

Buku Monograf EKSTRAK KULIT JERUK SUNKIST

Kajian Antioksidan Bagi Kesehatan Hepar



Penulis:

dr. Maya Sari Mutia, MKM, M.
Biomed, AIFO-K

UNPRI PRESS

Jl. Belanga No. 1. Simp. Ayahanda, Medan

EKSTRAK KULIT JERUK SUNKIST
Kajian Antioksidan Bagi Kesehatan Hepar

Penulis

dr. Maya Sari Mutia, MKM, M. Biomed, AIFO-K

Editor

dr. Linda Chiuman, MKM, AIFO-K

ISBN

978-623-7911-17-3

Desain Cover

.....

Penerbit

Unpri Press

Universitas Prima Indonesia

Redaksi

Cetakan Pertama

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

**Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara
apapun tanpa ijin dari penerbit**

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia dan rahmat yang telah diberikan, sehingga penulisan buku monograf ini dapat diselesaikan.

Buku ini mengupas segala bentuk manfaat dari kulit jeruk sunkist sebagai antioksidan pada organ hepar. Berbagai kandungan fitokimia berpotensi sebagai antioksidan. Buku ini secara mendalam menjelaskan peran dari fitokimia sebagai antioksidan terhadap organ hepar melalui penelitian *in vivo*. Buku ini juga dilengkapi dengan daftar singkatan dan kerangka konsep pada setiap bab untuk memudahkan dalam memahami isi dari buku ini.

Buku ini diharapkan menambah wawasan dari pembaca untuk lebih memahami khasiat antioksidan dari kulit jeruk sunkist dan memaksimalkan nilai guna dari kulit jeruk sunkist. Ucapan terima kasih penulis hanturkan kepada semua pihak yang mendukung penerbitan buku ini.

Seperti kata pepatah “*Tak ada gading yang tak retak*”, penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan buku monograf ini dan masih jauh dari kata sempurna. Karena kesempurnaan hanya milik Tuhan Yang Maha Esa, sehingga kritik dan saran yang membangun terkait penulisan buku monograf ini sangat penulis harapkan.

Medan, Februari 2021

Penulis

dr. Maya Sari Mutia, MKM, M. Biomed, AIFO-K

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	1
DAFTAR ISI	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR GAMBAR	5
DAFTAR TABEL.....	5
RINGKASAN	7
SUMARRY.....	8
PENDAHULUAN.....	9
Latar Belakang.....	9
Rumusan Masalah.....	10
Tujuan Penulisan	11
ORGAN HEPAR.....	12
ANATOMI DAN FISILOGI HEPAR.....	12
Fungsi metabolisme	13
Penyimpanan Vitamin.....	14
Fungsi Sintesis	14
Fungsi Pertahanan Tubuh.....	14
Sintesa, Sekresi dan Penyimpanan Empedu.....	14
HISTOLOGI HEPAR.....	15
Sel Hepatosit	15
Sel duktus biliaris.....	15
Sel vaskular	15
Sinusoid	16
Kandung Empedu	16
BIOKIMIA HEPAR	16
Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT)/ Alanin Aminotransferase (ALT).....	16
Serum Glutamate Oxaloacetic Transaminase (SGOT)/ Aspartat Aminotransaminase (AST).....	17
GANGGUAN FUNGSI HEPAR AKIBAT ZAT TOKSIK (TOXIC-INDUCED HEPAR INJURY).....	19
Steatosis (perlemakan hepar)	19
Kolestasis	19
Karsiogenesis.....	19
Nekrosis	19
Sirosis.....	19

Hepatitis yang mirip hepatitis virus	19
PARASETAMOL	21
Sifat Fisikokimia	21
Farmakokinetik Parasetamol	22
Farmakodinamik Parasetamol	23
Efek Samping	23
Dosis	24
Interaksi	24
Mekanisme Kerusakan Sel Hati Akibat Induksi Parasetamol	24
JERUK SUNKIST	26
Nama Daerah	26
Morfologi Tumbuhan	26
Sistematika Tumbuhan	26
Kandungan Kimia	26
Kegunaan Jeruk Sunkist	26
EKSTRAKSI	27
Cara dingin	27
KERANGKA KONSEP	29
KAJIAN MANFAAT ANTIOKSIDAN KULIT JERUK SUNKIST DARI HISTOLOGI HEPAR TERHADAP PARASETAMOL	30
Prosedur Kerja	30
Pengumpulan Bahan Tumbuhan	30
Identifikasi Tumbuhan	30
Pembuatan Simplisia	30
Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Sunkist	30
Skrining Fitokimia	30
Pengujian Efek Hepatoprotektor	32
Pengambilan Sampel Organ Hepar	34
Pemeriksaan Histologi Jaringan Hepar	34
Hasil Penelitian	34
Skrining Fitokimia Simplisia	34
Hasil Histopatologi Organ Hati	35
KAJIAN MANFAAT ANTIOKSIDAN KULIT JERUK SUNKIST DARI FAAL HEPAR TERHADAP PARASETAMOL	42
Prosedur Kerja	42
Pengumpulan Bahan Tumbuhan	42

Identifikasi Tumbuhan.....	42
Pembuatan Simplisia.....	42
Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Sunkist.....	42
Skrining Fitokimia	42
Pengujian Efek Hepatoprotektor	44
Hasil Penelitian	46
PENUTUP.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53

DAFTAR GAMBAR

No. Gambar	Keterangan	Halaman
1.	Anatomi Hepar	12
2.	Rumus Struktur Parasetamol	22
3.	Jalur Metabolisme Parasetamol.....	23
4.	Kerangka Konsep	29
5.	Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok Kontrol Negatif Induksi Parasetamol. (a) Hepatosit yang mengalami degenerasi; (b) gambaran kongesti pada vena sentralis; (c) Beberapa hepatosit yang mengalami nekrosis	36
6.	Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok Kontrol Positif (Pemberian Katekin). (a) Beberapa hepatosit mengalami degenerasi ringan.....	37
7.	Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok yang Diberikan EEKJS Dosis Pemberian 300 mg/kgBB. (a) Hemorrhage pada sinusoid hepar; (b) Kumpulan hepatosit mengalami degenerasi	38
8.	Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok yang Diberikan EEKJS Dosis Pemberian 450 mg/kgBB. (a) Sejumlah hepatosit mengalami degenerasi.....	39
9.	Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok yang Diberikan EEKJS Dosis Pemberian 600 mg/kgBB. (a) Kongesti pada vena sentralis; (b) Beberapa hepatosit menunjukkan gambaran degenerasi sel yang ringan.	40
10.	Perbandingan Rata-RataKadar SGOT pada Beberapa Kelompok Perlakuan Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol.....	48
11.	Perbandingan Rata-Rata Kadar SGPT pada Beberapa Kelompok Perlakuan Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol.....	50

DAFTAR TABEL

No. Tabel	Keterangan	Halaman
1.	Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Jeruk Sunkist	35
2.	Hasil Histopatologi Jaringan Hepar Tikus Berdasarkan Kerusakan Hepatosit	35
3.	Perbandingan Kadar SGOT dari Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus dengan Menggunakan Games-Howell	47
4.	Perbandingan Kadar SGPT dari Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus dengan Menggunakan Tukey HSD	49

RINGKASAN

Berdasarkan data Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2010, di Indonesia penyakit hepar menempati urutan ketiga setelah penyakit infeksi dan paru. Buah jeruk juga mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, kumarin, limonoid, keratonid, dan minyak atsiri yang memiliki aktivitas farmakologi seperti antioksidan, anti-inflamasi, antikanker, melindungi jantung, neuroprotektif dan hepatoprotektor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas hepatoprotektor dari ekstrak kulit jeruk sunkis terhadap tikus galur wistar jantan yang diinduksi parasetamol.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen tal yang dilakukan terhadap lima kelompok perlakuan yaitu; kontrol negatif, kontrol positive (katekin), ekstrak kulit jeruk sunkis (EEKJS) 300 mg/KgBB, 450 mg/KgBB, dan 600 mg/KgBB. Kemudian, setelah 14 hari, masing-masing kelompok perlakuan diterminasi dan diambil darah serta organ hepar untuk diperiksa kadar SGOT dan SGPT serta gambaran histologi hepar masing-masing tikus.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada dosis paling tinggi dari EEKJS menunjukkan kadar SGOT (189.15 mg/dl) dan SGPT (69.35 mg/dl) darah paling rendah dibandingkan dosis lainnya, namun tidak serendah pada kontrol positif (SGOT: 152.34 mg/dl; SGPT: 49.70 mg/dl). Sedangkan gambaran histologi dari masing-masing kelompok perlakuan didapati bahwa pada kelompok tikus yang menjadi kontrol negatif dijumpai gambaran degenerasi, kongesti, dan nekrosis yang minimal. Sedangkan pada kelompok kontrol positif hanya dijumpai gambaran degenerasi yang minimal. Pada kelompok tikus yang diberi EEKJS dosis 600 mg/KgBB dijumpai adanya gambaran yang mirip dengan kontrol positif yaitu gambaran degenerasi yang minimal dan kongesti vena sentralis.

Kulit jeruk sunkis berpotensi sebagai hepatoprotektor yang dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT serta mencegah kerusakan struktural pada hepar lebih berat.

SUMMARY

Based on data from the Ministry of Health of the Republic of Indonesia in 2010, in The rank of Indonesia for liver disease was third after infectious and pulmonary diseases. Citrus fruits also contain secondary metabolites such as flavonoids, alkaloids, coumarin, limonoid, keratonid, and essential oils that have pharmacological activities such as antioxidants, anti-inflammatory, anticancer, protecting the heart, neuroprotective and hepatoprotector. The aim of this study was to determine the hepatoprotector activity of orange sunkis peel extract on male wistar strain rats which were induced by paracetamol.

This research is a experimental research conducted on five treatment groups, namely; negative control, postive control (catechins), sunkis orange peel extract (EEKJS) 300 mg / KgBB, 450 mg / KgBB, and 600 mg / KgBB. Then, after 14 days, each treatment group was terminated and blood and liver organs were taken to examine SGOT and SGPT levels and liver histology of each rat.

The results of this study indicate that the highest dosage of EEKJS shows the lowest levels of SGOT (189.15 mg / dl) and SGPT (69.25 mg / dl) than the others dosages, but not as low as the positive control (SGOT: 152.34 mg / dl ; SGPT: 49.70 mg / dl). Whereas the histology of each treatment group was found that in the group of negative controls there was a minimal degeneration, congestion and necrosis. However in the positive control group, there was only minimal degeneration. In the group of rats given the EEKJS dose of 600 mg / KgBW, there were similar finding with positive control ncludes minimal degeneration and central venous congestion.

Sunkis orange peel has the potential as a hepatoprotector which can reduce SGOT and SGPT levels and prevent structural damage to the liver more severely.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Hepar adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Unit dasar fungsional hati adalah lobulus hepar, yang berbentuk silindris dengan panjang beberapa millimeter dan berdiameter 0,8-2,0 millimeter. Hepar manusia berisi 50.000-100.000 lobulus. Hepatosit (sel parenkim hepar) merupakan sebagian besar organ itu. Hepatosit bertanggung jawab terhadap peran sentral hepar dalam metabolisme. Sel-sel ini terletak diantara sinusoid yang berisi darah dan saluran empedu (Corwin, 2010).

Berdasarkan data Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2010, di Indonesia penyakit hepar menempati urutan ketiga setelah penyakit infeksi dan paru (Depkes RI, 2010). Salah satu penyebabnya adalah penggunaan obat-obat yang bersifat hepatotoksik. Penyakit hepar yang disebabkan karena penggunaan obat-obatan disebut *Drug Induced Hepatitis* (DIH). Sebanyak 20-40% penyakit hepar fulminan disebabkan oleh obat-obatan dan 50% penderita hepatitis akut terjadi akibat dari reaksi obat terhadap hati (Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia, 2013). DIH dapat disebabkan oleh penggunaan obat-obatan seperti aspirin, artemisin, rifampisin, parasetamol, dan obat-obat lain yang dimetabolisme di hati dengan pemakaian jangka panjang atau dengan dosis yang berlebihan (Anne, 2007).

Parasetamol atau *N-acetyl-para-aminophenol* atau *4-hydroxy acetaminide* merupakan nama lain dari asetaminopen. Parasetamol di metabolise oleh hepar melalui proses oksidasi pada sitokrom P450 yang menghasilkan metabolit yang sangat reaktif yaitu *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI). Senyawa ini dapat berikatan dengan glutathion hepar (Ardiansyah et al, 2007). Reaksi tersebut menyebabkan perubahan pada membran sel hepar dan menimbulkan nekrosis hepar. Hepar yang mengalami kerusakan menyebabkan peningkatan lipid peroksida dalam darah karena tidak dapat didetoksifikasi oleh hepar. Hepar memiliki antioksidasi radikal bebas (*N-asetilimin benzoquinon*) melalui reaksi konjugasi dengan senyawa dalam hepar seperti glutathion, asam glukuronat, glisin dan asetat. Radikal bebas mengalami peningkatan melebihi ketersediaan senyawa-senyawa penetralisir pada hepar, menyebabkan terjadinya peningkatan reaksi antara radikal bebas dan membran sel hepar (Rustandi, 2006).

Hepatoprotektor adalah senyawa atau zat yang berkhasiat melindungi sel dan memperbaiki jaringan hepar yang rusak akibat pengaruh toksik. Dilihat dari strukturnya, senyawa yang bersifat hepatoprotektor diantaranya meliputi senyawa golongan fenilpropanoid, kumarin, lignin, minyak atsiri, terpenoid, saponin, flavonoid, asam organik lipid, dan senyawa nitrogen (alkaloid dan xantin) (Ismeri, 2010).

Berbagai upaya pengobatan gangguan fungsi hepar secara klinis memerlukan biaya yang mahal dan seringkali menyebabkan efek samping yang merugikan. Oleh karena itu, masyarakat mulai beralih ke pengobatan secara tradisional sesuai dengan semboyan “*back to nature*” yang seringkali memberikan efek yang cukup signifikan. Melihat besarnya dampak yang ditimbulkan oleh penggunaan parasetamol dengan dosis toksik pada hepar, maka perlu dilakukan eksplorasi bahan alam lain untuk mencari sumber obat hepatoprotektor yang ekonomis, mudah didapat, efek samping minimal, dan memiliki efek terapeutik sebaik obat pilihan hepatoprotektor masa kini. Salah satu fitofarmaka yang diketahui memiliki efek hepatoprotektor adalah jeruk Sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) (Lv et al, 2015).

Jeruk Sunkist adalah buah yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat, rasanya manis, tampilan menarik, mudah didapatkan dimanapun, selalu tersedia sepanjang tahun (Naharsari, 2007). Buah jeruk sebagai sumber nutrisi mengandung vitamin C, serat, natrium, folat, kalsium, tiamin, niasin, vitamin B6, fosforus, magnesium, tembaga, riboflavin dan asam pantotenat. Buah jeruk juga mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, kumarin, limonoid, keratonid, dan minyak atsiri yang memiliki aktivitas farmakologi seperti antioksidan, anti-inflamasi, antikanker, melindungi jantung, neuroprotektif dan hepatoprotektor (Lv et al, 2015).

Berdasarkan latar belakang di atas, sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Terhadap Histologi Hepar Tikus Galur Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol”.

Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak etanol kulit jeruk Sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mempunyai aktivitas hepatoprotektor pada tikus galur wistar jantan yang diinduksi parasetamol?

- b. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol kulit jeruk Sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) sebagai hepatoprotektor terhadap tikus galur wistar jantan?

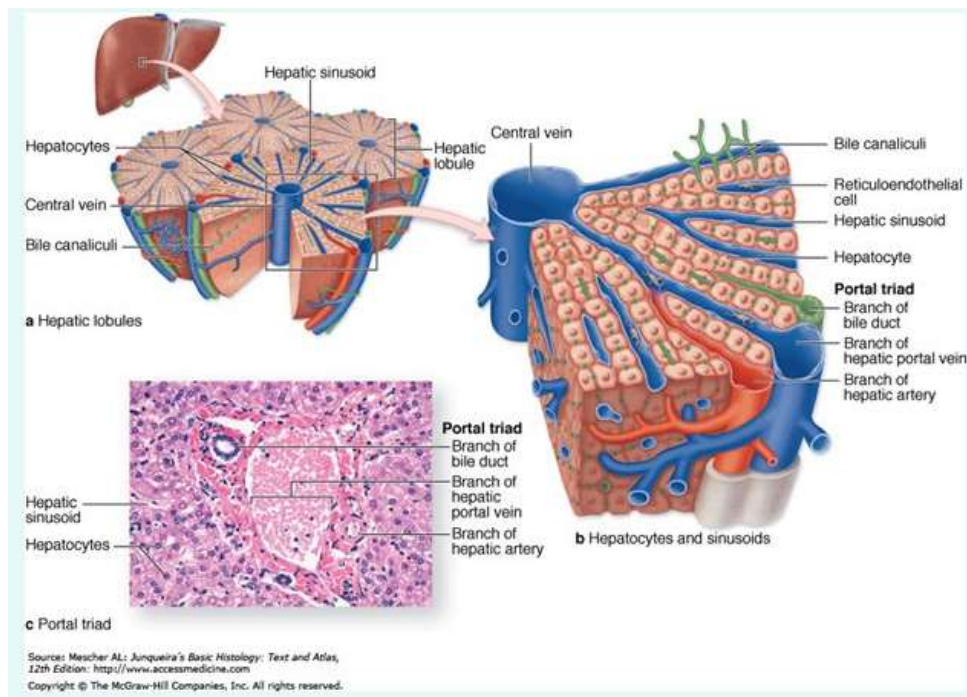
Tujuan Penulisan

- a. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol buah kulit Sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mempunyai aktivitas hepatoprotektor pada tikus galur wistar jantan yang diinduksi parasetamol.
- b. Untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol kulit jeruk Sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) sebagai hepatoprotektor terhadap tikus galur wistar jantan.

ORGAN HEPAR

ANATOMI DAN FISILOGI HEPAR

Hepar adalah organ tubuh terbesar dan mempunyai fungsi yang sangat kompleks. Berat rata-rata sekitar 1,5 kg atau 2,5% dari berat badan pada orang dewasa normal. Dalam keadaan segar warnanya merah tua atau merah coklat, warna merah tersebut terutama disebabkan oleh adanya darah yang amat banyak (Price dan Wilson, 1997).



Gambar 1, Anatomi Hepar

Hepar terbagi atas dua unit operasional, yaitu lobulus dan asinus. Istilah lobulus lebih sering dipergunakan untuk menjelaskan bagian parenkim hepar yang mengalami kerusakan secara patologi. Lobulus tersebut terdiri dari sel-sel hepar (hepatosit) yang tersusun dalam suatu lempeng-lempeng. Lobulus hepar merupakan prisma polygonal dengan ukuran lebih kurang 1 sampai 2 mm, dan biasanya terlihat heksagonal pada potongan melintang vena sentralis di tengah dan di kanal portal di tepian pada sudut-sudutnya. Lobulus hepar mempunyai makna fungsional yaitu merupakan suatu unit struktur yang mengalirkan darah ke vena lobular (vena sentralis) suatu lobulus portal mempunyai kanal portal sebagai pusatnya, dan terdiri dari jaringan yang menyalurkan empedu ke dalam duktus biliaris di daerah portal tersebut. Asinus merupakan istilah yang digunakan untuk menyebut bagian fungsional pada hati. Bagian fungsional tersebut terbagi atas tiga zona, yaitu zona 1 (zona yang terdekat dengan

pembuluh darah), zona 2 (zona intermediet), dan zona 3 (zona yang paling dekat dengan vena sentralis) (Mescher, 2010). Anatomi Hepar dapat dilihat pada Gambar di bawah.

Hepar memiliki banyak fungsi untuk mempertahankan hidup. Fungsi utama hepar antara lain sebagai

Fungsi metabolisme

Sel hepar merupakan suatu kolam besar reaktan kimia dengan laju metabolisme yang tinggi, memberikan substrat energi dan suatu sistem metabolisme terhadap lamanya mengolah dan mensintesis berbagai zat yang diangkut ke daerah tubuh lainnya dan melakukan berbagai fungsi metabolisme lain.

- 1) **Metabolisme Karbohidrat.** Hepar mengubah pentosa dan heksosa yang diserap dari usus halus menjadi glikogen, mekanisme ini disebut glikogenesis. Glikogen lalu ditimbun di dalam hati kemudian hepar akan memecahkan glikogen menjadi glukosa. Proses pemecahan glikogen menjadi glukosa disebut glikogenolisis. Dari proses- proses ini maka hepar merupakan sumber utama glukosa dalam tubuh, selanjutnya hepar mengubah glukosa melalui hexose monophosphate shunt dan terbentuklah pentose. Pembentukan pentosa mempunyai beberapa tujuan: menghasilkan energi, biosintesis dan nukleotida, asam nukleat dan ATP, dan membentuk senyawa 3 karbon yaitu asam piruvat (asam piruvat diperlukan dalam siklus krebs) (Smeltzer dan Bare, 2001).
- 2) **Metabolisme Protein.** Peran hepar yang sangat penting dalam metabolisme protein adalah deaminase asam amino, pembentukan urea untuk membuang ammonia dari tubuh. Pembentukan protein plasma, interkonversi diantara berbagai asam amino dan komponen penting lainnya yang diperlukan untuk proses metabolisme (Smeltzer dan Bare, 2001).
- 3) **Metabolisme lemak.** Hepar mempunyai peran tertentu dalam metabolisme lemak yaitu melakukan oksidasi asam lemak dalam jumlah besar, mengubah karbohidrat dan protein dalam jumlah besar menjadi lemak. Ketika produk lemak dibutuhkan, lemak diambil keluar dari deposit lemak dalam tubuh, diangkut dalam darah menuju hati, dan di hepar dipecah menjadi asam lemak dan gliserol. Selain itu, asam lemak dibawa menuju hati dalam darah porta dari usus dan diubah menjadi jenis-jenis yang dapat digunakan dalam proses metabolisme (Baradero et al, 2009).

Penyimpanan Vitamin

Hepar mempunyai kecendrungan tertentu untuk menyimpan vitamin dan telah lama diketahui sebagai sumber vitamin yang baik untuk pengobatan pasien. Vitamin yang terbanyak disimpan dalam hepar adalah vitamin A, tetapi sejumlah besar vitamin D dan B1-2 dalam keadaan normal juga disimpan. Kecuali besi dalam hemoglobin darah, sebagian besar besi tubuh biasanya disimpan di hepar dalam bentuk ferritin. Sel hepar berisi sejumlah besar protein yang disebut apoferritin yang dapat bergabung dengan besi baik dalam jumlah sedikit maupun banyak. Oleh karena itu, maka besi akan berikatan dengan apoferritin membentuk ferritin dan disimpan dalam bentuk ini sampai diperhatikan. Hepar membentuk berbagai bahan yang sangat diperlukan untuk proses pembekuan darah. Bahan – bahan tersebut adalah fibrinogen protrombin dan beberapa faktor pembekuan lainnya.

Fungsi Sintesis

Sintesis adalah penyusunan atau pembuatan suatu senyawa dari zat atau molekul yang sederhana menjadi senyawa kompleks. Fungsi sintesis hepar antara lain pembuatan protein dan lipoprotein plasma.

Fungsi Pertahanan Tubuh

Pertahanan tubuh oleh hepar dapat berupa fungsi detoksifikasi dan fungsi perlindungan. Fungsi detoksifikasi atau penetralan dilakukan oleh enzim-enzim hepar melalui oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konyugasi zat-zat yang berbahaya, dan mengubahnya menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif. Fungsi perlindungan dilakukan oleh sel kupffer yang terdapat di dinding sinusoid hati, berkemampuan fagositosis yang sangat besar sehingga mampu membersihkan sampai 99% kuman yang ada dalam vena porta sebelum darah menyebar melewati seluruh sinusoid. Sel kupffer juga mengalihkan immunoglobulin dan berbagai macam antibodi yang timbul pada berbagai macam kelainan hati.

Sintesa, Sekresi dan Penyimpanan Empedu

Empedu yang dihasilkan oleh sel-sel hepar dan sel ductal memegang dua peranan penting yaitu empedu berfungsi dalam proses digesti dan absorpsi dengan jalan membantu melakukan emulsifikasi lemak sehingga memungkinkan lipid dapat mencerna lemak dan membantu transport, absorpsi bahan yang telah mengalami digesti melalui membran mukosa. Empedu juga berfungsi untuk ekskresi hasil-hasil metabolisme tubuh seperti kolesterol, bilirubin, obat-obatan dan beberapa logam berat seperti Cu (Smeltzer dan Bare, 2001).

HISTOLOGI HEPAR

Sel Hepatosit

Sel-sel ini merupakan 70% dari semua sel di hati dan 90% dari berat hati total. Hepatosit tersusun dalam unit-unit fungsional yang disebut asinus atau lobulus. Setiap lobulus memiliki sebuah vena sentral (vena terminalis) dan traktus portal yang terletak di perifer. Sel hepatosit berbentuk polyhedral dengan enam sisi dan memiliki satu atau dua inti berbentuk bulat dengan satu atau dua anak inti. Setiap hepatosit berkontak langsung dengan darah dari dua sumber. Darah dari vena porta yang langsung dari saluran pencernaan dan darah erteri hepatica yang datang dari aorta. Diantara lempengan sel hati terdapat kapiler-kapiler yang dinamakan sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid dibatasi oleh sel fagositik atau sel kupffer, yang merupakan sistem monosit makrofag, fungsi utama sel kupffer adalah menelan bakteri dan benda asing lain dalam darah, sehingga hepar merupakan salah satu organ utama sebagai pertahanan terhadap invasi bakteri dan agen toksik seperti karbon tetraklorida, alkohol, dan kloroform (Mescher, 2010).

Hepatosit digunakan sebagai parameter kerusakan karena sel hepar memiliki peranan penting dalam metabolisme. Vena sentralis digunakan dalam pengukuran karena daerah vena sentralis merupakan pusat dari lobulus hepar. Sel-sel di perifer lobulus mendapat perdarahan yang baik, namun daerah disekitar vena sentralis merupakan daerah yang jauh dari perdarahan. Berdasarkan aliran peredaran darah, vena sentralis menyalurkan darah dari semua lobulus hepar sehingga apabila terdapat toksin, maka di vena sentralis akan terjadi akumulasi. Apabila terdapat gangguan maka yang terlebih dahulu mengalami kerusakan dan terlihat paling parah serta jelas bentuk kerusakannya adalah vena sentralis, jika terjadi kerusakan maka sel-sel endotel dari vena sentralis akan lisis dan akan mengakibatkan terjadinya perbesaran dari diameter vena sentralis (Mescher, 2010).

Sel duktus biliaris

Sel duktulus biliaris membentuk duktus dalam traktus portal lobulus hepar. Duktus dari lobulus-lobulus yang berdekatan menyatu berjalan menuju hilus hepar, dengan ukuran dan garis tengahnya secara bertahap membesar.

Sel vaskular

Hepar memiliki pendarahan ganda. Organ ini menerima darah melalui arteri hepatica dan vena porta. Arteri hepatica dan vena porta masuk ke

hepar di porta hepatis lalu bercabang menjadi pembuluh yang lebih halus berjalan sejajar sampai mencapai vena sentralis.

Sinusoid

Sinusoid hepar adalah saluran darah yang melebar dan berliku-liku, sinusoid hepar dipisahkan dari hepatosit dibawahnya oleh spatium perisinusoideum (disse) subendotelial. Akibatnya, zat makanan yang mengalir di dalam sinusoid memiliki akses langsung melalui dinding endotelial yang tidak utuh dengan hepatosit. Struktur dan jalur sinusoid yang berliku di hepar memungkinkan pertukaran zat yang efisien antara hepatosit dan darah. Selain sel endotel, sinusoid hepar juga mengandung makrofag, yang disebut sel kuppfer (*macrophagocytus stellatus*), terletak di sepanjang sinusoid.

Kandung Empedu

Kandung empedu adalah organ kecil berongga yang melekat pada permukaan bawah hepar. Empedu diproduksi oleh hepatosit dan kemudian mengalir melalui kanalikuli dan disimpan di dalam kandung empedu (Eroschenko, 2004).

BIOKIMIA HEPAR

Hepar mampu mengsekresikan enzim-enzim transaminase saat selnya mengalami gangguan. Transaminase merupakan indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hepar (Husadha, 1996). Enzim-enzim tersebut adalah:

Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT)/ Alanin Aminotransferase (ALT)

Enzim ini mengkatalis pemindahan satu gugus amino antara lain alanine dan asam alfa ketoglutarat. Terdapat banyak di hepatosit dan konsentrasinya relatif rendah di jaringan lain. Kadar normal dalam darah 5-35 IU/liter dan ALT lebih sensitif dibandingkan AST (Bastiansyah, 2012). Kadar SGPT dan SGOT serum meningkat pada hampir semua penyakit hati. Kadar yang tertinggi ditemukan dalam hubungannya dengan keadaan yang menyebabkan nekrosis hati yang luas, seperti hepatitis virus yang berat, cedera hati akibat toksin, atau kolaps sirkulasi yang berkepanjangan. Peningkatan yang lebih rendah ditemukan pada hepatitis akut ringan demikian pula pada penyakit hati kronik difus maupun lokal. Kadar mendadak turun pada penyakit akut, menandakan bahwa sumber enzim yang masih tersisa habis. Kalau kerusakan oleh radang hati hanya kecil, kadar SGPT lebih dini dan lebih cepat meningkat dari kadar SGOT (Bastiansyah, 2012).

Serum Glutamate Oxaloacetic Transaminase (SGOT)/ Aspartat Aminotransaminase (AST)

AST adalah enzim mitokondria yang juga ditemukan dalam hati, jantung, ginjal, dan otak. Bila jaringan tersebut mengalami kerusakan yang akut, kadarnya dalam serum meningkat. Diduga hal ini disebabkan karena bebasnya enzim intraseluler dari sel-sel yang rusak ke dalam sirkulasi. Kadar yang sangat meningkat terdapat pada nekrosis hepatoseluler atau infark miokard. AST melakukan reaksi antara asam aspartate dan asam alfa-ketoglutarat. AST berada dalam sel parenkim hati. AST meningkat pada kerusakan hati akut, tetapi juga terdapat dalam sel darah merah dan otot skelet. Oleh karena itu, tidak spesifik untuk hati. AST berfungsi untuk mengubah aspartate dan alfa-ketoglutarat menjadi oxaloasetat dan glutamate. Terdapat 2 isoenzim, yaitu AST 1 merupakan isoenzim sitosol yang terutama berada dalam sel darah merah dan jantung. Kemudian AST 2 merupakan isoenzim mitokondria yang dominan dalam sel hati. Kadar normal dalam darah 10-40 IU/liter. Meningkat tajam ketika terjadi perubahan infark miokardium (Sacher dan McPerson, 2011).

Beberapa enzim hepar yang dapat dijadikan parameter untuk pemeriksaan fungsi hepar yaitu:

- a. **Laktat Dehidrogenase (LDH).** Pemeriksaan ini tidak begitu sensitif untuk mendiagnosis kelainan hepatoseluler. Peningkatan dapat terjadi pada pasien neoplasma, terutama yang mengenai hepar. Kadar normalnya 60 – 120 Mu/ml (Husadha, 1996).
- b. **Isositrik Dehidrogenase.** Meninggi pada kelainan hepatoseluler, tetapi normal pada infark miokard dan miopatia.
- c. **Alkali Phospatase (AP).** AP adalah sekelompok enzim yang mengkatalisa hidrolisis ester-ester fosfat organik dalam suasana basa secara optimum. AP terdapat di tulang, usus dan hepar. Bila terjadi peningkatan AP disertai peningkatan enzim spesifik lain, maka besar kemungkinan AP berasal dari hepar. Peningkatan AP disebabkan adanya obstruksi bilier dan tumor pada hepar (Husadha, 1996).
- d. **Gamma Glutamil Transpeptidase (GGT).** GGT meningkat pada kerusakan hepar yang disertai peningkatan AP, GGT meningkat pada kerusakan hati yang timbul akibat keracunan alkohol, barbiturat, dan phenytoin. Juga meningkat pada kelainan hepatoseluler, payah jantung kongesti, kolestasis, DM, dan pankreatitis (Husadha, 1996).
- e. **5 – Nukleotidase (5 NT).** 5 NT adalah enzim phospatase terutama terdapat dalam kanalikuli dan selaput sinusoid hati. Kenaikan 5 NT

pada penyakit hepatobilier sama dengan kenaikan AP. Interpretasinya lebih sensitif dari AP pada obstruksi bilier. 5 NT khas untuk penyakit hepar, namun berpengaruh pada umur. 5 NT meningkat sesuai pertambahan usia dan datar pada usia diatas 50 tahun. Tidak meningkat pada penyakit tulang dan kehamilan (Husadha, 1996).

GANGGUAN FUNGSI HEPAR AKIBAT ZAT TOKSIK (TOXIC-INDUCED HEPAR INJURY)

Jenis-jenis kerusakan hepar yang disebabkan oleh zat toksik antara lain (Lu, 1994)

Steatosis (perlemakan hepar)

Steatosis atau perlemakan hepar yaitu jika hepar mengandung berat lipid lebih dari 5%, sehingga terjadi lesi yang bersifat akut maupun kronis.

Kolestasis

Kolestasis bersifat akut dan lebih jarang ditemukan dibandingkan steatosis dan nekrosis. Contoh penyebabnya yaitu klorpromazin dan eritromisin laktobionat.

Karsiogenesis

Karsinoma hepatoseluler adalah jenis neoplasma ganas yang paling umum pada hepar. Contoh penyebab karsiogenesis seperti vinil klorida, aflaktosin, dan dioksin.

Nekrosis

Nekrosis adalah kematian hepatosit. Nekrosis dapat bersifat sentral atau perifer, dan biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Beberapa zat kimia telah dilaporkan dan terbukti sebagai penyebab nekrosis hepar. Nekrosis hepar merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya, tetapi tidak selalu kritis karena mempunyai kapasitas yang luar biasa untuk pertumbuhan kembali. Contoh penyebab nekrosis hepar yaitu karbon tetraklorida (CCl₄), kloroform, isoniazida, dan parasetamol. Nekrosis hepar oleh parasetamol bersifat sentrilobular.

Sirosis

Sirosis ditandai oleh adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian besar hepar. Pada sebagian besar kasus, sirosis disebabkan nekrosis sel tunggal karena kurangnya mekanisme perbaikan sehingga terjadi fibroblastik dan pembentukan jaringan parut. Penyebab sirosis yang paling penting adalah penggunaan kronis alkohol.

Hepatitis yang mirip hepatitis virus

Obat-obat tertentu mengakibatkan sindroma klinis yang tidak dapat dibedakan dari hepatitis virus. Contoh haloten, fenitoin, dan iproniazid.

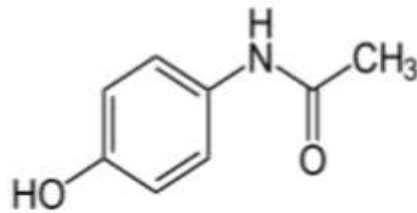
PARASETAMOL

Parasetamol (asetaminofen) merupakan obat analgetik non narkotik dengan cara kerja menghambat sintesis prostaglandin terutama di Sistem Syaraf Pusat (SSP). Parasetamol digunakan secara luas di berbagai negara baik dalam bentuk sediaan tunggal sebagai analgetik-antipiretik maupun kombinasi dengan obat lain dalam sediaan obat flu, melalui resep dokter atau yang dijual bebas (Goodman dan Gilman, 2014).

Parasetamol telah lama diketahui mempunyai mekanisme yang sama dengan aspirin oleh karena persamaan struktur kedua zat tersebut. Parasetamol bekerja menghambat enzim cyclooxygenase (COX) sehingga dapat mengurangi produksi prostaglandin, yang terlibat di dalam proses demam dan sakit. Bagaimanapun, ada perbedaan penting antara efek aspirin dan parasetamol. Aspirin mengandung prostaglandin yang berperan di dalam proses peradangan, tetapi parasetamol tidak dapat berfungsi sebagai antiinflamasi. Selain itu, aspirin bekerja menghambat enzim COX yang tidak dapat diubah, secara langsung menghalangi lokasi aktif enzim dan mempunyai efek merugikan pada lapisan perut. Parasetamol secara tidak langsung menghalangi enzim COX sehingga menjadi tidak efektif terhadap peroksida. Hal ini menyebabkan parasetamol menjadi efektif bekerja pada susunan saraf pusat dan sel endotel, tetapi bukan pada platelet dan sel imun yang mempunyai tingkat peroksida tinggi (Katzung, 2010)

Sifat Fisikokimia

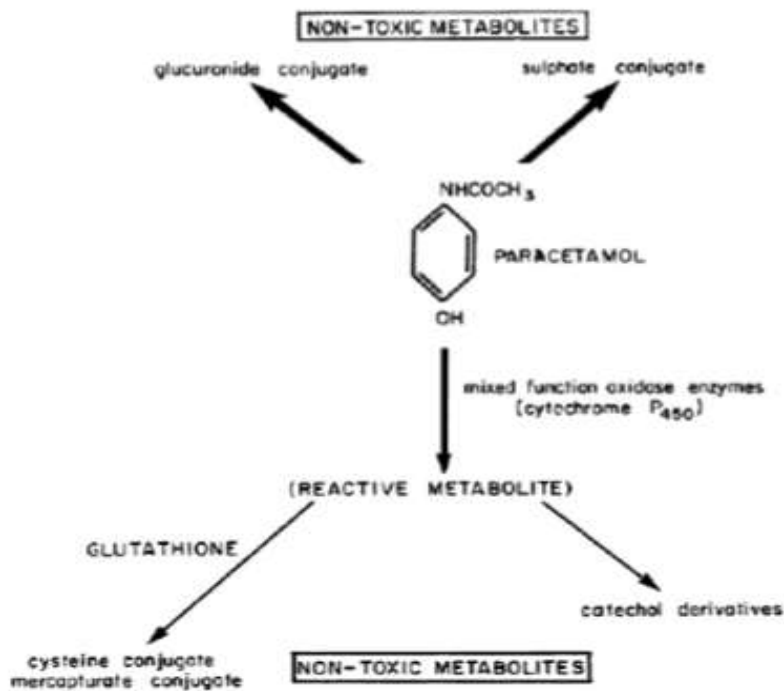
Rumus molekul	: $C_8H_9C_2NO_2$
Nama kimia	: Acetaminophenum, asetaminofen, parasetanol
Berat molekul	: 151, 16
Pemerian	: Hablur atau serbuk hablur putih, tidak berbau, rasa pahit
Kelarutan	: Larut dalam 70 bagian air, dalam 7 bagian etanol (95%) P, dalam 13 bagian aseton P, dalam 40 bagian gliserol P dan dalam 9 bagian propilenglikol P, larut dalam larutan alkali hidroksida
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya



Gambar 2, Rumus Struktur Parasetamol

Farmakokinetik Parasetamol

Parasetamol yang diberikan per oral kecepatan absorpsinya tergantung kecepatan pengosongan lambung (Katzung, 2014). Konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu 30 - 120 menit dan waktu paruh plasma 1 - 3 jam. Obat ini tersebar ke seluruh cairan tubuh. Dalam plasma 25% parasetamol terikat protein plasma dan sebagian dimetabolisme enzim mikrosom hati (Wilmana,2007). Pada kondisi normal, parasetamol mengalami glukoronidasi dan sulfasi, dimana 80% dikonjugasi dengan asam glukoronat dan sebagian kecilnya dengan asam sulfat menjadi bentuk tidak aktif yang larut dalam air (Katzung, 2014; Wilmana, 2007; Myeck et al., 2001). Selain itu, sebagian kecil, kurang dari 5% dimetabolisme oleh sitokrom P450 menjadi metabolit reaktif *N*-asetil-*p*-benzoquinonimin (NAPQI) (Katzung, 2014). Pada dosis normal parasetamol, NAPQI bereaksi dengan gugus sulfhidril glutation membentuk substrat non toksik yaitu asam merkapturat yang dieksresikan melalui urin (Mycek, et al., 2001). Pada dosis toksik atau adanya penyakit hati, waktu paruhnya meningkat mejadi dua kali lipat atau lebih (Katzung, 2014). Jalur metabolisme parasetamol dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 3. Jalur Metabolisme Parasetamol

Farmakodinamik Parasetamol

Parasetamol menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga juga berdasarkan efek sentral seperti salisilat. Efek analgetiknya serupa salisilat yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Parasetamol merupakan penghambat biosintesa PG yang lemah. Efek iritasi, erosi, dan perdarahan lambung tidak terlihat dengan obat ini, demikian juga gangguan pernapasan dan keseimbangan asam basa (Goodman dan Gilman, 2014).

Efek Samping

Reaksi alergi terhadap parasetamol jarang terjadi, manifestasinya berupa eritem atau urtikaria dan gejala yang lebih berat berupa demam dan lesi pada mukosa. Pada dosis terapi, kadang-kadang timbul peningkatan ringan enzim hati dalam darah tanpa disertai ikterus; keadaan ini reversibel bila obat dihentikan (Katzung, 1997). Pada penggunaan kronis dari 3-4 g sehari dapat terjadi kerusakan hati, pada dosis di atas 6 g mengakibatkan nekrose hati yang tidak reversibel (Tjay dan Raharja, 2008).

Parasetamol merupakan salah satu obat yang paling sering menyebabkan kematian akibat keracunan (self poisoning). Toksisitas parasetamol terjadi pada penggunaan dosis tunggal 10 sampai 15 gram (150 sampai 250 mg/kg BB); dosis 20 sampai 25 gram atau lebih kemungkinan menyebabkan kematian (Goodman dan Gilman, 2014).

Dosis

Untuk nyeri dan demam, oral 2-3 dd 0,5-1 g, maks 4 g/hari, pada penggunaan kronis maks 2,5 g/hari. Anak-anak 4-6 dd 10 mg/kg, yakni rata-rata usia 3-12 bulan 60 mg, 1-4 tahun 120-180 mg, 4-6 tahun 180 mg, 7-12 tahun 240 mg-360 mg, 4-6 kali sehari (Tjay dan Raharja, 2008).

Interaksi

Parasetamol memperkuat daya kerja antikoagulan, antidiabetika oral, dan metotreksat. Efek obat encok probenesid dan sulfinpirazon berkurang bila disertai dengan penggunaan parasetamol, begitu pula dengan diuretika furosemid dan spironolakton. Kerja analgetiknya diperkuat oleh antara lain kodein dan d- propoksifen. Penggunaan alkohol disertai parasetamol akan meningkatkan resiko perdarahan lambung usus. Karena efek antitrombotiknya yang mengakibatkan perdarahan meningkat, penggunaan parasetamol perlu dihentikan satu minggu sebelum pencabutan gigi (Tjay dan Raharja, 2008).

Mekanisme Kerusakan Sel Hati Akibat Induksi Parasetamol

Hepatotoksik tidak terjadi sebagai akibat langsung dari parasetamol, tetapi melalui metabolitnya, yaitu *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) (Sherlock, 2002).

Parasetamol dimetabolisme oleh konjugasi glukoronat dan sulfat. Sebagian kecil dioksidasi menjadi NAPQI oleh aktivitas sitokrom P450. NAPQI didetoksifikasi oleh Glutathione (GSH) yang kemudian membentuk konjugasi parasetamol-GSH. Ketika terjadi dosis toksis parasetamol, Glutathione Hepar Total menurun hingga 90%. Akibatnya metabolit parasetamol tersebut berikatan kovalen dengan sistein. Ikatan kovalen antara metabolit parasetamol dan protein menyebabkan sel kehilangan fungsi atau aktivitasnya bahkan terjadi kematian sel dan lisis. Target organel sel utamanya adalah mitokondria yang berperan dalam produksi energi serta kontrol ion selular, sehingga terjadi transisi permabilitas mitokondria. Akibatnya adalah penurunan Adenosine Triphosphate (ATP), peningkatan Ca^{2+} yang bersifat oksidan, aktivasi protease dan endonuklease, serta kerusakan rantai DNA (Sherlock, 2002).

Aktivitas sitokrom P450 serta transisi permeabilitas mitokondria menyebabkan terbentuknya superoksida, suatu Radical Oxygen Species (ROS). Pembentukan superoksida yang meningkat menyebabkan reaksi hidrogen peroksida dan peroksidase melalui mekanisme tipe Fenton. Pada dosis toksik parasetamol terjadi pembentukan NAPQI yang berlebihan, sementara konsentrasi Glutathione di sel sentrilobular sangatlah rendah sehingga glutathione peroksidase terhambat (Sherlock, 2002).

Pada manusia dilaporkan efek hepatotoksik terjadi pada dosis tunggal 10-15 g setelah asupan dosis toksik, sedangkan pada tikus terjadi pada dosis tunggal 1.000 mg/kgbb yang ditunjukkan dengan adanya nekrosis pada hati (Goodman dan Gilman, 2014).

JERUK SUNKIST

Nama Daerah

Jeruk Sunkist yang biasa disebut dengan jeruk manis (Jawa), limau manis (Malaysia), kahel (Filipina), sava orens (Papua Nugini), *Citrus* (Verheij dan Coronel, 1997).

Morfologi Tumbuhan

Kulit buah Sunkist tebalnya 0,3-0,5 cm dari tepi berwarna kuning atau oranye tua dan makin kedalam berwarna putih kekuningan sampai putih, berdaging, dan kuat melekat pada dinding buah (Pracaya, 2003).

Sistematika Tumbuhan

Menurut Pracaya (2003), taksonomi jeruk manis adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub-divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Rutales
Family	: Rutaceae
Genus	: Citrus
Spesies	: Citrus sinensis (L.) Osbeck

Kandungan Kimia

Buah jeruk Sunkist mengandung vitamin C, vitamin E, karotenoid, flavonoid (Di Majo et al, 2005) vitamin A, beta karoten, beta- kriptoxantin, zeaxanthin, lutein (Etebu dan Nwauzoma, 2014) asam folat, limonoida, dan serat pangan (Silalahi, 2006).

Kegunaan Jeruk Sunkist

Kegunaan Jeruk sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) antioksidan, antiinflamasi (Tripoli et al, 2007) antikanker (Elangovan et al. 1994) anti obesitas (Etebu dan Nwauzoma, 2014).

EKSTRAKSI

Ekstraksi yaitu proses pemisahan bagian senyawa aktif yang berkhasiat sebagai obat dari jaringan tanaman atau hewan dengan menggunakan pelarut tertentu, sesuai prosedur standart yang akan menghasilkan ekstrak (Depkes RI, 1979). Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain- lain (Ditjen POM, 2000).

Berdasarkan buku Materia Medika metode ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara (Ditjen POM, 2000), yaitu:

Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi dengan cara merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai pada temperatur ruangan dan terlindung dari cahaya yang disertai pengocokan atau pengadukan.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, umumnya dilakukan pada suhu 40- 50° C.

d. Infundansi

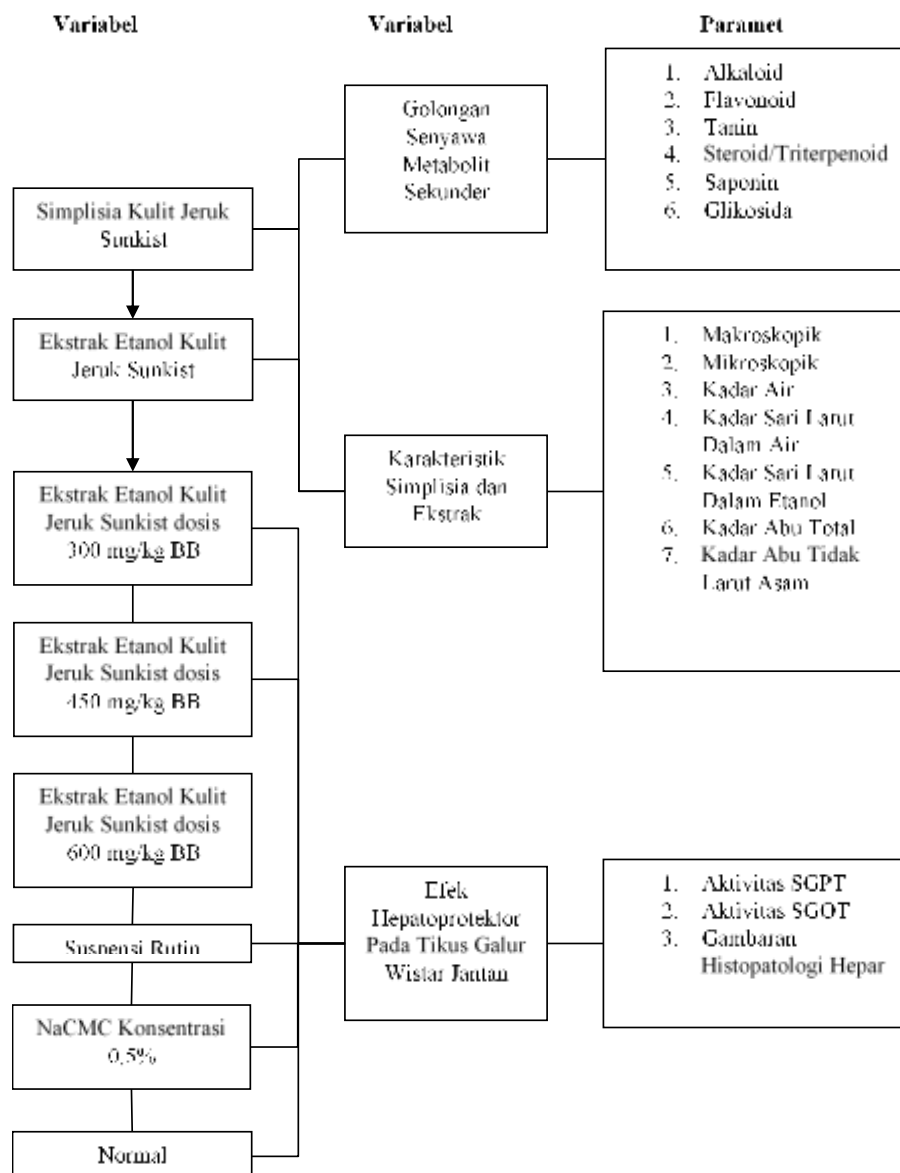
Infundansi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96- 98°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

e. Dekoktasi

Dekoktasi adalah infundansi pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Ditjen POM, 2000).

KERANGKA KONSEP

Penelitian ini menggunakan tikus galur wistar jantan sebagai hewan uji. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kelompok perlakuan EEKJS dengan dosis 300 mg/kgBB, 450 mg/kg BB, 600 mg/kg BB, suspensi CMC-Na 0,5% BB, dan parasetamol dengan dosis 1 g/kgBB. Variabel terikat pada penelitian ini adalah karakterisasi simplisia dan ekstrak serta efek hepatoprotektor pada tikus galur wistar jantan. Adapun kerangka penelitian ini dapat dilihat pada Gambar di bawah ini.



Gambar 4. Kerangka Konsep

KAJIAN MANFAAT ANTIOKSIDAN KULIT JERUK SUNKIST DARI HISTOLOGI HEPAR TERHADAP PARASETAMOL

Prosedur Kerja

Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Pengumpulan bahan tumbuhan dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain. Sampel yang digunakan adalah kulit jeruk Sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) yang diperoleh dari Kecamatan Pancur Batu.

Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanense FMIPA USU Bagian tumbuhan yang digunakan adalah kulit jeruk Sunkist.

Pembuatan Simplisia

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit jeruk sunkist yang telah dikumpulkan dan dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian ditiriskan lalu disebar di atas kertas merang hingga airnya terserap, setelah itu bahan ditimbang. Kemudian bahan dikeringkan dengan cara di dalam lemari pengering. Berat dari bahan yang kering ditimbang. Selanjutnya disimpan dalam kantong plastik kedap udara ditempat yang terlindung dari sinar matahari.

Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Sunkist

Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Masukkan serbuk simplisia ke dalam wadah kaca, ditambahkan 75 bagian pelarut, tutup biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali- kali. Maserat dipisahkan, diperas, ampas maserasi dicuci dengan etanol 96% hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari. Tuangkan atau saring dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ (Depkes RI, 1979).

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan alkaloida

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambah 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling, dipanaskan di atas penangas air

selama 2 menit. Ditunggu dingin dan disaring. Filtrat digunakan untuk percobaan berikut:

- a. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambah dengan 2 tetes larutan pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.
- b. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambah pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna cokelat sampai hitam.
- c. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambah dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff, akan terbentuk warna merah atau jingga.

Alkaloida positif jika terjadi endapan atau kekeruhan paling sedikit dua dari ketiga percobaan di atas (Depkes, RI., 1989).

Pemeriksaan flavonoida

Sebanyak 0,5 g simplisia disari dengan 10 mL metanol, lalu direfluks selama 10 menit. Kemudian disaring panas-panas melalui kertas saring kecil berlipat. Filtrat diencerkan dengan 10 mL air. Setelah dingin ditambahkan 5 mL eter, dikocok hati-hati dan didiamkan. Lapisan metanol diambil, lalu diuapkan pada suhu 40°C, sisanya dilarutkan dalam 5 mL etil asetat, disaring. Filtrat digunakan untuk uji flavonoida dengan cara sebagai berikut :

- a. Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan hingga kering, sisa dilarutkan. Dalam 1 sampai 2 ml etanol 96%, lalu ditambahkan 0,5 g serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan 10 ml asam klorida pekat, dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif menunjukkan adanya flavonoida.
- b. Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan hingga kering, sisa dilarutkan dalam 1 ml etanol 96%, lalu ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 10 ml asam klorida pekat, terjadi warna merah jingga, menunjukkan adanya flavonoida, (Depkes RI, 1989).

Pemeriksaan saponin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang mantap setinggi 1 sampai 10 cm tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Depkes, RI., 1989).

Pemeriksaan glikosida

Disari 3 g serbuk simplisia dengan 30 mL campuran etanol 95% dengan air (7:3) dan 10 mL asam sulfat 2 N. Direfluks selama 1 jam, didinginkan dan disaring. Pada 20 ml filtrat ditambahkan 25 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok dan didiamkan selama 5 menit, disaring. Disaring filtrat 3 kali, tiap kali dengan 20 mL campuran kloroform-isopropanol (3:2). Sari air digunakan untuk percobaan berikutnya yaitu 0,1 mL larutan percobaan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diuapkan di atas penangas air, sisa ditambahkan 2 mL air dan 5 tetes pereaksi Molish. Tambahkan 2 mL dengan hati-hati asam sulfat pekat melalui dinding tabung, terbentuknya cincin ungu pada kedua batas cairan menunjukkan adanya glikosida (Depkes, RI., 1995).

Pemeriksaan tanin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia, disari dengan 10 mL air suling lalu dipanaskan, lalu disaring. Filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1 %. Jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman, menunjukkan adanya tanin (Depkes, RI., 1989).

Pemeriksaan steroida dan triterpenoida

Sejumlah 1 g serbuk dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, disaring, filtrat diuapkan di cawan penguap. Sisanya ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Burchard). Apabila terbentuk warna ungu atau merah yang berubah menjadi biru ungu atau biru hijau menunjukkan adanya steroida/triterpenoida (Depkes, RI., 1989).

Pengujian Efek Hepatoprotektor

Pembuatan Suspensi Na CMC 0.5%

Pembuatan suspensi Na CMC 0.5% dilakukan dengan cara sebagai berikut: sebanyak 0,5 gram Na CMC ditaburkan kedalam lumpang yang berisi air suling panas sebanyak 10 mL. Didiamkan selama 15 menit hingga diperoleh masa yang transparan, digerus hingga terbentuk gel dan diencerkan dengan sedikit air suling, kemudian dituang ke dalam labu tentukur 100 mL, ditambah air suling sampai batas tanda. Suspensi ini digunakan sebagai pembawa EEKJS, parasetamol dan rutin.

Pembuatan Suspensi EEKJS

Sebanyak 300 mg EEKJS dimasukkan ke dalam lumpang dan ditambahkan suspensi Na CMC 0,5% sedikit demi sedikit sambil digerus sampai homogen lalu dimasukkan ke labu tentukur 10 mL. Volume dicukupkan dengan suspensi Na CMC 0,5% sampai garis tanda. Prosedur yang sama dilakukan untuk pembuatan suspensi EEKJS 450 dan 600 mg/kg bb.

Pembuatan Suspensi Parasetamol

Suspensi parasetamol dalam suspensi Na CMC 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram serbuk parasetamol yang telah ditimbang ke dalam suspensi Na CMC 0,5% di dalam lumpang, digerus hingga homogen lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL. Volume dicukupkan dengan suspensi Na CMC 0,5% sampai garis tanda.

Pembuatan Suspensi Rutin

Suspensi rutin dibuat dengan cara memasukkan 20 mg serbuk rutin yang telah ditimbang ke dalam lumpang kemudian ditambahkan tween 80 tetes demi tetes sambil digerus hingga homogen, ditambahkan suspensi Na CMC 0,5% lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL. Volume dicukupkan dengan suspensi Na CMC 0,5% sampai garis tanda.

Pengujian pada Hewan Coba

Hewan uji dibagi atas 5 kelompok dan masing-masing terdiri dari 3 hewan percobaan. Pengujian aktivitas hepatoprotektor dijelaskan sebagai berikut:

- a. Kelompok I: kontrol negatif, hewan uji diberikan suspensi Na CMC 0,5% sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian suspensi Na CMC 0,5% pada hari ke-14. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.
- b. Kelompok II: kontrol positif, hewan uji diberikan suspensi katekin rutin dosis 200 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian suspensi katekin pada hari ke-14. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.
- c. Kelompok III: hewan uji diberikan EEKJS dosis 300 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.

- d. Kelompok IV: hewan uji diberikan EEKJS dosis 450 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14. . Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.
- e. Kelompok V: hewan uji diberikan EEKJS dosis 600 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.

Pengambilan Sampel Organ Hepar

Pengambilan sampel organ dilakukan pada tikus yang telah dianestesi sebelumnya dengan menggunakan kloroform pada ruang tertutup. Setelah tikus teranestesi, dilakukan insisi secara vertical pada dinding abdomen. Kemudian, dilakukan reseksi seluruh hepar tikus.

Pemeriksaan Histologi Jaringan Hepar

Organ hepar yang telah diambil kemudian dicuci dengan NaCl 0,9% selanjutnya dimasukkan ke dalam pot yang berisi larutan buffer formalin 10%. Selanjutnya organ hepar dipotong dengan ketebalan 4 – 6 mm. Jaringan yang telah difiksasi kemudian didehidrasi dengan alkohol mulai dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% masing-masing selama 24 jam dilanjutkan dengan alkohol 100% selama 1 jam yang diulang tiga kali. Setelah didehidrasi dilanjutkan dengan penjernihan dengan menggunakan xilol sebanyak tiga kali masing-masing selama 1 jam dilanjutkan dengan infiltrasi parafin. Jaringan kemudian ditanam dalam media parafin. Berikutnya dilakukan penyayatan dengan ketebalan 4 - 5 mikron. Hasil sayatan dilekatkan pada kaca objek, kemudian diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Pemeriksaan histopatologi dilakukan dan berdasarkan prosedur kerja yang diterapkan di laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Hasil Penelitian

Skrining Fitokimia Simplisia

Tumbuhan yang digunakan telah diidentifikasi di Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara adalah tumbuhan jeruk Sunkist (*Citrus Sinensis L. Osbeck*) Kingdom plantae (kerajaan tumbuhan), divisi magnoliophyta (tumbuhan berbunga), kelas magnoliopsida (tumbuhan berbiji), subkelas rosidae, ordo sapindales, famili rutaceae, genus citrus, spesies *Citrus Sinensis L. Osbeck*.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, glikosida dan alkaloid. Hasil skrining fitokimia simplisia jeruk Sunkist dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Jeruk Sunkist

No.	Metabolit Sekunder	Hasil
1.	Flavonoid	+
2.	Tanin	+
3.	Saponin	+
4.	Steroid	-
5.	Terpenoid	+
6.	Glikosida	+
7.	Alkaloid	+

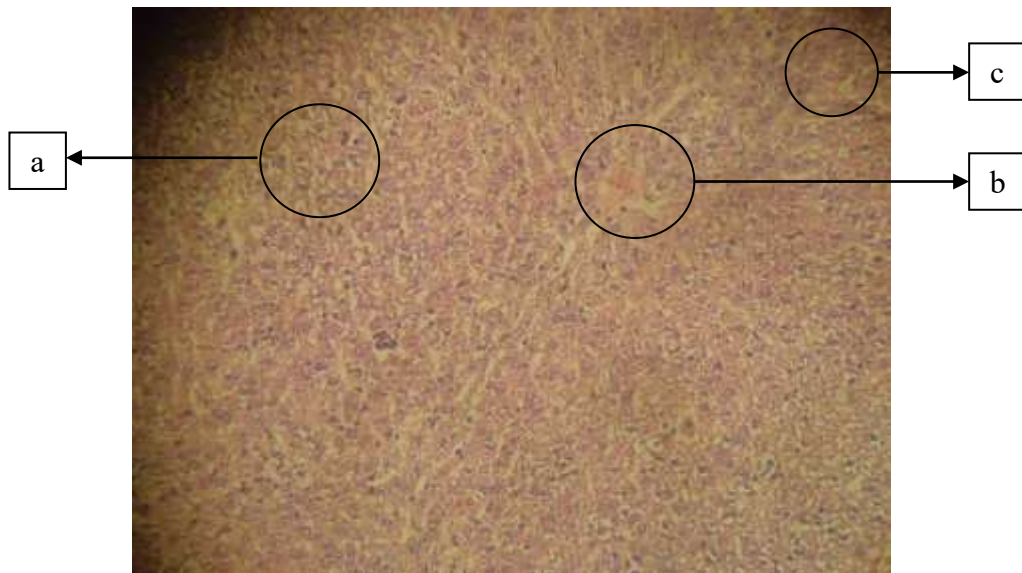
Hasil Histopatologi Organ Hati

Pengamatan histopatologi dilakukan pada hari ke-15 setelah 24 jam pemberian parasetamol. Tikus yang masih hidup dikorbankan dengan cara dislokasi leher kemudian dibedah untuk diambil hatinya. Hasil pengamatan ini digunakan untuk menentukan derajat kerusakan sel-sel hepar akibat pemberian parasetamol dan efek hepatoprotektor dari ekstrak uji yang diberikan yaitu EEKJS. Melalui pengamatan histopatologi ini dapat dilihat kerusakan organ pada tingkat yang tidak terlihat bila hanya diamati secara makroskopik.

Tabel 2. Hasil Histopatologi Jaringan Hepar Tikus Berdasarkan Kerusakan Hepatosit

Kelompok	Jenis Kerusakan Hepatosit			
	Degenerasi	Kongesti	Nekrosis	Hemorrhage
Kontrol Negatif	+++	+	+	-
Kontrol positif (katekin)	+	-	-	-
Dosis 300 mg/kgBB	+++	-	-	+
Dosis 450 mg/kgBB	++	+	-	-
Dosis 600 mg/kgBB	+		-	-

Keterangan: (-): normal, (+): kerusakan



Gambar 5. Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok Kontrol Negatif Induksi Parasetamol. (a) Hepatosit yang mengalami degenerasi; (b) gambaran kongesti pada vena sentralis; (c) Beberapa hepatosit yang mengalami nekrosis

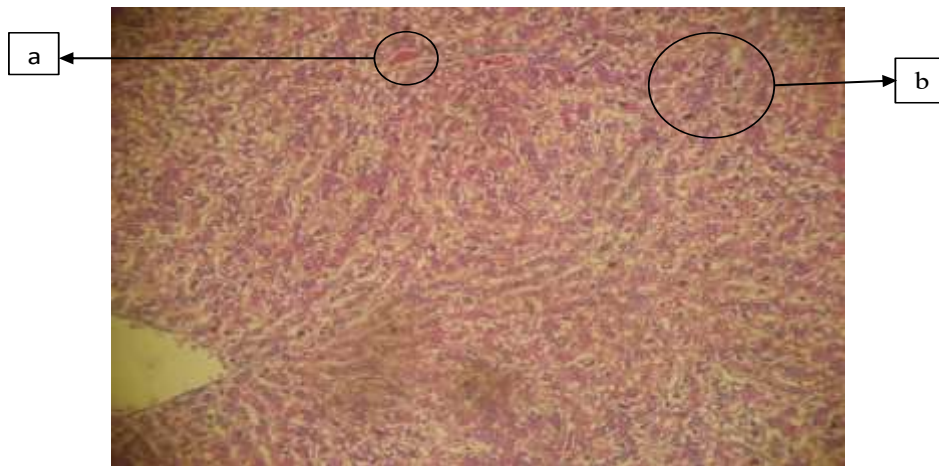
Hasil penelitian pengaruh hewan uji yang diberikan suspensi Na CMC 0,5% sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian suspensi Na CMC 0,5% pada hari ke-14. Mengindikasikan bahwa terjadi perubahan pada hepatosit, dimana hepatosit mengalami degenerasi pada sebagian lapangan pandang, terjadi kongesti pada vena sentral dan terdapat beberapa hepatosit mengalami nekrosis. (Price dan Wilson, 1997; Underwood, 1997) menyatakan kerusakan hati dapat diketahui berdasarkan tingkat ringan dan berat, kerusakan ringan ditandai dengan pembengkakan sel atau degenerasi sel, kerusakan sedang ditandai dengan kongesti dan hemoragi dan apabila terjadi kerusakan berat ditandai dengan kematian sel dan apabila banyaknya darah yang ditampung oleh vena sentralis akan menyebabkan konsentrasi zat yang bersifat toksik jauh lebih besar sehingga hal inilah yang memperjelas kerusakan vena sentralis. Hal ini sesuai dengan hasil gambaran histologi tikus kelompok negatif dimana terjadi kerusakan berupa degenerasi sel, kongesti pada vena sentral dan hepatosit yang nekrosis.



Gambar 6, Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok Kontrol Positif (Pemberian Katekin). (a) Beberapa hepatosit mengalami degenerasi ringan

Hasil penelitian pengaruh Hewan uji yang diberikan suspensi katekin rutin dosis 200 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian suspensi katekin pada hari ke-14. Mengindikasikan bahwa pemberian katekin dapat meminialkan terjadinya kerusakan Hati karena katekin merupakan anti inflamasi dan antioksidan.

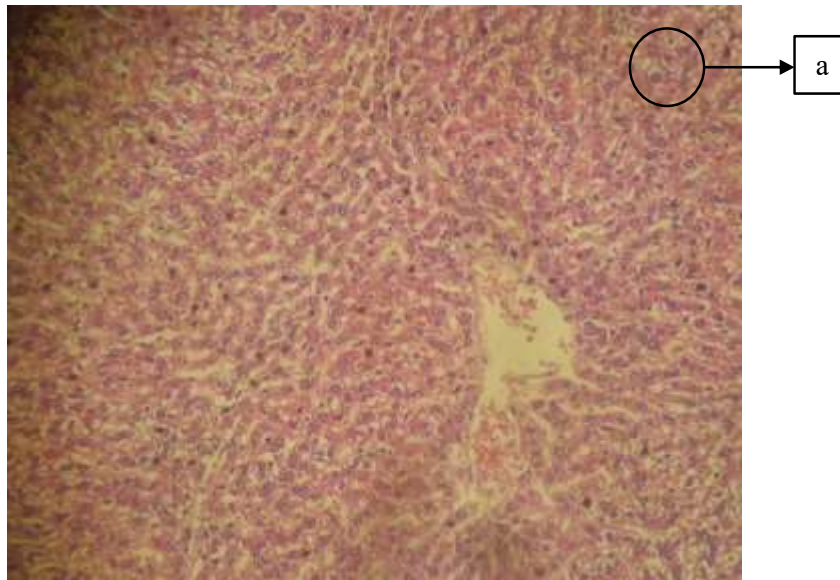
Katekin merupakan senyawa poliferasi merupapakan senyawa yang larut dalam air, tidak berwarna dan tidak pahit dari kelompok flavonoid, flavonoid sendiri biasanya banyak di temukan pada sayuran, buah-buahan dan terdapat juga pada buah jeruk sankis, komponen katekin ini dalam tubuh dapat berperan untuk memperbaiki kerusakan dan menghambat proses kerusakan yang kognitif. Hal ini sesuai dengan hasil uji histopatologi dimana pemberian katekin membuat kerusakan pada hepar tikus mengalami dengerasi minimal



Gambar 7, Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok yang Diberikan EEKJS Dosis Pemberian 300 mg/kgBB. (a) Hemorrhage pada sinusoid hepar; (b) Kumpulan hepatosit mengalami degenerasi

Hasil penelitian pengaruh hewan uji diberikan EEKJS dosis 300 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14, pengaruh pada pemberian parasetamol terlihat indikasi kerusakan pada hepar tikus ditandai dengan hemorrhage pada sinusoid hepar dan kumpulan hepatosit yang mengalami regenerasi.

Pada konsentrasi ini terdapat kerusakan hemorrhage merupakan kerusakan yang terjadi pada jaringan hati keluarnya darah dari system sirkulasi yang di akibatkan oleh kerusakan dan terjadi degenerasi sel akibat dari perubahan keadaan secara fisik dan kimia dalam sel. konstPrice dan Wilson, 1997; Underwood, 1997 menyatakan banyaknya darah yang ditampung oleh vena akan menyebabkan konsentrasi zat yang bersifat toksik jauh lebih besar sehingga hal inilah yang memperjelas kerusakan vena. menunjukkan adanya sel yang mengalami degenerasi hidropik. Di sini terlihat sel membengkak dan vakuola membesar. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa degenerasi hidropik merupakan pertanda awal kerusakan sel akibat terganggunya permeabilitas membran sel akibat penurunan jumlah ATP, sehingga memudahkan molekul air masuk dari ekstrasel ke intrasel secara berlebihan akibatnya terjadi pembengkakan sel dan vakuola membesar (Underwood, 1997).

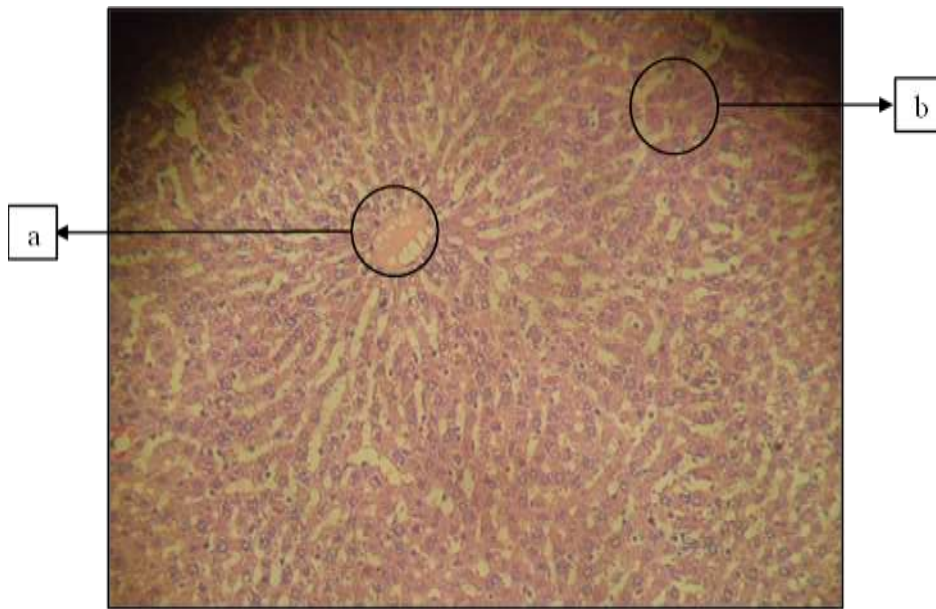


Gambar 8. Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok yang Diberikan EEKJS Dosis Pemberian 450 mg/kgBB. (a) Sejumlah hepatosit mengalami degenerasi

Hasil penelitian pengaruh hewan uji diberikan EEKJS dosis 450 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14 , Pengaruh pada pemberian parasetamol terlihat indikasi kerusakan pada hepar tikus ditandai dengan kongesti pada vena sentralis dan gambaran degerasi sel yang ringan.

Pada konsentrasi ini pengaruh pemberian EEKJS dosis 450 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari didapatkan penurunan degenerasi sel lebih ringan dari pada dosis EEKJS dosis 300 , Pada konsentrasi ini kongesti pada vena sentralis dimana terjadi pembendungan darah dikarenakan gangguan sirkulasi darah, Vena sentralis merupakan sebuah pembuluh vena yang dikelilingi oleh sel endothelium yang tersusun rapat (Flore, 1981) dan terletak pada pusat lobulus dengan hepatosit tersusun secara teratur ke arah vena sentralis (Price, 1997).menurut (sudiono 2003) kongesti terjadi dikarenakan pembengkakan pada sel di dalam hepatosit terdapat sitoplasma yang masih utuh dengan nukleus yang bulat. Di sepanjang hepatosit terdapat sinusoid tempat mengalirkan darah yang akan ditampung oleh vena sentralis (Junqueira, 1992; Fawcett, 2002), dan menunjukkan adanya sel yang mengalami degenerasi hidropik. Di sini terlihat sel membengkak dan vakuola membesar, sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa degenerasi hidropik merupakan pertanda awal kerusakan sel akibat terganggunya permeabilitas membran sel akibat

penurunan jumlah ATP, sehingga memudahkan molekul air masuk dari ekstrasel ke intrasel secara berlebihan akibatnya terjadi pembengkakan sel. Hal ini sesuai dengan pengamatan hasil histopatologi dimana EEKJS pada dosis 300 mg/kg bb kerusakan hati terlihat lebih berat dari dosis EEKJS 450 mg/kg bb, bahwa semakin tinggi dosis EEKJS yang diberikan tingkat dari kerusakan hati semakin minimal.



Gambar 9. Gambaran Histologi Hepar Tikus Kelompok yang Diberikan EEKJS Dosis Pemberian 600 mg/kgBB. (a) Kongesti pada vena sentralis; (b) Beberapa hepatosit menunjukkan gambaran degenerasi sel yang ringan.

Hasil penelitian pengaruh hewan uji diberikan EEKJS dosis 600 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14, Pengaruh pada pemberian parasetamol terlihat indikasi kerusakan pada hepar tikus ditandai dengan gambaran degerasi sel yang ringan.

Pengaruh pemberian diberikan EEKJS dosis 600 mg/kg bb mengakibatkan penurunan kerusakan sel hati pada tikus. Indikasi penurunan kerusakan struktur hepar yang ditandai dengan kerusakan ringan yaitu terlihat degenerasi sel yang minimal. sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa degenerasi hidropik merupakan pertanda awal kerusakan sel akibat terganggunya permeabilitas membran sel akibat penurunan jumlah ATP, sehingga memudahkan molekul air masuk dari ekstrasel ke intrasel secara berlebihan akibatnya terjadi pembengkakan sel dan vakuola membesar

(Underwood, 1997). Hal ini sesuai dengan pengamatan hasil histopatologi bahwa semakin tinggi dosis EEKJS yang diberikan maka kerusakan hati semakin minimal dan semakin ringan.

KAJIAN MANFAAT ANTIOKSIDAN KULIT JERUK SUNKIST DARI FAAL HEPAR TERHADAP PARASETAMOL

Prosedur Kerja

Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Pengumpulan bahan tumbuhan dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain. Sampel yang digunakan adalah kulit jeruk Sunkist (*Citrus sinensis* L. Osbeck) yang diperoleh dari Kecamatan Pancur Batu.

Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanense FMIPA USU. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah kulit jeruk Sunkist.

Pembuatan Simplisia

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit jeruk sunkist yang telah dikumpulkan dan dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian ditiriskan lalu disebar di atas kertas merang hingga airnya terserap, setelah itu bahan ditimbang. Kemudian bahan dikeringkan dengan cara di dalam lemari pengering. Berat dari bahan yang kering ditimbang. Selanjutnya disimpan dalam kantong plastik kedap udara ditempat yang terlindung dari sinar matahari.

Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Sunkist

Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Masukkan serbuk simplisia ke dalam wadah kaca, ditambahkan 75 bagian pelarut, tutup biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali. Maserat dipisahkan, diperas, ampas maserasi dicuci dengan etanol 96% hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari. Tuangkan atau saring dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ (Depkes RI, 1979).

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan alkaloida

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambah 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling, dipanaskan di atas penangas air

selama 2 menit. Ditunggu dingin dan disaring. Filtrat digunakan untuk percobaan berikut:

- d. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambah dengan 2 tetes larutan pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.
- e. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambah pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna cokelat sampai hitam.
- f. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambah dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff, akan terbentuk warna merah atau jingga.

Alkaloida positif jika terjadi endapan atau kekeruhan paling sedikit dua dari ketiga percobaan di atas (Depkes, RI., 1989).

Pemeriksaan flavonoida

Sebanyak 0,5 g simplisia disari dengan 10 mL metanol, lalu direfluks selama 10 menit. Kemudian disaring panas-panas melalui kertas saring kecil berlipat. Filtrat diencerkan dengan 10 mL air. Setelah dingin ditambahkan 5 mL eter, dikocok hati-hati dan didiamkan. Lapisan metanol diambil, lalu diuapkan pada suhu 40°C, sisanya dilarutkan dalam 5 mL etil asetat, disaring. Filtrat digunakan untuk uji flavonoida dengan cara sebagai berikut :

- a. Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan hingga kering, sisa dilarutkan. Dalam 1 sampai 2 ml etanol 96%, lalu ditambahkan 0,5 g serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit. Ditambahkan 10 ml asam klorida pekat, dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif menunjukkan adanya flavonoida.
- b. Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan hingga kering, sisa dilarutkan dalam 1 ml etanol 96%, lalu ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 10 ml asam klorida pekat, terjadi warna merah jingga, menunjukkan adanya flavonoida, (Depkes RI, 1989).

Pemeriksaan saponin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang mantap setinggi 1 sampai 10 cm tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Depkes, RI., 1989).

Pemeriksaan glikosida

Disari 3 g serbuk simplisia dengan 30 mL campuran etanol 95% dengan air (7:3) dan 10 mL asam sulfat 2 N. Direfluks selama 1 jam, didinginkan dan disaring. Pada 20 ml filtrat ditambahkan 25 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok dan didiamkan selama 5 menit, disaring. Disaring filtrat 3 kali, tiap kali dengan 20 mL campuran kloroform-isopropanol (3:2). Sari air digunakan untuk percobaan berikutnya yaitu 0,1 mL larutan percobaan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diuapkan di atas penangas air, sisa ditambahkan 2 mL air dan 5 tetes pereaksi Molish. Tambahkan 2 mL dengan hati-hati asam sulfat pekat melalui dinding tabung, terbentuknya cincin ungu pada kedua batas cairan menunjukkan adanya glikosida (Depkes, RI., 1995).

Pemeriksaan tanin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia, disari dengan 10 mL air suling lalu dipanaskan, lalu disaring. Filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1 %. Jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman, menunjukkan adanya tanin (Depkes, RI., 1989).

Pemeriksaan steroida dan triterpenoida

Sejumlah 1 g serbuk dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, disaring, filtrat diuapkan di cawan penguap. Sisanya ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Burchard). Apabila terbentuk warna ungu atau merah yang berubah menjadi biru ungu atau biru hijau menunjukkan adanya steroida/triterpenoida (Depkes, RI., 1989).

Pengujian Efek Hepatoprotektor

Pembuatan Suspensi Na CMC 0.5%

Pembuatan suspensi Na CMC 0.5% dilakukan dengan cara sebagai berikut: sebanyak 0,5 gram Na CMC ditaburkan kedalam lumpang yang berisi air suling panas sebanyak 10 mL. Didiamkan selama 15 menit hingga diperoleh masa yang transparan, digerus hingga terbentuk gel dan diencerkan dengan sedikit air suling, kemudian dituang ke dalam labu tentukur 100 mL, ditambah air suling sampai batas tanda. Suspensi ini digunakan sebagai pembawa EEKJS, parasetamol dan rutin.

Pembuatan Suspensi EEKJS

Sebanyak 300 mg EEKJS dimasukkan ke dalam lumpang dan ditambahkan suspensi Na CMC 0,5% sedikit demi sedikit sambil digerus

sampai homogen lalu dimasukkan ke labu tentukur 10 mL. Volume dicukupkan dengan suspensi Na CMC 0,5% sampai garis tanda. Prosedur yang sama dilakukan untuk pembuatan suspensi EEKJS 450 dan 600 mg/kg bb.

Pembuatan Suspensi Parasetamol

Suspensi parasetamol dalam suspensi Na CMC 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram serbuk parasetamol yang telah ditimbang ke dalam suspensi Na CMC 0,5% di dalam lumpang, digerus hingga homogen lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL. Volume dicukupkan dengan suspensi Na CMC 0,5% sampai garis tanda.

Pembuatan Suspensi Rutin

Suspensi rutin dibuat dengan cara memasukkan 20 mg serbuk rutin yang telah ditimbang ke dalam lumpang kemudian ditambahkan tween 80 tetes demi tetes sambil digerus hingga homogen, ditambahkan suspensi Na CMC 0,5% lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL. Volume dicukupkan dengan suspensi Na CMC 0,5% sampai garis tanda.

Pengujian pada Hewan Coba

Hewan uji dibagi atas 5 kelompok dan masing-masing terdiri dari 3 hewan percobaan. Pengujian aktivitas hepatoprotektor dijelaskan sebagai berikut:

- a. Kelompok I: kontrol negatif, hewan uji diberikan suspensi Na CMC 0,5% sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian suspensi Na CMC 0,5% pada hari ke-14. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.
- b. Kelompok II: kontrol positif, hewan uji diberikan suspensi katekin rutin dosis 200 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian suspensi katekin pada hari ke-14. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.
- c. Kelompok III: hewan uji diberikan EEKJS dosis 300 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.
- d. Kelompok IV: hewan uji diberikan EEKJS dosis 450 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14. . Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.

- e. Kelompok V: hewan uji diberikan EEKJS dosis 600 mg/kg bb sekali sehari selama 14 hari berturut-turut diikuti pemberian parasetamol dosis tunggal 1 g/kg bb 6 jam setelah pemberian ekstrak pada hari ke-14. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum.

Pengambilan Sampel Organ Serum

Pengambilan sampel organ dilakukan pada tikus yang telah dianastesi sebelumnya dengan menggunakan kloroform pada ruang tertutup. Setelah tikus teranastesi, pengambilan darah dilakukan dengan cara penarikan langsung dari jantung tikus sebanyak 1 ml. Dimasukkan ke dalam microtube dan didiamkan \pm 20 menit. Kemudian darah disentrifuge dengan kecepatan 300 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum darah tikus.

Pemeriksaan Kadar SGOT/SGPT

Penetapan aktivitas katalisator SGOT dan SGPT adalah berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen kit Dyasis® (R1 dan R2). Larutan sampel berisi campuran reagen 1 dan reagen 2 dengan perbandingan 4:1. Sebanyak 1000 μ l reagen kit SGOT dan SGPT masing-masing direaksikan dengan 100 μ l sampel, dan divortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya absorbansi sampel dibaca setelah 1.2 dan 3 menit menggunakan spektrofotometer UV (thermoscientific) pada panjang gelombang 340 nm dan suhu 37 $^{\circ}$ C. Prosedur penetapan aktivitas katalisator SGOT dan SGPT berdasarkan prosedur kerja dari Dyasis®. Kemudian dibandingkan rata-rata aktivitas katalisator enzim SGOT dan SGPT antar kelompok. Dikatakan adanya aktivitas hepatoprotektor apabila aktivitas katalisator SGOT dan SGPT dari EEKJS lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5% + parasetamol). Pemeriksaan SGOT dan SGPT dilakukan di Laboratorium Kesehatan, Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Utara.

Hasil Penelitian

Perbandingan Kadar SGOT dan SGPT pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus

Sebelum dilakukan uji beda terhadap kadar SGOT dan SGPT dari masing-masing kelompok perlakuan tikus, maka dilakukan uji Normalitas data dengan Uji Shapiro-wilk dan didapati bahwa data SGOT dan SGPT terdistribusi tidak normal. Maka dilakukan transformasi terhadap kadar SGOT dan SGPT yang didapat, kemudian data yang telah ditransformasi

diuji normalitasnya kembali dan didapati bahwa data terdistribusi normal. Karena data telah terdistribusi normal, maka uji beda dilakukan dengan statistik Parametrik berupa Uji One Way ANOVA.

Berdasarkan hasil analisa homogenitas data dengan menggunakan uji Levene, didapati bahwa data kadar SGOT darah tikus tidak homogen sedangkan data kadar SGPT darah tikus homogen. Maka, untuk uji lanjutan (Post Hoc test) digunakan uji Games-Howell untuk kadar SGOT dan uji Tukey HSD untuk kadar SGPT.

Kadar Serum SGOT pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus

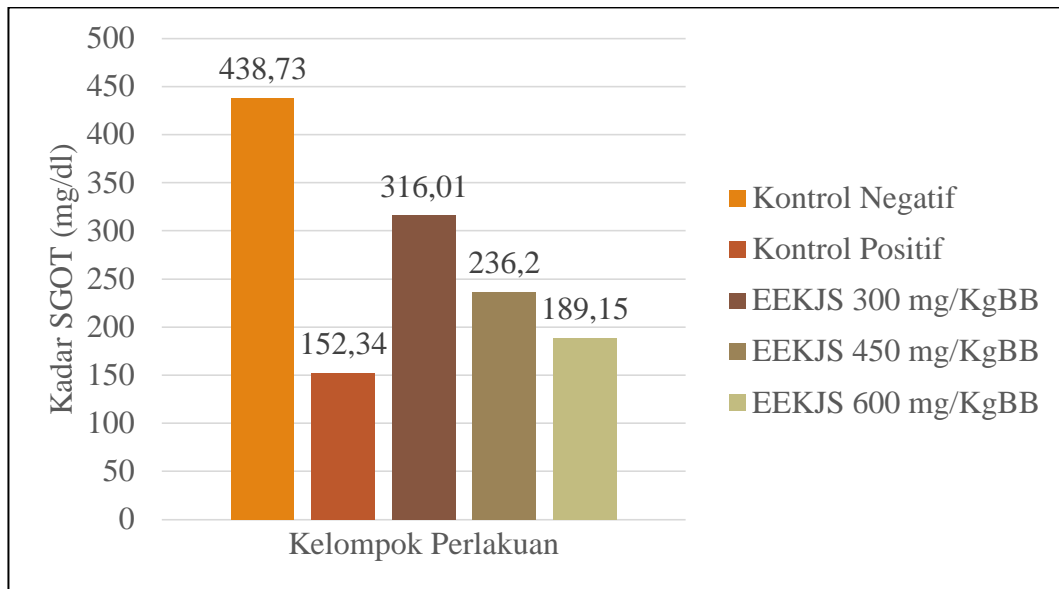
Adapun hasil analisa One Way ANOVA dan Uji Games-Howell sebagai uji lanjutan terhadap kadar SGOT dari masing-masing kelompok perlakuan ditunjukkan pada tabel di bawah ini.

Tabel 3, Perbandingan Kadar SGOT dari Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus dengan Menggunakan Games-Howell

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata SGOT	IK 95% dari Rata-rata SGOT	
		Batas Bawah	Batas Atas
Kontrol Negatif	438.73 ^a	294.71	652.98
Kontrol Positif	152.34 ^b	144.48	160.62
Kelompok Dosis 300 mg/KgBB	316.01 ^{a, c}	254.27	392.74
Kelompok Dosis 450 mg/KgBB	230.20 ^{b, c, d}	170.49	310.89
Kelompok Dosis 600 mg/KgBB	189.15 ^d	184.84	193.60

Data disajikan dalam bentuk Mean dan IK 95% dari Mean. Huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikansi pada $P < 0.05$.

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol negatif dengan seluruh kelompok perlakuan kecuali pada kelompok tikus yang diberi ekstrak dengan dosis 300 mg/KgBB. Sedangkan pada kelompok kontrol positif tidak terdapat perbedaan rata-rata kadar SGOT yang secara statistik bermakna dengan kelompok tikus yang diberikan ekstrak dosis 600 mg/KgBB namun pada dosis paling kecil (300 mg/kgBB) terdapat perbedaan rata-rata kadar SGOT yang secara statistik bermakna dengan kontrol positif. Diagram batang rata-rata hasil pengukuran serum SGOT pada tikus jantan dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 10, Perbandingan Rata-Rata Kadar SGOT pada Beberapa Kelompok Perlakuan Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol

Pada penelitian ini digunakan parasetamol (asetaminofen) sebagai penginduksi kerusakan hati. Jika penggunaannya di atas terapeutik window dapat mengakibatkan kerusakan hati. Parasetamol akan membentuk metabolik reaktif yang bersifat toksik (N-asetil-p-benzoquinon) dan radikal bebas melalui proses biotransformasi oleh enzim sitokrom P450 dengan bantuan isoenzim CYP2E1. Metabolit reaktif yang bersifat toksik dan radikal bebas dapat mengganggu integritas membran sel dan berlanjut menjadi kerusakan hati. Kerusakan hati terutama terjadi di area sentrolobuler karena enzim sitokrom P450 banyak terdapat di hati, Kerusakan membran sel menyebabkan hati mensekresi enzim SGOT dan SGPT (Alam, 2017).

Evaluasi kerusakan hati, dapat dilakukan melalui beberapa cara, salah satunya, dengan melakukan uji biokimia serum sebagai indikator kerusakan hati. Pemeriksaan berbagai enzim serum terutama enzim transaminase yang terdiri dari enzim SGPT dan SGOT, terbukti paling praktis sebagai indikator untuk mengukur banyaknya kerusakan hati. Uji enzim sering menjadi satu-satunya petunjuk adanya cedera sel pada penyakit dini hati atau local. Dua enzim Transaminase yang paling sering diukur pada penyakit hati yaitu serum glutamate oxaloacetic transaminase (SGOT) dan Serum Glutamic pyruvic transaminase (SGPT). Peningkatan aktivitas enzim SGOT ini menjadi petunjuk bahwa telah terjadi kerusakan hepar, karena sangat sedikit kondisi selain hepar yang berpengaruh terhadap kadar enzim ini dalam serum (khosravi, 2011).

Kadar Serum SGPT pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus

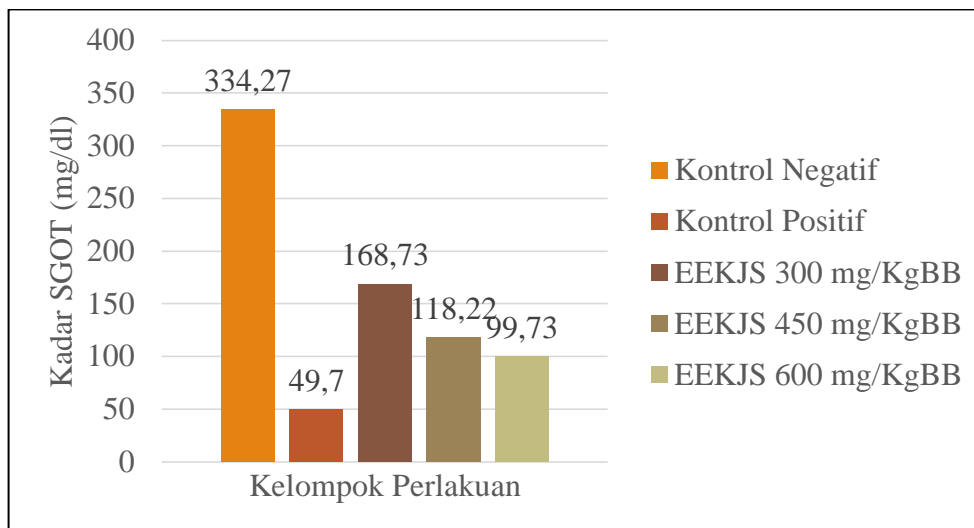
Adapun hasil analisa One Way ANOVA dan Uji Tukey HSD sebagai uji lanjutan terhadap kadar SGPT dari masing-masing kelompok perlakuan ditunjukkan pada tabel di bawah ini.

Tabel 4, Perbandingan Kadar SGPT dari Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus dengan Menggunakan Tukey HSD

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata SGPT	IK 95% dari Rata-rata SGOT	
		Batas Bawah	Batas Atas
Kontrol Negatif	334.27 ^a	85.88	1,301.07
Kontrol Positif	49.70 ^b	31.20	79.03
Kelompok Dosis 300 mg/KgBB	168.73 ^{a, c}	145.51	195.66
Kelompok Dosis 450 mg/KgBB	118.22 ^{c, d}	115.21	121.34
Kelompok Dosis 600 mg/KgBB	69.25 ^{b, d}	50.58	96.78

Data disajikan dalam bentuk Mean dan IK 95% dari Mean. Huruf kecil yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan signifikansi pada $P < 0.05$.

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang secara statistik bermakna antara kadar SGPT pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan lainnya kecuali pada kelompok dosis terkecil yaitu 300 mg/kgBB. Sedangkan pada kelompok kontrol positif secara statistik tidak dijumpai adanya perbedaan kadar SGPT pada kelompok tikus yang diberi ekstrak dosis 600 mg/kgBB namun menunjukkan adanya perbedaan yang secara statistik bermakna antara kadar SGPT pada kelompok kontrol positif dan kelompok tikus yang diberi ekstrak dosis 300 mg/kgBB dan 450 mg/kgBB. Diagram batang rata-rata hasil pengukuran serum SGPT pada tikus jantan dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 11, Perbandingan Rata-Rata Kadar SGPT pada Beberapa Kelompok Perlakuan Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol

Terjadinya penurunan kadar enzim SGPT dan SGOT merupakan salah satu indikasi kesembuhan sel-sel hati yang mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh parasetamol setelah pemberian ekstrak etanol kulit jeruk sunkist (*Citrus sinensi* L Osbeck). Hal ini disebabkan pada kulit jeruk sunkist mengandung kelompok senyawa antara lain flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan dapat bertindak sebagai penetral radikal bebas yang dihasilkan oleh metabolit parasetamol. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid yang terdapat pada kulit jeruk sinkist dapat dikaitkan dengan potensi hepatoprotektor kulit jeruk Sunkist (Sommella, 2017).

Senyawa metabolit sekunder (flavonoid dan fenolik) yang berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menekan pembentukan lipid peroksida darah tikus yang dirusak hatinya dengan menggunakan parasetamol (Pepe, 2018).

Mekanisme kerja senyawa antioksidan dengan cara memberikan elektronnya atau menghentikan reaksi dari radikal bebas, sehingga dapat mencegah reaksi rantai berlanjut dari peroksidasi lemak dan juga protein akibat dampak dari radikal bebas, Dengan demikian kerusakan sel lebih lanjut dapat dicegah. Pada penelitian ini digunakan parasetamol sebagai agen penginduksi kerusakan hati. Hal ini dikarenakan dosis tinggi parasetamol akan menghabiskan kapasitas konjugasi asam glukoronat dan asam sulfat, sehingga pembentukan metabolit reaktif NAPQI bertambah banyak melewati kapasitas konjugasi GSH. NAPQI ini

selanjutnya akan berikatan kovalen dengan makromolekul vital sel hati (lipid dan protein membrane) sehingga menyebabkan kerusakan hati. Adanya kerusakan sel-sel hati mengakibatkan peningkatan enzim SGPT, SGOT, alkalin fosfatase dll. Selain agen kimia, faktor stress seperti kekurangan suplai oksigen, aktivitas fisik yang berlebihan, trauma, suhu lingkungan yang tidak stabil, juga merupakan salah satu penyebab terjadinya kerusakan sel.

PENUTUP

Adapun kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Dari ekstrak Kulit Jeruk Sunkist terdapat kandungan fitokimia berupa flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, glikosida, dan alkaloid.
- b. Rata-rata kadar SGOT dan SGPT paling tinggi dijumpai pada kelompok tikus yang menjadi kontrol negatif dan paling rendah adalah pada kontrol positif. Sedangkan pada kelompok tikus yang diberi ekstrak, rata-rata kadar SGOT dan SGPT meningkat seiring dengan semakin kecilnya dosis ekstrak yang diberikan.
- c. Hasil gambaran histologi dari masing-masing kelompok perlakuan didapati bahwa pada kelompok tikus yang menjadi kontrol negatif dijumpai gambaran degenerasi, kongesti, dan nekrosis yang minimal. Sedangkan pada kelompok kontrol positif hanya dijumpai gambaran degenerasi yang minimal. Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak kulit jeruk sunkist dosis 600 mg/KgBB dijumpai adanya gambaran yang mirip dengan kontrol positif yaitu gambaran degenerasi yang minimal dan kongesti vena sentralis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anne ML. Acetaminophen Hepatotoxicity. *Clin Liver Dis.* 2007; 11(3): 525–548.
- Alam, J., Mujahid, M., Jahan, Y., Bagga, P., & Rahman, M. A. (2017). Hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Aquilaria agallocha* leaves against paracetamol induced hepatotoxicity in SD rats. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(1), 9-13.
- Baradero, M., M.W. Dayrit & Y. Siswadi. 2009. **Klien Gangguan Endokrin**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Baron, D.N. 1992. **Kapita Selekt Patologi Klinik**. Edisi Keempat. Penerjemah. Pilur Andrianto, dan Joko Gunawan. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Bastiansyah, E. 2012. **Panduan Lengkap Membaca Hasil Tes Kesehatan**. Penebar Plus. Jakarta.
- Corwin, E.J. 2010. **Buku saku patofisiologi**. Edisi revisi ketiga. Terjemahan N.B. Subekti. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Depkes RI. 1979. **Farmakope Indonesia** .Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Depkes RI. (1995). **Materia Medika Indonesia**. Jilid VI. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Depkes RI. 2010. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 2(2); 1-20. 2.
- Di Majo, D., M. Giammanco., M. La Guardia., E. Tripoli., S. Giammanco & E. Finotti. 2005. Flavanones in Citrus fruit: Structure antioxidant activity relationships. *Food Research International*. 38: 1161–1166.
- Etebu, E and Nwauzoma, A.B. 2014. A Review On Sweet Orange (*Citrus Sinensis* L Osbeck): Health, Diseases And Management. *American Journal of Research Communication*. Page 39-41.
- Elangovan, V., N. Sekar & S. Govindasamy. 1994. Chemopreventive potential of dietary bioflavonoids against 20-methylcholanthreneinduced tumorigenesis. *Cancer Letters*. 87: 107–113.
- Freddy I.W. 2007. **Analgesik, antipiretik, Anti Inflamasi Non Steroid dan Obat Pirai**. Farmakologi dan Terapi, Edisi 5. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Gaze, D.C. 2007. The Role of Existing and Novel Cardiac Biomarkers for Cardioprotection. *Curr Opin Invest Drugs*. London. 8(9): 711 – 712.
- Goodman, A., dan H. Gilman. 2014. **Dasar Farmakologi Terapi**. Editor J. G. Hardman., L. E. Limbird. Edisi. 10 Vol. 2. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. **Metode Fitokimia**. Penterjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung. Penerbit ITB.

- Husadha, Y. 1996. **Fisiologi dan Pemeriksaan Hepar. Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam.** Jilid 1. Edisi ketiga. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Ismeri. 2011. Aktivitas Ekstrak Etanol-Air Daun kari (*Murraya kuenigii*) sebagai Hepatoprotektor pada tikus putih galur sprague Dawley. Skripsi. FMIPA IPB. Bogor.
- Katzung, B.G. 2014. **Farmakologi Dasar dan Klinik.** Penerjemah dan Editor: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Erlangga. Edisi XII. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Khosravi, S., Alavian, S. M., Zare, A., Daryani, N. E., Fereshtehnejad, S. M., Daryani, N. E., ... & taba Vakili, S. T. (2011). Non-alcoholic fatty liver disease and correlation of serum alanin aminotransferase level with histopathologic findings. *Hepatitis monthly*, *11*(6), 452.
- Lv, X., Zhao, S., Ning, Z., Zeng, H., Shu, Y & Liu, Y. 2015. Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for human health. *Chemistry Central Journal*: Hal 1-2.
- Mescher, A.L. 2010. **Junquiera's Basic Histology Text & Atlas.** 12th ed. The McGraw-Hill Companies, Inc. New York.
- Mycek, M.J., Haevery, R.A & Champe, P.C. 2001. **Farmakologi: Ulasan Bergambar.** Penerjemah: Amru Agoes. Edisi II. Penerbit Widya Medika. Jakarta.
- Naharsari, N.D. 2007. **Bercocok Tanam Jeruk.** Cetakan 1. Azka Press. Semarang.
- Pepe, G., Sommella, E., Cianciarulo, D., Ostacolo, C., Manfra, M., Di Sarno, V., ... & Bertamino, A. (2018). Polyphenolic Extract from Tarocco (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Clone "Lemppo" Exerts Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects via NF- κ B and Nrf-2 Activation in Murine Macrophages. *Nutrients*, *10*(12), 1961.
- Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia. 2013. Hepatitis Imbas Obat (HIO)/Drug Induced Liver Injury (DILI). PPHI. Jakarta.
- Pracaya. 2003. **Jeruk Manis Varietas, Budidaya, dan Pascapanen.** Penebar Swadaya . Jakarta.
- Price, S.A., dan Wilson, L.M. (1997). **Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit.** Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Rustandi, M.I. 2006. Potensi Antioksidan Ekstrak Daun Sangitan (*Sambucus javanica Reinw ex Blune*) sebagai hepatoprotektor Pada Tikus. Skripsi. FMIPA IPB. Bogor.
- Sacher & McPerson. 2011. **Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium.** Edisi 11. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Sherlock, S. 2002. **Penyakit Hati dan Sistem Saluran Empedu.** Terjemahan P. Adrianto. Widyamedika. Jakarta.
- Silalahi, J. 2006. **Makanan Fungsional.** Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Smeltzer, S. Z & B.G. Bare. 2001. **Buku ajar Keperawatan Medikal Bedah Brunner & Suddarth.** Volume 2. Edisi 8. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Sommella, E., Pagano, F., Pepe, G., Ostacolo, C., Manfra, M., Chieppa, M., ... & Russo, M. (2017). Flavonoid Composition of Tarocco (Citrus sinensis L. Osbeck) Clone "Lempso" and Fast Antioxidant Activity Screening by DPPH-UHPLC-PDA-IT-TOF. *Phytochemical analysis*, 28(6), 521-528.
- Tjay, T.H & K. Rahardja. 2008. *Obat-Obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi 5. Gramedia. Jakarta.
- Tripoli, E., M. La Guardia., S. Giammanco., D. Di Majo. M. Giammanco. 2007. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties. *A review, Food Chemistry*. 104: 466–479.
- Verheij, E.M.W. dan R.E. Coronel. 1997. **Sumber Daya Nabati Asia Tenggara, Buah-buahan yang Dapat Dimakan**. Terjemahan S. Somaatmadja. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Widmann. 1995. **Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Wilmana, P.F. 1995. **Analgesik-antipiretik Analgesik Anti-inflamasi Nonsteroid dan Obat Pirai**. Dalam: Farmakologi dan Terapi. Edisi keempat. FK UI Press. Jakarta.