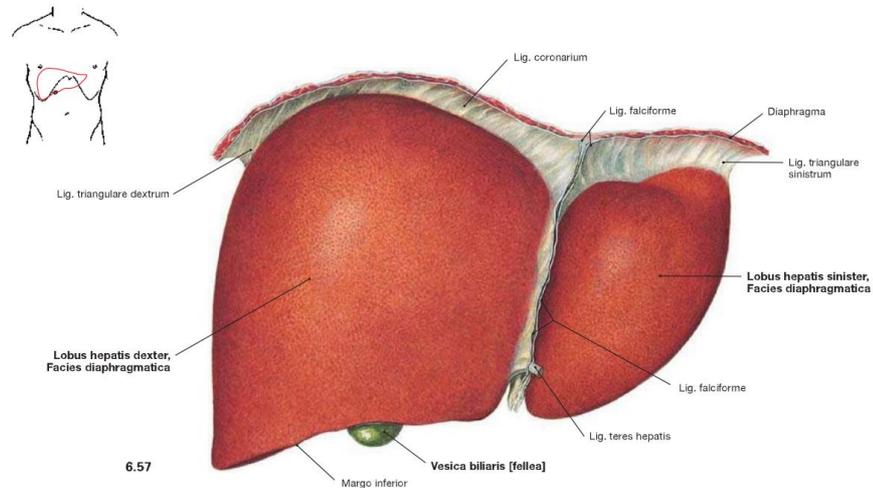
### 2.2.3 Gentamisin sebagai Hepatotoksik

Hati adalah gerbang bagi semua material yang masuk ke tubuh melalui saluran pencernaan dan sangat rentan terhadap gangguan metabolisme, mikroba, dan zat-zat beracun. Penggunaan gentamisin dapat meningkatkan aktivitas radikal bebas dan menurunkan mekanisme penghambatan antioksidan di hati. Kondisi ini menyebabkan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan stres oksidatif seluler. Radikal bebas yang terbentuk menyebabkan stres oksidatif pada sel-sel, memicu kematian sel yang meluas dan menghasilkan radikal bebas lainnya, memperburuk kondisi sebelumnya melalui reaksi berantai yang merugikan (Vanderah, 2024).

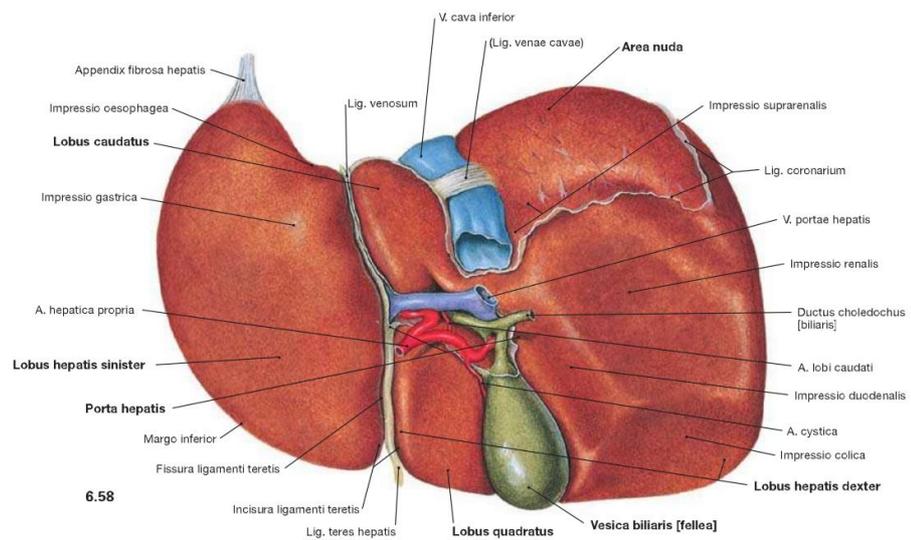
Untuk menghentikan bahaya stres oksidatif, diperlukan antioksidan. Induksi gentamisin dengan dosis 80 mg/kg selama 8 hari pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat menyebabkan reaksi toksik di hati yang ditandai dengan pembengkakan hepatosit, pelebaran sinusoid, dan adanya perdarahan di beberapa area (Vanderah, 2024). Pada penelitian yang dilakukan oleh Dewi dan Normasaripada tahun 2019 pun, menunjukkan bahwa gentamisin 80 mg/kg BB yang diberikan selama 14 hari berturut-turut dapat secara signifikan menyebabkan kerusakan sel hati. Sementara itu, pada penelitian lainnya menunjukkan bahwa gentamisin yang diberikan melalui injeksi intramuskular (IM) selama sepuluh hari berturut-turut dalam dosis 30 mg/kgBB, 40 mg/kgBB, dan 50 mg/kgBB tidak berdampak signifikan pada kadar SGOT dan SGPT darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Arianto, 2018).

## 2.3 Hepar

### 2.3.1 Anatomi Hepar



**Gambar 2.** Anatomi Hepar Anterior (Paulsen *et al.*, 2018)



**Gambar 3.** Anatomi Hepar Posterior (Paulsen *et al.*, 2018)

Hati merupakan kelenjar terbesar (beratnya 1200-1800 gram) dan organ metabolik utama dalam tubuh. Permukaan diafragmatika berdekatan dengan diafragma, sedangkan permukaan viseralis dengan tepi bawah anterior (tepi inferior) mengarah ke organ-organ dalam abdomen. Permukaan diafragmatika menempel erat pada diafragma dan tidak memiliki lapisan peritoneum di area yang disebut area nuda. Hati terbagi menjadi lobus kanan yang lebih besar dan lobus kiri yang lebih kecil (Lobus dexter dan Lobus sinister) yang dipisahkan oleh ligamentum falciforme di sebelah ventral. Ligamentum falciforme berlanjut sebagai

ligamentum koronarium yang kemudian menjadi ligamentum triangulare dextrum dan sinistrum yang menghubungkan diafragma. Ligamentum triangulare sinistrum berlanjut menjadi appendix fibrosa hepatis. Tepi bebas ligamentum falciforme mengandung ligamentum teres hepatis (sisa dari vena umbilicalis prenatal). Kedua ligamentum ini berhubungan dengan dinding abdomen ventral (Paulsen *et al.*, 2018).

Pada permukaan viseralis, fissura ligamentum teretis hepatis berlanjut ke porta hepatis yang menjadi tempat berlabuhnya struktur vaskular ke dalam hati (vena porta hepatis, arteri hepatica propria, duktus hepaticus communis). Di bagian kranial terlihat ligamentum venosum (sisa dari duktus venosus prenatal). Di sisi kanan porta hepatis (hilum hepatis), vena cava inferior terletak pada sulcus venae cavae inferior dan vesica biliaris terletak pada fossa vesicae biliaris di inferior. Ligamentum teres hepatis, ligamentum venosum, vena cava inferior, dan vesica biliaris menggambarkan dua area persegi pada kedua sisi porta hepatis pada sisi inferior lobus hepatis dexter, lobus quadratus di ventral, dan lobus caudatus di dorsal. Hati tidak ditutupi peritoneum di empat area yang lebih besar: area nuda, porta hepatis, bantalan vesica biliaris, dan sulcus venae cavae inferior (Paulsen *et al.*, 2018).

Hati dibagi menjadi delapan segmen fungsional yang disuplai oleh satu cabang trias porta (vena porta hepatis, arteri hepatica propria, duktus hepaticus communis) sehingga secara fungsional independen. Tiap dua segmen disuplai oleh kombinasi tiga vena hepatica yang tersusun vertikal menuju empat segmen hati yang berdekatan. Terdapat kepentingan fungsional bahwa segmen I sampai IV disuplai oleh cabang-cabang trias porta kiri dan dapat mewakili lobus hepatis sinister fungsional. Segmen V sampai VIII disuplai oleh cabang-cabang trias porta kanan dan mewakili lobus hepatis dexter fungsional. Akibatnya, batas antara lobus hepatis dexter dan sinister fungsional terletak di bidang sagital antara

vena cava inferior dan vesica biliaris dan bukan pada ligamentum falciforme hepatis (Paulsen *et al.*, 2018).

### 2.3.2 Fisiologi Hepar

Menurut Jenkins dan Tortora (2016), hati memiliki beberapa fungsi sebagai berikut.

#### 1. Sekresi Empedu

Setiap hari, hepatosit mengeluarkan 800–1000 mL (sekitar 1 liter) empedu, cairan yang berwarna kuning, coklat, atau hijau zaitun. Empedu ini memiliki pH antara 7,6–8,6 dan terdiri terutama dari air, garam empedu, kolesterol, fosfolipid yang disebut lesitin, pigmen empedu, dan beberapa ion (Jenkins dan Tortora, 2016).

#### 2. Metabolisme Karbohidrat

Hati sangat penting dalam menjaga kadar gula darah normal. Ketika kadar gula darah rendah, hati dapat memecah glikogen menjadi glukosa dan melepaskannya ke dalam aliran darah. Hati juga dapat mengubah asam amino tertentu dan asam laktat menjadi glukosa, serta mengubah gula lain, seperti fruktosa dan galaktosa, menjadi glukosa. Ketika kadar gula darah tinggi, seperti setelah makan, hati mengubah glukosa menjadi glikogen dan trigliserida untuk disimpan (Jenkins dan Tortora, 2016).

#### 3. Metabolisme Lemak

Hepatosit menyimpan beberapa trigliserida; memecah asam lemak untuk menghasilkan ATP; mensintesis lipoprotein, yang mengangkut asam lemak, trigliserida, dan kolesterol ke dan dari sel tubuh; mensintesis kolesterol; dan menggunakan kolesterol untuk membuat garam empedu (Jenkins dan Tortora, 2016; Mustofa, 2024).

#### 4. Metabolisme Protein

Hepatosit melakukan deaminasi (menghilangkan gugus amino, NH<sub>2</sub>, dari) asam amino sehingga asam amino dapat digunakan untuk produksi ATP atau diubah menjadi karbohidrat atau lemak. Amonia (NH<sub>3</sub>) yang dihasilkan kemudian diubah menjadi urea yang jauh

kurang beracun, yang diekskresikan dalam urin. Hepatosit juga mensintesis sebagian besar protein plasma, seperti alfa dan beta globulin, albumin, protrombin, dan fibrinogen (Jenkins dan Tortora, 2016).

#### 5. Pemrosesan Obat dan Hormon

Hati dapat mendetoksifikasi zat seperti alkohol dan mengeluarkan obat-obatan seperti penisilin, eritromisin, dan sulfonamida ke dalam empedu. Hati juga dapat mengubah atau mengeluarkan hormon tiroid dan hormon steroid seperti estrogen dan aldosterone (Jenkins dan Tortora, 2016).

#### 6. Ekskresi Bilirubin

Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, bilirubin yang berasal dari heme sel darah merah yang tua diserap oleh hati dari darah dan disekresikan ke dalam empedu. Sebagian besar bilirubin dalam empedu dimetabolisme di usus kecil oleh bakteri dan dieliminasi melalui feses.

#### 7. Sintesis Garam Empedu

Garam empedu digunakan di usus kecil untuk emulsi dan penyerapan lipid (Jenkins dan Tortora, 2016).

#### 8. Penyimpanan

Selain glikogen, hati juga merupakan tempat penyimpanan utama untuk beberapa vitamin (A, B12, D, E, dan K) dan mineral (besi dan tembaga), yang dilepaskan dari hati saat dibutuhkan di bagian lain tubuh (Jenkins dan Tortora, 2016).

#### 9. Fagositosis

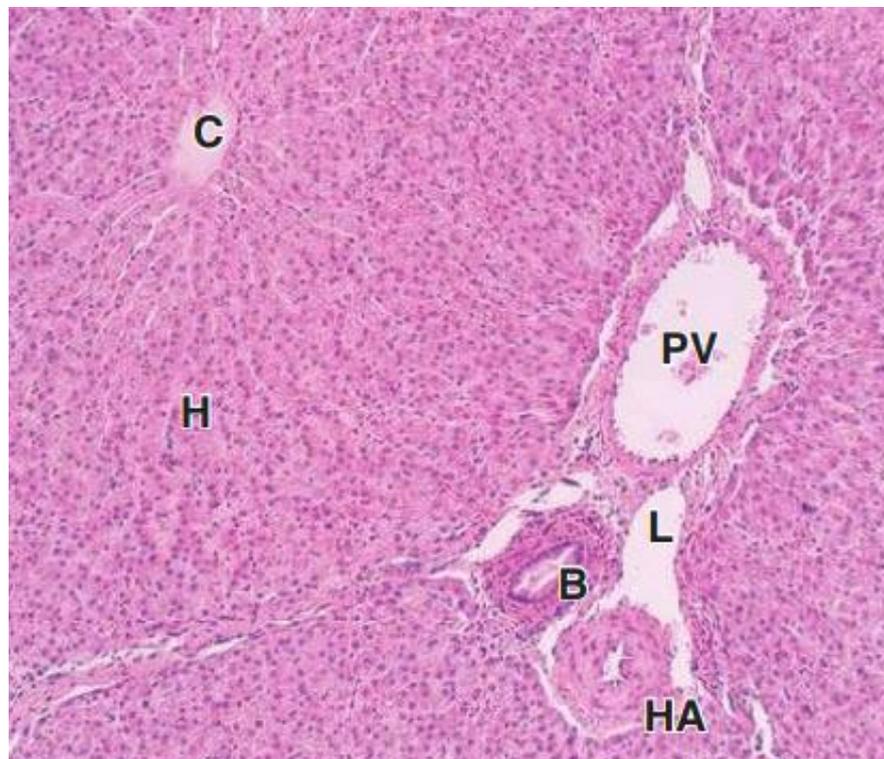
Sel-sel retikuloendotelial stellata (Kupffer) di hati memfagositosis sel darah merah yang tua, sel darah putih, dan beberapa bakteri (Jenkins dan Tortora, 2016).

#### 10. Aktivasi vitamin D

Kulit, hati, dan ginjal berperan dalam mensintesis bentuk aktif vitamin D (Jenkins dan Tortora, 2016).

### 2.3.3 Histologi Hepar

Pada Gambar 4 di bawah ini, susunan histologis dan mikrovaskularisasi unik hati memungkinkan hepatosit untuk melakukan berbagai fungsi metabolik, eksokrin, dan endokrinnya. Hepatosit adalah sel epitel besar berbentuk kuboid atau polihedral, dengan inti besar dan bulat di tengah serta sitoplasma eosinofilik yang kaya akan mitokondria. Sel-sel ini sering kali memiliki dua inti (binukleat) dan sekitar 50% dari mereka adalah poliploid, dengan jumlah kromosom dua hingga delapan kali lipat dari normal (Mescher dan Junqueira, 2016).



**Gambar 4.** Gambaran Histologi Hepar. (Vena sentral (C), lapisan hepatosit (H), limfatik kecil (L), venula portal (PV), arteriol hati (HA), duktus empedu (B)) (Mescher dan Junqueira, 2016).

Parenkim hati tersusun dalam ribuan lobulus hati kecil ( $\sim 0,7 \times 2$  mm) di mana hepatosit membentuk ratusan lempengan tidak beraturan yang tersusun secara radial di sekitar vena sentral kecil. Lempengan hepatosit didukung oleh stroma halus dari serat retikulin. Di tepi setiap lobulus terdapat tiga hingga enam area portal dengan jaringan ikat yang lebih

fibrosa, masing-masing berisi tiga struktur interlobular yang membentuk triad portal yakni cabang vena, cabang arteriol, dan saluran empedu (Mescher dan Junqueira, 2016).

Di antara semua lempengan anastomosis hepatosit dalam satu lobulus hati terdapat sinusoid vaskular penting yang muncul dari cabang perifer vena porta dan arteri hepatic dan berkumpul pada vena sentral lobulus. Darah vena dan arteri bercampur dalam sinusoid hati yang tidak beraturan ini. Sinusoid anastomosis memiliki lapisan tipis yang tidak kontinu dari sel endotel berfenestrasi yang dikelilingi oleh lamina basal yang jarang dan serat retikuler. Ketidakberaturan dan fenestrasi ini memungkinkan plasma untuk mengisi ruang perisinusoidal sempit (atau ruang Disse) dan langsung membasahi banyak mikrovili tidak beraturan yang menonjol dari hepatosit ke dalam ruang ini. Kontak langsung antara hepatosit dan plasma ini memfasilitasi sebagian besar fungsi utama hepatosit yang melibatkan penyerapan dan pelepasan nutrisi, protein, dan potensi racun (Mescher dan Junqueira, 2016).

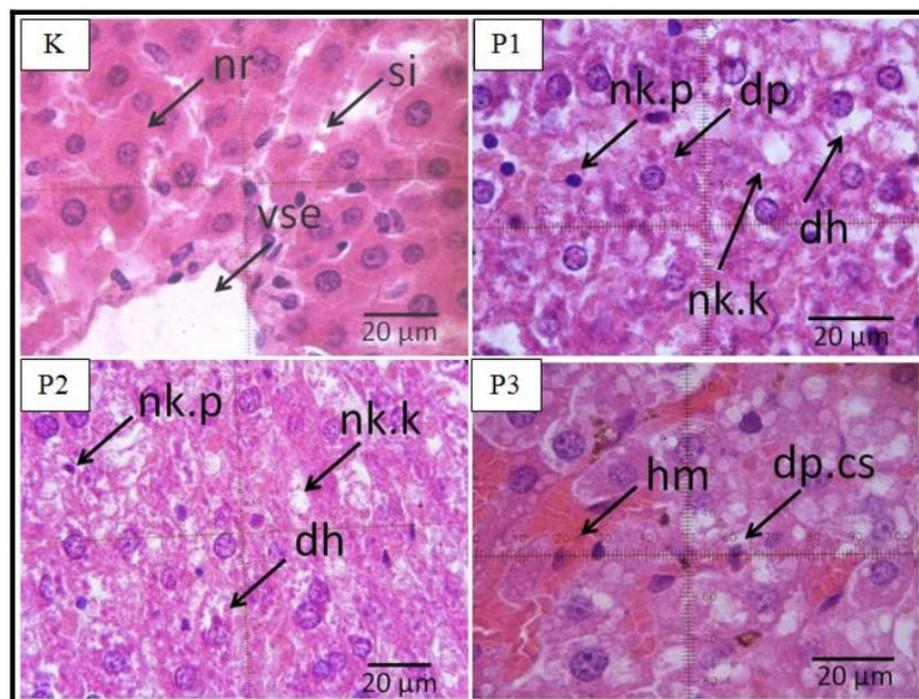
## **2.4 Kerusakan Hepar secara Histologi**

### **2.4.1 Kerusakan Sel Hepatosit**

Jenis zat kimia yang dipaparkan hati, dosis zat kimia yang diterima hati, dan lama paparan zat toksik dapat menyebabkan kerusakan sel-sel hepatosit, seperti nekrosis hepatosit, kolestasis, dan disfungsi hati yang perlahan-lahan. Berbagai agen penyebab, seperti virus, obat-obatan (seperti tetrasiklin, aspirin, dan isoniazid), dan alkohol, dapat mengubah bentuk dan fungsi sel hepatosit hati. Agen ini dapat menyebabkan fibrosis, sirosis hepatis, dan karsinoma, antara lain, gangguan fungsi (Kusuma *et al.*, 2019). Kerusakan secara morfologi, yaitu degenerasi dan akumulasi intraseluler, regenerasi, inflamasi, fibrosis, dan nekrosis, biasanya mengikuti gangguan fungsi (Pramita, 2023).

### 2.4.2 Nekrosis

Kematian sel atau jaringan pada organ hidup disebut nekrosis. Nekrosis disebabkan oleh hilangnya kemampuan membran sel dan kebocoran isi sel (Purohita, 2019). Rangsangan yang dihasilkan oleh lisis sel akan diterima oleh mediator inflamasi, yang kemudian memperbaiki sel yang rusak. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5, kariolisis sel, atau pecahnya isi sel, akan terjadi setelah inti sel yang mati menjadi lebih kecil dan serabut retikuler dan kromatin berlipat-lipat. Sel yang nekrosis tidak dapat pulih kembali. Sel akan mati pada titik akhir nekrosis (Krishna, 2017).



**Gambar 5.** Struktur Hati Tikus Putih (*Rattus novergicus*) dari setiap perlakuan. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Perbesaran 1000x. Ket. (**nr**). Sel hepatosit normal, (**si**). Sinusoid, (**vse**). 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 *et al.*, 2014).

### 2.4.3 Degenerasi Sel

Degenerasi sel adalah kelainan sel yang disebabkan oleh cedera ringan. Cedera ringan yang mengenai mitokondria atau sitoplasma akan

mengganggu proses metabolisme sel dan dapat diperbaiki. Namun, kerusakan ini tidak dapat diperbaiki jika tidak diperbaiki segera (Iqlima, 2020). Ada berbagai jenis degenerasi sel hepatosit, seperti degenerasi albuminosa atau parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan degenerasi melelemak (Purohita, 2019).

Degenerasi parenkimatososa adalah yang paling ringan dan dapat diperbaiki (*reversible*). Degenerasi parenkimatososa ini terjadi karena kegagalan oksidasi, yang menyebabkan air tertimbun di dalam sel dan mengganggu transportasi protein yang diproduksi ribosom. Hal ini menyebabkan pembengkakan sel dan mempengaruhi sitoplasma dengan munculnya granul-granul karena endapan protein (Andini *et al.*, 2022). Degenerasi albuminosa atau degenerasi parenkimatososa, ditunjukkan dengan pembengkakan sitoplasma, keruh sitoplasma, dan sitoplasma bergranula. Sel yang cedera tidak dapat mengeluarkan air, yang menyebabkan tertimbun di dalam sel, menyebabkan sitoplasma membengkak dan terlihat bergranula (Purohita, 2019).

Pada dasarnya, degenerasi hidropik dan degenerasi parenkimatososa sama-sama *reversibel*. Namun, derajat kerusakan degenerasi hidropik lebih tinggi daripada derajat degenerasi parenkimatososa. Dalam degenerasi hidropik, ada vakuola air di dalam sitoplasma yang tidak memiliki glikogen atau lemak. Gangguan transportasi aktif menyebabkan sel tidak dapat memompa ion Na<sup>+</sup>, yang menghasilkan konsentrasi Na<sup>+</sup> keluar dan perubahan morfologis seperti pembengkakan sel. Degenerasi hidropik ditunjukkan dengan sel yang membesar dan membengkak serta sitoplasma yang pucat karena akumulasi ion Na<sup>+</sup> di dalamnya (Andini *et al.*, 2022).

## **2.5 *N*-Acetyl Cysteine (NAC)**

*N*-acetyl Cysteine (NAC) merupakan obat yang kerap digunakan untuk antidotum overdosis paracetamol dan sebagai senyawa mukolitik. Obat ini

memiliki keamanan yang tinggi dan toksisitas yang sangat jarang terjadi, tergantung pada dosis dan pemberiannya. *N-acetyl Cysteine* (NAC) memiliki kandungan antioksidan dan antiinflamasi yang tinggi. Hal ini digunakan sebagai terapi dari beberapa penyakit yang berkaitan dengan peradangan dan stress oksidatif (Tenório *et al.*, 2021).

Kandungan tiol yang terdapat di dalam NAC mampu meningkatkan kapasitas reduksi karena efek antioksidannya sebagai pembersih radikal bebas dan sebagai senyawa sulfhidril (Prasetyo dan Bambang, 2011). Aktivitas NAC sebagai antioksidan disebabkan oleh efeknya dalam memecah protein tiol, sehingga melepas tiol bebas dan protein yang tereduksi (Aldini *et al.*, 2018). Namun, peran utama NAC sebagai antioksidan berasal dari kemampuannya untuk meningkatkan konsentrasi *glutathione* (GSH) intraseluler. *Glutathione* (GSH) adalah antioksidan langsung yang merupakan substrat dari beberapa enzim antioksidan serta tiol nonprotein yang paling melimpah di dalam tubuh. Secara teori, terdapat beberapa jalur kerja NAC di otak. Salah satunya adalah sebagai asetat dari sistein yang mampu melewati sawar darah otak. Sistein adalah komponen pembatas dalam produksi antioksidan *glutathione*. Penggunaan GSH dan sistein secara terpisah dinilai tidak efektif dalam meningkatkan kadar GSH intraseluler, oleh sebab itu NAC menjadi salah satu strategi utama untuk mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh stress oksidatif atau patologi yang berkaitan dengan defisiensi GSH (Tenório *et al.*, 2021).

## 2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul atau senyawa yang cukup stabil dan dapat melindungi sel tubuh terhadap kerusakan oksidatif atau stress oksidatif. Stress oksidatif terjadi apabila senyawa oksidan dan antioksidan tidak seimbang, yakni jika *Reactive Oxygen Species* (ROS) melebihi kapasitas antioksidan. Antioksidan menghambat atau mencegah kerusakan sel akibat stress oksidasi dengan cara mendonorkan elektron atau hidrogennya ke molekul atau senyawa radikal bebas dan menetralkannya. Hal ini mengakibatkan berkurangnya

kemampuan untuk melakukan reaksi rantai dari radikal bebas (Ibroham *et al.*, 2022). Antioksidan berfungsi untuk penghambat atau penunda kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan ialah mencegah radikal bebas untuk merusak molekul vital yang berakibat menghentikan reaksi berantai (Antarti dan Lisnasari, 2018).

## 2.7 *Rhizophora apiculata*

### 2.7.1 Taksonomi *Rhizophora apiculata*

Tumbuhan mangrove, yakni *Rhizophora apiculata* memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnolopsida
Bangsa	: Malpighiales
Suku	: <i>Rhizophoraceae</i>
Marga	: <i>Rhizophora</i>
Jenis	: <i>Rhizophora apiculata</i> Blume (Cronquist, 1981).

### 2.7.2 Morfologi *Rhizophora apiculata*

Berikut merupakan gambaran morfologi *Rhizophora apiculata* pada Gambar 6.



**Gambar 6.** *Rhizophora apiculata* (Nabila *et al.*, 2022).

*Rhizophora apiculata* merupakan tumbuhan mangrove dari famili *Rhizophoraceae* dengan perawakan pohon. Spesies ini dapat tumbuh mencapai 30 m dengan diameter pohon hingga 50 cm. Morfologi dari daunnya ialah, pada permukaan bawah tulang daun berwarna kemerahan dengan tangkai yang pendek serta pangkal daun berbentuk baji. Pada bagian ujung tangkai daun (stipula) terdapat kuncup dengan warna merah atau hijau dan berbentuk memanjang ke atas (Hadi dan Irawati, 2016).

Batang pohon *Rhizophora apiculata* merupakan batang berkayu keras dengan kulit kayu berwarna abu-abu tua. Struktur batang pohon *Rhizophora apiculata* umumnya sama dengan struktur pohon berkayu keras lainnya, yakni terdiri atas epidermis, hypodermis, korteks, endodermis, floem, xylem, dan empulur. Pada kulit batang pohon *Rhizophora apiculata* pun terkandung senyawa flavonoid, tannin, alkaloid, dan saponin. Kandungan ini tak hanya ada pada kulit batang, namun pada hampir seluruh struktur pohon *Rhizophora apiculata* (Azhari *et al.*, 2022).

### **2.7.3 Kandungan dan Manfaat *Rhizophora apiculata***

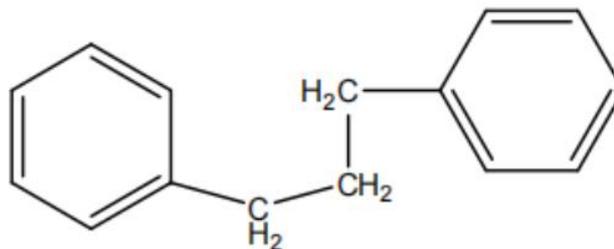
*Rhizophora apiculata* merupakan tanaman mangrove yang banyak tumbuh di daerah pesisir Indonesia karena sifatnya yang toleran terhadap garam. *Rhizophora apiculata* sudah cukup banyak dikenal oleh masyarakat Indonesia dan dipergunakan dalam berbagai macam hal, terutama manfaatnya di bidang ekologis dan biologi. Namun, selain manfaatnya di bidang tersebut, *Rhizophora apiculata* juga bermanfaat dalam bidang medis, yakni penggunaannya sebagai obat tradisional, yakni antidiare, antimuntah, dan obat pelangsing (Wardina *et al.*, 2023). Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa yang terkandung dalam tanaman mangrove *Avicennia alba* diketahui dapat digunakan sebagai pengendali kehamilan atau kontrasepsi. Obat-obatan tersebut berasal dari batang, daun, ataupun akar pohon *Rhizophora apiculata*. Bagian-bagian ini dapat diolah dengan cara dikunyah atau dibakar, dihaluskan, lalu

dioleskan ke bagian yang terasa sakit dan akan diobati (Mustofa dan Paleva, 2023).

Pemanfaatan pohon *Rhizophora apiculata* sebagai alternatif pengobatan didasari oleh kandungannya yang terdiri dari senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tannin (Berawi dan Marini, 2018). Senyawa- senyawa inilah yang membuat pohon *Rhizophora apiculata* berperan sebagai antiinflamasi, antibakteri, anti-tumor, antioksidan, hipoglikemik, dan sebagainya (Bahagia, 2017).

### 1. Flavonoid

Ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dalam menghambat pembentukan radikal bebas. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa antioksidan dan senyawa fenolik seperti flavonoid di dalam kulit batang (Mustofa dan Dewi, 2023).

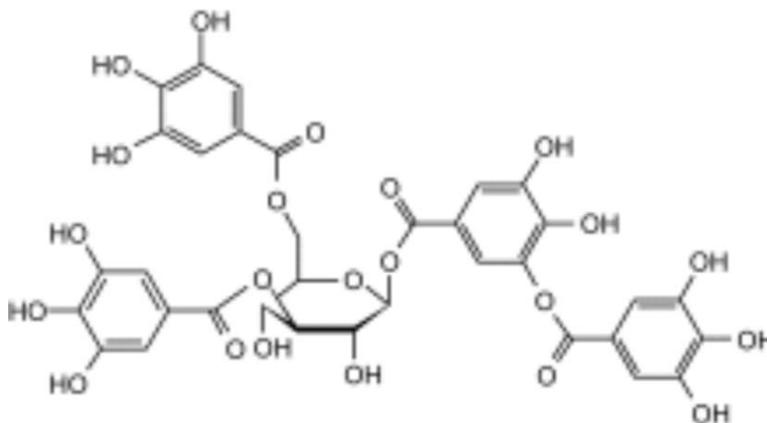


**Gambar 7.** Struktur Dasar Flavonoid (Ningsih *et al.*, 2023).

Flavonoid adalah kelompok bahan kimia yang biasanya ditemukan dalam sayur, buah, batang, dan bunga tanaman. Karena strukturnya yang dapat mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas, flavonoid berfungsi sebagai antioksidan eksogen dengan kemampuan menstabilkan elemen radikal bebas. Flavonoid juga memperkuat enzim antioksidan endogen seperti glutathione S-transferase dan mencegah enzim yang menghasilkan radikal bebas seperti xanthine oxidase, lipoxygenase, dan cyclooxygenase (Caesario *et al.*, 2019).

## 2. Tannin

Tannin merupakan komponen aktif yang memiliki efek antioksidan dan penangkap radikal bebas dalam ekstrak yang sebagian besar dapat ditemukan pada kulit kayunya. Penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari kulit kayu memiliki efek anti tumor, anti diabetes, dan anti mikroba (Mustofa *et al.*, 2020).



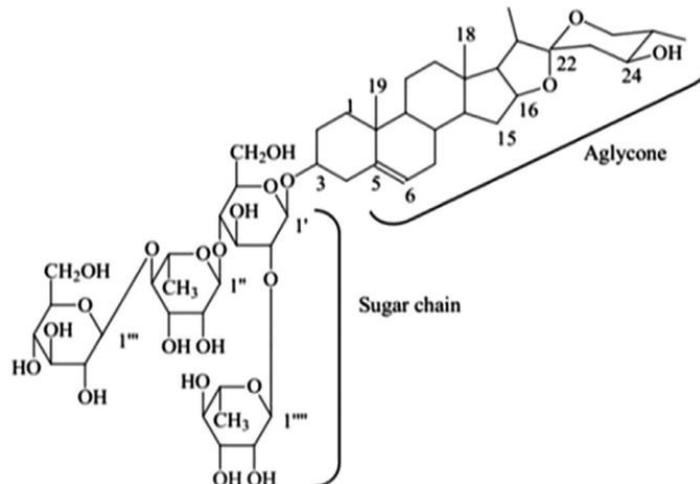
**Gambar 8.** Struktur Tannin (Caesario *et al.*, 2019).

Karena strukturnya yang penuh dengan banyak gugus hidroksil (-OH), tannin memiliki kemampuan menstabilkan radikal bebas dalam jumlah yang lebih besar daripada flavonoid (Caesario *et al.*, 2019). Paparan zat-zat xenobiotik dapat menyebabkan stres oksidatif, yang menyebabkan nekrosis jaringan. Keadaan ini dapat dicegah menggunakan antioksidan (Mustofa dan Fahmi, 2021). Antioksidan yang terkandung dalam ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* memiliki kemampuan untuk menghambat stres oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Hal ini terjadi karena kulit batang *Rhizophora apiculata* mengandung senyawa tannin yang ditemukan dalam jumlah yang tinggi (Mustofa dan Paleva, 2023).

## 3. Saponin

Saponin dapat mempercepat aktivasi hemolitik karena dapat menjadi senyawa antibakteri, antivirus, dan antioksidan (Mustofa, *et al.*, 2024). Selain itu, saponin memiliki potensi untuk meningkatkan

aktivitas antiperoksidasi *in vivo*, mengurangi kadar ALT serum yang tidak normal, dan menghilangkan area lipid di jaringan hati tikus (Mustofa *et al.*, 2021).



**Gambar 9.** Struktur Kimia Saponin (Sharma *et al.*, 2023).

Saponin dan turunannya merupakan senyawa golongan glikosida yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan juga efek terapeutik lain seperti aktivitas hipolipidemik, hipoglikemik, antiasma, antihipertensi, dan antimikroba (Sharma *et al.*, 2023). Aktivitas antioksidan saponin terutama disebabkan oleh kemampuannya untuk menetralkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan meningkatkan aktivitas sistem antioksidan endogen dalam tubuh (Anggraeni *et al.*, 2023; Golmohammadi *et al.*, 2023; Kang *et al.*, 2016). Salah satu mekanisme saponin sebagai antioksidan adalah melalui modulasi penanda stres oksidatif dan peningkatan aktivitas enzim antioksidan. Sebagai contoh, saponin bawang putih terbukti mencegah stres oksidatif yang diinduksi oleh hidrogen peroksida pada C2C12 myoblast dengan menetralkan ROS dan meningkatkan ekspresi heme oxygenase-1 (HO-1) melalui jalur Nrf2/HO-1. Jalur ini melibatkan aktivasi *extracellular signal-regulated kinase* (ERK), yang memfasilitasi translokasi Nrf2 ke inti sel, sebuah faktor transkripsi yang memicu ekspresi enzim antioksidan seperti HO-1 (Kang *et al.*, 2016).

Demikian pula, saponin dari teripang (*Holothuria leucospilota*) menunjukkan aktivitas antioksidan dengan meningkatkan ekspresi protein pro-apoptosis seperti Bax dan menurunkan protein anti-apoptosis seperti Bcl2, sehingga mendorong apoptosis pada sel kanker (Golmohammadi *et al.*, 2023). Selain mekanisme seluler ini, saponin telah terbukti melindungi terhadap kerusakan organ yang disebabkan oleh stres oksidatif. Misalnya, saponin dapat mengurangi hepatotoksisitas dan nefrotoksisitas yang disebabkan oleh siklofosamid dengan meningkatkan kapasitas antioksidan dan mengurangi peroksidasi lipid dan peradangan pada jaringan hati dan ginjal. Secara keseluruhan, saponin bertindak sebagai antioksidan dengan secara langsung membersihkan ROS, memodulasi jalur apoptosis, dan meningkatkan pertahanan antioksidan endogen tubuh, menjadikannya kandidat yang menjanjikan untuk aplikasi terapeutik terhadap kondisi terkait stres oksidatif (Golmohammadi *et al.*, 2023).

## **2.8 Cara Menguji Hepatoprotektif dari Ekstrak Senyawa Tanaman**

Penelitian terkini berfokus pada bahan alami dan atau sintetis yang memiliki sifat hepatoprotektif, salah satunya ialah ekstrak senyawa tanaman. Pengembangan obat farmasi baru membutuhkan banyak proses, mulai dari penemuan efek farmakologis pada model seluler dan hewan hingga akhirnya membuktikan bahwa obat tersebut efektif dan aman untuk digunakan pada manusia. Metode *in vivo* dan *ex vivo* digunakan untuk menilai fungsi hepatoprotektif. Metode ini menjamin bahwa obat dapat mencegah atau menyembuhkan toksisitas hati yang disebabkan oleh hepatotoksin dalam sel, organ, atau hewan percobaan seperti tikus dan mencit (Montemayor *et al.*, 2015).

Pengujian efek hepatoprotektif pada hewan percobaan dapat dilakukan dengan pemeriksaan fungsi hati. Selain untuk menguji efek hepatoprotektif,

pemeriksaan fungsi hati diindikasikan untuk penapisan atau deteksi adanya kelainan atau penyakit hati, membantu menegakkan diagnosis, memperkirakan beratnya penyakit, membantu mencari etiologi penyakit, menilai hasil pengobatan, membantu mengarahkan upaya diagnostik selanjutnya, dan menilai prognosis penyakit dan disfungsi hati (Rosida, 2016).

Menurut Rosida, 2016, uji fungsi hati terdiri dari tiga kategori utama, yakni penilaian fungsi hati, pengukuran aktivitas enzim, dan penemuan etiologi penyakit. Di samping itu, fungsi hati pada hewan coba juga dapat dinilai berdasarkan pemeriksaan histopatologi hati, pemeriksaan biokimia darah seperti SGPT, SGOT, dan bilirubin (Sihombing dan Raflizar, 2010).

### **2.8.1 Penilaian Fungsi Hati**

#### **1. Fungsi Sintesis**

##### **a. Albumin**

Albumin adalah protein terbesar yang dibuat oleh hati. Tugas albumin ialah mengontrol tekanan onkotik dan mengangkut nutrisi, hormon, asam lemak, dan zat sampah dari tubuh. Apabila sintesis sel hati terganggu maka kadar albumin serum akan turun. Kondisi ini disebut sebagai hipoalbumin. Hipoalbumin biasa terjadi pada lesi sel hati yang luas dan kronik (Rosida, 2016).

##### **b. Globulin**

Globulin merupakan komponen protein yang terdiri dari globulin alpha, beta, dan gama yang berfungsi sebagai pengangkut berbagai hormon, lipid, logam, dan antibodi. Rasio albumin : globulin terbalik dapat ditemukan pada sirosis hati yang mengalami kerusakan, penimbunan jaringan ikat, dan nodul pada jaringan hati. Peningkatan globulin terutama gama dapat disebabkan oleh peningkatan sintesis antibodi. Sedangkan penurunan kadar globulin dapat disebabkan oleh penurunan imunitas tubuh, malnutrisi, malabsorpsi, penyakit hati, atau penyakit ginjal (Rosida, 2016).

c. Elektroforesis Protein

Pemeriksaan elektroforesis protein adalah prosedur yang dilakukan untuk mengukur jumlah protein dalam serum. Prosedur ini dilakukan dengan memisahkan fraksi protein menjadi lima fraksi yang berbeda, yakni alpha 1, alpha 2, beta, dan gamma. Hasil fraksi tersebut akan membentuk kurva untuk mengukur jumlah protein (Rosida, 2016).

d. Masa Protrombin (PT)

Masa Protrombin (PT) merupakan pemeriksaan hemostasis, yakni termasuk pula ke dalam pemeriksaan fungsi sintesis hati, karena hampir semua faktor koagulasi disintesis oleh hati, kecuali faktor VII. Faktor I, II, V, VII, IX, dan X dinilai dengan waktu paruh lebih singkat daripada albumin, sehingga pemeriksaan PT lebih sensitif untuk melihat fungsi sintesis hati. Hasil PT akan memanjang pada kerusakan hati yang serius (Rosida, 2016).

e. Cholinesterase (CHE)

Aktivitas enzim cholinesterase dapat digunakan sebagai penilaian fungsi hati. Menurunnya enzim cholinesterase dipengaruhi oleh gangguan fungsi sintesis hati dan penyakit hati kronik, serta kondisi hipoalbumin, karena albumin berfungsi sebagai protein pengangkut cholinesterase (Rosida, 2016),

2. Fungsi Eksresi

a. Bilirubin

Bilirubin dibentuk oleh pemecahan heme yang terjadi saat sel darah merah dihancurkan oleh sel retikuloendotel. Ikterus merupakan salah satu kondisi yang terjadi ketika bilirubin berlebihan di kulit, sklera, dan membran mukosa. Kadar bilirubin yang lebih dari 3 mg/dL biasanya baru dapat menyebabkan ikterus. Ikterus menunjukkan masalah dengan metabolisme bilirubin, fungsi hati yang buruk, penyakit bilier, atau kombinasi dari ketiga masalah tersebut (Rosida, 2016).

b. Asam Empedu

Asam empedu berfungsi membantu pencernaan dengan mengambil lemak dan vitamin yang larut dalam lemak. Pada kerusakan sel hati, hati tidak dapat menyerap asam empedu, sehingga jumlah asam empedu meningkat (Rosida, 2016).

3. Fungsi Detoksifikasi Amonia

Ammonia berasal dari metabolisme protein dan produksi bakteri usus. Ketika terjadi kerusakan sel hati yang mengakibatkan sel hati tidak dapat mengubah ammonia menjadi urea, yang kemudian dikeluarkan oleh ginjal, maka kadar ammonia akan meningkat. Peningkatan kadar ammonia dapat menyebabkan ensefalopati atau koma hepaticum (Rosida, 2016).

## 2.8.2 Pengukuran Aktivitas Enzim

1. Enzim Transaminase

Enzim transaminase terdiri dari enzim alanine transaminase (ALT) atau serum glutamate piruvattransferase (SGPT) dan aspartate transaminase (AST) atau serum glutamate oxaloacetate transferase (SGOT). Meskipun pengukuran aktivitas enzim ini bukan uji fungsi hati, tetapi pengukuran aktivitas enzim ini dapat menunjukkan adanya kelainan sel hati tertentu, sehingga pengukuran aktivitas ALT dan AST tetap diakui sebagai uji fungsi hati (Rosida, 2016).

2. Alkaline Phospatase (ALP) dan Gamma Glutamyltransferase (GGT)

Fungsi kolestasis diukur melalui aktivitas enzim ALP. Enzim ini ditemukan di tulang, hati, dan plasenta. Enzim ALP ditemukan di sel hati di sinusoid dan saluran empedu, di mana penglepasannya difasilitasi oleh garam empedu. Enzim ALP juga ditemukan di osteoblast. Aktivitas ALP yang lebih tinggi dari batas atas nilai rujukan menyebabkan perubahan yang berfokus pada hepatobilier daripada hepatoseluler. Sementara itu, enzim gamma GT ditemukan di ginjal, pankreas, dan sel hati. Pada empedu, enzim ini ditemukan

di sel epitel, dan di retikulum endoplasmik. Ikterus obstruktif, kolangitis, dan kolestasis merupakan salah satu kondisi ketika aktivitas GGT yang meningkat (Rosida, 2016).

### 2.8.3 Penemuan Etiologi Penyakit

#### 1. Penyakit Hati Autoimun

Beberapa antibodi dan protein dapat digunakan untuk menunjukkan etiologi penyakit hati autoimun. Pada hepatitis autoimun kronis dapat ditunjukkan oleh *antinuclear antibody* (ANA), sedangkan *anti-smooth muscle antibodies* (SMA) untuk hepatitis autoimun kronis dan sirosis hati (Rosida, 2016).

#### 2. Keganasan Sel Hati

Parameter alfafetoprotein (AFP) merupakan suatu protein yang disintesis pada masa fetus dan dapat menjadi indikator keganasan sel hati. Kadar AFP tertinggi terjadi pada usia janin antara dua belas hingga enam belas minggu dan menurun segera setelah bayi lahir. Peningkatan AFP yang tinggi dapat menyebabkan keganasan sel hati, tumor embriogenik ovarium, tumor embriogenik testis, hepatoblastoma embriogenik, dan kanker gastrointestinal. Sementara itu, beberapa kondisi seperti hepatitis akut dan kronis, serta kehamilan, dapat menyebabkan peningkatan AFP yang sedikit (Rosida, 2016).

#### 3. Infeksi Virus Hepatitis

Hepatitis adalah peradangan jaringan hati yang dapat disebabkan oleh virus, bakteri, protozoa, autoimun, obat, atau zat toksik. Penanda serologi untuk virus hepatitis sangat penting untuk diagnosis hepatitis virus. Contohnya ialah deteksi hepatitis A menggunakan pemeriksaan serologi Anti-HAV IgM, deteksi hepatitis B dengan pemeriksaan serologi HbsAg, HbcAg, HbeAg, Anti-Hbs, Anti-Hbc, Anti-Hbe, Anti-Hbc IgM, dan HBV-DNA, serta deteksi hepatitis C menggunakan pemeriksaan serologi Anti-HCV (Rosida, 2016).

#### 2.8.4 Pemeriksaan Histopatologi Hati

Salah satu cara untuk melihat kerusakan hati adalah dengan melakukan pemeriksaan preparat histopatologi. Pemeriksaan histopatologi memungkinkan untuk melihat morfologi dan struktur histologi yang berubah, serta tingkat kerusakan yang terjadi pada organ hati (Mudiana *et al.*, 2023). Perubahan histopatologi seperti pembengkakan sel, inflamasi, dan nekrosis dapat digunakan untuk mengidentifikasi kerusakan hepar yang disebabkan oleh komponen xenobiotik (Ersa *et al.*, 2024).

#### 2.9 Gambaran Umum Hewan Coba

Hewan coba atau hewan laboratorium seringkali digunakan untuk mempermudah para peneliti dalam mempelajari dan mengembangkan penelitian. Salah satu hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Umumnya tikus putih (*Rattus norvegicus*) digunakan dalam penelitian biomedik. Galur yang umum digunakan dalam penelitian adalah *Biobreding*, *Zucker*, *Wistar*, *Royal College of Surgeons*, *Long-Evans*, *Shaking Rat Kawasaki*, dan *Sprague-Dawley*. Tikus dewasa berbobot 450–520 gram (jantan) dan 250–300 gram (betina) pada usia 3,5 tahun. (Rosidah *et al.*, 2020).



**Gambar 10.** *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* (Rosidah *et al.*, 2020).

Tikus putih galur *Sprague dawley* seperti pada Gambar 10 banyak digunakan dalam penelitian karena perkembangbiakannya yang cepat, sifatnya yang

tenang, serta penanganannya yang relative mudah (Rosidah *et al.*, 2020). Berikut, merupakan taksonomi dari hewan coba :

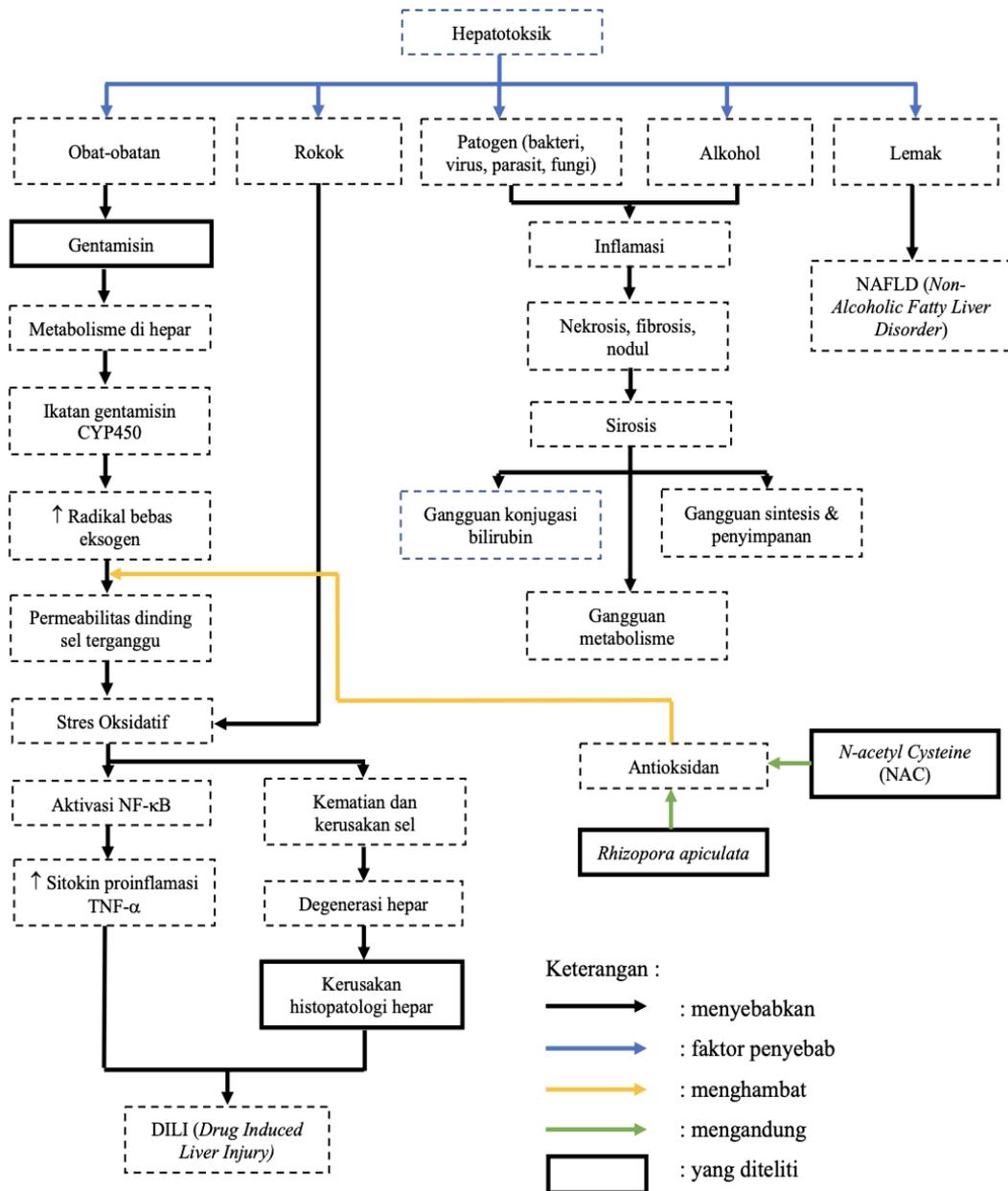
Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Subfamili	: <i>Murinae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>
Galur/stain	: Sprague Dawley (Sastika <i>et al.</i> , 2014).

## 2.10 Kerangka Teori

Hepatotoksisitas dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti lemak, alkohol, patogen (bakteri, virus, parasit, fungi), rokok, dan obat. Salah satu obat antibiotik yang sering digunakan untuk mengobati penyakit infeksi adalah gentamisin. Penggunaan jangka panjang gentamisin dapat menyebabkan kerusakan pada tubuh, terutama pada hepar dan ginjal. Tubuh memetabolisme xenobiotik, atau zat asing, melalui hepar. Injeksi obat akan masuk ke dalam tubuh melalui dinding sel dan masuk ke peredaran darah. Kemudian, akan terjadi ikatan antara gentamisin dan sitokrom P450. Proses ini dibantu oleh CYP450 sebagai enzim yang membantu metabolisme xenobiotik. Ikatan ini menghasilkan peningkatan radikal bebas di hepar.

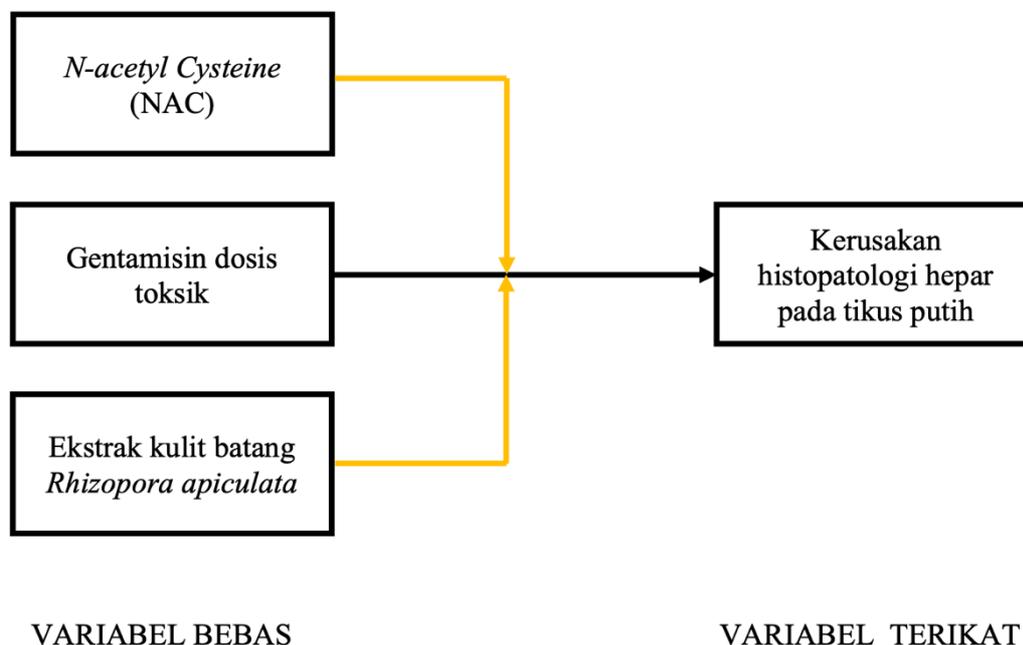
Radikal bebas di dalam hepar ini akan menyerang membran lipid hepatosit, menyebabkan permeabilitas sel tidak seimbang. NF- $\kappa$ B yang ada di dalam sel Kupffer atau makrofag diaktifkan oleh kerusakan sel. Setelah NF- $\kappa$ B diaktifkan, fagositosis terjadi, yang menghasilkan sitokin proinflamasi, radikal bebas, dan MMP. Sitokin proinflamasi yang paling penting adalah TNF- $\alpha$ . Selain itu, dengan menggunakan histopatologi dan pewarnaan Hematoxilyne Eosin (HE), kerusakan jaringan dapat diidentifikasi. Tanaman (*Rhizopora apiculata*) adalah salah satu sumber antioksidan yang mudah didapatkan dan

lebih dikenal oleh masyarakat. Kandungan antioksidan tanaman bakau, seperti tannin, flavonoid, saponin, dan steroid, dapat digunakan sebagai pengganti antioksidan. Alur kerangka teori ini dapat dilihat pada Gambar 11.



**Gambar 11.** Kerangka Teori (Caesario *et al.*, 2019; Anindyaguna *et al.*, 2022; Mustofa dan Paleva, 2023; Tenório *et al.*, 2021; Vanderah, 2024)

## 2.11 Kerangka Konsep



**Gambar 12.** Kerangka Konsep

Pemberian induksi gentamisin dosis toksik dapat mengakibatkan hepatotoksisitas yang salah satunya ditandai oleh perubahan histopatologi hepar. Pemberian *N-Acetylcystein* (NAC) dan ekstrak *Rhizopora apiculata* yang mengandung tannin, flavonoid, dan saponin sebagai agen antioksidan diduga menjadi senyawa hepatoprotektor yang dapat mencegah kerusakan hepar akibat pemberian gentamisin.

## 2.12 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan Pustaka yang telah diuraikan, maka didapatkan hipotesis penelitian sebagai berikut :

- H01 : Tidak terdapat efek protektif ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- Ha1 : Terdapat efek protektif ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih

(*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.

- H02 : Tidak terdapat efek protektif *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- Ha2 : Terdapat efek protektif *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- H03 : Tidak terdapat perbedaan perbandingan antara ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* dengan *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- Ha3 : Terdapat perbedaan perbandingan antara ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* dengan *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- H04 : Tidak terdapat pengaruh peningkatan dosis pada pemberian ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- Ha4 : Terdapat pengaruh peningkatan dosis pada pemberian ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *Post Test Only Control Group Design* dengan penambahan adanya kelompok kontrol. Dalam desain ini terdapat dua kelompok yang akan dipilih secara random. Kelompok yang pertama tidak mendapat perlakuan, dan kelompok yang lainnya mendapatkan perlakuan. Kelompok yang tidak mendapat perlakuan disebut dengan *kelompok kontrol*, sedangkan kelompok yang mendapatkan perlakuan disebut dengan *kelompok eskperimental* (Saputra dan Sujatmiko, 2017). Di akhir penelitian, akan dilakukan perbandingan antara hasil dari kelompok kontrol dan kelompok eskperimental.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

##### **3.2.1 Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan selama 5 bulan, yakni dari bulan Juli hingga bulan November 2024. Dalam penelitian ini, dilakukan pengambilan data selama 9 hari pada masing-masing kelompok, yakni pada bulan September hingga Oktober 2024.

##### **2.8.3 Tempat Penelitian**

- a. Pembuatan ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* dilakukan di Laboratorium Kimia Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

- b. Pembuatan preparat hepar tikus, akan dilakukan Balai Veteriner Lampung.
- c. Tikus dipelihara dan diberikan perlakuan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- d. Pengenceran ekstrak dilakukan di Laboratorium Biokimia, Biologi Molekuler, dan Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

### 3.3 Populasi dan Sampel

#### 3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*. Tikus yang digunakan berasal dari *Animal Vet* di Bogor yang bekerjasama dengan Institut Pertanian Bogor (IPB). Tikus tersebut berusia 2,5-3 bulan dengan berat badan 200-250 gram.

#### 3.3.2 Sampel

Sampel merupakan subset (bagian) dari populasi yang dipilih dengan cara tertentu dan dianggap sebagai perwakilan dari populasinya (Bahagia, 2017). Sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Terdapat 6 kelompok penelitian yang terdiri dari 1 kelompok kontrol normal, 1 kelompok kontrol positif, 1 kelompok kontrol negatif, dan 3 kelompok perlakuan.

Banyaknya sampel digunakan dengan perhitungan acak menggunakan teknik *simple random sampling* dan dihitung menggunakan rumus Frederer.

Rumus Frederer :

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

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

$n$  = jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok

Berdasarkan rumus di atas, didapatkan estimasi besar sampel ialah :

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Dengan demikian terdapat enam kelompok penelitian dengan sampel tiap kelompok yaitu dipilih empat ekor tikus ( $n \geq 4$ ) sehingga penelitian ini menggunakan 24 ekor penelitian sebagai subjek yang diteliti. Sebagai tindakan koreksi atau antisipasi dalam pengambilan sampel, maka dilakukan penghitungan sampel menggunakan rumus *drop out*, yakni :

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

Keterangan :

$N$  = besar sampel koreksi

$n$  = besar sampel awal

$f$  = perkiraan proporsi *drop out* sebanyak 10%

Berdasarkan rumus tersebut, maka dapat diperoleh estimasi besar sampel adalah sebagai berikut :

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

$$N = \frac{4}{1-10\%}$$

$$N = \frac{4}{1-0,1}$$

$$N = \frac{4}{0,9}$$

$$N = 4,44$$

$$N \approx 5$$

Menurut perhitungan rumus *drop out* di atas, maka terdapat sampel pada setiap kelompok adalah lima ekor tikus dengan total kelompok adalah enam kelompok. Sehingga, jumlah tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor.

### 3.4 Kelompok Perlakuan

Penelitian ini memerlukan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi enam kelompok percobaan. Penjelasan mengenai kelompok percobaan tersebut ialah sebagai berikut :

**Tabel 4.** Kelompok Perlakuan

No	Kelompok	Perlakuan
1.	Kelompok Kontrol Normal (KN)	Kelompok tikus yang diberi pakan dan minum normal, tidak diinduksi gentamisin dosis toksik, dan tidak diberi ekstrak etanol 96% kulit batang bakau ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) (Kelompok Kontrol Normal).
2.	Kelompok Kontrol Positif (K+)	Kelompok tikus yang diberi pakan dan minum normal, <i>N-acetyl Cysteine</i> (NAC) sebanyak 4,5 ml <i>peroral</i> (PO), gentamisin 80 mg/KgBB/hari secara <i>intramuscular</i> (IM) selama 8 hari, dan tidak diberi ekstrak etanol 96% kulit batang bakau ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) (Kelompok Kontrol Positif).
3.	Kelompok Kontrol Negatif (K-)	Kelompok tikus yang diberi pakan dan minum normal dan gentamisin 80 mg/KgBB/hari secara <i>intramuscular</i> (IM) selama 8 hari (Kelompok Kontrol Negatif).
4.	Kelompok Perlakuan 1 (P1)	Kelompok tikus yang diberi pakan dan minum normal dan gentamisin 80 mg/KgBB/hari secara <i>intramuscular</i> (IM) selama 8 hari dengan pemberian dosis ekstrak etanol 96% kulit batang bakau ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) sebanyak 2x14 mg/KgBB/hari secara <i>peroral</i> (PO) selama 8 hari (Kelompok Perlakuan 1).
5.	Kelompok Perlakuan 2 (P2)	Kelompok tikus yang diberi pakan dan minum normal dan gentamisin 80 mg/KgBB/hari secara <i>intramuscular</i> (IM) selama 8 hari dengan pemberian dosis ekstrak etanol 96% kulit batang bakau ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) sebanyak 2x28 mg/KgBB/hari secara <i>peroral</i> (PO) selama 8 hari (Kelompok Perlakuan 2).
6.	Kelompok Perlakuan 3 (P3)	Kelompok tikus yang diberi pakan dan minum normal dan gentamisin 80 mg/KgBB/hari secara <i>intramuscular</i> (IM) selama 8 hari dengan pemberian dosis ekstrak etanol 96% kulit batang bakau ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) sebanyak 2x56 mg/KgBB/hari secara <i>peroral</i> (PO) selama 8 hari (Kelompok Perlakuan 3).

### 3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

#### 3.5.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi penelitian ini adalah :

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang sehat (bulu tidak rontok dan kusam, aktivitas aktif)
- b. Berat badan 200-250 gram
- c. Jenis kelamin jantan
- d. Usia 2,5-3 bulan
- e. Tidak mengalami kelainan anatomis.

#### 3.5.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi penelitian ini adalah :

- a. Mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi selama minimal 1 minggu di laboratorium
- b. Mati selama perlakuan
- c. Tikus mengalami sakit
- d. Tikus tidak memiliki berat atau kurang dari 200 gram.

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat Penelitian

##### 3.6.1.1 Alat Pembuatan Ekstrak Kulit Batang *Rhizopora apiculata*

- a. Mesin giling
- b. *Rotatory evaporator*
- c. Labu Erlenmeyer
- d. Kertas saring
- e. Gelas ukur
- f. Neraca analitik
- g. Pipet ukur

### 3.6.1.2 Alat selama Perlakuan

- a. Kandang tikus
- b. Neraca elektronik
- c. Tempat pakan dan minum tikus
- d. Sduit oral 1 cc
- e. Sduit oral 3 cc
- f. Kandang pemeliharaan
- g. Kandang perlakuan
- h. Alat bedah minor

### 3.6.1.3 Alat Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi

- a. Glas objek
- b. *Deck glass*
- c. *Rotarymicrotome*
- d. *Oven*
- e. Meja *Platening*
- f. *Autochnicom processor*
- g. *Water bath*
- h. *Embedding cassette*
- i. *Staining jar*
- j. Meja *Platening*
- k. *Stainink rak*
- l. *Histoplast*
- m. *Paraffin dispenser*
- n. Kertas saring
- o. Mikroskop cahaya berkamera

## 3.6.2 Bahan Penelitian

### 3.6.2.1 Bahan Pembuatan Ekstrak Kulit Batang *Rhizopora apiculata*

- a. Kulit batang *Rhizopora apiculata*
- b. Etanol 96%

### 3.6.2.2 Bahan selama Perlakuan

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley*
- b. Pakan tikus
- c. Air minum tikus
- d. Sekam untuk kandang tikus
- e. Antibiotik gentamisin
- f. *N-acetyl Cysteine* (NAC)

### 3.6.2.3 Bahan Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi

- a. *Phospat Buffer Saline* (PBS)
- b. Blok paraffin
- c. Formaldehid
- d. Alkohol bertingkat (80%, 96%, dan absolut)
- e. NaCl
- f. Hemaktosilin
- g. Eosin
- h. Cairan *xylol*
- i. Balsam kanada

## 3.7 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

### 3.7.1 Identifikasi Variabel

#### 3.7.1.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas yang terdapat pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang telah diinduksi gentamisin dosis toksik.

### 3.7.1.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat yang terdapat pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang telah diinduksi gentamisin dosis toksik.

### 3.7.2 Identifikasi Operasional

Definisi operasional diperlukan untuk memudahkan penjelasan dan pemahaman variable-variabel yang terdapat pada penelitian ini. Definisi operasional penelitian ini adalah sebagai berikut :

**Tabel 5.** Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak etanol 96% kulit batang <i>Rhizopora apiculata</i>	Pemberian ekstrak etanol 96% kulit batang <i>Rhizopora apiculata</i> . Diberikan dengan dosis 2x14 mg; 2x28 mg; dan 2x56 mg. ekstrak diberikan sebanyak 1 kali sehari pada tiap kelompok perlakuan.	Menimbang ekstrak etanol 96% kulit batang <i>Rhizopora apiculata</i> menggunakan gelas dan pipet.	Neraca	Larutan dengan dosis dan berat ekstrak etanol 96% kulit batang <i>Rhizopora apiculata</i> sebagai berikut :  P1 : 2x14 mg/ KgBB P2 : 2x28 mg/KgBB P3 : 2x56 mg/KgBB	Rasio
Histopatologi Hepar	Gambaran histopatologi hepar dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang berdasarkan adanya tidaknya degenerasi parenkimatosia, degenerasi hidropik, dan nekrosis.	Membuat preparat histopatologi hepar, kemudian memeriksa preparat tersebut di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.	Mikroskop cahaya	Gambaran histopatologi sel hepar sesuai dengan hasil rata-rata perhitungan Skoring Manja Roenigk.	Numerik

### **3.8 Prosedur Penelitian**

#### **3.8.1 Ethical Clearance**

Penelitian ini dimulai dengan mengajukan proposal *etichal clearence* ke Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan penelitian dengan menggunakan 30 ekor tikus putih dewasa jantan galur *Sprague dawley*.

#### **3.8.2 Pengadaan Hewan Coba**

Penelitian ini menggunakan hewan coba sebanyak 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan dari galur *Sprague dawley*. Hewan coba ini didapatkan melalui *Animal Vet* di Bogor, yang bekerja sama oleh Institut Pertanian Bogor (IPB).

#### **3.8.3 Aklimatisasi Hewan Coba**

Hewan coba yang akan digunakan adalah tikus putih jantan. Sebelum dilakukan penelitian terhadap tikus, dilakukan adaptasi selama minimal 7 hari di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pada penelitian ini, tikus putih jantan dibagi secara acak dalam 6 kelompok (tempat) yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan. Dilakukan penimbangan dan penandaan pada setiap tikus putih.

Tikus ditempatkan pada kandang, kemudian diberi makan secara *ad libitum* setiap hari. Air minum diberikan setiap harinya pada wadah yang akan diganti setiap hari. Suhu, lingkungan, pencahayaan, dan kelembaban kandang diperhatikan secara seksama untuk memaksimalkan kesehatan hewan coba. Penggantian sekam dilakukan setiap 3 hari sekali untuk menjaga kebersihan kandang.

#### **3.8.4 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang *Rhizopora apiculata***

Tumbuhan *Rhizopora apiculata* didapatkan dari kota Lampung Timur. Bagian tanaman akan dipisahkan sesuai bagian batang, kulit batang, dan

akar. Kulit batang bakau sebanyak 600 gram kemudian dicuci dan dikeringkan melalui pengeringan alami, lalu dipotong-potong, dan dikeringkan kembali menggunakan oven. Potongan kulit bakau dihaluskan ke dalam mesin penggiling hingga menjadi serbuk. Serbuk simpisia kulit batang *Rhizophora apiculata* yang telah dibuat kemudian dicampur dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 liter. Selama 6 jam pertama, larutan sesekali diaduk, kemudian didiamkan Kembali selama 18 jam. Hasil campuran serbuk simpisia dengan pelarut etanol 96% disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan suhu 50°C menggunakan *rotatory evaporator* (Anindyaguna, 2022).

### 3.8.5 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif senyawa dalam ekstrak kulit batang bakau *Rhizophora apiculata*. Senyawa yang akan diuji ialah alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin.

#### 1. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak etanol kulit batang *Rhizophora apiculata* ditimbang sebanyak 1-2 gram dan dicampur dengan 6 mL asam klorida 2 N. Campuran dipanaskan selama dua menit dengan menggunakan penangas air kemudian dipisahkan menjadi 3 tabung. Selanjutnya, tambahkan 5 tetes reagen Dragendorf LP pada tabung pertama, 5 tetes reagen Mayer pada tabung kedua, dan 5 tetes reagen Bouchardat pada tabung ketiga. Sampel dinyatakan mengandung alkaloid apabila ditemukan endapan berwarna kuning oranye hingga merah bata pada tabung dengan reagen Dragendorf LP, endapan berwarna kuning pada tabung dengan reagen Mayer, dan endapan berwarna cokelat atau hitam pada tabung dengan reagen Bouchardat (Dewi *et al.*, 2020).

## 2. Identifikasi Flavonoid

0,2-0,5 gram ekstrak etanol kulit batang *Rhizophora apiculata* ditambah dengan 10 mL akuades dan dipanaskan di atas penangas air sampai terbentuk endapan ekstrak. Setelah terbentuk endapan, campuran tersebut disaring, kemudian hasil penyaringan ditambahkan dengan serbuk magnesium 0,1 gram, lalu diencerkan dalam 10 mL asam klorida pekat sebanyak 3 tetes. Warna yang berubah menjadi merah atau kuning menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron dalam sampel (Dewi *et al.*, 2020).

## 3. Identifikasi Tannin

Ekstrak etanol dari kulit batang tanaman *Rhizophora apiculata* sebanyak 0,5 gram dicampur dengan 5 mL akuades. Campuran dipanaskan hingga mencapai titik didih dan didiamkan selama lima menit. Setelah dididihkan, campuran disaring dan difilter, lalu ditambahkan 3-5 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Perubahan warna menjadi biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa tannin (Dewi *et al.*, 2020).

## 4. Identifikasi Saponin

Ekstrak etanol kulit batang *Rhizophora apiculata* sebanyak 0,5 gram ditimbang dan dicampur dengan 5 mL akuades. Selanjutnya, campuran dipanaskan selama lima menit. Sampel kemudian dikocok selama lima menit. Jika busa terbentuk mencapai ketinggian sekitar satu sentimeter dan tetap stabil setelah dibiarkan diam selama sepuluh menit, ini menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa saponin (Dewi *et al.*, 2020).

### **3.8.6 Perhitungan Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang *Rhizophora apiculata***

Tikus dengan berat badan 200 gram membutuhkan dosis sebagai berikut  
:

$$X = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 14 \text{ mg}$$

$$X = 2,8 \text{ mg}$$

$$X = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 28 \text{ mg}$$

$$X = 5,6 \text{ mg}$$

$$X = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 56 \text{ mg}$$

$$X = 11,2 \text{ mg}$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, maka dosis ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* yang diberikan pada tikus dengan berat badan 200 gram adalah 2,8 mg; 5,6 mg; dan 11,2 mg.

### 3.8.7 Pengenceran Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang *Rhizopora apiculata*

Hasil dari pembuatan ekstrak melalui tahap maserasi dan evaporasi didapatkan ekstrak kental kulit batang *Rhizopora apiculata*. Ekstrak kental ini kemudian dikeringkan untuk dihitung massa jenisnya. Massa jenis yang diperoleh yakni sebesar 0,7 gram/ml. Selanjutnya, 1 ml ekstrak diencerkan dengan 100 ml akuades. Berikut adalah volume yang diberikan pada masing-masing dosis :

$$V1 = \frac{0,0028 \text{ g}}{0,7 \text{ g/ml}} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = 0,4 \text{ ml}$$

$$V2 = \frac{0,0056 \text{ g}}{0,7 \text{ g/ml}} \times 100 \text{ ml}$$

$$V2 = 0,8 \text{ ml}$$

$$V3 = \frac{0,0112 \text{ g}}{0,7 \text{ g/ml}} \times 100 \text{ ml}$$

$$V3 = 1,6 \text{ ml}$$

### 3.8.8 Perhitungan Pemberian Dosis Gentamisin

Rumus perhitungan dosis gentamisin dilakukan dengan mengonversi dari dosis manusia untuk menjadi dosis untuk tikus dengan berat badan tikus rata-rata 200 mg (Nair dan Jacob, 2016) , dengan rumus perhitungan :

$$Dosis\ Akhir = \frac{Dosis\ Standar/kgBB}{1000\ mg} \times rata - rata\ berat\ tikus$$

Dosis gentamisin yang diberikan pada tikus dengan berat badan 250 gram sebagai berikut.

$$X = \frac{80\ mg}{1000\ g} \times 200\ gram$$

$$X = 16\ mg$$

Jadi, dosis gentamisin yang diberikan pada tikus dengan berat 200 gram adalah 16 mg.

Dosis sediaan gentamisin ialah 40 mg/ml , maka dosis pemberian terhadap tikus adalah sebagai berikut :

$$X = \frac{16\ mg}{40\ mg/ml}$$

$$X = 0,4\ ml$$

Dosis gentamicin untuk tikus adalah 0,4 ml/hari, disuntikkan secara *intramuscular* dengan spuit 1 cc.

### 3.8.9 Perhitungan Pemberian Dosis N-Acetylcysteine (NAC)

Dalam penelitian sebelumnya, dosis terapi NAC adalah 2 kali 600 mg untuk dewasa dengan dosis sediaan 600 mg, dan NAC diberikan dalam bentuk *effervescent* (Tenório *et al.*, 2021).

Perhitungan untuk menghitung seberapa banyak cairan NAC yang harus diberikan kepada tikus adalah sebagai berikut.

$$X = \text{dosis obat manusia sekali minum} \times \text{koefisien konversi tikus}$$

$$X = 600\ mg \times 0,018$$

$$X = 10,8\ mg$$

Dosis sediaan 600 mg dilarutkan pada 125 ml air (Tenório *et al.*, 2021). Jadi, dosis *N-Acetylcysteine* yang diberikan pada tikus dengan berat 200 gram adalah 2,25 ml dalam sekali pemberian. Dalam sehari, dilakukan 2x pemberian NAC, sehingga, total NAC yang diberikan ialah 4,5 ml.

### **3.8.10 Pemberian Gentamisin Dosis Toksik**

Pemberian dosis 0,4 ml gentamisin selama 8 hari menggunakan spuit 1 cc untuk memasukkan gentamisin secara *intramuscular* melalui paha tikus. Jalur ini dipilih karena konsentrasi puncak gentamisin dapat dicapai dalam waktu 30 hingga 90 menit (Anandita, 2021).

### **3.8.11 Pemberian Dosis Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang *Rhizophora apiculata***

Pemberian ekstrak dilakukan dengan menggunakan spuit 1 cc, spuit 3 cc, dan sonde lambung dengan dosis 14 mg/KgBB, 28 mg/KgBB, dan 56 mg/KgBB. Pada penelitian yang telah dilakukan dosis *Rhizophora apiculata* yang dipercaya dalam efeknya memiliki efek hepatoprotektif pada tikus putih Jantan yaitu sebesar 27,55 mg/kgBB (Mustofa dan Dewi, 2023) dan memiliki dosis optimal sebesar 56,55 mg/kgBB (Mustofa *et al.*, 2019). Sedangkan dosis yang seharusnya dihindari yaitu sebesar 228 mg/kgBB dikarenakan efek buruknya pada penurunan jumlah spermatozoa pada tikus putih Jantan (Mustofa dan Paleva, 2023). Selain itu, pada dosis 114 mg/KgBB, ekstrak etanol *Rhizophora apiculata* mulai menunjukkan toksisitas (Mustofa *et al.*, 2020). Dengan demikian ekstrak dosis ekstrak *Rhizophora apiculata* yang diberikan pada penelitian ini adalah 2x14 mg/kgBB/hari; 2x28 mg/kgBB/hari; dan 2x56 mg/kgBB/hari. Ekstrak kulit batang bakau diberikan secara peroral, dua kali sehari menggunakan sonde lambung dengan dosis yang sudah ditentukan (Mustofa dan Dewi, 2023).

### 3.8.12 Pemberian N-Acetylcysteine (NAC)

Dosis NAC yang diberikan kepada tikus dalam penelitian ini adalah 2,25 ml sekali pakai dan 4,5 ml setiap hari. NAC diberikan kepada tikus melalui sonde lambung yang dimasukkan secara *peroral* (PO).

### 3.8.13 Terminasi Hewan Coba

Terminasi tikus dilakukan pada hari terakhir setelah dilakukan perlakuan. Tikus dianestesi menggunakan *Ketamin-xylazine* 75-100 mg/Kg + 1-10 mg/Kg secara IP kemudian tikus *diethanasia* berdasarkan *Institutional Animal Care and Use Committee* (IACUC) menggunakan metode *cervical dislocation* dengan cara ibu jari dan jari telunjuk ditempatkan di kedua sisi leher di dasar tengkorak atau batang ditekan ke dasar tengkorak. Tangan lainnya menarik dengan cepat pada pangkal ekor atau kaki belakang sehingga menyebabkan pemisahan anatara tulang leher dan tengkorak. Setelah tikus dipastikan mati, dilakukan laparotomi, hepar tikus diambil untuk sediaan mikroskopis.

### 3.8.14 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat

Pembuatan preparat histopatologi menggunakan metode yang sudah ditetapkan oleh bagian Patologi Anatomi Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Metode Teknik histopatologi yaitu :

a. *Fixation*

- 1) Menggunakan formalin 10% pada spesimen potongan organ hepar yang telah dipotong secara representatif selama tiga jam.
- 2) Mencuci dengan air mengalir sebanyak tiga hingga lima kali.

b. *Trimming*

- 1) Memotong organ menjadi ukuran kurang lebih 3 mm.
- 2) Potongan hepar dimasukkan ke dalam *embedding cassette*.

- c. Dehidrasi
  - 1) Menghilangkan air dengan menempelkan *embedding cassette* pada kertas tisu.
  - 2) Hepar direndam secara berturut-turut selama kurang lebih 2 jam pada alkohol bertingkat 80% dan 96%. Selanjutnya direndam menggunakan alkohol 96%, absolut I, II, III selama satu jam.
- d. *Clearing*

Sisa alkohol dibersihkan dengan *xylol* I, II, dan III selama satu jam.
- e. Impregnasi

Prose impregnasi dilakukan dalam oven bersuhu 65 derajat celcius selama 1 jam menggunakan *paraffin*.
- f. *Embeding*
  - 1) Memanaskan sisa paraffin pada pan beberapa saat di atas api dan usap dengan kapas.
  - 2) Membuat paraffin cair dengan memasukkan *paraffin* ke dalam cangkir logam dan memasukkannya ke dalam oven dengan suhu 58 derajat celcius.
  - 3) Masukkan *paraffin* ke dalam *pan*.
  - 4) Pindah dari *embedding cassette* ke dasar *pan* dengan jarak yang tepat.
  - 5) Masukkan *pan* ke dalam air.
  - 6) Keluarkan *paraffin* yang berisi potongan hepar dari *pan* dan masukkan kembali ke dalam suhu 4 hingga 60 derajat celcius selama beberapa saat.
  - 7) Dengan scalpel hangay, potong paraffin sesuai dengan jaringan yang ada.
  - 8) Letakkan pada balok kayu, ratakan pinggirnya, dan buat ujungnya sedikit runcing.
  - 9) Gunakan mikrotom untuk memblokir paraffin yang telah dipotong.
- g. *Cutting*
  - 1) Potong di tempat yang bersuhu dingin.

- 2) Blok didinginkan dahulu di lemari es sebelum dipotong.
  - 3) Potong kasar, lalu potong halus dengan ketebalan 4-5 mikron menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
  - 4) Setelah memilih lembaran potongan yang tepat, apungkan lembaran di atas air. Kemudian, tekan salah satu sisi lembaran jaringan dengan ujung jarum, dan tarik sisi lain menggunakan kuas runcing.
  - 5) Masukkan lembaran jaringan ke dalam *water bath* dengan suhu 60 derajat celcius selama beberapa detik hingga mengembang sempurna.
  - 6) Ambil lembaran jaringan tersebut dengan *slide* bersih dengan Gerakan menyendok dan letakkan lembaran jaringan dengan *slide* bersih di tengah atau sepertiga atas, jangan sampai ada gelembung udara di bawahnya.
  - 7) Taruh lembaran jaringan dengan *slide* di dalam inkubator dengan suhu 37 derajat selcius selama 24 jam hingga jaringan melekat sempurna.
- h. *Staining* atau pewarnaan dengan Harris Hemaktosilin-Eosin
- Sesudah jaringan melekat sempurna pada *slide*, pilih *slide* yang paling cocok untuk dimasukkan ke dalam zat kimia dengan waktu yang ditunjukkan di bawah ini. Untuk pewarnaan, zat kimia pertama adalah *xylol* I, II, dan III selama lima menit. Zat kimia kedua adalah alkohol absolut I, II, dan III selama lima menit. Zat kimia ketiga adalah akuades selama satu menit. Keempat, potongan organ dimasukkan ke dalam zat warna Harris Hematoksilin selama dua puluh menit. Kemudian, potongan organ hepar dimasukkan ke dalam akuades selama satu menit dengan menggoyangkannya. Lalu, celupkan organ 2-3 kali ke dalam asam alkohol dan bersihkan menggunakan akuades bertingkat setiap satu dan lima belas menit. Kemudian, dalam 2 menit, potongan organ dimasukkan dalam eosin. Masukkan potongan organ dalam alkohol 96% selama dua

menit, alkohol 96%, alkohol absolut III dan IV selama 3 menit, dan *xylol* IV dan V selama 5 menit..

i. *Mounting*

Setelah pewarnaan selesai, letakkan *slide* di atas kertas tisu yang datar, tetes dengan balsam kanada untuk menempel, dan tutup dengan kaca untuk menghindari gelembung udara.

j. Membaca *Slide* dengan *Mikroskop*

Untuk melihat preparat, digunakan prosedur *double blinded*. *Slide* diperiksa dengan perbesaran 400x di bawah mikroskop sinar.

### 3.8.15 Perhitungan Skoring Histopatologi Sel Hepar

Preparat histopatologi hepar diamati dalam lima lapangan pandang, yaitu 4 sudut dan satu tengah menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x pada setiap *slide*. Kemudian, dihitung 20 sel secara acak per lapangan pandang, sehingga total sel hepar ditemukan dalam preparat berjumlah 100. Selanjutnya, model *Skoring Histopathology Manja Roenigk* digunakan untuk menghitung rata-rata dari lima lapangan pandang (Sihotang dan Tambunan, 2023).

Selanjutnya, jumlah sel normal (A), degenerasi parenkimatososa (B), degenerasi hidropik (C), dan nekrosis (D) akan dihitung pada setiap lapang pandang. Untuk mendapatkan skor Manja Roenigk, digunakan rumus :

$$\text{Rata - rata} = \frac{((Ax1) + (Bx2) + (Cx3) + (Dx4))}{(A + B + C + D)}$$

Setelah hasil rata-rata dari suatu kelompok perlakuan diperoleh, nilai rata-rata dari tiap lapang pandang dibagi dengan jumlah sampel dari setiap kelompok perlakuan tersebut. Hasil yang didapatkan: jumlah sel normal meningkat jika nilai rata-rata mendekati 1, jumlah sel degenerasi parenkimatososa meningkat jika nilai rata-rata mendekati 2,

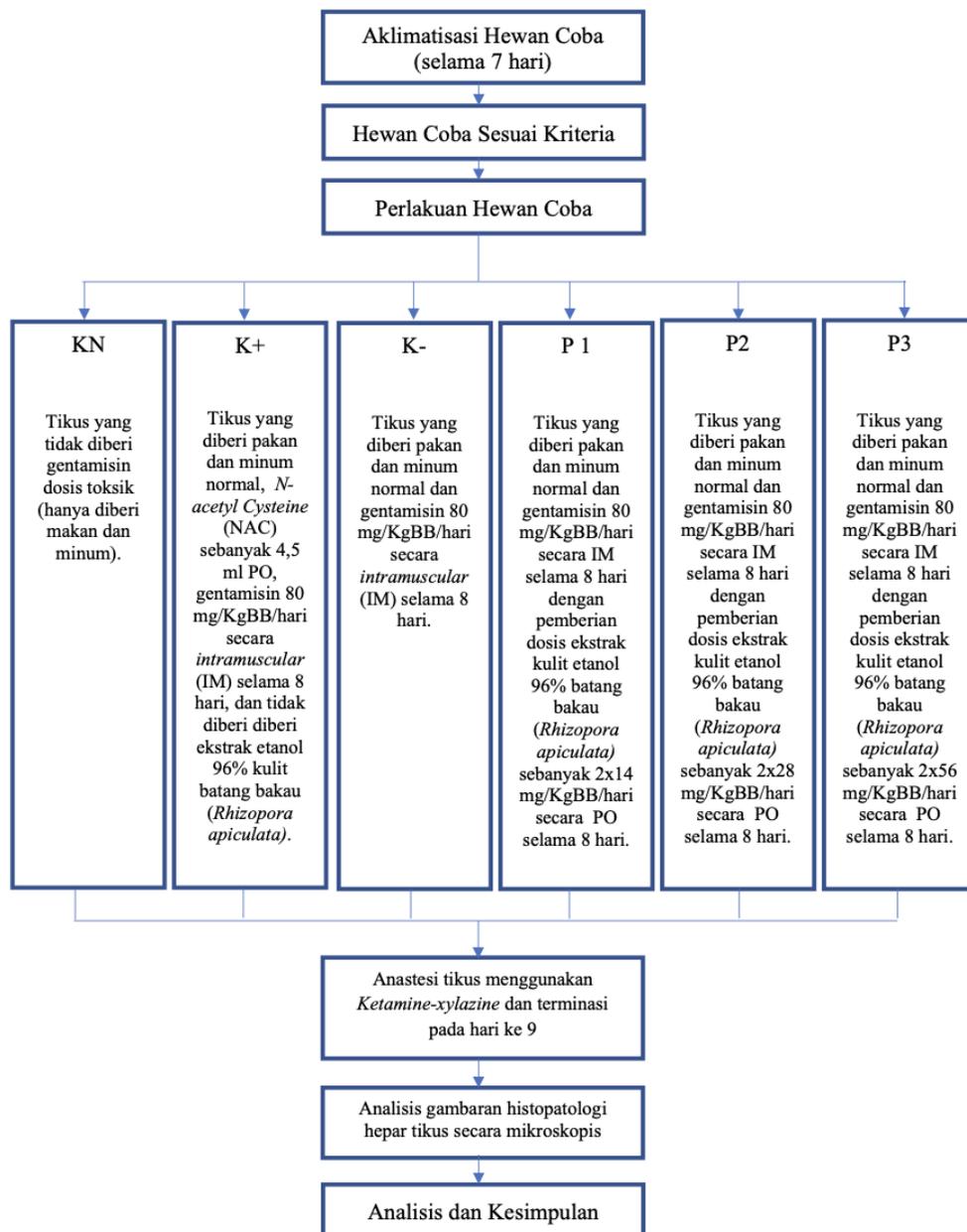
jumlah sel degenerasi hidropik meningkat jika nilai rata-rata mendekati 3, dan jumlah sel degenerasi parenkimatososa meningkat jika nilai rata-rata mendekati 4 (Astitu *et al.*, 2023).

**Tabel 6.** Kriteria Skoring Histopatologi Sel Hepar menggunakan Skor Manja Roenigk (Astitu *et al.*, 2023)

Tingkat Perubahan	Skor
Normal	1
Degenerasi parenkimatososa	2
Degenerasi hidropik	3
Nekrosis	4

### 3.9 Alur Penelitian

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dari galur *Sprague dawley* berusia dua setengah bulan diberi waktu adaptasi selama minimal tujuh hari dengan pakan standar. Setelah masa inkubasi selesai, tikus ditimbang ulang untuk memastikan beratnya 200 hingga 250 gram. Tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok, yakni kelompok kontrol normal (KN) yang hanya diberikan pakan dan minum; kelompok kontrol positif (K+) yang diberi pakan minum normal + gentamisin 80 mg/KgBB/hari + NAC 4,5 ml/hari dan tidak diberi ekstrak *Rhizophora apiculata*; kelompok kontrol negatif (K-) yang diberi pakan minum normal + gentamisin 80 mg/KgBB/hari dan tidak diberi ekstrak *Rhizophora apiculata*; kelompok P1 yang diberi pakan minum normal + gentamisin 80 mg/KgBB/hari + ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizophora apiculata* 14 mg/kgBB/hari; kelompok P2 yang diberi pakan minum normal + gentamisin 80 mg/KgBB/hari + ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizophora apiculata* 28 mg/kgBB/hari; dan kelompok P3 yang diberi pakan minum normal + gentamisin 80 mg/KgBB/hari + ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizophora apiculata* 56 mg/kgBB/hari. Seluruh kelompok perlakuan diinduksi selama 8 hari berturut-turut. Pada hari ke Sembilan, dilakukan anestesi dan terminasi hewan coba, lalu dilakukan prosedur pembuatan preparat histologi hepar tikus dan dilakukan pengamatan serta analisis. Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 13.** Alur Penelitian

### 3.10 Analisis Data

#### 3.10.1 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari pengumpulan data dimasukkan dalam bentuk tabel dan dilakukan proses pengolahan data menggunakan program statistic komputer, yang terdiri dari beberapa langkah, yakni :

1. *Coding*, mengkonversi data yang dikumpulkan menjadi suatu kode untuk keperluan analisis

2. *Entry data*, memasukkan data yang sudah menjadi kode dalam program statistik komputer
3. *Verification*, memasukkan data yang telah ada di program statistik komputer secara visual.
4. *Output*, yakni merupakan hasil yang telah dianalisis dan dapat dicetak.

### 3.10.2 Analisis Penelitian

Analisis statistik untuk mengolah data yang diperoleh menggunakan program komputer *software* berupa SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versi 29 dengan jenis analisis bivariat. Analisis bivariat digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Dilakukan uji normalitas untuk mengetahui apakah data terdistribusi secara normal atau tidak dengan jumlah sampel 30 ( $\leq 50$ ) maka digunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk*. Setelah dilakukan uji normalitas data, didapatkan bahwa data terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Levene* untuk mengetahui apakah variasi persebaran data homogen atau tidak. Hasil yang didapat, ialah persebaran data tidak homogen, sehingga dilakukanlah transformasi data menggunakan Log10, logaritma natural (Ln), akar kuadrat, dan kuadrat hasil. Namun, hasil transformasi tetap didapatkan bahwa persebaran data tidak homogen. Oleh sebab itu, karena persebaran data normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji parametrik alternatif *Welch ANOVA* (Liu, 2015). Selanjutnya, dilakukan uji *Post-Hoc Games-Howell* untuk menentukan perbedaan hasil antar kelompok perlakuan (Agbangba *et al.*, 2024; Indriyani *et al.*, 2020).

### 3.11 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat persetujuan 508/UN26.18/PP.05.02.00/2024 untuk melakukan

penelitian menggunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*. Penelitian ini menerapkan prinsip dasar 3R, yaitu :

- a. *Replacement*, atau keperluan memanfaatkan hewan percobaan telah diperhitungkan secara seksama, sehingga menggantikan adalah upaya menghindari penggunaan hewan di dalam penelitian.
- b. *Reduction*, atau pemanfaatan hewan dalam penelitian dengan jumlah sesedikit mungkin, akan tetapi dapat mencapai hasil yang optimal. Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung menggunakan rumus Frederer.
- c. *Refinement*, atau perlakuan hewan coba secara manusiawi dengan memelihara hewan dengan baik, tidak menyakiti, meminimalisir rasa nyeri dan stress pada perlakuan sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba penelitian.

Prosedur perlakuan dan juga proses pengambilan sampel selama penelitian telah dijelaskan dengan mempertimbangkan tindakan yang manusiawi dan berdasarkan prinsip etika hewan coba.

## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- a. Terdapat efek hepatoprotektif ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* pada seluruh dosis yang diberikan.
- b. Terdapat efek protektif ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* pada dosis 2x14 mg/KgBB/hari, 2x28 mg/KgBB/hari, dan 2x56 mg/KgBB/hari terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- c. Terdapat efek protektif *N-acetyl Cysteine* (NAC) dengan dosis 2x600 mg/KgBB/hari terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik.
- d. Terdapat perbedaan perbandingan antara ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* dengan *N-acetyl Cysteine* (NAC) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik, dengan dosis ekstrak 2x14 mg/KgBB/hari memiliki efek yang kurang baik dibandingkan dengan NAC dan pada dosis 2x28 mg/KgBB/hari dan 2x56 mg/KgBB/hari memiliki efek yang sama baiknya dengan NAC.
- e. Terdapat pengaruh peningkatan dosis pada pemberian ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizopora apiculata* pada dosis 2x14 mg/KgBB/hari ke dosis 2x28 mg/KgBB/hari dan tidak terdapat pengaruh peningkatan dosis menjadi 2x56 mg/KgBB/hari terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang sudah diinduksi gentamisin dosis toksik,

sehingga dosis yang paling baik sebagai hepatoprotektif didapatkan pada dosis 2x28 mg/KgBB/hari.

## 5.2 Saran

Berikut adalah saran yang dapat peneliti sampaikan untuk penelitian selanjutnya :

- a. Diharapkan penelitian berikutnya dapat melakukan uji efek toksisitas ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* yang diberikan dalam dosis berulang dalam satu hari.
- b. Diharapkan penelitian berikutnya dapat melakukan uji perbandingan efek toksisitas ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* yang diberikan dalam *single dose* dan dosis berulang dalam satu hari.
- c. Diharapkan penelitian berikutnya dapat melakukan uji klinis terhadap ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* sebagai hepatoprotektif.
- d. Diharapkan penelitian berikutnya dapat melakukan uji fitokimia secara kuantitatif pada ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata*, agar tampak jelas senyawa aktif mana yang paling berperan pada ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* sebagai efek hepatoprotektif.
- e. Diharapkan lanjutan dari penelitian ini dapat menghasilkan suatu produk dari ekstrak etanol 96% kulit batang *Rhizophora apiculata* sehingga memiliki nilai jual yang lebih baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agbangba C E, Aide E S, Honfo H, dan Kakai R G. 2024. On the use of post-hoc tests in environmental and biological sciences: A critical review. *Heliyon*. 10 (3): 1-12 [Online Journal] [diunduh 20 November 2024]. Tersedia dari: [10.1016/j.heliyon.2024.e25131](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25131).
- Aldini G, Altomare A, Baron G, Vistoli G, Carini M, Borsani L dan Sergio F. 2018. N-acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. [Online Journal] [diunduh 3 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29742938/>.
- Anandita N G T. 2021. Pengaruh pemberian gentamisin pada dosis terapi terhadap ginjal tikus putih (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Health Sains*. 2(10):1345–1350 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.46799/jhs.v2i10.303>.
- Andini M, Sani F, dan Rahman H. 2022. Uji hepatoprotektor ekstrak etanol daun ekor naga (*Epipremnum pinnatum (L.) Engl.*) terhadap mencit putih jantan yang diinduksi paracetamol. *Indonesian Journal of Pharma Science*. 4(1):104-112.
- Anindyaguna A, Mustofa S, Anggraini D I, dan Oktarlina R Z. 2022. *Drug-induced liver injury* akibat penyalahgunaan parasetamol. *Medula*. 12(3):500–507.
- Antarti A N dan Lisnasari, R. 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak ethanol daun family solanum menggunakan metode reduksi radikal bebas DPPH. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 3(2):62 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i2.15378>
- Arianto D A. 2018. Pengaruh pemberian antibiotik gentamisin terhadap kadar serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) dan serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*). [Thesis]. Malang : Universitas Brawijaya.
- Astitu V E R, Muktamiroh H, Harfiani E, dan Thadeus M S. 2023. Gambaran histopatologi hepar mencit yang diinduksi aloksan: perubahan setelah pemberian ekstrak biji hijau kopi aceh gayo. *Seminar Nasional Riset Kedokteran (SENSORIK) 2023*. Jakarta: UPN Veteran Jakarta. Hlm 90-96.

- Azhari F, Sularno, dan Warsodirejo P P Y. 2022. Studi perbandingan morfologi *Rhizopora apiculata* dengan *Bruguiera cylindrica* di desa pematang kuala sebagai bahan pengembangan modul bio marine. *Best Journal*. 5(1):50-56
- Bahagia W. 2017. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) etanol 95 % terhadap histopatologi pankreas tikus putih jantan galur sprague dawley yang terpapar asap rokok. [Skripsi]. Bandar Lampung : Universitas Lampung.
- Berawi K N dan Marini D. 2018. Efektivitas kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) sebagai antioksidan. *Jurnal Agromedicine*. 5(1):412.
- Björnsson E S. 2016. Hepatotoxicity by drugs: the most common implicated agents. *International Journal of Molecular Sciences*. 17(2):224 [Online Journal] [diunduh 6 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.3390/ijms17020224>
- Cabrera J S, Tabbai S, Niu H, Alvarez I A, Licata A, Björnsson E, Andrade R. J, and Lucena M I. 2022. N-acetylcysteine for the management of non-acetaminophen drug-induced liver injury in adults: a systematic review. *Frontiers in Pharmacology*. 13:1-12 [Online Journal] [diunduh 5 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.876868>.
- Caesario B, Mustofa S, dan Oktaria D. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sprague dawley yang dipaparkan asap rokok. *Medula*. 9(1):42-47.
- Cronquist A. 1981. An integrated system of clasification of flowering plants. New York : Columbia University Press.
- Dewi R dan Normasari R. 2019. Efek proteksi ekstrak daun singkong terhadap hepatotoksisitas yang diinduksi gentamisin pada mencit. *Journal of Agromedicine and Medical Science*. 5(3):177–182.
- Djohari M, Pratiwi D, Sinata N, dan Rahmawati N. 2023. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun tumbuhan akar kaik-kaik (*Uncaria cordata (Lour.) Merr*) terhadap kadar trigliserida serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan. *Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi Dan Kesehatan*. 9(2):174-180 [Online Journal] [diunduh 20 Desember 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.51352/jim.v9i2.679>.
- Dwininda W, Dwira S, dan Paramita R I. 2023. Analisis polimorfieme gen CYP pada metabolisme obat. *Pratista Patologi*, 8(1):5-8 [Online Journal] [diunduh 5 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://www.rcsb.org/structure/2HI4>.

- Efmisa A K, Armenia, dan Almasdy D. 2023. Penggunaan obat berpotensi hepatotoksik pada pasien sirosis hati: suatu telaahan. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 6(2):766-771.
- Egawanto N D. 2019. Pengaruh pemberian gentamisin terhadap histopatologi hepar dan ekspresi TNA- $\alpha$  (tumour necrosis factor-alpha) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). [Skripsi]. Malang : Universitas Brawijaya.
- Ersa R C, Susianti, Kurniawaty E, dan Mustofa S. 2024. Pengaruh pemberian minyak jelantah 1,5 ml/hari selama 14 hari terhadap histopatologi hepar *Rattus norvegicus* jantan. *Medula*. 14(5):901–906.
- Gente M, Leman M, dan Anindita P. 2015. Uji efek analgesia ekstrak daun kecubung (*Datura metel L.*) pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. *Jurnal e-GiGi*. 3(2):470-475 [Online Journal] [diunduh 4 Januari 2025]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.35790/eg.3.2.2015.9838>.
- Golmohammadi M G, Banaei S, Timar M, dan Abedi A. 2023. Saponin protects against cyclophosphamide-induced kidney and liver damage via antioxidant and anti-inflammatory actions. *Physiology International*. 110(2):108–120.
- Gonibala A P dan Wati A. 2021. Penentuan minimum dosis terapi dan minimum toksik ekstrak etanol buah sawo manila (*Manilkara zapota (L.) P. Royen*) sebagai hepatoprotektor pada tikus jantan. *Jurnal Inovasi Kesehatan*. 3(1): 27–31.
- Hadi A M dan Irawati M H. 2016. Karakteristik morfo-anatomi struktur vegetatif spesies rhizopora apiculata (*Rhizoporaceae*). *Jurnal Pendidikan*. 1(9):1688-1692.
- Hawarima V, Susianti, dan Mustofa S. 2019. Efek protektif *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur spraque dawley yang diinduksi rifampisin. *J Agromed* 6(2):299–306.
- Ibroham M H, Jamilatun S, Kumalasari I D, Dahlan A. 2022. A review: potensi tumbuhan-tumbuhan di indonesia sebagai antioksidan alami. Seminar Nasional Penelitian 2022; 26 Oktober 2022; Jakarta. Jakarta: Universitas Muhammadiyah Jakarta. Hlm 1-13 [Proceedings] [diunduh 4 September 2024]. Tersedia dari: <Http://Jurnal.Umj.Ac.Id/Index.Php/Semnaslit>.
- Indriyani, Rizqi U, dan Mahmudah U. 2020. Bagaimana kreativitas dan keaktifan mahasiswa mempengaruhi pemahaman materi abstrak matematika melalui e-learning. *Al Khawarizmi: Jurnal Pendidikan dan Pembelajaran Matematika*. 4(2): 112-131.
- Iqlima M N. 2020. Kerusakan sel hepar akibat paparan radiasi elektromagnetik telepon seluler. *Ibnu Sina: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan-Fakultas*

- Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara. 19(1):40-45 [Online Journal] [diunduh 7 Agustus 2024]. Tersedia dari: <http://bit.ly/OJS IbnuSina>.
- Januar R, Yusfiati, dan Fitmawati. 2014. struktur mikroskopis hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian ekstrak tanaman *Tristania sp.* whiteana griff. JOM FMIPA. 1(2):392–401.
- Jenkins G and Tortora G J. 2016. Anatomy and physiology. John Wiley & Sons.
- Kang J S, Kim S O, Kim G Y, Hwang H J, Kim B W, Chang Y C, Kim W J, Kim C M, Yoo Y H, dan Choi Y H. 2016. An exploration of the antioxidant effects of garlic saponins in mouse-derived C2C12 myoblasts. International Journal of Molecular Medicine. 37(1):149–156.
- Kemkes RI. 2020. Farmakope Indonesia Edisi 6. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kurniawaty E dan Karima N. 2021. Uji efektivitas ekstrak daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap penyembuhan luka sayat tikus putih (*Rattus norvegicus*). DIPA FK UNILA.
- Kusuma A B, Saraswati T R, Agung D, dan Sitasiwi J. 2019. Efek pemberian daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap diameter hepatosit tikus (*Rattus norvegicus*). Bioma. 21(2):106-113.
- Licata A, Minissale M G, Stankevičiūtė S, Cabrera J S, Lucena M I, Andrade R J, dan Almasio P L. 2022. N-acetylcysteine for preventing acetaminophen-induced liver injury: a comprehensive review. Frontiers in Pharmacology. 13 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.828565>.
- Liu H. 2015. Comparing welch's ANOVA, a kruskal-wallis test and traditional ANOVA in case of heterogeneity of variance [Online Journal] [diunduh 18 November 2024]. Tersedia dari: <https://scholarscompass.vcu.edu/etd/3985>.
- Mescher A L and Junqueira L C U. 2016. Junqueira's basic histology : text and atlas (Fourteenth edition). Mcgraw-Hill Education [Online Book] [diunduh 5 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1687>.
- Montemayor C D, Pérez P C, Aranda R S, dan Minsky N W. 2015. Models of hepatoprotective activity assessment. Medicina Universitaria. 17(69):222–228 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2015.10.002>.
- Muafa, F. 2023. Pengaruh pemberian jus daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap kadar glukosa darah puasa dan berat badan

pada *Rattus norvegicus* jantan. [Skripsi]. Semarang : Universitas Islam Negeri Walisongo.

- Muda G J, Arjana A A G, Berata I K, dan Merdana I M. 2020. Perubahan histopatologi hati tikus putih yang diberikan ekstrak etanol sarang semut dan gentamisin. *Buletin Veteriner Udayana*. 12(1):7-12 [Online Journal] [diunduh 5 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2020.v12.i01.p02>.
- Mudiana W I, Sudisma I G N, Setiasih N L E, dan Sudira W I. 2023. Gambaran histologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan ekstrak bunga kecubung (*Datura metel L.*) sebagai anestesi. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 11(2):102–108 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <http://www.journal.ipb.ac.id/indeks.php/actavetindones>.
- Mustofa S. 2024. Pengantar metabolisme lemak. CV Rizky Karunia Mandiri, Bandar Lampung. 1-90.
- Mustofa S dan Akbar M Y. 2024. Comparison of histology of the kidneys of rats exposed to cigarette smoke after administration of ethanol extract methanol and n-hexane rhizophora apiculata bark. *Proceedings of the International Conference on Medical Science and Health (ICOMESH 2024)*. Atlantis Press. 183-189 [Online Proceeding Article] [diunduh 20 Desember 2024]. Tersedia dari: [https://doi.org/10.2991/978-94-6463-604-8\\_16](https://doi.org/10.2991/978-94-6463-604-8_16).
- Mustofa S dan Ananta G A P Y V. 2022. oral administration of moringa leaf ethanol extract (*Moringa Oleifera*) for 14 days protects the liver of male white rats (*Rattus Norvegicus*) from acute damage caused by high doses of paracetamol. *Sriwijaya Journal of Medicine*. 5(3):142–149 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.32539/sjm.v5i3.201>
- Mustofa S dan Anisya V. 2020. Efek hepatoprotektif ekstrak etanol *Rhizophora apiculata* pada tikus yang dipaparkan asap rokok. *JK Unila*. 4(1):12–16.
- Mustofa S dan Dewi S N. 2023. *Rhizophora apiculata* bark ethanolic extracts prevent kidney damage caused by cigarette smoke in male rats. *Sriwijaya Journal of Medicine*. 6(1):17–23 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.32539/sjm.v6i1.204>.
- Mustofa S dan Fahmi Z Y. 2021. Efek protektive kardiovaskular ekstrak *Rhizophora apiculata* berbagai pelarut pada tikus yang dipaparkan asap rokok. *JK Unila*. 5(1):7-15.
- Mustofa S dan Namdes F C. 2024. Penemuan obat baru dan mekanismenya dalam pengobatan penyakit. *Medula* 14(1):106-112.

- Mustofa S dan Paleva R. 2023. A subacute toxicity test of *Rhizophora apiculata* stem bark ethanol extract on the number, motility, and morphology of male *Rattus norvegicus* spermatozoa. *Sriwijaya Journal of Medicine* 6(2):72–78 [Online Journal] [diunduh 3 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.32539/sjm.v6i2.207>
- Mustofa S, Adjeng A N T, Kurniawaty E, Ramadhita L, dan Tamara T. 2024. influence of rhizophora apiculata barks extract on cholesterol, triglyceride, LDL, and HDL levels of *Rattus norvegicus* (Sprague Dawley) fed high-cholesterol diet. *Research J Pharm and Tech.* 17(1):396–400.
- Mustofa S, Adli F K, Wardani D W S R, Busman H. 2022. Pengaruh ekstrak etanol daun *Rhizophora apiculata* terhadap kolesterol total dan trigliserida *Rattus norvegicus* galur sprague dawley yang diinduksi diet tinggi lemak. *Jurnal Kesehatan.* 13(3):472-478 [Online Journal] [diunduh 3 Agustus 2024]. Tersedia dari: <http://ejurnal.poltekkes-tjk.ac.id/index.php/JK>.
- Mustofa S, Alfa N, Wulan A J, Rakhmanisa S. 2019. pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) etanol 95 % terhadap arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur sprague dawley yang dipaparkan asap rokok. *JK Unila.* 3(1):28-33.
- Mustofa S, Bahagia W, Kurniawaty E, Rahmanisa S, dan Audah K A. 2018. The effect of mangrove (*Rhizophora apiculata*) bark extract ethanol on histopathology pancreas of male white rats sprague dawley strain exposed to cigarette smoke. *Acta Biochimica Indonesiana.* 1(1):7-13.
- Mustofa S, Ciptanningrum I, dan Zuya C S. 2020. Rubacute toxicity test of *Rhizophora apiculata* bark extract on liver and pancreas histopathology of rats. *Acta Biochimica Indonesiana.* 3(2):89-97.
- Mustofa S, Hutami I P, dan Sarwindah D. 2023. Acute toxicity test of *Rhizophora apiculata* bark extract on rat liver and kidney histology using fixed dose method. *Acta Biochimica Indonesiana.* 6(2): 144.
- Mustofa S, Utama A N A, Syachrani F, Rosti N Y, dan Lenka P R. 2021. Utama efek antidislipidemia ekstrak kulit pisang kepok lampung (*Musa paradisiaca* L) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida tikus putih dengan diet tinggi lemak. *JK Unila* 5(1):35-44.
- Mustofa S, Yuniyanto A E, Kurniawaty E, dan Kurniaji I. 2024. The effect of giving mangrove leaf extract (*Rhizophora apiculata*) on the healing of burn wounds in male white rats (*Rattus norvegicus*) of the sprague dawley strain. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences.* 25(19):571-581 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.62877/66-ijcbs-24-25-19-66>.

- Mutia M S. 2021. Ekstrak kulit jeruk sunkist kajian antioksidan bagi kesehatan hepar.
- Nabila D M, Rudiyanto W, dan Busman H. 2022. Efek potensial ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*). *Agromedicine*. 9(1):15-20.
- Nair A and Jacob S. 2016. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 7(2):27. [Online Journal] [diunduh 5 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.4103/0976-0105.177703>.
- Ningsih I S, Chatri M, dalem Advinda L. 2023. Senyawa aktif flavonoid yang terdapat pada tumbuhan. *Serambi Biologi*. 8(2):126–132.
- Nuranjumi N, Sukohar A, dan Graharti, R. 2019. Metode terapi berhenti merokok dengan mukolitik n-acetylcystein. *Majority*. 8(2):187-192.
- Paulsen F, Böckers T M, Waschke J, Winkler S, Dalkowski K, Mair J, and Klebe S. 2018. *Sobotta anatomy textbook: English edition with Latin nomenclature*. Elsevier Health Sciences.
- Pramita M I. 2023. Perbaikan kerusakan sel-sel hepatosit mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi karbon tetraklorida (ccl4) oleh ekstrak etanol daun bungur (*Lagerstroemia speciosa L.*). [Skripsi]. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Prasetyo D H dan Bambang P. 2011. Efek pemberian n-acetylcysteine oral terhadap kadar hscrp serum pada continuous ambulatory peritoneal. *Mutiara Medika*. 11(2):111-117.
- Prasetyo Y E, Merdana I M, Kardena I M, dan Sudira I W. 2019. Gambaran histopatologi hepar mencit yang diberikan ekstrak etanol sarang semut. *Buletin Veteriner Udayana*. 44 [Online Journal] [diunduh 5 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2019.v11.i01.p08>.
- Purohita N S. 2019. Pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur sprague dawley. [Skripsi]. Bandar Lampung : Universitas Lampung.
- Putri A P, Chatri M, dan Advinda L. 2023. Karakteristik saponin senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. *Serambi Biologi*. 8(2):251–258.
- Ridho M R, Prasetyo A, dan Hairrudin. 2020. Efek hepatoprotektor air kelapa (*Cocos nucifera L.*) dan asam folat terhadap gambaran histopatologi hati tikus wistar betina hamil (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbamat. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* 6(1):53–61.

- Riswani V. 2023. Pengaruh lama waktu clearing pada kualitas pewarnaan hematoxylin eosin (HE) jaringan hati tikus. [Skripsi]. Padang : Universitas Perintis Indonesia.
- Robiyanto R, Liana J, dan Purwanti N U. 2019. Kejadian obat-obatan penginduksi kerusakan liver pada pasien sirosis rawat inap di RSUD dokter soedarso kalimantan barat. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 6(3):274 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.25077/jsfk.6.3.274-285.2019>.
- Rosida A. 2016. Pemeriksaan laboratorium penyakit hati. *Berkala Kedokteran* 12(1):123–131.
- Rosidah I, Ningsih S, Renggani T N, Agustini K, dan Efendi J. 2020. Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus*) galur sprague-dawley jantan umur 7 dan 10 minggu. *Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 7(1):136-145 [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <http://ejournal.bppt.go.id/index.php/JBBI>.
- Sahasrabudhe S A, Terluk M R, dan Kartha R V. 2023. N-acetylcysteine pharmacology and applications in rare diseases—repurposing an old antioxidant. *Antioxidants*. 12(7) [Online Journal] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://doi.org/10.3390/antiox12071316>.
- Saputra A dan Sujatmiko B. 2017. Media pembelajaran video pembelajaran berbasis animasi 2d instalasi proxy server dan web server untuk siswa kelas xi tkj di smk negeri 2 surabaya. *Jurnal IT-EDU*. 2(2):218-222.
- Sastika M, Komang W N, Ni T, Putu L, dan Nengah A I. 2014. Studi pengaruh lamanya pemaparan medan magnet terhadap jumlah sel darah putih (leukosit) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). 5(1).
- Sharma K, Kaur R, Kumar S, Saini R K, Sharma S, Pawde S V, and Kumar V. 2023. Saponins: a concise review on food related aspects, applications and health implications. *Food Chemistry Advances*. 2. 100191.
- Sihombing M dan Raflizar. 2010. Status gizi dan fungsi hati mencit (galur cbs-swiss) dan tikus putih (galur wistar) di laboratorium hewan percobaan puslitbang biomedis dan farmasi. *Media Litbang Kesehatan*. 20(1):33–40.
- Sihotang N H N dan Tambunan E P S. 2023. Gambaran histopatologi hepar dengan induksi natrium nitrit (NaNO<sub>2</sub>) dan ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Journal Unesa*. 12(2):196–203 [Online Journal] [diunduh 31 Agustus 2024]. Tersedia dari: <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index196>
- Susianti. 2013. The effect of black cummin (*Nigella sativa* L.) extract to the histopathological appearance of liver, lung and testis of white rat (*Rattus*

- norvegicus*) induced by gentamicin. *Jurnal Sainsmat*. 2(2): 107–118 [Online Journal] [diunduh 20 November 2024]. Tersedia dari: <http://ojs.unm.ac.id/index.php/sainsmat>
- Tenório M C D S, Graciliano N G, Moura F A, Oliveira A C M D, dan Goulart M O F. 2021. N-acetylcysteine (NAC): impacts on human health [Online Journal] [diunduh 3 Agustus 2024]. Tersedia dari: DOI: 10.3390/Antiox10060967. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8234027/>.
- Triwahyuni H, Widiastuti, dan Widayarsi Y E. 2021. Pengaruh waktu fiksasi, waktu dehidrasi dan waktu analisis terhadap mutu dan kualitas hasil pewarnaan HE. *Prosiding Pengembangan Profesi Pranata Laboratorium Pendidikan*. 2 : 29-35.
- Utami A A dan Adi I W. 2020. Review artikel: tanaman herbal yang memiliki aktivitas penyembuhan luka. *Farmaka*. 18(2):191–207.
- Vanderah T W. 2024. Katzung's Basic & Clinical Pharmacology. In *Katzung's Basic & Clinical Pharmacology*. McGraw-Hill [Online Book] [diunduh 4 Agustus 2024]. Tersedia dari: [accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1204121896](https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1204121896)
- Wardina M A, Mustofa S, Malarangeng, A N T A. 2023. Review article: potensi *Rhizophora apiculata* sebagai fitofarmaka. *Medula*. 13(2):137.
- Wiyanti Z O, Rusdiansyah A H, Susianti, dan Oktarlina R Z. 2023. Pengaruh ekstrak etanol rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa L*) terhadap histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur sprague dawley yang diinduksi rifampisin dan isoniazid. *Medula*. 13(3):379–386.
- Zarwin A O, Rita R S, dan Desmawati. 2020. Artikel penelitian efek proteksi pemberian ekstrak daun jambang (*Syzygium cumini*) pada tikus yang diinduksi timbal asetat. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*. 1(2):228–233 [Online Journal] [diunduh 5 Agustus 2024]. Tersedia dari: <http://jikesi.fk.unand.ac.id228>