

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hati merupakan organ vital yang menjalankan berbagai fungsi esensial, termasuk metabolisme, sekresi, penyimpanan, dan detoksifikasi bahan kimia baik endogen maupun eksogen. Penyakit hati terus menjadi ancaman signifikan bagi kesehatan masyarakat, menciptakan tantangan serius di seluruh dunia. Sirosis hati, yang menyumbang 2,4% dari kematian global, adalah salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas (Huang et al, 2023).

Salah satu penyebab utama kerusakan hati adalah cedera hati yang diinduksi obat, yang dapat memicu beragam gejala, mulai dari transaminitis asimtomatik yang ringan hingga kondisi serius seperti hepatitis akut, hepatitis kronis, kolestasis, dan gagal hati. Berbagai obat, suplemen herbal, dan bahan makanan dapat menjadi pemicu, sering kali mengakibatkan penarikan produk dari pasar untuk melindungi kesehatan Masyarakat (Anam Bashir et al, 2023).

Ada banyak kelas obat yang menyebabkan cedera hati termasuk obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID), obat anti-infeksi (obat anti-tuberkular), obat anti-kanker, obat hormonal, agen immunosupresif, obat penenang, dan obat neuropsikiatri. Obat paling umum yang terlibat dalam cedera hati yang diinduksi obat adalah Paracetamol (Anam Bashir et al, 2023).

Overdosis parasetamol merupakan penyebab utama gagal hati akut di negara-negara seperti Inggris, Amerika Serikat, Australia, dan Selandia Baru. Di Amerika Serikat dan Eropa, hepatotoksitas yang diinduksi oleh parasetamol tetap menjadi masalah kesehatan yang signifikan. Ghazala Bibi, et al 2024 melaporkan bahwa parasetamol menjadi penyebab utama gagal hati akut, yang mengakibatkan lebih dari 300.000 rawat inap setiap tahun dan berkontribusi hingga 42% dari semua kasus gagal hati akut.

Meskipun telah terjadi kemajuan signifikan dalam pengobatan modern, hingga saat ini belum ada obat yang sepenuhnya efektif dalam meningkatkan fungsi hati, memperbaiki organ, atau mendukung regenerasi sel-sel hati. Oleh karena itu, perlu untuk mencari alternatif pengobatan yang lebih efektif untuk mengobati gagal hati. Identifikasi bahan-bahan alami sebagai alternatif terapi potensial yang harus diupayakan. (Sonal Datta et al, 2023)



Di Indonesia terdapat tiga jenis nilam yaitu *Pogostemon cablin Benth* atau nilam Aceh, *Pogostemon hortensis* Backer (nilam jawa), dan *Pogostemon heyneatus* Benth (nilam sabun). Tanaman nilam Aceh (*Pogostemon cablin Benth*) merupakan jenis tanaman nilam yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena kualitas minyak atsiri yang dihasilkan lebih baik dibanding jenis nilam lainnya. Minyak nilam diekstraksi dari daun dan batang dengan proses penyulingan (Hilwan et al, 2021).

Patchouli alcohol yang terkandung dalam *Pogostemon cablin Benth* memiliki berbagai manfaat, yakni termasuk aktivitas biologis sebagai antioksidan, anti-inflamasi, dan perlindungan ganda terhadap organ. Patchouli alcohol dapat mengurangi produksi radikal bebas yang berlebihan, sehingga mengurangi stres oksidatif dan nekrosis sel (Qiong-Hui Huang et al, 2018). Selain itu, penelitian yang dilakukan (J. L. Liang et al, 2017) *Patchouli alcohol* juga dapat menghambat jalur pensinyalan NF-kB, yang mengurangi pelepasan sitokin pro-inflamasi dan menekan respons inflamasi lebih lanjut.

Pogostemon cablin Benth, yang mengandung patchouli alcohol, berpotensi sebagai agen hepatoprotektif. Namun, hingga kini belum ada penelitian yang meneliti efeknya terhadap hepatotoksitas pada hewan model yang diinduksi paracetamol.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pemberian Minyak Atsiri Daun Nilam (*Pogostemon cablin Benth*) terhadap parameter fungsi hati (SGOT dan SGPT) serta histopatologi organ hati pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang di induksi Paracetamol?
2. Bagaimana pengaruh pemberian Minyak Atsiri Daun Nilam (*Pogostemon cablin Benth*) terhadap parameter aktivitas antioksidan (SOD) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang di induksi Paracetamol?

1.3 Tujuan Penulisan



mengevaluasi bagaimana pengaruh pemberian Minyak Atsiri Daun Nilam (*Pogostemon cablin Benth*) terhadap parameter fungsi hati (SGOT dan SGPT) serta histopatologi organ hati pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang di induksi Paracetamol.

mengevaluasi bagaimana pengaruh pemberian Minyak Atsiri Daun Nilam (*Pogostemon cablin Benth*) terhadap parameter aktivitas

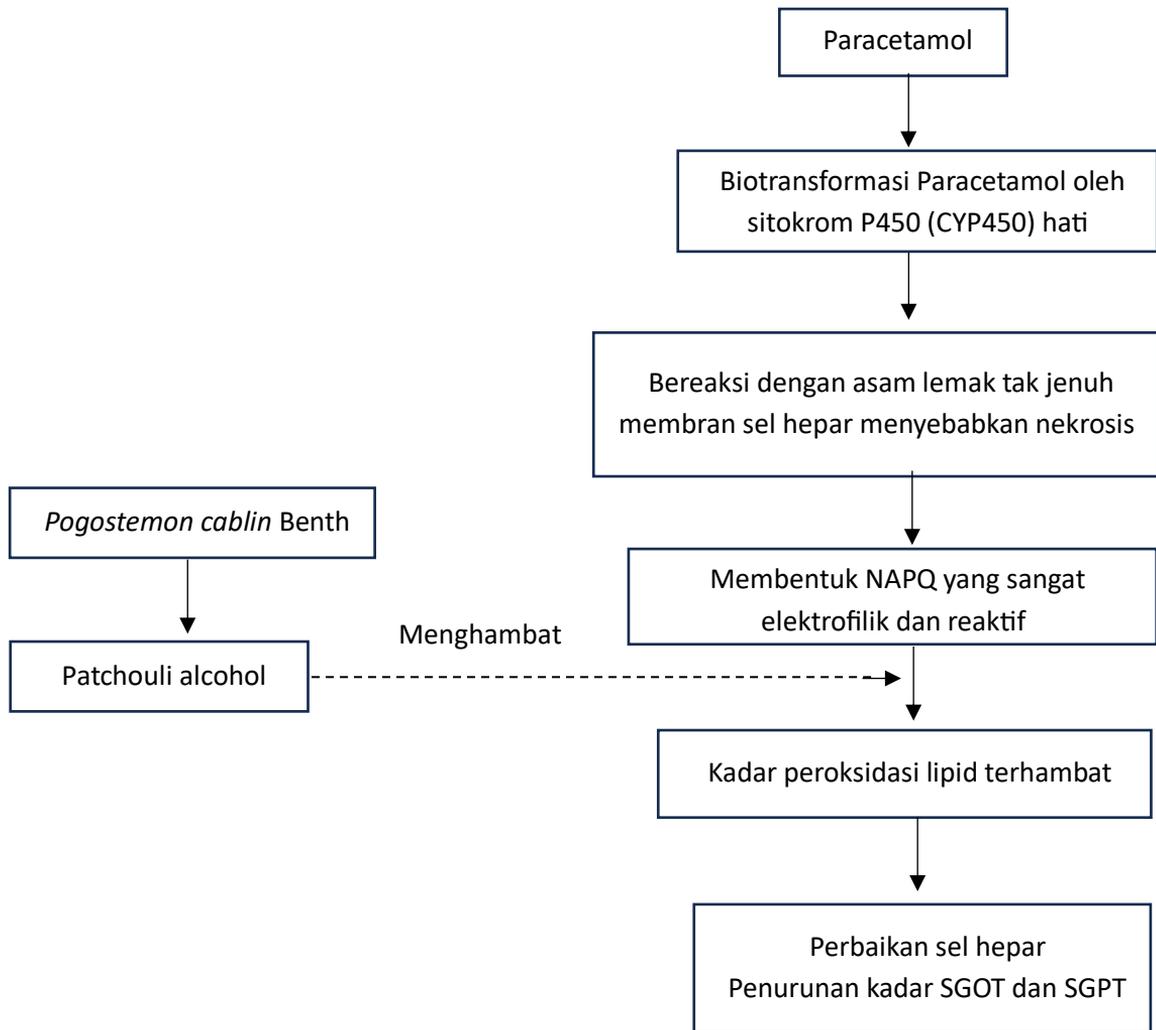
antioksidan (SOD) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang di induksi Paracetamol.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengembangan ilmu pengetahuan dibidang ilmu farmasi tentang potensi minyak atsiri daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth) dalam mengurangi kerusakan hati pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Paracetamol.



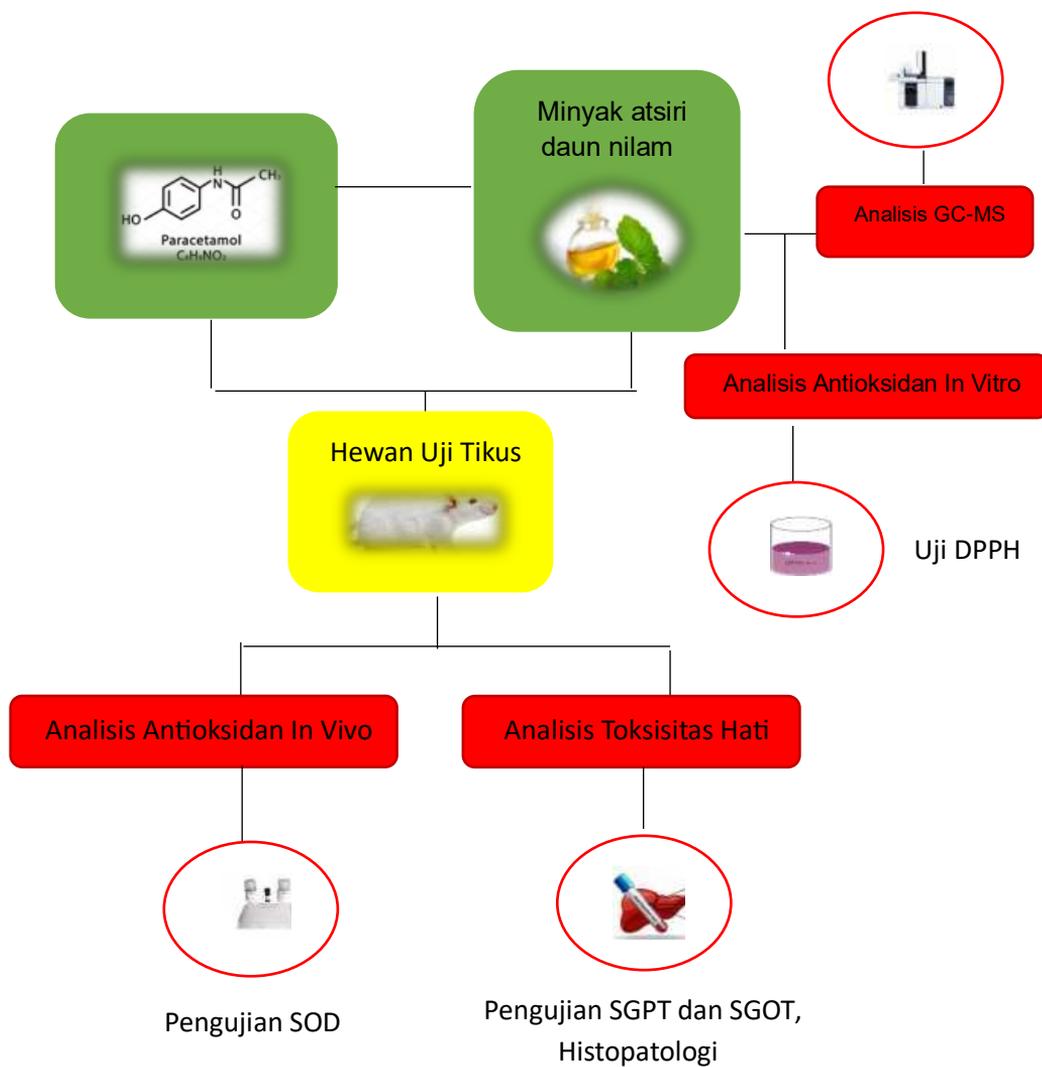
1.5 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori



1.6 Kerangka Konsep



Keterangan :



as

Variabel Kontrol

Variabel Terikat

Gambar 2. Kerangka Konsep

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Fitokimia, Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat destilasi air, seperangkat alat *gas chromatography-mass spectrometer* GC-MS-QP2010 ULTRA SHIMADZU, cawan porselen, *centrifuge*, mikroskop optik (Olympus®), pipet mikro, Microplate, Microplate reader, timbangan analitik (Sartorius®), vial dan alat-alat gelas (Phrex®). Bahan-bahan yang digunakan adalah aquadest (Waterone®), daun nilam aceh segar (*pogostemon cablin* benth), Na CMC, Paracetamol, N-Acetylcysteine, eter, alkohol 70%, liquid nitrogen, NaCl 0,9%.

2.3 Metode Kerja

2.3.1 Destilasi Minyak Atsiri

Daun tanaman nilam (*Pogostemon cablin Benth*) yang segar sebanyak 8,5 kg dipanen dan dipotong-potong menjadi kecil menggunakan gunting. Kemudian daun nilam sebanyak 250 g didestilasi menggunakan pelarut aquadest sebanyak 500 ml selama ± 5-6 jam. Destilat kemudian dimasukkan kedalam corong pisah dan didiamkan sehingga terbentuk dua lapisan, selanjutnya lapisan bawah yakni air dikeluarkan agar lapisan minyak bisa diambil.

2.3.2 Analisis Komponen Kimia

Penentuan komponen kimia Minyak atsiri Daun nilam yang diperoleh dari hasil destilasi dilakukan dengan menggunakan seperangkat alat *gas chromatography-mass spectrometer* (GC-MS). Kondisi instrumen GC-MS: Suhu injektor 250°C dengan mode Splitless, tekanan 76,9 kPa dan laju alir 14 mL/min dan rasio 1:10. Suhu sumber ion dan interface 200°C dan 280°C, waktu solvent cut 3 menit, 400-700 m/z. Jenis kolom SH-Rxi-5Sil MS panjang kolom 30 m dengan diameter dalam 0,25 mm. Suhu awal kolom 700°C dengan waktu tahan 2 menit dan suhu dinaikkan hingga 200°C dengan laju 100°C/min dan suhu akhir 280°C dengan waktu tahan 9 menit dengan laju 50°C/min sehingga total waktu analisa 36 menit. Data kromatogram yang diperoleh dibaca dengan menggunakan *library* NIST 17 dan Wiley 9. Cara identifikasi komponen kimia minyak atsiri daun nilam adalah dengan membandingkan spektrum massa dan komponen minyak atsiri daun nilam yang diperoleh dengan data library yang memiliki tingkat kemiripan (similarity index)



aktivitas Antioksidan in Vitro

nilam diuji aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH). Sebanyak 24 miligram dalam 100 mL metanol untuk membuat larutan stok. Filtrasi menggunakan metanol menghasilkan campuran yang dapat

digunakan dengan absorbansi sekitar 0,973 pada 517 nm. Dalam tabung reaksi, larutan DPPH 3 mL yang dapat diterapkan dikombinasikan dengan 100 μ L metanol minyak atsiri Daun nilam. Tiga milimeter larutan yang mengandung DPPH dalam 100 μ L metanol dijadikan sebagai standar. Setelah itu, tabung disimpan dalam kegelapan total selama 30 menit. Kemudian, absorbansi ditentukan pada 517 nm (Siddartha Baliyan *et al*, 2022). Rumus berikut digunakan untuk menghitung persentase antioksidan :

$$\% \text{ inhibisi} = [(A_k - A_s) \div A_k] \times 100$$

Keterangan : A_k = Absorbansi kontrol, A_s = Absorbansi sampel.

2.3.4 Hewan dan Desain Eksperimental

2.3.4.1 Jumlah Hewan Uji

Banyaknya sampel hewan uji tiap kelompok, dapat diketahui dengan menggunakan rumus Federer :

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

Keterangan:

n = jumlah hewan uji setiap kelompok

t = jumlah perlakuan

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 5 + 15$$

$$n \geq 20 \div 5$$

$$n \geq 4$$

Jadi setiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus putih.

2.3.4.2 Desain Eksperimental

Dua puluh empat ekor tikus (*Rattus Norvegicus*) yang sehat berumur 8 minggu, dengan berat sekitar 200-230 g dipelihara pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$ dengan akses bebas terhadap air dan makanan, dalam siklus terang-gelap 12/12 jam. Seluruh prosedur dalam penelitian ini dilakukan sesuai pedoman Komite Etik Penelitian Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, dengan nomor etik yang telah disetujui Ref.885/UN4.17/KEP/2024.

Tikus diaklimatisasi selama 2 minggu sebelum percobaan kemudian dibagi secara acak menjadi enam kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus. Semua kelompok dipuasakan selama 24 jam sebelum perlakuan dimulai. Hewan-hewan itu kemudian diberi perlakuan sekali sehari selama tujuh hari. Kelompok I (Kontrol normal) dan Kelompok II (Kontrol Negatif) menerima Na CMC 1% (po), Kelompok III (Dosis 1) menerima Minyak Atsiri Daun Nilam 100 mg/kg.BB, Kelompok IV (Dosis 2) Atsiri Daun Nilam 200 mg/kg.BB, kelompok V (Dosis 3) siri Daun Nilam 400 mg/kg.BB, Kelompok VI (Kontrol Positif) sisteine (NAC) 300 mg/kg.BB. pada hari ketujuh, semua secara per oral dosis 3000 mg/kg.BB (po) Paracetamol (PCM) is terakhir Minyak Atsiri Daun Nilam dan NAC dengan ok I (kontrol normal) yang hanya menerima pembawa (Na hewan kemudian dipuasakan selama 48 jam setelah pemberian



PCM. Setelah itu, semua kelompok dianestesi menggunakan eter agar darahnya dapat diambil untuk analisis biokimia. Hewan-hewan itu kemudian dikorbankan dengan cara dislokasi leher kemudian hati diambil untuk pengujian lebih lanjut. Perlakuan pada tikus, mulai dari pre treatment sampai induksi Paracetamol tercantum pada tabel 1.

Table 1. Perlakuan pada tikus dari berbagai kelompok

Kelompok	Deskripsi	Pra-perawatan selama 7 hari	Induksi hepatotoksitas
I	Kontrol Normal	Na CMC 1% (<i>po</i>)	-
II	Kontrol Negatif	Na CMC 1% (<i>po</i>)	PCM (3000 mg/kg, <i>po</i>)
III	Dosis rendah	MADN (100 mg/kg, <i>po</i>)	PCM (3000 mg/kg, <i>po</i>)
IV	Dosis sedang	MADN (200 mg/kg, <i>po</i>)	PCM (3000 mg/kg, <i>po</i>)
V	Dosis tinggi	MADN (400 mg/kg, <i>po</i>)	PCM (3000 mg/kg, <i>po</i>)
VI	Kontrol Positif	NAC (300 mg/kg, <i>po</i>)	PCM (3000 mg/kg, <i>po</i>)

Keterangan : MADN (Minyak Atsiri Daun Nilam),
NAC (N-Acetylcysteine), PCM (Paracetamol)

2.3.5 Pengumpulan dan Pengambilan Sampel Darah dan Organ

Setelah 48 jam dari induksi Paracetamol, sampel darah dikumpulkan dari canthus medial mata dengan anestesi (menggunakan eter secara inhalasi) dan dimasukkan ke dalam tabung pengumpul darah baik tanpa antikoagulan dan tabung dengan EDTA, didiamkan setengah jam sampai darah menggumpal, disentrifugasi untuk memisahkan serum dan plasma kemudian disimpan di -20°C untuk digunakan pengujian berbagai parameter biokimia (Dina M. Abooraya et al, 2022).

Tikus kemudian di-eutanasia dengan dislokasi leher, dan hati dibedah, dibilas dengan larutan NaCl 0,9% kemudian ditimbang dan diukur dengan penggaris, kemudian dimasukkan dalam formalin buffer netral 10% dan setelah 24 jam diganti ke larutan alkohol 70% untuk studi histopatologi. Sedangkan plasma dan serum menggunakan liquid nitrogen dan disimpan pada suhu -80°C selanjutnya.



2.3.6 Uji Parameter Biokimia

Sampel serum darah yang dikumpulkan dianalisis untuk alanine transaminase (SGPT) dan aspartate transaminase (SGOT), menggunakan reagen untuk SGOT (ASAT) IFCC MOD. liquiUV EC 2.6.1.1 (HUMAN) Becton Dickinson and Company . Reagen untuk SGPT (TOOL) IFCC MOD. Uji Humazym liquiUV EC 2.6.1.2 (HUMAN) Wiesbaden, Jerman.

2.3.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan in Vivo

2.3.7.1 Pengukuran Aktivitas SOD

Sampel plasma darah dianalisis menggunakan reagen 19160 SOD Determination Kit (Sigma-Aldrich). Pertama-tama 20 µl larutan sampel ditambahkan ke setiap Sumur Sampel dan Blank 2 dan tambahkan 20 µl H₂O ultra pure ke setiap sumur Blank 1 dan Blank 3. Tambahkan 200 µl Larutan Kerja WST ke setiap sumur, dan aduk. Tambahkan 20 µl Buffer Pengenceran ke setiap sumur Blank 2 dan Blank 3. Tambahkan 20 µl Larutan Kerja Enzim ke setiap sampel dan Blank 1 dengan baik, lalu aduk rata. Inkubasi microplate pada suhu 37 °C selama 20 menit. Absorbansi diukur pada Panjang gelombang 450 nm menggunakan microplate reader.

2.3.8 Pemeriksaan Histopatologi

Organ hati difiksasi menggunakan formalin 10% kemudian dicuci lalu dipotong menjadi spesimen dengan ketebalan 0,5-1 cm. Spesimen yang telah dibuat kemudian disimpan dalam *Embedding cassette* dan diproses dalam *tissue processor*. Spesimen disusun dalam blok paraffin kemudian diiris menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 µm. Irisan dibentangkan di *floating out* pada suhu 40°C. Spesimen diletakkan di slide kaca kemudian dikeringkan menggunakan *hot plate* listrik selama 2 jam kemudian diwarnai dengan hematoxylin dan eosin (H&E) dan ditutup dengan penutup slide kaca. Pengamatan histopatologi dilakukan dibawah mikroskop cahaya (Olympus®) dengan pembesaran 10 dan 40x (Yasmin Hasan, 2024).

2.3.9 Analisis Data

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan GraphPad Prism. Analisis varians satu arah (ANOVA) digunakan untuk menilai perbedaan antara kelompok. Nilai p kurang dari 0,05 dianggap signifikan secara statistik.

