

**EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
DEWANDARU (*Eugenia uniflora* L.) TERHADAP MENCIT
JANTAN GALUR SWISS TERINDUKSI PARASETAMOL**

SKRIPSI



Oleh :

**ILIK SUTARI
K 100 040 230**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2008**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hati merupakan organ metabolisme yang terbesar dan terpenting di dalam tubuh. Hati terlibat dalam sintesis, penyimpanan, dan metabolisme banyak senyawa endogen dan klirens senyawa eksogen, termasuk obat dan toksik yang lain dari tubuh (Aslam, dkk., 2003). Pada orang dewasa umumnya berat hati adalah 1,5 kg (Underwood, 1999).

Hepatotoksin adalah agen yang jika diberikan dalam jumlah yang memadai akan menyebabkan kerusakan hati (Sodeman dan Sodeman, 1995). Hepatotoksin dapat menyebabkan kerusakan hati akut, sub kronik, dan kronik (Zimmerman, 1978).

Penyakit hati merupakan penyakit yang sering dijumpai pada masyarakat. Penyakit ini bisa disebabkan karena dua faktor, yaitu mikroorganisme dan obat-obatan (Underwood, 1999). Salah satu obat yang dapat menyebabkan masalah pada hati adalah parasetamol (asetaminofen) (Aslam, dkk., 2003). Parasetamol banyak digunakan di Indonesia sebagai analgetik antipiretik yang aman. Namun, penggunaannya tetap harus dengan hati-hati, karena dosis dari 6-12 gram sudah dapat merusak hati secara fatal (Tjay dan Rahardja, 1978). Parasetamol dapat menyebabkan kerusakan pada hati, karena di hati oleh enzim P-450 parasetamol akan diubah menjadi suatu metabolit aktif yang bersifat toksis yaitu NAPKI (N-asetil-p-benzokuinonimina). Hingga saat ini belum ada obat yang secara spesifik mengatasi hepatitis (Gestanovia dan Hendra, 2004), karena itu perlu dilakukan

penelitian untuk mendapatkan obat alam yang dapat digunakan sebagai hepatoprotektor.

Tanaman dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) merupakan salah satu tanaman dari familia myrtaceae (Rahayu, 2007). Dewandaru banyak mengandung senyawa flavonoid, dimana 96,7% aktivitas antiradikal ekstrak daun dewandaru disumbangkan oleh senyawa flavonoid (Utami, dkk., 2005). Flavonoid dapat digunakan sebagai pelindung mukosa lambung, antioksidan, dan mengobati gangguan fungsi hati (Robinson, 1995). Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat semipolar, maka dapat larut dalam pelarut seperti etanol (Markham, 1988), sehingga tidak menutup kemungkinan senyawa flavonoid yang terkandung pada daun dewandaru dapat larut dalam pelarut etanol.

Untuk membuktikan hal tersebut, maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui efek hepatoprotektif ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) terhadap mencit jantan galur Swiss yang terinduksi parasetamol.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol 70% daun dewandaru mempunyai efek hepatoprotektif terhadap hati mencit jantan galur Swiss yang terinduksi parasetamol?
2. Apakah ekstrak etanol 70% daun dewandaru memiliki kandungan kimia flavonoid?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol 70% daun dewandaru mempunyai efek hepatoprotektif terhadap hati mencit jantan galur Swiss yang terinduksi parasetamol.
2. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol 70% daun dewandaru memiliki kandungan kimia flavonoid.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman dewandaru

a). Sistematika

Devisi : Spermatophyta

Sub devisi : Angiosperma

Kelas : Dikotiledoneae

Bangsa : Myrtales

Suku : Myrtaceae

Marga : Eugenia

Jenis : *Eugenia uniflora* L.

Sinonim : *Eugenia michelii* Lamk. (Hutapea, 1994).

b). Nama daerah

Sumatra : cereme asam (melayu)

Jawa : asam selong, belimbing londo, dan dewandaru (Hutapea, 1994).

c). Deskripsi

Tanaman dewandaru merupakan tanaman perdu tahunan, tingginya sekitar 5 m, berbatang kayu berbentuk bulat, berwarna coklat, dan tegak. Daunnya berupa daun tunggal, tersebar, berbentuk lonjong, dengan ujung runcing, bagian pangkal meruncing, tepi rata, dan pertulangan daun menyirip, panjang ± 5 cm, lebar ± 4 cm, dan berwarna hijau. Bunganya berupa bunga tunggal, berkelamin dua, memiliki daun pelindung yang kecil, berwarna hijau, kelopak bunga bertaju 3-5, benang sari lebih putih, putik silindris, mahkota berbentuk kuku, berwarna kuning. Buah dewandaru merupakan jenis buah berbentuk buni, bulat, diameter $\pm 1,5$ cm, dengan warna merah. Bijinya berukuran kecil, keras, dan berwarna coklat. Akarnya tunggang berwarna coklat (Hutapea, 1994).

d). Khasiat dan Kandungan Kimia

Daun dewandaru berkhasiat sebagai obat diare (Hutapea, 1994), selain itu daun dewandaru juga berkhasiat sebagai obat flu (Anonim, 1992). Tumbuhan dewandaru mengandung antara lain saponin, flavonoid, seperti antosianin (Einbond, *et al.*, 2004), tanin (Hutapea, 1994), vitamin C, dan senyawa atsiri seperti sitronela, sineol, terpetin, dan sesquiterpen (Anonim, 1992; Walker and Setzer, 2005).

e). Potensi Tanaman Dewandaru

Penelitian mengenai potensi tanaman dewandaru sangat beragam, hal ini yang mendorong para peneliti untuk menggali potensi-potensi lain dari tanaman dewandaru. Penelitian yang dilakukan oleh Khotimah (2004) menyatakan bahwa daun dewandaru memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*,

Shigella dysenteriae, dan *Echerichia coli*. Sedangkan Walker *et al*, (2005) menyatakan kandungan minyak atsiri dalam daun dewandaru memiliki aktivitas sitotoksik secara *invitro* terhadap sel tumor manusia. Hasil penelitian Luize *et al*, (2005) membuktikan bahwa daun dewandaru memiliki aktivitas antihelmintik yaitu dengan menghambat pertumbuhan *Leishmania amazonensis* dan *Trypanozoma cruzi*. Selain itu, hasil penelitian Rahayu (2004) mengungkapkan bahwa tanaman dewandaru memiliki aktivitas antiradikal.

2. Parasetamol

Asetaminofen (parasetamol) merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang sama dan telah digunakan sejak tahun 1983. Di Indonesia, penggunaan parasetamol sebagai analgesik dan antipiretik telah menggantikan penggunaan salisilat (Wilmana, 1995). Namun, penggunaannya tetap harus dengan hati-hati, karena dosis dari 6-12 gram sudah dapat merusak hati secara fatal. Hal ini disebabkan karena terbentuknya metabolit toksis di dalam hati, yang pada dosis di bawah 10 gram dapat diikat oleh glutathion (suatu tripeptida dengan –SH), tetapi pada dosis yang lebih tinggi persediaan zat ini telah terpakai seluruhnya dan terjadilah pengikatan pada molekul-molekul makro lainnya dari sel-sel hati hingga mengakibatkan kerusakan yang irreversibel (Tjay dan Rahardja, 1987).

Parasetamol adalah salah satu obat yang sering dikonsumsi masyarakat, dapat menyebabkan kerusakan pada hati karena di hati, oleh enzim sitokrom p-450 akan diubah menjadi suatu metabolit aktif yang bersifat toksik, yaitu NAPKI (N-asetil-p-benzokuinonimina) (Gestanovia dan Hendra, 2004). Parasetamol dapat

menyebabkan nekrosis hati hanya bila 85% atau lebih glutathion hati telah berkurang (Fadlie dan Hendra, 2004).

3. Fisiologi hati

Hati merupakan organ metabolisme yang terbesar dan terpenting dalam tubuh. Hati terlibat dalam sintesis, penyimpanan dan metabolisme banyak senyawa endogen dan klirens senyawa eksogen, termasuk obat dan toksin yang lain dari tubuh (Aslam, dkk., 2003). Hati merupakan organ berbentuk baji dengan berat 1,5 kg pada orang dewasa (Underwood, 1999). Hati adalah organ plastis lunak yang tercetak oleh struktur sekitarnya. Permukaan superior adalah cembung dan terletak di bawah kubah kanan diafragma dan sebagian disebelah kiri. Bagian bawah hati adalah cekung dan merupakan atap ginjal kanan, lambung, pankreas dan usus (Price dan Wilson, 1995).

Hati terbagi menjadi 3 lobus yaitu lobus kanan (terbesar), kiri, dan kaudal (terkecil). Hepar mendapat darah dari 2 sumber, yaitu:

- a). Darah arteri, berasal dari arteri hepatica kanan dan kiri yang merupakan percabangan dari pleksus koliaka.
- b). Darah vena, berasal dari vena porta hepatica yang berasal dari sebagian besar traktus digestivus, mulai dari gaster sampai rektum dan limpa (Underwood, 1999).

Fungsi utama hati adalah pembentukan dan ekskresi empedu. Hati juga memegang peranan penting dalam metabolisme 3 bahan makanan yaitu karbohidrat, lemak dan protein. Selain itu fungsi metabolisme yang lain adalah metabolisme lemak; penyimpanan vitamin, besi dan tembaga; konjugasi dan

ekskresi steroid adrenal dan gonad. Hati juga mampu mensintesis glukosa dari protein dan lemak (Price dan Wilson, 1995).

Sel hepar mengandung berbagai enzim, beberapa di antaranya penting untuk diagnostik karena dialirkan ke pembuluh darah. Aktivitasnya dapat diukur sehingga dapat menunjukkan adanya penyakit hati atau tingkat keparahannya.

Enzim-enzim ini adalah:

- a). Aspartate aminotransferase (AST/SGOT).
- b). Alanine aminotransferase (ALT/SGPT).
- c). γ -glutamyltransferase (γ -GT) (Underwood, 1999).

4. Hepatotoksin

Hepatotoksin adalah senyawa yang dapat menyebabkan gangguan pada jaringan hati (Robbins dan Kumar, 1995). Kerusakan hati akibat obat termasuk relatif jarang, namun jika terjadi akan mengakibatkan morbiditas dan mortalitas yang bermakna. Banyak obat yang diduga mengakibatkan masalah pada hati, dan spektrum hepatotoksisitas akibat obat sangatlah luas. Rentang spektrum ini dapat dimulai dari perubahan reversibel yang asimtomatis pada tes fungsi hati sampai dengan nekrosis hati akut yang fatal, tetapi yang paling sering terjadi adalah *jaundice* dan hepatitis (Aslam, dkk., 2003).

Hepatotoksisitas, dibagi menjadi 2:

- a). Hepatotoksisitas intrinsik (tipe A, dapat diprediksi)

Hepatotoksin intrinsik merupakan hepatotoksin yang dapat diprediksi, tergantung dosis dan melibatkan mayoritas individu yang menggunakan obat dalam jumlah tertentu. Rentang waktu antara mulainya dan timbulnya kerusakan

hati sangat bervariasi (dari beberapa jam sampai beberapa minggu). Salah satu contohnya adalah parasetamol (Asetaminofen) menyebabkan nekrosis hati yang dapat diprediksi pada pemberian over dosis (Aslam, dkk., 2003).

b). Hepatotoksisitas idiosinkratik (tipe B, tidak dapat diprediksi)

Hepatotoksin idiosinkratik merupakan hepatotoksin yang tidak dapat diprediksi. Hepatotoksin ini terkait dengan hipersensitivitas atau kelainan metabolisme. Respon dari hepatotoksin ini tidak dapat diprediksi dan tidak tergantung pada dosis pemberian. Masa inkubasi toksin ini bervariasi, tetapi biasanya berminggu-minggu atau berbulan-bulan. Contohnya seperti sulfonamid, isoniazid, halotan dan klorpromazin (Aslam, dkk., 2003).

5. Penyakit hati

Hepatitis adalah semua reaksi inflamasi yang terjadi pada parenkim hati (Gibs dan Wilson, 1989). Hepatitis virus, hepatitis alkoholik, dan hepatitis alergi atau idiosinkratik (karena obat-obatan atau agen-agen lingkungan lainnya) adalah bentuk-bentuk hepatitis yang utama. Hepatitis idiosinkratik atau alergi adalah bentuk penyakit hati yang paling sering dan berbahaya. Hampir setiap obat dan banyak bahan kimia lingkungan dapat menimbulkan bentuk hepatitis ini (Sodeman dan Sodeman, 1995).

Hepatitis virus merupakan jenis hepatitis penyebab cedera akut yang paling sering terjadi. Virus hepatitis yang utama adalah virus hepatitis A (VHA), virus hepatitis B (VHB), virus hepatitis C (VHC), virus hepatitis E (VHE), dan bahan delta serta virus cacat yang memerlukan VHB untuk patogenitasnya (Underwood, 1999).

Penyebab cedera hepar akut antara lain virus, alkohol, obat-obatan, dan obstruksi saluran empedu (Underwood, 1999). Banyak obat yang diduga mengakibatkan masalah pada hati. Spektrum hepatotoksisitas akibat obat sangatlah luas (Aslam, dkk., 2003). Hepatotoksin dapat menyebabkan gangguan pada jaringan hati, biasanya senyawa ini tergantung pada dosis pemberian, interval waktu pemberian yang singkat antara metabolisme obat dan reaksi melawan, dan kemampuan untuk menimbulkan perubahan yang sama seperti pada hewan uji (Robbins dan Kumar, 1995).

Macam-macam penyakit hati:

a). Nekrosis

Nekrosis hati adalah kematian hepatosit. Nekrosis dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) atau massif. Biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Beberapa zat kimia telah dibuktikan atau dilaporkan menyebabkan nekrosis hati (Zimmerman, 1978). Nekrosis hati merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis karena hati mempunyai kapasitas pertumbuhan kembali yang luar biasa. Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma. Tidak ada perubahan ultrastruktural membran yang dapat dideteksi sebelum pecah. Namun, ada beberapa perubahan yang mendahului kematian sel. Perubahan yang terdahulu merupakan pembengkakan mitokondria progresif dengan kerusakan kista, pembengkakan sitoplasma, penghancuran organel dan inti, dan pecahnya membran plasma (Lu, 1995).

b). Fibrosis hati

Fibrosis hati terjadi sebagai respon injuri hati, merupakan perkembangan dari penyakit hati kronik akibat inflamasi berulang, sehingga arsitektur normal hati diganti oleh jaringan parut. Bentuk stadium lanjut dari fibrosis pada hati adalah sirosis.

Penyebab fibrosis hati antara lain;

- 1). Infeksi virus dan parasit
- 2). Alkoholisme
- 3). Penyakit metabolisme
- 4). Autoimun dan *drug induce* atau toksisitas (Muchayat, 2004).

c). Sirosis hati

Sirosis hati ditandai oleh adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian besar hati. Kumpulan hepatosit muncul sebagai nodul yang dipisahkan oleh lapisan berserat ini (Lu, 1995). Deskripsi patologis dari sirosis antara lain;

- 1). Nekrosis hati utama yang benar-benar ada atau disimpulkan yang cukup untuk merusak seluruh lobulus pada sekurang-kurangnya dua pertiga hati.
- 2). Pembentukan jaringan parut besar permanen dengan pembentukan tali-tali fibrosa penuh yang melingkari jaringan hati.
- 3). Pembentukan hati baru melalui proses regenerasi (Sodeman dan Sodeman, 1995).

6. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan dengan bahan pengestraksi. Rendaman tersebut disimpan

terlindung dari cahaya langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna sambil sesekali dikocok kembali. Persyaratan rendaman harus dikocok berulang-ulang untuk menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Voigt, 1971).

Saat proses maserasi, cairan penyari akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Keuntungan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilaksanakan (Anonim, 1986).

Cara penyari yang baik harus memenuhi persyaratan, yaitu:

- a). Murah dan mudah diperoleh
- b). Stabil dengan cara fisika dan kimia
- c). Bereaksi netral
- d). Tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar
- e). Hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki (Anonim, 1986).

Hasil maserasi diperoleh ekstrak. Ekstrak adalah cairan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan hingga massa atau serbuk saja yang tersisa (Anonim, 2000).

7. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan, terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat, gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran akan dipisah, berupa larutan, ditotol berupa bercak atau pita (awal) (Stahl, 1985). Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi serapan, tetapi juga merupakan kromatografi partisi karena bahan penyerap telah dilapisi air dari udara. Sistem ini segera populer karena memberikan banyak keuntungan, misalnya peralatan yang diperlukan sedikit, murah, sederhana, waktu analisis cepat, dan daya pisah cukup baik (Sudjadi, 1986).

a). Fase diam

Pada semua prosedur kromatografi, kondisi optimum untuk suatu pemisahan merupakan hasil kecocokan antara fase diam dan fase gerak. Keistimewaan KLT adalah lapisan tipis fase diam dan kemampuan pemisahannya. Kromatografi lapis tipis umumnya menggunakan fase diam silika gel (Sudjadi, 1986). Fase diam pada kromatografi lapis tipis adalah bahan penyerap atau absorber. Sifat penting bahan penyerap adalah ukuran partikelnya serta homogenitasnya. Kedua hal ini menentukan daya lekat pendukung. Sebelum digunakan lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas uap laboratorium (Sudjadi, 1986).

b). Fase gerak

Fase gerak adalah medium angkut yang terdiri dari satu atau beberapa pelarut yang bergerak di dalam fase diam, yaitu lapisan berpori, karena ada gaya

kapiler. Pelarut yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, sistem pelarut multikomponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen. Angka banding campuran digunakan sedemikian rupa sehingga volume total 100 (Stahl, 1985).

c). Deteksi

Untuk deteksi senyawa yang dipisahkan cara yang paling sederhana adalah jika senyawa yang menunjukkan penyerapan di daerah UV gelombang pendek (254 nm) atau jika senyawa itu dapat dideteksi ke fluoresensi radiasi sinar UV gelombang panjang (366 nm). Jika dengan kedua cara ini tidak dapat dideteksi harus dicoba dengan reaksi kimia dengan atau tanpa pemanasan (Stahl, 1985).

d). Penilaian kromatogram

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan

harga Rf (*Retardation Factor*) atau hRF, yang biasanya didefinisikan sebagai :

$$Rf : \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh solven}}$$

Angka Rf berjangka antara 0,00 – 1,00 harga dapat ditentukan dua desimal. hRF dikalikan faktor 100 (Stahl, 1985).

8. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa polifenolik yang biasa ditemukan secara luas dalam buah-buahan dan sayur-sayuran (Farkas, *et al.*, 2004), senyawa fenolik terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, bunga, dan biji (Harborne, 1987). Senyawa ini umumnya dalam keadaan terikat atau terkonjugasi dengan senyawa gula (Winarsi, 2005).

Flavonoid mengandung 15 atom karbon tersusun dalam konfigurasi $C_6C_3C_6$ yaitu cincin benzen yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Anonim, 2006).

Flavonoid telah diteliti memiliki berbagai aktivitas biologis. Flavonoid berperan sebagai antikanker, antiviral, antiinflamasi, mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler, penangkapan radikal bebas (Farkas, *et al.*, 2004). Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah dan melebarkan pembuluh darah (Anonim, 2006).

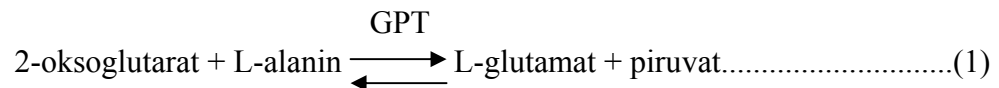
Flavonoid mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil-sulfoksida, dimetilformamida, serta air (Markham, 1988). Sebaliknya untuk flavonoid yang kurang polar seperti isoflavon, flavonon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi, cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan khloroform (Markham, 1988).

9. Glutamil piruvat transaminase serum (GPT-serum)

Pemeriksaan SGPT adalah indikator yang lebih sensitif terhadap kerusakan hati dibanding SGOT (Aslam, dkk, 2003). Hal ini dikarenakan enzim GPT sumber utamanya adalah sel-sel hati, sedangkan enzim GOT banyak terdapat dalam sel dan tubuh terutama jantung, sel-sel hati, otot tubuh, ginjal, dan pankreas (Husadha, 1996).

Aktivitas GPT-serum dapat diukur secara fotometer dengan menggunakan metode kinetik GPT-ALT (Alanin Aminotransferase). Untuk menentukan GPT

secara kuantitatif, serum yang akan dianalisis direaksikan dengan oksoglutarat dan L-alanin dalam larutan buffer. Dasar metode ini adalah mengkatalisis perpindahan nitrogen dari glutamat ke piruvat sesuai dengan persamaan (1):



Piruvat yang terbentuk adalah NADH^+ dengan adanya laktat dehidrogenase (LDH), diubah secara enzimatik menjadi laktat dalam persamaan (2) berikut ini:



NADH mempunyai serapan pada panjang gelombang 334, 340, dan 365 nm. Pada pemeriksaan ini akan mengukur sisa NADH yang tidak bereaksi. Menurunnya serapan menunjukkan bahwa NADH meningkat, penggunaan NADH sebanding dengan aktivitas GPT (Campbell *et al*, 2005).

E. Keterangan Empiris

Penelitian ini bersifat eksploratif. Dari penelitian ini diharapkan akan memperoleh informasi ilmiah mengenai kemungkinan ekstrak etanol 70% daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) dapat menurunkan aktivitas SGPT darah mencit jantan galur Swiss terinduksi parasetamol.