

**PENGARUH EKSTRAK AKAR PURWOCENG
(*Pimpinella alpina* Molck) TERHADAP KADAR TNF – α
dan C- REAKTIF PROTEIN (CRP)**

**Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus
novergicus*) yang Diinduksi dengan Carbon Tetraklorida (CCL4)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Viki Dwi Randa

MBK.21.17.01.0244

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2024**

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK AKAR PURWOCENG (*Pimpinella alpina* Molck)
TERHADAP KADAR TNF – α dan C- REAKTIF PROTEIN (CRP)
Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*)
yang Diinduksi dengan Carbon Tetraklorida (CCL4)**

Disusun oleh
Viki Dwi Randa
MBK.21.17.01.0244

Akan dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal Desember 2024
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF.,SH.
NIK. 210199049

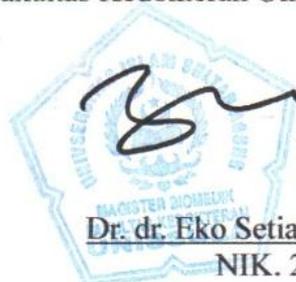
Pembimbing II



Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M. Kes.
NIK. 220198045

Mengetahui ,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS
NIK. 210113160

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 27 Desember 2024



(Viki Dwi Randa)

KATA PENGANTAR

Assalammua'laikum warohmatullahi wabarakatuh

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala Karunia dan Ridho-NYA, sehingga proposal tesis dengan judul “**PENGARUH EKSTRAK AKAR PURWOCENG (*Pimpinella alpina* Molk) TERHADAP KADAR TNF – α dan C- REAKTIF PROTEIN (CRP) Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi dengan Carbon Tetraklorida (CCL4)**” ini dapat penulis selesaikan.

Proposal Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terimakasih yang sebesar- besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. Gunarto SH., M.Hum.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF.,SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Dr. dr. Eko Setiawan,Sp.B, FINACS.
4. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF.,SH. sebagai pembimbing pertama atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.

5. Ibu Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M. Kes. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan proposal.
6. Ibu Dr.dr.Chodidjah.M.Kes selaku dosen penguji pertama yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan proposal.
7. Bapak Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M. Kes. selaku dosen penguji kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan proposal.
8. Bapak Dr.Drs. Israhnanto Isradji,M.Si. selaku dosen penguji ketiga yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan proposal.
9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
10. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
11. Istri saya Husna Hapsari Putri, Kedua orang tua dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
12. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar proposal tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Wassalammua 'laikum warohmatullahi wabarakatuh



Semarang, 27 Desember 2024

Viki Dwi Randa

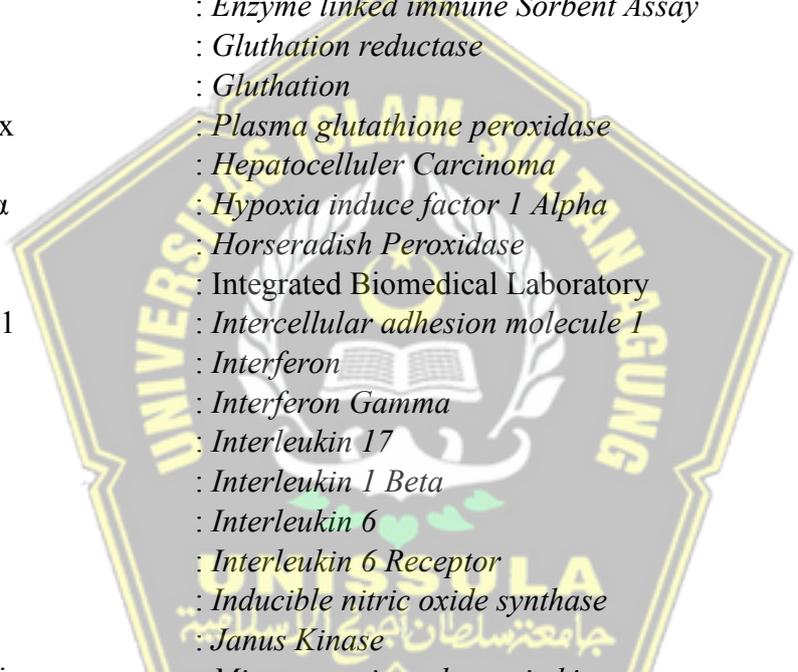
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Penelitian	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Umum.....	4
1.3.2. Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.4.1. Teoritis.....	5
1.4.2. Praktis.....	5
1.5. Originilitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. TNF- α	8
2.2. CRP	9
2.3. Tanaman Purwoceng.....	10
2.3.1 Taksonomi dan Morfologi Purwoceng.....	10
2.3.2 Kandungan dan Manfaat Akar Purwoceng	12
2.4. Inflamasi	14
2.4.1 Mekanisme Respon Inflamasi	15

2.4.2	Mekanisme Respon Inflamasi Pada Hati	17
2.5	Mekanisme Akar Purwoceng Sebagai Antiinflamasi.....	18
2.6	Induksi CCL4.....	19
2.7	Curcumin.....	21
2.8	SGOT	22
2.9	SGPT.....	23
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HOPOTESIS.....		24
3.1.	Kerangka Teori.....	24
3.2.	Kerangka Konsep.....	25
3.3.	Hipotesis	25
BAB IV METODE PENELITIAN		26
4.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	26
4.2.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	27
4.2.1.	Variabel Penelitian	27
4.2.2.	Definisi Operasional.....	27
4.3.	Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian.....	29
4.3.1.	Subyek Penelitian.....	29
4.3.2.	Sampel Penelitian.....	29
4.4.	Teknik Pengambilan Sampel Penelitian.....	30
4.5.	Besar Sampel	30
4.6.	Alat dan Bahan Penelitian.....	31
4.6.1.	Alat Penelitian.....	31
4.6.2.	Bahan Penelitian.....	32
4.6.3.	Dosis Ekstrak Akar Purwoceng.....	33
4.6.4.	Dosis Induksi CCL4	33
4.6.5.	Dosis Curcumin.....	33
4.7.	Cara Penelitian	34
4.7.1.	Prosedur Hewan Coba.....	34
4.7.2.	Cara Pengambilan Sampel Hewan Coba.....	35
4.7.3.	Pemeriksaan Kadar TNF - α	35
4.7.4.	Pemeriksaan Kadar C-Reaktif Protein (CRP).....	37

4.8. Tempat dan Waktu Penelitian.....	38
4.8.1. Tempat Penelitian.....	38
4.8.2. Waktu Penelitian	38
4.9. Analisa Data.....	39
4.10. Alur Penelitian	40
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
5.1. Hasil Penelitian	41
5.1.1. Kadar TNF- α	41
5.1.2. Kadar CRP	43
5.2. Pembahasan.....	46
5.2.1. Hubungan Induksi CCL4 Dengan Kadar TNF- α dan Kadar CRP	46
5.2.2. Pengaruh Ekstrak Akar Purwoceng Terhadap Kadar TNF- α dan Kadar CRP.....	47
5.3. Keterbetasan Penelitian.....	54
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	55
6.1. Kesimpulan	55
6.2. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR SINGKATAN



ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
ALT	: <i>Alanine Transaminase</i>
CAT	: <i>Katalase</i>
CCL4	: <i>Karbon tetraklorida</i>
CLRs	: <i>C-type Lectin receptors</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase 2</i>
CRP	: <i>C-Reaktif Protein</i>
DAMPs	: <i>Damage Associated Molecular Patterns</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
ELISA	: <i>Enzyme linked immune Sorbent Assay</i>
GR	: <i>Gluthation reductase</i>
GSH	: <i>Gluthation</i>
GSH-Px	: <i>Plasma glutathione peroxidase</i>
HCC	: <i>Hepatocellular Carcinoma</i>
HIF-1 α	: <i>Hypoxia induce factor 1 Alpha</i>
HRP	: <i>Horseradish Peroxidase</i>
IBL	: <i>Integrated Biomedical Laboratory</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular adhesion molecule 1</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IFN- γ	: <i>Interferon Gamma</i>
IL-17	: <i>Interleukin 17</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin 1 Beta</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-6R	: <i>Interleukin 6 Receptor</i>
iNOS	: <i>Inducible nitric oxide synthase</i>
JAK	: <i>Janus Kinase</i>
MAP kinase	: <i>Mitogen-activated protein kinase</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MIP-1 α	: <i>Macrophage inflammatory protein-1 alpha</i>
NF- κ B.	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NLRP	: <i>Nod-like receptor protein</i>
NLRs	: <i>NOD- like receptors</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
Nrf2	: <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>
OOCCL3	: <i>Peroxy trichloromethyl</i>
PAMPs	: <i>Pathogen-associated molecular pattern molecules</i>
PRRs	: <i>Pattern Recognition Receptor</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>

SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i>
SOD	: <i>Superoksida dismutase</i>
STAT3	: <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>
TACE	: <i>Tumor necrosis factor-alpha converting enzyme</i>
TLRs	: <i>Toll-Like receptors</i>
TNFR 2	: <i>Tumor necrosis factor receptor 2</i>
TNFR1	: <i>Tumor necrosis factor receptor 1</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



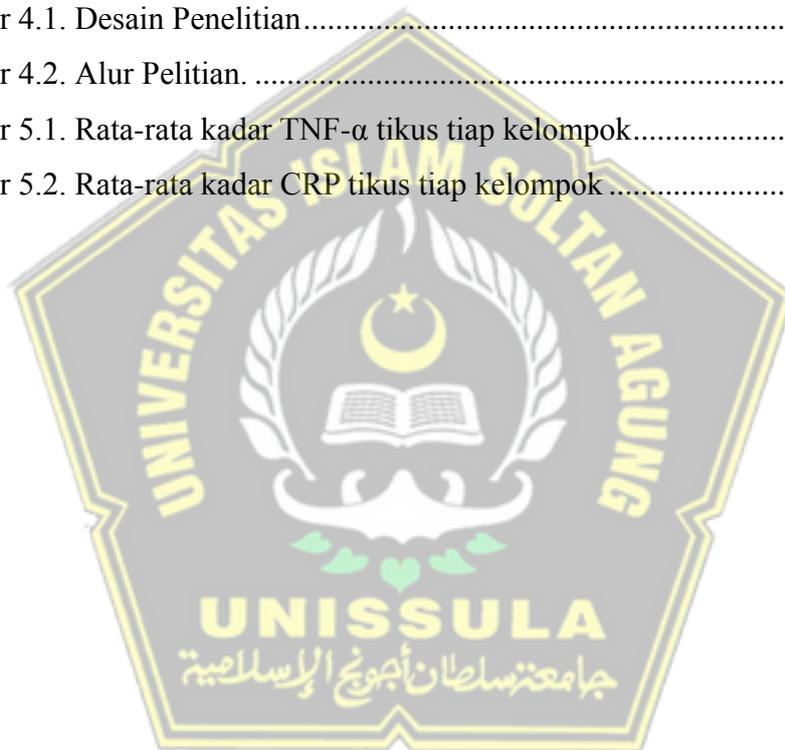
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originilitas Penelitian.....	6
Tabel 5.1. Hasil analisis kadar TNF- α	42
Tabel 5.2. Hasil analisis kadar CRP	45



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Jalur Fungsional CRP	17
Gambar 2.2. Tanaman Purwoceng	11
Gambar 2.3. Mekanisme respon inflamasi	17
Gambar 2.4. Inflamasi pada hati	18
Gambar 3.1. Kerangka Teori	24
Gambar 3.2. Kerangka Konsep	25
Gambar 4.1. Desain Penelitian	26
Gambar 4.2. Alur Penelitian.	40
Gambar 5.1. Rata-rata kadar TNF- α tikus tiap kelompok.....	42
Gambar 5.2. Rata-rata kadar CRP tikus tiap kelompok	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	61
Lampiran 2. Hasil Analisis Statistika	62
Lampiran 3. Dokumentasi Hasil Validasi SGOT dan SGPT	66
Lampiran 4. Dokumentasi Hasil Pemeriksaan Kadar TNF- α dan CRP.	69
Lampiran 5. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian	74



ABSTRAK

Latar Belakang : Akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk) mengandung flavonoid, saponin, dan tanin dapat berefek sebagai antiinflamasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk), terhadap kadar TNF- α dan CRP pada tikus yang diinduksi oleh CCL4.

Metode : Penelitian ini merupakan *post test control group design*, menggunakan 25 ekor tikus. Subjek penelitian kemudian dibagi menjadi kelompok kontrol negatif diberikan 1 ml aquades, kelompok kontrol positif diberikan curcumin 200 mg/kgBB, kelompok perlakuan diberikan ekstrak akar purwoceng dengan dosis (50 mg, 100 mg, dan 150 mg)/200 gBB tikus. Induksi CCL4 diberikan secara intraperitoneal pada tikus. Setelah 7 hari kemudian diukur kadar TNF- α dan CRP menggunakan metode ELISA.

Hasil : Pada dosis tertinggi 150 mg menghasilkan kadar TNF- α paling rendah (141,89 \pm 37,23 pg/ml). Hasil uji kruskal wallis didapatkan nilai p sebesar 0,233 ($p > 0,05$) sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna kadar TNF- α diantara lima kelompok. kadar CRP paling tinggi pada dosis 150 mg (2,78 \pm 0,27 mg/L) sedangkan pada dosis 50 mg adalah yang paling rendah (2,16 \pm 0,31 mg/L). Hasil uji shapiro wilk kelima kelompok memiliki sebaran data yang normal ($p > 0,05$), varian data kadar CRP homogen dengan uji Levene didapatkan nilai $p = 0,058$ ($p > 0,05$). Kemudian dilakukan uji one way anova dan didapatkan nilai p sebesar 0,008 ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan kadar CRP yang bermakna diantara kelima kelompok. Dilakukan uji post hoc LSD dengan perbandingan kadar CRP yang bermakna ($p < 0,05$).

Kesimpulan : Ekstrak akar purwoceng tidak berpengaruh menurunkan kadar TNF- α dan CRP tikus yang diinduksi CCL4

Kata Kunci : Akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk), TNF- α , CRP, CCL4.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hati merupakan organ tubuh manusia yang berfungsi sebagai metabolisme dan detoksifikasi. Paparan zat toksik dan pembentukan radikal bebas yang berlebihan pada sel hati akan mengakibatkan pembentukan zat stress oksidatif sehingga mengakibatkan reaksi inflamasi pada sel hati. CCL4 (*karbon tetraklorida*) merupakan salah satu zat toksik yang dapat menyebabkan inflamasi pada sel hati. Proses inflamasi mengakibatkan sel hepatosit melepaskan sitokin seperti TNF- α (*Tumor necrosis factor alpha*) dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Inflamasi pada sel hati juga menyebabkan peningkatan kadar *C-Reaktif Protein* (CRP) didalam darah. Proses inflamasi ini dapat memicu fibrosis hati yang berat hingga menyebabkan sirosis hati dan *Hepatocellular Carcinoma* (HCC).^{1,2} Beberapa terapi obat yang digunakan seperti celecoxib, dan aspirin memiliki efek sebagai antiinflamasi, curcumin memiliki efek sebagai antioksidan yang dapat menghambat sirosis hati.³ Namun pengobatan celecoxib dan aspirin memiliki efek samping seperti perdarahan pada saluran cerna, ulserasi, perforasi lambung sehingga akan berdampak buruk bagi kesehatan.⁴ Penggunaan obat herbal sebagai antiinflamasi pada sel-sel hati dinilai cukup aman dan juga dapat memberikan alternatif terapi lain. Meskipun penduduk Indonesia banyak menyukai penggunaan obat herbal sebagai obat, namun penelitian pada tanaman herbal purwoceng saat ini

masih belum banyak dilakukan. Pada penelitian sebelumnya akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk) memiliki kandungan flavonoid yang dapat menghambat enzim *fospolipase* juga *cyclooxygenase*, dan saponin yang dapat menghambat TNF- α sehingga dapat digunakan sebagai terapi antiinflamasi dan anti nyeri.⁵

Penyakit akibat inflamasi menjadi penyebab kematian yang paling besar di dunia. World Health Organization (WHO) menempatkan penyakit akibat inflamasi menjadi ancaman terbesar bagi kesehatan manusia. Prevalensi terkait inflamasi diperkirakan akan terus meningkat selama 30 tahun kedepan di Amerika Serikat. Pada Tahun 2014 di Amerika Serikat hampir 60 % orang memiliki masalah setidaknya 1 masalah penyakit inflamasi kronis, 42 % orang memiliki lebih dari 1 masalah penyakit inflamasi kronis, 12 % orang memiliki lebih dari 5 masalah penyakit inflamasi kronis, diseluruh dunia 3 dari 5 orang meninggal karena masalah penyakit inflamasi kronis.⁶ Inflamasi pada penyakit hati kronis yang menyebabkan sirosis hati merupakan penyebab kematian dengan urutan ke 12 terbesar di Amerika Serikat. Terdapat kurang lebih 32.000 kematian yang terjadi di Amerika Serikat dan lebih dari 1 juta kematian setiap tahunnya diseluruh dunia.⁷ Di Indonesia sirosis hepatis masuk kedalam 5 besar kasus penyakit yang menyebabkan kematian . Pada tahun 2016 diperkirakan 3,5 % dari seluruh pasien di bagian ilmu penyakit dalam mengidap sirosis hepatis dengan jenis kelamin terbanyak adalah laki-laki.^{1,8}

CCL4 dapat menyebabkan inflamasi pada sel-sel hati dengan cara mengaktifkan NF- κ B (*Nuclear factor kappa B*). Aktivasi NF- κ B akan menginduksi mediator- mediator inflamasi seperti IL-1 β (*Interleukin 1 Beta*), IL-6 (*Interleukin 6*), TNF- α , MIP-1 α (*Macrophage inflammatory protein-1 alpha*), dan MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) sehingga menyebabkan fibrosis pada hati.⁹ Proses inflamasi juga dapat menyebabkan peningkatan kadar CRP (*C-Reaktif Protein*), serum CRP yang diproduksi oleh sel- sel hepatosit dan dipengaruhi oleh IL-6.² Inflamasi dan kerusakan sel-sel hati yang radang mengakibatkan sel hepatosit melepaskan sitokin seperti TNF- α dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Mediator ini dapat menyebabkan preoksidasi plasma dan membrane mitokondria sehingga menyebabkan kematian sel atau apoptosis. Sinyal peradangan pada hati diatur oleh sitokin yang mampu mengaktifkan sel imun. Sel Kupffer adalah sel pertama yang mendeteksi kehadiran PAMPs dan DAMPs melalui TLRs, mengaktifkan pelepasan sitokin seperti TNF- α , IL-1, dan IL-6, serta kemokin - kemokin (C-X-C) ligan 13 (CXCL13), kemokin (C-X-C) ligan 8 CXCL-8, dan Chemokine (C-C) ligan 24 (CCL24), yang memulai respon inflamasi fase akut.¹

Akar purwoceng memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, kumarin, alkaloid, sterol, glikosida, dan tannin.⁵ Flavonoid memblokir sintesis mediator inflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , NO, dan COX-2, menekan ekspresi VEGF dan ICAM-1, menekan aktivasi jalur STAT3, NF κ B, NLRP3 inflammasome, dan jalur MAP kinase.¹⁰ Flavonoid juga dapat menghambat

pembentukan CRP dengan memblokir aktivasi NFkB.¹¹ Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk), terhadap penurunan kadar TNF- α dan *C- Reaktif Protein* (CRP) pada kerusakan hati akibat inflamasi yang diinduksi oleh *karbon tetraklorida* (CCL4).

1.2. Rumusan Penelitian

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah adakah pengaruh pemberian ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk), terhadap kadar TNF- α dan *C- Reaktif Protein* (CRP) pada tikus jantan wistar yang di induksi oleh *karbon tetraklorida* (CCL4) ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Umum

Tujuan umum penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk), terhadap kadar TNF- α dan *C-Reaktif Protein* (CRP) pada tikus jantan wistar yang diinduksi oleh *karbon tetraklorida* (CCL4).

1.3.2. Khusus

1.3.2.1. Untuk mengetahui pengaruh kadar TNF- α pada tikus jantan wistar yang diinduksi oleh *karbon tetraklorida* (CCL4) dengan mendapat ekstrak akar purwoceng

(*Pimpinella alpina* Molk) dengan dosis (50 mg , 100 mg, dan 150 mg)/200 gBB .

1.3.2.2. Untuk mengetahui pengaruh kadar *C-Reaktif Protein* (CRP) pada tikus jantan wistar yang diinduksi oleh *karbon tetraklorida* (CCL4) dengan mendapat ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk) dengan dosis (50 mg , 100 mg dan 150 mg)/200 gBB.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai penelitian selanjutnya mengenai pengaruh pemberian ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk), terhadap kadar TNF- α dan *C-Reaktif Protein* (CRP).

1.4.2. Praktis

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai pengembangan terapi obat adjuvant yang berasal dari tanaman akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk).

1.5. Originilitas Penelitian

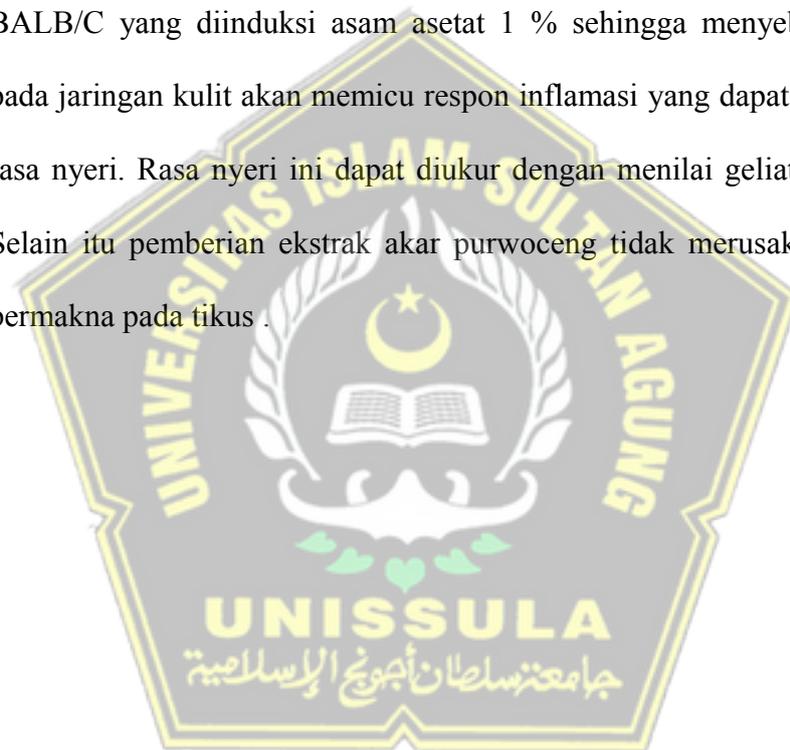
Sepengetahuan penulis, penelitian mengetahui pengaruh pemberian ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk), terhadap kadar TNF- α dan *C-Reaktif Protein* (CRP) pada tikus jantan wistar yang diinduksi oleh *karbon tetraklorida* (CCL4) belum pernah dilakukan. Penelitian ini

merupakan penelitian eksperimen, adapun penelitian yang terkait dengan penelitian ini adalah :

Tabel 1.1. Originilitas Penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil
Randa . 2018	Pengaruh ekstrak akar purwoceng (<i>Pimpinella alpine</i>) terhadap respon nyeri mencit BALB/C yang diinduksi asam asetat 1 %.	<i>post test only control group design.</i>	Berdasraakan hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya pengaruh ekstrak akar purwoceng (<i>Pimpinella alpine</i>) dalam respon nyeri. H Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak akar purwoceng (<i>Pimpinella alpine</i>) memiliki efek anti nyeri pada mencit.
Arjadi et al. 2017	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Akar Purwoceng (<i>Pimpinella pruatjan</i> Molk) Secara akut Terhadap Fungsi Hepar Tikus Putih (<i>Rattus Norvegicus</i>) Jantan.	<i>post test only control group design.</i>	Pemberian ekstrak etanol akar Purwoceng secara akut berbagai dosis tidak merusak secara bermakna terhadap gambaran histologi hepar, tidak berpengaruh bermakna terhadap kadar SGOT akan tetapi berpengaruh secara bermakna terhadap kadar SGPT dengan nilai $p < 0,05$.
Fahrudin et.al 2020	Efektivitas Dosis Karbon Tetraklorida (CCL_4) Terhadap Tikus (<i>Rattus norvegicus L.</i>) Sebagai Model Fibrosis Hati.	<i>Rancangan Acak Lengkap</i>	Pemberian CCL_4 pada dosis 10% sebanyak 1ml/kgBB 2 kali seminggu selama 6 minggu mampu menciptakan kondisi hewan model fibrosis hati yang optimal dengan Tingkat

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah bahwa pada penelitian ini menggunakan tikus jantan wistar yang diinduksi oleh karbon tetraklorida (CCL₄) yang menyebabkan inflamasi pada sel-sel hati dengan melihat kadar TNF- α dan *C-Reaktif Protein* (CRP) sebagai respon inflamasi. Sedangkan pada penelitian sebelumnya menggunakan mencit BALB/C yang diinduksi asam asetat 1 % sehingga menyebabkan korosi pada jaringan kulit akan memicu respon inflamasi yang dapat menimbulkan rasa nyeri. Rasa nyeri ini dapat diukur dengan menilai geliat pada mencit. Selain itu pemberian ekstrak akar purwoceng tidak merusak hepar secara bermakna pada tikus .



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. TNF- α

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) adalah sitokin inflamasi yang terlibat dalam peradangan sel-sel hati yang dapat menyebabkan fibrosis hati . TNF- α adalah sitokin inflamasi yang diproduksi oleh berbagai sel imun termasuk makrofag/monosit. TNF- α dapat memicu berbagai jalur persinyalan yang terlibat dalam proses peradangan, proliferasi dan apoptosis. TNF- α disintesis sebagai bentuk perkursor yang terikat pada membrane 26 kDa yang dipecah menjadi bentuk 17 Kda oleh TNF- α *Converting enzyme* (TACE). TNF- α yang larut dapat mengaktifkan reseptor TNFR1 dan TNFR 2.¹⁴ TNF- α dikenal sebagai hormon peptida makrofag memiliki efek leukositosis, anemia dan kaheksia. TNF- α dapat meningkatkan aktivitas koagulan endotel kapiler yang mempromosikan trombosis mikrovaskuler, kerusakan sel-sel endotel dan nekrosis jaringan.

Tumor Necrosis Factor (TNF- α) memiliki efek secara lokal oleh sel imun. TNF- α yang disekresikan didalam sirkulasi akan menyebabkan penyakit termasuk kanker. TNF- α dikenal sebagai mediator inflamasi, di mana setelah terpapar stimulus patogen maka TNF- α dapat menginduksi mediator inflamasi yang lain. TNF- α juga diproduksi oleh sel tumor dan dapat bertindak sebagai tumor promoter endogen.³⁸

Pengukuran dengan metode ELISA (*Enzyme linked immune Sorbent Assay*) telah lama digunakan sebagai pengukuran sitokin- sitokin seperti

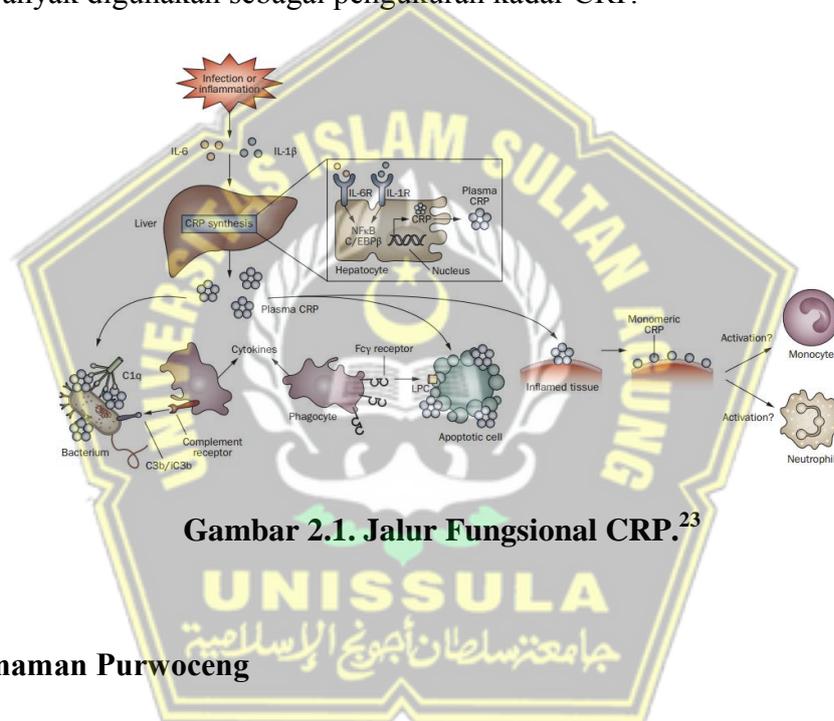
TNF- α , IL-1 β , dan IL-6.¹⁵ Akurasi dan presisi pada pengukuran kadar TNF- α antar uji dapat berbeda-beda, variabilitas antara laboratorium tetap tinggi karena perbedaan antibody, reagen deteksi, standar kalibrasi, metode deteksi, dan metode analisis data yang digunakan.³⁸

2.2. CRP

C-Reaktif Protein (CRP) adalah protein inflamasi yang sangat terkonsentrasi pada protein plasma. Induksi transkripsi gen CRP berada pada sel hepatosit di hati. CRP disintesis terutama di sel hepatosit hati, tetapi juga ada di sel tipe lain seperti sel otot polos, makrofag, sel endotel, limfosit, dan adiposit. sebagai respon terhadap peningkatan kadar sitokin inflamasi, terutama interleukin-6 (IL-6), Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kadar CRP seperti usia, jenis kelamin, merokok, berat badan, kadar lipid dan tekanan darah. Rata-rata kadar CRP pada orang sehat sekitar 0,8 mg/L tetapi angka ini bisa bervariasi pada individu lain. Korelasi antara produksi TNF- α dan konsentrasi CRP, TNF- α menginduksi CRP di sel hepatosit yang berhubungan dengan peningkatan didalam CRP mRNA. Sebaliknya peningkatan kadar CRP pada atheroma mengarah pada induksi produksi IL-1 β , IL-6, dan TNF- α oleh makrofag.¹⁶ Kadar CRP merupakan penanda adanya inflamasi yang sensitif yang penting untuk mendeteksi dan memantau suatu penyakit inflamasi. CRP terutama diinduksi oleh sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan TNF- α melalui faktor transkripsi oleh NF- κ B di sel hepatosit CRP yang bersirkulasi akan mengopsonisasi bakteri

dan sel apoptosis, melakukan pembersihannya melalui system komplemen dan fagositosis yang dimediasi oleh reseptor Fcy seperti pada gambar 2.3.²³

CRP adalah biomarker inflamasi sistemik fase akut terutama pada inflamasi sel hati. Saat ini metode immunoassay turbidimetric adalah metode yang paling baik dan umum digunakan dalam menguji kuantitatif kadar CRP. Metode ELISA (*Enzyme linked immune Sorbent Assay*) telah banyak digunakan sebagai pengukuran kadar CRP.²⁴



2.3 Tanaman Purwoceng

2.3.1 Taksonomi dan Morfologi Purwoceng

Taksonomi purwoceng

- Divisi : *Spermatophyta*
- Subdivisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Dicotyledone*
- Famili : *Apiaceae/ Umbelliflorae*
- Suku : *Umbelliferae*
- Genus : *Pimpinella*
- Jenis : *Pimpinella alpina* Molck



Gambar 2.2. Tanaman Purwoceng.⁵

a: tanaman, b: bunga kuncup, c: bunga mekar, d: buah dan e: akar tumbuhan berumur 6 bulan.

Tanaman Purwoceng adalah tanaman herbal berasal dari dataran tinggi Dieng di Provinsi Jawa Tengah , Gunung Pangrango, dan beberapa area pegunungan di Jawa Timur. Tanaman ini tergolong tanaman semak dengan tinggi tanaman sekitar 25 cm . Batang berbentuk bulat semu, lunak dan berwarna hijau pucat. Daun menyirip dan merupakan daun majemuk, tangkai daunnya dengan panjang sekitar 5 cm dengan berwarna coklat kehijauan. Bunga majemuk seperti payung dengan tangkai pada bunga seperti bentuk silindris dengan Panjang sekitar 2 cm. kelopak bunga berwarna hijau dan seperti bentuk tabung. Benangsari berwarna putih dan putik berwarna hijau. Untuk buahnya berbentuk lonjong berwarna hijau

sedangkan bijinya berwarna coklat. Akar tanaman ini adalah akar tunggang berwarna putih.⁵

2.3.2 Kandungan dan Manfaat Akar Purwoceng

Tanaman Purwoceng dikenal memiliki manfaat sebagai tanaman herbal yang mampu meningkatkan stamina tubuh dan memperlancar peredaran darah. Akar purwoceng memiliki kandungan senyawa flavonoid yang dapat menghambat proses inflamasi melalui penghambatan jalur COX, memiliki kandungan saponin sebagai anti inflamasi, anti alergi dan anti nyeri dengan menghambat aktivasi sinyal NF- κ B sehingga menghambat TNF- α dan menghambat pembentukan *nitrat oksidase (NO)* ,selain itu tanaman purwoceng juga mengandung senyawa kumarin, alkaloid, sterol, glikosida dan tanin. Tanaman purwoceng juga mengandung senyawa antibakteri karena memiliki kandungan Polyacetylene seperti falcarinol.⁵

2.3.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa alami polifenol dengan jumlah lebih dari 4000 jenis varietas yang sudah teridentifikasi. Berdasarkan struktur molekulnya , flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa kelas seperti Flavanol, Flavone, Flavonolol , Flavanone, Isoflavone, Anthocyanidin, Flavanonol. Flavonoid memiliki berbagai

macam manfaat seperti sebagai antioksidan, antiinflamasi, antivirus antimutagenic dan antialergi. Beberapa mediator inflamasi banyak dihambat oleh flavonoid seperti TNF- α , IL-1, IL-6, IL-17, dan IFN- γ yang diekspresikan melalui berbagai jalur persinyalan terutama jalur NF- κ B.¹⁷ Flavonoid juga memblokir sintesis mediator inflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , NO, dan COX-2, menekan ekspresi VEGF dan ICAM-1, menekan aktivasi jalur STAT3, NF κ B, NLRP3 inflammasome, dan jalur MAP kinase.^{10,18} Flavonoid juga dapat menghambat pembentukan CRP dengan memblokir aktivasi NF- κ B.¹¹

2.3.2.2 Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa alami yang sering dijumpai pada tumbuh-tumbuhan hijau. Saponin memiliki efek antiinflamasi, antialergi, antifungi, antioksidan dan beberapa aktivitas lainnya. Sebagai antiinflamasi saponin menghambat jalur persinyalan NF- κ B sehingga menghambat TNF- α dan menghambat *nitrat oksidase* (NO).⁵ Saponin juga memiliki efek sebagai anti inflamasi disebabkan oleh penghambatan prositokin inflamasi seperti interleukin IL-1 β , IL- 6, TNF - α , dan menginduksi *nitric oxide synthase* (iNOS).¹⁸

2.3.2.3 Tanin

Tanin, merupakan sekelompok senyawa polifenol alami yang terdapat secara luas di berbagai jenis pohon dan tumbuhan hijau . Tanin tersusun dari molekul glukosa yang dihubungkan ke 10 galloil oleh ikatan ester alifatik. Tanin memiliki efek sebagai antioksidan, antitumor, antimikroba, dan anti inflamasi. Sebagai anti inflamasi tanin bekerja dengan cara menghambat aktivasi protein reseptor mirip NOD 3 (NLRP3) inflamasi pada makrofag dengan menghalangi pembelahan *caspase-1* dan Sekresi IL-1 β dan menekan jalur pensinyalan NF-kB. Penelitian yang lainya menyebutkan bahwa tanin memiliki efek sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antiapoptosis dengan meningkatkan kadar *superoksida dismutase hati* (SOD), *katalase* (CAT), dan *glutathione peroksidase* (GSH-Px), dan menurunkan faktor inflamasi termasuk IL-1 β , IL-6, TNF- α , c-fos, c-jun, dan caspase 3 melalui jalur persinyalan NF-kB.¹⁹

2.4 Inflamasi

Inflamasi adalah suatu respon yang terjadi pada jaringan lokal sebagai akibat adanya cedera atau infeksi yang melibatkan mediator- mediator inflamasi. Inflamasi merupakan suatu kondisi fisiologis terhadap beberapa tipe rangsangan sebagai contoh infeksi atau cedera pada jaringan. Inflamasi

dapat berlangsung secara lokal, kronis, dan sistemik akut. Respon pada inflamasi lokal dapat ditandai dengan adanya tumor, rubor, calor, dolor, dan gangguan fungsi. Inflamasi adalah suatu kondisi fisiologis yang berfungsi untuk melindungi dan meningkatkan proses penyembuhan pada jaringan tubuh yang terluka. Respon inflamasi sangat penting terhadap inflamogen yang merusak. Respon yang sangat kompleks ini melibatkan sel-sel leukosit seperti makrofag, limfosit, dan neutrophil yang dikenal sebagai sel inflamasi. Sel-sel ini dapat melepaskan peptide dan amina vasoaktif, eicosanoid, sitokin proinflamasi dan protein fase akut, yang dapat memediasi inflamasi lebih lanjut dan mencegah kerusakan jaringan yang lebih parah, sehingga menghasilkan penyembuhan dan pemulihan fungsi jaringan.^{11,12}

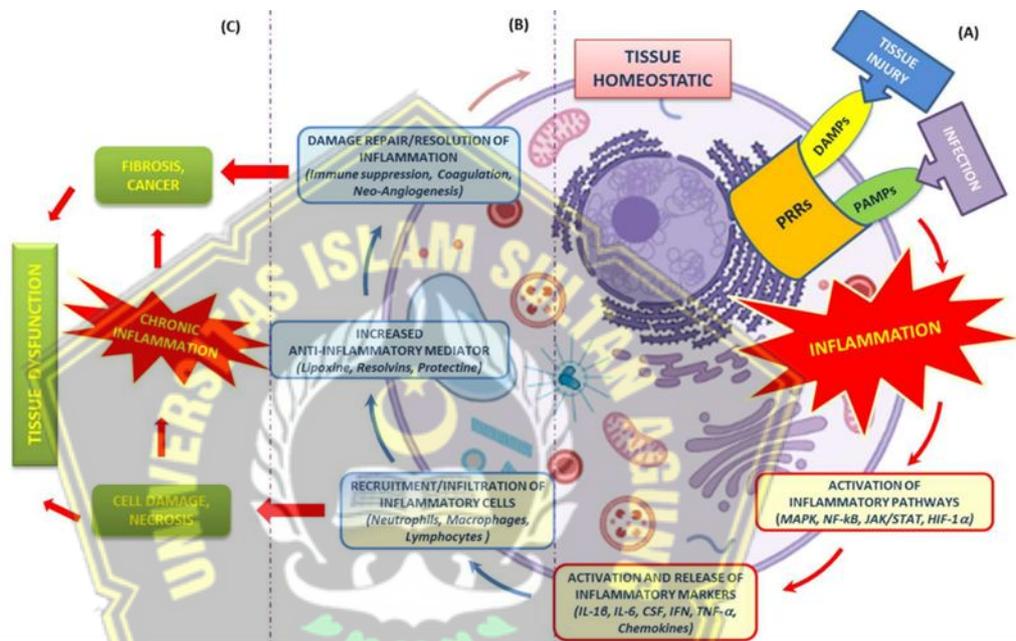
2.4.1 Mekanisme Respon Inflamasi

Mekanisme respon inflamasi dapat dilihat pada gambar 2.1 dimulai ketika terjadi gangguan homeostasis yang diakibatkan oleh adanya cedera atau infeksi pada jaringan tersebut, hal ini akan mengaktifkan innate immune system yaitu (PRRs). PRRs (*pattern Recognition Receptor*) adalah suatu protein reseptor yang terdapat pada membrane plasma dan sitoplasma pada makrofag, eosinofil, neutrofil, sel mast, sel *Natural Killer* (NK), sel dendritik, dan beberapa sel yang lainnya. Protein ini memainkan peran penting sebagai system *Innate Immune*. PRRs dapat mendeteksi sinyal molekul-molekul khas pathogen dari luar seperti PAMPs (*Pathogen*

Associate Molecular Patterns) yang di ekspresikan oleh pathogen mikroba dan DAMPs (*Damage Associated Molecular Patterns*) yang diekspresikan oleh adanya kerusakan atau suatu kematian pada sel. Beberapa golongan PRRs termasuk TLRs (*Toll-Like receptors*) , CLRs (*C-type Lectin receptors*), RIG (*Retinoic acid- inducible gene*), dan NLRs (*NOD- like receptors*). PRRs juga dimediasi oleh respon imun adaptif spesifik antigen dan pelepasan inflamasi Interleukin (ILs). ILs seperti interleukin-1 β (IL-1 β) , interleukin -6 (IL-6), dan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) berinteraksi dengan reseptor TLR, IL-1 Reseptor (IL-1R), Reseptor IL-6 (IL-6R) dan reseptor TNF (TNFR) memicu persinyalan intraseluler yang penting seperti jalur *Mitogen- activated* (MAPK) , jalur NF- κ B, *Janus Kinase* (JAK) transducer dan *Signal transducer and activator of transcription* (STAT) signaling pathway, dan jalur *Hypoxia induce factor 1 Alpha* (HIF-1 α).

Aktivasi oleh rangsangan proinflamasi yang berasal dari sel-sel imun dan sel-sel inflamasi seperti makrofag, monosit, limfosit dan adiposit akan menginduksi produksi inflamasi interleukin ILs, protein inflamasi dan enzim. Sitokin inflamasi IL-1 β , IL-6, CSF, IFN, TNF- α , TGF dan kemokin. Sitokin ini terutama diproduksi oleh sel-sel yang berada di sekitar peradangan dan bertanggung jawab dalam rekrutmen leukosit. Semua sel-sel yang terlibat dalam proses inflamasi ditarik kelokasi peradangan seperti neutrofil, makrofag, sel

dendritik, limfosit, sel NK, sel T, sel B, dan sel mast. Neutrofil dan monosit berperan penting sebagai inisiasi, pemeliharaan dan resolusi peradangan. Resolusi peradangan sangat penting untuk membatasi perkembangan kerusakan jaringan lebih lanjut dan timbulnya peradangan kronis yang lebih buruk.¹³

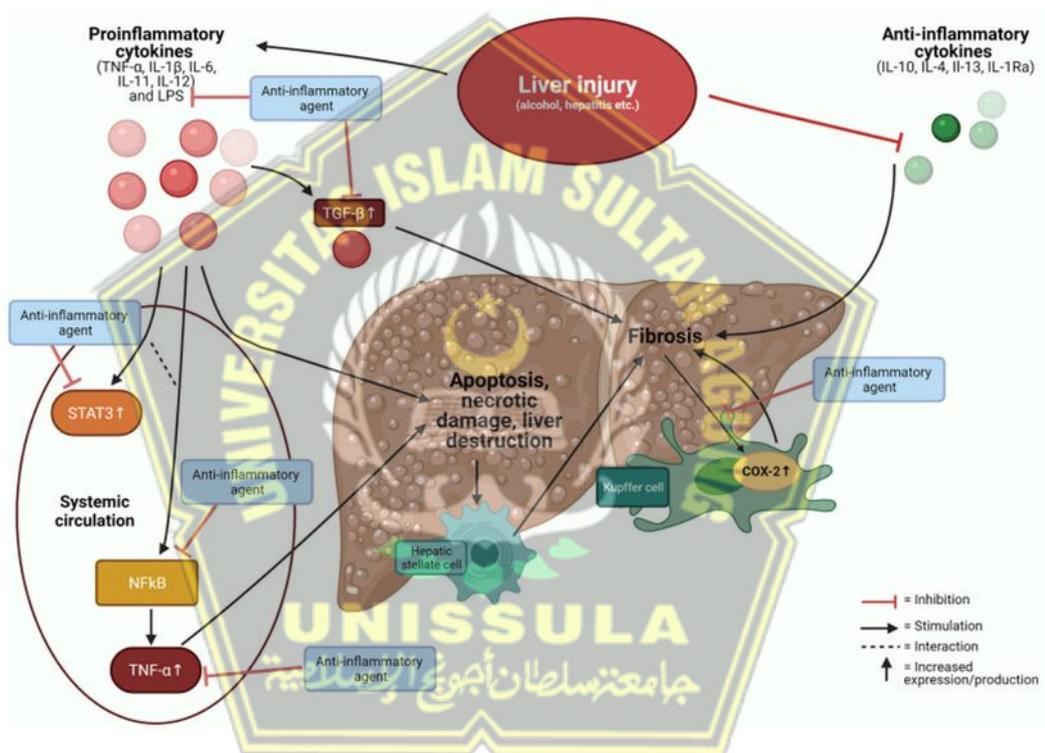


Gambar 2.3. Mekanisme respon inflamasi.¹³

2.4.2 Mekanisme Respon Inflamasi Pada Hati

Sinyal peradangan pada hati diatur oleh sitokin yang mampu mengaktifkan sel imun. Sel Kupffer adalah sel pertama yang mendeteksi kehadiran PAMPs dan DAMPs melalui TLRs, mengaktifkan pelepasan sitokin seperti TNF- α , IL-1, dan IL-6, yang memulai respon inflamasi fase akut. Inflamasi dan kerusakan sel-sel hati yang radang mengakibatkan sel hepatosit melepaskan sitokin seperti TNF- α dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Sitokin ini dapat

menyebabkan peroksidasi plasma dan membrane mitokondria sehingga menyebabkan kematian sel atau apoptosis dan kerusakan pada sel-sel hati.¹ Proses inflamasi ini juga dapat menyebabkan peningkatan kadar CRP, serum CRP yang diproduksi oleh sel-sel hepatosit dan dipengaruhi oleh IL-6.²



Gambar 2.4. Inflamasi pada Hati.³

2.5 Mekanisme Akar Purwoceng Sebagai Antiinflamasi

Akar purwoceng memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, kumarin, alkaloid, sterol, glikosida dan tannin.⁵ Flavonoid memblokir sintesis mediator inflamasi seperti IL-1β, TNF-α, IL-6, NO, dan COX-2, menekan ekspresi VEGF dan ICAM-1, menekan aktivasi jalur STAT3, NFκB, NLRP3 inflammasome, dan jalur MAP kinase.¹⁰ Flavonoid juga

dapat menghambat pembentukan CRP dengan memblokir aktivasi NFκB.¹¹ Selain itu akar purwoceng memiliki kandungan saponin juga memiliki efek sebagai anti inflamasi disebabkan oleh penghambatan prositokin inflamasi seperti interleukin (IL)-1 β, IL- 6 , TNF – α, dan menginduksi *nitric oxide synthase* (iNOS).¹⁸ Tanin juga dapat menurunkan faktor inflamasi termasuk IL-1β, IL-6, TNF-α, c-fos, c-jun, dan caspase 3 melalui jalur persinyalan NF-κB.¹⁹

2.6 Induksi CCL4

Karbon tetraklorida (CCL4) adalah hepatotoksin yang banyak digunakan untuk menginduksi peradangan toksik pada hati yang digunakan pada model hewan percobaan , hepatotoksin pada CCL4 melalui dua mekanisme, mekanisme pertama melalui metabolisme oleh sitokrom P-450 menjadi radikal *triklorometil* (CCL3) menghasilkan *radikal triklorometil peroksil* (OOCCL3) yang menyebabkan *peroksidasi lipid*.⁹ Pada *Peroksidasi lipid* ini akan menyebabkan kerusakan permeabilitas membrane sel secara keseluruhan seperti mitokondria, endoplasma , retikulum dan membran plasma sehingga akan menyebabkan kerusakan sel hati.²⁵ Mekanisme yang kedua melibatkan sel Kupffer dengan memproduksi mediator proinflamasi. CCL4 dapat menyebabkan inflamasi pada sel-sel hati dengan cara mengaktifkan NF-κB. Aktivasi NF-κB akan menginduksi mediator-mediator inflamasi seperti IL-1β, IL-6, TNF-α, MIP-1α, and MCP-1 sehingga menyebabkan fibrosis pada hati.⁹

Penelitian sebelumnya dengan pemberian CCL4 pada tikus dengan dosis 1 ml/kg dua kali seminggu selama enam minggu mampu membuat fibrosis hati akibat peradangan pada tikus yang optimal dengan tingkat kematian yang rendah.¹⁹ Pada penelitian sebelumnya dengan pemberian CCL4 pada tikus dengan dosis 0,1 ml/kg dan 1 ml/kg menunjukkan gambaran histopatologi hati mengalami nekrosis, degenerasi, dan bahkan steatosis hati, selain itu dapat meningkatkan kadar SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*) dan SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*).^{20,22}

Pada pemberian dosis tunggal CCL4 menyebabkan peningkatan berat hati, peningkatan kadar lemak, peningkatan serum urea, peningkatan aktivitas enzim hati dan pada pemeriksaan histopatologi terjadi kerusakan hati dengan nekrosis sel tunggal. Paparan jangka panjang terhadap CCL4 menyebabkan hepatotoksitas yang jelas dengan fibrosis, bahkan menyebabkan karsinoma hepatoseluler. Pada 2 atau 3 minggu pertama pemberian CCL4 sudah menunjukkan peningkatan enzim hati yang spesifik dan menurunnya nilai *pseudocholinesterase*.²⁵

Kerusakan jaringan hati yang disebabkan induksi CCL4 menyebabkan meningkatnya kadar SGOT dan SGPT pada sel hepatosit. Peningkatan kadar SGOT dan SGPT yang berlebihan pada sel hepatosit ini mengakibatkan enzim SGOT dan SGPT keluar dari sitoplasma di sel hepatosit menuju ke dalam intravena, sehingga terjadi peningkatan kadar serum darah.²⁷ Kadar SGPT meningkat 2 dan 5 kali lipat dalam 3 jam

setelah penyuntikan masing- masing 1 ml/kg dan 1,5 ml/kg CCL4, bahkan dapat meningkat 240 kali lipat setelah 24 jam penyuntikan CCL4. Kadar SGOT meningkat 8 kali lipat setelah 3 jam penyuntikan CCL4, dan bahkan terjadi peningkatan 100 kali lipat dalam 24 jam kemudian.²⁹ Pada penelitian sebelumnya dengan menggunakan tikus yang diberikan induksi CCL4 2 kali selama 7 hari, menunjukkan peningkatan sekresi IL-1 β , IL-6, TNF- α dan akan memperburuk kondisi inflamasi pada sel hati.³¹ Injeksi CCL4 dapat diberikan secara intraperitoneal dengan alasan reproduktifitas yang sangat baik, kelangsungan hidup yang baik pada tikus, biaya yang murah, dengan cara pemberian yang mudah dilakukan serta keamanan yang baik pada tikus.²⁵

2.7 Curcumin

Curcumin adalah polifenol yang alami dapat ditemukan di berbagai macam tumbuhan seperti jahe (*Zingiber officinale*), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza roxb*), Kunyit (*Curcuma longa*), dan pada tumbuhan yang lain . Curcumin dapat memberikan efek dan terapi yang baik pada penyakit hati terkait stress oksidatif dan inflamasi. Berbagai mekanisme seperti menekan sitokin proinflamasi, produk peroksidasi lipid dan aktivasi sel-sel hati yang lainnya. Curcumin juga dapat memperbaiki respon seluler terhadap stres oksidatif seperti GR (*gluthation reductase*), GPx (*gluthation peroksidase*), GSH (*gluthation*), CAT (*katalase*), SOD (*superoksida sismutase*), dan Nrf2 (*Nuclear factor erythroid related factor 2*).²¹

Pada pemberian curcumin dengan 200 mg/kgBB/ hari selama 14 hari, hal ini akan memberikan efek hepatoprotektor pada sel-sel hati.²³ Curcumin berikatan dengan reseptor TLRs dan mengatur *Nuclear factor kappa-B* (NF- κ B), *Mitogenactivated protein kinases* (MAPK) , *activator protein 1* (AP-1) dan jalur sinyal yang lainnya sehingga dapat menurunkan faktor produksi proinflamasi seperti IL-1, IL-1 β , IL-6, TNF- α , dan IL-8. Curcumin juga dapat memainkan peranan penting sebagai hepatoprotektor memiliki efek antiinflamasi dengan mengatur jalur regulasi *Janus Kinase* dan *Signal transducer and activator of transcription* (JAK/ STAT) pada jalur inflamasi.²⁶ Curcumin dikenal sebagai terapi antiinflamasi yang kuat dengan efek farmakologis yang berbeda-beda, selain itu merupakan zat antioksidan yang keamanan dan efektivitasnya telah terbukti sebagai terapi antiinflamasi, kanker, diabetes dan sebagai penghambat radikal bebas.³⁰

2.8 SGOT

Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) adalah suatu enzim yang dapat berasal dari hati, otot jaringan, jantung, ginjal, dan otak. Nilai normal SGOT adalah < 35 U/ L.²⁸ SGOT pada tikus memiliki nilai normal berkisar $141 \pm 67,4$ U/L.³⁹ Enzim SGOT yang meningkat tidak selalu sensitif untuk melihat suatu kerusakan hati, hal ini bisa diakibatkan karena enzim SGOT terdistribusi luas pada jantung daripada hati.³⁰ Enzim pada SGOT terdapat pada sitoplasma dan mitokondria sel hepatosit, sedangkan enzim SGPT hanya terdapat pada sitoplasma sel hepatosit. SGOT adalah salah satu enzim *transaminase* yang berguna untuk mengkatalisis gugus

amino ($-\text{NH}_2$) pada *L- aspartate* kedalam α -ketoglutarate acid untuk menghasilkan *L-glutamate* dan *oxaloacetate*, kemudian *oxaloacetate* direduksi menjadi *L-malate* oleh *malate dehydrogenase* (MDH) dan mengubah NADH menjadi NAD^+ .²⁷

2.9 SGPT

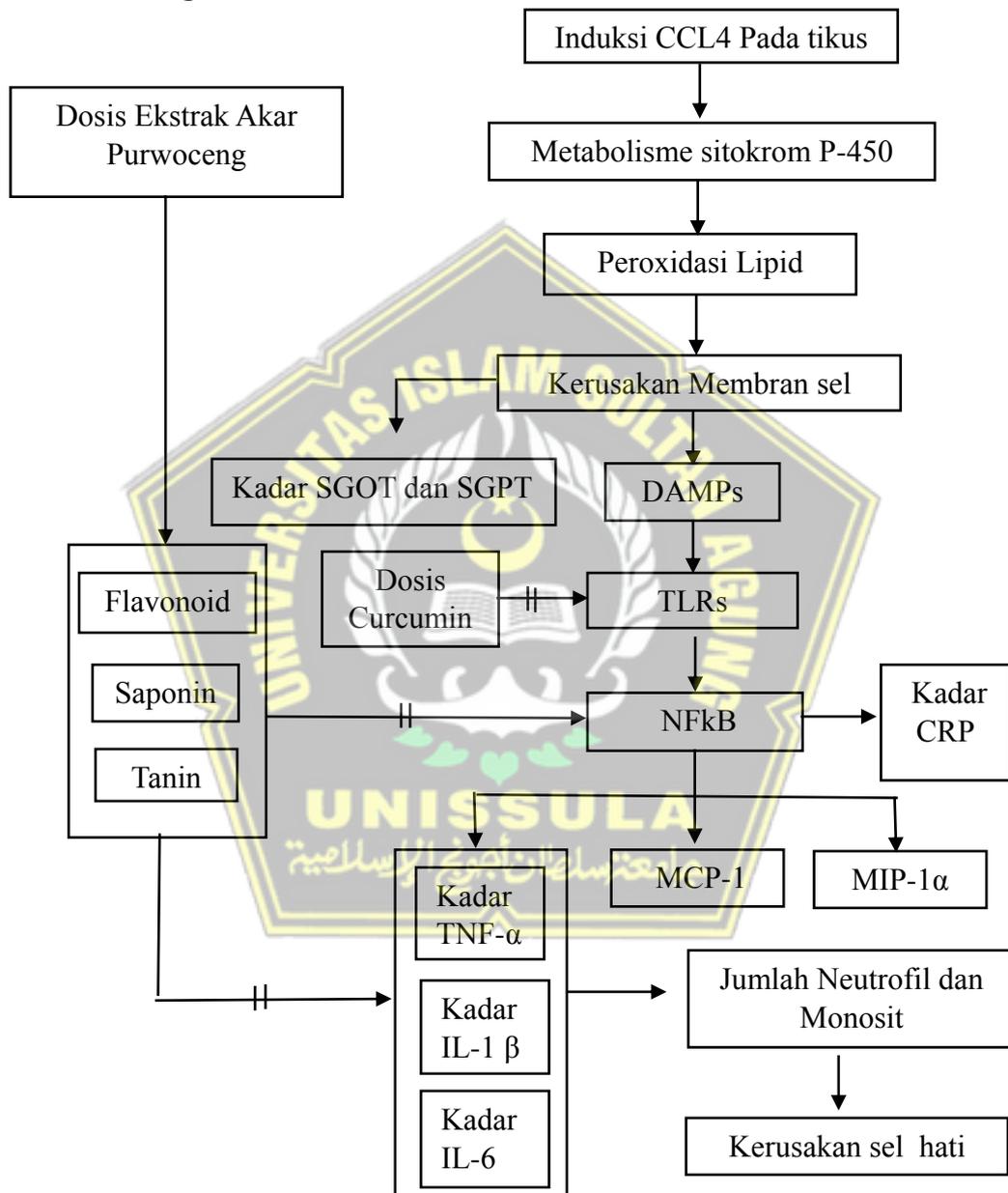
Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) adalah enzim yang ditemukan terutama di sel hepatosit, dan dapat ditemukan dengan kadar yang rendah pada jantung, ginjal, dan otot jaringan. Enzim ini lebih spesifik sebagai pertanda adanya gangguan fungsi hati. Nilai normal SGPT pada pria 29-33 IU/L dan 19-25 U/L untuk Wanita.²⁸ Sedangkan nilai normal SGPT pada tikus berkisar 12,6+4,40 U/L.³⁹

SGPT merupakan salah satu *enzim transaminase* yang mengkatalisis transfer *gugus amino* ($-\text{NH}_2$) pada *L-alanin* menjadi *asam α -ketoglutarate* untuk menghasilkan *L-glutamat* dan *piruvat*. Kemudian *piruvat* direduksi menjadi *L-laktat* oleh *lactate dehydrogenase* (LDH) disertai konversi NADH menjadi NAD^+ . *Oxidative stress* pada jaringan hati yang disebabkan oleh senyawa CCL_4 memicu peningkatan kadar *enzim transaminase (aminotransferase)* seperti SGOT dan SGPT pada hepatosit. Karena kadar enzim yang berlebihan di hepatosit maka enzim akan keluar dari sitoplasma sel hepatosit sehingga kadarnya didalam intravena (serum darah) akan meningkat.²⁷

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HOPOTESIS

3.1. Kerangka Teori



Keterangan

→ : Jalur umum

⇨ : Jalur penghambat

Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk) berpengaruh terhadap kadar TNF- α dan CRP pada tikus yang di induksi CCL4.

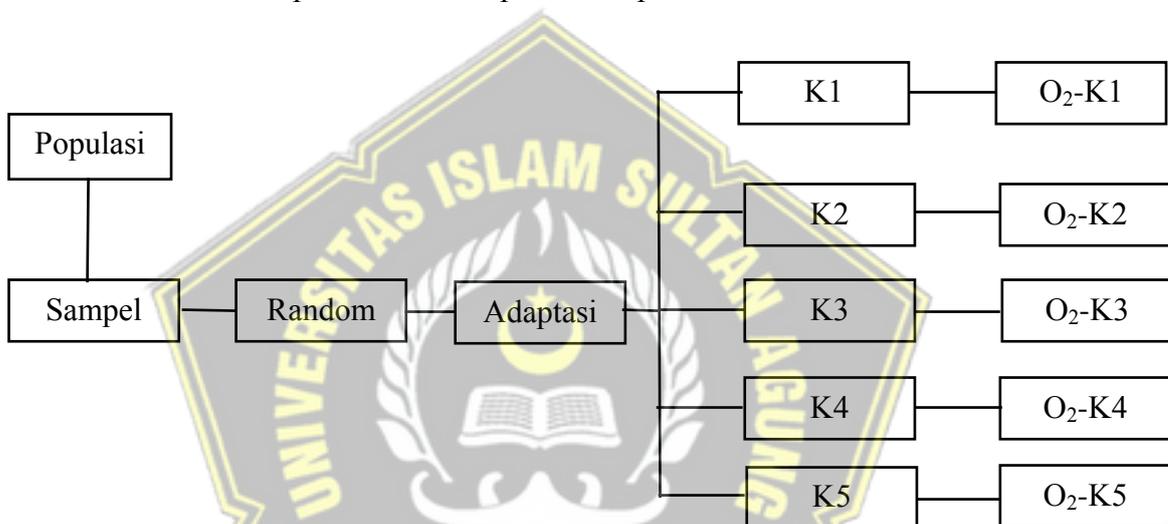


BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis Penelitian ini merupakan *True experimental* dengan rancangan penelitian *post-test control group design*

Desain penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1. Desain Penelitian

K1 : Tikus diberikan aquades 1 ml selama 7 hari.

K2 : Tikus diberikan Curcumin 200 mg/kgBB selama 7 hari.

K3 : Tikus diberikan ekstrak akar purwoceng 50 mg/200 gBB selama 7 hari.

K4 : Tikus diberikan ekstrak akar purwoceng 100 mg/200 gBB selama 7 hari.

K5 : Tikus diberikan ekstrak akar purwoceng 150 mg/ 200 gBB selama 7 hari.

O2-K1 : Observasi dan pengukuran tikus diberikan induksi CCL4 pada

Kelompok K1 setelah perlakuan.

O2-K2: Observasi dan pengukuran tikus yang diberikan induksi CCL4 pada

Kelompok K2 setelah perlakuan.

O2-K3: Observasi dan pengukuran tikus yang diberikan induksi CCL4 pada Kelompok K3 setelah perlakuan.

O2-K4: Observasi dan pengukuran tikus yang diberikan induksi CCL4 pada Kelompok K4 setelah perlakuan.

O2-K5: Observasi dan pengukuran tikus yang diberikan induksi CCL4 pada Kelompok K5 setelah perlakuan.

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Penelitian

4.2.1.1. Variabel Bebas

Pemberian ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molck).

4.2.1.2. Variabel Tergantung

Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) dan C-Reaktif Protein (CRP).

4.2.1.3. Variabel Prakondisi

Induksi CCL4 (*Karbon tetraklorida*) pada tikus.

4.2.2. Definisi Operasional

4.2.2.1. Ekstrak Akar Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molck)

Ekstrak akar purwoceng adalah senyawa yang terdapat didalam tanaman purwoceng yang diperoleh dari dataran tinggi Dieng dan sudah melalui proses ekstraksi dengan menggunakan bahan etanol 70 % yang dilakukan di Laboratorium Biokimia. Pemilihan

tumbuhan akar purwoceng berdasarkan warna putih pada akarnya, tidak berlubang, sehat, tidak busuk. Sebanyak 250 gram akar purwoceng di haluskan kemudian direndam menggunakan etanol 70 %, kemudian disaring dan ditempatkan kedalam wadah. Selanjutnya akan dilakukan evaporasi agar mendapatkan ekstrak etanolnya dan zat pelarutnya terpisah. Dosis ekstrak akar purwoceng yang digunakan pada penelitian ini adalah 50 mg/200 gBB , 100 mg/200 gBB dan 150 mg/200 gBB. Ekstrak akar purwoceng diberikan secara oral melalui mulut tikus menggunakan mikropipet dengan pemberian 1 kali sehari selama 7 hari.

Skala data : Ordinal

4.2.2.2. Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α).

Kadar TNF- α yang diambil sampel dari hasil uji laboratorium terhadap tikus Jantan galur wistar. Pengambilan sampel darah tikus melalui sinus orbitalis. Kadar TNF- α yang berasal dari sampel darah tikus kemudian diukur dengan menggunakan metode ELISA kit TNF- α dan diukur menggunakan ELISA reader dan dinyatakan dalam satuan pg/mL.

Skala data : Rasio

4.2.2.3. Kadar C- Reaktif Protein (CRP).

Kadar *C- Reaktif Protein* (CRP) yang diambil sampel dari hasil uji laboratorium terhadap tikus Jantan galur wistar. Pengambilan sampel darah tikus melalui sinus orbitalis. Kadar CRP

berasal dari sampel darah tikus kemudian diukur dengan menggunakan metode ELISA dengan paket BD™ ELISA Rat CRP. Sampel direaksikan dengan antibody yang mengandung antibody spesifik terhadap CRP kemudian ditambahkan HRP (*Horseradish Peroxidase*) dan *Avidin* , perubahan warna akan terjadi pada serum yang mengandung CRP. Perubahan warna ini diukur dengan metode ELISA, dan dinyatakan dalam satuan mg/L.

Skala data : Rasio

4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek Penelitian

Subyek penelitian yang digunakan adalah Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang didapat dari UD Wistar peternakan hewan Uji Yogyakarta dan dipelihara di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran UNISSULA.

4.3.2. Sampel Penelitian

4.3.2.1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus wistar jantan.
- b. Umur berkisar 2-3 bulan.
- c. Berat badan berkisar 150-200 gram.
- d. Pada pengamatan secara visual tikus tampak aktif bergerak, sehat, dan tidak terdapat kelainan bentuk anatomis.

- e. Tikus belum pernah digunakan untuk penelitian

4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus pernah digunakan untuk penelitian lain.
- b. Tikus yang sakit selama masa adaptasi.

4.4. Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel penelitian ini dengan menggunakan cara *simple random sampling*.

4.5. Besar Sampel

Besar Sampel tikus yang diperlukan dalam setiap kelompok pada penelitian ini didapatkan berdasarkan rumus Federer, $(t-1)(n-1) \geq 15$. Dalam penelitian ini memiliki jumlah 5 kelompok, dimana setiap kelompok memiliki jumlah minimal sampel sebesar 5 ekor tikus. Berdasarkan perhitungan maka akan didapatkan hasil sebagai berikut :

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

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

$$4(n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan :

n = Jumlah populasi tikus dalam satu kelompok

t = jumlah kelompok

Pada hasil perhitungan diatas didapatkan hasil sebesar 4,75, sehingga dapat dibulatkan menjadi 5. Dapat disimpulkan bahwa dalam satu kelompok perlakuan memiliki 5 ekor tikus. Karena pada penelitian ini memiliki 5 kelompok, maka jumlah seluruh subyek penelitian adalah $5 \times 5 = 25$ ekor tikus. Sebagai antisipasi terjadinya drop out pada sampel, maka pada penelitian ini akan ditambahkan masing-masing kelompok satu ekor tikus. Sehingga total sampel pada penelitian ini 25 ekor tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi.

4.6. Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1. Alat Penelitian

1. Kandang tikus individual
2. Timbangan hewan percobaan
3. Standar dilution dan well/microplate
4. Mikropipet 1-10 ml
5. Mikropipet 10-100 ml
6. Mikropipet 100 -1000 ml
7. Tabung sentrifuse
8. ELISA Reader
9. EDTA vac- tube
10. Inkubator
11. Freezer
12. Camber reagen

13. Dispenser reagen / buangan
14. Mikrotube 1,5
15. Yellow tips
16. Alat-alat dan gelas biasa
17. Mikroplate
18. Mikropipet multichannel
19. Blue tips rainin
20. White tip
21. Aquabidest
22. Rak tube
23. Mikropipet

4.6.2. Bahan Penelitian

1. Tikus putih jantan galur wistar yang memenuhi kriteri inklusi
2. Pakan tikus standar
3. Ekstrak etanol akar purwoceng
4. Bahan untuk pemeriksaan kadar TNF – α
5. Sampel plasma, serum, dan darah (whole blood)
6. TNF – α kit reagen
7. CRP kit reagen
8. SGOT kit reagen
9. SGPT kit reagen
10. Aquabides

4.6.3. Dosis Ekstrak Akar Purwoceng

Penentuan dosis ekstrak akar purwoceng berdasarkan pada penelitian terdahulu , dimana dengan dosis 50 mg, 100 mg, dan 150 mg ekstrak akar purwoceng yang diberikan kepada tikus dengan berat 200- 300 gr terbukti memperbaiki biomarker stress oksidatif . pada dosis 7 mg , 14 mg, dan 21 mg ekstrak akar purwoceng terbukti dapat menurunkan respon nyeri pada mencit dengan berat 20 gram .

Sehingga pada penelitian ini menggunakan dosis ekstrak akar purwoceng sebesar 50 mg/200 gBB, 100 mg/200 gBB, dan 150 mg/200 gBB yang diberikan pada tikus jantan Wistar.

4.6.4. Dosis Induksi CCL4

Penentuan dosis induksi CCL 4 berdasarkan pada penelitian terdahulu , dimana dengan dosis 1 ml/ kg mampu membuat fibrosis di hati akibat peradangan pada tikus yang optimal dengan tingkat kematian yang rendah. Dengan berat tikus antara 150-200 gram , maka pada penelitian ini mengambil dosis maksimal sebesar 0,2 ml diberikan secara intraperitoneal, pada dosis 1 kali pemberian. CCL4 diambil dengan spuit 1 ml kemudian di suntikkan secara intraperitoneal pada perut tikus.

4.6.5. Dosis Curcumin

Penentuan dosis curcumin berdasarkan pada penelitian terdahulu , dimana Pada pemberian curcumin dengan 200 mg/kgBB/

hari selama 7 hari, hal ini akan memberikan efek hepatoprotektor pada sel- sel hati.

4.7. Cara Penelitian

4.7.1. Prosedur Hewan Coba

Dipilih 25 ekor tikus berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 gr dan dibagi menjadi 5 kelompok secara random, K1 (kelompok 1) – K5 (kelompok 5) dengan masing masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus.

K1 : Tikus yang diberikan aquades 1 ml selama 7 hari

K2 : Tikus yang diberikan Curcumin 200 mg/kgBB selama 7 hari

K3 : Tikus yang diberikan ekstrak akar purwoceng 50 mg/200 gBB selama 7 hari

K4 : Tikus yang diberikan ekstrak akar purwoceng 100 mg/200 gBB selama 7 hari

K5: Tikus yang diberikan ekstrak akar purwoceng 150 mg/200gBB selama 7 hari

Pada hari ke 1 dilakukan induksi CCL4 dan dilakukan validasi pemeriksaan SGOT dan SGPT yang pertama pada hari ke 2 penelitian. Pada hari ke 7 (setelah perlakuan) tikus jantan galur wistar yang telah di induksi CCL4 diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan kadar TNF- α dan kadar CRP serta dilakukan validasi kedua dengan pemeriksaan SGOT dan SGPT yang kedua.

4.7.2. Cara Pengambilan Sampel Hewan Coba

- a. Tikus wistar jantan pada hari ke 7 (setelah perlakuan) dilakukan pengambilan darah tikus melalui *pleksus retroorbitalis* untuk pemeriksaan kadar TNF- α dan kadar CRP.
- b. Pengambilan darah dengan cara mempersiapkan mikrohematokrit dan EDTA vac- tube, kemudian menusukkan mikrohematokrit pada sinus orbitasil , kemudian memutar mikrohematokrit perlahan-lahan sampai darah keluar, kemudian menampung darah yang keluar pada EDTA vac- tube yang sudah diberi label, kemudian melepaskan mikrohematokrit dan dibersihkan.

4.7.3. Pemeriksaan Kadar TNF - α

1. Siapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai dengan petunjuk. Biarkan semua reagen mencapai suhu ruangan sebelum digunakan, pengujian dilakukan pada suhu ruangan.
2. Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Masukkan strip ke dalam bingkai untuk digunakan. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada suhu 2-8°C.
3. Tambahkan 50 μ l standar ke dalam sumur standar. Catatan Jangan menambahkan antibodi ke sumur standar karena larutan standar mengandung antibodi biotinilasi.
4. Tambahkan 40 μ l sampel kedalam sumur sampel, lalu tambahkan 10 μ l antibodi TNF- α kedalam sumur sampel, lalu

tambahkan 50 μ l streptavidin-HRP ke dalam sumur sampel dan sumur standar (bukan sumur kontrol kosong). Aduk rata. Tutupi pelat dengan sealer. Inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.

5. Lepaskan sealer dan cuci pelat 5 kali dengan cairan pencuci. Rendam sumur dengan sedikitnya 0,35 ml cairan pencuci selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian. Untuk pencucian otomatis, aspirasi semua sumur dan cuci 5 kali dengan cairan pencuci, isi sumur hingga penuh dengan cairan pencuci. Keringkan pelat pada tisu atau bahan penyerap lainnya.
6. Tambahkan 50 μ l larutan substrat A ke setiap sumur, lalu tambahkan 50 μ l larutan substrat B ke setiap sumur. Inkubasi pelat yang ditutup dengan sealer baru selama 10 menit pada suhu 37°C dalam keadaan gelap.
7. Tambahkan 50 μ l Stop Solution ke setiap sumur, warna biru akan segera berubah menjadi kuning.
8. Tentukan kerapatan optik (nilai OD) setiap sumur segera menggunakan pembaca mikroplat yang diatur pada 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan larutan penghenti.
9. Untuk perhitungan hasil Buatlah kurva standar dengan memplot rata-rata OD untuk setiap standar pada sumbu vertikal (Y) terhadap konsentrasi pada sumbu horizontal (X) dan gambar kurva yang paling sesuai melalui titik-titik pada grafik.

Perhitungan ini dapat dilakukan dengan baik menggunakan perangkat lunak penyesuaian kurva berbasis komputer dan garis yang paling sesuai dapat ditentukan dengan analisis regresi.

4.7.4. Pemeriksaan Kadar C-Reaktif Protein (CRP).

1. Siapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel sesuai petunjuk. Biarkan semua reagen mencapai suhu ruangan sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu ruangan.
2. Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Masukkan strip ke dalam bingkai untuk digunakan. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada suhu 2-8°C.
3. Tambahkan 50µl standar ke dalam sumur standar. Catatan Jangan menambahkan antibodi ke sumur standar karena larutan standar mengandung antibodi biotinilasi.
4. Tambahkan 40µl sampel ke dalam sumur sampel, lalu tambahkan 10µl antibodi anti-CRP ke dalam sumur sampel, lalu tambahkan 50µl streptavidin-HRP ke dalam sumur sampel dan sumur standar (bukan sumur kontrol kosong). Aduk rata. Tutupi pelat dengan sealer. Inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.
5. Lepaskan sealer dan cuci pelat 5 kali dengan cairan pencuci. Rendam sumur dengan sedikitnya 300µl cairan pencuci selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian. Untuk pencucian otomatis, aspirasi semua sumur dan cuci 5 kali dengan cairan pencuci, isi sumur hingga penuh dengan cairan

pencuci. Keringkan pelat pada tisu atau bahan penyerap lainnya.

6. Tambahkan 50µl larutan substrat A ke setiap sumur, lalu tambahkan 50µl larutan substrat B ke setiap sumur. Inkubasi pelat yang ditutup dengan sealer baru selama 10 menit pada suhu 37°C dalam keadaan gelap.
7. Tambahkan 50µl Stop Solution ke setiap sumur, warna biru akan segera berubah menjadi kuning.
8. Tentukan kerapatan optik (nilai OD) setiap sumur segera menggunakan pembaca mikrotelat yang diatur pada 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan larutan penghenti.

4.8. Tempat dan Waktu Penelitian

4.8.1. Tempat Penelitian

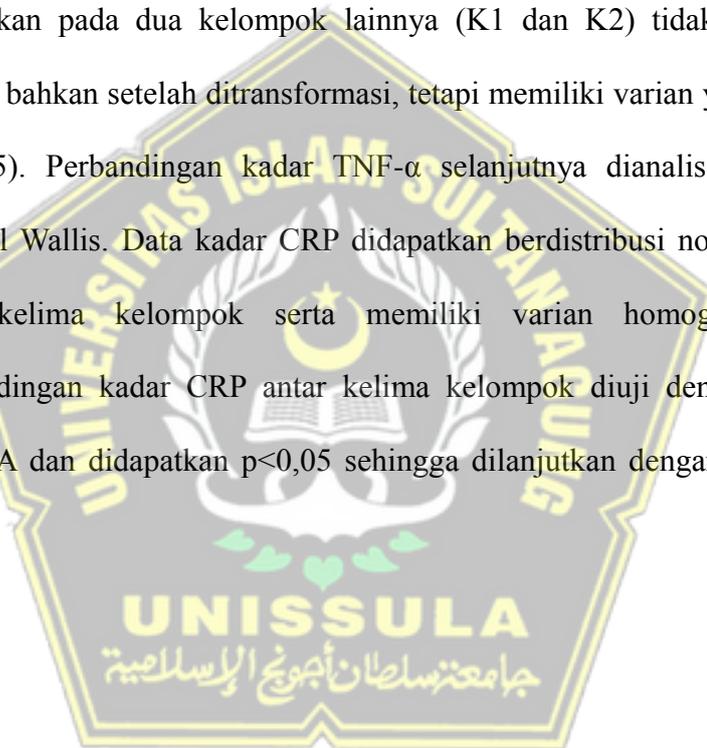
Pemeliharaan dan penelitian pada hewan coba tikus Jantan galur wistar di lakukan di integrated Biomedical Laboratory (IBL), Laboratorium Biologi, Laboratorium Biokimia, Laboratorium Patologi Klinik, Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang.

4.8.2. Waktu Penelitian

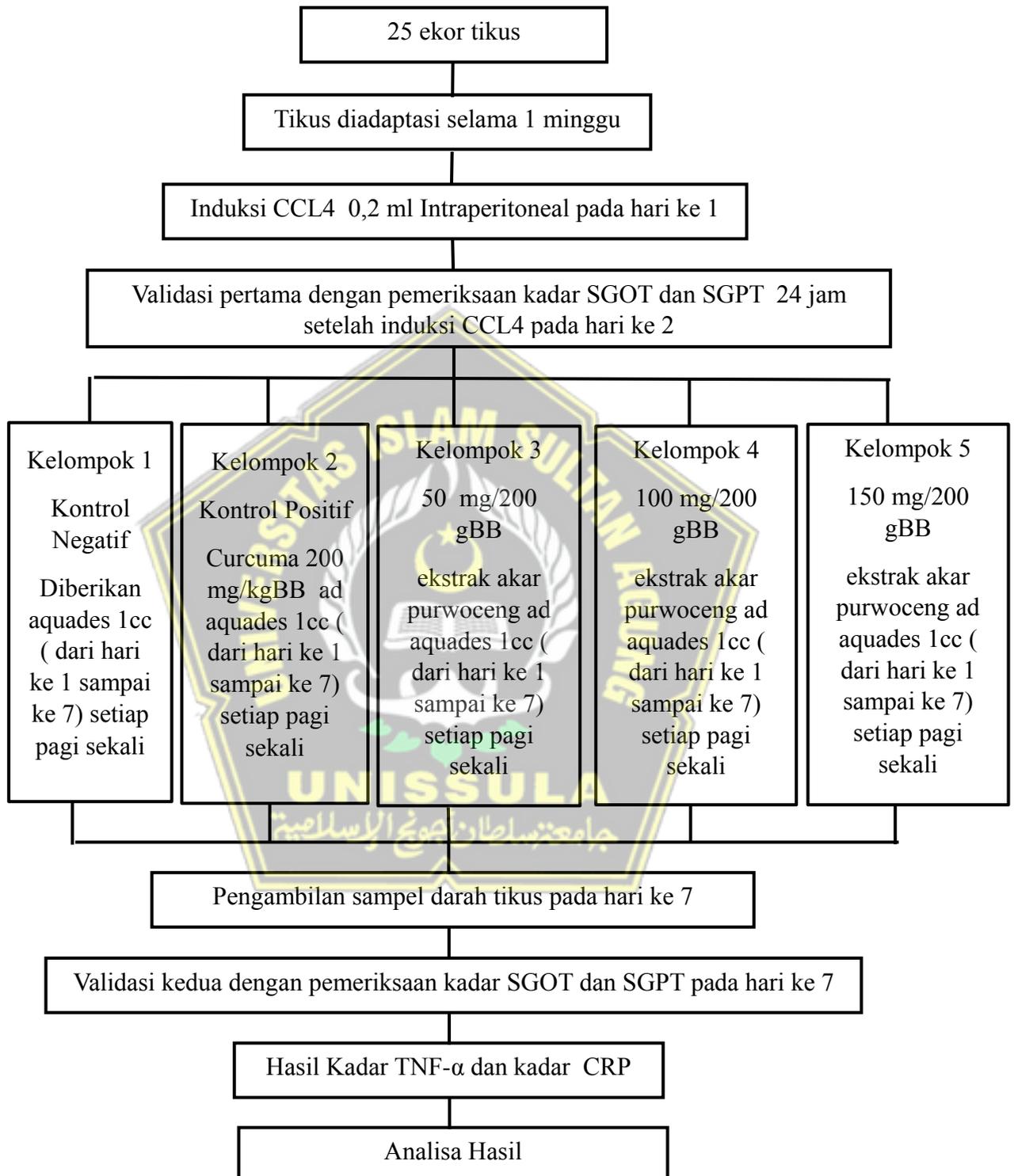
Waktu yang diperlukan untuk penelitian dilakukan pada tanggal 1 Oktober hingga November 2024.

4.9. Analisa Data

Data kadar TNF- α dan CRP yang diperoleh lalu diuji statistik menggunakan aplikasi perangkat lunak SPSS 26.0 untuk windows. Langkah pertama meliputi uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Sebaran data kadar TNF- α didapatkan hasil normal ($p>0,05$) pada tiga kelompok (K3, K4 dan K5) sedangkan pada dua kelompok lainnya (K1 dan K2) tidak berdistribusi normal bahkan setelah ditransformasi, tetapi memiliki varian yang homogen ($p>0,05$). Perbandingan kadar TNF- α selanjutnya dianalisis dengan uji Kruskal Wallis. Data kadar CRP didapatkan berdistribusi normal ($p>0,05$) pada kelima kelompok serta memiliki varian homogen ($p>0,05$). Perbandingan kadar CRP antar kelima kelompok diuji dengan *One-Way ANOVA* dan didapatkan $p<0,05$ sehingga dilanjutkan dengan uji post hoc LSD.



4.10. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Pelitian.

BAB V

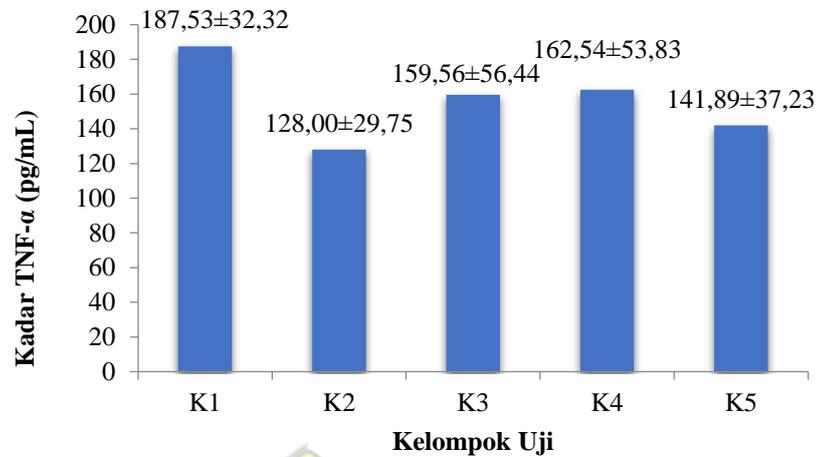
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada 30 ekor tikus Wistar yang telah dibagi kedalam 5 kelompok yang terdiri atas K1 yaitu kelompok yang diberikan aquades, K2 yaitu kelompok yang diberikan Curcumin 200 mg/kgBB, serta K3, K4, dan K5 yaitu kelompok yang diberikan ekstrak akar purwoceng dengan dosis masing masing 50 mg/200 gBB, 100 mg/200 gBB, dan 150 mg/200 gBB. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk), terhadap kadar TNF- α dan kadar CRP pada tikus Jantan wistar yang diinduksi oleh karbon tetraklorida (CCl₄). Hasil analisis rerata kadar Kadar TNF- α dan kadar CRP setelah perlakuan ditunjukkan sebagai berikut:

5.1.1. Kadar TNF- α

Kadar TNF- α pada tiap tikus yang diukur dengan ELISA reader setelah 7 (tujuh) hari pemberian perlakuan didapatkan hasil sebagai berikut:



Gambar 5.1. Rata-rata kadar TNF- α tikus tiap kelompok

Gambar 5.1 menunjukkan kadar TNF- α paling tinggi pada K1 (187,53±32,32 pg/ml) sedangkan pada K2 adalah yang paling rendah (128,00±29,75 pg/ml). Diantara ketiga kelompok yang diberi ekstrak purwoceng, kadar TNF- α tampak fluktuatif, pemberian dosis paling tinggi 150 mg/200 gBB atau pada K5 menghasilkan kadar TNF- α paling rendah (141,89±37,23 pg/ml) sedangkan K3 dan K4 menghasilkan kadar TNF- α sebesar 159,56±56,44 pg/ml dan 162,54±53,83 pg/ml.

Kadar TNF- α yang kemudian dianalisis sebaran data dan homogenitas variannya didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.1. Hasil analisis kadar TNF- α

Kelompok	<i>p-value</i>			
	Shapiro wilk test		<i>Levene test</i>	<i>Kruskal wallis</i>
	Sebelum transformasi	Sesudah transformasi		
K1	0,019	0,037	0,336	0,233
K2	0,008	0,017		
K3	0,818*	0,935*		
K4	0,067*	0,083*		

K5	0,782*	0,844*
----	--------	--------

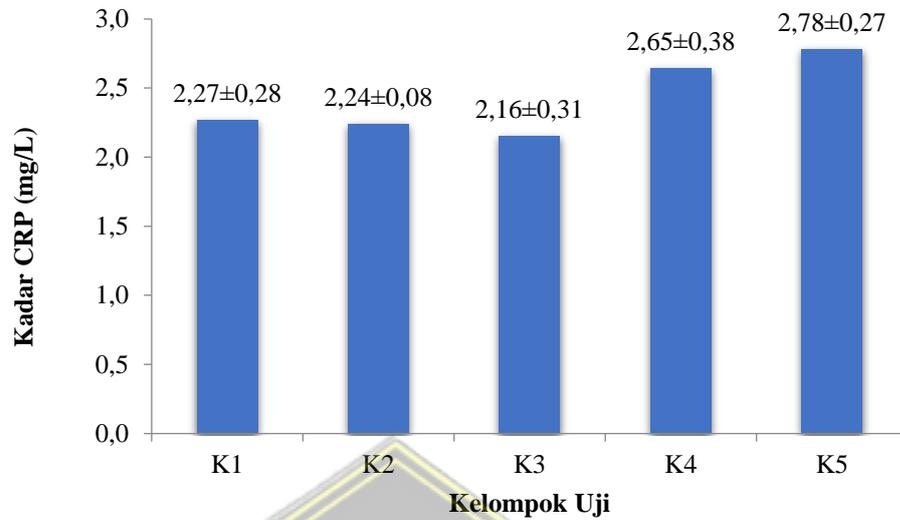
*: sebaran data normal

Hasil analisis normalitas sebaran data dengan uji shapiro wilk didapatkan kelompok K3 sampai dengan K5 memiliki sebaran data kadar TNF- α normal ditunjukkan dengan nilai $p > 0,05$ sedangkan pada K1 dan K2 memiliki sebaran data kadar TNF- α tidak normal ($p < 0,05$). Hasil analisis normalitas sebaran data kadar TNF- α setelah dilakukan upaya transformasi ke bentuk logaritma juga didapatkan hasil serupa bahwa kadar TNF- α di K1 dan K2 tetap tidak normal.

Hasil analisis homogenitas varian dengan uji Levene didapatkan nilai p sebesar 0,336 ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa varian kadar TNF- α di kelima kelompok adalah homogen. Sebaran data yang tidak normal menjadi alasan penggunaan uji komparasi yang non parametrik yaitu kruskal wallis, dan dari uji ini didapatkan nilai p sebesar 0,233 ($p > 0,05$) sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar TNF- α diantara lima kelompok.

5.1.2. Kadar CRP

Kadar CRP pada tiap tikus yang diukur dengan ELISA reader setelah 7 (tujuh) hari pemberian perlakuan didapatkan hasil sebagai berikut:



Gambar 5.2. Rata-rata kadar CRP tikus tiap kelompok

Gambar 5.2 menunjukkan kadar CRP paling tinggi pada K5 ($2,78 \pm 0,27$ mg/L) sedangkan pada K3 adalah yang paling rendah ($2,16 \pm 0,31$ mg/L). Kelompok K1 dan K2 tampak memiliki kadar CRP yang relatif serupa yaitu $2,27 \pm 0,28$ mg/L dan $2,24 \pm 0,08$ mg/L.

Kadar CRP berikutnya dianalisis sebaran data dan homogenitas variannya didapatkan hasil sebagaimana Tabel 5.2. Hasil analisis normalitas sebaran data dengan uji shapiro wilk didapatkan kelima kelompok memiliki sebaran data kadar CRP yang normal ($p > 0,05$), varian data kadar CRP juga homogen karena dari uji Levene didapatkan nilai $p = 0,058$ ($p > 0,05$).

Tabel 5.2. Hasil analisis kadar CRP

Kelompok	Shapiro wilk test	Levene test	One way anova	<i>p-value</i>			
				Post hoc LSD			
				K2	K3	K4	K5
K1	0,507*	0,058	0,008	0,864	0,524	0,050	0,010 [#]
K2	0,669*			-	0,640	0,035 [#]	0,007 [#]
K3	0,672*				-	0,013 [#]	0,002 [#]
K4	0,577*					-	0,466
K5	0,405*						-

*: sebaran data normal, #: perbedaan bermakna

Perbandingan kadar CRP antar kelompok bisa dilakukan secara parameterik dengan uji one way anova dan didapatkan nilai p sebesar 0,008 ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan kadar CRP yang bermakna diantara kelima kelompok. Uji lanjutan perbandingan kadar CRP antar dua kelompok dengan uji post hoc LSD diperoleh nilai $p \geq 0,05$ untuk perbandingan kadar CRP antara kelompok K1 dengan K2, K3 dan K4; antara K2 dengan K3; dan antara K4 dengan K5 sedangkan perbandingan kadar CRP yang bermakna ($p < 0,05$) ditunjukkan antara K1 dengan K5; K2 dengan K4 dan K5; dan antara K3 dengan K4 dan K5.

Kadar CRP di K5 yang secara bermakna lebih tinggi dari K1 menunjukkan bahwa ekstrak akar purwoceng 150 mg tidak berpengaruh menurunkan kadar CRP pada tikus yang diinduksi CCL4, sedangkan pemberian kurkumin 200 mg/kgBB dan ekstrak akar purwoceng 50 mg/200 gBB serta 100 mg/200 gBB tidak berpengaruh pada kadar CRP (perbedaan kadar CRP antara K1 dengan K2, K3 dan K4 tidak bermakna).

5.2. Pembahasan.

Penelitian ini menggunakan sampel 30 ekor tikus galur wistar usia 2-3 bulan dengan berat 150 – 200 gr dan dibagi kedalam 5 kelompok. Semua tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi dilakukan adaptasi selama 7 hari. Setelah diadaptasi tikus diberikan induksi CCL4 dan dilakukan pemeriksaan validasi pada hari ke 2 dan hari ke 7. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok secara acak dengan kelompok kontrol negative adalah tikus yang diberikan aquades 1 ml selama 7 hari (K1), kelompok kontrol positif adalah tikus yang diberikan curcumin 200 mg/kgBB selama 7 hari (K2), kelompok perlakuan tikus yang diberikan ekstrak akar purwoceng dengan dosis 50 mg selama 7 hari (K3), kelompok perlakuan tikus yang diberikan ekstrak akar purwoceng dengan dosis 100 mg/200 gBB selama 7 hari (K4), dan kelompok perlakuan tikus yang diberikan ekstrak akar purwoceng dengan dosis 150 mg/200 gBB selama 7 hari (K5).

5.2.1. Hubungan Induksi CCL4 Dengan Kadar TNF- α dan Kadar CRP

Karbon tetraklorida (CCL4) adalah zat hepatotoksin yang dapat menginduksi peradangan toksik pada hati. CCL4 dapat menyebabkan inflamasi pada sel sel hati dengan cara mengaktifkan NF- κ B. Aktivasi NF- κ B akan menginduksi mediator- mediator inflamasi seperti IL-1 β , IL-6, TNF- α , MIP-1 α , and MCP-1 sehingga menyebabkan fibrosis pada hati dan juga terjadi peningkatan kadar TNF- α .⁹ Induksi CCL4 menyebabkan peningkatan kadar CRP

terutama yang diinduksi oleh sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan TNF- α melalui faktor transkripsi oleh NF- κ B di sel hepatosit CRP yang bersirkulasi akan mengopsonisasi sel apoptosis, melakukan pembersihannya melalui system komplemen dan fagositosis.²³

5.2.2. Pengaruh Ekstrak Akar Purwoceng Terhadap Kadar TNF- α dan Kadar CRP

Pada hasil penelitian ini kadar TNF- α paling tinggi terjadi pada K1 (187,53 \pm 32,32 pg/ml) yaitu kelompok kontrol negatif dan sedangkan pada K2 adalah yang paling rendah (128,00 \pm 29,75 pg/ml) yaitu pada kelompok kontrol positif. Hal ini membuktikan pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan aquabides 1 ml dan bersifat netral tidak memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar TNF- α . Sedangkan kelompok kontrol positif terbukti dapat menurunkan kadar TNF- α yang paling besar dikarenakan Curcumin berikatan dengan reseptor TLRs dan mengatur *Nuclear factor kappa-B* (NF- κ B), Mitogenactivated protein kinases (MAPK), activator protein 1 (AP-1) dan jalur sinyal yang lainnya sehingga dapat menurunkan faktor produksi proinflamasi seperti IL-1, IL-1 β , IL-6, TNF- α , dan IL-8. Curcumin juga dapat memainkan peranan penting sebagai hepatoprotektor memiliki efek antiinflamasi dengan mengatur jalur regulasi Janus Kinase dan Signal transducer and activator of transcription (JAK/ STAT) pada jalur inflamasi.²⁶ Hal

ini juga dibuktikan pada penelitian sebelumnya mengenai Aktivitas Daun Notika (*Archboldiodendron calosericeum Kobuski*) terhadap kadar TNF- α menunjukkan kadar TNF- α yang tertinggi pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan NaCMC yang bersifat inert atau netral. Sedangkan pada kadar TNF- α yang terendah pada kelompok kontrol Positif dengan pemberian natrium diklofenak dengan perlakuan induksi inflamasi dengan menggunakan karagenan 1 % yang di injeksikan pada intraplantar dengan dosis 0,1 ml.³²

Diantara ketiga kelompok yang diberi ekstrak purwoceng, kadar TNF- α tampak fluktuatif, pemberian dosis paling tinggi 150 mg/200 gBB atau pada K5 menghasilkan kadar TNF- α paling rendah ($141,89 \pm 37,23$ pg/ml). Hal ini membuktikan semakin tinggi dosis ekstrak akar purwoceng akan semakin tinggi kandungan saponin dan flavonoid didalamnya. Hal ini sejalan dengan penelitian mengenai pengaruh ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molck) terhadap respon nyeri yang diinduksi asam asetat 1 %, ternyata memiliki pengaruh terhadap respon nyeri yang diakibatkan oleh peradangan oleh sel-sel inflamasi. Dimana pada dosis yang paling besar memiliki pengaruh yang paling besar terhadap respon nyeri.⁵ Akar purwoceng memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, kumarin, alkaloid, sterol, glikosida dan tannin.⁵ Flavonoid memblokir sintesis mediator inflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , IL-6,

NO, dan COX-2, menekan ekspresi VEGF dan ICAM-1, menekan aktivasi jalur STAT3, NFκB, NLRP3 inflammasome, dan jalur MAP kinase.¹⁰ Flavonoid juga dapat menghambat pembentukan CRP dengan memblokir aktivasi NF-κB.¹¹ Selain itu akar purwoceng memiliki kandungan Saponin juga memiliki efek sebagai anti inflamasi disebabkan oleh penghambatan prositokin inflamasi seperti interleukin (IL)-1 β, IL- 6 , TNF – α, dan menginduksi nitric oxide synthase (iNOS).¹⁸ Tanin juga dapat menurunkan faktor inflamasi termasuk IL-1β, IL-6, TNF-α, c-fos, c-jun, dan caspase 3 melalui jalur persinyalan NF-κB.¹⁹

Pada kelompok K3 dan K4 menghasilkan kadar TNF-α sebesar 159,56±56,44 pg/ml dan 162,54±53,83 pg/ml. Dimana kadar pada kelompok K3 lebih rendah dibandingkan kelompok K 4. Penggunaan uji komparasi yang non parametrik yaitu kruskal wallis, dan dari uji ini didapatkan nilai p sebesar 0,233 ($p>0,05$) sehingga dinyatakan perbedaan kadar TNF-α diantara kelima kelompok uji tidak bermakna. Hal ini sama dengan penelitian lainnya yang menyebutkan bahwa tidak didapatkan perbedaan yang bermakna diantara masing masing kelompok perlakuan efek anti inflamasi ekstrak etanol wortel (*Daucuc Carota L*) disebabkan dosis yang digunakan dalam penelitian ini terlalu sempit, oleh karena itu perlu dipertimbangkan selisih jarak antar dosis perlakuan yang lebih jauh.³³

Pada penelitian ini menunjukkan kadar CRP paling tinggi pada K5 ($2,78 \pm 0,27$ mg/L) sedangkan pada K3 adalah yang paling rendah ($2,16 \pm 0,31$ mg/L). Hal ini menunjukkan dosis ekstrak akar purwoceng yang dipakai pada penelitian ini terlalu tinggi sehingga tidak efektif dalam menurunkan kadar CRP. Pada penelitian yang lain menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar purwoceng dengan dosis 42 mg/kg BB / hari dapat menyebabkan hepatotoksik dan pada dosis 84 mg/kgBB/ hari dapat menyebabkan nefrotoksis yang diukur dengan parameter kadar urea, SGOT, SGPT, gambaran histologi ginjal dan hati. Hal ini dapat terjadi karena potensi hepatotoksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol akar purwoceng mengandung berbagai senyawa seperti alkaloid, dan tanin yang bersifat lipofilik sehingga mudah berikatan dengan dinding sel, hal ini akan merusak dinding sel dan mengurangi permeabilitas dinding sel. Gangguan permeabilitas sel dapat memicu pelepasan enzim yang berada didalam sel hepatosit. Kandungan akar purwoceng seperti sitosterol, flavonoid, tanin, pheladren, furanocumarin, hidrokuinon yang awalnya dapat menjadi senyawa antioksidan dengan dosis yang tepat dan efektif, akan berubah menjadi prooksidan yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid, kerusakan DNA, mutasi sel dan apoptosis sel hati. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari dosis ekstrak akar purwoceng yang efektif dan tidak menimbulkan efek hepatotoksik maupun nefrotoksik.³⁴

Kadar CRP pada kelompok K2 lebih rendah dari pada kelompok K1. Perbandingan kadar antar dua kelompok K1 dengan K2 dengan uji post hoc LSD tidak bermakna dengan nilai $p \geq 0,05$. Walaupun terdapat perbedaan tidak bermakna pada penelitian ini, hal ini membuktikan bahwa curcumin dapat menurunkan kadar CRP. Pada penelitian lain membuktikan bahwa curcumin memiliki efek antioksidan dengan menghambat mediator inflamasi seperti *siklooksigenase* (COX)-1, CRP, $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IFN-}\gamma$, dan $\text{NF-}\kappa\text{B}$.³⁵ Curcumin dikenal sebagai terapi antiinflamasi yang kuat dengan efek farmakologis yang berbeda-beda, selain itu merupakan zat antioksidan yang keamanan dan efektivitasnya telah terbukti sebagai terapi antiinflamasi, kanker, diabetes dan sebagai penghambat radikal bebas.³⁰

Perbandingan kadar CRP antar dua kelompok dengan uji post hoc LSD diperoleh nilai $p \geq 0,05$ untuk perbandingan kadar CRP tidak bermakna antara kelompok K1 dengan K2, K3 dan K4; antara K2 dengan K3; dan antara K4 dengan K5. Hal ini menunjukkan secara umum pemberian ekstrak akar purwoceng belum efektif menurunkan kadar CRP pada tikus. Pada penelitian yang lain menyebutkan bahwa perubahan histologi sel hepatosit yang semakin parah terjadi seiring dengan peningkatan dosis etanol ekstrak akar purwoceng, hal ini dapat terjadi karena senyawa kandungan akar purwoceng yang awalnya dapat bersifat antioksidan dengan dosis

yang efektif, akan berubah menjadi prooksidan yang dapat memicu kerusakan sel hepatosit. Selain itu potensi faktor biologi dapat mempengaruhi kerusakan sel hati karena adanya jamur pada pakan hewan percobaan yang menghasilkan alfatoksin yang dapat menyebabkan kerusakan sel hati.³⁴

Faktor bioavailabilitas obat herbal seperti kelarutan cairan lambung, permeabilitas membrane, deprivasi saluran pencernaan, dan transporter seperti p-glikoprotein (p-gp/MDR1/ABCB1). Absorpsi obat herbal yang diberikan melalui rute oral mempengaruhi bioavailabilitas dengan penyerapan usus yang rendah atau lemah, hal ini dapat menyebabkan bioavailabilitas dengan pemberian secara oral yang tidak maksimal memberikan efek terapi. Struktur molecular dari senyawa tanaman herbal sangat mempengaruhi penyerapan obat di usus. Flavonoid yang berikatan pada β -glukosida dan lactase-florizin hidrolase, dapat diserap dalam jumlah yang sedikit pada usus. Senyawa kandungan obat herbal didistribusikan ke seluruh tubuh tergantung dari beberapa faktor seperti berat molekul, lipofilisitas, permeabilitas jaringan dan ikatan protein. Beberapa kandungan obat herbal yang didistribusikan ke seluruh tubuh juga tidak merata, dan mungkin hanya selektif di jaringan atau organ tertentu saja seperti hati, otak, dan ginjal.³⁷ Secara umum masih banyak yang belum diketahui mengenai senyawa aktif yang

terkandung pada akar purwoceng yang dapat mempengaruhi berbagai mekanisme inflamasi pada sel hati.

Sedangkan perbandingan kadar CRP yang bermakna ($p < 0,05$) ditunjukkan antara K1 dengan K5; K2 dengan K4 dan K5; dan antara K3 dengan K4 dan K5. Hal ini menunjukkan pada kelompok K3 memiliki penurunan kadar CRP yang paling besar diantara kelompok perlakuan yang lainnya. Hal ini menunjukkan dosis yang paling efektif menurunkan kadar CRP pada kelompok 3. Pada pemberian purwoceng dengan dosis 50 mg, 100 mg dan 150 mg pada tikus jantan Sprague-Dawley dengan berat 250 – 300 gram mampu memperbaiki biomarker stres oksidatif, namun pemberian flavonoid dengan dosis tinggi juga dapat menyebabkan efek prooksidan. Kandungan quercetin pada purwoceng dengan konsentrasi tinggi juga dapat meningkatkan radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$).³⁶ Dosis ekstrak akar purwoceng 50 mg, 100 mg, dan 150 mg dengan faktor konveksi tikus 200 gram ke mencit 20 gram menghasilkan dosis 7 mg, 14 mg, dan 21 mg juga dapat menunjukkan efek sebagai anti nyeri yang diakibatkan oleh respon inflamasi.⁵ Pada penelitian yang lain menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar purwoceng dengan dosis 42 mg/kgBB/hari pada tikus dapat menyebabkan hepatotoksik dan pada dosis 84 mg/kgBB/ hari dapat menyebabkan nefrotoksik.³⁴ Keterbatasan penelitian ini adalah tidak meneliti secara spesifik kandungan yang terdapat didalam ekstrak akar purwoceng yang

memiliki efek sebagai anti inflamasi sehingga rentang dosis efektif yang di gunakan masih belum sesuai harapan. Selain itu penelitian ini tidak melakukan uji toksisitas akut dan kronis ekstrak akar purwoceng.

5.3. Keterbatasan Penelitian

5.3.1. Penelitian ini tidak melakukan uji komposisi ekstrak akar purwoceng terlebih dahulu.

5.3.2. Peneliti tidak melakukan uji toksisitas akut dan kronis pada ekstrak akar purwoceng



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai pengaruh ekstrak akar purwoceng (*Pimpinella alpina* Molck) terhadap kadar TNF- α dan CRP pada tikus yang diinduksi oleh CCL4 maka dapat disimpulkan bahwa :

- 6.1.1 Pemberian ekstrak akar purwoceng dengan dosis (50 mg, 100 mg, dan 150 mg)/200 gBB selama 7 hari dapat menurunkan kadar TNF- α , tetapi tidak berpengaruh secara bermakna terhadap penurunan kadar TNF- α dan CRP pada tikus yang diinduksi CCL4.
- 6.1.2 Rerata kadar TNF- α , pada kelompok pemberian ekstrak akar purwoceng dengan dosis (50 mg, 100 mg, dan 150 mg)/200 gBB lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif, namun lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif.
- 6.1.3 Rerata kadar CRP pada kelompok pemberian ekstrak akar purwoceng dengan dosis 50 mg/200 gBB lebih rendah dari pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dengan dosis (100 mg dan 150 mg)/200 gBB.
- 6.1.4 Kadar CRP di K5 yang secara bermakna lebih tinggi dari K1 menunjukkan bahwa ekstrak akar purwoceng 150 mg/200 gBB tidak berpengaruh menurunkan kadar CRP pada tikus yang diinduksi CCL4.

6.2. Saran

- 6.2.1. Perlu dilakukan pemeriksaan kadar komposisi ekstrak akar purwoceng sebelum dilakukan untuk penelitian selanjutnya.
- 6.2.2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek ekstrak akar purwoceng dengan dosis yang lebih bervariasi.
- 6.2.3. Disarankan melakukan uji toksisitas akut dan kronis pada ekstrak akar purwoceng.



DAFTAR PUSTAKA

1. Del Campo JA, Gallego P, Grande L. Role of Inflammatory Response In Liver Diseases: Therapeutic Strategies. Vol. 10, World Journal of Hepatology. Baishideng Publishing Group Co; 2018. p. 1–7.
2. Saputro AA, Nasihun T, Husaana A. Propolis Extracted Using CMCE Decreases TNF- α and C-Reactive Protein level of CCl₄-Induced Liver Damage in Rats [Internet]. 2021. Available from: <http://jurnal.unissula.ac.id/index.php/sainsmedika>
3. Kronborg TM, Ytting H, Hobolth L, Møller S, Kimer N. Novel Anti-inflammatory Treatments in Cirrhosis. A Literature-Based Study. Vol. 8, Frontiers in Medicine. Frontiers Media S.A.; 2021.
4. Laine L. Perspectives in Pain Management: The Role of Coxibs Gastrointestinal Effects of NSAIDs and Coxibs. Vol. 25, S32 Journal of Pain and Symptom Management. 2003.
5. Dwi Randa V. Pengaruh Ekstrak Akar Purwoceng (*Pimpinella alpine*) Terhadap Respon Nyeri Studi Eksperimental Pada Mencit Balb/c Yang Diinduksi Asam Asetat 1%. Semarang ; 2018.
6. Pahwa R, Goyal A, Jialal I. Chronic Inflammation. 2022;
7. Koyama Y, Brenner DA. Liver Inflammation and Fibrosis. Vol. 127, Journal of Clinical Investigation. American Society for Clinical Investigation; 2017. p. 55–64.
8. Gita Virma S, Adelin P, Mona L. Karakteristik Pasien Sirosis Hepatis di Rumah Sakit Dr. Achmad Mochtar Bukittinggi Periode Tahun 2018 - 2020. 2023;6.
9. Wu T, Zhang Q, Song HP. Swertiamarin Attenuates Carbon Tetrachloride (CCl₄)-Induced Liver Injury and Inflammation in Rats by Regulating the TLR4 Signaling Pathway. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018;54(4).
10. Ferraz CR, Carvalho TT, Manchope MF, Artero NA, Rasquel-Oliveira FS, Fattori V, et al. Therapeutic Potential of Flavonoids in Pain and Inflammation: Mechanisms of Action, Pre-clinical and Clinical Data, and Pharmaceutical Development. Vol. 25, Molecules. MDPI AG; 2020.

11. Hsieh CT, Wang J, Chien KL. Association Between Dietary Flavonoid Intakes and C-reactive Protein Levels: A cross-sectional Study in Taiwan. *J Nutr Sci*. 2021 Mar 4;10.
12. Hidayati S, Oktavianti F, Susanti DA, Aini Q. Aktivitas Antiinflamasi In Vitro dan In Vivo Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica L.*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2022 Oct 31;4(5):488–94.
13. Nesci S, Spagnoletta A, Oppedisano F. Inflammation, Mitochondria and Natural Compounds Together in the Circle of Trust. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
14. Yang YM, Seki E. TNF α in Liver Fibrosis. Vol. 3, *Current Pathobiology Reports*. Springer; 2015. p. 253–61.
15. Çetin I, Çetin A, Şen A, Cimen L, Çimen B, Savas G, et al. Comparison of ELISA and Flow Cytometry For Measurement of Interleukin-1 beta, Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor- α . *Turkish Journal of Biochemistry*. 2018 Oct 1;43(5):540–8.
16. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. Vol. 9, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2018.
17. Ginwala R, Bhavsar R, Chigbu DGI, Jain P, Khan ZK. Potential Role of Flavonoids in Treating Chronic Inflammatory Diseases With a Special Focus on the Anti-inflammatory Activity of Apigenin. Vol. 8, *Antioxidants*. MDPI; 2019.
18. Khan MI, Karima G, Khan MZ, Shin JH, Kim JD. Therapeutic Effects of Saponins for the Prevention and Treatment of Cancer by Ameliorating Inflammation and Angiogenesis and Inducing Antioxidant and Apoptotic Effects in Human Cells. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 1;23(18).
19. Jing W, Xiaolan C, Yu C, Feng Q, Haifeng Y. Pharmacological effects and mechanisms of tannic acid. Vol. 154, *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Elsevier Masson s.r.l.; 2022.
20. Ganda R, Panjaitan P, Masriani M, Zakiah Z, Manalu W. Pengaruh Pemberian *Karbon Tetraklorida* terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus [Internet]. Article

in Makara of Health Series. 2007. Available from:
<https://www.researchgate.net/publication/47406752>

21. Esperanza Y, Prabowo S, Handajani F. Efektivitas Pemberian Curcumin Terhadap Perbaikan Fungsi Hepar Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Tinggi: Studi Literatur. Vol. 10, (Online) Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma. 2021.
22. Fahrudin F, Ningsih S, Wardhana Indra h. Efektivitas Dosis *Karbon Tetraklorida* (CCL4) Terhadap Tikus (*Rattus novergicus*) Sebagai Hewan Model Fibrosis Hati. 2020;19.
23. Rhodes B, Fürnrohr BG, Vyse TJ. C-reactive Protein in Rheumatology: Biology and Genetics. Vol. 7, Nature Reviews Rheumatology. 2011. p. 282–9.
24. Xie J, Tang MQ, Chen J, Zhu YH, Lei CB, He HW, et al. A Sandwich ELISA-Like Detection of C-reactive Protein in Blood by Citicoline-bovine Serum Albumin Conjugate and Aptamer-functionalized Gold Nanoparticles Nanozyme. *Talanta*. 2020 Sep 1;217.
25. Scholten D, Trebicka J, Liedtke C, Weiskirchen R. The *Carbon Tetrachloride* Model In Mice. *Lab Anim*. 2015;49:4–11.
26. Peng Y, Ao M, Dong B, Jiang Y, Yu L, Chen Z, et al. Anti-inflammatory Effects of Curcumin In the Inflammatory Diseases: Status, Limitations and Countermeasures. Vol. 15, *Drug Design, Development and Therapy*. Dove Medical Press Ltd; 2021. p. 4503–25.
27. Nurlaila H, Aulanni am, Dimas Abdul AZIS F, Prasetyawan S, Zainul Hasan P, Pajarakan K, et al. SGOT/SGPT Levels in Blood Serum on Rats (*Rattus norvegicus*) that CCl4 Induced Then Its Treatment by Ethanol Extract of *Curcuma xanthorrhiza rhizome* as Hepatoprotector [Internet]. Vol. 2020, *Bencoolen Journal of Pharmacy*. 2020. Available from: <https://ejournal.unib.ac.id/index.php/bjp/index>
28. Kalas MA, Chavez L, Leon M, Taweeseedt PT, Surani S. Abnormal liver enzymes: A review for clinicians. *World J Hepatol*. 2021 Nov 27;13(11):1688–98.
29. Knockaert L, Berson A, Ribault C, Prost PE, Fautrel A, Pajaud J, et al. Carbon Tetrachloride-mediated Lipid Peroxidation Induces Early Mitochondrial

- Alterations in Mouse Liver. *Laboratory Investigation*. 2012 Mar;92(3):396–410.
30. Rezzani R, Franco C, Rodella LF. Curcumin as a Therapeutic Strategy in Liver Diseases. Vol. 11, *Nutrients*. MDPI AG; 2019.
 31. Lely Yaumil Qodriyati N, Sulistyani E, Yuwono B, Kedokteran Gigi F, Jember U, Penyakit Mulut B, et al. Kadar Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) Pada Tikus Wistar (*Rattus*. 2016.
 32. Malik F, Yulianti N. Aktivitas Daun Notika (*Archboldiodendron calosericeum Kobuski*) Terhadap Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Pada Tikus The Activity of Notika Leaves (*Archboldiodendron calosericeum Kobuski*) Against Tumors Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Levels in Rats. 2022;10.
 33. Aulia Y, Safitri F, Fadilah R. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Wortel (*Daucus carota l.*) Terhadap tikus strain wistar (*Rattus novergicus*) yang diinjeksi karagenan. 2013.
 34. Arjadi F, Gumilas NSA, Harini IM, Indriani V, Rujito L. The Hepatotoxic and Nephrotoxic Effects of Purwoceng (*Pimpinella pruatjan molk.*) Roots Ethanol Extract Administration in Subchronic Dose. *Molekul*. 2021;16(2):163–9.
 35. Alizadeh F, Javadi M, Karami AA, Gholaminejad F, Kavianpour M, Haghghian HK. Curcumin Nanomicelle Improves Semen Parameters, Oxidative Stress, Inflammatory Biomarkers, and Reproductive Hormones in Infertile men: A randomized clinical trial. *Phytotherapy Research*. 2018 Mar 1;32(3):514–21.
 36. Nasihun T, Widayati E. Administration of Purwoceng (*Pimpinella alpina Molk*) Improves Oxidative Stress Following UVC Irradiation in Spargue-Dawley male rats. *Journal of Natural Remedies*. 2016 Jul 1;16(3):115–24.
 37. Hamsidar Hasan apt, Niswatun Chasanah Ms, Deniyati Ms, Paula Mariana Kustiawan Ms, Mirnawati Salampe apt, Reza Ghozaly M, et al. *Fitoterapi*. 2021.
 38. karyani ysi, Pengaruh Pemberian Habbatussauda (*Nigella sativa*) terhadap Kadar *Tnf- α* dan *Il-6* (Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur *Wistar* yang diinduksi dengan Diet Tinggi lemak). 2023.
 39. Fitriani u, Dewi tf, Wijayanti e. Analisis Fungsi Hati dan Fungsi Ginjal pada Tikus Setelah Pemberian Ramuan Cabe Jawa, Daun Sendok dan Seledri. *pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 2019;5(2).