

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*), TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa*) DAN JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI MENCIT YANG DIINDUKSI PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

**SKRIPSI**



**UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A**

**Disusun Oleh:**

**FIQIH FALLAHIAN  
NIM: H91219045**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL  
SURABAYA  
2023**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Fiqih Fallahian

NIM : H91219045

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2019

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: “Pengaruh Kombinasi Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) dan Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Histopatologi Hati Mencit yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 20 Juni 2023

Yang menyatakan,



Fiqih Fallahian

NIM. H91219045

## HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Pengaruh Kombinasi Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) dan Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Histopatologi dan Berat Relatif Organ Hati Mencit yang Diinduksi Parasetamol

Diajukan Oleh:

Fiqih Fallahian

NIM: H91219045

Telah diperiksa dan disetujui

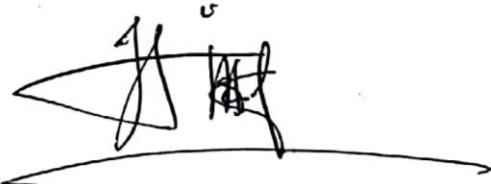
di Surabaya, 20 Juni 2023

Dosen Pembimbing Utama



Esti Tyastirin, M.KM  
NIP.198706242014032001

Dosen Pembimbing Pendamping



Dr. Moch. Irfan Hadi, S.KM., M.KL  
NIP.198604242014031003

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Fiqih Fallahian ini telah dipertahankan  
di depan tim penguji skripsi  
di Surabaya, 06 Juli 2023

Mengesahkan,  
Dewan Penguji

Penguji I



Esti Tyastirin, M.KM  
NIP.198706242014032001

Penguji II



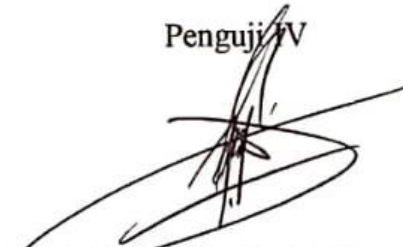
Dr. Moch. Irfan Hadi, S.KM., M.KL  
NIP.198604242014031003

Penguji III



Risa Purnamasari, S.Si., M.Si  
NIP. 201409002


Penguji IV



Eko Teguh Pribadi, S.KM., M.Kes  
NIP. 198001152014031001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
IJIN Sunan Ampel Surabaya



  
Dr. A. Saepul Hamdani, M.Pd  
NIP. 196507312000031002



**KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA  
PERPUSTAKAAN**

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Fiqih Fallahian  
NIM : H91219045  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
E-mail Address : fiqihfallahian.ff@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi     Tesis     Desertasi     Lain-lain (.....)  
yang berjudul :

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*), TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa*) DAN JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI MENCIT YANG DIINDUKSI PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 20 Juni 2023

Penulis

  
(Fiqih Fallahian)

## ABSTRAK

### **Pengaruh Kombinasi Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) dan Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Histopatologi Hati Mencit yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik**

Hepar memiliki peran dalam detoksifikasi dan metabolisme tubuh. Pengobatan alternatif dari tanaman herbal seperti temulawak, temu hitam dan jintan hitam berpotensi sebagai hepatoprotektor karena adanya kandungan senyawa antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas hepatoprotektor dari kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam terhadap histopatologi dan berat relatif organ hepar mencit yang diinduksi parasetamol. Penelitian ini menggunakan mencit sebanyak 24 ekor yang terdiri dari 6 kelompok, yaitu K+ (normal), K- (parasetamol), P1 (parasetamol+kombinasi 1:1:1), P2 (parasetamol+kombinasi 2:1:3), P3 (parasetamol+kombinasi 3:2:1), P4 (parasetamol+kombinasi 1:3:2). Kombinasi yang dimaksud secara berurutan ialah ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam dengan dosis 600 mg/kgBB. Induksi parasetamol dosis toksik 1 gr/kgBB diberikan oral selama 7 hari, lalu diberi induksi kombinasi ekstrak selama 7 hari berikutnya. Uji *One-Way ANOVA* memperoleh hasil  $p=0,00$  ( $p<0,05$ ). Hasil signifikansi uji *Duncan* mengindikasikan bahwa seluruh kelompok perlakuan dapat menurunkan Indeks Hepatosomatik (HSI) setelah terpapar parasetamol dosis toksik. Dosis efektif ditunjukkan pada kelompok perlakuan P1 (1:1:1) dalam mengurangi kerusakan histopatologi mencit akibat paparan parasetamol dosis toksik.

Kata kunci: berat relatif organ hepar, hepatoprotektor, histopatologi hepar, kombinasi ekstrak.

UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## ***ABSTRACT***

### **The Effect of Combination Extracts Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) and Black Cumin (*Nigella sativa*) on Mice Liver Histopathology Induced Toxic Doses of Paracetamol**

The liver plays a part in body metabolism and detoxification. Due to the presence of antioxidant components, herbal remedies made from plants like temulawak, black rhizome, and black cumin have the potential to act as hepatoprotectors. This study sought to ascertain the hepatoprotective effects of temulawak extract, black curcuma, and black cumin extract on the histology and relative liver weight of paracetamol-induced mice. In total, 24 mice were employed for this study, divided into 6 groups: K+ (normal), K- (paracetamol), P1 (paracetamol+combination 1:1:1), P2 (paracetamol+combination 2:1:3), P3 (paracetamol+combination 3:2:1), and P4 (paracetamol +combination 1:3:2). Black cumin, black rhizome, and temulawak extracts at a dose of 600 mg/kgBW are the combinations that are designed to be used sequentially. 1 g/kgBW of paracetamol was administered orally to induce a toxic dosage for 7 days, then given a combination of extracts for the next 7 days. The *One-Way ANOVA* test yielded  $p=0.00$  ( $p<0.05$ ). The significance of the Duncan test indicated that all treatment groups could reduce the Hepatosomatic Index (HSI) after being exposed to toxic doses of paracetamol. The effective dose was shown in the P1 treatment group (1:1:1) in reducing the histopathological damage of mice due to exposure to toxic doses of paracetamol.

Key words: combination extract, hepatoprotector, liver histopathology, relative weight of liver organ.

UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI .....	iv
PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	v
MOTTO .....	vi
HALAMAN PESEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
ABSTRAK .....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Hepar .....	6
2.2 Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	9
2.3 Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> ).....	11
2.3 Temu Hitam ( <i>Curcuma aeruginosa</i> ) .....	15
2.3 Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> ) .....	17
2.4 Ekstraksi .....	21
2.5 Parasetamol .....	21
BAB III METODE PENELITIAN .....	23
3.1 Rancangan Penelitian .....	23



3.2	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	23
3.3	Alat dan Bahan Penelitian .....	24
3.4	Variabel Penelitian .....	24
3.5	Prosedur Penelitian.....	24
3.6	Analisis Data .....	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		32
4.1	Rendemen Ekstrak.....	32
4.2	Uji Fitokimia .....	33
4.3	Berat Badan Mencit.....	37
4.4	Morfologi dan Berat Relatif Hepar .....	39
4.5	Histopatologi Hepar .....	41
BAB V PENUTUP .....		50
5.1	Kesimpulan.....	50
5.2	Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....		51



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Morfologi <i>Curcuma xanthorrhiza</i> .....	12
Tabel 2.2 Morfologi <i>Curcuma aeruginosa</i> .....	15
Tabel 2.3 Morfologi <i>Nigella sativa</i> .....	18
Tabel 3.1 Rancangan Penelitian .....	23
Tabel 3.2 Timeline Penelitian.....	23
Tabel 3.3 Skoring Manja Roenigk.....	30
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Temulawak, Temu Hitam dan Jintan Hitam.	33
Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Temulawak, Temu Hitam dan Jintan Hitam	34
Tabel 4.3 <i>Hepatosomatic Index</i> Hepar Mencit.....	40
Tabel 4.4 Hasil Skoring Kerusakan Histopatologi Hepar Mencit .....	42



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Letak Hepar Mencit.....	6
Gambar 2.2 Anatomi Hepar Mencit .....	7
Gambar 2.3 Histologi Lobulus Mencit .....	7
Gambar 2.4 Proses ROS Merusak Hepar .....	8
Gambar 2.5 Histologi Hepar Mencit .....	9
Gambar 2.6 Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	10
Gambar 2.7 Struktur Kurkumin.....	14
Gambar 2.8 Struktur Timokuinon .....	19
Gambar 2.9 Mekanisme Hepatoprotektor Timokuinon.....	20
Gambar 4.1 Grafik Rata-rata Berat Badan Mencit .....	37
Gambar 4.2 Morfologi Hepar Mencit.....	39
Gambar 4.3 Grafik Rata-rata Kerusakan Histologi Hepar Mencit .....	43
Gambar 4.4 Histologi Kerusakan Hepar Mencit .....	44



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Skoring Kerusakan Sel Hepar Mencit.....	58
Lampiran 2. Hasil Berat Relatif Organ Hepar Mencit.....	65



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hati merupakan organ terbesar dengan berat kurang lebih 25% berat badan orang dewasa atau sekitar 1,2 - 1,8 kg. Hati dikelompokkan menjadi dua bagian utama, yaitu lobus kanan dan lobus kiri. Hati memiliki peran yang sangat kompleks. Sirkulasi vena porta yang menyuplai 75% darah dari suplai asinus memiliki peranan penting dalam fisiologi hati, khususnya pada proses metabolisme karbohidrat, protein dan asam lemak (Azmi, 2016).

Kerusakan hati dapat disebabkan oleh beberapa faktor, meliputi obat, alkohol, infeksi, autoimun atau hepatitis (Wahyuningsih dan Sutjiatmo 2015). Penyakit hati cukup berdampak dalam kenaikan angka kematian di Indonesia. Hasil riset kesehatan dasar tahun 2018, prevalensi hepatitis di Indonesia naik dua kali lipat menjadi 0,4% dari tahun 2013 yaitu 0,2% (Balitbangkes RI, 2018).

Salah satu peran penting hati yaitu sebagai perlindungan dari zat toksik yang berasal dari luar tubuh, contohnya obat-obatan. Parasetamol termasuk jenis obat yang umumnya digunakan dalam mengobati demam, sakit kepala dan nyeri. Obat ini mudah diperoleh dan telah dikenal luas oleh masyarakat sebagai analgetik dan antipiretik. Walaupun aman dikonsumsi pada dosis terapeutik, namun overdosis obat akibat pemakaian jangka panjang ataupun penyalahgunaan masih sering terjadi. Tingkat toksisitas obat juga masih belum banyak diketahui oleh masyarakat, sehingga sering terjadi overdosis (Rafita *et al*, 2015).

Parasetamol juga berpotensi menyebabkan hepatotoksik. Hepatotoksitas parasetamol pada manusia dapat timbul pada penggunaan dosis sekitar 10-15 gram, sedangkan pada dosis sekitar 20-25 gram bahkan lebih berkemungkinan dapat mengakibatkan kematian (Lestari *et al*, 2019). Chefirat *et al* (2020) mengungkapkan bahwa parasetamol dapat mengakibatkan toksisitas selama 24 jam awal dengan beberapa gejala, antara lain anoreksia, sakit perut, mual dan muntah, serta akan berkelanjutan hingga tujuh hari bahkan lebih yang membuat hilangnya nafsu makan sehingga berat badan menjadi berkurang. Overdosis parasetamol dapat

menyebabkan terjadinya nekrosis sel hepar pada daerah sentrolobuler sehingga berakibat pada gagal hepar akut. Ketika mengalami overdosis, kadar *glutathion* (GSH) dalam sel hati menjadi menurun drastis sehingga hepatosit menjadi rentan terhadap zat oksidan, serta menjadikan N-asetil-p-benzokuinon (NAPQI) berikatan secara kovalen dengan makromolekul sel sehingga berdampak pada kegagalan beberapa fungsi sistem enzim. Senyawa NAPQI memiliki sifat toksik dan dapat menimbulkan adanya reaksi rantai radikal bebas (Rafita *et al*, 2015).

Metabolisme parasetamol menjadi produk radikal bebas NAPQI dilakukan oleh enzim sitokrom P450 yang berlokasi di hati. Dalam kondisi normal, NAPQI akan berkonjugasi dengan GSH untuk membentuk senyawa sistein (non toksik) yang nantinya akan diekskresikan lewat urin. Sedangkan pada kondisi toksik, kadar NAPQI menjadi berlebihan sehingga GSH tidak dapat menetralkan senyawa toksik dari NAPQI. Selanjutnya, hepatosit akan berikatan dengan NAPQI dalam menyusun NAPQI *protein adduct* (protein tambahan) yang mengakibatkan nekrosis hepatoseluler dan stress oksidatif (Putri & Yuliawati, 2021).

Temulawak (*C. xanthorrhiza*) merupakan herbal asli Indonesia yang telah dikenal lama dalam pengobatan tradisional untuk mengobati gangguan hati seperti hepatitis. Hasil studi Syamsudin *et al* (2019), menunjukkan khasiat temulawak secara empiris sebagai bahan pangan, obat tradisional, memperbaiki batu empedu, perlindungan hati dan ginjal, serta mengobati sariawan dan keputihan. Selain itu, juga dilaporkan bahwa temulawak dapat memperbaiki kerusakan hati dengan aktivitas antioksidannya dan mengobati radang sendi dengan kemampuan antiinflamasi (Rahmat *et al*, 2021). Tingginya aktivitas antioksidan temulawak sejalan dengan hasil IC<sub>50</sub> yaitu sebesar 51,17 ppm (Wahyuningtyas *et al*, 2017). Penelitian Devaraj *et al* (2014) menguji pemberian ekstrak temulawak dosis 500 mg/kgBB selama 7 hari pada hepar tikus dengan induksi CCL<sub>4</sub>-, hasilnya menunjukkan adanya peningkatan signifikan dalam peran biokimia hepar, aktivitas peroksidasi lipid, dan menghambat peningkatan kadar enzim hepar. Penelitian Amalia & Suryani (2020) mengungkapkan bahwa ekstrak temulawak dosis 500 mg/kgBB efektif sebagai hepatoprotektor dalam memperbaiki histologi hepar pada tikus yang diinduksi parasetamol.

Selain temulawak, terdapat juga temu hitam (*Curcuma aeruginosa*) yang keduanya berasal dari famili Zingiberaceae dan sering digunakan sebagai obat tradisional. Penelitian terkait potensi rimpang temu Hitam dalam pengobatan herbal telah banyak diteliti, namun masih sedikit referensi mengenai potensi temu hitam sebagai hepatoprotektor pada penggunaan zat obat seperti parasetamol dalam dosis toksik. Lim (2016) menunjukkan temu hitam memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan temu hitam memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 14,36 ppm (Moon-ai *et al*, 2012). Hasil penelitian Novarini *et al* (2022) menunjukkan ekstrak temu hitam memiliki aktivitas superoksida dismutase (SOD) yang cukup baik pada konsentrasi amonium sulfat 100% yaitu sebesar 83,069%, dimana semakin tinggi aktivitas SOD maka nilai  $IC_{50}$  semakin rendah.

Jintan hitam (*Nigella sativa*) atau yang dikenal sebagai *Habbatussauda* merupakan herbal yang telah banyak diuji peneliti karena latar belakang sejarah dan agamanya. Biji jintan hitam telah banyak dilaporkan memiliki khasiat pada berbagai macam penyakit yang dibuktikan dari sejarah dan latar belakang dari agama khususnya pada negara islam (Nurchollifah *et al*, 2021). Induksi jintan hitam dosis 900 mg/kgBB diketahui dapat menekan peroksidasi lipid dan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS), serta meningkatkan aktivitas antioksidan pada tikus yang diinduksi parasetamol (Adam *et al*, 2016). Penelitian Sukardi *et al* (2021), didapati nilai  $IC_{50}$  dari jintan hitam memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat ( $IC_{50} < 50$  ppm) yaitu sebesar 49,08 ppm. Kushwah *et al* (2014) menunjukkan induksi *N. sativa* dosis 500 mg/kgBB selama 7 hari secara signifikan dapat mencegah peningkatan enzim hepar dan bilirubin total, serta memblok deplesi GSH yang disebabkan hepatotoksisitas parasetamol. Selain itu, ekstrak jintan hitam dosis 500 mg/kgBB efektif sebagai hepatoprotektor dalam memperbaiki histologi hepar pada tikus yang diinduksi parasetamol (Amalia & Suryani, 2020).

Dalam Al-Qur'an banyak disebutkan mengenai potensi tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Sebagaimana yang telah dijelaskan dalam Q.S. Asy-syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Terjemahan:

“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (QS. Asy-Syu'ara 26:7).

Berdasarkan ayat di atas, dapat dipahami bahwa Allah SWT senantiasa memberi isyarat pada manusia untuk selalu memperluas dan mengembangkan ilmu pengetahuan, utamanya ilmu yang membahas mengenai obat yang berasal dari alam baik dari tanaman maupun hewan. Masing-masing memiliki kandungan suatu zat yang dapat digunakan dalam proses pemulihan suatu penyakit yang diderita manusia. Walaupun tidak semua tanaman yang ada di bumi dapat menyembuhkan suatu penyakit tertentu, namun setiap tanaman memiliki manfaat tersendiri yang harus dikaji lebih lanjut oleh manusia (Shihab, 2002).

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, peneliti akan menguji kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam sebagai agen hepatoprotektor untuk mengetahui kombinasi yang sesuai di antara ketiga bahan uji tersebut. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengambil judul penelitian mengenai “Pengaruh Kombinasi Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) dan Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Histopatologi Hati Mencit yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik”.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam, dan jintan hitam pada berat relatif hepar mencit yang diinduksi dosis toksik parasetamol?
2. Bagaimana pengaruh kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam pada histopatologi hepar mencit yang diinduksi dosis toksik parasetamol?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam, dan jintan hitam pada berat relatif hepar mencit yang diinduksi dosis toksik parasetamol.
2. Mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam pada histopatologi hepar mencit yang diinduksi dosis toksik parasetamol.



#### 1.4 Batasan Penelitian

1. Parameter yang diamati pada gambaran histologi hepar yaitu hepatosit normal, degenerasi parenkim, degenerasi hidropik dan nekrosis. Selain itu, pada parameter berat relatif hati diamati warna, tekstur dan pembengkakan organ hepar berdasarkan berat badan mencit.
2. Hewan uji yang digunakan adalah 24 ekor mencit betina yang berumur 5-7 minggu dan berat 20–30 gram.
3. Maserasi menggunakan pelarut akuades.
4. Induksi zat toksik yang digunakan adalah parasetamol.
5. Bahan terapi yang digunakan yaitu temulawak, temu hitam dan jintan hitam.
6. Pemberian bahan terapi dan zat toksik pada mencit diberikan secara oral.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

a. Manfaat Teoritis

Diharapkan penelitian ini akan meningkatkan pengetahuan tentang efek hepatoprotektor temulawak, temu hitam, dan jintan hitam.

b. Manfaat Praktis

1) Bagi masyarakat

- a) Memberi informasi bahwa temulawak, temu hitam dan jintan hitam dapat digunakan sebagai produk alternatif pelindung hati (hepatoprotektor)
- b) Menambah wawasan mengenai temulawak, temu hitam dan jintan hitam sebagai bahan pengobatan alternatif yang berkhasiat, terjangkau dan aman.

2) Bagi Akademis

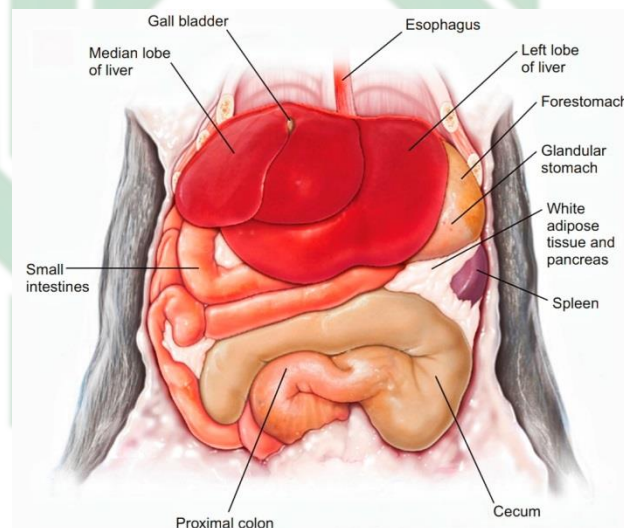
- a) Berkontribusi pada perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya program studi biologi.
- b) Menambah wawasan dan referensi baru terhadap pemikiran penelitian yang lebih lanjut.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

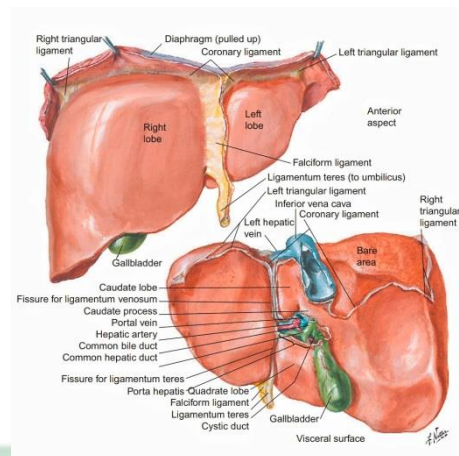
#### 2.1 Hepar

Hepar termasuk organ berukuran besar dengan berat mencapai 2% dari total berat badan pada manusia, sedangkan berat hepar pada mencit mencapai 6% dari total berat badan. Perbedaan ini terlihat pada membesarnya rongga abdomen pada mencit. Letak hepar berada di rongga atas abdomen sebelah kanan pada manusia, sedangkan terlihat membentang di seluruh wilayah subdiafragmatik pada mencit (Rogers & Dintzis, 2012). Letak hepar mencit ditunjukkan pada Gambar 2.1.



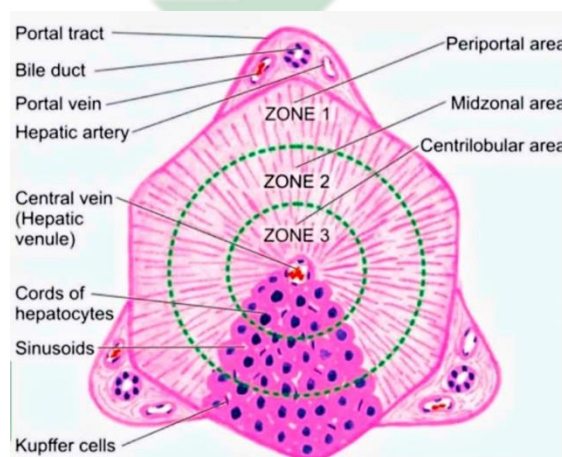
Gambar 2.1. Letak Hepar Mencit  
(Sumber: Rogers & Dintzis, 2012).

Hepar mencit terdapat empat lobus meliputi lobus kiri (terbesar), kanan, medial dan caudatus. Lobus kanan mempunyai sekat melintang yang memisahkan lobus caudatus dengan lobus kranial. Lobus medial mempunyai kedua sayap piriform yang dilekatkan oleh kantung empedu, serta berlokasi paling atas dan menonjol. Lobus terbesar terdapat pada lobus kiri yang umumnya digunakan dalam pengamatan histologi. Lobus caudatus berukuran kecil dan mempunyai dua segmen yang tampak menyerupai bentuk telinga seperti yang dilihat pada Gambar 2.2. (Rogers & Dintzis, 2012).



Gambar 2.2. Anatomi Hepar Mencit  
(Sumber: Rogers & Dintzis, 2012).

Secara histologis, sebagian besar hepar terdiri dari hepatosit. Hepatosit berstruktur radial dan mengarah dari vena portal menuju vena sentral membentuk lempengan dengan beberapa saluran portal pada bagian perifer dan vena sentral yang berlokasi di bagian pusat dinamakan lobulus klasik hepar. Lobulus mencit terbagi dalam tiga area yaitu area sekitar saluran portal (zona 1), area pertengahan (zona 2) dan area sekitar vena sentral (zona 3) (Rogers & Dintzis, 2012). Pembagian area lobulus mencit ditunjukkan pada Gambar 2.3.

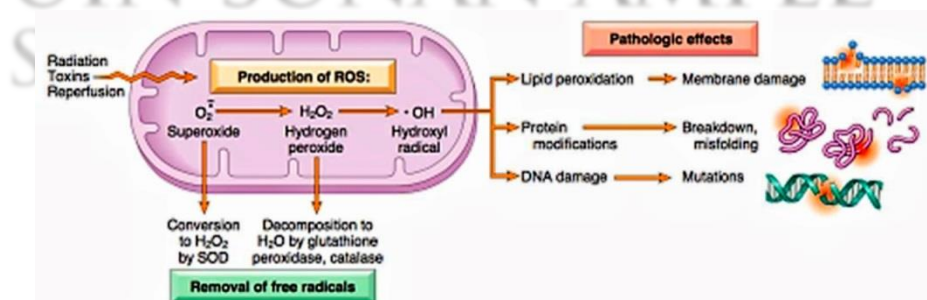


Gambar 2.3. Histologi Lobulus Mencit  
(Sumber: Mohan, 2010).

Hepar berperan penting dalam detoksifikasi tubuh, homeostasis dan pengatur dari seluruh rangkaian metabolisme (Rogers & Dintzis, 2012). Hasil metabolisme berupa nutrisi dikumpulkan di darah melalui vena hepatica, selanjutnya

didistribusikan lewat sirkulasi darah menuju seluruh tubuh. Selain itu, hepar juga dapat menjadi perantara darah dengan pencernaan, dimana sekitar 70-80% darah di hepar merupakan pasokan dari vena porta hepatica. Sedangkan sisanya sekitar 20-30% merupakan pasokan dari arteri hepatica yang mengandung banyak oksigen. Aliran darah dari arteri hepatica dan vena porta hepatica akan mengalir melewati area portal menuju sinusoid (perifer) hingga sampai ke vena portal. Vena sentral dari lobulus hepar mengedarkan darah menuju vena hepatica hingga aliran darah meninggalkan posterior hepar dan menuju vena cava inferior (Andini & Rahman, 2022).

Terjadinya kerusakan hepar dapat berdampak pada sel hepar sebab peran utamanya dalam detoksifikasi tubuh dan pengatur proses metabolisme. Hal ini disebabkan terkena paparan zat kimia lewat oral, parenteral ataupun inhalasi. Keracunan zat kimia dapat menjadi pemicu munculnya *Reactive Oxygen Species* (ROS). Eksistensi ROS mengakibatkan stress oksidatif sehingga menyebabkan kerusakan hepar, seperti hepatitis, kanker hati dan sirosis (Li *et al*, 2015). Radikal bebas dapat merusak hepar dengan cara merusak struktur membran hepatosit atau lapisan fosfolipid sehingga mengganggu permeabilitas membran dan meningkatkan influks kalsium dari ekstrasel. Kondisi ini mengakibatkan aktifnya enzim perusak DNA. Rusaknya DNA dapat meningkatkan poliribosom dan menyebabkan sintesis ATP menjadi terhambat. Proses ROS dalam merusak hepar ditunjukkan pada Gambar 2.4.



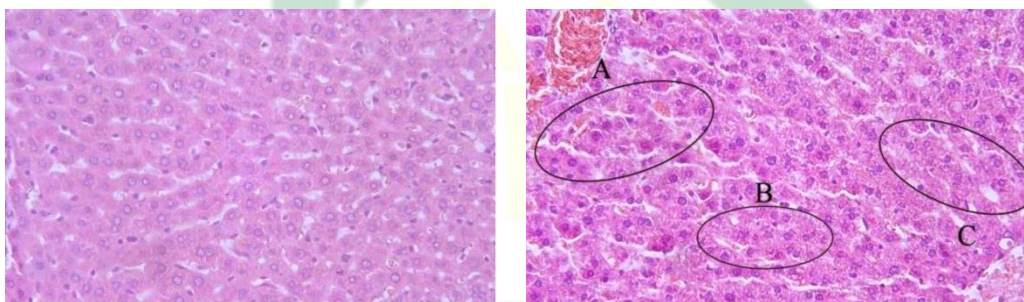
Gambar 2.4. Proses ROS Merusak Hepar

(Sumber: Kumar *et al*, 2014).

Menurut Putri dan Yulawati (2021), saat hepar mengalami gangguan metabolisme akibat intoksikasi zat kimia akan menyebabkan degenerasi sel dan

nekrosis. Nekrosis ditandai dengan kematian sel yang tidak normal, warna inti sel hitam, terjadi fragmentasi, sel tampak mengecil dan berkerut. Selain itu, juga terjadi degenerasi sel yang ditandai dengan pembengkakan sel dan vakuolisasi dalam sitoplasma.

Berdasarkan Gambar 2.5 histologi hepar mencit normal diketahui hepatosit tampak tersusun radier dengan vena sentralis sebagai pusatnya, batas antar sel tegas, tidak ditemukan degenerasi, nekrosis maupun proliferasi sel kupffer. Sedangkan pada histologi hepar yang diinduksi parasetamol tampak batas antar sel tidak tegas, mengalami pendarahan (Gambar 2.5 A), ditemukan degenerasi, nekrosis (Gambar 2.5 B) maupun proliferasi sel kupffer (Gambar 2.5 C) (Amalia & Suryani, 2020).



a) Normal

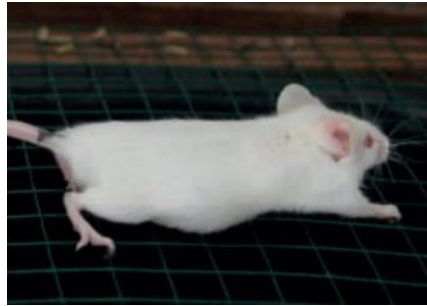
b) parasetamol

Gambar 2.5 Histologi Hepar Mencit (Perbesaran 400x dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*)

(Sumber: Amalia & Suryani, 2020)

## 2. 2 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan uji coba laboratorium yang paling banyak digunakan dalam penelitian. Ukuran mencit lebih kecil dibandingkan tikus, panjang 12-20 cm termasuk ekor dan berat badan mencit dewasa sekitar 20-45 gram. Ekor mencit panjang dan tipis, serta berbulu. Bagian moncongnya berbentuk segitiga dengan kumi panjang. Rambut mencit berwarna putih keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Telinga mencit besar dan tidak kaku. Pendengarannya mulai aktif di umur 3 minggu (Rejeki *et al*, 2019).



Gambar 2.6. Mencit (*Mus musculus*)  
(Sumber: Rejeki *et al*, 2019)

Organ pencernaan mencit sama halnya dengan mamalia lainnya yang tersusun dari lambung, esofagus, jejunum, duodenum, kolon, sekum dan rektum. Pemberian pakan pada mencit harus masih segar dan tidak boleh lebih dari enam bulan waktu penyimpanan. Mencit juga sering menunjukkan perilaku menggali dan bersarang. Hal ini membantu mencit dalam mempertahankan suhu tubuhnya. Hewan ini sangat aktif pada malam hari sehingga termasuk kelompok hewan nokturnal. Sifat mencit tidak terlalu agresif, namun terkadang dapat menggigit jika seseorang berusaha menahannya atau meraihnya. Kegagalan dalam perencanaan aklimasi dan stabilisasi pada hewan coba dapat memberikan hasil statistik yang berbeda secara signifikan pada hasil penelitian dan berakibat pada data yang tidak akurat (Rejeki *et al*, 2019). Klasifikasi taksonomi mencit (*Mus musculus*) yaitu sebagai berikut (Kartika *et al*, 2013) :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Geunus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

Umumnya penggunaan mencit bertujuan untuk menguji aktivitas suatu zat pada penyakit. Beberapa keuntungan mencit sebagai hewan uji, yaitu tingkat reproduksi tinggi, mudah beradaptasi, harganya murah, struktur tubuh mudah dipahami dan karakteristiknya mirip dengan manusia (Putri, 2018).

#### 1. Tingkat Reproduksi Mencit Tinggi

Siklus hidup mencit sebagai hewan pengerat termasuk ke dalam siklus hidup pendek sebab waktu hidupnya hanya berkisar antara 2-3 tahun. Meski siklus hidupnya relatif pendek, namun tingkat reproduksinya tergolong tinggi sehingga aman dari ancaman kepunahan.

## 2. Adaptasi Mencit Mudah

Mencit diketahui dapat beradaptasi dengan mudah pada lingkungan baru. Kondisi ini dapat berpengaruh pada kesehatan mencit dan mengurangi faktor stress. Selain itu, ukurannya yang kecil juga mempermudah dalam pemberian perlakuan selama penelitian berlangsung.

## 3. Harga Mencit Murah

Faktor harga menjadi pengaruh pada biaya penelitian sehingga mencit dapat diperoleh dalam jumlah banyak.

## 4. Struktur Tubuh Mencit Mudah Dipahami

Mudahnya pemahaman fisiologi dapat mempengaruhi waktu, ketepatan dan berhasilnya suatu penelitian. Selain itu, faktor penyebab perubahan fisiologi dan anatomi mencit dapat dengan mudah diketahui.

## 5. Karakteristik Mencit Mirip Manusia

Tujuan digunakannya mencit salah satunya karena memiliki struktur genetik, anatomi dan fisiologi yang mirip dengan manusia. Hal ini dapat menjadikan hasil penelitian lebih akurat sebab tingkah laku dan karakter biologis yang serupa dengan manusia.

### 2.3 Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Temulawak (*C. xanthorrhiza*) merupakan salah satu tanaman asli Indonesia, khususnya pulau Jawa yang sering dibudidayakan di beberapa negara Asia seperti Malaysia, Filipina dan Thailand. Selain Asia, *C. xanthorrhiza* juga ditemukan di beberapa negara Eropa, seperti Amerika, Korea, Jepang dan negara lainnya (Rahmat *et al*, 2021). Umumnya *C. xanthorrhiza* dikenal dengan nama temulawak (Indonesia), koneng gede (Sunda) dan *Javanese tumeric* (Inggris). Tanaman ini terkenal sebagai bahan utama dalam pengobatan tradisional yang berkhasiat dalam mengatasi gangguan pencernaan, keputihan, sakit kuning, daya tahan tubuh

meningkat dan menjaga kesehatan (Syamsudin *et al*, 2019). Berdasarkan taksonominya, *C. xanthorrhiza* diklasifikasikan sebagai berikut (Kustina *et al*, 2020):

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Magnoliophyta  
 Kelas : Monocotyledoneae  
 Ordo : Zingiberales  
 Famili : Zingiberaceae  
 Genus : *Curcuma*  
 Spesies : *Curcuma xanthorrhiza* Roxb

*C. xanthorrhiza* merupakan tanaman termasuk ke dalam famili Zingiberaceae yang banyak dijumpai pada daerah tropis dan dapat hidup di dataran rendah hingga ketinggian 1.500 m dpl. Tinggi *C. xanthorrhiza* dapat mencapai 2 m dengan panjang akar sekitar 2,5 cm dan berjenis akar serabut. Daun *C. xanthorrhiza* berbentuk bulat memanjang, berwarna hijau, panjang 31-84 cm dan lebar 10-18 cm. Bunga *C. xanthorrhiza* bertipe majemuk berbentuk bulir dengan panjang sekitar 9-23 cm, lebar 4-6 cm, mahkota bunga berwarna merah muda dan bunga layu pada sore hari sedangkan mekar pada pagi hari. Kelopak *C. xanthorrhiza* berbulu putih dengan panjang 8-13 mm, berbentuk tabung dengan panjang 4,5 cm (Kustina *et al*, 2020). Rimpang *C. xanthorrhiza* termasuk rimpang terbesar pada genus *Curcuma* yang terdiri dari dua jenis, yaitu induk dan cabang. Rimpang induk berwarna coklat kemerahan atau kuning tua dan bagian dalamnya berwarna jingga kecoklatan, sedangkan rimpang cabang tumbuh keluar dari induk, ukurannya lebih kecil dengan warna yang lebih muda. Selain itu, rimpang *C. xanthorrhiza* memiliki rasa pahit dan aromatik (Syamsudin *et al*, 2019).

Tabel 2.1 Morfologi *Curcuma xanthorrhiza*

Bagian Tanaman	Foto Literatur	Dokumentasi Pribadi
-------------------	----------------	------------------------



---

 Bunga
(Rahmat *et al*, 2021)

Daun

(Rahmat *et al*, 2021)

Rimpang

(Rahmat *et al*, 2021)

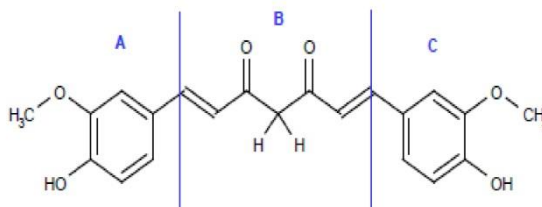
---

 UIN SUNAN AMPEL  
 S U R A B A Y A
 

---

Senyawa utama pada kandungan *C. xanthorrhiza* yaitu kurkuminoid, terpenoid dan senyawa fenolik lainnya. Selain itu, *C. xanthorrhiza* juga mengandung pati, air, proterin, lemak, abu dan kurkumin (Rahmat *et al*, 2021). Genus *Curcuma* erat kaitannya dengan senyawa bioaktif seperti kurkuminoid. Kurkuminoid merupakan senyawa polifenol yang berwarna kuning seperti pada kunyit, temulawak dan tanaman Zingiberaceae lainnya. Struktur kurkuminoid terdiri dari kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin dengan kandungan kurkuminoid

secara berturut-turut sebesar 75%, 16% dan 8% seperti pada Gambar 2.7 (Marinda, 2014).



Gambar 2.7 Struktur Kurkuminoid

(Marinda, 2014)

Penelitian Devaraj *et al* (2014) menguji pemberian ekstrak *C. xanthorrhiza* dosis 500 mg/kgBB selama 7 hari pada hepar tikus dengan induksi CCL<sub>4</sub>-, hasilnya menunjukkan adanya peningkatan signifikan dalam peran biokimia hepar, aktivitas peroksidasi lipid, dan menghambat peningkatan kadar enzim hepar (ALT, ALP dan ASP). Selain itu, kandungan senyawa kurkumin pada *C. xanthorrhiza* memiliki aktivitas antioksidan sehingga mencegah kerusakan hepatosit, meningkatkan *gluthation* (GSH) dan menghambat proinflamasi melalui proses mediasi oleh *Superoxide Dismutase* (SOD) yang termasuk enzim antioksidan yang selanjutnya akan mengkonversi ion superoksida menjadi produk yang kurang toksik (Marinda, 2014). Beberapa hasil penelitian tersebut mengindikasikan bahwa *C. xanthorrhiza* benar adanya memiliki efek hepatoprotektor yang berperan dalam mengobati kerusakan hepar.

Rimpang *C. xanthorrhiza* banyak digunakan dalam pengobatan tradisional, namun setelah dilakukan evaluasi secara ilmiah terbukti bahwa *C. xanthorrhiza* dapat mengobati penyakit kulit seperti antijerawat dan gangguan pencernaan seperti diare, disentri, wasir, sembelit dan lainnya terkait dengan aktivitas antibakterinya. Selain itu, juga dilaporkan bahwa *C. xanthorrhiza* dapat memperbaiki kerusakan hati dengan aktivitas antioksidannya dan mengobati radang sendi dengan kemampuan antiinflamasinya (Rahmat *et al*, 2021). Hasil studi Syamsudin *et al* (2019), menunjukkan khasiat *C. xanthorrhiza* secara empiris sebagai bahan pangan, obat tradisional, memperbaiki batu empedu, perlindungan hatidan ginjal, serta mengobati sariawan dan keputihan.

#### 2. 4 Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*)

Temu Hitam berasal dari famili Zingiberaceae dan sering digunakan sebagai obat tradisional. Spesies ini merupakan herba perennial aromatik dengan tinggi 30-40 cm yang diperkirakan berasal dari Burma dan menyebar ke negara-negara tropis seperti Malaysia, Thailand, India, dan Indonesia (Dosoky & Setzer, 2018).

Berdasarkan taksonominya temu Hitam diklasifikasikan sebagai berikut (Sastroamidjojo, 2001):

Kingdom : Plantae

SubKingdom : Tracheobionta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

SubKelas : Commelinidae

Ordo : Zingiberales

Famili : Zingiberaceae

Genus : *Curcuma*

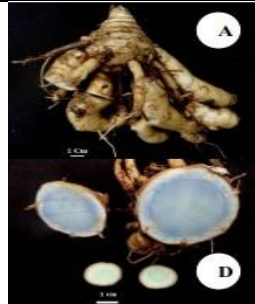
Spesies : *Curcuma aeruginosa* Roxb

Temu Hitam termasuk herba tegak dengan panjang rimpang mencapai 16 cm dan tebal 3 cm. Rimpang bagian luar berwarna coklat muda, ujungnya berwarna merah muda, dan bagian dalamnya berwarna kebiruan dengan korteks putih (Lim, 2016). Tanaman ini berbatang semu dan berjenis daun tunggal, berbentuk memanjang hingga lanset (*oblong lanceolate*), dengan panjang kelopak mencapai 50 cm. Helaian daun berbentuk elips sampai lonjong dan berwarna hijau, serta pertulangan daun yang menyirip (Setiadi *et al*, 2017). Bunga memiliki tandan yang berasal dari rimpang dan termasuk jenis bunga majemuk yang mekar secara bergiliran dari kantong-kantong daun pelindungnya yang besar. Pangkal daun pelindung berwarna putih kehijauan, sedangkan ujungnya berwarna merah keunguan (Zen *et al*, 2019).

Tabel 2.2 Morfologi *Curcuma aeruginosa*

Bagian Tanaman	Foto Literatur	Dokumentasi Pribadi
----------------	----------------	---------------------

## Rimpang



(Lim, 2016)

## Bunga



(Lim, 2016)

Temu Hitam memiliki karakteristik yang membedakannya dengan jenis temu lainnya. Ciri khas utamanya yaitu terdapat cincin berwarna kebiruan bila bagian rimpang dipotong melintang. Umumnya bagian rimpang memiliki percabangan yang saling melekat dengan rimpang umbinya. Berdasarkan bentuk rimpangnya, temu Hitam dapat dibedakan menjadi empat tipe, antara lain membulat bergerombol, bulat menyebar horizontal, oval menyebar horizontal, dan oval menyebar vertikal (Setiadi *et al*, 2017).

Bagian rimpang temu hitam memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, antara lain dapat mengatasi penyakit kulit, sariawan, batuk, masalah pencernaan, menaikkan nafsu makan, obat cacingan dan melancarkan sirkulasi darah (Angel & Nambisan, 2012). Selain itu, rimpang temu hitam dapat digunakan dalam mengobati gastritis, dispepsia, diare, perut kembung, masalah postpartum, infeksi parasit (Dosoky & Setzer, 2018). Choudhury *et al* (2013) juga melaporkan bahwa temu Hitam dapat berguna dalam pengobatan wasir, lepra, bronkitis, kanker, epilepsi, demam, luka, kemandulan, gangguan menstruasi, dan sakit gigi. Berdasarkan kandungan fenolnya, temu Hitam diketahui berkhasiat sebagai antiandrogen,

antioksidan, antimikroba, antitumor, antitumor dan antiinflamasi (Lim, 2016). Penelitian Jose & Thomas (2014) menunjukkan beberapa kandungan komponen temu Hitam yang bermanfaat bagi tubuh, meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenolik, terpenoid dan kurkuminoid.

## 2. 5 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Tanaman jintan hitam (*N. sativa*) umumnya dikenal dengan nama *Habbatussauda* (Arab), *Black Cumin* atau *Black Seed* (Inggris) yang merupakan tanaman yang berasal dari Afrika Utara, Eropa Selatan dan Asia Barat Daya yang telah dibudidayakan pada sebagian besar negara di dunia seperti wilayah Mediterania Timur Tengah, Arab Saudi, India, Turki, Suriah dan Pakistan. *N. sativa* di Indonesia memiliki daerah sentra produksi di daerah Jawa, Sumatera dan daerah lainnya, serta dapat tumbuh pada ketinggian hingga 1100 m dpl. Biji jintan hitam telah dikenal luas dalam dunia pengobatan tradisional yang memiliki banyak manfaat biologis. Pada kalangan umat muslim dianggap sebagai salah satu temuan terbesar sebab Nabi Muhammad SAW mengungkapkan bahwa biji *N. sativa* mengandung segala macam obat untuk penyakit kecuali kematian (Nurchollifah *et al*, 2021). Berdasarkan taksonominya, *N. sativa* diklasifikasikan sebagai berikut (Rajsekhar & Kuldeep, 2011):

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Ranunculales

Famili : Ranunculaceae





Genus : *Nigella*

Spesies : *Nigella sativa*

*N. sativa* merupakan tanaman perennial yang tumbuh sekitar 45-90 cm. Daun memiliki tipe lanset dengan panjang sekitar 2,5 - 5 cm dan permukaan daunnya terdapat bulu halus. Akar berwarna coklat dengan jenis akar tunggang. Bentuk buahnya seperti buah buni dengan struktur keras yang berisi 3-7 unit folikel,

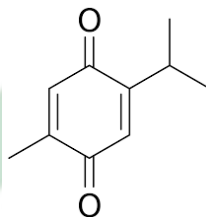
dimana tiap folikel berisi banyak benih dan biji. Bunganya berwarna biru keputihan atau keunguan dengan diameter 2 – 2,5 cm (Rajsekhar & Kuldeep, 2011). Biji memiliki bau aromatik, rasanya pahit, berbentuk pipih, berwarna hitam pada bagian luar dan berwarna putih pada bagian dalam dengan panjang 0,2 cm dan lebar 0,1 cm. Potongan melintang pada benih secara mikroskopis terlihat epidermis lapis tunggal yang tersusun atas sel-sel berbentuk elips, berdinding tebal dan bagian luar tertutupi oleh papilosa (Ahmad *et al*, 2013).

Tabel 2.3 Morfologi *Nigella sativa*

Bagian Tanaman	Foto Literatur	Dokumentasi Pribadi
Bunga	 <p>(Ahmad <i>et al</i>, 2013)</p>	
Biji	 <p>(Ahmad <i>et al</i>, 2013)</p>	

*N. sativa* mengandung beberapa vitamin dan mineral seperti tembaga (Cu), fosfor (P), besi (Fe) dan zinc (Zn). Selain itu, *N. sativa* juga mengandung lemak (28,5%), karbohidrat (24,9%), protein (26,7%), total ash (4,8%) dan serat kasar (8,4%). Komponen senyawa utama dalam *N. sativa* yaitu thymoquinone (30-48%), thymohydroquinone, dithymoquinone, carvacrol (6-12%), p-cymene (7-15%), 4-

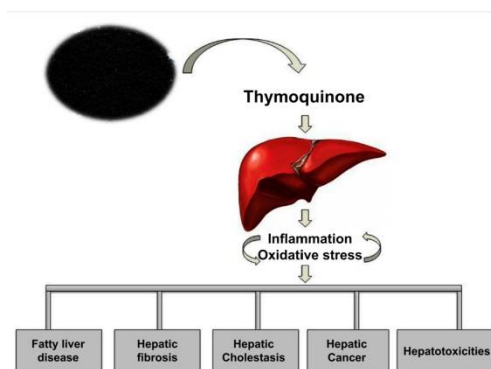
terpineol (2-7%), sesquiterpene longifolene (1-8%) dan timol. Senyawa lain yang terkandung dalam *N. sativa* meliputi citronellol, carvone, limonene dan dua jenis alkaloid (pirazol dan isoquinoline). Senyawa thymoquinon (TQ) menunjukkan konstituen yang paling berperan besar dalam berbagai efek farmakologisnya (Srinivasan, 2018). Struktur kimia TQ ditunjukkan pada Gambar 2.?



Gambar 2.8 Struktur Kimia Timokuinon

(Rajsekhar & Kuldeep, 2011).

Penelitian Kushwah *et al* (2014) menunjukkan induksi *N. sativa* dosis 500 mg/kgBB selama 7 hari secara signifikan dapat mencegah peningkatan enzim hepar dan bilirubin total, serta memblokir deplesi GSH yang disebabkan hepatotoksisitas parasetamol. Hasil lain pada induksi *N. sativa* dosis 900 mg/kgBB diketahui dapat menekan peroksidasi lipid dan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS), serta meningkatkan aktivitas antioksidan (Adam *et al*, 2016). Menurut Afdin & Quzwain (2018), senyawa thymoquinone pada *N. sativa* dapat berperan dalam menurunkan malondialdehyde (MDA) dan stress oksidatif, serta meningkatkan kadar GSH. Selain itu, penelitian Noorbakhsh *et al* (2018) menunjukkan bahwa thymoquinone secara efektif dapat memperbaiki steatosis hepar dengan cara memodulasi stress oksidatif, inflamasi dan apoptosis pada penderita *Non Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD). Gambar 2.9 menunjukkan mekanisme efek hepatoprotektor dari senyawa thymoquinone.



Gambar 2.9 Mekanisme Hepatoprotektor Timokuinon

(Noorbakhsh *et al*, 2018)

Biji *N. sativa* telah banyak dilaporkan memiliki khasiat pada berbagai macam penyakit yang dibuktikan dari sejarah dan latar belakang dari agama khususnya pada negara islam (Nurchollifah *et al*, 2021). Tanaman ini sering kali dikaji dalam islam dan pernah dibicarakan Nabi Muhammad SAW dalam sebuah hadits Sahih Al-Bukhori no. 5256 sebagai berikut:

حَدَّثَنَا يَحْيَى بْنُ بُكَيْرٍ حَدَّثَنَا اللَّيْثُ عَنْ عُقَيْلٍ عَنْ ابْنِ شِهَابٍ قَالَ أَخْبَرَنِي أَبُو سَلَمَةَ وَسَعِيدُ بْنُ الْمُسَيَّبِ أَنَّ أَبَا هُرَيْرَةَ أَخْبَرَهُمَا أَنَّهُ سَمِعَ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ قَالَ ابْنُ شِهَابٍ وَالسَّامُ الْمَوْتُ وَالْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ الشُّونِيزُ

Terjemahnya:

”Telah menceritakan kepada kami *Yahya bin Bukair* telah menceritakan kepada kami *Al Laits* dari *'Uqail* dari *Ibnu Syihab* dia berkata; telah mengabarkan kepadaku *Abu Salamah* dan *Sa'id bin Musayyib* bahwa *Abu Hurairah* telah mengabarkan kepada keduanya, bahwa dia mendengar Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: "Dalam habbatus sauda' terdapat obat dari berbagai macam penyakit kecuali kematian." Ibnu Syihab berkata; "Maksud dari kematian adalah maut sedangkan habbatus sauda' adalah pohon syuniz” (HR. Bukhari: 5256).

Berdasarkan sabda Rasulullah SAW diketahui bahwa *Habbatussauda'* atau jintan hitam merupakan obat dari segala macam penyakit. Melalui pandangan ilmu sains, telah diketahui bahwa jintan hitam memiliki beragam efek farmakologis seperti antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antijamur,



antiskistosomiasis, antidiabet, antikonvulsan, antiasma, imunomodulator, perlindungan gastro, nefroprotektor dan hepatoprotektor (Ahmad *et al*, 2013).

## 2. 6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat-zat aktif pada bagian tanaman atau hewan menggunakan pelarut yang sesuai. Sedangkan ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dari hasil ekstraksi. Umumnya diketahui zat aktif lebih larut dalam pelarut organik. Terdeteksinya zat tersebut dapat terjadi ketika pelarut menembus dinding sel, lalu masuk menuju rongga sel dan melarutkan zat aktif di dalamnya, sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara pelarut dan larutan di luar sel. Setelah itu, larutan pekat akan berdifusi ke luar sel terus menerus hingga terjadi keseimbangan konsentrasi zat baik di dalam maupun luar sel. Selain itu, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut-pelarut organik dengan kepolaran yang semakin meningkat secara berurutan. Pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi harus memenuhi syarat tertentu yaitu tidak toksik, tidak meninggalkan residu, harganya murah, tidak korosif, aman, dan tidak mudah meledak (Tetti, 2014).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana. Prinsip kerjanya dengan perendaman simplisia pada cairan penyari. Beberapa keunggulan maserasi, antara lain alat dan teknik kerjanya sederhana, rendahnya biaya operasional dan tanpa pemanasan (Nurhasnawati *et al*, 2017). Salah satu pelarut yang digunakan dalam proses maserasi yaitu akuades. Akuades memiliki sifat polar sehingga dapat mengikat senyawa metabolit sekunder seperti saponin (Zulfatunnaim *et al*, 2022). Keunggulan akuades dibandingkan pelarut lainnya yaitu mudah diperoleh, harganya murah, ramah lingkungan, tidak mudah menguap, tidak beracun, tidak mudah terbakar dan stabil (Nofiani, 2013).

## 2. 7 Parasetamol

Mekanisme hepatotoksik parasetamol dapat dilakukan melalui oral sehingga mempercepat penyerapan pada sistem pencernaan. Hasil penyerapan berkaitan dengan kadar kekosongan lambung dan kurun waktu sekitar 40-60 menit. Hepar menjadi tempat utama metabolisme parasetamol, dimana sekitar 60% akan

berkonjugasi dengan asam glukuronat, 35% dengan asam sulfat, dan 3% dengan sistein. Kondisi ini membentuk konjugat larut dalam air yang akan dikeluarkan melalui urin. Ketika terjadi overdosis parasetamol, jalur konjugasi awal tidak dapat digunakan ulang dan sebagian beralih menuju jalur sitokrom P450 (Putri Yuliawati, 2021).

Tanpa dosis yang sesuai, overdosis obat ini dapat mengakibatkan gagal hati dan dalam beberapa hari menyebabkan kematian. Dosis maksimum yang disarankan untuk terapi pada orang dewasa yaitu 4g/hari, sedangkan 50-75 mg/kg/hari pada anak-anak (Amalia dan Suryani, 2021). Hepatotoksisitas parasetamol pada manusia dapat terjadi setelah pemakaian dosis tunggal 10-15 gram, sedangkan pada dosis 20-25 gram berkemungkinan dapat mengalami kematian. Gejala awal berupa anoreksia, mual dan muntah, serta sakit perut yang dapat berlangsung selama seminggu bahkan lebih. Gejala selanjutnya mulai terjadi gangguan pada hepar dengan meningkatnya aktivitas enzim transaminase (Lestari *et al*, 2019).

Efek samping yang ditimbulkan antara lain reaksi hipersensitivitas dan kelainan darah. Dampak serius akibat overdosis parasetamol akut menyebabkan nekrosis hati yang fatal. Selain itu, nekrosis tubulus ginjal dan koma hipoglikemik kemungkinan juga dapat terjadi. Perubahan morfologi hepatosit diawali dengan stres oksidatif yang menyebabkan peroksidasi lipid dan malondialdehid (MDA) sebagai produk akhir. Terjadinya stres oksidatif saat prooksidan yang diperantarai oksigen reaktif menjadi dominan terhadap antioksidan. Hal ini menyebabkan peroksidasi lipid yang kemudian mengakibatkan kerusakan membran sel dengan perubahan morfologi dan biokimia yang diikuti gangguan fungsi sel dan diakhiri dengan kematian hepatosit (Adam *et al*, 2016).

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan penelitian rancangan acak lengkap dengan 6 kelompok perlakuan dan 4 ulangan, sebagaimana pada tabel 3.1 berikut

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

No.	Kelompok	Parasetamol (1 gr/kgBB)	Kombinasi Ekstrak Temulawak, Temu Hitam dan Jintan Hitam (600 mg/kgBB)
1	K(+)	-	-
2	K(-)	+	-
3	P1	+	1:1:1
4	P2	+	2:1:3
5	P3	+	3:2:1
6	P4	+	1:3:2

#### Keterangan

1. K (+) : hanya diberi akuades selama 7 hari dan minum secara *ad libitum*.
2. K (-) : diberi parasetamol selama 7 hari dan minum secara *ad libitum*.
3. P1-P3 : diberi parasetamol selama 7 hari, lalu diberi kombinasi ekstrak jintan hitam, temu hitam dan temulawak hari ke 8-14.

### 3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terintegrasi UINSA Surabaya. Penelitian ini berjalan sekitar 6 bulan, mulai bulan Oktober 2022 hingga Juni 2023.

Tabel 3.2. Timeline Penelitian

No.	Kegiatan	Bulan (Tahun 2022-2023)									
		10	11	12	1	2	3	4	5	6	
1.	Penulisan Proposal										
2.	Seminar Proposal										
3.	Penelitian di Laboratorium										
4.	Analisis Data										

5. Pembuatan Draft Skripsi
  6. Seminar Hasil Penelitian
- 

### 3.3 Alat dan Bahan Penelitian

#### A. Alat

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, sonde, vial, tabung reaksi, pipet, gelas beaker, spatula, paraffin block, sonde, kandang mencit, botol urin, alat bedah, rotary evaporator, vortex, ultrasonikator, mikroskop, oven, mikrotom, kaset jaringan, kuas, kaca objek, dan kaca penutup.

#### B. Bahan

Penelitian ini menggunakan mencit jantan sebanyak 24 ekor, umur 5-7 minggu dengan berat berkisar 20-30 gram, kombinasi ekstrak jintan hitam, temu hitam dan temulawak dosis 600 mg/kgBB dan parasetamol dosis toksik 1 gr/kgBB.

Bahan lainnya yang digunakan meliputi akuades, tisu, aluminium foil, plastik wrap, pakan mencit, sekam, klorofoam, alkohol bertingkat (70%, 80%, 96% dan 100%), formalin 10%, pewarna HE (Haematoxylin Eosin).

### 3.4 Variabel Penelitian

#### A. Variabel Bebas

Kombinasi ekstrak jintan hitam, temu hitam dan temulawak dosis 600 mg/kgBB.

#### B. Variabel Terikat

Berat relatif hepar dan gambaran histopatologis hepar.

#### C. Variabel Kontrol

Mencit betina, berat badan, suhu, pakan dan kandang.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### A. Identifikasi dan Penentuan Jumlah Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) berjenis kelamin betina yang diperoleh dari PUSVETMA (Pusat Veteriner Farma).

Penggunaan mencit betina sebab penanganannya mudah dalam satu kandang dengan jumlah banyak. Identifikasi mencit berdasarkan pedoman *Mammals Species of the world third edition* yang merupakan mencit galur DDY (Rejeki *et al*, 2019).

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan secara *random sampling*. Terdapat 6 kelompok perlakuan dengan 4 kelompok eksperimen dan 2 kelompok kontrol. Penentuan jumlah sampel menggunakan rumus Federer (1955), sebagai berikut :

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

Keterangan:

p : total kelompok keseluruhan

n : jumlah sampel

Bila total kelompok keseluruhan (p) = 6, maka:

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

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

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

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

$$(5n) \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan maka dalam penelitian jumlah sampel yang digunakan adalah empat ekor mencit di tiap perlakuan, sehingga total terdapat 24 ekor mencit pada 6 perlakuan dengan 4 ulangan.

## B. Aklimatisasi Hewan Coba

Mencit dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu selama tujuh hari dengan suhu ruang. Mencit diberi makanan berupa pelet sebanyak 40-60 gram pada tiap kelompok dan minum akuades secara *ad libitum* untuk satu hari. Mencit dikondisikan dalam kandang plastik yang bagian atasnya ditutupi kawat dan di dalamnya terdapat alas tidur berupa serbuk kayu halus dan dibersihkan tiap tiga hari sekali agar tidak kotor dan berbau.

### C. Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman digunakan untuk menetapkan kredibilitas sampel tanaman dalam suatu penelitian. Identifikasi jintan hitam (*N. sativa*) sesuai karakteristiknya mengacu pada penelitian Ahmad *et al* (2016). Temulawak (*C. xanthorrhiza*) diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri morfologinya disesuaikan dengan penelitian Rahmat *et al* (2021), sedangkan temu hitam (*C. aeruginosa*) berpedoman pada riset Lim (2016).

### D. Ekstraksi Tanaman

Masing-masing simplisia temulawak, temu hitam dan jintan hitam ditimbang sebanyak 100 gr lalu direndam dengan akuades sebanyak 500 ml selama 3x24 jam sambil sesekali diaduk. Selanjutnya, dilakukan ultrasonik untuk membuka sel-sel agar proses maserasi dapat maksimal, kemudian filtrat disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh akan dipisahkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kering (Nurhasnawati *et al*, 2017). Kemudian ekstrak dimasukkan ke dalam vial dan ditimbang. Rumus untuk menghitung rendemen sebagai berikut (Handayani *et al*, 2023):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak (akhir)}}{\text{berat simplisia (awal)}} \times 100\%$$

### E. Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan suatu pemeriksaan golongan senyawa kimia yang terdapat pada simplisia tanaman. Tujuannya untuk menentukan senyawa aktif memiliki efek khasiat atau efek racun yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan bila di uji dengan sistem biologi. Beberapa sampel tanaman yang digunakan sebagai uji fitokimia dapat berupa daun, buah, akar, batang dan bunga (Muthmainnah, 2019). Uji fitokimia dilakukan pada hasil ekstrak kering temulawak, temu hitam dan jintan hitam untuk menganalisa beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, terpenoid, alkaloid, tanin dan saponin.

- 1). Flavonoid: diambil 0,5 gr ekstrak, dipanaskan dengan 5 ml akuades dan ditambah 0,1 gr serbuk Mg dan 1 ml HCL pekat.
- 2). Terpenoid/steroid: diambil 0,5 gr ekstrak, dicampur dengan 1 ml asetat anhidrat dan ditambahkan 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N.
- 3). Alkaloid: diambil 0,5 gr ekstrak, ditambah 2-3 tetes reagen dragendrof dan 2-3 tetes reagen wagner.
- 4). Tanin: diambil 0,5 gr ekstrak, ditambah 5 ml akuades dan 2-3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%.
- 5). Saponin: diambil 0,5 gr ekstrak, ditambah 5 ml akuades lalu dipanaskan hingga mendidih dan dikocok selama 10 detik.

#### **F. Pemberian Dosis Kombinasi Ekstrak Jintan Hitam, temu Hitam dan Temulawak**

Penetapan dosis masing-masing ekstrak tanaman dipilih berdasarkan penelitian sebelumnya, dimana dosis optimal 200 mg/kgBB pada ekstrak temulawak secara signifikan berpengaruh terhadap perubahan berat badan mencit (Lucy *et al*, 2017). Hasil penelitian Michel *et al* (2010) menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kgBB ekstrak jintan hitam memiliki efek hepatoprotektor dalam mengelola berbagai gangguan hati. Sedangkan pada ekstrak temu hitam dosis 200 mg/kgBB menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat (Adriana, 2020). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, maka didapatkan dosis kombinasi ekstrak jintan hitam, temu hitam dan temulawak sebesar 600 mg/kgBB dengan perbandingan 1:1:1. Pemberian dosis kombinasi menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis } 600 \text{ mg/kgBB} &= 600 \text{ mg} \times \frac{25}{1000} \\
 &= 600 \text{ mg} \times 0,025 \\
 &= 15 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

$$\text{Pembuatan larutan stok} = \frac{300}{0,5} = 600 \text{ mg/20 ml}$$

### G. Pemberian Dosis Parasetamol

Dosis parasetamol yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada penelitian Nithianantham *et al* (2011) yaitu dosis toksik parasetamol 1 gr selama 7 hari dapat merusak histologi hepar. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan parasetamol dosis toksik 1 gr dengan menggunakan rumus berikut:

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 1000 \text{ mg/kgBB} &= 1000 \text{ mg} \times \frac{25}{1000} \\ &= 1000 \text{ mg} \times 0,025 \\ &= 25 \text{ mg} \\ \text{Pembuatan larutan stok} &= \frac{500}{0,5} = 1000 \text{ mg}/20 \text{ ml} \end{aligned}$$

### H. Pengukuran *Hepatosomatic Index* (HSI)

Pembedahan dilakukan setelah mencit dipuasakan selama 1x24 jam, lalu diberikan eutanasi secara kimia menggunakan kloroform yang bertujuan untuk menghilangkan kesadaran mencit, kemudian disayat menggunakan gunting bedah dimulai dari anus hingga kerongkongan secara vertikal dengan perlakuan di atas papan bedah.

Setelah dilakukan pembedahan, diambil organ hepar mencit untuk dibersihkan menggunakan NaCl 0,9% lalu dikeringkan dengan kertas penyerap dan ditimbang. Kemudian diamati morfologis hepar secara kasat mata berdasarkan warna dan tekstur hepar. Nilai HSI dipengaruhi oleh berat badan dan berat hepar hewan coba. Berikut rumus perhitungan HSI (Putri & Yuliatwati, 2021):

$$\text{HSI} = \frac{\text{berat organ (gram)}}{\text{berat badan hewan uji (gram)}} \times 100\%$$

### I. Pembuatan Histologi Hepar

Pembuatan histologi ini dilakukan setelah proses pembedahan dan diperoleh sampel hepar mencit. Beberapa tahapan dalam pembuatan histologi hepar menurut Harijati, *et al* (2017) sebagai berikut:



- a) Fiksasi: sampel dimasukkan ke dalam larutan formalin konsentrasi 10% selama 1x24 jam, guna mengawetkan morfologi sampel dan tidak mengubah kondisinya.
- b) Pencucian (Washing): sampel dimasukkan ke dalam kaset jaringan, lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker, kemudian gelar beaker diletakkan di bawah kran air yang menyala kecil selama 2 jam agar bersih dari larutan fiksatif.
- c) Dehidrasi: sampel dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat dari kadar rendah ke absolut 70% - 80% - 96% - 100% dengan tiap tahapan selama 30 menit. Tujuannya untuk mengeluarkan cairan yang ada dalam jaringan.
- d) Dealkoholisasi (penjernihan): sampel dimasukkan ke dalam xylol I selama 1 jam, lalu dimasukkan ke dalam xylol II selama 1 jam guna menghilangkan kadar alkohol (dealkoholization) dan penjernih preparat sehingga mudah diamati.
- e) Infiltrasi: dicampurkan xilol dan parafin (1:9) dalam suhu 58°C selama 1x24 jam. Kemudian campuran tersebut dibuang dan diganti dengan parafin murni dalam suhu 58°C selama 1x24 jam.
- f) Penyelubungan (Embedding): sampel dimasukkan ke dalam campuran xylol dan paraffin (1:1) selama 30 menit sehingga parafin terpenetrasi ke dalam jaringan. Selanjutnya, disiapkan cetakan berbentuk kubus lalu tuang hingga  $\frac{1}{2}$  parafin cair ke dalam cetakan, kemudian diatur letak sampel lalu ditambahkan parafin cair hingga memenuhi  $\frac{3}{4}$  cetakan dan ditunggu hingga mengeras.
- g) Pengirisan (Sectioning): diiris blok parafin menggunakan mikrotom dengan tebal 10  $\mu\text{m}$ .
- h) Perekatan (Affixing): dilekatkan irisan pada kaca objek yang telah diolesi campuran gliserin-albumin (1:1) dan air. Selanjutnya, kaca objek disimpan di atas penghangat (*slide warmer*) dengan suhu 45°C hingga pita meregang dan air mengering.
- i) Pewarnaan (Staining): dimasukkan kaca objek ke dalam staining jar berisi xylol (2x10 menit), lalu dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat dari absolut ke rendah, tiap tingkat berdurasi 5 menit. Selanjutnya kaca objek dimasukkan

ke dalam pewarna (*water based*) menggunakan Hematoxylin selama 10 menit, lalu dicuci dengan air mengalir 5 menit dan dilanjutkan dengan pewarnaan eosin selama 5 menit. Kemudian direndam ke dalam etanol bertingkat (70%, 80%, 96% dan 100%) masing-masing selama 5 menit. Selanjutnya dimasukkan dalam xylol selama 15 menit.

- j) Penutupan (Mounting): ditutup irisan pada kaca objek dengan kaca penutup dan dilekatkan dengan entellan. Kemudian dikeringkan dalam oven atau *slide warmer* hingga mengering.

## J. Pengamatan Histopatologi Hepar

Pengamatan hasil preparat histopatologi diamati menggunakan mikroskop yang bertujuan untuk menganalisa adanya perubahan pada struktur hepar dan derajat kerusakan antara kelompok eksperimen dan kontrol melalui metode skoring *Manja Roenigk*. Cara penilaiannya dengan diamati masing-masing preparat dalam lima lapang pandang dengan perbesaran 400x. Kemudian setiap lapang pandang dihitung 20 hepatosit dan dikalikan dengan skor kerusakan tiap sel, lalu lalu dihitung rerata skor kerusakan dari lima lapang pandang.

Tabel 3.3 Skoring Manja Roenigk

Jenis Kerusakan	Skor
Sel Normal	1
Degenerasi Parenkim	2
Degenerasi Hidropik	3
Nekrosis (sel piknosis, karioreksis dan kariolisis)	4

Sumber: (Putri & Yuliawati, 2021).

Keterangan:

- 1). Hepatosit normal, tampak sel berbentuk polygonal, sitoplasma berwarna merah homogen dan dinding sel berbatas tegas.

- 2). Hepatosit parenkim, tampak pembengkakan sel diikuti keruhnya sitoplasma dan bergranula.
- 3). Hepatosit hidropik, tampak sel sembab, adanya akumulasi cairan dan timbul banyak vakuola.
- 4). Nekrosis, tampak kematian sel atau kerusakan permanen sel, inti sel tampak berwarna hitam dan menyusut (piknotik), lalu inti sel lisis dan tampak pemudaran kromatin (karioreksis), kemudian inti sel tidak dapat diwarnai dan menghilang (kariolisis).

### 3.6 Analisis Data

Mulanya dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas Lavene test. Apabila data terdistribusi normal dan homogen serta memenuhi syarat parametrik maka dilakukan uji One Way Anova, sedangkan data nonparametrik dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis*. Bila terjadi perbedaan yang signifikan pada data parametrik ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji *Duncan*, sedangkan untuk data nonparametrik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian mengenai “Pengaruh Kombinasi Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*) Dan Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Histopatologi Hati Mencit Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik” dilakukan pada Lab Intergrasi UIN Sunan Ampel Surabaya. Waktu penelitian dimulai dari bulan Februari – Maret 2023. Beberapa tahapan dalam penelitian tersebut dimulai dari identifikasi tanaman, ekstraksi tanaman, uji fitokimia tanaman, perhitungan rendemen, aklimatisasi mencit, induksi parasetamol dosis toksik, pemberian kombinasi ekstrak ketiga tanaman, pengamatan morfologis dan berat hepar, serta pengamatan histopatologi dan skoring kerusakan hepar.

#### 4.1 Rendemen Ekstrak

Salah satu parameter kualitas suatu ekstrak dapat dilihat melalui rendemen ekstrak yang dihasilkan. Rendemen merupakan perbandingan berat kering ekstrak dengan jumlah bahan baku yang digunakan. Nilai rendemen didapatkan melalui berat kering bahan baku. Selain itu, nilai rendemen menggunakan satuan persen (%), dimana semakin tinggi nilainya maka semakin besar jumlah ekstrak yang diperoleh (Novitasari & Jubaidah, 2018).

Hasil rendemen berkaitan dengan metode ekstraksi yang digunakan, contohnya ekstraksi dengan cara dingin yaitu maserasi. Beberapa keuntungan metode maserasi yaitu tidak merusak senyawa yang tidak tahan panas, alat dan teknik kerjanya sederhana, rendahnya biaya operasional dan tanpa pemanasan (Nurhasnawati *et al*, 2017). Selain itu, jenis pelarut juga berpengaruh terhadap hasil rendemen. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut polar (akuades). Akuades berkemampuan dalam mengikat beberapa senyawa metabolit sekunder. Menurut Zulfatunnaim *et al* (2022), departemen kesehatan memberi rekomendasi pelarut air, etanol dan air dengan etanol sebagai cairan penyaring ekstrak guna keperluan bahan baku obat tradisional.

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Temulawak, Temu Hitam dan Jintan Hitam

Sampel	Berat Simplisia (gr)	Berat Kering Ekstrak (mg)	%	Warna
Temulawak	100	11.653	11.65	Coklat muda
Temu Hitam	100	3.698	3.69	Coklat kehitaman
Jintan Hitam	100	6.605	6.60	Coklat tua

(Dokumentasi Pribadi, 2023)


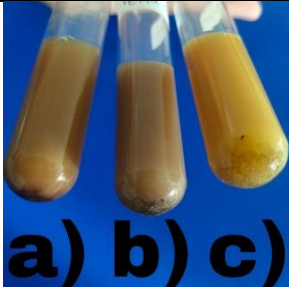

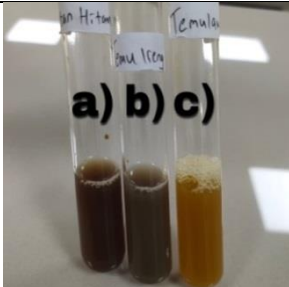

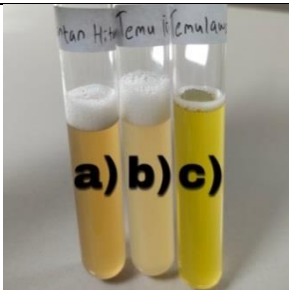
Rendemen ekstrak temulawak (*C. xanthorrhiza*) memiliki rendemen tertinggi dengan presentase 11.65%, sedangkan rendemen terendah terdapat pada temu hitam (*C. aeruginosa*) yaitu sebesar 3.69%. Apabila ditinjau dari segi lama ekstraksi, ketiga sampel secara bersamaan dilakukan maserasi selama 3x24 jam. Menurut Novitasari & Jubaidah (2018), semakin lama waktu ekstraksi berbanding lurus dengan tingginya rendemen yang dihasilkan sebab kontak antara bahan dan pelarut dapat bereaksi lebih lama sehingga proses penetrasi pelarut dalam sel bahan menjadi semakin baik yang membuat banyaknya senyawa yang akan berdifusi keluar sel. Selain itu, faktor lain yang dapat mempengaruhi nilai rendemen yaitu metode ekstraksi yang dipilih, kondisi dan waktu penyimpanan, ukura partikel sampel, jenis pelarut dan perbandingan jumlah sampel dengan pelarut yang digunakan (Salamah & Widyasari, 2015).

#### 4.2 Uji Fitokimia

Penelitian ini hanya melakukan analisa fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat pada suatu simplisia. Sedangkan untuk menentukan kadar suatu senyawa maka perlu dilakukan uji kuantitatif menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Menurut Manongko *et al* (2020), skrining fitokimia bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya senyawa metabolit sekunder pada sampel tanaman. Umumnya uji fitokimia dilakukan menggunakan beberapa reagen tertentu sesuai fungsinya. Beberapa senyawa yang akan diuji pada penelitian ini, antara lain flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin dan saponin.

Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Jintan hitam, Temu ireng dan Temulawak.

No	Senyawa	Literatur		Hasil Pengamatan		Keterangan
		Tanda Positif	Gambar	Karakteristik	Gambar	
1	Flavonoid **	Timbul warna kuning kemerahan/jingga		Timbul warna kuning kemerahan/jingga		a) jintan hitam (++) b) Temu ireng (++) c) Temulawak (++)
2	Terpenoid/ Steroid*	Timbul warna coklat kemerahan (terpenoid) dan timbul warna hijau kebiruan (steroid)		Timbul warna coklat kemerahan (terpenoid) pada temu ireng, sedangkan timbul warna hijau kebiruan (steroid) pada jintan hitam dan temulawak		a) jintan hitam (+) b) Temu ireng (+) c) Temulawak (+)

3	Alkaloid* *	Terdapat endapan berwarna coklat		Terdapat endapan berwarna coklat kehitaman		a) jintan hitam (++) b) Temu ireng (++) c) Temulawak (+)
4	Tanin*	Timbul warna hitam kehijauan/hitam kebiruan		Timbul warna hitam kehijauan/hitam kebiruan		a) jintan hitam (++) b) Temu ireng (++) c) Temulawak (+)
5	Saponin*	Terdapat busa selama kurang dari 10 menit		Terdapat busa selama kurang dari 10 menit		a) jintan hitam (++) b) Temu ireng (++) c) Temulawak (+)

Keterangan: (+) = positif Lemah, (++) = positif kuat

\*(Hidayat *et al*, 2022) \*\*( Handayani *et al*, 2023)

Sesuai hasil pada Tabel 4.2 bahwa ketiga ekstrak tanaman positif mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin dan saponin. Identifikasi flavonoid diuji menggunakan serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCL). Penambahan serbuk Mg bertujuan untuk membentuk ikatan dengan gugus karbonil pada senyawa flavonoid. Penambahan HCL bertujuan untuk membentuk garam flavilium yang ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi merah, jingga, atau kuning (Yanti dan Vera, 2019). Selaras dengan pernyataan Muthmainnah (2019), untuk memperoleh warna kuning kemerahan pada uji flavonoid maka harus memutus ikatan glikosida dengan cara mereduksi ikatan tersebut.

Berdasarkan uji terpenoid/steroid diketahui bahwa temu ireng mengandung terpenoid, sedangkan steroid didapati pada jintan hitam dan temulawak. Terpenoid memiliki struktur yang siklik sehingga dapat berikatan dengan alkohol, hal ini tampak dari perubahan warna (jingga) yang terjadi setelah ditambahkan asam sulfat pekat (Puspa *et al*, 2017). Penggunaan asam asetat anhidrat dalam uji terpenoid/steroid akan menghasilkan warna coklat kemerahan untuk terpenoid, sedangkan tampak warna hijau kebiruan pada steroid (Marlinda *et al*, 2014). Uji lain yang dilakukan yaitu uji alkaloid menggunakan reagen Dragendroff-Wagner. Hasil positif menunjukkan adanya endapan berwarna coklat. Menurut Triastuti *et al* (2016), terdapat kandungan nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas pada alkaloid sehingga dapat membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Kemudian nitrogen akan bereaksi dengan ion logam kalium sehingga terbentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

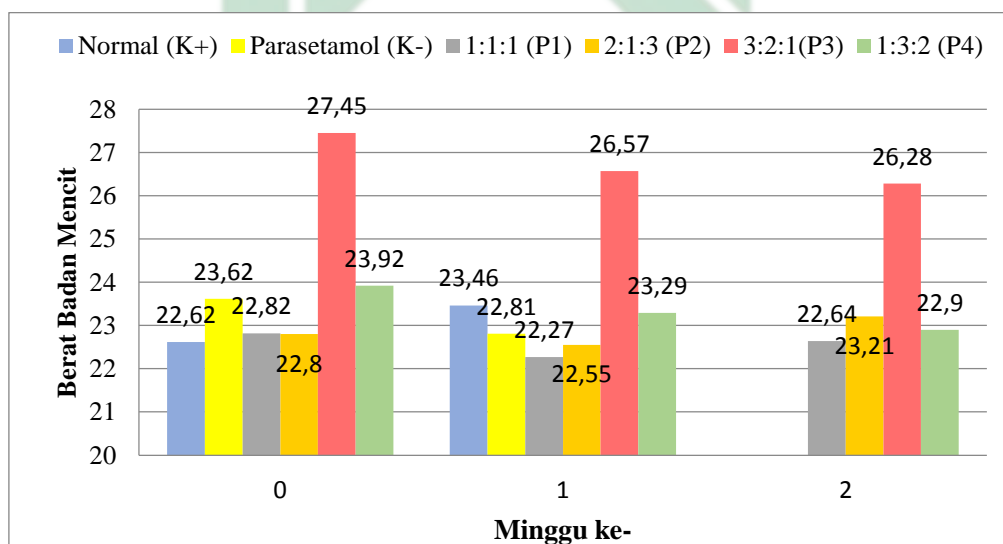
Terbentuknya busa pada uji saponin mengindikasikan adanya glikosida yang dapat membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain (Triastuti *et al*, 2016). Menurut Bintoro *et al* (2017), setelah ekstrak dipanaskan lalu dikocok dalam akuades akan terbentuk busa yang stabil selama 30-40 detik dengan tinggi 1-3 cm, sebab senyawa saponin mudah larut air dan timbul busa setelah dikocok. Selanjutnya, pada uji tanin tampak warna kehitaman setelah ditetesi FeCl<sub>3</sub> 1%. Hal ini disebabkan atom O pada tanin atau polifenol dapat mendonorkan pasangan elektron bebas ke Fe<sup>3+</sup> yang memiliki orbital dan



membentuk ikatan kovalen koordinat untuk menjadi suatu senyawa yang kompleks (Yanti & Vera, 2019).

### 4.3 Berat Badan Mencit

Penimbangan berat badan mencit dilakukan setiap hari selama 2 minggu setelah proses aklimatisasi. Berdasarkan Gambar 4.1 data diambil dari hasil pengukuran rata-rata berat badan mencit sebelum perlakuan (minggu ke 0), setelah induksi parasetamol (minggu ke 1) dan setelah induksi kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam (minggu ke 2).



Gambar 4.1 Grafik Rata-rata Berat Badan Mencit (Dokumentasi Pribadi, 2023)

Keterangan: P = kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam dosis 600 mg/kgBB

Rerata berat badan mencit yang diinduksi parasetamol pada minggu pertama tampak mengalami penurunan pada kelompok K- P1, P2, P3 dan P4. Penurunan berat badan mencit diduga disebabkan berkurangnya jumlah makanan yang dikonsumsi oleh mencit. Menurut Surasa *et al* (2014), penurunan berat badan mencit berkaitan dengan adanya gangguan hipotalamus sebab sel-sel ventromedial dapat dipengaruhi oleh senyawa toksik (parasetamol) sehingga berdampak pada kerusakan pusat makan yang berlokasi di hipotalamus lateral. Kemudian kondisi ini

akan mengaktifkan transmiter adrenergik  $\beta$  dan dopaminergik sehingga dapat mengurangi nafsu makan mencit. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Silitonga *et al* (2021), penurunan berat badan mencit secara signifikan dapat terjadi akibat induksi zat toksik ke dalam tubuh.

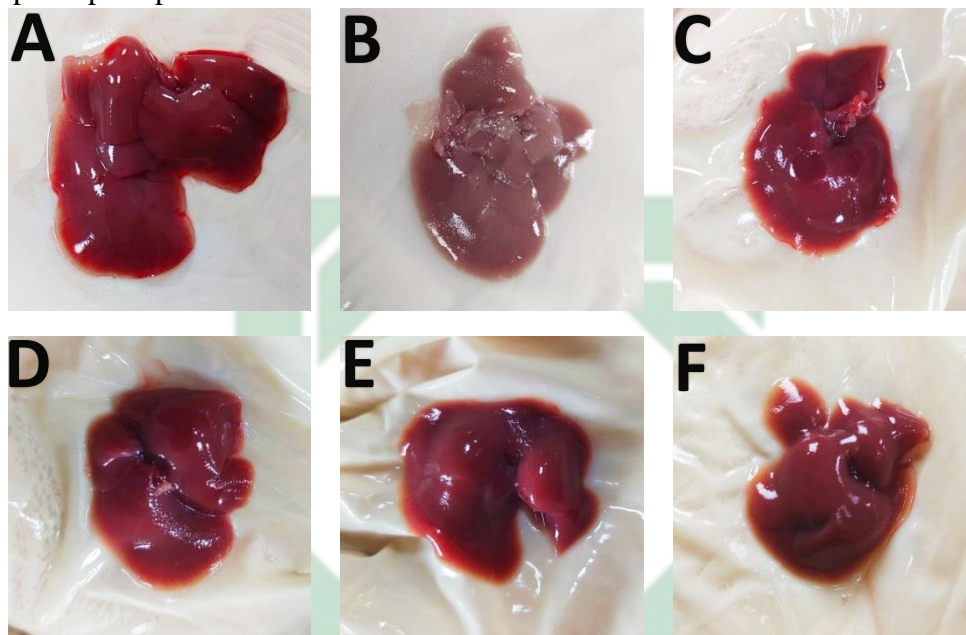
Pemberian parasetamol dosis 1 gr/kgBB pada minggu ke-1 dapat mempengaruhi aktivitas dan kondisi fisik mencit selama penelitian, contohnya seperti aktivitas motorik rendah, kerontokan bulu, bau feces maupun urin yang semakin menyengat dan relatif lebih sering dikeluarkan setiap harinya. Sejalan dengan penelitian Hasan (2022) bahwa induksi parasetamol dosis toksik dapat mempengaruhi homeostatis tubuh yang berdampak pada kondisi fisik hewan coba, contohnya feces menjadi lebih berbau, warnanya pucat dan lunak. Penelitian Chefirat *et al* (2020) mengungkapkan bahwa parasetamol dapat mengakibatkan toksisitas selama 24 jam awal dengan beberapa gejala, antara lain anoreksia, sakit perut, mual dan muntah, kemudian akan berkelanjutan hingga tujuh hari bahkan lebih yang membuat hilangnya nafsu makan sehingga berat badan menjadi berkurang.

Berdasarkan Gambar 4.1 diketahui terjadi peningkatan berat badan mencit pada kelompok K+ pada minggu ke-1. Selain itu, kelompok P1 dan P2 mengalami kenaikan berat badan pada minggu ke-2 setelah diberi kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam, namun tidak berpengaruh signifikan pada P3 dan P4. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan berat badan akibat induksi parasetamol dosis toksik dapat diperbaiki ulang oleh kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam. Ketiga kombinasi ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid sehingga dapat melindungi tubuh dari kerusakan akibat senyawa toksik dan dapat meningkatkan kembali berat badan mencit (Silitonga *et al*, 2021). Menurut Kartika *et al* (2020) senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan sehingga mencegah proses oksidasi dan menghambat pembentukan radikal bebas (Kartika *et al*, 2020). Faktor lain pada pengaruh berat badan mencit yaitu kandungan nutrisi yang terdapat dalam makanan. Penelitian Rejeki *et al* (2019), menyatakan bahwa kandungan nutrisi pada makanan berdampak pada kenaikan

berat badan mencit, apabila mencit mengalami defisiensi atau kekurangan zat makanan maka akan berdampak pada pertumbuhan mencit.

#### 4.4 Morfologi dan Berat Relatif Hepar

Pengamatan morfologi hepar mencit dianalisa berdasarkan warna dan tekstur hepar seperti pada Gambar 4.2



Gambar 4.2 Morfologi Hepar Mencit; Normal (A), Parasetamol (B), P1 (C), P2 (D), P3 (E) dan P4 (F).

(Dokumentasi Pribadi, 2023)

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis diketahui terdapat perbedaan warna dan tekstur antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Organ hepar kelompok positif tampak berwarna merah kecoklatan dengan permukaan yang licin dan rata. Menurut Fitmawati *et al* (2018), warna merah kecoklatan pada organ hepar mengindikasikan kondisi hepar yang normal. Hal ini disebabkan banyaknya aliran darah yang disuplai oleh pembuluh darah, yaitu arteri hepatica dan vena porta hepatica.

Hepar kelompok perlakuan menunjukkan warna merah pekat yang mendekati kelompok kontrol positif dengan permukaan yang licin dan rata. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa pemberian kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam berpengaruh terhadap makroskopis hepar yang diinduksi parasetamol. Berbeda halnya pada kelompok kontrol negatif yang tampak berwarna merah pucat

dengan permukaan agak kasar maupun bintik-bintik. Menurut Putri & Yuliawati (2021), organ hepar menciit yang abnormal atau mengalami kerusakan akan berwarna lebih pucat dan memiliki permukaan seperti jaringan ikat dan berbintik. Warna hepar yang pucat dapat disebabkan oleh senyawa toksik yang mengakibatkan perlemakan pada hepar. Kondisi ini dapat mengganggu aliran darah menuju hepar sehingga hepar menjadi lebih pucat. Selain itu, masuknya senyawa toksik dalam tubuh dapat melalui makanan, sebab sekitar 80% suplai darah dari saluran pencernaan berada di hepar (Fitmawati *et al*, 2018).

Pengamatan *Hepatosomatic Index* (HSI) dilakukan guna mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam terhadap berat relatif hepar menciit. Berdasarkan uji *One-Way Anava* (Tabel 4.3) diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,00 ( $P < 0,05$ ), menunjukkan bahwa kelompok K- dengan nilai HSI yang melebihi normal memiliki perbedaan bermakna dengan K+, P1, P2, P3 dan P4. Hasil tersebut serupa dengan penelitian Andini & Rahman (2022), induksi parasetamol dosis 250 mg/kgBB dapat memberikan nilai HSI yang melebihi normal yaitu sebesar  $6,05 \pm 0,10$ . Selain itu, induksi parasetamol dosis 250 mg/kgBB pada penelitian Putri & Yuliawati (2021) juga menunjukkan nilai HSI sebesar  $6,56 \pm 1,21$ .

Tabel 4.3 *Hepatosomatic Index* Hepar Menciit

Kelompok	Rata-rata HSI $\pm$ Standar Deviasi	Nilai Normal	P -Value
Normal (K+)	$4,91 \pm 0,68^a$		
Parasetamol (K-)	$7,73 \pm 0,41^c$		
1:1:1 (P1)	$5,59 \pm 0,88^{ab}$	3-5%	0,00
2:1:3 (P2)	$5,14 \pm 0,33^{ab}$	(Andini & Rahman, 2022)	
3:2:1 (P3)	$5,74 \pm 0,16^{ab}$		
1:3:2 (P4)	$5,91 \pm 0,22^b$		

Keterangan: P = kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam dosis 600 mg/kgBB

Besarnya nilai HSI pada kelompok K- disebabkan induksi parasetamol dosis toksik yang membuat kerja hepar menjadi semakin berat agar zat toksik tersebut

tidak merusak tubuh sehingga berakibat pada pembengkakan hepar (Andini & Rahman, 2022). Overdosis parasetamol menyebabkan kadar enzim NAPQI menjadi berlebih dibandingkan dengan kemampuan detoksifikasi oleh *glutathion S-transferase* (GST). Kondisi ini disertai dengan pembentukan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) pada hepatosit. NAPQI yang tidak dapat didetoksifikasi akan menyebabkan peroksidasi lipid sehingga tekanan oksidatif semakin bertambah. Dampaknya pada hepatosit akan mengalami kerusakan baik degenerasi maupun nekrosis (Putri *et al*, 2019)

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa HSI kelompok K- lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P1-P4. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam efektif sebagai hepatoprotektor. Nilai HSI kelompok P1-P4 menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna, namun P2 memiliki rentang nilai HSI paling ringan dibandingkan lainnya. Kelompok P2 diketahui ekstrak yang dominan yaitu jintan hitam. Komponen bioaktif utama pada jintan hitam yaitu timokuinon yang diketahui berkemampuan dalam menghambat ROS dan peroksidasi lipid, menekan stress oksidatif dan meningkatkan kadar *glutathion* sehingga dapat berperan sebagai hepatoprotektor (Nurchollifah *et al*, 2021). Selain itu, ekstrak lainnya seperti temulawak dan temu hitam yang mengandung kurkumin dapat bekerja sebagai hepatoprotektor. Hal ini disebabkan kurkumin dapat melindungi hepar dari kerusakan yang dipicu oleh zat toksik yang masuk ke dalam tubuh, serta sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan hepar akibat peroksidasi lipid (Rahmat *et al*, 2021). Menurut Amalia & Suryani (2021) kurkumin dapat mencegah kenaikan enzim hati, meningkatkan GST serta menghambat peroksidasi lipid beserta ROS.

#### 4.5 Histopatologi Hepar

Pengamatan histopatologi hepar diamati menggunakan metode skoring *Manja Roenigk*. Preparat diamati masing-masing dalam lima lapang pandang dengan perbesaran 400x. Kemudian setiap lapang pandang dihitung 20 hepatosit dan dikalikan dengan skor kerusakan tiap sel, selanjutnya dihitung rerata skor

kerusakan dari lima lapang pandang. Adapun presentase dan rata-rata  $\pm$  Standar Deviasi ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.4 Hasil Skoring Kerusakan Histopatologi Hepar Mencit

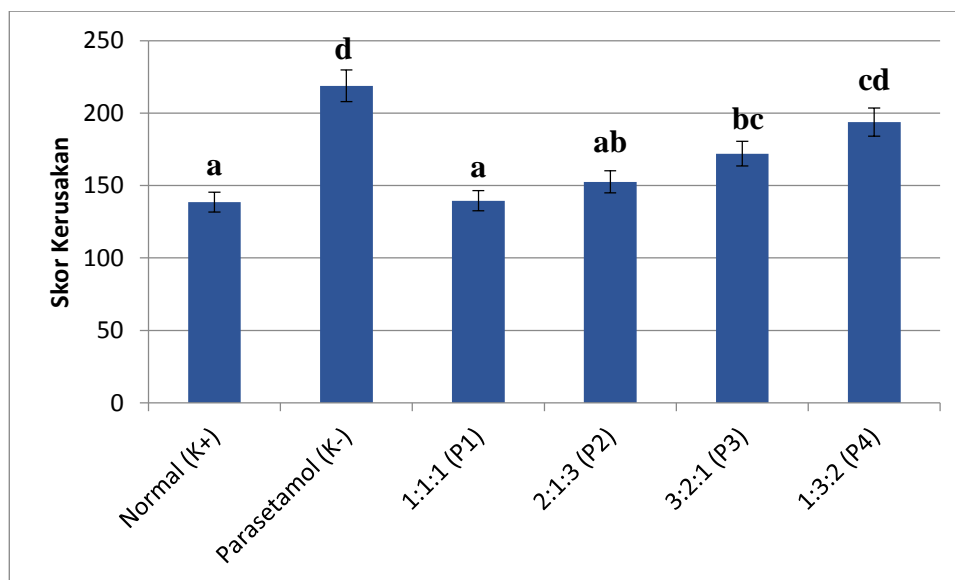
Perlakuan	Presentase Kerusakan Hepatosit (%)				Rata-rata $\pm$ Standar Deviasi
	N	DP	DH	Nk	
Normal (K+)	56,86	15,16	9,20	18,77	138,50 $\pm$ 22,21 <sup>a</sup>
Parasetamol (K-)	22,29	18,74	5,49	53,49	218,75 $\pm$ 10,24 <sup>d</sup>
1:1:1 (P1)	54,49	15,78	22,59	7,17	139,50 $\pm$ 13,42 <sup>a</sup>
2:1:3 (P2)	50	5,90	9,34	34,75	152,50 $\pm$ 18,73 <sup>ab</sup>
3:2:1 (P3)	40,41	4,65	23,54	31,40	172 $\pm$ 11,88 <sup>bc</sup>
1:3:2 (P4)	31,10	6,70	18,59	43,35	193,75 $\pm$ 22,55 <sup>cd</sup>

Keterangan:

- P = kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam dosis 600 mg/kgBB.
- N (sel Normal), DP (Degenerasi Parenkim), DH (Degenerasi Hidropik) dan NK (Nekrosis).
- Presentase (%) kerusakan hepatosit dihitung dengan rumus  $\frac{\text{jumlah sel yang ditemukan}}{\text{jumlah total skoring perlakuan}} \times 100\%$
- Nilai skor total = N + 2DP + 3DH + 4NK
- Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna sedangkan superskrip yang sama menunjukkan perbedaan tidak bermakna.

Data pada Tabel 4.4 didapat melalui analisis statistik menggunakan *SPSS 25.0 for Windows*. Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov Test* pada nilai rata-rata skoring histopatologi hepar menunjukkan data terdistribusi normal sebab memiliki nilai signifikan sebesar 0,200 ( $p > 0,05$ ). Hasil uji homogenitas *Lavene Test* memiliki nilai signifikansi sebesar 0,289 ( $p > 0,05$ ) yang artinya data bersifat homogen. Oleh karena itu, data yang terdistribusi normal dan homogen akan dilakukan uji *One-Way ANOVA*. Hasil uji *One-Way ANOVA* didapat nilai signifikansi sebesar 0,00 ( $p < 0,01$ ) sehingga menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak temulawak (*C. xanthorrhiza*), temu hitam (*C. aeruginosa*) dan jintan hitam (*N. sativa*) secara signifikan dapat mempengaruhi histopatologi hepar yang diinduksi parasetamol.

Selanjutnya, dilakukan uji *Duncan* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan.

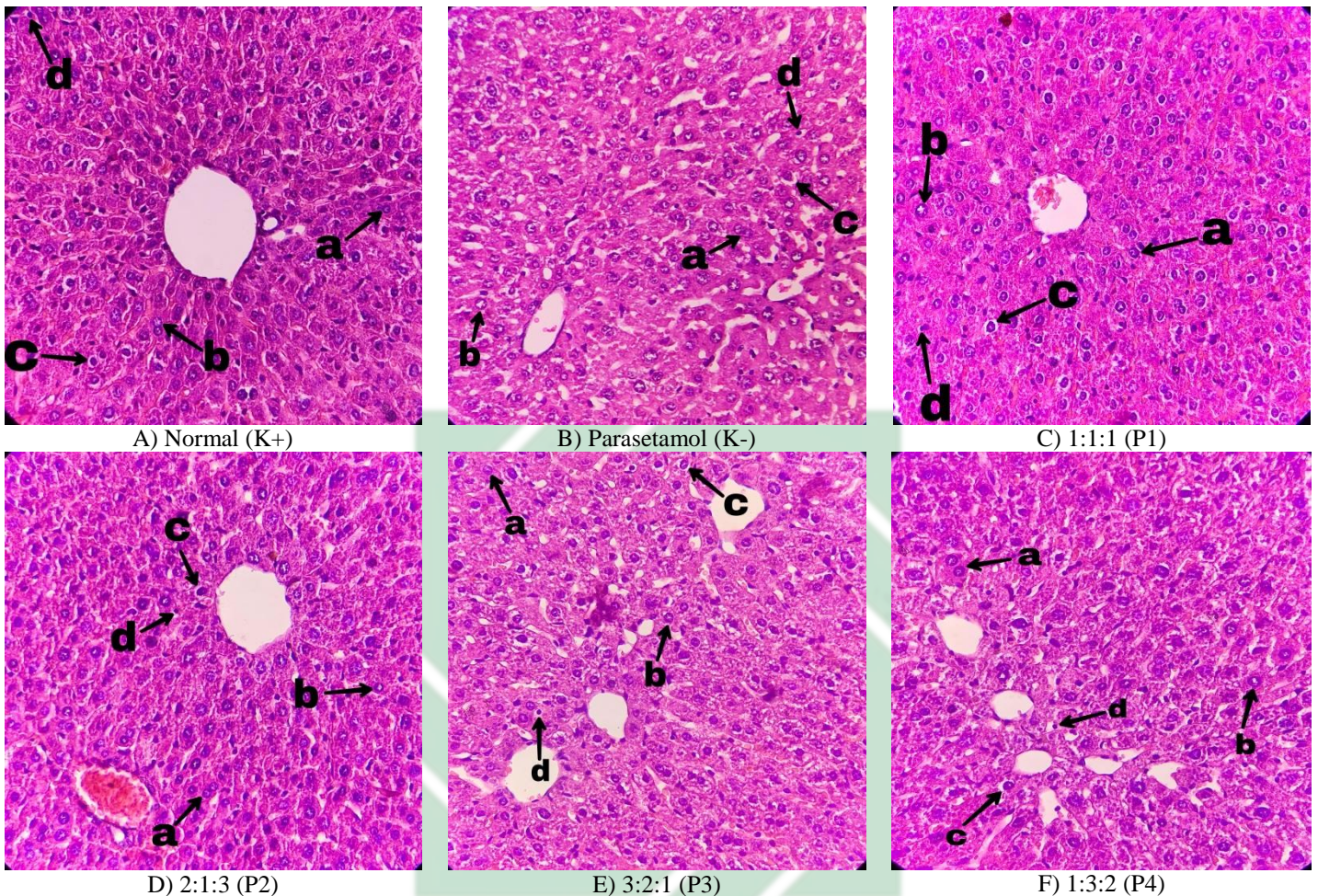


Gambar 4.3 Grafik Rata-rata Kerusakan Histopatologi Hepar Mencit

Keterangan: P = kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam dosis 600 mg/kgBB

Pada Gambar 4.3 hasil uji *Duncan* menunjukkan perbedaan yang bermakna pada K- dengan perlakuan lainnya, yaitu K+, P1, P2, P3 dan P4. Kelompok P1 dan P2 menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan kelompok K+. Sedangkan kelompok P4 berbeda tidak bermakna dengan kelompok P3 dan K-.

Berdasarkan pengamatan kerusakan histopatologi hepar mencit (Gambar 4.4) diketahui bahwa secara keseluruhan preparat pada K+, K-, P1, P2, P3 dan P4 tampak adanya semua kriteria tingkat kerusakan hepatosit mulai dari hepatosit normal, degenerasi parenkim (sel membengkak dan sitoplasma keruh), degenerasi hidropik (vakuolisasi air dalam sitoplasma) dan nekrosis (inti sel piknosis dan sitoplasma menggumpal). Namun, tiap perlakuan dapat dibedakan berdasarkan penjumlahan nilai skoring kerusakan histologi hepar.



A) Normal (K+) B) Parasetamol (K-) C) 1:1:1 (P1)  
D) 2:1:3 (P2) E) 3:2:1 (P3) F) 1:3:2 (P4)

Gambar 4.4 Histopatologi Kerusakan Hepar Mencit (Perbesaran 400x dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*)

Keterangan: sel normal (a), degenerasi parenkim (b), degenerasi hidropik (c) dan nekrosis (d)

P = kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam dosis 600 mg/kgBB

Kerusakan hepar seperti degenerasi dan nekrosis juga terjadi pada kelompok normal (K+) yang tidak diberi induksi apapun melainkan hanya makan dan minum *ad libitum*. Kerusakan sel tersebut diduga akibat proses penuaan dan kematian sel yang dialami secara fisiologi oleh seluruh sel-sel normal. Hal ini menunjukkan setiap sel dalam tubuh akan mengalami proses penuaan yang nantinya berujung pada kematian sel dan digantikan oleh sel-sel baru melalui proses regenerasi sel sehingga dapat memelihara populasi sel dalam mekanisme perlindungan dan jaringan tubuh (Zakiah *et al*, 2017). Apoptosis merupakan



kematian sel secara sistematis yang terjadi secara normal selama proses perkembangan hingga penuaan seluruh jaringan tubuh. Kondisi ini berguna dalam menjaga homeostatis sel. Berbeda halnya dengan apoptosis, nekrosis merupakan terjadinya kematian sel secara tidak terkontrol akibat adanya kerusakan sel akut dan bersifat *irreversible* (Pangkahila *et al*, 2019).

Induksi parasetamol pada kelompok K- menunjukkan efek kerusakan hepar yang signifikan ditandai dengan nilai rata-rata presentase tertinggi sebesar 228,99% (Tabel 4.4). Sejalan dengan penelitian Putri & Yulawati (2021), induksi parasetamol pada kelompok K- menghasilkan nilai rata-rata presentase tertinggi sebesar 607,93%. Hasil penelitian Zakiah *et al* (2017) menunjukkan induksi parasetamol 2 gr/kgBB dapat menyebabkan kerusakan hepar yang signifikan, ditandai dengan nekrosis yang masif. Pada kondisi overdosis parasetamol, mekanisme glukoronidasi dan sulfasi menjadi jenuh sehingga adanya peningkatan parasetamol yang dihidroksilasi oleh enzim sitokrom P-450 sehingga terbentuk *N-asetil-para-benzo-kuinon-imin* (NAPQI). Peningkatan produksi NAPQI dapat melebihi ketersediaan *glutathion* (GSH) yang menyebabkan deplesi GSH. Hal ini mengakibatkan NAPQI dapat mengikat protein mitokondria sel hepar sehingga menyebabkan penurunan respirasi mitokondria, stress oksidatif yang meningkat dan disfungsi mitokondria diikuti deplesi simpanan ATP, serta melibatkan produksi radikal bebas toksik pada mitokondria yang mengakibatkan stress oksidatif dan terjadinya hepatotoksitas (Amalia & Suryani, 2020).

Gambaran histologi pada kelompok P1 menunjukkan terjadinya penurunan yang signifikan karena presentase nekrosis sebesar (7,17%) diketahui lebih kecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak temulawak (*C. xanthorrhiza*), temu hitam (*C. aeruginosa*) dan jintan hitam (*N. sativa*) memiliki efek hepatoprotektor pada mencit yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Kondisi ini diduga karena kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid atau steroid, tanin dan saponin yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak. Flavonoid dapat berperan sebagai hepatoprotektor sebab kemampuannya dalam

mengikat radikal bebas maupun zat toksik obat sehingga dapat mencegah kerusakan hepar (Putri & Yuliawati, 2021).

Pada kelompok P2 yang didominasi oleh jintan hitam (*N. sativa*) didapati degenerasi parenkim dan degenerasi hidropik menjadi semakin rendah, namun nekrosis masih terjadi secara masif. Konstituen aktif pada jintan hitam yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu timokuinon yang menunjukkan tingginya aktivitas penangkapan radikal bebas (Kushwah *et al*, 2014). Selain itu, timokuinon dapat menghambat aktivitas hepatic isozim CYP1A1/A2 yang turut serta dalam biotransformasi xenobiotik sebagai pemicu genotoksik (Afdin & Quzwain, 2018). Timokuinon juga berkemampuan dalam mengurangi stress oksidatif, meningkatkan kadar *glutathion* (GSH), menghambat *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan peroksidasi lipid (Amalia & Suryani, 2021). Menurut Sari *et al* (2021) senyawa saponin yang terdapat pada jintan hitam ialah  $\alpha$ -hederin yang berperan dalam menekan peningkatan enzim CYP450.

Sementara itu, kelompok P3 yang didominasi oleh temulawak (*C. xanthorrhiza*) menunjukkan gambaran kerusakan yang masif pada degenerasi hidropik dan nekrosis. Kondisi ini diduga berkaitan dengan kadar senyawa antioksidan tertentu pada jumlah berlebih dapat berakibat pada perubahan menjadi prooksidan sehingga kerusakan oksidatif semakin parah. Flavonoid dan saponin bila dikonsumsi dalam dosis tinggi dapat mengakibatkan sitotoksik pada sel (Wei *et al*, 2021). Selain itu, ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan berakibat pada gangguan konsentrasi fisiologi ROS yang diperlukan supaya sel berfungsi dengan normal (Farooqui *et al*, 2017). Menurut Balaji & Chempakam (2010), kurkumin dan turunannya dapat menyebabkan hepatotoksisitas bila dikonsumsi dalam dosis tinggi atau dalam kurun waktu lama.

Gambaran histologi pada kelompok P4 yang didominasi oleh temu hitam (*C. aeruginosa*) menunjukkan kerusakan sel hepar yang lebih luas daripada kelompok perlakuan lainnya dan mendekati skor nekrosis pada kelompok parasetamol (K-). Hal ini berarti pemberian dosis kombinasi pada P4 belum sepenuhnya maksimal dalam memperbaiki kerusakan sel hepar. Kondisi ini

diduga akibat senyawa toksik yang terkandung dalam temu hitam. Menurut Hestianah *et al* (2010), pemberian ekstrak temu ireng dapat menyebabkan kerusakan sel hepar dan pemakaian berulang selama 30 hari mengakibatkan nekrosis sel yang semakin berat. Senyawa toksik pada temu hitam meliputi 9-metiltetrasiklo, tetradekana, epicurzerenone dan cis-1,3-dimetil-2-metilen sikloheksana (Hestianah *et al*, 2014).

Kerusakan hepatoseluler akibat paparan zat toksik dapat ditandai dengan degenerasi parenkim, lalu terjadi degenerasi hidropik dan mengalami nekrosis. Degenerasi merupakan tanda awal adanya kerusakan sel yang sifatnya *reversible* (Muhartono *et al*, 2019). Degenerasi parenkim merupakan bentuk degenerasi paling ringan yang ditandai dengan pembengkakan sel dan tampak sitoplasma lebih keruh dibandingkan sel normal, serta bersifat *reversible*. Pada sitoplasma tampak adanya granul-granul sebab air dalam jumlah banyak tertimbun dalam sel (Andini & Rahman, 2022). Hal ini disebabkan adanya zat toksik yang mengganggu organel sel, retikulum endoplasma dan mitokondria sehingga berdampak pada kegagalan oksidasi sel yang mengakibatkan ketidakmampuan sel dalam menjaga homeostasis cairan dan ion pada tubuh (Muhartono *et al*, 2019). Sementara itu, degenerasi hidropik yang terjadi pada penelitian ini terlihat adanya vakuola yang berisi air dalam sitoplasma. Menurut Putri dan Yuliawati (2021), degenerasi hidropik termasuk derajat kerusakan yang lebih berat dibandingkan dengan degenerasi parenkim yang identik dengan vakuolisasi air dalam sitoplasma dan bersifat *reversible*. Hal ini disebabkan gangguan transport aktif yang berakibat pada ketidakmampuan sel dalam memompa ion Na<sup>+</sup> yang cukup sehingga menyebabkan pembengkakan sel dan akumulasi ion Na<sup>+</sup> dalam sitoplasma (Andini & Rahman, 2022).

Nekrosis merupakan perubahan morfologi yang disebabkan oleh degradasi progresif oleh enzim pada sel yang rusak, ditandai dengan perubahan dan destruksi nukleus. Perubahan kondisi tersebut dapat diketahui dalam tiga ciri, yaitu inti menyusut dan berwarna gelap (piknosis), inti sel lisis dan pемudaran kromatin (karioreksis), serta inti sel tidak dapat diwarnai dan menghilang (kariolisis) (Zakiah *et al*, 2017). Terjadinya piknosis akibat kerusakan pada

apparatus golgi dan mitokondria berdampak pada sel yang tidak dapat mengeliminasi air dan trigliserida sehingga terjadi penimbunan air pada sitoplasma (Putri & Yuliawati, 2021). Kerioreksis dan kariolisis disebabkan adanya peningkatan sel dan penurunan tekanan membran akibat pelepasan enzim lisis lisosomal (protease dan nuklease) sehingga mengakibatkan sel lisis diikuti dengan respon inflamasi (Haryanti, 2012).

Efek hepatoprotektor kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam diduga disebabkan adanya aktivitas antioksidan kuat dari senyawa-senyawa metabolit sekunder di dalamnya. Flavonoid berperan sebagai pendonor atom hidrogen dalam menghambat terbentuknya radikal bebas dan mencegah proses oksidasi melalui pengkelatan ion logam sehingga flavonoid berkemampuan dalam menghambat peroksidasi lipid dan menekan kerusakan jaringan akibat radikal bebas. Peran tanin sebagai antioksidan melalui peredaman radikal bebas, penghambatan enzim prooksidatif dan pengkelatan logam transisi sehingga dapat menangkal efek stress oksidatif akibat radikal bebas (Romadanu *et al*, 2014). Peran antioksidan alkaloid melalui pendonoran atom H pada radikal bebas. Mekanisme saponin sebagai antioksidan melalui pembentukan hidroperoksida sehingga menghambat terbentuknya lipid peroksida. Selain itu, peran terpenoid atau steroid sebagai antioksidan dengan cara mengurangi pembentukan radikal bebas baru melalui pemutusan reaksi berantai dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil, contohnya superoksida (Kartika *et al*, 2020).

Penelitian ini membuktikan bahwa konsumsi parasetamol yang berlebihan dapat memberi dampak buruk bagi tubuh, khususnya kerusakan pada sel hepar. Penggunaan obat maupun vitamin yang dikonsumsi tidak sesuai ketentuan kadarnya akan membahayakan dan memicu adanya penyakit bagi tubuh. Sebagaimana yang dijelaskan dalam surat Al-Qamar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Terjemahnya:

“*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut qadar.*” (QS. Al-Qamar 54:49).

Menurut Shihab (2002), kata *qadar* dapat diartikan sebagai *ketentuan dan sistem yang telah ditetapkan terhadap segala sesuatu*. Ayat tersebut menunjukkan bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT telah sesuai ukurannya masing-masing. Ketetapan Allah SWT telah diatur sedemikian rupa demi kebaikan makhluk ciptaan-Nya. Sudah seharusnya manusia senantiasa bersyukur atas rahmat dan nikmat-Nya.

Dalam Islam telah banyak penjelasan mengenai segala ciptaan Allah SWT tidak ada satupun yang sia-sia, sebab masing-masing memiliki peranan tersendiri. Salah satunya keberagaman tanaman yang membutuhkan suatu penelitian untuk mengetahui potensi dan khasiatnya, khususnya sebagai bahan pengobatan. Oleh karena itu, manusia dapat melakukan pengembangan dan perluasan ilmu terkait obat yang berasal baik dari tumbuhan, hewan maupun mineral. Walaupun tidak semua tanaman yang ada di bumi dapat menyembuhkan suatu penyakit tertentu, namun setiap tanaman memiliki manfaat tersendiri yang harus dikaji lebih dalam, sebagaimana Nabi Muhammad SAW bersabda : *Dari Abu AD Darda ia berkata, “Rasulullah shallallahu ‘alaihi wasallam bersabda: “Sesungguhnya Allah SWT yang menurunkan penyakit, dan Dia juga yang menurunkan obatnya”*. (HR. Abu Daud: No. 3376).

Hadis ini mengungkapkan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya dan tidak ada suatu penyakit yang tidak dapat disembuhkan. Sejatinya manusia senantiasa ingin memperoleh nikmat sehat dalam kondisi apapun sebab sehat menjadi kunci kebahagiaan hati. Atas izin Allah SWT setiap penyakit yang diderita manusia pasti ada jalan untuk sembuh dan manusia harus senantiasa berusaha dalam mengkaji potensi bahan yang ada di bumi ini, sehingga peluang untuk sembuh semakin besar.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### 5.1 Kesimpulan

1. Kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam dapat menurunkan berat relatif organ hepar mencit yang diinduksi parasetamol dosis toksik.
2. Kombinasi ekstrak temulawak, temu hitam dan jintan hitam dosis 600 mg/kgBB dengan perbandingan 1:1:1 (P1) memiliki efek hepatoprotektor terhadap gambaran histopatologi hepar mencit yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

#### 5.2 Saran

1. Uji fitokimia secara kuantitatif pada ketiga bahan ekstrak.
2. Perlu dilakukan penambahan variasi dosis dan efek jangka panjang kombinasi ekstrak untuk mendapatkan hasil yang maksimal.

UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, G. O., Rahman, M. M., Lee, S. J., Kim, G. B., Kang, H. S., Kim, J. S., & Kim, S. J. (2016). Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* seed extract against acetaminophen-induced oxidative stress. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(3), 221-227.
- Adriana, Y. (2020). Uji Antioksidan Tablet Ekstrak Meniran (*Phyllanthus Niruri* L.), Ekstrak Rimpangtemu Hitam (*Curcuma Aeruginosa* Roxb.) Dan Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella Sativa* L.). *Jurnal Medika Hutama*, 1, 139-145.
- Afdin, R. R., & Quzwain, F. (2018). Efek Hepatoprotektor Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Kerusakan Hepar Tikus Putih Jantan Galur Sparague Dawley Yang Diinduksi Etanol. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 6(1), 36-44.
- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(5), 337-352.
- Amalia, C., & Suryani, D. (2021). Perbandingan Efek Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus yang Diinduksi Parasetamol. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 8(3), 19-27.
- Andini, M., & 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.
- Angel, G. R., Vimala, B., & Nambisan, B. (2012). Phenolic content and antioxidant activity in five underutilized starchy *Curcuma* species. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(2), 69-73.
- Azmi, F. (2016). Anatomi dan Histologi Hepar. *Jurnal Kedokteran*, 1(2), 147-154.
- Balaji, S., & Chempakam, B. (2010). Toxicity prediction of compounds from turmeric (*Curcuma longa* L). *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2951-2959.
- Balitbang Kemenkes RI. (2013). *Riset Kesehatan Dasar, RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes.
- Bintoro, A., Ibrahim, A. M., Situmeang, B., Kimia, J. K. S. T. A., & Cilegon, B. (2017). Analisis dan identifikasi senyawa saponin dari daun bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *Jurnal Itekima*, 2(1), 84-94.
- Chefirat, B., Zergui, A., Rahmani, C., Belmessabih, M. N., & Rezk-kallah, H. (2020). Acute paracetamol poisonings received at the Oran University Hospital. *Toxicology Reports*, 7, 1172–1177.
- Choudhury, D. I. B. A. K. A. R., Ghosal, M. I. T. A. L. I., Das, A. P., & Mandal, P. A. L. A. S. H. (2013). Development of single node cutting propagation techniques and

- evaluation of antioxidant activity of *Curcuma aeruginosa* Roxburgh rhizome. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 5(2), 227-234.
- Devaraj, S., Ismail, S., Ramanathan, S., & Yam, M. F. (2014). Investigation of antioxidant and hepatoprotective activity of standardized *Curcuma xanthorrhiza* rhizome in carbon tetrachloride-induced hepatic damaged rats. *The Scientific World Journal*.
- Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. (2018). Chemical composition and biological activities of essential oils of *Curcuma* species. *Nutrients*, 10(9), 1196.
- Farooqui, Z., Ahmed, F., Rizwan, S., Shahid, F., Khan, A. A., & Khan, F. (2017). Protective effect of *Nigella sativa* oil on cisplatin induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 85, 7-15.
- Fitmawati, F., Titrawani, T., & Safitri, W. (2018). Struktur Histologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769) Dengan Pemberian Ramuan Tradisional Masyarakat Melayu Lingga, Kepulauan Riau. *Ekotonia*, 3(1), 11-19.
- Handayani, D., Halimatushadyah, E., & Krismayadi, K. (2023). Standarisasi Mutu Simplisia Rimpang Kunyit Dan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn). *Pharmacy Genius*, 2(1), 43-59.
- Harijati, N., Samino, S., Indriyani, S., & Soewondo, A. (2017). *Mikroteknik dasar*. Universitas Brawijaya Press.
- Haryanti, S. (2012). Studi Praktikum Potensi Hepatoprotektif Ramuan Jamu (Rimpang Temulawak, Rimpang Kunyit, dan Herba Jombang).
- Hasan, A. E. Z., Setiyono, A., & Afrian, M. (2022). Hepatoprotective Activity of *Propolis Trigona* spp., *Curcuma xanthorrhiza*, *Hibiscus sabdariffa*, and *Myrmeleon* sp. in Rats Induced by Paracetamol. *Current Biochemistry*, 9(1), 38-50.
- Hestianah, E. P., Hidayat, N., & Koesdarto, S. (2010). Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit jantan. *Veterinaria Medika*, 3(1), 41-44.
- Hestianah, E. P., Kusumawati, I., Suwanti, L. T., & Subekti, S. (2014). Toxic compounds of *Curcuma aeruginosa* causes necrosis of mice hepatocytes. *Universa Medicina*, 33(2), 118-125.
- Hidayat, L. N. R., Riyadi, S. A., Gustiani, S., & Dwicahya, A. (2022). Aplikasi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa* L.) Sebagai Zat Antibakteri Pada Kain Kapas Dengan Variasi Metode. *Arena Tekstil*, 37(1).
- Jose, S., & Thomas, T. D. (2014). Comparative phytochemical and anti-bacterial studies of two indigenous medicinal plants *Curcuma caesia* Roxb. and *Curcuma aeruginosa* Roxb. *International Journal of Green Pharmacy*, 8(1), 65-71.
- Kartika, L., Ardana, M., & Rusli, R. (2020). Aktivitas Antioksidan Tanaman *Artocarpus*. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 12, pp. 237-244).



- Kim, S. H., Hong, K. O., Chung, W. Y., Hwang, J. K., & Park, K. K. (2004). Abrogation of cisplatin-induced hepatotoxicity in mice by xanthorrhizol is related to its effect on the regulation of gene transcription. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196(3), 346-355.
- Kumar, V., Abbas, A., & Aster, J. (2014). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease 9th Edition*. Canada: Elsevier Health Science.
- Kushwah, D. S., Salman, M. T., Singh, P., Verma, V. K., & Ahmad, A. (2014). Protective effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* seed in paracetamol induced acute hepatotoxicity in vivo. *PJBS*, 17(4), 517-522.
- Kustina, E., Zulharmita, M. S & Sestry. M. (2020). Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.: a review. *International Journal of Science and Healthcare Research*, 5(3), 2455-7587.
- Lestari, T., Lubis, Y. M., Nasution, S. W., Nasution, R., Lestari, S., Tjong, D. H., & Nasution, A. N. (2019). Uji Efektivitas Ekstrak Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) dan Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) dari Pemeriksaan SGOT dan SGPT terhadap Tikus yang di Induksi Paracetamol. *Jurnal Farmacia*, 1(1), 1-7.
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 26087-26124.
- Lim, T. K. (2016). *Curcuma aeruginosa*. In *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants* (pp. 233-240). Springer, Cham.
- Lucy, J., Florencia, L., Elvina, E., Stefani, D., & Susanti, A. I. (2017). Efek pemberian Temulawak terhadap berat badan dan sistem imun Mencit BALB/c. *FaST-Jurnal Sains dan Teknologi (Journal of Science and Technology)*, 1(1), 32-50.
- Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. (2020). Uji senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal Mipa*, 9(2), 64-69.
- Marinda, F. D. (2014). Hepatoprotective effect of curcumin in chronic hepatitis. *Jurnal Majority*, 3(7).
- Marlinda, M., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. (2012). Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa*, 1(1), 24-28.
- Michel, C. G., El-Sayed, N. S., Moustafa, S. F., Ezzat, S. M., Nesseem, D. I., & El-Alfy, T. S. (2011). Phytochemical and biological investigation of the extracts of *Nigella sativa* L. seed waste. *Drug testing and analysis*, 3(4), 245-254.
- Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Lim, K. L., Yusof, H. M., Beh, B. K., Tan, S. W & Alitheen, N. B. (2015). Antioxidant effects of pineapple vinegar in reversing of paracetamol-induced liver damage in mice. *Chinese medicine*, 10(1), 1-10.

- Mohan, H. (2010). *textbook of Pathology (sixth)*. India: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Moon-ai, W., Niyomploy, P., Boonsombat, R., Sangvanich, P., & Karnchanatat, A. (2012). A superoxide dismutase purified from the rhizome of *Curcuma aeruginosa* Roxb. as inhibitor of nitric oxide production in the macrophage-like RAW 264.7 cell line. *Applied biochemistry and biotechnology*, 166, 2138-2155.
- Muhartono, M., Oktarlina, R. Z., & Purohita, N. S. (2019). Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Jantan. *Jurnal Majority*, 8(1), 71-77.
- Muthmainnah, B. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum*) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*. 13(2), 36-41.
- Nithianantham, K., Shyamala, M., Chen, Y., Latha, L. Y., Jothy, S. L., & Sasidharan, S. (2011). Hepatoprotective potential of *Clitoria ternatea* leaf extract against paracetamol induced damage in mice. *Molecules*, 16(12), 10134-10145.
- Nofiani, M. S. P. A. R. (2013). Analisis Organoleptik Produk Bubuk Penyedap Rasa Alami Dari Ekstrak Daun Sansakng (*Pycnarrhena cauliflora* Diels). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2(1).
- Noorbakhsh, M. F., Hayati, F., Samarghandian, S., Shaterzadeh-Yazdi, H., & Farkhondeh, T. (2018). An overview of hepatoprotective effects of thymoquinone. *Recent patents on food, nutrition & agriculture*, 9(1), 14-22.
- Novarini, T., Indrayati, A., & Purwaningsih, D. (2022). Activity Assay of Superoxide Dismutase (SOD) Enzyme in The Extract of Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) with Water Soluble Tetrazolium Salt-1 (WST-1) Method. *J. Sains Kes*, 4(5), 464-472.
- Novitasari, N., & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak daun rambai laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal ilmiah manuntung*, 4(1), 79-83.
- Nurchollifah, Y., Wijayatri, R., & Hidayat, I. W. (2021). Literature Study Of Pharmacological Effects Of Black Seed (*Nigella Sativa*) Based On Active Seeds. *In Prosiding University Research Colloquium* (pp. 815-832).
- Nurhasnawati, H., Sukarmi, S., & Handayani, F. (2017). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 91-95.
- Pangkahila, E., Linawati, N. M., Sugiritama, I. W., & Siswanto, F. M. (2019). Pelatihan Fisik Berlebih Meningkatkan Indeks Apoptosis pada Hepatosit Tikus Wistar Jantan. *Jurnal Biomedik: JBM*, 11(3).

- Puspa, O. E., Syahbanu, I., & Wibowo, M. A. (2017). Uji fitokimia dan toksisitas minyak atsiri daun pala (*myristica fragans houtt*) dari pulau lemukutan. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(2).
- Putri, F. M. S. (2018). Urgensi Etika Medis Dalam Penanganan Mencit Pada Penelitian Farmakologi. *Jurnal Kesehatan Madani Medika*, 9(2), 51-61.
- Putri, R. P., Rousdy, D. W., Yanti, A. H., & Wardoyo, E. R. P. (2019). Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Metanol Buah Lakum [*Cayratia trifolia* (L.) Domin] terhadap Hepatosit Tikus Putih (*Rattus novergicus* L.) yang Diinduksi Parasetamol. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 36(2), 71-78.
- Putri, W. C. W., & Yuliawati, Y. (2021). Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Parasetamol. *Pharmaccon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2), 148-156.
- Rafita, I. D., Lisdiana, L., & Marianti, A. (2015). Pengaruh ekstrak kayu manis terhadap gambaran histopatologi dan kadar sgot-sgpt hepar tikus yang diinduksi parasetamol. *Life Science*, 4(1).
- Rahmat, E., Lee, J., & Kang, Y. (2021). Javanese turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.): Ethnobotany, phytochemistry, biotechnology, and pharmacological activities. *Evidence-Based complementary and alternative medicine*, 2021.
- Rajsekhar, S., & Kuldeep, B. (2011). Pharmacognosy and pharmacology of *Nigella sativa*-A review. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(11), 36-39.
- Rejeki, P. S., Putri, E. A. C., & Prasetya, R. E. (2019). *Ovariectomi pada Tikus dan Mencit*. Surabaya: Airlangga Unibersity Press.
- Rogers, A. B., & Dintzis, R. Z. (2012). liver and Gallbladder. in *Comparative anatomy and Histology*. academic Press.
- Romadanu, R., Hanggita, S., & Lestari, S. D. (2014). Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bunga lotus (*Nelumbo nucifera*). *Jurnal Fishtech*, 3(1), 1-7.
- Salamah, N., & Widiasari, E. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2, 2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25-34.
- Sari, K., Muharani, R., Manaf, S., Taurina, H., Umar, L. A., & Lestari, N. (2021). Efek Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih yang Diinduksi Isoniazid. *BIOEDUSAINS*, 4(2), 315-324.
- Setiadi, A., Khumaida, N., & Ardie, S. W. (2017). Keragaman beberapa aksesori temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) berdasarkan karakter morfologi. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 45(1), 71-78.
- Shihab, M. Q. (2002). Tafsir al-misbah. *Jakarta: lentera hati*, 2.

- Silitonga, M., Sinaga, E., & Silitonga, P. M. (2021). Pengaruh Ekstrak Etanol *Plectranthus amboinicus* Lour Spreng Terhadap Berat Badan Dan Berat Relatif Tikus Yang Diinduksi Kanker Kulit Dengan DMBA. *Jurnal Biosains Unimed*, 7(2), 59-65.
- Srinivasan, K. (2018). Cumin (*Cuminum cyminum*) and black cumin (*Nigella sativa*) seeds: traditional uses, chemical constituents, and nutraceutical effects. *Food quality and safety*, 2(1), 1-16.
- Sukardi, S., Iqbal, N. I. A., & Winarsih, S. (2021). Kajian Antioksidan, Total Fenol & Total Flavonoid Jamu Selokarang yang diformulasi dengan Jinten Hitam (*Nigella sativa*). *Food Technology and Halal Science Journal*, 4(1), 39-51.
- Surasa, N. J., Utami, N. R., & Isnaeni, W. (2014). Struktur Mikroanatomi Hati Dan Kadar Kolesterol Total Plasma Darah Tikus Putih Strain Wistar Pasca Suplementasi Minyak Lemuru Dan Minyak Sawit. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 6(2), 117-127.
- Syamsudin, R. A. M. R., Perdana, F., & Mutiaz, F. S. (2019). Tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) sebagai obat tradisional. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 10(1), 51-65.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Triastusi, E., Auli, M. T., & Yunita, E. P. (2016). Efek Pemberian Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Konsentrasi GLUT-4 Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar Model Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Media Husada*, 5(1), 01-10.
- Wahyuningsih, S., & Sutjiatmo, A. B. (2015). Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Air Akar Kuning (*Fibraurea tinctoria* Lour) Pada Tikus Putih Betina Galur Wistar. *Aristoteles*, 4(1).
- Wahyuningtyas, S. E. P., Permana, D. G. M., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2017). Pengaruh jenis pelarut terhadap kandungan senyawa kurkumin dan aktivitas antioksidan ekstrak kunyit (*Curcuma domestica* Val.). *Jurnal ITEPA Vol*, 6(2).
- Wei, J., Li, Y., Wang, H., Pei, D., Wang, N., Di, D., & Liu, Y. (2021). Protective Effect of *Lycium barbarum* Polysaccharides on Anti-Tuberculosis Drug-Induced Injury to Human Hepatocytes and Its Mechanism. *Journal of Food Biochemistry*, 44(10), e13412.
- Yanti, S., & Vera, Y. (2019). Skrining fitokimia ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia*, 4(1), 41-46.
- Zakiah, N., Yanuarman, Y., Frengki, F., & Munazar, M. (2017). Aktifitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Terhadap Kerusakan Hati Tikus yang Diinduksi dengan Parasetamol. *AcTion*, 2(1), 25-31.

- Zen, S., Kamelia, M., & Noor, R. (2019). Pemanfaatan etnomedisin dari famili Zingiberaceae pada masyarakat etnis Lampung Pesisir Kabupaten Tanggamus Kecamatan Semaka Provinsi Lampung. *Prosiding Seminar Nasional Peningkatan Mutu Pendidikan*, 1(1), 214–220.
- Zulfatunnaim, L. D., Bintari, S. H., Mubarak, I., & Dewi, P. (2022). Potensi Ekstrak Akuades Biji Pepaya sebagai Penghambat Pertumbuhan Khamir Penyebab Busuk Buah Tomat dan Stroberi. *Life Science*, 11(1), 13-29.



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A