

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL  
DAUN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*)  
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA)  
HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

**THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF  
*GYNURA PROCUMBENS* LEAVES ON LIVER  
MALONDIALDEHYDE OF RATS INDUCED BY  
PARACETAMOL TOXIC DOSE**

**PUTRI ALIFYANI**

**N011171307**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SAMBUNG NYAWA  
(*Gynura procumbens*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA)  
HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI  
PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

**THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF *GYNURA PROCUMBENS*  
LEAVES ON LIVER MALONDIALDEHYDE OF RATS INDUCED BY  
PARACETAMOL TOXIC DOSE**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**PUTRI ALIFYANI**

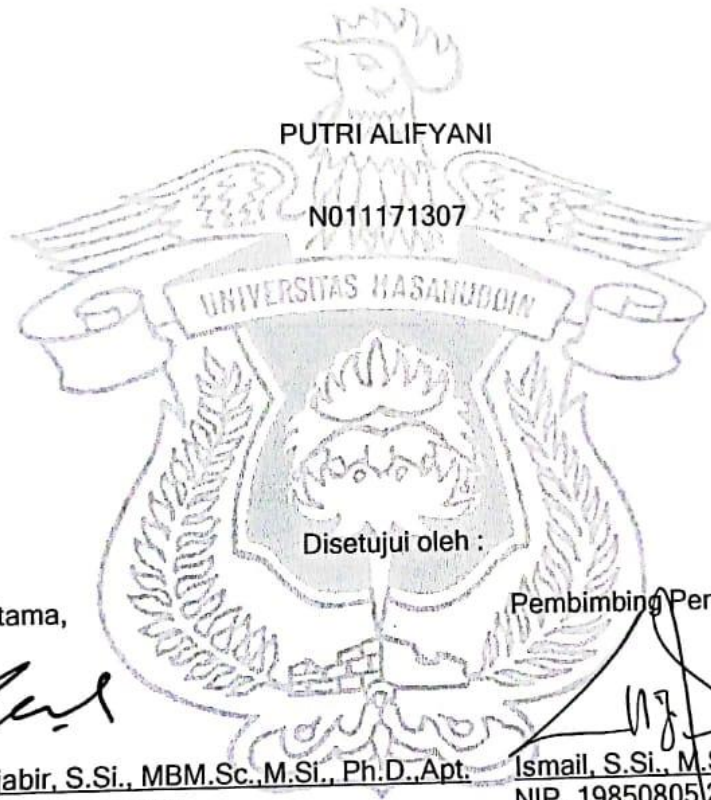
**N011171307**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SAMBUNG NYAWA  
(*Gynura procumbens*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA)  
HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI  
PARASETAMOL DOSIS TOKSIK

PUTRI ALIFYANI


N011171307




Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

  
Yulia Yusrini Djabir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt.  
NIP. 19780728 200212 2 003

  
Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19850805 201404 1 001

Pada Tanggal, 25 Januari 2023

**SKRIPSI**  
**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SAMBUNG NYAWA**  
**(*Gynura procumbens*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA)**  
**HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI**  
**PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

**THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF *GYNURA PROCUMBENS***  
**LEAVES ON LIVER MALONDIALDEHYDE OF RATS INDUCED BY**  
**PARACETAMOL TOXIC DOSE**

Disusun dan diajukan oleh :


**PUTRI ALIFYANI**  
**N011171307**

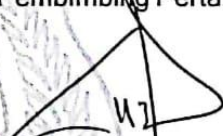
telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 16 Januari 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,


Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

  
Yulia Yusrini Djibir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt.  
NIP. 19780728 200212 2 003

  
Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19850805 201404 1 001

  
Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 201012 2 009

  
Ketua Program Studi S1 Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Putri Alifyani  
Nim : N011171307  
Program Studi : Farmasi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

“Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*)  
Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hati Tikus Putih (*Rattus  
Norvegicus*) Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 25 Januari 2023

Yang menyatakan,



Putri Alifyani

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur kehadiran Allah *Subhanahu wata'ala*, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Dalam Penyusunan skripsi ini sangat banyak kendala yang penulis hadapi, namun karena pertolongan-Nya dan dukungan serta bantuan dari beberapa pihak, sehingga penulis dapat menyelesaikan kendala- kendala tersebut. Oleh karena itu perkenankan saya menyampaikan ucapan terima kasih saya yang tulus kepada:

1. Ibu Yulia Yusrini Djabir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt., selaku pembimbing utama dan pak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang dengan ikhlas membimbing dan meluangkan waktu, kesabaran dan kepedulian dalam memberikan arahan selama penyusunan skripsi hingga selesai.
2. Prof. Dr.rer.nat. Marianti A. Manggau,Apt. dan Prof. Dr. Latifah Rahman, DESS., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktu, memberikan kritik, saran dan masukan-masukan yang sangat berguna selama penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku pembimbing akademik yang senantiasa memberikan bimbingan dan nasehat dari awal perkuliahan hingga penyelesaian tugas akhir.
4. Dekan, Wakil Dekan, serta staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi

Universitas Hasanuddin atas bantuan, dan dukungan yang telah banyak membantu penulis selama proses studi di Fakultas Farmasi.

5. Skripsi ini termasuk di dalamnya segala perjuangan penulis hingga sekarang adalah persembahan kecil untuk Orang tua penulis, Bapak Drs. M. Abdu Umar, Apt. M.Kes dan Ibu Liana Bukhari. Terima kasih telah menjadi orang tua yang sempurna, tanpa kalian penulis mungkin bukan apa-apa saat ini. Penulis berjanji akan tumbuh untuk menjadi pribadi yang lebih baik dengan kasih sayang, inspirasi dan dukungan dari orang tua.
6. Keluarga besar yang senantiasa berdoa, memberikan cintanya, mendukung dalam segala hal serta selalu memberikan nasihat dan memotivasi penulis untuk tetap semangat dalam meraih gelar sarjana.
7. Sahabat-sahabat tercinta Arum Sekar Wangi, Fidya Puji Mahardika, Ritha Purnamasari, dan Naufal Zaul Bartsyah. Terima kasih telah melakukan banyak hal luar biasa bagi penulis. Terkadang, ketika penulis kehilangan kepercayaan pada diri sendiri, kalian di sini untuk percaya. Terkadang, ketika semuanya salah dan berantakan, kalian di sini untuk tampak dekat dan memperbaiki semuanya. Terima kasih untuk selalu mau mendengar cerita senang maupun sedih penulis, bersama dengan tangisnya. Penulis tidak bisa mengungkapkan betapa bersyukur dan bahagianya penulis memiliki sahabat seperti kalian. Terima kasih.
8. Teman penulis khususnya Riska Matasik yang selalu menemani dan membantu selama proses pengerjaan penelitian dan terima kasih atas

segala motivasi untuk penulis. Serta terima kasih karena telah menjadi teman baik yang tidak bisa tetap acuh pada masalah teman-temannya yang membutuhkan bantuan.

9. Teman-teman Pahoehoe. Islamiaty Burhanuddin, Nurlina, Asma Aris, Cahya Ningrum, Marwah Salam, Fausia Anggraeni, Fitriana M. Amin, Muthmainnah, Nur Fadhilah, dan St. Yunis Zahra, terima kasih atas segala canda tawa dan perhatiannya selama kita tinggal bersama di Pondok Saudara hingga saat ini
10. Saudari-saudari tak sedarah LD Salsabil FF-UH yang telah menjadi keluarga tempat menjalin *ukhuwah* untuk bertumbuh serta senantiasa memberikan motivasi, semangat, terus menguatkan dan menopang dalam doa dan dalam berbagai hal.
11. Teman-teman Asisten Laboratorium Farmasi Klinik yang senantiasa mendukung dan memberikan motivasi dalam mengerjakan penelitian dan penyusunan skripsi.
12. Teman-teman Angkatan 2017 Farmasi (CLOSTRIDIUM) yang selalu memberikan bantuan dan semangat tersendiri bagi penulis serta seluruh Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH) dan seluruh pihak yang telah membantu, yang tidak bisa disebutkan namanya satu per satu yang selalu membantu dan memberikan motivasi kepada penulis.
13. *“Last but not least, I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work, I wanna thank me for having no days off,*



*I wanna thank me for never quitting, I wanna thank me for always being a giver, and tryna give more than I receive, I wanna thank me for tryna do more right than wrong, I wanna thank me for just being me at all times."*

Penulis menyadari akan segala keterbatasan yang penulis miliki sehingga skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan dalam penyusunannya. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Dengan demikian penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Makassar, 25 Januari 2023



Putri Alifyani

## ABSTRAK

**PUTRI ALIFYANI.** *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (Gynura procumbens) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hati Tikus Putih (Rattus Norvegicus) yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik (dibimbing oleh Yulia Yusrini Djabir dan Ismail).*

Parasetamol merupakan salah satu obat analgesik dan antipiretik yang paling sering digunakan. Penggunaan parasetamol dalam dosis berlebihan dapat menyebabkan terjadinya proses peroksidasi lipid yang ditandai dengan meningkatnya kadar MDA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun sambung nyawa terhadap kadar MDA hati tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan desain *post test only control group*. Sebanyak 25 ekor tikus putih dibagi menjadi 5 kelompok. Perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok yaitu kelompok I tanpa perlakuan, kelompok II diberi NaCMC dan parasetamol dosis toksik, kemudian kelompok III, IV dan V masing-masing diberi ekstrak daun sambung nyawa 100, 200, dan 300 mg/kgBB, lalu diinduksi parasetamol dosis toksik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dosis 100 mg/kgBB tidak mampu menurunkan kadar MDA hati tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik, sedangkan dosis 200 dan 300 mg/kgBB mampu menurunkan kadar MDA hati tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik, namun secara statistik tidak signifikan ( $p=0,062>0,05$ ) yang berarti aktivitas ekstrak etanol daun sambung nyawa pada dosis tersebut belum berhasil membuktikan hubungannya dalam memberikan efek hepatoprotektif.

Kata Kunci: Sambung nyawa, parasetamol, peroksidasi lipid, MDA

## ABSTRACT

**PUTRI ALIFYANI.** *The Effect Of Ethanolic Extract Of Gynura procumbens Leaves On Liver Malondialdehyde Of Rats Induced By Paracetamol Toxic Dose.* (Supervised by Yulia Yusrini Djibir and Ismail).

Paracetamol is one of the most commonly used analgesic and antipyretic drugs. The use of paracetamol in excessive doses can cause a lipid peroxidation process characterized by increased levels of MDA. This study aims to determine the activity of the ethanol extract of the leaves of *Gynura procumbens* on MDA levels in the liver of rats induced by toxic doses of paracetamol. The study was conducted experimentally using a post-test-only control group design. A total of 25 white rats were divided into five groups. The treatment given to each group was as follows; group I without treatment, group II was given toxic doses of NaCMC and paracetamol, then groups III, IV, and V were given *Gynura procumbens* leaf extract 100, 200, and 300 mg/kg, respectively, then induced toxic dose of paracetamol. The results of the study showed that the ethanol extract of the leaves of *Gynura procumbens* dose of 100 mg/kg was not able to reduce liver MDA levels of rats induced by toxic doses of paracetamol, meanwhile doses of 200 and 300 mg/kg were able to reduce liver MDA levels of rats induced by toxic doses of paracetamol but not statistically significant ( $p=0.062$ ), which means the activity of the ethanol extract of the leaves of *Gynura procumbens* at these doses has not been able to prove a hepatoprotective effect.

Keywords: *Gynura procumbens*, paracetamol, lipid peroxidation, MDA

## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Masalah	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Tanaman Sambung Nyawa	5
II.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
II.1.2 Morfologi	5
II.1.3 Kandungan Senyawa	6
II.1.4 Efek Farmakologi	6
II.2 Antioksidan	7
II.2.1 Antioksidan Alami	7
II.2.2 Antioksidan Sintetik	8
II.3 Parasetamol	9

II.3.1 Sejarah Parasetamol	9
II.3.2 Penggunaan Parasetamol	10
II.3.3 Mekanisme Kerja	11
II.3.4 Farmakokinetik	12
II.3.5 Efek Samping Parasetamol Terhadap Hati	13
II.4 Hati	14
II.4.1 Anatomi Hati	14
II.4.2 Fungsi Hati	14
II.5 Peroksidasi Lipid	16
II.6 Malondialdehid	19
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	<b>22</b>
III.1 Alat dan Bahan	22
III.2 Metode Kerja	22
III.2.1 Pembuatan Ekstrak	22
III.2.2 Uji Aktivitas Ekstrak	23
III.2.2.1 Pembuatan Suspensi NaCMC 0,5%	23
III.2.2.2 Pembuatan Suspensi Parasetamol	23
III.2.2.3 Penyiapan Hewan Uji	24
III.2.2.4 Pengambilan Sampel Organ	25
III.2.2.5 Pembuatan Larutan Kurva Baku	26
III.2.2.5.1 Pembuatan Larutan Asam Trikloroasetat (TCA) 10%	26
III.2.2.5.2 Pembuatan Larutan Asam Tiobarbiturat (TBA) 1%	26
III.2.2.5.3 Pembuatan Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7,4	26

III.2.2.6 Pengukuran Kurva Baku	26
III.2.2.7 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)	27
III.2.3 Analisis Statistik	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
V.1 Kesimpulan	36
V.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	40

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Daun sambung nyawa	
2. Fungsi Hati	15
3. Hasil Pengukuran Kadar MDA	31
4. Absorbansi Standar MDA	52
5. Hasil Analisis Statistik Metode <i>Shapiro-Wilk</i>	63
6. Hasil Analisis Statistik Deskriptif Sampel	63
7. Hasil Analisis Statistik Metode <i>One Way Anova</i>	64
8. Hasil Analisis Statistik <i>Post Hoc test</i>	64

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia Analgesik Turunan Anilin	10
2. Parasetamol Pada Tangga Analgesik WHO	11
3. Proses Peroksidasi Lipid dan Pembentukan Produk	19
4. Struktur MDA	19
5. Reaksi Pembentukan Kompleks MDA-TBA	21
6. Grafik Rata-rata dan SD Kadar MDA Hati Tikus Perlakuan	32
7. Grafik Kurva Baku Pengukuran MDA	52
8. Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa	66
9. Suspensi NaCMC 0,5% dan Suspensi Parasetamol Dosis Toksik	66
10. Pemberian Larutan Uji Secara Peroral	66
11. Pembedahan Hewan Coba Tikus	66
12. Pembekuan Organ Hati Menggunakan Nitrogen Cair	66
13. Penimbangan Organ Hati	66
14. Penggerusan Organ Hati	66
15. Penambahan Larutan Uji	66
16. Penyiapan Proses Sentrifugasi	68
17. Pengukuran Kadar MDA Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis	68



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak	38
2. Skema Kerja Perlakuan Hewan Coba	39
3. Skema Kerja Pengukuran Kadar Malondialdehid	40
4. Skema Kerja Pengukuran Kurva Baku	41
5. Perhitungan Dosis	42
6. Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Baku	44
7. Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Baku Tiap Kelompok	45
8. Grafik Kurva Baku	52
9. Perhitungan Nilai X dan Kadar MDA	53
10. Hasil Analisis Statistik	63
11. Dokumentasi Penelitian	66
12. Persetujuan Kode Etik	69

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Parasetamol atau *Acetaminophen* adalah obat analgesik dan antipiretik yang sangat sering digunakan. Menurut informasi yang diberikan oleh Sistem Data Racun Nasional Amerika (NPDS), parasetamol adalah salah satu dari 25 obat yang terkait dengan jumlah kematian terbesar, baik sendiri atau dalam kombinasi dengan obat lain (Mowry, et al., 2015). Obat ini dianggap aman pada dosis terapeutik tetapi dapat menyebabkan cedera hati, gagal hati akut dan bahkan menyebabkan kematian jika dikonsumsi dengan dosis yang berlebihan (overdosis) (Larson, 2007; Jaeschke, 2015). Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), parasetamol dengan dosis peroral 2.400 mg/kgBB dapat menyebabkan hepatotoksik pada hewan coba.

Dalam mikrosom hati, sebagian kecil parasetamol (5-10%) diubah oleh sitokrom P450 isoform (CYP2E1, CYP2A6) menjadi metabolit reaktif, N-acetyl-para-benzo-quinone imine (NAPQI), yang sangat berkaitan dengan hepatotoksisitas parasetamol (McGill dan Jaeschke, 2013). Kerusakan sel yang disebabkan oleh NAPQI berhubungan langsung dengan dosis parasetamol yang dikonsumsi. Dalam kasus konsumsi yang tidak toksik, NAPQI cepat terkonjugasi oleh glutathione hati, melalui reaksi glukuronidasi dan sulfonasi, menjadi bentuk kompleks merkaptat dan sistein, yang kemudian dieliminasi dengan urine. Berbeda jika parasetamol

tertelan pada dosis hepatotoksik, mayoritas obat dimetabolisme oleh jalur CYP2E1 mengakibatkan penipisan glutathione, melalui aktivasi dari GST-S-transferase, dan dengan peningkatan NAPQI pada konsentrasi toksik. Sehingga, Kerusakan hepar terjadi karena pada dosis yang berlebihan, hasil metabolisme parasetamol yang berupa NAPQI pada konsentrasi toksik tidak dapat dinetralkan semuanya oleh sisa glutathion hepar yang telah mengalami penipisan. Oleh karena itu, senyawa NAPQI bersifat toksik dan dapat menyebabkan terjadinya reaksi rantai radikal bebas (Jaeschke, et al. 2012; Correia & Castagnoli, 1989).

Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Radikal bebas dapat mencetuskan terjadinya reaksi peroksidasi lipid berantai dengan menambahkan atom hidrogen dari sisi rantai karbon metilen. Radikal lipid kemudian bereaksi dengan oksidasi untuk membentuk radikal peroksil. Radikal peroksil inilah yang akan menginisiasi reaksi berantai dan mengubah *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) menjadi lipid hidroperoksida. Lipid hidroperoksida ini sifatnya sangat tidak stabil dan mudah diurai menjadi produk sekunder seperti aldehid dan malondialdehid (MDA). MDA inilah yang digunakan sebagai penanda kerusakan suatu sel atau jaringan yang diakibatkan oleh stres oksidatif (Yuslianti, 2018).

Kelebihan produksi radikal bebas dan kurangnya antioksidan merupakan dua kondisi umum pemicu stres oksidatif. Keadaan stres oksidatif akan membawa pada kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel,

jaringan, hingga ke organ tubuh yang menyebabkan terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit. Akibat begitu besarnya pengaruh radikal bebas terhadap kesehatan manusia maka perlu untuk mengurangi paparan terhadap radikal bebas, dan perlu asupan yang mengandung suatu senyawa yaitu antioksidan yang mampu menangkap dan menetralkan radikal bebas tersebut sehingga reaksi–reaksi lanjutan yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif dapat berhenti dan kerusakan sel dapat dihindari atau induksi suatu penyakit dapat dihentikan (Khaira,2010).

Sambung nyawa (*Gynura procumbens*) merupakan tumbuhan obat yang banyak ditemukan di negara tropis, salah satunya di Indonesia. Secara tradisional, ini banyak digunakan di banyak negara yang berbeda untuk pengobatan berbagai macam penyakit kesehatan (Tan, et al., 2016) Sebagai obat tradisional, daun dari tumbuhan ini digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit yang disebabkan oleh stres oksidatif (Perry,1980). Sambung nyawa mengandung senyawa kimia, seperti flavonoid, sterol tak jenuh, triterpenoid, polifenol, saponin, steroid, asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam para kumarat, asam para hidroksi benzoat, dan minyak atsiri (Fadli,2015). Ekstrak etanol dari *G. procumbens* menghambat ekspresi MMP-1 dan MMP-9 yang disebabkan oleh iradiasi UV-B melalui penghambatan pelepasan mediator sitokin pro-inflamasi dan produksi ROS (Kim, et al., 2011). Ekstrak etanol sambung nyawa berkorelasi positif terhadap aktivitas antiradikalnya (Da'l, et al., 2012). Berdasarkan penelitian oleh Sulfiyana, et. Al (2016)

menyebutkan bahwa pemberian ekstrak daun sambung nyawa dosis 300 mg/kgBB mencegah peningkatan kadar MDA secara signifikan pada model tikus yang menggunakan penginduksi karbon tetraklorida.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) mampu menurunkan kadar malondialdehid (MDA) hati tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dalam menurunkan kadar malondialdehid (MDA) hati tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Tanaman Sambung Nyawa

##### II.1.1 Klasifikasi tanaman

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Asterales

Suku : Compositae

Marga : Gynura

Jenis : *Gynura procumbens* (Lour.) DC.

(Sudarsono, dkk. 2002)



Gambar 1. Daun sambung nyawa (Mahendra, 2006)

##### II.1.2 Morfologi

*Gynura procumbens* merupakan terna, semak, menahun. Batangnya memanjat, rebah atau merayap, bersegi, gundul, berdaging, berwarna hijau keunguan. Daunnya tunggal, lunak, relatif tebal dan berair. Helai daunnya bulat telur, bulat telur memanjang, bulat memanjang, ukuran panjangnya 3,5-12,5 cm, dengan lebar daun 1- 5,5 cm. Ujung helai daun tumpul runcing, runcing pendek, pangkal membulat atau ramping. Permukaan kedua sisi daun gundul atau berambut halus. Bunganya merupakan bunga majemuk cawan, dengan bunga sempurna. Buahnya berbentuk garis, panjang 4-5 mm, dan berwarna coklat (Sudarsono, dkk., 2002).

### II.1.3 Kandungan senyawa

Daun tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) mengandung senyawa flavonoid, sterol tak jenuh, triterpen, polifenol dan minyak atsiri (Sudarto et al., 1985). Hasil penelitian lain juga melaporkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa flavonoid (flavonol dan isoflavon), tanin, saponin, steroid, triterpenoid, asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam parakumarat, asam p-hidroksi benzoate dan glikosida kuersetin (Fadli,2015; Kim et al., 2006; Suganda et al., 1988; Sudarsono,dkk.,2002; Sulfiyana, 2018).

### II.1.4 Efek farmakologi

Tanaman sambung nyawa telah ada sejak lama, digunakan secara empiris sebagai obat, dan telah dipelajari secara ekstensif oleh peneliti untuk aktivitas senyawanya yang memberi banyak manfaat bagi kesehatan manusia. Diantaranya telah digunakan sebagai antioksidan (Afandi, 2014), sebagai tes yang dapat memeriksa adanya hiperkolesterolemia di hati (Ismail, 2015), dan memiliki efek antihipertensi (Firmansyah, 2015). Antihipertensi dari sambung nyawa dapat diperoleh dari ekstrak air yang kemudian diujikan pada tikus sebagai hewan percobaan (Kaur et al., 2008).

Senyawa flavonoid pada daun sambung nyawa berfungsi sebagai antioksidan (Rahman et al., 2013). Flavonoid yang terabsorpsi secara *in vivo* dapat menghambat radikal bebas yang diakibatkan toksisitas oleh peroksidasi, sedangkan secara *in vitro* dapat menghambat peroksidasi lipid. Pada tahap inisiasi ini akan mengikat ion dari superoksida, radikal hidrosil.

Kemudian reaksi radikal ini akan diakhiri oleh flavonoid dengan memberikan atom hidrogennya pada radikal peroksida (Winarto W.P dan Tim K. 2004). Sedangkan senyawa asam klorogenat dan kuersetin telah terbukti bisa meningkatkan produksi nitrit oksida pada pembuluh darah dan menyebabkan vasodilatasi (Kim et al., 2006).

## **II.2 Antioksidan**

Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa yang mendonorkan elektron. Sedangkan dalam pengertian biologis, antioksidan adalah senyawa atau molekul yang dapat meredam aktivitas radikal bebas dengan cara mencegah terjadinya oksidasi seluler (Syahrizal, 2008). Antioksidan mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektron kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu kestabilan molekulnya (Bellevile, 1996).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik :

### **II.2.1 Antioksidan alami**

Antioksidan alami yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alam. Senyawa antioksidan alami dari tumbuhan semuanya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kuramin dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin, dan kalkon.



Turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klogonat, dan lain-lain (Ramelan, 2003).

## **II.2.2 Antioksidan sintetik**

Antioksidan sintetik yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya dalam makanan adalah butyl hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propel galat, tetra- butyl hidrokuinon (TBHQ), dan tokoferol.

Dalam tulisan Winarsih (2007) antioksidan sintetik dikelompokkan menjadi 2 yaitu :

### **1. Antioksidan enzimatis**

Antioksidan enzimatis ini disebut juga antioksidan primer atau endogen. Antioksidan ini meliputi enzim-enzim seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutations peroksidase (GSH-Px). Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama terhadap kondisi stress oksidatif. Cara kerja antioksidan kelompok ini dengan mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru.

### **2. Antioksidan non-enzimatis**

Antioksidan kelompok ini disebut juga antioksidan sekunder yang dapat diperoleh dari asupan bahan makanan seperti vitamin C, E, A dan  $\beta$ -karoten. Sayur dan buah-buahan merupakan sumber utama penghasil antioksidan non-enzimatis. Cara kerja kelompok ini

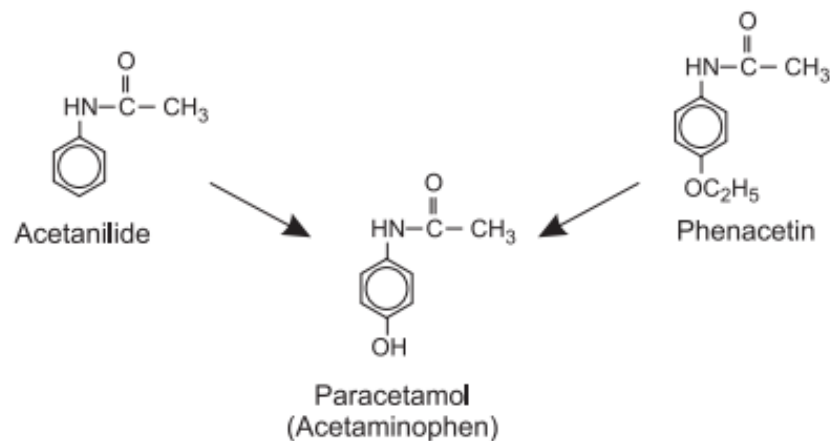
dengan jalan memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya radikal tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.

## **II.3 Parasetamol**

### **II.3.1 Sejarah parasetamol**

Parasetamol merupakan obat yang berkhasiat analgetik antipiretik non narkotik turunan para aminofenol (Donatus, 1994). Parasetamol atau *Paracetamol* (nama internasional yang digunakan di eropa) dan *acetaminophen* (nama internasional yang digunakan di Amerika Serikat) adalah dua nama resmi dari senyawa kimia yang sama, dimana nama tersebut berasal dari nama kimianya : *N-acetyl-para-aminophenol* (kata “cet” disisipkan di antara “para” dan “amino”) dan *N-acetyl-para-aminophenol*. Parasetamol memiliki sejarah panjang, dan seperti yang sering pada penemuan-penemuan penting, obat ini ditemukan secara kebetulan. Pada tahun 1880-an, terdapat dua agen antipiretik (tahun 80-an diperkenalkan dengan nama antifebrin) yaitu asetanalida dan fenasetin. Setelah itu asetanalida tidak dapat lagi digunakan sebagai obat antipiretik karena diketahui memiliki toksisitas yang tinggi. Kemudian fenasetin dan *N-acetyl-p-aminophenol* menjadi senyawa yang paling memuaskan, dimana sebelumnya telah disintesis oleh Harmon Northrop Morse pada tahun 1878. Namun, parasetamol menjadi sangat populer pada tahun 1948 ketika Bernard Brodie dan Julius Axelrod menunjukkan bahwa parasetamol adalah metabolit aktif utama dari asetanalida dan fenasetin yang bertanggung jawab atas tindakan analgesik dan antipiretiknya. Penemuan

tersebut merevolusi pasar farmasi obat analgesik dan sejak saat itu parasetamol memulai karir yang mengejutkan (Jozwiak Bebenista dan Nowak, 2014).

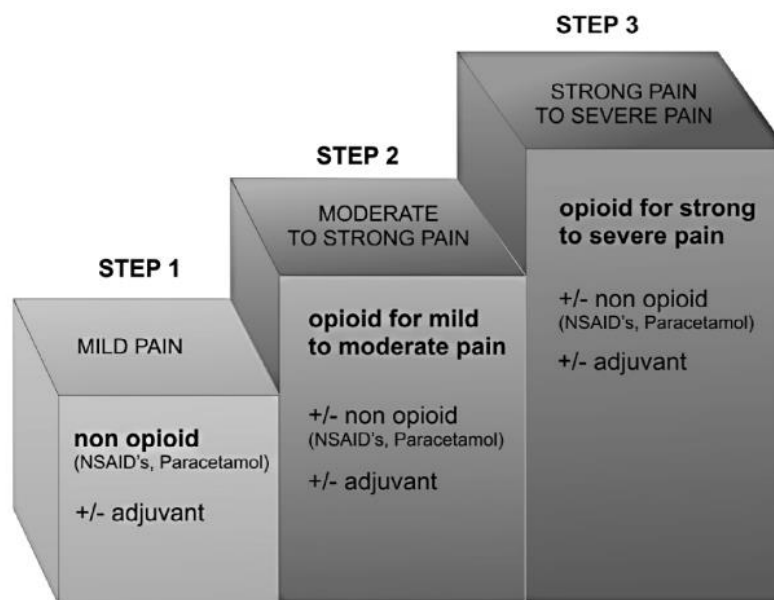


**Gambar 2. Struktur kimia analgesik-turunan anilin (Jozwiak Bebenista dan Nowak, 2014).**

### II.3.2 Penggunaan parasetamol

Parasetamol termasuk salah satu obat yang sering dikonsumsi oleh masyarakat, dan dapat menyebabkan kerusakan hati apabila dikonsumsi 7,5 gram sekaligus, dan pada pemakaian lebih dari 15 gram sekaligus akan menyebabkan nekrosis atau kematian sel hati (Wenas, 1996). Tempat parasetamol di tangga analgesik WHO, yang secara tepat mendefinisikan aturan penggunaan obat analgesik, sangat mengesankan. Obat ini telah ditempatkan dalam ketiga langkah intensitas pengobatan nyeri. Pada nyeri yang berbeda dengan intensitas sedang, parasetamol sebagai analgesik lemah bersama dengan obat analgesik non steroid atau koanalgesik (misalnya, kafein) adalah analgesik non-opioid dasar (langkah pertama dari

tangga analgesik). Bila nyeri menetap atau meningkat, parasetamol digunakan sebagai analgesik tambahan dengan opioid lemah (misalnya, kafein, tramadol) atau kuat (misalnya, morfin, fentanyl) dari langkah kedua dan ketiga dari tangga analgesik, masing-masing.



**Gambar 3. Parasetamol pada tangga analgesik WHO (aturan penggunaan analgesik, yang mempertimbangkan intensitas nyeri individu)**

### II.3.3 Mekanisme kerja

Parasetamol memiliki sifat analgesik dan antipiretik yang sama dengan golongan obat Anti Inflamasi Nonsteroid (AINS), tetapi tidak seperti AINS lainnya, parasetamol tidak memiliki efek antiinflamasi. Oleh karena itu, obat ini tidak dapat benar-benar ditugaskan untuk AINS (Jozwiak Bebenista dan Nowak, 2014). AINS umumnya berfungsi dengan cara menghambat konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin H-PGH<sub>2</sub>, yaitu suatu proses yang dikatalisis oleh prostaglandin H<sub>2</sub> sintase. Enzim ini

adalah enzim bifungsional dengan dua aktivitas enzim yang berbeda, siklooksigenase (COX) dan peroksidase. Proses perubahan asam arakidonat menjadi H-PGH<sub>2</sub> terdiri dari dua tahap. Langkah pertama terjadi di aksi COX dan menghasilkan senyawa prostaglandin G<sub>2</sub>. Aksi enzimatik COX bergantung pada bentuk teroksidasinya. Setelah proses ini, PGG<sub>2</sub> diubah menjadi prostaglandin H-PGH<sub>2</sub> oleh aksi POX (Sharma dan Mehta, 2014).

### **II.3.4 Farmakokinetik**

Parasetamol diberikan secara oral. Penyerapan berhubungan dengan tingkat pengosongan lambung, dan konsentrasi darah puncak adalah biasanya dicapai dalam 30-60 menit. Parasetamol sedikit terikat pada protein plasma dan sebagian dimetabolisme oleh hati enzim mikrosomal dan diubah menjadi asetaminofen sulfat dan glukuronida, yang secara farmakologis tidak aktif. Parasetamol akan termetabolisme oleh CYP450. Beberapa jenis CYP450 manusia terbukti homolog dengan yang ada pada tikus (Matuskova, et al., 2009; Videau, et al., 2012). Sekitar kurang dari 5% parasetamol yang tidak diekskresikan akan termetabolisme menjadi metabolit yang sangat reaktif (N -asetil- p -benzokuinon). Metabolit ini jumlahnya kecil tetapi penting dalam dosis besar karena bersifat toksik bagi hati dan ginjal. Waktu paruh asetaminofen adalah 2-3 jam dan relatif tidak terpengaruh oleh fungsi ginjal. Dengan dosis toksik atau hati penyakit, waktu paruh dapat meningkat dua kali lipat atau lebih (Katzung, et al, 2014).

### **II.3.5 Efek samping parasetamol terhadap hati**

Parasetamol di dalam hati mengalami metabolisme, parasetamol yang mengalami metabolisme fase dua akan berkonjugasi dengan asam glukonat dan asam sulfat (Donatus,1984). Parasetamol pada keadaan overdosis akan teroksidasi oleh sitokrom P-450 (mengalami metabolisme fase satu) sehingga membentuk suatu metabolit elektrofil N-asetil-p-benzoiquinonimina (NAPQI) yang bersifat hepatotoksik (Gestanovia dan Hendra, 2004). Dalam keadaan normal metabolit elektrofil dari parasetamol akan diikat oleh glutathion (GSH) hati sebelum diekskresi melalui ginjal sebagai asam merkapturat. Namun jika kandungan GSH dalam hati berkurang 20-30% dari normalnya maka NAPQI akan berikatan makromolekul protein sel hati (Donatus,1984). Akibatnya NAPQI mengakibatkan kerusakan hati sampai timbul nekrosis hati, yaitu terjadinya gangguan integritas membran plasma, keluarnya isi sel dan timbulnya respon inflamasi (Mangatas dan Wibawa, 2005).

Oleh karena itu, senyawa NAPQI bersifat toksik dan dapat menyebabkan terjadinya reaksi rantai radikal bebas (Jaeschke,et al. 2012; Correia & Castagnoli, 1989). Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat ditunjukkan oleh rendahnya aktivitas enzim antioksidan dan tingginya kadar malondialdehid (MDA) dalam plasma (Winarsih,H.,2007). Pada penggunaan parasetamol yang salah dalam dosis toksik dan jangka panjang akan terjadi efek samping salah satu diantaranya dapat menimbulkan hepatotoksisitas pada hati (Shenn, et al., 2002). Menurut

Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), parasetamol dengan dosis peroral 2.400 mg/kgBB dapat menyebabkan hepatotoksik pada hewan coba.

## **II.4 Hati**

### **II.4.1 Anatomi hati**

Hati adalah organ intestinal terbesar dengan berat antara 1,2-1,8 kg atau kurang lebih 25% berat badan orang dewasa dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi sangat kompleks yang menempati Sebagian besar kuadran kanan atas abdomen. Secara mikroskopis di dalam hati manusia terdapat 50.000-100.000 lobuli, setiap lobulus berbentuk heksagonal yang terdiri atas sel hati berbentuk kubus yang tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Di antara lembaran sel hati terdapat kapiler yang disebut sinusoid yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid dibatasi oleh sel fagositik (sel Kupffer) yang merupakan sistem retikuloendotelial dan berfungsi menghancurkan bakteri dan benda asing lain di dalam tubuh, jadi hati merupakan salah satu organ utama pertahanan tubuh terhadap serangan bakteri dan organ toksik (Sudoyo AW.dkk, 2007).

### **II.4.2 Fungsi hati**

Hati mempunyai fungsi yang sangat beraneka ragam. Sirkulasi vena porta yang menyuplai 75% dari suplai asinus memegang peranan penting dalam fisiologi hati, terutama dalam hal metabolisme karbohidrat, protein, dan asam lemak. Fungsi utama hati adalah pembentukan dan ekskresi

empedu. Hati mengekskresikan empedu sebanyak satu liter per hari ke dalam usus halus.

Hasil metabolisme monosakarida dari usus halus diubah menjadi glikogen dan disimpan di hati (glikogenesis). Dari depot glikogen ini disuplai glukosa secara konstan ke darah (glikogenolisis) untuk memenuhi kebutuhan tubuh. Sebagian glukosa dimetabolisme dalam jaringan untuk menghasilkan tenaga dan sisanya diubah menjadi glikogen (yang disimpan dalam otot) atau lemak (yang disimpan dalam jaringan subkutan) (Sudoyo AW.dkk, 2007).

**Tabel 1. Fungsi hati**

<b>Fungsi Hati</b>	
Metabolisme	Karbohidrat Apolipoprotein Asam lemak Asam amino transaminase dan deaminasi Simpanan vitamin larut dalam lemak Obat-obatan dan konjugasinya
Sintesis	Urea Albumin Faktor pembekuan Komplemen C3 dan C4 Ferritin & transferrin Protein C reaktif Haptoglobin $\alpha$ 1-antitripsin $\alpha$ -fetoprotein



	$\alpha$ 2-makroglobulin
	Seruloplasmin
Ekskresi	Sintesis empedu Metabolit obat
Endokrin	Sintesis 25-hidroksilase vitamin D
Imunologi	Perkembangan limfosit B fetus Pembuangan kompleks imun sirkulasi Pembuangan limfosit T CD8 teraktivasi Fagositosis dan presentasi antigen Produksi <i>lipopolysaccharide-binding protein</i> Penglepasan sitokin, seperti TNF $\alpha$ , interferon Transport imunoglobulin A
Lain-lain	Kemampuan untuk regenerasi sel-sel hati Pengaturan angiogenesis

Sumber : Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiadi S, 2007. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I Edisi IV. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.

## II.5 Peroksidasi lipid

Peroksidasi lipid sekarang dianggap sebagai mekanisme molekuler paling penting yang terlibat dalam kerusakan oksidatif pada struktur seluler dan kematian sel. Awalnya peroksidasi lipid dipelajari oleh ilmuwan makanan sebagai mekanisme untuk pemecahan minyak pencernaan dan lemak, tetapi ilmuwan lainnya menganggap bahwa peroksidasi lipid adalah produk dari metabolit toksik yang menyebabkan terbentuknya senyawa yang sangat reaktif, kerusakan membran intraseluler dan kerusakan sel (Dianzani and Barrera, 2008). Peroksidasi lipid adalah proses kompleks yang diketahui terjadi pada tumbuhan dan hewan. Proses ini meliputi

pembentukan dan propagasi radikal lipid, penyerapan oksigen, penataan ulang ikatan rangkap menjadi lipid tak jenuh, dan akhirnya membentuk berbagai produk degradasi dari lipid membran seperti alkohol, keton, alkana, aldehida, dan eter (Dianzani dan Barrera, 2008).

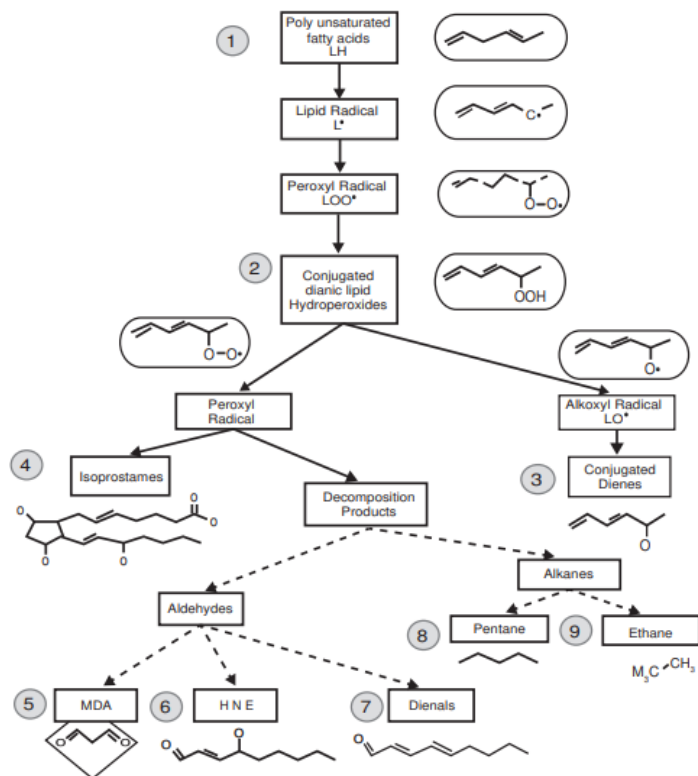
Reaksi berantai peroksidasi lipid dimulai dengan abstraksi hidrogen atau penambahan radikal oksigen, yang mengakibatkan kerusakan oksidatif pada asam lemak tak jenuh ganda (Poly Unsaturated Fatty Acid; PUFA). Asam lemak tak jenuh ganda lebih sensitif daripada asam lemak jenuh, sebagaimana dibuktikan oleh lokasi target terlihat rantai metilen (LH) mengalami aktivasi. Adanya ikatan rangkap yang berdekatan dengan gugus metilen melemahkan ikatan metilen C-H, membuat hidrogen lebih rentan terhadap abstraksi hidrogen. Elektron tidak berpasangan dengan karbon membentuk radikal yang berpusat pada karbon dan distabilkan oleh molekul. Molekul tersebut mengatur ulang ikatan rangkap untuk membentuk diena terkonjugasi dan bergabung dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksil.

Radikal peroksil itu sendiri dapat mengabstraksi atom hidrogen dari asam lemak tak jenuh ganda lainnya dan memulai reaksi berantai dengan oksigen molekuler. Hal ini mengarah pada penambahan radikal secara cepat ke pusat karbon (L), menghasilkan radikal peroksi lipid (LOO) dalam prosesnya. Degradasi peroksidasi lipid dikatalisis oleh kompleks logam transisi yang menghasilkan alkoksi (LO) atau hidroksil (H<sub>2</sub>O). Banyak produk peroksidasi lipid, seperti hidroperoksida dan produk turunan

aldehidanya, menghambat sintesis protein, aksi makrofag darah, dan perubahan sinyal kemotaktik dan aktivitas enzimatik (Catala, 2012).

Reaksi berantai radikal bebas menyebar sampai dua radikal bebas bergabung satu sama lain untuk membentuk dan mengakhiri rantai. Reaksi ini juga dapat dihentikan dengan adanya antioksidan pemutus rantai. Dalam kondisi di mana peroksidasi lipid terus dimulai, reaksi non-radikal terjadi. Produk ini menghancurkan dua radikal sekaligus. Dengan adanya ion logam transisi, LOOH dapat memicu pembentukan radikal yang dapat memulai kembali peroksidasi lipid melalui siklus redoks ion logam tersebut (Catala,2012).

Peningkatan produksi peroksidasi lipid secara tipikal diinisiasi oleh spesies radikal bebas yang sangat reaktif, dapat dinilai dengan banyak metode termasuk pengukuran produk primer ataupun sekunder hasil peroksidasi tersebut. Produk primer peroksidasi lipid termasuk *conjugated dienes* dan lipid hidroperoksida, produk sekundernya diantaranya malondialdehid (MDA), *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS), *gaseous alkanes*, dan kelompok prostaglandin *F2-like product* yang disebut F2-isoprostan (Niki,2009). Proses peroksidasi lipid dan pembentukan produknya dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Proses peroksidasi lipid dan pembentukan produk

## II.6 Malondialdehid

Malondialdehid (MDA) merupakan senyawa dialdehid yang memiliki tiga karbon yang reaktif dan merupakan produk akhir peroksidasi lipid didalam membran sel (Kregel dan Zhang, 2007). Malondialdehid dibentuk sebagai bahan dikarbonil ( $C_3H_4O_2$ ) dengan berat molekul rendah (berat formula = 72,07), rantai pendek, dan bersifat volatil asam lemah ( $pK_a = 4,46$ ), dihasilkan sebagai produk sampingan pembentukan eikosanoid enzimatik dan produk akhir degradasi oksidatif asam lemak bebas non-enzimatik (Surya,2012).

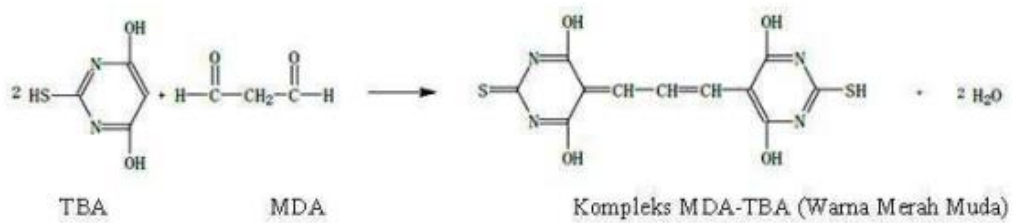


Gambar 5. Struktur MDA (Slatter *et al.* 2000)

MDA merupakan marker yang paling banyak diteliti, dianggap sebagai marker peroksidasi lipid *in vivo* yang baik, baik pada manusia maupun pada binatang, yang signifikan akurat dan stabil dibandingkan senyawa lainnya (Ayala,dkk.2014). Malondialdehid sangat cocok sebagai biomarker untuk stres oksidatif karena beberapa alasan, yaitu: (1) Pembentukan MDA meningkat sesuai stres oksidatif, (2) Kadarnya dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode, (3) Bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, (4) Tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan tidak dipengaruhi oleh kandungan lemak diet, (5) Merupakan produk spesifik dari peroksidasi lemak, (6) Terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi pada semua jaringan tubuh dan cairan biologis, sehingga memungkinkan untuk menentukan referensi interval (Surya,2012; Mahayasa,PD.,2013).

Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan cukup mudah untuk menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisis radikal bebas secara langsung sangat sulit karena senyawa radikal ini sangat tidak stabil dan cenderung merebut elektron senyawa lain agar lebih stabil. Reaksi ini berlangsung sangat cepat, sehingga pengukurannya sangat sulit (Winarsih,2007). Pengukuran kadar MDA sebagai indikator peroksidasi lipid salah satunya dapat dilakukan dengan menggunakan metode TBARs (*Thiobarbituric Acid Reactive Substance*). Prinsip metode ini didasarkan pada pembentukan kompleks merah muda antara MDA dan TBA (*Thiobarbituric Acid*). TBA bereaksi dengan gugus karbonil dari MDA, yaitu satu molekul MDA berikatan dengan dua molekul TBA membentuk

senyawa berwarna merah muda sehingga dapat dikuantifikasi, yang absorbansinya diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm, dimana sebanding dengan tingkat oksidasi lipid (Capeyron et al. 2002).



**Gambar 6. Reaksi pembentukan Kompleks MDA-TBA (Nawar B.,1985)**