

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL *Turbinaria decurrens* TERHADAP PERBAIKAN KERUSAKAN HATI TIKUS PUTIH

Thamrin Wikanta¹⁾, Resty Prehati²⁾, Lestari Rahayu²⁾, dan Nurrahmi Dewi Fajarningsih²⁾

ABSTRAK

Turbinaria decurrens mengandung pigmen karoten yang berfungsi sebagai antioksidan sehingga mampu meredam radikal bebas. Kerusakan sel hati akibat radikal bebas terdeteksi dari peningkatan kadar malondialdehid (MDA) dan aktivitas *glutamat-piruvat transaminase* (GPT) dalam serum darah. Pengujian toksisitas akut dari ekstrak etanol *T. decurrens* dilakukan dengan menggunakan mencit secara intraperitoneal, sedangkan pengaruh pemberian ekstrak tersebut terhadap perbaikan kerusakan liver menggunakan tikus secara oral. Pengaruh pemberian ekstrak tersebut terhadap perbaikan kerusakan hati diamati menggunakan 6 kelompok tikus yaitu: KI (kelompok normal yang hanya diberi air suling), KII (kelompok kontrol negatif yang diberi air suling), KIII (kelompok perlakuan yang diberi ekstrak dengan dosis 0,2 g/200 g BB (Bobot Badan)), KIV (kelompok perlakuan yang diberi ekstrak dengan dosis 0,4 g/200 g BB), KV (kelompok perlakuan yang diberi ekstrak dengan dosis 0,8 g/200 g BB), dan KVI (kelompok kontrol positif yang diberi vitamin E dosis 5,4 mg/200 g BB). Kelompok II, III, IV, V, dan VI diberi perlakuan selama 12 hari berturut-turut, setelah dua jam pemberian perlakuan yang terakhir tikus diberi CCl₄ 0,11 g/200 g BB, 24 jam kemudian tikus diambil darahnya untuk pengukuran kadar MDA, aktivitas GPT, serta pengambilan organ hati untuk penentuan rasio bobot hati/bobot badan serta pembuatan sediaan histopatologi hati. Hasil riset menunjukkan bahwa ekstrak etanol *T. decurrens* termasuk dalam kategori toksisitas rendah dan ekstrak memiliki aktivitas antioksidan dan potensi hepatoprotektor sehingga dapat membantu perbaikan kerusakan hati.

ABSTRACT: *Effect of Turbinaria decurrens ethanol extract feeding on the recovery of white rats liver damage. By: Thamrin Wikanta, Resty Prehati, Lestari Rahayu and Nurrahmi Dewi Fajarningsih*

Turbinaria decurrens contains caroten pigmen that functions as an antioxidant, and scavenger free radicals. The liver damage cells of due to free radicals was detected by observing an increase of malondialdehyde's (MDA) value and of glutamat-piruvat transaminase's (GPT) activity in blood serum. Acute toxicity test on the ethanol extract of *T. decurrens* was performed by using mice intraperitoneally, while the effect of its extract feeding on the recovery of liver damaged was performed using rats orally. The effect of its extract feeding on the liver damage's recovery was observed using 6 groups of rats, i.e: KI (normal control, only fed with aquadest), KII (negative control, only fed with aquadest), KIII (treatment group fed with extract of 0.2 g/200g BW (Body Weight), KIV (treatment group fed with extract of 0.4 g/200 g BW), KV (treatment group fed with extract of 0.8 g/200 g BW) and KVI positive control fed with vitamin E with the dose of 5.4 mg/200 g BW). Group II, III, IV, V, and VI were treated daily for 12 days, 2 hours after last treatment, rats were treated with CCl₄ with a dose of 0.11 g/200 g BW, and 24 hours later the blood rats was sampled to measure the value of MDA, GPT activity and the liver organ were taken out for measuring the ratio of liver weight/body weight and liver histopathological preparation. The results showed that the ethanol extract of *T. decurrens* exhibited low toxicity, an antioxidative activity and hepatoprotector potency.

KEYWORDS: *Turbinaria decurrens, carbon tetrachloride (CCl₄), malondialdehyde (MDA), glutamate-piruvate transaminase (GPT), liver histopathology*

PENDAHULUAN

Dalam upaya pendayagunaan kekayaan alam hayati, Indonesia berusaha mengembangkan dan menerapkan penggunaan obat tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit, karena penggunaan obat tradisional dinilai relatif aman jika dibandingkan obat

sintetik. Penerapan penggunaan obat tradisional perlu didukung dengan penelitian ilmiah, sehingga dasar penggunaan dan manfaatnya dapat dipertanggungjawabkan.

Salah satu kekayaan alam Indonesia yang sangat melimpah adalah rumput laut coklat atau alga coklat (*Phaeophyceae*), di antaranya adalah *Turbinaria*

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan; E-mail: thamrin_wikanta@yahoo.com

²⁾ Staf Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta

decurrens (Atmaja *et al.*, 1996a; Atmaja *et al.*, 1996b). Alga coklat mengandung senyawa kimia klorofil-a dan klorofil-c, β -karoten, violasantin dan fukosantin, pirenoid dan filakoid, laminarin, selulosa, dan algin. Pigmen karoten diketahui memiliki sifat antioksidan sehingga mampu bertindak sebagai pemusnah radikal bebas hasil proses metabolisme dalam tubuh (Indriani & Suminarsih, 1999). Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan, sehingga mempunyai afinitas tinggi untuk menarik elektron dari senyawa-senyawa lain yang rentan terhadap proses oksidasi, seperti asam lemak tak jenuh (Halliwell & Gutteridge, 1991; Harun & Syahri, 2002).

Dalam tubuh manusia yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh adalah lipid membran. Proses oksidasi asam lemak tak jenuh tersebut akan menghasilkan lipid peroksida, yang dapat membentuk senyawa malondialdehid, maka kadar malondialdehid yang terbentuk dapat dijadikan indikator proses oksidasi asam lemak tak jenuh di dalam tubuh. Asam lemak tak jenuh sangat berperan dalam menjaga keutuhan struktur membran sel, maka peningkatan laju oksidasi asam lemak tak jenuh akan mengakibatkan kerusakan jaringan, seperti di dalam jaringan hati. Sel hati merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran dari peningkatan radikal bebas, karena hati merupakan tempat terjadinya proses metabolisme senyawa xenobiotik. Kerusakan membran sel hati mengakibatkan keluarnya enzim yang terdapat dalam sel hati seperti GPT dalam serum (Harun & Syahri, 2002), maka aktivitas GPT dapat dijadikan sebagai indikator adanya kerusakan jaringan hati. CCl_4 termasuk bahan kimia yang bersifat toksik sebagai pembentuk radikal bebas dan pada pemberian CCl_4 akan dihasilkan radikal CCl_3^{\cdot} (Lu, 1995).

Antioksidan adalah zat yang dapat mencegah atau memperlambat oksidasi oleh radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan dalam mencegah penyakit adalah menetralkan dan menghancurkan radikal bebas, karena radikal bebas akan merusak biomolekul seperti DNA, protein, lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif terutama kanker dan penyakit jantung koroner (Laurence & Bacharach, 1969). Untuk mengendalikan reaksi radikal bebas, tubuh mempunyai berbagai sistem penangkal radikal bebas yang bersifat enzimatis dan non-enzimatis. Sistem enzimatis berupa enzim SOD (Superoksida dismutase) dan enzim katalase. Sedangkan sistem non-enzimatis berupa α -tokoferol, β -karoten, vitamin C, dan lain-lain. Sistem pertahanan tubuh yang berupa sistem kontrol enzim antioksidan bekerja mengatur reaksi pembentukan radikal bebas yang diperlukan

dan menetralkan kelebihan radikal bebas yang terbentuk akibat dari asupan makanan yang dapat merusak jaringan di dalam tubuh.

Sehubungan dengan aktivitas antioksidan yang terdapat pada *T. decurrens*, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui toksisitas akut dan kemampuan ekstrak etanol *T. decurrens* dalam menghambat proses oksidasi asam lemak tak jenuh di dalam tubuh dan melindungi sel hati dari radikal bebas yang terbentuk oleh CCl_4 .

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol *T. decurrens* dari keseluruhan bagian tanaman tersebut yang diperoleh dari pantai Binuangeun, Banten Selatan.

Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan untuk pengujian toksisitas akut (penentuan nilai LD_{50}) ekstrak etanol *T. decurrens* adalah mencit galur DDY dengan umur 2-3 bulan, bobot 20-30 gram, sedangkan untuk pengujian pengaruh pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* terhadap pemulihan hati yang mengalami kerusakan adalah tikus putih jantan galur Wistar berumur 2-3 bulan dengan bobot badan berkisar antara 150-250 gram. Mencit dan tikus diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Prinsip Penelitian

Ekstrak etanol *T. decurrens* diberikan secara oral pada tikus putih dengan dosis berbeda pada tiap kelompok perlakuan selama 12 hari. Dua jam setelah pemberian ekstrak terakhir, tikus diberi CCl_4 secara oral dengan dosis 0,11 g/200 g BB. Setelah 24 jam sejak pemberian CCl_4 , tikus dibius dengan eter dan direntangkan, kemudian darah tikus diambil dengan alat suntik untuk pengukuran kadar MDA dan aktivitas GPT. Tikus dibedah dan organ hati diambil untuk penetapan rasio bobot hati/bobot badan dan pembuatan sediaan histopatologi hati. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik.

Tahapan Penelitian

Pengumpulan sampel

Sampel yang digunakan adalah seluruh bagian dari *T. decurrens*, yang diperoleh dari pantai Binuangeun, Banten Selatan. Setelah dipanen, *T. decurrens* dibersihkan terlebih dahulu dengan air laut untuk

menghilangkan kotoran, lalu dibersihkan dengan air tawar untuk mengurangi kadar garam dan ditiriskan.

Pembuatan ekstrak etanol *T. decurrens*

T. decurrens yang telah dicuci dengan air bersih, ditiriskan, lalu dimaserasi dengan etanol 95% selama 1 minggu, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 1. Filtrat yang diperoleh di evaporasi sampai etanolnya menguap semua hingga didapatkan ekstrak kental. Selanjutnya untuk menyempurnakan pengeringan dilakukan pengeringan beku (*freeze drying*) pada suhu dan tekanan rendah hingga didapatkan ekstrak kering. Untuk mencegah kerusakan maka ekstrak kering disimpan dalam ruang dingin suhu 10°C hingga siap untuk digunakan.

Persiapan larutan CCl₄

Pada pembuatan dosis CCl₄ 0,11 g/200 g BB, setelah perhitungan pengenceran CCl₄ diambil 2,59 mL larutan pekat CCl₄, lalu diencerkan dengan minyak kelapa sampai 50 mL sebagai larutan stok.

Persiapan Vitamin E

Dosis Vitamin E yang digunakan adalah 5,4 mg/200 g BB yang diperoleh dari produk Natur E kapsul lunak. Produk Nature E sebanyak 5 butir, dikeluarkan isinya, kemudian diencerkan dengan 10 mL minyak zaitun (*olive oil*).

Penentuan nilai LD₅₀

Pada penentuan nilai LD₅₀ menggunakan metode Weil (1952), hewan percobaan yang digunakan adalah mencit. Pemberian sediaan uji dilakukan secara intra peritoneal (ip), kematian mencit dihitung setelah 24 jam dan nilai LD₅₀ dihitung menggunakan tabel biometrik dari Weil (1952) berdasarkan jumlah kematian mencit yang diperoleh.

Perlakuan hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus putih, dibagi menjadi 6 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor, yaitu:

- KI : Kontrol normal, hanya diberi air suling dan pada hari ke-13 dibedah
- KII : Kontrol negatif, diberikan air suling selama 12 hari, 2 jam setelah pemberian air suling diberi CCl₄ 0,11 g/200 g BB secara oral dan pada hari ke-13 dibedah.
- KIII: Perlakuan-1 diberi ekstrak etanol *T. decurrens* secara oral dosis 0,2 g/200 g BB selama 12 hari, 2 jam setelah pemberian ekstrak diberi CCl₄ 0,11 g/200 g BB secara oral dan pada hari ke-13 dibedah

KIV: Perlakuan-2 diberi ekstrak etanol *T. decurrens* secara oral dosis 0,4 g/200 g BB selama 12 hari, 2 jam setelah pemberian ekstrak diberi CCl₄ 0,11 g/200 g BB secara oral dan pada hari ke-13 dibedah

KV: Perlakuan-3 diberi ekstrak etanol *T. decurrens* secara oral dosis 0,8 g/200 g BB selama 12 hari, 2 jam setelah pemberian ekstrak diberi CCl₄ 0,11 g/200 g BB secara oral dan pada hari ke-13 dibedah

KVI: Kontrol positif diberikan vitamin E dosis 5,4 mg/200 g BB selama 12 hari, 2 jam setelah pemberian vitamin E diberi CCl₄ 0,11 g/200 g BB secara oral dan pada hari ke-13 dibedah

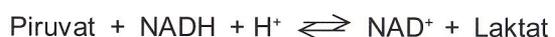
Pengambilan darah dan organ hati hewan percobaan

Sebelum dibedah tikus dibius dengan eter, lalu diletakkan telentang pada papan bedah dan keempat kakinya direntangkan sejauh mungkin kemudian diikat. Masing-masing tikus diambil darahnya dari bagian jantung dengan menggunakan jarum suntik. Darah yang diperoleh digunakan untuk mengukur aktivitas GPT dan sebagian lagi digunakan untuk mengukur kadar MDA dengan penambahan antikoagulan pada pengukuran kadar MDA. Dada dan perutnya diolesi dengan alkohol 70% lalu dibedah dengan gunting dan pisau bedah, lalu diambil hatinya untuk sediaan histopatologi dan ditimbang beratnya untuk menentukan rasio bobot hati/bobot badan tikus.

Pengukuran aktivitas GPT

Sebanyak 4 bagian reagen 1 (mengandung dapar TRIS pH 7,5 100 mMol/L, L-Alanin 500 mMol/L laktat dehidrogenase ≥ 1200 U/L) dicampur dengan 1 bagian reagen 2 (mengandung 2-oksoglutarat 15 mMol/L dan NADH 0,18 mMol/L); campuran ini disebut monoreagen GPT. Sebanyak 100 μ L serum dicampur dengan 1000 μ L monoreagen GPT, didiamkan 1 menit kemudian dibaca serapannya pada menit ke-1, 2, 3, dan 4 pada panjang gelombang 340 nm dengan spektrofotometer UV-VIS.

Prinsip reaksi penetapan aktivitas GPT adalah:



NAD⁺ yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 340 nm.

Pengukuran kadar MDA

Sejumlah 200 μ L plasma ditambah air suling sampai 2 mL kemudian ditambah 1 mL TCA 20% dan 2 mL TBA 0,67%. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit, lalu

dinginkan. Setelah dingin, larutan *disentrifuge* pada kecepatan 300 rpm selama 10 menit, kemudian diambil filtratnya dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 530 nm.

Penetapan rasio bobot hati/bobot badan

Rasio bobot hati/bobot badan diukur sebagai bobot organ hati yang ditimbang dibagi dengan bobot badan tikus sebelum pembedahan.

Pembuatan sediaan histopatologi hati

Histopatologi adalah pemeriksaan morfologi sel atau jaringan pada sediaan mikroskopik untuk menetapkan diagnosis kelainan, radang, atau infeksi. Pemeriksaan histopatologi umumnya terbagi atas dua yaitu pemeriksaan histopatologi biasa (blok parafin) dan pemeriksaan histopatologi khusus (potong beku) (Suntoro, 1983; Junquiera *et al.*, 1989; Leeson *et al.*, 1991). Pada penelitian ini digunakan pemeriksaan histopatologi biasa. Proses pembuatan preparat meliputi tahapan sebagai berikut: fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi, penanaman, penyayatan, penempelan, deparafinisasi, hidrasi, pewarnaan dengan Hematoksin-Eosin, dehidrasi, penjernihan, dan penutupan.

HASIL DAN BAHASAN

Penetapan Nilai LD₅₀ Ekstrak Etanol *T. decurrens*

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut untuk menentukan batas aman penggunaan ekstrak etanol *T. decurrens* yaitu dengan menentukan nilai LD₅₀. Pada uji toksisitas akut, dilakukan pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dalam beberapa tingkatan dosis secara intraperitoneal dengan menggunakan mencit karena penanganan hewan ini lebih mudah. Pemberian jalur intraperitoneal (ip) dipilih karena diharapkan efek yang terjadi lebih cepat sehingga dalam waktu 24 jam nilai LD₅₀ sudah dapat diketahui.

Dari hasil pengujian toksisitas akut dengan menggunakan metode Weil (1952) diperoleh nilai LD₅₀ ekstrak etanol *T. decurrens* sebesar 28,28 mg/20 g BB untuk ip pada mencit. Hasil perhitungan berdasarkan tabel konversi dosis didapatkan nilai LD₅₀ sebesar 9,89 g/kg BB untuk oral pada tikus, dengan batas atas 11,76 g/kg BB dan batas bawah 8,32 g/kg BB. Berdasarkan klasifikasi dari Gleason (1969) tentang toksisitas bahan maka ekstrak etanol *T. decurrens* dengan nilai LD₅₀ 9,89 g/kg BB termasuk dalam kategori toksisitas rendah.

Kadar Malondialdehid (MDA)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektor dari ekstrak etanol *T. decurrens* terhadap radikal bebas yang dihasilkan oleh CCl₄ dengan dosis 0,11 g/200 g BB secara oral. Senyawa CCl₄ merupakan zat yang sangat toksik, dengan dosis kecil dapat merusak susunan saraf pusat, hati, ginjal, paru-paru, kulit, dan mata. Senyawa ini dapat diabsorpsi oleh tubuh melalui saluran pernapasan yang menyebabkan pusing, sakit kepala, muntah, gangguan penglihatan, dan kelelahan. Jika melalui kulit dan mata dapat menyebabkan iritasi dan menimbulkan warna merah (Kaye, 1961; Martindale, 2002). Dosis CCl₄ yang digunakan adalah 0,11 g/200 g BB, diberikan dengan dosis tunggal (Harahap *et al.*, 1999). Menurut Halliwell & Gutteridge (1991) dan Lu (1995) rangkaian kejadian dalam sel yang menyertai biotransformasi karbon tetraklorida menjadi suatu metabolit reaktif adalah sebagai berikut:

$CCl_4 \rightarrow CCl_3^{\cdot} + Cl^{\cdot}$
 $CCl_3^{\cdot} + \text{protein, lipid tidak jenuh} \rightarrow \text{ikatan kovalen}$
 $CCl_3^{\cdot} + \text{lipid tidak jenuh ganda} \rightarrow \text{peroksida lipid}$
Peroksida lipid \rightarrow kerusakan membran, inaktivasi enzim, peroksida, dan aldehid

Setelah masuk ke dalam saluran pencernaan, CCl₄ diabsorpsi ke dalam aliran darah yang menuju hati melalui vena porta. Di dalam hati CCl₄ akan dimetabolisme menjadi radikal triklorometil (CCl₃[·]) di dalam retikulum endoplasma, selanjutnya bentuk radikal triklorometil bereaksi dengan oksigen dan berubah menjadi bentuk radikal triklorometil dioksida (CCl₃O₂[·]) yang reaktif. Bentuk radikal tersebut akan bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh pada membran sel dan akan menyebabkan peroksidasi membran lipid, yang selanjutnya dapat mengakibatkan kerusakan sel antara lain terjadi perubahan fluiditas, struktur, dan fungsi membran, dalam keadaan yang lebih parah dapat menyebabkan kematian sel sehingga enzim keluar dari dalam sel hati seperti GPT ke dalam serum (Halliwell & Gutteridge, 1991).

Peroksidasi lipid merupakan hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh jamak dan ester-esternya dengan radikal bebas. Di dalam tubuh, bagian yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh adalah membran lipid. Hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh tersebut akan menghasilkan lipid peroksida yang dapat membentuk senyawa malondialdehid. Di dalam material biologi (mitokondria, sitosol, lisosom), malondialdehid terdapat dalam bentuk bebas dan dalam bentuk kompleks, sebagai unsur pokok berbagai jaringan. Dengan demikian kadar malondialdehid dapat dijadikan gambaran laju oksidasi

asam lemak tak jenuh (Harun & Syahri, 2002). Peroksidasi lipid dianggap sebagai penyebab berbagai reaksi yang sangat merugikan bagi tubuh, misalnya oksidasi oleh polutan udara yang menyebabkan rusaknya sel-sel paru, dan CCl₄ yang bersifat hepatotoksik (Halliwell & Gutteridge, 1991). Kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas yang mengoksidasi lipid membran dapat diketahui dari terjadinya peningkatan kadar MDA, sedangkan yang mengakibatkan terjadinya kerusakan sel-sel hati akan mengakibatkan keluarnya enzim dalam sel hati ke dalam darah yang dapat diketahui dari perubahan aktivitas GPT.

Hasil pengukuran kadar MDA disajikan pada Tabel 1. Data MDA dianalisis dengan statistik parametrik menggunakan metode anova satu arah. Hasil analisis statistik terhadap kadar MDA menunjukkan signifikansi (0,00) < α (0,05), berarti terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur, dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1. Peningkatan kadar MDA menunjukkan terjadinya peningkatan proses

peroksidasi lipid, karena MDA adalah suatu produk peroksidasi lipid hasil reaksi antara radikal bebas dengan asam lemak tidak jenuh.

Memperhatikan data kelompok II (kontrol negatif) pada Tabel 1, pemberian CCl₄ dosis 0,11 g/200 g BB secara oral menyebabkan kenaikan kadar MDA sangat tinggi dibandingkan dengan kelompok I (kontrol normal tanpa induksi CCl₄). Kenaikan kadar MDA plasma menunjukkan terjadinya peningkatan peroksidasi lipid dari asam lemak tidak jenuh. Pada kelompok III, IV, dan V, pemberian ekstrak etanol *Turbinaria decurrens* dengan dosis masing-masing 0,2 g/200 g BB, 0,4 g/200 g BB, dan 0,8 g/200 g BB memperlihatkan kadar MDA yang lebih rendah dan terdapat perbedaan dibandingkan dengan kelompok II (kontrol negatif). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki efek antioksidan. Pemberian dosis yang semakin meningkat mengakibatkan efek antioksidan semakin meningkat juga. Hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan III dan IV, begitu juga antara kelompok perlakuan IV dan V. Hal ini berarti tidak ada perbedaan yang nyata

Table 1. Rata-rata kadar MDA (nMol/mL), rata-rata nilai GPT (UI/L), rata-rata rasio bobot hati/bobot badan, dan diameter vena sentralis (mm) pada 6 kelompok perlakuan

Table 1. Mean of MDA values (nMol/mL), GPT values (UI/L), ratio of liver weight/body weight, and central vein diameters (mm) from 6 treatments groups

Variabel/Variable	Kelompok / Group					
	I	II	III	IV	V	VI
MDA (nMol/mL) / MDA (nMol/mL)	0.132±0.029 ^a	0.718±0.100 ^b	0.326±0.040 ^c	0.305±0.040 ^{cd}	0.240±0.020 ^{de}	0.203±0.060 ^f
GPT (UI/L) /GPT (UI/L)	76.600±7.635 ^a	261.200±4.969 ^b	155.400±3.577 ^c	121.200±2.949 ^d	100.200±3.962 ^e	93.600±2.607 ^f
Bobot hati/Bobot badan / Liver weight/Body weight	0.033±0.001 ^a	0.041±0.001 ^b	0.039±0.001 ^c	0.037±0.001 ^d	0.036±0.001 ^e	0.035±0.001 ^f
Diameter vena sentralis (µm)/ Central vein diameter (µm)	68.780±1.430 ^a	97.720±1.530 ^b	88.160±1.000 ^c	79.060±0.600 ^d	75.840±1.120 ^e	72.740±0.680 ^f

Catatan/Note: - nilai rata-rata ±standar deviasi/mean value ± standard deviation
- berbeda notasi pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata/different notation in the same row indicated significantly different

Keterangan/Note:

- I : Kontrol normal/Normal control;
- II : Kontrol negatif, diberi air suling dan induksi CCl₄ 0,11 g/200 g BB/Negative control, given aquadest and CCl₄ induction with the dose of 0.11 g/200 g BW
- III : Perlakuan-1, diberi ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,2 g/200 g BB dan induksi CCl₄ 0,11 g/200 g BB/Treatment-1, given *T. decurrens* ethanol extract with the dose of 0.2 g/200 g BW and CCl₄ induction with the dose of 0.11 g/200 g BW
- IV : Perlakuan-2, diberi ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,4 g/200 g BB dan induksi CCl₄ 0,11 g/200 g BB/Treatment-2, given *T. decurrens* ethanol extract with the dose of 0.4 g/200 g BW and CCl₄ induction with the dose of 0.11 g/200 g BW
- V : Perlakuan-3, diberi ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,8 g/200 g BB dan induksi CCl₄ 0,11 g/200 g BB/Treatment-3, given *T. decurrens* ethanol extract with the dose of 0.8 g/200 g BW and CCl₄ induction with the dose of 0.11 g/200 g BW
- VI : Kontrol positif, diberi vitamin E 5,4 mg/200 g BB dan induksi CCl₄ 0,11 g/200 g BB/Positive control, given vitamine E with the dose of 5.4 mg/200 g BW and CCl₄ induction with the dose of 0.11 g/200 g BW

antar kelompok perlakuan III, IV, dan V pada efek antioksidan dari ketiga dosis yang diberikan terhadap prosès oksidasi asam lemak tidak jenuh dalam tubuh tikus, sedangkan antara kelompok perlakuan (III, IV, dan V) dengan kontrol positif (VI) ada perbedaan nyata. Hal ini menunjukkan bahwa efek antioksidan yang ditimbulkan pada kelompok perlakuan (III, IV, dan V) tidak sebesar efek pada kelompok kontrol positif (VI).

Aktivitas Glutamat Piruvat Transaminase (GPT)

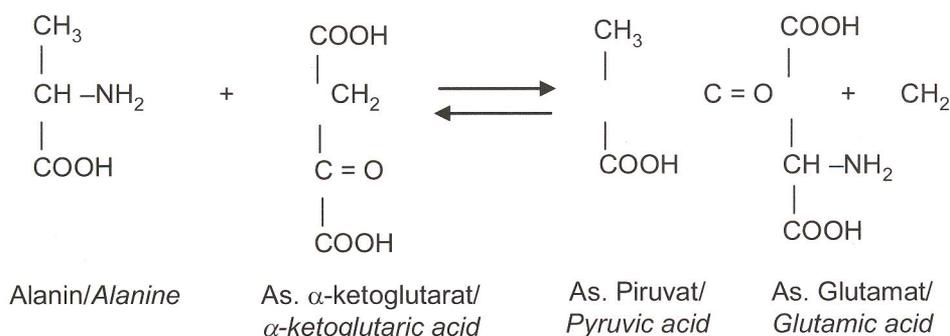
Kerusakan pada membran sel hati mengakibatkan enzim yang terdapat di dalam sel hati seperti GPT ke luar dan masuk ke dalam serum. Enzim GPT atau ALT (*Alanin Amino Transaminase*) merupakan enzim sitosol. Enzim ini ditemukan juga pada jantung (Bauer, 1982). Enzim ini mengkatalisis pemindahan gugus amino dari alanin ke asam α -ketoglutarat untuk membentuk asam piruvat dan asam glutamat (Gambar 1). Hasil pengukuran aktivitas GPT disajikan pada Tabel 1. Data aktivitas GPT dianalisis dengan statistik parametrik menggunakan metode ANOVA satu arah. Hasil analisis statistik terhadap nilai aktivitas GPT menunjukkan signifikansi $(0,00) < \alpha (0,05)$, berarti terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan uji uji beda nyata jujur, dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Memperhatikan data pada Tabel 1, aktivitas GPT dari 6 kelompok hewan percobaan menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif (II) yang hanya diinduksi CCl_4 0,11 g/200 g BB memperlihatkan aktivitas GPT yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya (I, III, IV, V, dan VI). Hal ini disebabkan enzim GPT yang paling banyak terdapat di dalam sel hati, keluar ke dalam darah karena sel hati mengalami kerusakan. Akibat kerusakan pada sel hati maka akan ditemui aktivitas GPT yang tinggi di dalam darah. Seiring dengan pemberian dosis ekstrak etanol *T. decurrens* yang semakin meningkat pada kelompok perlakuan (III, IV, dan V) terjadi pula

penurunan aktivitas GPT. Hasil analisis statistik menunjukkan ada perbedaan nyata aktivitas GPT antara kelompok perlakuan (III, IV, dan V) dengan kelompok kontrol negatif (II). Hal ini menunjukkan adanya efek hepatoprotektor yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* yang semakin meningkat. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan nyata antara kelompok perlakuan ekstrak etanol *T. decurrens* (III, IV, dan V) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (VI), yang berarti efek hepatoprotektor pada kelompok perlakuan tidak sebesar pada kontrol positif.

Rasio Bobot Hati/Bobot Badan

Hati merupakan kelenjar terbesar dan terberat dalam tubuh, terletak di dalam rongga abdomen sebelah kanan atas di bawah diafragma, tersusun atas sel-sel hati (hapatosit) berbentuk lempeng-lempeng yang saling berhubungan dan bercabang, membentuk anyaman tiga dimensi, dan di antara lempeng-lempeng ada sinusoid-sinusoid darah. Dalam keadaan normal, hati bewarna coklat kemerahan, berbentuk padat dan kenyal. Hati merupakan pusat metabolisme lemak, karbohidrat, protein, dan juga merupakan tempat detoksifikasi dari obat dan bahan-bahan lain yang berbahaya. Selain itu hati juga merupakan tempat produksi beberapa zat penting untuk koagulasi darah, metabolisme besi, pembentukan dan pemecahan hemoglobin, produksi empedu yang membantu pencernaan lemak dan absorpsi dari vitamin yang larut lemak (Ressang, 1963; Sujono, 1997). Hasil pengukuran rasio bobot hati/bobot badan dari 6 kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 1. Data rasio bobot hati/bobot badan dianalisis dengan statistik parametrik menggunakan metode ANOVA satu arah. Hasil analisis statistik terhadap rasio bobot hati/bobot badan menunjukkan signifikansi $(0,00) < \alpha (0,05)$, berarti terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan uji uji beda nyata jujur, dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat yang dikatalisis oleh enzim ALT (Richard et al., 1974).
 Figure 1. Reaction of pyruvic and glutamic acids formation catalyzed by ACT enzyme (Richard et al., 1974).

Rasio bobot hati/bobot badan yang lebih besar dibandingkan dengan kondisi normal dapat menggambarkan terjadinya pembengkakan hati karena terjadinya nekrosis pada sel-sel hati. Terjadinya nekrosis mengakibatkan banyaknya serpihan partikel sel dan organel (*debris*) yang rusak sehingga menimbulkan inflamasi atau peradangan dan penumpukan masa cairan, yang selanjutnya terjadi penumpukan sel darah putih di daerah tersebut yang bertugas melakukan fagositosis sampai terjadinya kondisi normal. Tabel 1 menunjukkan bahwa rasio bobot hati / bobot badan kelompok kontrol negatif (II) lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol normal (I) karena mengalami kerusakan hati akibat radikal bebas yang terbentuk dari CCl_4 sehingga menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel-sel hati. Pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,2 g/200 g BB; 0,4 g/200 g BB; 0,8 g/200 g BB masing-masing pada kelompok perlakuan (III, IV, dan V) mengakibatkan nilai rasio bobot hati/bobot badan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (II). Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi peredaman atau hambatan terhadap radikal bebas yang terbentuk pada kelompok perlakuan (III, IV, V) yang menyebabkan nekrosis sehingga kerusakan yang terjadi tidak separah pada kelompok kontrol negatif (II). Membandingkan antara kelompok perlakuan (III, IV, dan V) yang mendapat pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dengan kelompok kontrol positif (VI), menunjukkan ada perbedaan nyata. Hal ini berarti bahwa efek hepatoprotektor yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,2 g/200 g BB; 0,4 g/200 g BB; 0,8 g/200 g BB tidak sebesar atau tidak sebaik akibat pemberian vitamin E dosis 5,4 mg/200 g BB pada kontrol positif. Hasil yang diperoleh dari pengukuran bobot hati/bobot badan tikus terlihat berkorelasi dengan hasil analisis histopatologi hati seperti uraian selanjutnya yang disajikan pada Gambar 2 (A, B, C, D, E, F) dan Tabel 2.

Diameter vena sentralis

Hasil pengukuran diameter vena sentralis hati tikus dari 6 kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 1. Data diameter vena sentralis dianalisis dengan statistik

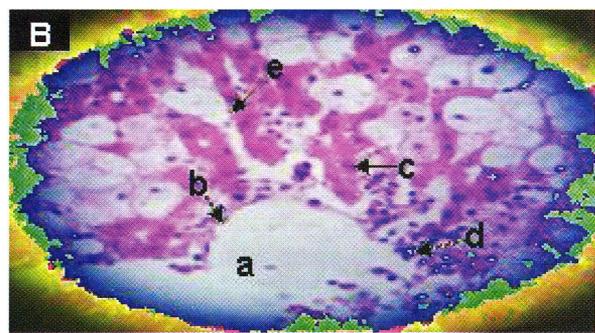
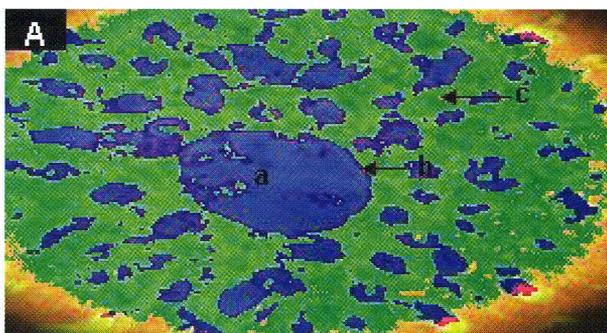
parametrik menggunakan metode ANOVA satu arah. Hasil analisis statistik terhadap diameter vena sentralis menunjukkan signifikansi $(0,00) < \alpha (0,05)$, berarti terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur, dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

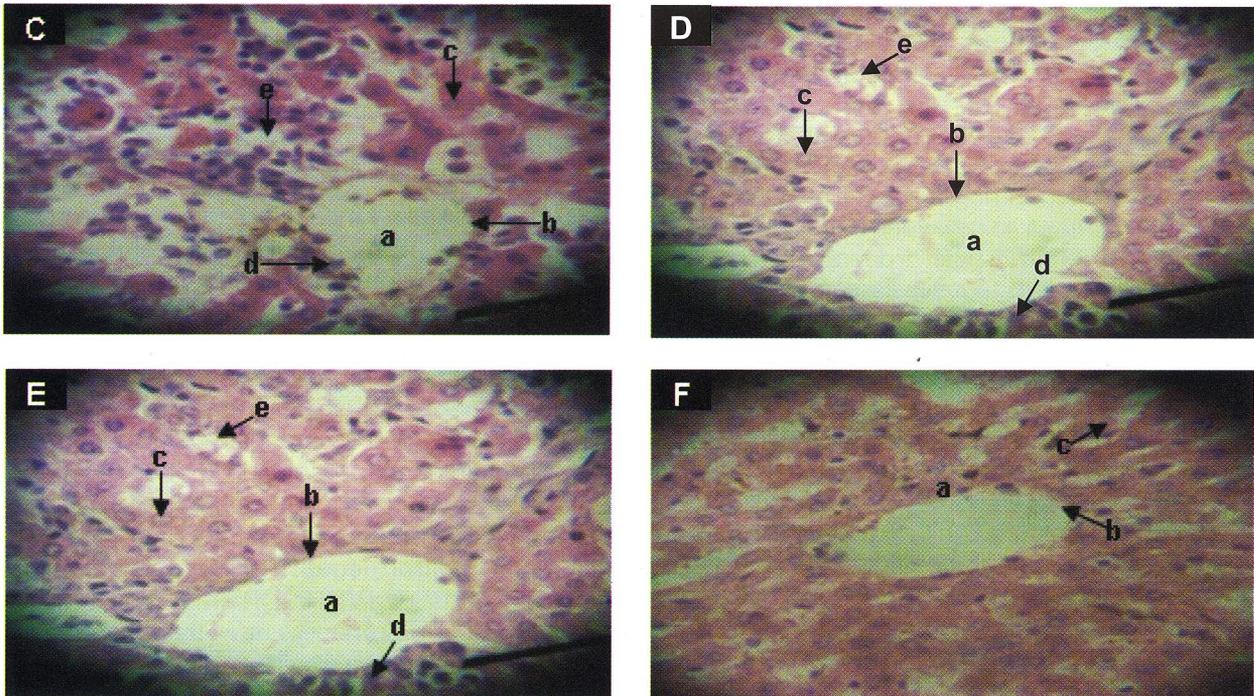
Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif (II) memperlihatkan diameter vena sentralis yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol normal (I). Hal ini menunjukkan terjadinya kerusakan pada diameter vena sentralis akibat radikal CCl_3^* yang dihasilkan oleh CCl_4 . Data pada kelompok perlakuan (III, IV, dan V) menunjukkan bahwa diameter vena sentralis terlihat lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (II). Data tersebut ditunjang dengan analisis statistik yang menunjukkan adanya perbedaan nyata antara kelompok kontrol negatif (II) dengan kelompok perlakuan (III, IV, dan V). Hal ini berarti bahwa ekstrak etanol *T. decurrens* memiliki daya hambat terhadap efek radikal bebas yang dihasilkan oleh CCl_4 sehingga mengurangi kerusakan jaringan dalam organ hati. Sedangkan bila membandingkan antara kelompok kontrol positif (VI) dengan kelompok perlakuan (III, IV, V) terdapat perbedaan nyata. Hal ini menunjukkan bahwa efek hepatoprotektor yang ditimbulkan oleh pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,2 g/200 g BB; 0,4 g/200 g BB; 0,8 g/200 g BB pada kelompok perlakuan (III, IV, V) tidak sebesar efek pemberian vitamin E dosis 5,4 mg/200 g BB pada kontrol positif (VI). Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa potensi antioksidan dan hepatoprotektor dari ekstrak etanol *T. decurrens* terhadap kelompok perlakuan (III, IV, V) lebih rendah dari pada vitamin E yang menjadi kontrol positif (VI), pada masing-masing dosis yang diberikan.

Gambaran histopatologi hati

Hasil pengamatan histopatologi hati dari 6 kelompok perlakuan hewan percobaan disajikan pada Gambar 2 (A, B, C, D, E, F) dengan perbesaran 400X.

Berdasarkan data pada Gambar 2 (A, B, C, D, E, F) tentang gambaran histopatologi hati dari 6 kelompok





Gambar 2. Gambaran histopatologi jaringan hati tikus dari 6 kelompok percobaan: (A) Kontrol normal; (B) Kontrol negatif, diberi air suling dan induksi CCl_4 0,11 g/200 g BB; (C) Perlakuan dosis-1, diberi ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,2 g/200 g BB dan induksi CCl_4 0,11 g/200 g BB; (D) Perlakuan dosis-2, diberi ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,4 g/200 g BB dan induksi CCl_4 0,11 g/200 g BB; (E) Perlakuan dosis-3, diberi ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,8 g/200 g BB dan induksi CCl_4 0,11 g/200 g BB; (F) Kontrol positif, diberi vitamin E 5,4 mg/200 g BB dan induksi CCl_4 0,11 g/200 g BB; Catatan: (a). Diameter vena sentralis; (b). Sel endotel vena sentralis; (c). Hepatosit; (d). Penumpukan sel darah putih; (e). Nekrosis.

Figure 2. Rat liver tissue histopathology representation of 6 treatment groups: (A) Normal control; (B) Negative control, given aquadest and CCl_4 induction with the dose of 0.11 g/200 g BW; (C) Treatment dose-1, given *T. decurrens*'s ethanol extract with the dose of 0.2 g/200 g BW and CCl_4 induction with the dose of 0.11 g/200 g BW; (D) Treatment dose-2, given *T. decurrens*'s ethanol extract with the dose of 0.4 g/200 g BW and CCl_4 induction with the dose of 0.11 g/200 g BW; (E) Treatment dose-3, given *T. decurrens*'s ethanol extract with the dose of 0.8 g/200 g BW and CCl_4 induction with the dose of 0.11 g/200 g BW; (F) Positive control, given vitamin E with the dose of 5.4 mg/200 g BW and CCl_4 induction with the dose of 0.11 g/200 g BW; Note: (a). Central vein diameter; (b). Central vein endothelial cells; (c). Hepatocyte cells; (d). White blood cells accumulation; (e). Necrosis.

hewan percobaan menunjukkan bahwa kontrol negatif kelompok II pada Gambar B mengalami kerusakan yang paling parah, sedangkan pada kelompok perlakuan (III, IV, V pada Gambar C, D, dan E) menunjukkan terjadinya perbaikan yang makin meningkat seiring dengan meningkatnya dosis pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dari 0,2 g/200 g BB; 0,4 g/200 g BB; dan 0,8 g/200 g BB. Kerusakan sel hati makin berkurang seiring dengan meningkatnya dosis pemberian ekstrak etanol *T. decurrens*. Kerusakan terjadi pada hilangnya sel-sel hepatosit, vena sentralis yang mengalami kerusakan dan

penumpukan sel darah putih di sekitar sel endotel. Pada kelompok kontrol positif (VI) pada Gambar F terlihat adanya perbaikan jaringan yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan (III, IV, V) (pada Gambar C, D, dan E). Hal ini berarti bahwa efek hepatoprotektor dari pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dosis 0,2 g/200 g BB; 0,4 g/200 g BB; 0,8 g/200 g BB lebih rendah dibandingkan dengan efek dari pemberian vitamin E dosis 5,4 mg/200 g BB pada kontrol positif. Gambaran histopatologi hati dari 6 kelompok percobaan secara ringkas disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Gambaran histopatologi hati dari 6 kelompok percobaan
 Table 2. Representation of liver histopathology of 6 treatment groups

Kelompok / Group	Diameter Vena Sentralis/ Central Vein Diameter	Hepatosit / Hepatocyt
I Kontrol normal/ Normal control	1 Rata-rata diameter vena sentralis 68,78 mm / Mean of central vein diameter was 68.78 mm 2 Sel-sel endotel vena sentralis normal tidak mengalami kerusakan / Central vein endothelial cells in normal condition, no damage	Tidak terlihat adanya nekrosis pada sel hepatosit dan tersusun teratur seperti pita-pita dan di antaranya terdapat sinus pembuluh darah/no necrotic process was observed Hepatocytes were arranged as bands with blood vessels among them
II Kontrol negatif/ Negative control	1 Rata-rata diameter vena sentralis 97,72 µm / Mean central vein diameter was 97.72 µm 2 Sel endotel vena sentralis mengalami kerusakan / Central vein endothelial cells damaged 3 Di antara sel-sel endotel terjadi penumpukan sel darah putih, menunjukkan adanya kerusakan jaringan / Among endothelial cells there was accumulation of white blood cells, showing a tissue damaged	Sel hepatosit mengalami kerusakan lebih dari 40%, terlihat adanya rongga-rongga pada hepatosit karena terjadinya nekrosis/ Hepatocyt cells damage was over 40%, holes on hepatocytes were observed due to necrotic process
III Perlakuan dosis-1: diberi ekstrak etanol <i>T. decurrens</i> dosis 0,2 g/200 g BB / Treatment dose-1: given <i>T. decurrens</i> ethanol crude extract, dose of 0.2 g/200 g BW	1 Rata-rata diameter vena sentralis 88,16 mm / Mean central vein diameter was 88.16 mm 2 Sel-sel endotel vena sentralis mengalami kerusakan / Central vein endothelial cells damaged 3 Diameter sel-sel endotel terjadi penumpukan sel darah putih, menunjukkan adanya kerusakan jaringan / Among endothelial cells there was an accumulation of white blood cells, showing a tissue damaged	Sel hepatosit mengalami kerusakan lebih dari 40%, terlihat adanya rongga-rongga pada hepatosit karena terjadinya nekrosis/ Hepatocyt cells damage was over 40%, holes on hepatocytes were observed due to necrotic process
IV Perlakuan dosis-2: diberi ekstrak etanol <i>T. decurrens</i> dosis 0,4 g/200 g BB / Treatment dose-2: given <i>T. decurrens</i> ethanol crude extract, dose of 0.4 g/200 g BW	1 Rata-rata diameter vena sentralis 79,06 µm / Mean central vein diameter was 79.06 µm 2 Sel endotel vena sentralis mengalami kerusakan dan penumpukan sel darah putih di sekitarnya / Central vein endothelial cells damaged and there was an accumulation of white blood cells at its surrounding	Sel hepatosit mengalami kerusakan lebih dari 20% dan masih terlihat adanya nekrosis / Hepatocyt cells damage was over 20%, holes on hepatocytes were observed due to necrotic process
V Perlakuan dosis-3 : diberi ekstrak etanol <i>T. decurrens</i> dosis 0,8 g/200 g BB / Treatment dose-3 : given <i>T. decurrens</i> ethanol crude extract, dose of 0.8 g/200 g BW	1 Rata-rata diameter vena sentralis 75,84 µm / Mean central vein diameter was 75.84 µm 2 Pada sel endotel vena sentralis terlihat adanya perbaikan dan masih terlihat penumpukan sel darah putih disekitarnya / There was an initial recovery on the central vein endothelial cells damaged and there was still an accumulation of white blood cells	Kerusakan sel hepatosit yang terjadi kurang lebih 10% / Hepatocyt cells damaged was approximately 10%
VI Kontrol positif : diberi vit. E dosis 5.4 mg/200 g BB / Positive control, given vit. E, dose of 5.4 mg/200 g BW	1 Rata-rata diameter vena sentralis 72,74µm / Mean central vein diameter was 72.74 µm 2 Pada sel endotel vena sentralis menunjukkan adanya perbaikan / There was a recovery on the central vein endothelial cells damaged	Tidak terlihat adanya nekrosis pada sel hepatosit / No necrotic on hepatocytes was observed

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol *T. decurrens* menunjukkan nilai LD₅₀ sebesar 28,28 mg/20 g BB untuk ip mencit dan hasil ekstrapolasi untuk tikus secara oral menjadi 9,89 g/kg BB, sehingga ekstrak etanol *T. decurrens* termasuk dalam kategori toksisitas rendah.
2. Pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dengan dosis 0,2 g/200 g BB; 0,4 g/200 g BB; 0,8 g/200 g BB memberikan efek antioksidan dan hepatoprotektor dengan adanya penurunan kadar MDA, aktivitas GPT dan rasio bobot hati/bobot badan pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pemberian ekstrak etanol *T. decurrens* dengan dosis tersebut dapat mencegah kerusakan hati yang lebih parah akibat induksi CCl₄ yang ditandai dengan adanya perbaikan pada gambaran histopatologi hati.
3. Berdasarkan hasil pengukuran kadar MDA, aktivitas GPT, rasio bobot hati/bobot badan dan diameter vena sentralis serta memperhatikan gambaran histopatologi hati pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif menunjukkan bahwa potensi antioksidan dan hepatoprotektor dari ekstrak etanol *T. decurrens* pada dosis yang diberikan terhadap kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang lebih rendah dari vitamin E dosis 5,4 mg/200 g BB pada kontrol positif.

SARAN

- Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektor dari ekstrak etanol *Turbinaria decurrens* dengan menggunakan parameter lain, selain MDA dan GPT.
- Perlu dilakukan uji toksisitas kronik dan subkronik dari ekstrak etanol *Turbinaria decurrens* untuk melengkapi data agar manfaat dan efek toksiknya dapat diketahui lebih rinci.

DAFTAR PUSTAKA

Atmaja, W.S., Kadi, A., Satari, R., dan Sulistijo. 1996a. *Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi LIPI, Jakarta. p. 6–77.

- Atmaja, W.S., Soegiarto, A., Sulistijo, dan Mubarak, H. 1996b. *Rumput Laut (Algae): Manfaat, Potensi, dan Usaha Budidayanya*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi LIPI, Jakarta. p. 7–23.
- Bauer, J.D. 1982. *Clinical Laboratory Methods*. 9th edition. The CV Mosby Company, London. p. 578–579.
- Gleason, M.N. 1969. *Clinical Toxicology of Commercial Product*. William and Wilkins, Baltimore. p. 3–4.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1991. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2th -edition. Oxford University Press, New York. 542 pp.
- Harahap, I.P., Sadikin, M., Susanti, E., dan Azizahwati. 1999. Perubahan kadar peroksida lipid plasma tikus keracunan CCl₄ pada pemberian sari air bawang merah (*Allium ascalonicum* l.). *Majalah Kedokteran Indonesia*. 49(5): 150–153.
- Harun, N. dan Syahri, W. 2002. Aktivitas antioksidan ekstrak daun dewa (*Gynura procumbens* (lour) merr.) dalam menghambat sifat hepatotoksik halotan dengan dosis subanestesi pada mencit. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 7 (2): 63–70.
- Indriani, H. dan Suminarsih, E. 1999. *Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Rumput Laut*. Penebar Swadaya, Jakarta. 5 pp.
- Junquiera, L.C., Carneiro, J., and Kelley, R.O. 1989. *Basic Histology*. 6th edition. Prentice-Hal, New Jersey. p. 313–328.
- Kaye, S. 1961. *Handbook of emergency toxicology*. 2nd edition. Charles C Thomas Publisher, Springfield. p. 132–134.
- Laurence and Bacharach. 1969. *Evaluation of drug activities pharmacometrics*. Academic Press, London. 161 pp.
- Leeson, C.R., Leeson, T.S., and Paparo, A. A. 1991. *Buku Ajar Histologi*. Diterjemahkan oleh: Staf Ahli Histologi FKUI. EGC, Jakarta. p. 383–385.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi 3. Diterjemahkan oleh: Nugroho, E. UI Press, Jakarta. p. 85–215.
- Martindale. 2002. *The Extra Pharmacopeia*. 33th edition. The Pharmaceutical Press, London. 1401 pp.
- Ressang, A.A. 1963. *Patologi Chusus Veternier*. Departemen Urusan Research Nasional Republik Indonesia, Bogor. p. 59–64.
- Richard, J.H., Ronald, C.C., and James, W.W. 1974. *Clinical Chemistry Principles Technis*. 2nd edition. Harper and Row, New York. 885 pp.
- Sujono, H. 1997. *Gastroenterologi*. Penerbit Alumni, Bandung. p. 251–261.
- Suntoro, S.H. 1983. *Metode Pewarnaan Histopatologi dan Histokimia*. Bhratara Karya Aksara, Jakarta. p. 72–79.
- Weil, C.S. 1952. Tables for convenient calculation of median effective dose (LD₅₀ or ED₅₀) and instruction in their use. *Biometrics*. (8): 247–253.