

**PENGARUH EKSTRAK KULIT SALAK PONDOH
TERHADAP KADAR SGPT, INTERLEUKIN-6, Dan
*Glutathione Peroxidase***

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Wistar yang diinduksi
*Carbon tetrachloride (CCl₄)***

Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Magister (S2)**



Magister Ilmu Biomedik

Maritsatun Nisa'

MBK 2321010361

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2025**

TESIS

PENGARUH EKSTRAK KULIT SALAK PONDOK TERHADAP KADAR
SGPT, INTERLEUKIN-6, dan *Glutathione Peroxidase*

(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Wistar yang diinduksi
Carbon tetrachloride (CCl₄))

Disusun oleh
Maritsatun Nisa'
MBK 2321010361

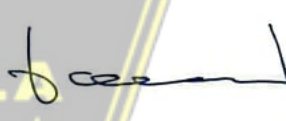
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 26 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I,

Pembimbing II,


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


Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si. Med., Sp.PK
NIK. 210199051

Mengetahui,

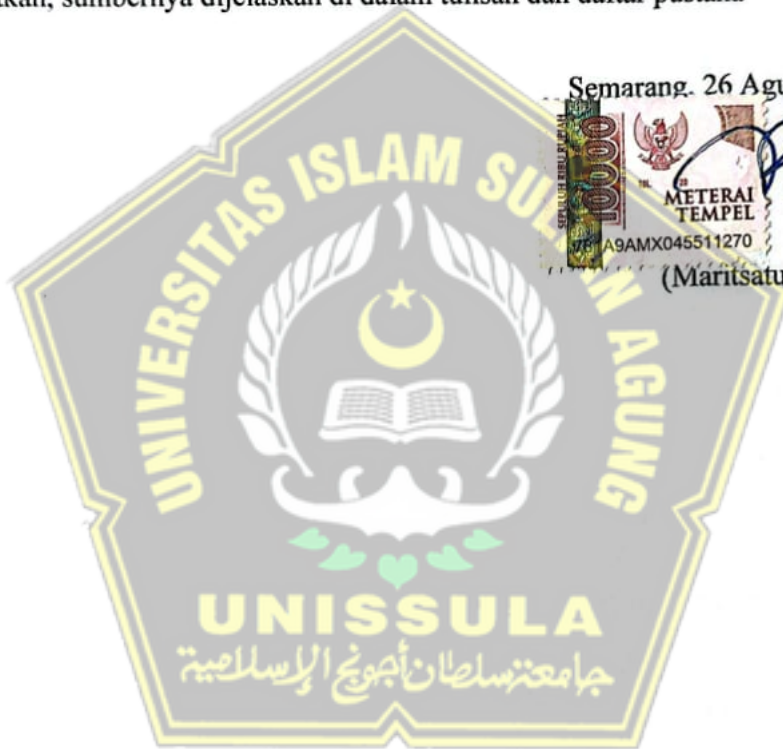
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



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 atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka



Semarang, 26 Agustus 2025

(Maritsatun Nisa')

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Maritsatun Nisa'
Tempat / tanggal lahir : Jepara / 21 Agustus 1997
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN 01 Robayan Jepara : Lulus tahun 2008
2. SMPN 02 Welahan Jepara : Lulus tahun 2011
3. SMAN 1 Jepara : Lulus tahun 2014
4. S1 Fakultas Kedokteran UNISSULA Semarang : Lulus tahun 2018
5. Profesi Dokter UNISSULA Semarang : Lulus tahun 2020
6. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA Semarang : (2023 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama orang tua :

Ayah : Milkhan

Ibu : Endah Rahayu Retno Handayani, S.H

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, sehingga tesis penulis berjudul, **“PENGARUH EKSTRAK KULIT SALAK PONDOH TERHADAP KADAR SGPT, INTERLEUKIN-6 dan *Glutathione Peroxidase*”** ini dapat terselesaikan.

Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister bidang ilmu biomedik kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada:

1. Prof. Dr. Gunarto, S.H., M.Hum. selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.F. SH selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Dr. dr. Eko Setiawan Sp.B., FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan dosen pembimbing I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis hingga selesai
4. Dr. dr. Danis Pertiwi, M.Si. Med., Sp.PK selaku dosen pembimbing II yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis hingga selesai.
5. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku dosen penguji I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk menguji penulis saat ujian tesis.

6. Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.FM selaku dosen penguji II yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk menguji penulis saat ujian tesis.
7. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku dosen penguji III yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk menguji penulis saat ujian tesis.
8. Seluruh tenaga pendidik di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan bekal ilmu yang bermanfaat untuk penyusunan tesis.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak.

Semarang, 26 Agustus 2025



(Maritsatun Nisa')

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
ABSTRAK.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Orisinalitas Penelitian.....	5
1.5. Manfaat Penelitian	9
1.5.1. Manfaat Teoritis.....	9
1.5.2. Manfaat Praktis	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1. <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>	11
2.1.1. Definisi dan Gambaran Umum <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>	11
2.1.2. Peran <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i> dalam Kerusakan Hepar.....	12

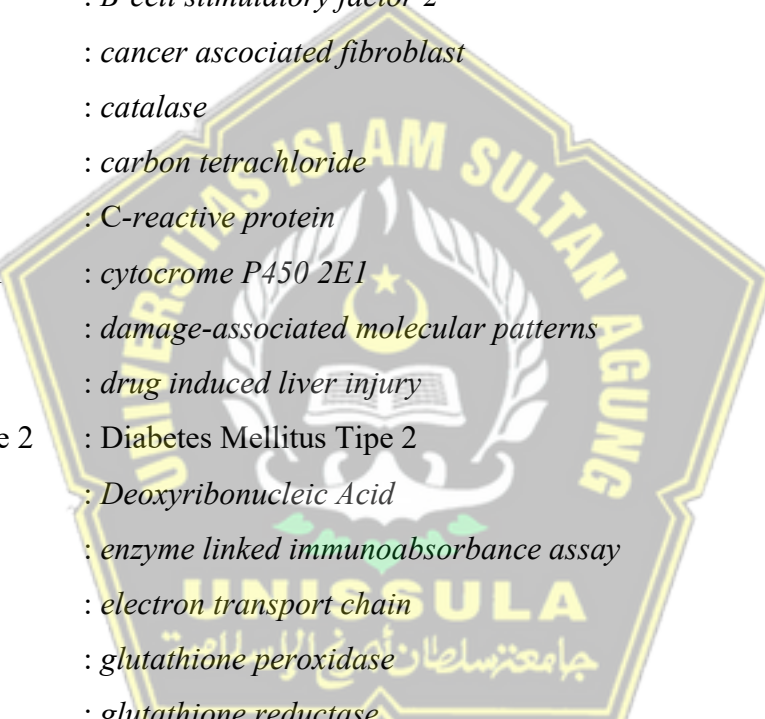
2.1.3. Faktor yang Mempengaruhi Kadar <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>	15
2.1.4. Metode Pengujian <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>	17
2.2. Interleukin 6	17
2.2.1. Definisi dan Gambaran Umum Interleukin 6.....	17
2.2.2. Peran IL-6 dalam Inflamasi.....	18
2.2.3. Peran IL-6 dalam Regenerasi Hepar	19
2.2.4. Faktor yang Mempengaruhi Kadar IL-6	20
2.2.5. Metode Pengujian IL-6	22
2.3. <i>Glutathione Peroxidase</i>	23
2.3.1. Definisi dan Gambaran Umum <i>Glutathione Peroxidase</i>	23
2.3.2. Peran <i>Glutathione Peroxidase</i> dalam Stress Oksidatif dan Inflamasi.....	24
2.3.3. Peran <i>Glutathione Peroxidase</i> dalam Regenerasi Hepar	25
2.3.4. Faktor yang Mempengaruhi Kadar <i>Glutathione Peroxidase</i>	26
2.3.5. Metode Pengujian <i>Glutathione Peroxidase</i>	27
2.4. Kerusakan Hepar Akut.....	28
2.4.1. Definisi dan Gambaran Umum Kerusakan Hepar Akut	28
2.4.2. Animal Model CCl ₄ dalam Kerusakan Hepar Akut.....	31
2.5. Tanaman Salak Pondoh	34
2.5.1. Klasifikasi, Morfologi dan Habitat Tanaman Salak Pondoh	34
2.5.2. Kandungan dan Khasiat Senyawa Fitokimia Kulit Salak	37
2.6. <i>N-Acetylcystein</i>	44
2.7. Tikus Wistar sebagai Hewan Coba	46
2.8. Pengaruh Ekstrak Kulit Salak terhadap SGPT, IL-6 dan GPx	46
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	54
3.1. Kerangka Teori	54
3.2. Kerangka Konsep.....	62

3.3. Hipotesis	62
BAB IV METODE PENELITIAN	63
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	63
4.2. Populasi Penelitian dan Sampel Penelitian	65
4.2.1. Populasi Penelitian	65
4.2.2. Sampel Penelitian	65
4.2.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian	66
4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	66
4.3.1. Variabel Penelitian	66
4.3.2. Defenisi Operasional	67
4.4. Alat dan Bahan Penelitian	68
4.4.1. Alat	68
4.4.2. Bahan	69
4.5. Cara Penelitian	70
4.5.1. <i>Ethical Clearance</i>	70
4.5.2. Cara Pembuatan Ekstrak Kulit Salak	70
4.5.3. Penetapan Dosis	71
4.5.4. Pembagian Kelompok	72
4.5.5. Urutan Penelitian	72
4.5.6. Pengambilan Sampel Darah	73
4.5.7. Perhitungan Kadar SGPT	74
4.5.8. Perhitungan Kadar IL-6	74
4.5.9. Perhitungan Kadar GPx	75
4.6. Tempat dan Waktu Peneltian	75
4.7. Analisa Data	75
4.8. Alur Penelitian	77
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	78
5.1. Hasil Penelitian	78
5.1.1. Kadar SGPT	78
5.1.2. Kadar IL-6	81
5.1.3. Kadar GPx	84

5.2. Pembahasan	87
5.2.1. Pengaruh Ekstrak Kulit Salak Pondoh terhadap Kadar SGPT pada Tikus Wistar yang Diinduksi CCl ₄	88
5.2.2. Pengaruh Ekstrak Kulit Salak Pondoh terhadap Kadar IL-6 pada Tikus Wistar yang Diinduksi CCl ₄	92
5.2.3. Pengaruh Ekstrak Kulit Salak Pondoh terhadap Kadar GPx pada Tikus Wistar yang Diinduksi CCl ₄	97
5.3. Keterbatasan Penelitian.....	101
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	102
6.1. Kesimpulan	102
6.2. Saran	102
DAFTAR PUSTAKA	104
LAMPIRAN.....	127



DAFTAR SINGKATAN



AAT	: <i>alpha-1 antitrypsin</i>
ALF	: <i>acute liver failure</i>
ALP	: <i>alkaline phosphatase</i>
ALT	: <i>Alanine Amino Transferase</i>
ATP	: <i>adenosine triphosphate</i>
BMI	: <i>body mass index</i>
BSF-2	: <i>B-cell stimulatory factor 2</i>
CAFs	: <i>cancer associated fibroblast</i>
CAT	: <i>catalase</i>
CCl ₄	: <i>carbon tetrachloride</i>
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
CYP2E1	: <i>cytochrome P450 2E1</i>
DAMPs	: <i>damage-associated molecular patterns</i>
DILI	: <i>drug induced liver injury</i>
DM Tipe 2	: <i>Diabetes Mellitus Tipe 2</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ELISA	: <i>enzyme linked immunoabsorbance assay</i>
ETC	: <i>electron transport chain</i>
GPX	: <i>glutathione peroxidase</i>
GR	: <i>glutathione reductase</i>
GRX	: <i>glutathione reductases</i>
GSH	: <i>glutathione</i>
GSSG	: <i>glutathione disulfide</i>
GST	: <i>glutathione S-transferase</i>
HSF	: <i>hepatocyte stimulating factor</i>
IBD	: <i>Inflammatory Bowel Disease</i>
IFCC	: <i>International Federation of Clinical Chemistry</i>
IFN- γ	: <i>Interferon gamma</i>
IL-1	: <i>interleukin 1</i>

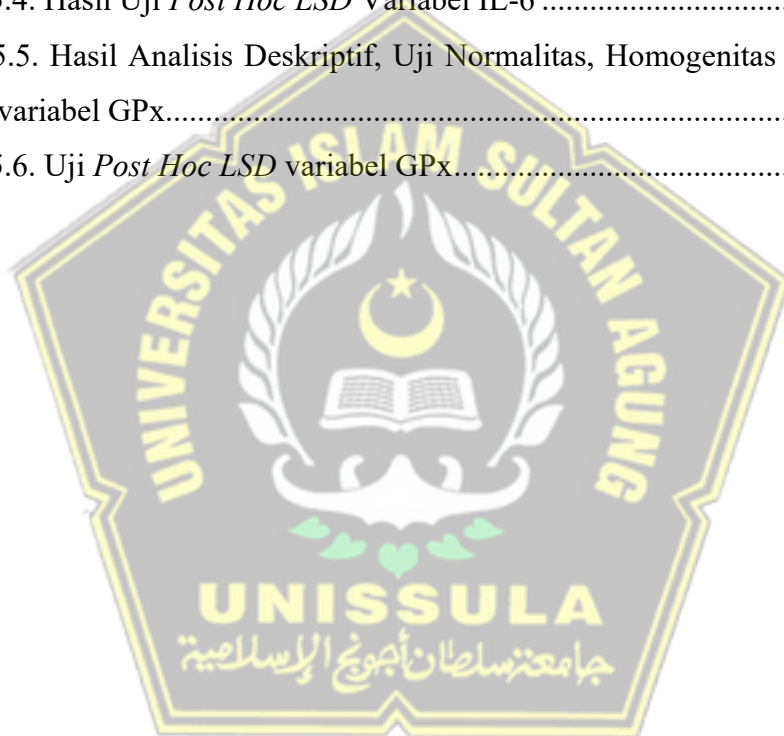
IL-10	: <i>interleukin 10</i>
IL-6	: <i>interleukin 6</i>
IL-8	: <i>interleukin 8</i>
INR	: <i>International Normalized Ratio</i>
IRE1a	: <i>inositol-requiring enzyme -1a</i>
IRS	: <i>insulin receptor substrate 1</i>
JNK1/2	: <i>Jun N-terminal kinase 1/2</i>
LDH	: <i>lactate dehydrogenase</i>
LPS	: <i>lipopolisakarida</i>
MDA	: <i>malondialdehyde</i>
MPTP	: <i>mitochondrial permeability transition pore</i>
NAC	: <i>N-Acetylcystein</i>
NADH	: <i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NAFLD	: <i>non-alcoholic fatty liver disease</i>
NAPQI	: <i>N-acetyl-p-benzoquinone imine</i>
NK	: <i>natural killer</i>
NLR	: <i>Nod-like receptor</i>
PAMPs	: <i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PLP	: <i>Pyridoxal phosphate</i>
PRX	: <i>peroxiredoxins</i>
RA	: <i>Rheumatoid Arthritis</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
S6K	: <i>S6 kinase</i>
SAA	: <i>serum amiloid A</i>
SASP	: <i>senescence-associated secretory phenotype</i>
SDH	: <i>sorbitol dehydrogenase</i>
Se	: <i>Selenium</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>
SKI	: <i>Survei Kesehatan Indonesia</i>

SLE	: <i>Systemic Lupus Erythematosus</i>
SOD	: <i>superoxide dismutase</i>
TCA	: <i>tricarboxylic acid</i>
TLR	: <i>toll like receptors</i>
TME	: <i>Tumor microenvironment</i>
TNF- α	: <i>tumor necrosis factor-alpha</i>
TRX	: <i>thioredoxins</i>
WHO	: <i>World Health Organisation</i>



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 5.1. Hasil Analisis Deskriptif, Uji Normalitas, Homogenitas dan <i>One Way Anova</i> variabel SGPT.....	79
Tabel 5.2. Hasil Uji <i>Post Hoc Tamhane</i> Variabel SGPT.....	80
Tabel 5.3. Hasil Analisis Deskriptif, Uji Normalitas, Homogenitas dan <i>One Way Anova</i> variabel IL-6.....	82
Tabel 5.4. Hasil Uji <i>Post Hoc LSD</i> Variabel IL-6	83
Tabel 5.5. Hasil Analisis Deskriptif, Uji Normalitas, Homogenitas dan <i>One Way Anova</i> variabel GPx.....	85
Tabel 5.6. Uji <i>Post Hoc LSD</i> variabel GPx.....	85



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Mekanisme Hepatotokisitas CCl ₄	32
Gambar 2.2. Morfologi Tanaman Salak.....	35
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	61
Gambar 3.2. Kerangka Konsep	62
Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian	64
Gambar 4.2. Alur Penelitian.....	77
Gambar 5.1. Rerata Kadar SGPT	81
Gambar 5.2. Rerata Kadar IL-6.....	84
Gambar 5.3. Rerata Kadar GPx	87



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 <i>Ethical Clearance</i>	127
Lampiran 2 Kegiatan Penelitian.....	128
Lampiran 3 Administrasi Penelitian.....	131
Lampiran 4 Analisis Data	136



ABSTRAK

Latar belakang: Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) memiliki potensi antioksidan dan antiinflamasi sehingga dapat menurunkan kadar SGPT, IL-6 dan meningkatkan kadar GPx pada kerusakan hepar akut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 dan GPx pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄.

Metode: Jenis penelitian ini adalah eksperimental *post test only control group design*. Subyek penelitian 30 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok: K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif; tikus diinduksi CCl₄, tanpa perlakuan), K3 (kontrol positif; tikus diinduksi CCl₄, N-Acetylcysteine 3,6 mg/kgBB/hari), K4 (perlakuan 1; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari), dan K5 (perlakuan 2; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 600 mg/kgBB/hari). Pemeriksaan SGPT menggunakan spektrofotometri, dan pemeriksaan IL-6 dan GPx menggunakan metode ELISA.

Hasil: Didapatkan rerata $\pm$ SD kadar SGPT lebih rendah pada kelompok K3, K4, dan K5 dibandingkan K2 (29,373 $\pm$ 1,983; 29,050 $\pm$ 0,569; 23,466 $\pm$ 0,795; vs 43,371 $\pm$ 0,590). Didapatkan rerata $\pm$ SD kadar IL-6 lebih rendah pada kelompok K3, K4 dan K5 dibandingkan K2 (50,578 $\pm$ 0,705; 47,455 $\pm$ 0,960; 43,423 $\pm$ 0,899; vs 71,683 $\pm$ 0,720). Didapatkan rerata $\pm$ SD kadar GPx lebih tinggi pada kelompok K3, K4 dan K5 dibandingkan K2 (43,601 $\pm$ 1,444; 45,145 $\pm$ 1,440; 64,436 $\pm$ 1,443; vs 24,308 $\pm$ 1,444). Uji *One Way Anova* didapatkan kadar SGPT, IL-6 dan GPx memiliki perbedaan bermakna antar kelompok ($p<0,001$; $p<0,001$; dan $p<0,001$). Uji *post hoc* didapatkan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol ($p<0,05$).

Kesimpulan: Pemberian ekstrak kulit salak pondoh dapat memberikan pengaruh kadar SGPT, IL-6 dan kadar GPx pada tikus yang diinduksi CCl₄.

Kata Kunci: ekstrak kulit salak pondoh, kerusakan hepar akut, CCl₄, SGPT, IL-6, GPx

ABSTRACT

Background: The liver is an important organ in digestive system, metabolism, immunity and detoxification, but it is highly susceptible to damage. Clinical practitioner does not yet have the primary choice to prevent liver damage. *Salak pondoh* (*Salacca zalaca* (Gaertn) Voss) peel extract has hepatoprotective potential as an antioxidant and anti-inflammatory. The purpose of this study was to determine the effect of *Salak pondoh* (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) peel extract on ALT, IL-6 and GPx levels in rat model CCl₄-induced liver damage.

Methods: This was an experimental post-test only control group study. The subjects were 30 male wistar rats which were divided into 5 groups: control group, CCl₄ model group, N-Acetylcysteine 3.6 mg/kgBW/day group, salak peel extract 400 mg/kgBW/day and 600 mg/kgBW/day group. SGPT was assessed using spectrophotometry, and IL-6 and GPx were using ELISA methods.

Results: There was a significant difference in SGPT levels among the groups (19.095±0.503; 43.371±0.590; 29.373±1.983; 29.050±0.569; 23.466±0.795). There was a significant difference in IL-6 among the groups (42.287±0.875; 71.683±0.720; 50.578±0.705; 47.455±0.960; 43.423±0.899). There was a significant difference in GPx among the groups (70.482±2.745; 24.308±1.444; 43.601±1.444; 45.145±1.440; 64.436±1.443). The *One-Way Anova test* found that SGPT, IL-6 and GPx levels had significant differences between groups ($p<0.001$; $p<0.001$; and $p<0.001$). *Post hoc tests* found significant differences in between treatment groups compared to control groups ($p<0.05$).

Conclusion: *Salak pondoh* peel extract has an effect on ALT, IL-6, and GPx levels in rat model of CCl₄-induced liver damage, proofing its potential to be developed into hepatoprotective agent in the future.

Keywords: salak pondoh peel extract, acute liver damage, CCl₄, SGPT, IL-6, GPx

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hepar merupakan organ yang penting dalam pencernaan, metabolisme, imunitas dan detoksifikasi, namun sangat rentan mengalami kerusakan yang disebabkan oleh zat-zat eksogen seperti alkohol, obat-obatan, dan zat hepatotoksik lainnya.^{1,2} Kerusakan hepar dapat menyebabkan peradangan pada hepar (hepatitis).³ Zat hepatotoksik dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan stress oksidatif dan berujung pada kerusakan hepar.⁴⁻⁶ Stress oksidatif yang terjadi ditandai dengan penurunan kadar marker antioksidan, salah satunya *glutathione peroxidase* (GPx).⁷⁻¹³ Stress oksidatif juga merangsang sel-sel hepar mensekresi zat proinflamasi, salah satunya *interleukin 6* (IL-6).^{4,5,14,15} *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase* (SGPT) yang merupakan salah satu enzim yang paling banyak diproduksi di hepar juga akan banyak dilepas ke aliran darah saat hepar mengalami kerusakan.¹⁵⁻¹⁷ Kerusakan hepar yang dapat berakibat fatal ini belum memiliki terapi pilihan utama untuk mencegah kerusakan hepar akut dalam praktik klinis, sejauh ini pencegahan kerusakan hepar akut dilakukan dengan menghindari penyebab kerusakan hepar.^{18,19} Kerusakan hepar yang disebabkan karna overdosis parasetamol yang memiliki *drug of choice* yaitu *N-Acetylcystein*.^{20,21} Kulit salak memiliki potensi sebagai alternatif untuk mencegah kerusakan hepar.^{22,23}

Kerusakan hepar akut yang terjadi di Indonesia paling banyak disebabkan oleh hepatitis, menurut data Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023 jumlah hepatitis di Indonesia mencapai 877.531 penduduk.²⁴ Kerusakan hepar ini akan mengakibatkan sirosis hepatis, gagal hepar, keganasan hingga kematian bila dibiarkan lebih lama.²⁵ Global Health Estimate World Health Organisation (WHO) tahun 2021 menunjukkan angka kematian yang disebabkan oleh sirosis hepatis di Indonesia pada tahun 2021 mencapai 31,2 per 100.000 penduduk.²⁶

Animal model kerusakan hepar akut yang paling banyak digunakan dalam penelitian adalah induksi *carbon tetrachloride* (CCl₄), karena kerusakannya menyerupai kerusakan hepar pada manusia dari segi morfologi maupun biokimia.²⁷ Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa induksi CCl₄ meningkatkan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT), SGPT, *lactate dehydrogenase* (LDH), and *sorbitol dehydrogenase* (SDH) sebagai bukti kerusakan morfologis hepatosit.⁸⁻¹³ Produk metabolit CCl₄ juga menginisiasi peroksidasi lipid yang mengakibatkan stress oksidatif yang ditandai dengan penurunan marker antioksidan (*catalase*-CAT, *superoxide dismutase*-SOD, *glutathione peroxidase*-GPx, dan *glutathione*-GSH). Stress oksidatif yang disebabkan CCl₄ juga merangsang sel *kupffer* untuk memproduksi sitokin pro-inflamasi yang berlebihan, seperti *interleukin-1* (IL-1), *interleukin-6* (IL-6) dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α).⁷⁻¹³ Tikus wistar dipilih sebagai hewan coba pada penelitian ini karena merepresentasikan sistem pada tubuh mamalia, termasuk manusia. Tikus Wistar juga diketahui

tidak mampu memuntahkan bahan yang dimasukkan ke dalam sistem pencernaan sehingga senyawa dapat terserap secara penuh dalam sistem pencernaan tikus.²⁸

Salak merupakan buah khas Indonesia yang menjadi makanan rakyat yang murah dan mudah didapatkan. Jenis salak yang banyak dijumpai dan dikonsumsi di Jawa Tengah adalah jenis salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss).^{29,30} Pemanfaatan salak pondoh sejauh ini hanya terbatas pada buahnya, sedangkan kulitnya dibuang sebagai limbah.^{31–35} Penelitian terdahulu membuktikan bahwa kulit salak memiliki potensi antioksidan dan anti inflamasi bila diolah menjadi ekstrak.^{30,33,36–38} Ekstrak etanol kulit salak mengandung flavonoid yang dapat menghambat peroksidasi lipid dan berperan sebagai scavengers terhadap radikal bebas. Etanol dipilih sebagai pelarut pembuatan ekstrak herbal dikarenakan dapat menarik flavonoid yang bersifat polar secara maksimal.^{30,38,39} Flavonoid akan berikatan dengan ROS dan membentuk radikal flavonoid hingga menjadi netral. Reaksi ini dapat menghentikan reaksi berantai peroksidasi lipid.^{31,37,40} Penelitian terdahulu membuktikan ekstrak batang salak dapat menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada mencit obesitas.⁴¹ Penelitian lain menunjukkan flavonoid menurunkan kadar SGPT, SGOT, TNF- α , IL-6 serta meningkatkan SOD, catalase, dan GPx. Potensi yang dimiliki ekstrak kulit salak tersebut menjadikan ekstrak kulit salak sebagai salah satu pilihan pencegahan kerusakan hepar akut.^{22,42–45}

CCl₄ menginduksi kerusakan hepar akut yang ditandai dengan peningkatan SGPT, IL-6 dan penurunan GPx. Sejauh ini penelitian tentang

pengaruh pemberian ekstrak kulit salak terhadap kadar SGPT, IL-6 serum dan GPx pada kerusakan hepar akut yang diinduksi CCl₄ masih sangat terbatas. Peneliti bermaksud meneliti tentang pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 serum dan GPx pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan masalah : Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 serum dan GPx pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh terhadap kadar SGPT pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄ dan diberi Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) dosis 400, 600 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh terhadap kadar IL-6 pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄ dan diberi

Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) dosis 400, 600 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh terhadap kadar GPx pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄ dan diberi Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) dosis 400, 600 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok kontrol.

1.4. Orisinalitas Penelitian

Hasil pencarian sumber pustaka menunjukkan saat ini belum ada penelitian yang meneliti pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 dan GPx pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄. Beberapa penelitian yang berhubungan dengan penelitian ini diantaranya:

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
1	Frank, Dmitry (2020) ⁴⁶	<i>Inducing Acute Liver Injury in Rats via Carbon Tetrachloride (CCl₄) Exposure Through an Orogastric Tube</i>	<i>Experimental in Vivo</i>	Pemberian CCl ₄ melalui <i>orogastric tube</i> meningkatkan kadar Bilirubin Total, SGPT, SGOT, dan kerusakan hepar secara signifikan pada semua kelompok
2	Okoro, Israel Oghenev wodokoh wo (2022) ⁴⁷	<i>Protective effects of Alstonia congensis Methan-olic extract against CCl₄ induced liver damage in Wistar rats</i>	<i>Experimental in Vivo</i>	Pemberian Ekstrak Etanol <i>Alstonia congensis</i> 200 mg/kg dan 400 mg/kg berpengaruh terhadap SGPT, SGOT, ALP, Protein Total, Albumin total, MDA, GSH, GPx, Catalase,

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
				SOD, dan Gambaran Histopatologi hepar tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi CCl ₄ .
3	Saleh, Muhammed (2018) ³⁸	<i>Antioxidant and α-Glucosidase Inhibitory Activities and Gas Chromatography–Mass Spectrometry Profile of Salak (Salacca zalacca) Fruit Peel Extracts</i>	<i>Experimental in Vitro</i>	Ekstrak etanol kulit salak memiliki potensi antioksidan, menurunkan α -Glucosidase dan mengandung phenol, flavonoid yang tinggi pada konsentrasi 100%
4	Wu, Ya (2021) ²²	<i>Preventive Effect of Flavonoid Extract from the Peel of Gonggan (Citrus reticulata Blanco Var. Gonggan) on CCl₄-Induced Acute Liver Injury in Mice</i>	<i>Experimental in Vivo</i>	Pemberian ekstrak flavonoid kulit jeruk gonggan 150 mg/kg dan 300 mg/kg memberikan pengaruh pada SGPT, SGOT, SOD, CAT, MDA, TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-6 pada mencit yang diinduksi CCl ₄
5	Arhami, Ade (2024) ⁴¹	<i>The Effect of Giving Salak (Salacca Zalacca) Bark Extract on Liver Function and Histopathological Features of the Liver of Male Wistar White Rats Obesity Model copper in albino mice</i>	<i>Experimental in Vivo</i>	Pemberian Ekstrak Etanol Batang salak dosis 700 mg/kg mengakibatkan penurunan SGPT, SGOT, dan Gambaran histopatologi hepar normal pada tikus putih jantan galur wistar obesitas
6	Girsang, Ermi (2019) ³⁷	<i>Antioxidant and Anti-inflammatory Activity of Salacca zalacca (Gaertn.)</i>	<i>Experimental in Vitro</i>	Ekstrak etanol kulit salak memiliki potensi antioksidan dan anti inflamasi dengan menurunkan kadar

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
		<i>Voss Peel Ethanolic Extract on Lead Induced Fibroblast Cells</i>		ROS intraseluler, TNF- α dan meningkatkan kadar IL-10
7	Girsang, Ermi (2021) ³⁶	<i>Antioxidant Properties of Salacca zalacca (Gaertn.) Voss Peel Ethanolic Extract Compared to Chlorogenic Acid</i>	<i>Experimental in Vitro</i>	Ekstrak etanol kulit salak mengganggu phenol dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan.
8	Setyawaty, Rety (2020) ⁴⁸	<i>Preliminary Studies on the Content of Phytochemical Compounds On Skin of Salak Fruit (Salaccazalacca)</i>	<i>Experimental in Vitro</i>	Ekstrak etanol kulit salak mengganggu alkaloid, triterpenoid, saponin, tannin, dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan.
9	Rusfardy, Jessylyn (2025) ²³	<i>The Effect of Giving Salak Fruit Skin Extract (Salacca zalacca) on Liver Function and Histopathology of the Liver of Male Wistar White Rats with Diabetes Mellitus</i>	<i>Experimental in Vivo</i>	Pemberian Ekstrak Etanol Kulit salak dosis 600 mg/kg mengakibatkan penurunan SGPT, SGOT, dan Gambaran histopatologi hepar normal pada tikus putih jantan galur wistar dengan Diabetes Mellitus
10	Pertiwi, Danis (2025) ⁴⁹	<i>The Effect of Ethanol Extract from Salacca zalacca (Gaertn.) Voss Peel on Antioxidant and Uric Acid Levels in Hyperuricemia Rats</i>	<i>Experimental in Vivo</i>	Pemberian Ekstrak Etanol Kulit salak dosis 420 mg/kg mengakibatkan penurunan SOD, MDA, dan Asam urat pada tikus putih jantan galur wistar dengan Hiperurisemia
11	Wu, Hao (2016) ⁵⁰	<i>Protective Effect of Trillium Tschonoskii Maxim Saponin on CCl₄-induced</i>	<i>Experimental in Vivo</i>	Pemberian <i>Trillium Tschonoskii Maxim Saponin</i> mengakibatkan penurunan SGPT,

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
		<i>Acute Liver Injury of Rats through Apoptosis Inhibition</i>		SGOT, faktor-faktor inflamasi dan menghambat apoptosis sel hepar pada tikus yang diinduksi CCl ₄
12	Zou, Jinfa (2016) ⁵¹	<i>Protective Role of Grape Seed Proanthocyanidin s Against CCl₄ Induced Acute Liver Injury in Mice</i>	<i>Experimental in Vivo</i>	Pemberian <i>Grape Seed Proanthocyanidin</i> mengakibatkan penurunan SGPT, SGOT, TNF- α , IL-6, SOD, GSH dan MDA pada mencit yang diinduksi CCl ₄

Berdasarkan telaah literatur terhadap penelitian terdahulu dan penelitian eksperimental yang akan dilakukan, dapat diidentifikasi persamaan dan perbedaan yang relevan. Fokus penelitian eksperimental yang akan dilakukan adalah meneliti pengaruh ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 dan GPx pada tikus wistar yang mengalami kerusakan hepar dengan diinduksi CCl₄. Induksi CCl₄ baik secara intraperitoneal maupun secara oral melalui orogastric tube dapat memberikan efek kerusakan pada hepar yang ditandai dengan peningkatan SGPT, dan IL-6 serta penurunan GPx. Okoro (2022) membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Alstonia congensis* yang mengandung flavonoid dapat menurunkan SGPT, SGOT, dan meningkatkan SOD, *catalase*, GSH, dan GPx pada tikus yang mengalami kerusakan hepar dengan diinduksi CCl₄. Penelitian lain yang dilakukan oleh Wu (2021) menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk gonggong yang mengandung flavonoid dapat menurunkan SGPT, SGOT, IL-6 dan TNF- α , serta meningkatkan SOD dan *catalase* pada mencit yang

mengalami kerusakan hepar dengan induksi CCl₄. Ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) pada beberapa penelitian sebelumnya telah terbukti mengandung flavonoid dan memiliki potensi sebagai antioksidan dan anti inflamasi. Bagian salak yang telah diteliti pada penelitian sebelumnya adalah batang tanaman salak, yang terbukti dapat menurunkan kadar SGPT, dan SGOT pada tikus putih jantan galur wistar yang mengalami obesitas. Rusfardy (2025) juga meneliti kulit salak yang terbukti dapat menurunkan kadar SGPT, SGOT, dan perbaikan gambaran histopatologi hepar pada tikus jantan galur wistar yang mengalami diabetes mellitus. Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 dan GPx serum pada tikus Wistar yang diinduksi CCl₄ sehingga penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian ekstrak kulit salak terhadap kadar SGPT, IL-6 serum dan GPx pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄ yang akan dilakukan masih layak untuk dilakukan karena memiliki keterbaruan.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi dan dapat menjadi dasar penelitian selanjutnya terkait pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 serum dan GPx pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄.

1.5.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sarana yang bermanfaat dalam mengimplementasikan pemanfaatan pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) sebagai antioksidan, dan antiinflamasi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*

2.1.1. Definisi dan Gambaran Umum *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*

Serum Glutamic Pyruvate Transaminase (SGPT) atau *Alanine Amino Transferase* (ALT) adalah enzim yang banyak ditemukan pada sel hepatosit. Fungsi utama SGPT adalah untuk mengkatalisis kelompok amino dari alanine hingga alpha-ketoglutarate, menjadi piruvat dan glutamate dalam siklus krebs untuk menghasilkan energi dan keseimbangan nitrogen di tubuh. SGPT juga terdeteksi dalam jumlah kecil di jaringan lain seperti ginjal, dan otot.⁵² SGPT merupakan enzim yang keberadaannya dan kadarnya dalam darah dijadikan penanda terjadinya gangguan fungsi hati. Kerusakan pada hati akan menyebabkan enzim - enzim hati tersebut lepas ke dalam aliran darah sehingga kadarnya dalam darah meningkat dan menandakan adanya gangguan fungsi hati.¹⁷

Kadar normal SGPT cukup bervariasi mulai dari 7-56 U/L pada laki-laki dan 5-35 U/L pada perempuan. Nilai tersebut sangat dipengaruhi oleh usia, jenis kelamin dan *body mass index* (BMI) pada orang dewasa. Kadar SGPT pada orang yang mengalami obesitas sedikit lebih tinggi dari baseline. Peningkatan SGPT merupakan tanda dari kerusakan hepar. Peningkatan ringan (1,5 – 5 kali dari nilai normal) biasanya menandakan adanya *non-alcoholic fatty liver disease*

(NAFLD), penggunaan obat-obatan toksik (seperti Paracetamol, dan Obat Anti Tuberculosis), atau hepatitis kronis. Peningkatan sedang-berat (5-15 kali atau > 15 kali nilai normal) mengindikasikan adanya kerusakan hepar akut, iskemik hepar, atau penyakit hepar autoimun. Kadar SGPT yang rendah atau di bawah dari kadar normal cukup jarang terjadi, namun dapat diindikasikan dengan malnutrisi, sirosis hepatis stadium lanjut atau defisiensi vitamin B6.⁵³⁻⁵⁵

2.1.2. Peran *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase* dalam Kerusakan Hepar

SGPT sangat penting untuk menjaga homeostasis energi dan detoksifikasi. Selama puasa atau olahraga, otot rangka melepaskan alanin ke dalam sirkulasi darah. Di hepar, SGPT mengubah alanin menjadi piruvat, substrat untuk glukoneogenesis, memastikan pasokan glukosa yang stabil untuk organ yang bergantung pada energi seperti otak. Secara bersamaan, SGPT berkontribusi pada pembuangan nitrogen dengan menyalurkan gugus amino ke dalam siklus urea, mengubah amonia beracun menjadi urea untuk ekskresi. Tidak seperti *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT), yang didistribusikan secara luas di jaringan seperti jantung dan otot rangka, SGPT memiliki spesifisitas tinggi pada hepar sehingga meningkatkan kegunaan diagnostiknya untuk kerusakan maupun penyakit pada hepar.^{56,57}

SGPT beroperasi melalui mekanisme katalisis dua langkah (ping-pong), yang membutuhkan *Pyridoxal phosphate* (PLP), turunan vitamin

B6, sebagai kofaktor. Pada langkah pertama, SGPT mengikat L-alanin dan α -ketoglutarat, kemudian mentransfer gugus amino L-alanin ke PLP untuk membentuk piruvat. Kompleks enzim-PLP kemudian menyumbangkan gugus amino ke α -ketoglutarat, menghasilkan L-glutamat dan meregenerasi SGPT aktif. Reaksi reversibel ini memungkinkan regulasi dinamis metabolisme asam amino, menyeimbangkan produksi energi (melalui masuknya piruvat ke dalam siklus *tricarboxylic acid*-TCA) dan ekskresi nitrogen.^{16,58}

Studi terbaru menekankan peran SGPT dalam disfungsi mitokondria dan jalur stres oksidatif pada kerusakan hepar akut. Pada penyakit hepar akut yang disebabkan karena obat-obatan, toksin, iskemik, ataupun infeksi virus hepatitis akan mengakibatkan pelepasan SGPT tinggi pada aliran darah. SGPT ini terlibat dalam kaskade patofisiologis yang memperburuk disfungsi mitokondria. Selama stres oksidatif yang dialami oleh sel, aktivitas enzimatis SGPT meningkatkan konversi alanin menjadi piruvat, yang memasuki mitokondria sebagai substrat untuk siklus TCA. Permintaan metabolisme yang meningkat ini dapat meningkatkan kompleks pernapasan mitokondria, yang menyebabkan kebocoran elektron dari *electron transport chain* (ETC) dan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan. Stres oksidatif yang dihasilkan merusak membran mitokondria, protein, dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), selanjutnya merusak sintesis *adenosine*

triphosphate (ATP) dan menstimulasi apoptosis atau nekrosis hepatosit.^{15,16}

Disfungsi mitokondria pada kerusakan hepar akut mengganggu homeostasis kalsium dan mengaktifkan jalur pro-apoptosis, termasuk pembukaan *mitochondrial permeability transition pore* (MPTP). Proses ini memfasilitasi pelepasan sitokrom c ke dalam sitosol, yang mengaktifkan caspase dan memicu kematian sel terprogram. SGPT tidak secara langsung mengatur MPTP, peran metabolismenya dalam menghasilkan piruvat (melalui transaminasi alanin) secara tidak langsung dapat mempengaruhi keseimbangan pada mitokondria.⁵⁹ Dalam kondisi kekurangan antioksidan seperti glutathione—hal ini sering ditemui pada kerusakan hepar akut yang diinduksi toksik—kelebihan piruvat pada mitokondria memperburuk inefisiensi ETC, yang menyebabkan kelebihan produksi ROS. ROS yang meningkat selanjutnya merusak membran mitokondria, mempertahankan pembukaan MPTP dan pelepasan sitokrom c.^{15,59} Penelitian terdahulu membuktikan hepatotoksisitas yang diinduksi acetaminophen menunjukkan bahwa peningkatan SGPT berkorelasi dengan penanda stres oksidatif seperti *malondialdehyde* (MDA) dan aktivitas superoxide dismutase (SOD) yang menurun, menciptakan loop umpan balik di mana ROS mitokondria memperkuat cedera hepatoseluler dan peningkatan SGPT.^{59,60}

2.1.3. Faktor yang Mempengaruhi Kadar Serum *Glutamic Pyruvate Transaminase*

Serum Glutamic Pyruvate Transaminase (SGPT) meningkat pada kondisi kerusakan hepar yang disebabkan oleh peradangan akibat obat-obatan, toksin, zat metabolit, maupun infeksi. Kadar SGPT juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain seperti penyakit metabolik, genetik, nutrisi, dan lain sebagainya.^{52,54,55}

Penyakit metabolik yang sering menyebabkan peningkatan SGPT adalah obesitas, Diabetes Melitus Tipe 2 (DM Tipe 2), maupun Hipotiroidisme. Kondisi-kondisi tersebut akan mengakibatkan akumulasi asam lemak bebas yang dapat mengakibatkan lipotoksisitas pada hepar.⁶¹ Lipotoksisitas hepar yang disebabkan oleh asam lemak bebas melalui berbagai mekanisme. Mekanisme pertama, asam lemak bebas akan merangsang stress pada retikulum endoplasma hepatosit sehingga mengakibatkan metabolisme intra seluler hepatosit terganggu dan berujung pada kerusakan sel. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa akumulasi asam lemak bebas dapat merangsang stress pada retikulum endoplasma hepar melalui jalur *Jun N-terminal kinase 1/2* (JNK1/2) dan jalur protein S6 kinase (S6K). Asam lemak bebas akan mengaktifasi jalur JNK1/2 melalui *inositol-requiring enzyme -1a* (IRE1a) yang menghambat proses fosforilasi serine pada *insulin receptor substrate 1* (IRS1) yang mengakibatkan resistensi insulin.⁶² Asam lemak bebas juga akan memfosforilasi S6K pada Thr389 sehingga memediasi

fosforilasi IRS1 pada Ser307 yang berujung pada resistensi insulin.⁶³ Mekanisme lain yang mendasari lipotoksisitas hepar adalah proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid akan meningkatkan produksi ROS yang dapat mengganggu fungsi mitokondria dan merusak struktur sel hepatosit yang dapat berujung pada kerusakan hepar yang ditandai dengan peningkatan SGPT.^{64,65}

Kondisi genetik yang berhubungan dengan peningkatan SGPT salah satunya adalah Defisiensi *alpha-1 antitrypsin* (AAT) yang disebabkan oleh mutasi gen SERPINA1. Mutasi gen SERPINA1 akan mengakibatkan defisiensi produksi maupun abnormalitas pada pembentukan AAT. AAT normalnya berfungsi untuk melindungi alveolus dari enzim elastase neutrofil yang dikeluarkan saat proses infeksi. Mutasi gen SERPINA1 terutama pada genotip PI*ZZ akan mengakibatkan penumpukan protein AAT abnormal yang dapat berujung pada kerusakan hepar yang ditandai dengan peningkatan SGPT.^{66,67}

Nutrisi yang mempengaruhi kadar SGPT adalah defisiensi choline. Choline adalah salah satu protein esensial yang didapatkan dari konsumsi makanan yang mengandung protein terutama protein hewani, seperti telur, hati sapi, daging sapi, daging ayam, ikan cod, dan lain sebagainya. Defisiensi choline dapat mengganggu metabolisme lipid pada hepar yang dapat mengakibatkan penumpukan lemak bebas pada hepar. Penumpukan lemak bebas pada hepar dapat mengakibatkan kerusakan hepar dikarenakan lipotoksisitas asam lemak bebas.^{68,69}

2.1.4. Metode Pengujian Serum *Glutamic Pyruvate Transaminase*

Kadar SGPT diukur melalui pemeriksaan darah standar, biasanya diperiksa sebagai bagian dari panel fungsi hati. Pasien disarankan untuk berpuasa selama 8-12 jam sebelum pemeriksaan untuk menghindari peningkatan sementara yang disebabkan oleh asupan makanan. Sampel darah dikumpulkan melalui venipuncture, dan kadar SGPT serum diukur menggunakan uji enzimatik. Metode *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) adalah standar baku, yang mengukur SGPT melalui laju oksidasi *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH) pada 340 nm secara spektrofotometri selama reaksi enzimatik.^{56,70}

2.2. Interleukin 6

2.2.1. Definisi dan Gambaran Umum Interleukin 6

Interleukin 6 (IL-6) adalah sitokin yang terdiri atas 184 asam amino yang disekresikan oleh beberapa sel tertentu saat kondisi infeksi, inflamasi atau keganasan. Sel myeloid seperti makrofag, sel dendritik, mensekresikan IL-6 setelah Toll-like receptors (TLR) pada permukaan sel teraktivasi oleh molekul antigen.⁷¹ IL-6 juga diproduksi oleh berbagai sel lain termasuk fibroblas, keratinosit, sel mesangial, endotel vaskuler, dan sel mast yang distimulasi oleh IL-1 maupun Tumor necrotizing factor- α (TNF- α). IL-6 awalnya teridentifikasi sebagai *B-cell stimulatory factor* 2 (BSF-2) yang menstimulasikan sintesis imunoglobulin melalui aktivasi sel B.^{72,73} Pada kondisi normal kadar IL-6 sangat rendah, namun pada beberapa kondisi seperti inflamasi, infeksi atau keganasan kadar IL-6

bisa menjadi sangat tinggi. Peningkatan kadar IL-6 ini sering mengakibatkan badai sitokin yang dapat merusak sel dan jaringan tubuh.⁷²⁻⁷⁴

2.2.2. Peran IL-6 dalam Inflamasi

Respon inflamasi merupakan reaksi sistemik terhadap infeksi, atau cedera jaringan, yang ditandai dengan leukositosis, demam, peningkatan permeabilitas vaskular, perubahan konsentrasi logam plasma dan steroid, serta peningkatan kadar protein fase akut.⁷⁵ Produksi protein fase akut oleh hepatosit diatur oleh beberapa faktor terlarut, seperti IL-1, TNF α dan *hepatocyte stimulating factor* (HSF).⁷⁶ Di antara faktor-faktor ini, hanya HSF yang dapat menginduksi protein fase akut penuh. Telah ditunjukkan bahwa IL-6 rekombinan dapat berfungsi sebagai HSF.⁷⁷ Interleukin 6 dapat menginduksi berbagai protein fase akut, seperti fibrinogen, 1-antichymotrypsin, 1-acid glycoprotein, dan haptoglobin, dalam *cell line* hepatoma manusia.⁷⁷ Selain itu, IL-6 menginduksi serum amiloid A, protein reaktif C, dan 1-antitripsin dalam hepatosit primer manusia. Pada tikus, IL-6 menginduksi fibrinogen, inhibitor proteinase sistein, dan α 2-makroglobulin. Albumin serum diatur secara negatif oleh IL-6.⁷⁸

Protein fase akut pada manusia, yang paling diinduksi, termasuk *C-reactive protein* (CRP), *serum amiloid A* (SAA), haptoglobin dan fibrinogen. Secara fungsional, beberapa protein fase akut merupakan komponen sistem komplemen dan kaskade koagulasi. Protein fase akut

lainnya adalah protease inhibitor, protein transpor atau peserta dalam respon inflamasi, seperti fosfolipase A2 yang disekresikan.⁷⁹ Seperti telah disebutkan, penginduksi utama protein fase akut hepar adalah sitokin IL-6, yang disekresikan oleh neutrofil, monosit, dan makrofag pada stimulasi TLR. Sel myeloid yang teraktivasi selain melepaskan sitokin inflamasi IL-1 dan TNF- α , yang dapat menyebabkan produksi besar-besaran dan sekresi IL-6 dari sel lain seperti sel endotel dan fibroblas sehingga berfungsi sebagai *feed-forward loop*.⁸⁰ Menariknya, pada tikus knockout IL-6, respon fase akut sebagian besar dihambat pada injeksi terpentin, sedangkan hampir normal pada injeksi lipopolisakarida.⁸¹ Ini mungkin karena kompensasi oleh sitokin tipe IL-6 lainnya seperti Interleukin-11, faktor penghambat leukemia, oncostatin M, faktor neurotropik silia, dan kardiotropin 1, yang telah ditunjukkan untuk menginduksi sintesis protein fase akut di hepatosit atau hepatoma. Oleh karena itu diyakini bahwa anggota keluarga sitokin ini adalah aktor fisiopatologi hati.^{82,83}

2.2.3. Peran IL-6 dalam Regenerasi Hepar

Reaksi yang paling penting dari hati terhadap cedera adalah regenerasi hati dan berdasarkan percobaan menggunakan hewan coba ditemukan bahwa sitokin ekstrahepatik dapat memberikan stimulus untuk proliferasi hepatosit.⁸⁴ Hanya 2 jam setelah hepatektomi, tingkat TNF α meningkat diikuti oleh peningkatan dramatis kadar IL-6 di vena hati⁸⁵. Setelah hepatektomi atau kerusakan hati, faktor yang diturunkan

dari usus seperti lipopolisakarida (LPS) mengaktifkan sel Kupffer yang tinggal di hati yang menghasilkan sekresi IL-6 yang bergantung pada TNF.⁸⁶

Secara konsisten, tikus knock-out IL-6 menunjukkan gangguan regenerasi hati.⁸⁷ Juga di bawah kondisi kolestatik, jumlah sel progenitor hati regeneratif berkurang jika sinyal IL-6 rendah. Data eksperimental ini menunjukkan peran penting IL-6 dalam regenerasi hati. Tikus transgenik untuk sIL-6R manusia menunjukkan bahwa protein ini bertindak sebagai protein pengikat serum untuk IL-6 dan memperpanjang waktu paruh IL-6 dan tikus transgenik ganda yang mengekspresikan IL-6 manusia dan sIL-6R manusia dipamerkan proliferasi hepatosit permanen.^{87,88} Kami menyimpulkan dari hasil ini bahwa IL-6 dengan adanya sIL-6R merupakan stimulus kuat dari regenerasi hati.⁸⁹

2.2.4. Faktor yang Mempengaruhi Kadar IL-6

Kadar IL-6 pada tubuh dapat dipengaruhi oleh berbagai macam kondisi, selain kerusakan hepar, kondisi lain seperti inflamasi kronik karena infeksi, penuaan, penyakit metabolik, dan autoimun dapat mempengaruhi kadar IL-6. Kadar IL-6 juga dipengaruhi oleh kondisi genetik, obat-obatan, kanker, dan nutrisi juga dapat mempengaruhi kadar IL-6 serum.⁹⁰

Inflamasi kronik yang berlangsung terus menerus pada tubuh dapat ditandai dengan adanya kadar IL-6 yang tinggi. *Rheumatoid Arthritis* (RA), *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE), dan *Inflammatory*

Bowel Disease (IBD) sering dikaitkan dengan disregulasi IL-6. Pada RA, fibroblas dan makrofag memproduksi IL-6 yang mengakibatkan kerusakan sendi.⁹¹ IL-6 pada SLE berperan dalam mempercepat maturasi sel B yang berdiferensiasi menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi dan imunoglobulin.⁹² IL-6 juga dapat memodulasi diferensiasi Th17 yang menyebabkan kerusakan epitel usus pada IBD.⁹³ Polimorfisme gen promotor IL-6 (-174 G/C) mempengaruhi transkripsi alel G yang dikaitkan dengan kadar IL-6 yang lebih tinggi pada rheumatoid arthritis dan sepsis. Modifikasi epigenetik, seperti asetilasi histon, juga mengatur ekspresi IL-6 pada kanker dan inflamasi kronis.⁹¹

Penuaan dikaitkan dengan *senescence-associated secretory phenotype* (SASP), di mana sel yang mengalami penuaan akan mensekresi IL-6 yang mengakibatkan inflamasi kronis dan penyakit degeneratif.^{90,91} Obesitas dan DM Tipe 2 merupakan kondisi yang sering dikaitkan dengan inflamasi kronik. Makrofag jaringan adiposa pada pasien obesitas dan DM Tipe 2 mensekresikan IL-6 yang menginduksi resistensi insulin melalui pensinyalan JAK-STAT pada hepatosit dan otot rangka. IL-6 juga merangsang glukoneogenesis hati dan lipogenesis yang dapat memperburuk hiperglikemia dan dislipidemia.⁹⁰

IL-6 juga berperan dalam tumorigenesis dengan merangsang angiogenesis, metastasis, dan *immune evasion*. Multiple myeloma dan karsinoma hepatoseluler mensekresi IL-6 yang mengaktifkan STAT3 untuk meningkatkan kelangsungan hidup dan proliferasi sel kanker.^{91,94}

Pada *Tumor microenvironment* (TME) IL-6 berinteraksi dengan berbagai jenis sel termasuk sel kanker, sel imun, dan sel stroma, seperti fibroblas dan *cancer associated fibroblast* (CAFs) untuk mendorong inflamasi kronis yang mendukung perkembangan kanker.^{95,96} IL-6 memediasi komunikasi antara sel kanker dan sel stroma yang berpengaruh pada proses seperti angiogenesis dan metastasis. IL-6 juga dapat menggeser keseimbangan sel-sel imun pada TME sehingga berpotensi menciptakan lingkungan immunosupresif atau memobilisasi respons imun anti-tumor.^{96,97}

Konsumsi makanan dan obat-obatan tertentu juga dapat mempengaruhi kadar IL-6 serum. Diet tinggi lemak jenuh (misalnya, minyak kelapa) meningkatkan pelepasan IL-6 dari adiposit dengan mempromosikan stres oksidatif dan aktivasi TLR4. Sebaliknya, lemak tak jenuh tunggal (misalnya, minyak zaitun) mengurangi sekresi IL-6. Asupan buah dan sayuran yang tinggi menurunkan IL-6 melalui antioksidan (misalnya, vitamin C, flavonoid) yang dapat menurunkan ROS. Konsumsi kacang kenari, dan almond juga terbukti dapat mengurangi IL-6 sebesar 18% karena kandungan polifenol dan seratnya.

98,99

2.2.5. Metode Pengujian IL-6

Interleukin 6 merupakan protein yang diekspresikan di dalam sel serta disekresikan ke luar sel sehingga pengujian dapat dilakukan secara in situ di jaringan atau serum dan plasma darah. Metode untuk menguji

IL-6 pada jaringan dapat menggunakan beberapa metode antara lain metode Polymerase Chain Reaction (PCR), immunohistokimia, immuno fluorescence, dan western blot.^{100–102} Sedangkan analisis kadar IL-6 pada serum atau pun plasma darah dapat menggunakan metode *enzyme linked immunoabsorbance assay* (ELISA).

2.3. *Glutathione Peroxidase*

2.3.1. Definisi dan Gambaran Umum *Glutathione Peroxidase*

Glutathione peroxidase (GPx) adalah golongan enzim antioksidan memiliki peran penting dalam melindungi sel dari stress oksidatif.¹⁰³ Fungsi utama enzim GPx adalah untuk mengkatalisis reduksi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan hidroperoksida lainnya, termasuk hidroperoksida lipid, masing-masing menjadi air dan alkohol. Reaksi ini menggunakan *glutathione* (GSH) sebagai kofaktor, yang dioksidasi menjadi *glutathione disulfida* (GSSG) dalam prosesnya. Reaksi umum dapat diringkas sebagai: $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$.^{103–105}

Enzim GPx sangat bergantung dengan selenium (kecuali GPx5 dan GPx6) dan memiliki beberapa isoform (GPx1-GPx8) yang berbeda dalam lokasi subseluler.¹⁰³ GPx1 merupakan isoform yang paling tersebar luas, terletak di sitosol, dan mitokondria berbagai jenis sel.¹⁰⁶ GPx2 paling banyak ditemukan pada saluran gastrointestinal, dan GPx3 paling banyak ditemukan pada ekstraseluler yaitu pada plasma.^{103,105} GPx4 memiliki kemampuan mengurangi kompleks lipid peroksidase pada membran dan penting untuk menjaga integritas membran.^{107,108} Dan

GPx7/8 berada di retikulum endoplasma yang melindungi kerusakan *folding* protein dari stres oksidatif. Enzim GPx sangat diperlukan dalam mengurangi stres oksidatif yang merupakan penyebab utama penuaan, gangguan metabolisme, dan penyakit kronis.^{103,104}

2.3.2. Peran *Glutathione Peroxidase* dalam Stress Oksidatif dan Inflamasi

GPx sangat penting untuk mengurangi stres oksidatif dan memodulasi respons inflamasi. Stres oksidatif, yang ditandai dengan ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan, memainkan peran penting dalam inisiasi dan perkembangan inflamasi.¹⁰⁵ ROS, seperti hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida, tidak hanya merupakan produk dari stres oksidatif tetapi juga molekul pensinyalan penting dalam jalur inflamasi.¹⁰⁴ GPx secara langsung dapat mengurangi ROS melalui reaksi enzimatik dengan GSH sebagai kofaktor. Dalam proses inflamasi, produksi ROS yang berlebihan dapat memperkuat kaskade pensinyalan inflamasi, mengaktifkan faktor transkripsi pro-inflamasi seperti NF- κ B, dan berkontribusi pada kerusakan jaringan. Dengan mengurangi kadar ROS, GPx dapat meredam sinyal pro-inflamasi ini.^{103,105}

GPx1 telah terbukti menekan produksi sitokin dan kemokin pro-inflamasi dalam berbagai jenis sel.^{106,109} GPx4, khususnya kemampuannya untuk mengurangi hidroperoksida lipid di dalam membran seluler, sangat penting dalam mencegah ferroptosis, kematian sel yang disebabkan oleh peroksidasi lipid, yang dapat memperburuk

inflamasi jika tidak terkontrol.^{107,108} GPx secara tidak langsung dapat memengaruhi resolusi inflamasi dengan memengaruhi keadaan homeostasis redoks tingkat seluler, yang sangat penting untuk menjaga fungsi sel imun dan penghentian respons inflamasi. Oleh karena itu, enzim GPx bukan hanya antioksidan pasif; namun juga secara aktif berpartisipasi dalam mengatur lingkungan inflamasi dengan mengendalikan stres oksidatif dan kaskade pensinyalan inflamasi.^{103–105}

2.3.3. Peran *Glutathione Peroxidase* dalam Regenerasi Hepar

Peran *Glutathione peroxidase* dalam regenerasi hepar semakin banyak diteliti, karena stres oksidatif berperan sebagai faktor penting yang mempengaruhi proses regenerasi hepar.^{110,111} Regenerasi hepar, setelah kerusakan atau hepatektomi parsial, membutuhkan keseimbangan proses seluler yang diatur secara ketat, termasuk proliferasi sel, kelangsungan hidup, dan diferensiasi, yang semuanya dapat dipengaruhi secara signifikan oleh stres oksidatif.¹¹¹ Selama regenerasi hepar, produksi ROS sering meningkat karena peningkatan aktivitas metabolisme dan respons inflamasi yang terkait dengan perbaikan jaringan.¹⁰³ Enzim GPx, terutama GPx1 dan GPx4, diperkirakan memainkan peran pelindung dengan mempertahankan homeostasis redoks dan mencegah kerusakan oksidatif yang berlebihan pada hepatosit dan sel hati lainnya selama regenerasi.^{103,105,106,109} GPx akan mendetoksifikasi hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida, sehingga dapat melindungi komponen seluler, termasuk DNA, protein, dan lipid,

dari kerusakan oksidatif, sehingga meningkatkan kelangsungan hidup dan proliferasi hepatosit, keduanya penting untuk keberhasilan regenerasi hepar.^{103,106,109,111}

Penelitian sebelumnya membuktikan hubungan antara defisiensi GPx dan gangguan kapasitas regenerasi hepar. Kekurangan GPx1 dapat memperburuk kerusakan oksidatif yang dialami saat hepar mengalami kerusakan dan berpotensi menunda atau mengganggu proses regeneratif.^{105,109} GPx4 dapat mengatur jalur pensinyalan yang penting untuk regenerasi hepar dengan melibatkan faktor pertumbuhan dan sitokin, dan memengaruhi homeostasis redoks.¹¹¹

2.3.4. Faktor yang Mempengaruhi Kadar *Glutathione Peroxidase*

Kadar GPx juga dipengaruhi oleh berbagai kondisi seperti kondisi inflamasi kronis, kanker, penyakit metabolik, kurang nutrisi, dan lain sebagainya.¹⁰³ GPx adalah enzim selenoprotein yang bergantung pada Selenium (Se) sebagai kofaktor. Defisiensi Selenium dapat mempengaruhi sintesis dan fungsi GPx, terutama GPx1, GPx3, dan GPx4, yang bergantung pada selenocysteine untuk sisi aktif enzim. Defisiensi Selenium menurunkan aktifitas GPx, dan memperburuk stress oksidatif yang terjadi.¹¹²

Variasi genetik pada gen GPx juga dapat mempengaruhi kadar GPx, misalnya polimorfisme gen *GPX1* Pro198Leu menurunkan kapasitas antioksidan, dan meningkatkan risiko terjadinya penyakit degeneratif serta kardiovaskuler. Mutasi gen *GPX4* dapat mengganggu

kemampuan GPx4 dalam mereduksi hidroperoksidasi lipid yang berperan dalam ferroptosis yang dapat berujung pada kanker atau penyakit neurodegeneratif.^{103,112}

Kondisi inflamasi kronik seperti pada penyakit autoimun maupun metabolik juga dapat mempengaruhi kadar GPx. Pada RA dan IBD, kadar GPx1 and GPx4 mengalami penurunan akibat inflamasi yang terjadi terus menerus yang menyebabkan kegagalan supresi jalur NF- κ B. Peningkatan ROS akibat inflamasi kronis yang terjadi menyebabkan kadar GPx terus menurun, yang berakibat pada kerusakan jaringan oleh ROS.^{103,106,109,112} Obesitas dan DM Tipe 2 juga berhubungan dengan disfungsi GPx. Jaringan adiposa pada pasien Obes dan DM Tipe 2 menunjukkan penurunan kadar GPx1 yang berakibat pada peningkatan peroksidasi lipid dan resistensi insulin.^{103,109,112} Hiperglikemia pada DM Tipe 2 secara langsung menonaktifkan GPx melalui proses glikasi, yang dapat mempengaruhi kadar GPx serum dan meningkatkan kerusakan sel β pankreas oleh ROS.^{106,109}

2.3.5. Metode Pengujian *Glutathione Peroxidase*

GPx merupakan antioksidan yang diekspresikan di dalam sel serta disekresikan ke luar sel sehingga pengujian dapat dilakukan secara in situ di jaringan atau serum dan plasma darah. Metode untuk menguji GPx pada jaringan dapat menggunakan beberapa metode antara lain metode Polymerase Chain Reaction (PCR), immunohistokimia, immuno fluorescence, dan western blot.^{100–102} Sedangkan analisis kadar

GPx pada serum atau pun plasma darah dapat menggunakan metode *enzyme linked immunoabsorbance assay* (ELISA).

2.4. Kerusakan Hepar Akut

2.4.1. Definisi dan Gambaran Umum Kerusakan Hepar Akut

Hepar merupakan organ yang sangat penting karena memiliki fungsi antara lain sebagai penghasil enzim pencernaan, metabolisme, imunitas dan detoksifikasi. Hepar sangat rentan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh zat-zat eksogen seperti alkohol, obat-obatan dan zat hepatotoksik lainnya.¹ Kerusakan hepar akut atau yang sering disebut *acute liver failure* (ALF) adalah kondisi langka, akut, berpotensi reversibel yang mengakibatkan gangguan hati yang parah dan penurunan klinis yang cepat pada pasien tanpa riwayat penyakit hati.¹¹³ Definisi ALF yang digunakan cukup bervariasi. Definisi yang paling banyak digunakan adalah munculnya perubahan status mental (ensefalopati) dan koagulopati (*International Normalized Ratio*-INR $\geq 1,5$) dalam durasi < 26 minggu pada pasien tanpa riwayat penyakit hati atau sirosis sebelumnya.^{114,115} ALF ini awalnya ditandai dengan peningkatan enzim transaminase (SGPT, SGOT) 2-3 kali dari batas normal, koagulopati (INR ≥ 1.5), hingga ensefalopati hepatic.^{113,116}

ALF kemudian diklasifikasikan lagi menurut klasifikasi O'Grady berdasarkan kecepatan onset munculnya ensefalopati¹¹⁷ hepatic. ALF hiperakut ditandai dengan munculnya ensefalopati hepatic < 7 hari, kondisi ini sering disebabkan oleh intoksikasi parasetamol, virus

hepatitis A, E dan iskemik hepar. Ensefalopati hepatic muncul dalam 7-21 hari pada ALF akut. ALF akut ini disebabkan oleh infeksi virus hepatitis B. ALF subakut ditandai dengan munculnya ensefalopati hepatic dalam 22 hari hingga kurang dari 26 minggu, kondisi ini biasanya disebabkan oleh *drug induced liver injury* (DILI) yang disebabkan oleh selain parasetamol.¹¹³⁻¹¹⁵

Mekanisme patogenesis ALF bervariasi bergantung pada etiologi yang mendasari terjadinya ALF.¹¹⁶ Patogenesis ALF diawali dari respon imun innate yang kemudian diikuti respon imun adaptif. *Pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) berperan dalam patogenesis ALF yang disebabkan oleh infeksi virus hepatitis, sedangkan *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) berperan dalam ALF yang disebabkan oleh zat hepatotoksik.^{5,118,119} Sel imun innate yang berperan dalam pengenalan PAMPs/DAMPs ini cukup banyak diantaranya monosit, makrofag, sel dendritik, leukosit, dan sel *natural killer* (NK). Pengenalan PAMPs/DAMPs ini dijumpai oleh pattern recognition receptors diantaranya *toll like receptors* (TLR), *Nod-like receptor* (NLR) yang banyak terletak di permukaan sel fagosit, sel dendritik, leukosit, dan lain-lain.^{4,5} Proses tersebut akan merangsang pengeluaran sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6 dan TNF- α . Sitokin proinflamasi tersebut akan menambah kerusakan yang dialami oleh hepar.^{14,72,120}

Mekanisme terjadinya ALF juga didasari oleh stress oksidatif yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara radikal bebas, dan

antioksidan pada hepar.^{4,5} Hepar sebagai organ yang berperan dalam merabolisme, dan detoksifikasi secara normal memproduksi ROS melalui rantai respirasi mitokondria. Hal tersebut mengakibatkan hepar memiliki mekanisme pertahanan dari ROS yang diperantarai oleh antioksidan enzimatis (SOD, GPx, CAT, *glutathione reductases*-GRX, *peroxiredoxins*-PRX, dan *thioredoxins*-TRX) dan antioksidan non enzimatis (GSH, dan ubiquinone).^{4,7,85} Infeksi hepatitis virus, alkohol, zat hepatotoksik, maupun metabolitnya dapat meningkatkan kadar ROS pada hepar sehingga mengakibatkan ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan. ROS yang tinggi dapat merangsang peroksidasi lipid yang dapat mengganggu integritas dan permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kerusakan hepar.^{7,85,120}

Stres oksidatif mendorong *influx* kalsium ke dalam sel dan redistribusi kalsium seluler dari retikulum endoplasma ke sitosol, mitokondria dan nukleus, yang dapat memicu apoptosis dan nekrosis sel hepatosit.^{85,121} Respons ini meningkatkan permeabilitas mitokondria dan memfasilitasi pelepasan faktor pro-apoptosis seperti sitokrom c, dan aktivasi endonuklease, protease dan lipase yang berkontribusi pada kematian hepatosit dan jenis sel hepar lainnya.^{120,122} Kerusakan hepatosit ini akan menghasilkan pelepasan DAMPs yang dapat menginduksi cascade inflamasi dan meningkatkan sekresi sitokin inflamasi hingga berujung kerusakan hepatosit yang lebih parah.^{4,5,14,72,120,121}

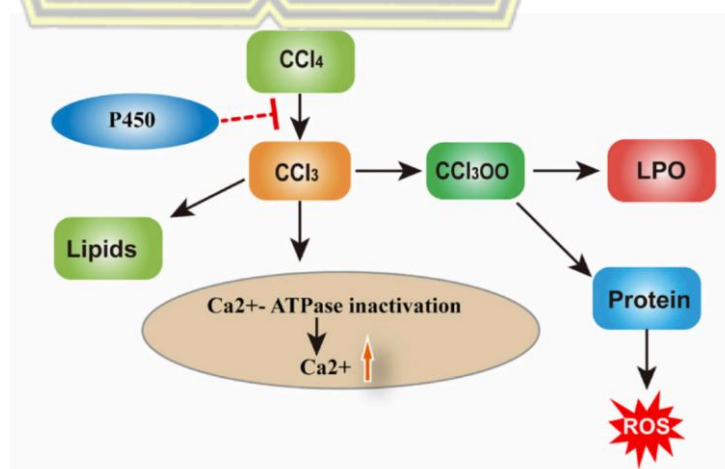
2.4.2. Animal Model CCl₄ dalam Kerusakan Hepar Akut

Animal model kerusakan hepar akut yang sering dilakukan pada tikus wistar ada beberapa model diantaranya induksi CCl₄, D-galactosamin, thioacetamide, concanavalin A dan lain-sebagainya.^{123–125} Animal model kerusakan hepar akut menggunakan CCl₄ memiliki keuntungan dimana kerusakan hepar yang disebabkan CCl₄ ini menyerupai kerusakan hepar pada manusia dari segi fungsi, metabolisme, morfologi maupun karakteristik biokimia.^{27,125} Induksi dengan CCl₄ juga tidak memakan waktu lama sehingga cukup ekonomis untuk digunakan.¹²⁵

CCl₄ tidak memiliki efek sitotoksik langsung kepada hepar, namun produk metabolisme CCl₄ seperti *trichloromethyl* dan *trichloromethyl peroxy* memiliki efek radikal toksik sehingga mengakibatkan kerusakan membran hepatosit.^{1,126} CCl₄ dimetabolisme di hepar oleh enzim *cytchrome P450 2E1* (CYP2E1) untuk membentuk *trichloromethyl* yang memiliki sifat sebagai radikal bebas. *Trichloromethyl* kemudian dioksidasi membentuk *trichloromethyl peroxy* yang memiliki sifat radikal bebas lebih reaktif.¹²⁴ Radikal bebas tersebut akan bereaksi dengan fosfolipid dan trigliserid pada proses peroksidasi lipid yang menyebabkan stress oksidatif (Gambar 1). Peroksidasi lipid yang terjadi pada membran lipid sel dapat merusak integritas, dan membran organel sel hepatosit sehingga mengakibatkan gangguan permeabilitas.¹²⁷ Permeabilitas sel yang rusak ini akan

menonaktifkan Ca^{2+} -ATPase pada membran sel sehingga meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} pada sitoplasma yang berakibat pada kerusakan sitoskeleton, dan aktivasi fosfolipase. Peningkatan Ca^{2+} pada sitoplasma juga mengakibatkan kerusakan asam amino fungsional yang menyebabkan kerusakan rantai asam nukleat sehingga regulasi sel hepar terganggu, dan menyebabkan apoptosis.¹²⁵ Aldehid reaktif yang terbentuk dari degradasi asam lemak saat proses peroksidasi lipid juga akan mengikat protein fungsional dan menghambat fungsi enzimatik pada hepar yang dapat berujung pada kematian sel.¹²⁴ Rangkaian reaksi tersebut akan menyebabkan kerusakan pada sel-sel hepar yang ditandai dengan peningkatan SGPT dan SGOT. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa induksi CCl_4 meningkatkan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT), *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase* (SGPT), *lactate dehydrogenase* (LDH), and *sorbitol dehydrogenase* (SDH) sebagai bukti kerusakan morfologis hepatosit.⁸⁻

13



Gambar 2.1. Mekanisme Hepatotokisitas CCl_4 ¹²⁵

Stress oksidatif yang disebabkan oleh induksi CCl₄ juga mengganggu keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan pada hepar. Hal tersebut akan mengakibatkan penurunan antioksidan enzimatis (SOD, GPx, CAT, *glutathione reductases*-GRX, *peroxiredoxins*-PRX, dan *thioredoxins*-TRX) dan antioksidan non enzimatis (GSH, dan ubiquinone).¹²⁸ Produk metabolit CCl₄ yang menginisiasi peroksidasi lipid yang mengakibatkan stress oksidatif yang ditandai dengan produksi zat *pro-oxidative* (*xanthine oxidase*, *hydrogen peroxide*-H₂O₂, *NADPH oxidase*) dan penurunan marker antioksidan (CAT, *superoxide dismutase*-SOD, *glutathione S-transferase*-GST, *glutathione peroxidase*-GPx, *glutathione reductase*-GR dan *glutathione*-GSH). Stress oksidatif pada hepar juga merangsang sel *kupffer* hepar untuk memproduksi sitokin inflamasi yang berlebihan, seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) dan tumor necrosis factor- α (TNF- α).⁷⁻¹³

Pemberian CCl₄ per oral menginduksi toksisitas langsung ke epitel usus, membahayakan protein *tight junction* (misalnya, okludin) dan meningkatkan permeabilitas usus. Hal ini memungkinkan produk mikroba, seperti lipopolisakarida (LPS), untuk bertranslokasi ke sirkulasi. Pada tikus Wistar, paparan CCl₄ secara signifikan mengurangi jumlah bakteri penghasil *short chain fatty acid* (SCFA) yang bermanfaat bagi tubuh (misalnya, *Clostridium leptum* dan *C. coccoides*) sekaligus mendorong pertumbuhan *Enterobacteriaceae* yang merangsang

inflamasi^{129,130}. Disbiosis ini diperburuk oleh stres oksidatif di usus, karena metabolisme CCl₄ menghasilkan radikal *trichlorometyl* ($\bullet\text{CCl}_3$) yang merusak sel-sel usus dan mengubah komposisi *microbiome*. Hilangnya SCFA, terutama butirat, semakin merusak integritas barier usus dan respons anti-inflamasi, menciptakan lingkaran setan disfungsi usus.¹³¹

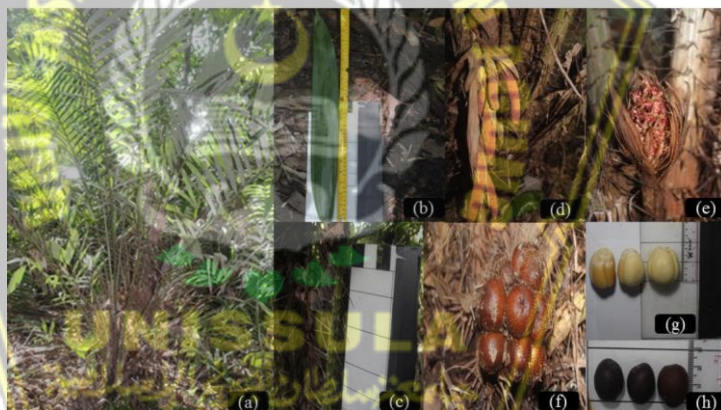
Lipopolisakarida dan metabolit mikroba lainnya yang berpindah ke sirkulasi mengaktifkan reseptor seperti Toll (TLR), terutama TLR4, pada sel Kupffer dan sel stellate hepar. Hal ini memicu pensinyalan NF- κ B, yang mengarah pada produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IL-1 β ^{130,132}. Pada tikus Wistar, paparan CCl₄ meningkatkan kadar TNF- α dan IL-6 serum, meningkatkan apoptosis hepatosit dan nekro-inflamasi^{132,133}. Selain itu, pengurangan SCFA yang disebabkan oleh disbiosis menyebabkan pengurangan efek anti-inflamasi yang dihasilkan SCFA, sehingga semakin memperkuat peradangan yang dimediasi NF- κ B.¹²⁹ Stres oksidatif simultan dari radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme CCl₄ bersinergi dengan peradangan untuk mendorong kerusakan hepatoseluler, fibrosis, dan peningkatan enzim hati (SGPT)^{131,132}.

2.5. Tanaman Salak Pondoh

2.5.1. Klasifikasi, Morfologi dan Habitat Tanaman Salak Pondoh

Tanaman salak pondoh (*Salacca zalaca* (Gaertn) Voss) termasuk golongan pohon palem rendah yang tumbuh berumpun. Tanaman ini

mempunyai ciri batang berwarna coklat, bulat, dan tegak. Daun majemuk, panjang 50-75 cm, lebar 7-10 cm, berwarna hijau, permukaan bawah seperti lilin, bentuk lanset, ujung runcing, tepi dan pangkal rata, serta bertangkai, helai daun runcing tanpa tangkai. Mekar: tongkol, batang, dan bunga berwarna coklat muda, panjang 7–15 cm. Buahnya berbentuk seperti telur dan sisiknya tersusun rapi. Daging buahnya yang berwarna coklat putih terbagi menjadi dua atau tiga bagian dan berwarna coklat tua. Bijinya berbentuk lonjong atau bulat, keras, dan diameter sekitar 1,5 cm. Warnanya coklat kehitaman. Akarnya berwarna coklat muda dan berserabut.¹³⁴



Gambar 2.2. Morfologi Tanaman Salak¹³⁴

(a) pohon, (b) daun, (c) duri, (d) bunga jantan, (e) bunga betina, (f) buah, (g) daging buah, (h) biji

Tanaman salak (*Salacca zizania* (Gaert.) Voss.) diduga berasal dari Pulau Jawa dan sudah dibudidayakan sejak ratusan tahun silam. Pada masa penjajahan, tanaman ini dibawa ke pulau – pulau lain dan akhirnya tersebar luas sampai ke Filipina, Malaysia, Brunei, dan Thailand. Masyarakat Deli, Sunda, Jawa, Madura, dan Bali menyebutnya salak,

masyarakat Minang, Makasar, dan Bugis menamainya sala, sedangkan masyarakat Kalimantan menyebutnya hakam atau tusum. Daerah sebarannya yang luas menyebabkan banyak ragam varietas salak. Keragaman ini semakin meningkat sejalan dengan penggunaan biji sebagai sarana pembiakan. Varietas salak umumnya dikenal berdasarkan daerah tumbuhnya. Salak pondoh dan salak bali merupakan varietas yang memiliki nilai komersial tinggi.³¹ Varietas salak pondoh yang digunakan adalah varietas salak pondoh magelang, yang diperoleh dari Nglumut, Magelang, Indonesia (7° 36' 50" S, 110° 21' 27" E).

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedudukan tanaman salak diklsifikasikan sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
- Sub Kingdom : Trachebionta
- Super Divisi : Spermatophyta
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Lilopsida
- Sub Kelas : Arecidae
- Ordo : Arecales
- Famili : Areceae
- Genus : Salacca
- Spesies : *Salacca zalacca* (Gaert.) Voss

2.5.2. Kandungan dan Khasiat Senyawa Fitokimia Kulit Salak

Tanaman salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss.) memiliki banyak khasiat dan manfaat, selain daging buahnya, biji dan kulit buah salak juga bisa dimanfaatkan.³¹ Kulit salak merupakan limbah yang biasanya tidak terpakai lagi, namun kulit buah salak mengandung nilai gizi berupa kadar protein, kadar karbohidrat, kadar air, serta rendah lemak. Kulit buah ini juga mengandung senyawa yang dapat berguna sebagai antibakteri. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa daging dan kulit buah salak mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan alkaloid.^{31,40,135}

Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti-inflamasi, kardioprotektif, antidiabetes, anti kanker, anti penuaan, antioksidan dan lain-lain. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Struktur tersebut menjadikan flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi.^{136,137}

Flavonoid memiliki potensi antioksidan yang kuat melalui berbagai mekanisme komplementer. Flavonoid bekerja sebagai scavengers dari ROS melalui donor elektron dari gugus hidroksil fenolik mereka. Transfer atom hidrogen ini menetralkan radikal bebas seperti

anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil ($\bullet OH$), dan radikal peroksil ($ROO\bullet$), sehingga mengganggu reaksi berantai yang menyebabkan peroksidasi lipid, oksidasi protein, dan kerusakan DNA¹³⁸. Flavonoid juga bekerja melalui mekanisme *metal chelation* yaitu dengan mengikat logam transisi seperti besi (Fe^{2+}/Fe^{3+}) dan tembaga (Cu^+/Cu^{2+}) yang mengkatalisis reaksi Fenton menghasilkan radikal bebas seperti $\bullet OH$ yang sangat reaktif.¹³⁹

Flavonoid juga mengaktifkan jalur pensinyalan antioksidan intraseluler untuk mempercepat produksi antioksidan endogen seperti GSH, SOD, dan katalase.^{140,141} Secara fisiologis tubuh mengontrol stres oksidatif dengan mempercepat pelepasan antioksidan endogen. *Nuclear factor erythroid 2* (Nrf2) adalah salah satu mekanisme seluler penting yang bertanggung jawab atas produksi antioksidan endogen saat terjadi stres oksidatif. Nrf2 akan berpasangan dengan KEAP1 ditranslokasikan ke nukleus dan terkonjugasi menjadi *antioxidant response element* (ARE); akan merangsang regulasi gen responsif antioksidan seperti HO1, NQO1, yang selanjutnya mempercepat produksi dan pelepasan antioksidan endogen seperti GSH, SOD, GPx dan katalase untuk mengontrol stres oksidatif. Stres oksidatif yang berlebih akan mengakibatkan disregulasi ikatan Nrf2-KEAP1, mengalami degradasi pada sitosol dan terjadi penurunan produksi antioksidan.¹⁴²⁻¹⁴⁴ Flavonoid akan berperan dalam mengaktifkan jalur pensinyalan Nrf2-KEAP1-ARE dan meningkatkan produksi antioksidan.^{140,141} Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa

ekstrak etanol kulit salak yang mengandung flavonoid dapat menurunkan kadar MDA dan SOD pada tikus hiperurisemia.⁴⁹

Flavonoid juga memiliki potensi sebagai antiinflamasi melalui berbagai mekanisme seperti menghambat regulasi enzim protein kinase dan faktor transkripsi, menghambat enzim phosphodiesterase, mempengaruhi metabolisme asam arakidonat, hingga modulasi sel imun¹⁴⁵. Protein kinase terlibat dalam transduksi sinyal sel dalam proses inflamasi. Flavonoid tertentu dapat menargetkan beberapa kinase sentral yang terlibat dalam beberapa jalur pensinyalan. Penghambatan kinase seperti fosfoinositol kinase, protein kinase C, fosfatidilinositol kinase, tirosin kinase atau kinase-4 yang bergantung pada siklin oleh berbagai jenis flavonoid telah diteliti sebelumnya. Flavonoid juga dapat memodulasi protein kinase dengan penghambatan faktor transkripsi, seperti NF- κ B. Faktor transkripsi ini mengatur beberapa sitokin, kemokin dan molekul adhesi sel yang terlibat dalam peradangan. I κ B bertindak sebagai molekul penghambat NF- κ B, namun, selama peradangan, I κ B difosforilasi dan terdegradasi. Akibatnya, NF- κ B dipindahkan dari sitoplasma ke nukleus di mana ia menginduksi ekspresi gen pro-inflamasi. Flavonoid telah terbukti mengatur aktivitas I κ B dan NF- κ B, sehingga berdampak pada penurunan inflamasi. Flavonoid juga dapat mengatur faktor transkripsi regulasi utama untuk sitokin CD4 + T helper 2 (Th2) seperti GATA-3, dan transduser sinyal dan aktivator transkripsi 6 (STAT-6) yang dapat menurunkan reaksi inflamasi.^{145–148}

Flavonoid juga dapat menghambat fosfodiesterase seperti cAMP phosphodiesterase. cAMP *second messenger molecule* dalam pengaturan fungsi sel selama inflamasi. Kadar cAMP yang tinggi telah dikaitkan dengan fungsi anti-inflamasi. Enzim phosphodiesterase dapat menghidrolisis cAMP untuk menjaga tingkat normal. Efek penghambatan flavonoid pada phosphodiesterase berpotensi memblokir degradasi cAMP dan memperpanjang pensinyalan cAMP^{149,150} Asam arakidonat dilepaskan selama inflamasi dari fosfolipid yang terkandung dalam membran plasma oleh enzim *phospholipase A2* (PLA2). Asam arakidonat kemudian dimetabolisme oleh oksigenase yang berbeda, seperti *cyclooxygenase* (COX) dan *lipxygenase* (LOX), untuk menghasilkan prostaglandin, tromboksan, leukotrien, dan mediator inflamasi lainnya.¹⁴⁵ Flavonoid memiliki potensi untuk menghambat enzim yang terlibat dalam metabolisme asam arakidonat, mengurangi pelepasan mediator inflamasi yang berasal dari jalur ini. Flavonoid dapat menghambat biosintesis prostaglandin, tromboksan, leukotrien dengan penghambatan enzim PLA2^{145,151–153}. Flavonoid juga dapat menghambat COX dan LOX terbukti menurunkan kadar IL-6 dan TNF α ^{154,155}.

Tanin adalah sekelompok polifenol bebas nitrogen dengan berat molekul tinggi yang terdapat di hampir semua spesies tanaman. Tanin terbukti memiliki efek anti-inflamasi dan antioksidan^{156–158} Tanin memiliki aktivitas antioksidan karena tingkat hidroksilasi cincin aromatik yang tinggi karena berat molekulnya yang tinggi¹⁵⁷.

Kemampuan untuk mengikat radikal bebas tergantung pada jumlah gugus hidroksil pada tanin, semakin banyak gugus hidroksil dalam tanin maka kadar radikal bebas yang diikat dan dinetralkan menjadi lebih tinggi^{158,159}. Sifat antioksidan tanin mencegah oksidasi kolesterol, yang merupakan prekursor pembentukan plak di pembuluh darah, sehingga mencegah tubuh dari penyakit kardiovaskular. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa tanin dapat melindungi terhadap kardiotoxicitas akut yang diinduksi doxorubicin dengan menghambat peradangan, stres oksidatif, dan apoptosis. Selain itu, tanin menekan oksidasi lipid dengan cara *scavenging* ROS^{160,161} dan menurunkan nefrotoksitas yang diinduksi arsenik trioksida dengan penghambatan simultan NF- κ B dan menghambat aktivasi jalur Nrf2¹⁶². Selain itu tanin juga menghambat efek prostaglandin E2 (PGE2) dalam proses metabolisme arakidonat dan menurunkan efek inflamasi. Tanin juga dapat menurunkan kadar ROS, MDA, dan meningkatkan aktivitas SOD, CAT, GSH, dan GPx. Tanin juga terbukti menekan ekspresi IL-6, IL-8, dan TNF- α . Tanin bekerja dengan menghambat aktivasi inflammasom NLRP3 dengan memblokir pensinyalan NF- κ B untuk menekan sekresi IL-1 β pada makrofag dan menghentikan produksi sitokin proinflamasi berlebih¹⁶³. Asam arakidonat dilepaskan selama inflamasi dari fosfolipid yang terkandung dalam membran plasma oleh enzim *phospholipase A2* (PLA2). Asam arakidonat kemudian dimetabolisme oleh oksigenase yang berbeda, seperti *cyclooxygenase* (COX) dan *lipoxygenase* (LOX),

untuk menghasilkan prostaglandin, tromboksan, leukotrien, dan mediator inflamasi lainnya.¹⁴⁵ Tanin dalam penelitian sebelumnya juga terbukti menghambat enzim COX dan LOX yang berperan dalam proses inflamasi¹⁶⁴.

Saponin adalah glikosida amfifilik yang ditandai dengan glikon hidrofobik ditambah dengan bagian gula hidrofilik. Struktur unik ini memungkinkan interaksi membran yang memodulasi pensinyalan seluler. Saponin menunjukkan efek *scavenging* ROS yang dapat melawan berbagai radikal bebas, sehingga mencegah oksidasi lipid. Saponin juga dapat mempengaruhi pembentukan ROS yang diinduksi H₂O₂ pada hepatosit. Nrf2 adalah pengatur potensial resistensi sel terhadap oksidan, dan menunjukkan efek preventif sel terhadap berbagai toksisitas dan penyakit kronis yang terkait dengan stres oksidatif¹⁶⁵. Ketika sel terpapar stres oksidatif, glutamat sistein ligase (GCL) dengan cepat diaktifkan oleh Nrf2, berkontribusi pada perlindungan sel yang dimediasi Nrf2 setelah stres oksidatif¹⁶⁶.

Saponin juga dapat menurunkan inflamasi dengan menghambat jalur pensinyalan NF- κ B. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa saponin mengurangi peradangan saraf pada sel glial¹⁶⁷. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa saponin memodulasi kerusakan hepar akut dan fibrosis dengan menekan produksi sitokin proinflamasi melalui pemblokiran pensinyalan NF- κ B dan jalur apoptosis pada tikus yang diinduksi D-galactosamine/LPS^{168,169}.

Triterpenoid meningkatkan kapasitas antioksidan mitokondria dengan memodulasi rantai transpor elektron dan mengurangi kebocoran ROS. Triterpenoid mengatur enzim antioksidan seperti SOD dan GPx melalui aktivasi Nrf2, sementara secara bersamaan menghambat *cytochrome* P450 2E1 (CYP2E1), enzim yang terlibat dalam bioaktivasi xenobiotik⁵¹⁷⁰. Kerusakan hepar akut yang diinduksi oleh asetaminofen triterpenoid terbukti mengurangi pembentukan metabolit beracun *N*-asetil-*p*-benzoquinone imine (NAPQI), mencegah penurunan glutathione (GSH). Triterpenoid juga memiliki peran dalam meningkatkan translokasi Nrf2 dan menurunkan ekspresi gen seperti *Nqo1* dan *Hmox1* pada cedera hati yang diinduksi alkohol¹⁷¹.

Triterpenoid mengganggu pensinyalan pro-inflamasi pada beberapa mekanisme. Triterpenoid menurunkan inflamasi hepar dengan menghambat rantai TLR4 / MyD88 / NF- κ B, mengurangi sintesis TNF- α , IL-6, dan IL-1 β ¹⁷¹. Triterpenoid memblokir translokasi NF- κ B dengan menstabilkan I κ B α , protein penghambat yang mendegradasi NF- κ B dalam sitoplasma. Triterpenoid juga menginaktivasi inflamom NLRP3 yang dimediasi mitophagy pada makrofag, membatasi maturasi IL-1 β dan infiltrasi neutrofil ke dalam jaringan hepar yang terluka¹⁷².

Alkaloid memiliki efek anti-inflamasi melalui modulasi sel imun dan penekanan sitokin. Alkaloid menghambat inflammasome NLRP3 dengan memblokir aktivasi NF- κ B, mengurangi transkripsi pro-IL-1 β . Ini juga secara langsung menekan aktivasi caspase-1¹⁷³. Alkaloid juga

menurunkan sekresi TNF- α dan IL-6 dalam sel Kupffer dengan mengganggu jalur pensinyalan MAPK (misalnya, p38 dan JNK) dan NF- κ B. Selain itu, alkaloid juga mengurangi infiltrasi neutrofil dengan menghambat ekspresi molekul adhesi (ICAM-1, VCAM-1) pada sel endotel, sehingga membatasi ekstrasvasi leukosit menjadi parenkim hati

174.

2.6. *N-Acetylcystein*

N-Acetylcystein (NAC) adalah derivat asam amino L-cystein, memiliki rumus kimia $C_5H_9NO_3S$. Struktur kimianya mengandung grup acetyl ($-COCH_3$) yang melekat pada gugus cystein. Grup thiol ($-SH$) pada struktur kimianya memungkinkan *N-Acetylcystein* untuk berkerja sebagai agen potensial untuk mengurangi ROS dan bekerja sebagai prekursor Glutathione (GSH).¹⁷⁵

N-Acetylcystein sebagai prekursor Glutathione akan meningkatkan kadar GSH yang menurun akibat radikal bebas, toksin, atau penyakit. GSH menetralsir radikal bebas, mendetoksifikasi xenobiotik, dan menjaga fungsi respon imun.¹⁷⁶ Parasetamol yang dikonsumsi dalam dosis tinggi berakibat pada akumulasi senyawa intermediat metabolitnya, *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI), yang normalnya akan termetabolisme oleh GSH. Overdosis parasetamol mengakibatkan penyimpanan GSH dalam sel menurun, dan NAPQI terus terakumulasi hingga menyebabkan nekrosis sel hepar. NAC digunakan untuk tatalaksana overdosis paracetamol, dimana NAC berperan

untuk mengikat toksik metabolik dan menurunkan toksisitas paracetamol pada hepar, juga mengembalikan kadar GSH hepar.¹⁷⁷

N-Acetylcystein juga memberikan efek menyeimbangkan respon imun yang diakibatkan kerusakan hepar. Kerusakan hepar mengakibatkan respon inflamasi yang berlebihan. Penelitian sebelumnya membuktikan NAC dapat secara signifikan menurunkan kadar malondialdehyde dan homocystein, dan menurunkan sitokin pro inflamasi seperti IL-8, IL-6 dan TNF- α .^{177,178} Penelitian lain juga menunjukkan *N-Acetylcystein* terbukti menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada kerusakan hepar. *N-Acetylcystein* juga terbukti meningkatkan aktifitas GPx dengan meningkatkan avaiabilitas GSH. Pasien yang mengalami kerusakan hepar yang mengkonsumsi NAC dapat meningkatkan kadar GSH. GSH bekerja secara sinergis, dan meningkatkan aktifitas GPx untuk menetralkan proses lipid peroksidase sehingga dapat melindungi hepar dari stress oksidatif.¹⁷⁹

N-Acetylcystein secara umum biasanya digunakan sebagai antidotum overdosis parasetamol dan sebagai agen mukolitik. Dosis harian NAC mulai dari 600-1800 mg/hari, terbagi dalam 2-3 dosis dikarenakan waktu paruh NAC yang cukup singkat yaitu 6 jam. Pada kondisi kerusakan hepar akut, NAC biasanya diberikan dalam dosis awal 150 mg/kgBB secara intra vena, dilanjutkan dengan 50 mg/kgBB setelah 4 jam, dan 100 mg/kgBB setelah 16 jam berikutnya. Pada kondisi akut, pemberian NAC secara oral kurang efektif dikarenakan bioavailabilitasnya yang rendah yaitu 10% yang disebabkan karena *first pass metabolism*.¹⁸⁰

2.7. Tikus Wistar sebagai Hewan Coba

Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan coba yang paling umum digunakan dalam berbagai penelitian biomedis. Hal ini dikarenakan Tikus Wistar mampu merepresentasikan sistem pada tubuh mamalia. Tikus Wistar diketahui tidak mampu memuntahkan bahan yang dimasukkan ke dalam system pencernaan sehingga senyawa dapat terserap secara penuh dalam system pencernaan tikus. Tikus Wistar juga memiliki keunggulan dari hewan coba lain seperti kelinci atau pun marmot seperti ukuran tubuh yang relatif mudah dihandling sehingga memudahkan dalam pengambilan data. Selain itu juga ketersediaan Tikus Wistar tergolong mudah didapatkan karena memiliki tingkat reproduksi yang tinggi.²⁸

2.8. Pengaruh Ekstrak Kulit Salak terhadap SGPT, IL-6 dan GPx

Kulit salak merupakan limbah yang biasanya tidak terpakai lagi, namun kulit buah salak mengandung nilai gizi berupa kadar protein, kadar karbohidrat, kadar air, serta rendah lemak. Kulit buah ini juga mengandung senyawa yang dapat berguna sebagai antibakteri. Kulit buah ini juga mengandung senyawa yang dapat berguna sebagai antibakteri. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa daging dan kulit buah salak mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan alkaloid.^{31,40,135}

Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti-inflamasi, kardioprotektif, antidiabetes, anti kanker, anti penuaan, antioksidan dan lain-lain. Senyawa flavonoid adalah senyawa

polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Struktur tersebut menjadikan flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi.^{136,137}

Flavonoid memiliki potensi antioksidan yang kuat melalui berbagai mekanisme komplementer. Flavonoid bekerja sebagai scavengers dari ROS melalui donor elektron dari gugus hidroksil fenolik mereka. Transfer atom hidrogen ini menetralkan radikal bebas seperti anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil ($\bullet OH$), dan radikal peroksil ($ROO\bullet$), sehingga mengganggu reaksi berantai yang menyebabkan peroksidasi lipid, oksidasi protein, dan kerusakan DNA¹³⁸. Flavonoid juga bekerja melalui mekanisme *metal chelation* yaitu dengan mengikat logam transisi seperti besi (Fe^{2+}/Fe^{3+}) dan tembaga (Cu^+/Cu^{2+}) yang mengkatalisis reaksi Fenton menghasilkan radikal bebas seperti $\bullet OH$ yang sangat reaktif.¹³⁹

Flavonoid juga mengaktifkan jalur pensinyalan antioksidan intraseluler untuk mempercepat produksi antioksidan endogen seperti GSH, SOD, dan katalase.^{140,141} Secara fisiologis tubuh mengontrol stres oksidatif dengan mempercepat pelepasan antioksidan endogen. *Nuclear factor eritroid 2* (Nrf2) adalah salah satu mekanisme seluler penting yang bertanggung jawab atas produksi antioksidan endogen saat terjadi stres oksidatif. Nrf2 akan berpasangan dengan KEAP1 ditranslokasikan ke nukleus dan terkonjugasi menjadi *antioxidant response element* (ARE); akan merangsang regulasi gen

responsif antioksidan seperti HO1, NQO1, yang selanjutnya mempercepat produksi dan pelepasan antioksidan endogen seperti GSH, SOD, GPx dan katalase untuk mengontrol stres oksidatif. Stres oksidatif yang berlebih akan mengakibatkan disregulasi ikatan Nrf2-KEAP1, mengalami degradasi pada sitosol dan terjadi penurunan produksi antioksidan.¹⁴²⁻¹⁴⁴ Flavonoid akan berperan dalam mengaktifkan jalur pensinyalan Nrf2-KEAP1-ARE dan meningkatkan produksi antioksidan.^{140,141}

Flavonoid juga memiliki potensi sebagai antiinflamasi melalui berbagai mekanisme seperti menghambat regulasi enzim protein kinase dan faktor transkripsi, menghambat enzim phosphodiesterase, mempengaruhi metabolisme asam arakidonat, hingga modulasi sel imun¹⁴⁵. Protein kinase terlibat dalam transduksi sinyal sel dalam proses inflamasi. Flavonoid tertentu dapat menargetkan beberapa kinase sentral yang terlibat dalam beberapa jalur pensinyalan. Penghambatan kinase seperti fosfoinositol kinase, protein kinase C, fosfatidilinositol kinase, tirosin kinase atau kinase-4 yang bergantung pada siklin oleh berbagai jenis flavonoid telah diteliti sebelumnya. Flavonoid juga dapat memodulasi protein kinase dengan penghambatan faktor transkripsi, seperti NF- κ B. Faktor transkripsi ini mengatur beberapa sitokin, kemokin dan molekul adhesi sel yang terlibat dalam peradangan. I κ B bertindak sebagai molekul penghambat NF- κ B, namun, selama peradangan, I κ B difosforilasi dan terdegradasi. Akibatnya, NF- κ B dipindahkan dari sitoplasma ke nukleus di mana ia menginduksi ekspresi gen pro-inflamasi. Flavonoid telah terbukti mengatur aktivitas I κ B dan NF- κ B, sehingga berdampak pada penurunan

inflamasi. Flavonoid juga dapat mengatur faktor transkripsi regulasi utama untuk sitokin CD4 + T helper 2 (Th2) seperti GATA-3, dan transduser sinyal dan aktivator transkripsi 6 (STAT-6) yang dapat menurunkan reaksi inflamasi.^{145–148} Flavonoid juga dapat menghambat fosfodiesterase seperti cAMP phosphodiesterase. cAMP *second messenger molecule* dalam pengaturan fungsi sel selama inflamasi. Kadar cAMP yang tinggi telah dikaitkan dengan fungsi anti-inflamasi. Enzim phosphodiesterase dapat menghidrolisis cAMP untuk menjaga tingkat normal. Efek penghambatan flavonoid pada phosphodiesterase berpotensi memblokir degradasi cAMP dan memperpanjang pensinyalan cAMP^{149,150} Asam arakidonat dilepaskan selama inflamasi dari fosfolipid yang terkandung dalam membran plasma oleh enzim *phospholipase A2* (PLA2). Asam arakidonat kemudian dimetabolisme oleh oksigenase yang berbeda, seperti *cyclooxygenase* (COX) dan *lipoxigenase* (LOX), untuk menghasilkan prostaglandin, tromboksan, leukotrien, dan mediator inflamasi lainnya.¹⁴⁵ Flavonoid memiliki potensi untuk menghambat enzim yang terlibat dalam metabolisme asam arakidonat, mengurangi pelepasan mediator inflamasi yang berasal dari jalur ini. Flavonoid dapat menghambat biosintesis prostaglandin, tromboksan, leukotrien dengan penghambatan enzim PLA2^{145,151–153}. Flavonoid juga dapat menghambat COX dan LOX terbukti menurunkan kadar IL-6 dan TNF α ^{154,155}.

Tanin adalah sekelompok polifenol bebas nitrogen dengan berat molekul tinggi yang terdapat di hampir semua spesies tanaman. Tanin terbukti memiliki efek anti-inflamasi dan antioksidan^{156–158} Tanin memiliki aktivitas

antioksidan karena tingkat hidroksilasi cincin aromatik yang tinggi karena berat molekulnya yang tinggi¹⁵⁷. Kemampuan untuk mengikat radikal bebas tergantung pada jumlah gugus hidroksil pada tanin, semakin banyak gugus hidroksil dalam tanin maka kadar radikal bebas yang diikat dan dinetralkan menjadi lebih tinggi^{158,159}. Sifat antioksidan tanin mencegah oksidasi kolesterol, yang merupakan prekursor pembentukan plak di pembuluh darah, sehingga mencegah tubuh dari penyakit kardiovaskular. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa tanin dapat melindungi terhadap kardiotoxikitas akut yang diinduksi doxorubicin dengan menghambat peradangan, stres oksidatif, dan apoptosis. Selain itu, tanin menekan oksidasi lipid dengan cara *scavenging* ROS^{160,161} dan menurunkan nefrotoksitas yang diinduksi arsenik trioksida dengan penghambatan simultan NF- κ B dan menghambat aktivasi jalur Nrf2¹⁶². Selain itu tanin juga menghambat efek prostaglandin E2 (PGE2) dalam proses metabolisme arakidonat dan menurunkan efek inflamasi. Tanin juga dapat menurunkan kadar ROS, MDA, dan meningkatkan aktivitas SOD, CAT, GSH, dan GPx. Tanin juga terbukti menekan ekspresi IL-6, IL-8, dan TNF- α . Tanin bekerja dengan menghambat aktivasi inflammasom NLRP3 dengan memblokir pensinyalan NF- κ B untuk menekan sekresi IL-1 β pada makrofag dan menghentikan produksi sitokin proinflamasi berlebih¹⁶³. Asam arakidonat dilepaskan selama inflamasi dari fosfolipid yang terkandung dalam membran plasma oleh enzim *phospholipase A2* (PLA2). Asam arakidonat kemudian dimetabolisme oleh oksigenase yang berbeda, seperti *cyclooxygenase* (COX) dan *lipoxygenase* (LOX), untuk menghasilkan

prostaglandin, tromboksan, leukotrien, dan mediator inflamasi lainnya.¹⁴⁵ Tanin dalam penelitian sebelumnya juga terbukti menghambat enzim COX dan LOX yang berperan dalam proses inflamasi¹⁶⁴.

Saponin adalah glikosida amfifilik yang ditandai dengan glikson hidrofofik ditambah dengan bagian gula hidrofilik. Struktur unik ini memungkinkan interaksi membran yang memodulasi pensinyalan seluler. Saponin menunjukkan efek *scavenging* ROS yang dapat melawan berbagai radikal bebas, sehingga mencegah oksidasi lipid. Saponin juga dapat mempengaruhi pembentukan ROS yang diinduksi H₂O₂ pada hepatosit. Nrf2 adalah pengatur potensial resistensi sel terhadap oksidan, dan menunjukkan efek preventif sel terhadap berbagai toksisitas dan penyakit kronis yang terkait dengan stres oksidatif¹⁶⁵. Ketika sel terpapar stres oksidatif, glutamat sistein ligase (GCL) dengan cepat diaktifkan oleh Nrf2, berkontribusi pada perlindungan sel yang dimediasi Nrf2 setelah stres oksidatif¹⁶⁶.

Saponin juga dapat menurunkan inflamasi dengan menghambat jalur pensinyalan NF- κ B. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa saponin mengurangi peradangan saraf pada sel glial¹⁶⁷. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa saponin memodulasi kerusakan hepar akut dan fibrosis dengan menekan produksi sitokin proinflamasi melalui pemblokiran pensinyalan NF- κ B dan jalur apoptosis pada tikus yang diinduksi D-galactosamine/LPS^{168,169}.

Triterpenoid meningkatkan kapasitas antioksidan mitokondria dengan memodulasi rantai transpor elektron dan mengurangi kebocoran ROS.

Triterpenoid mengatur enzim antioksidan seperti SOD dan GPx melalui aktivasi Nrf2, sementara secara bersamaan menghambat *cytochrome* P450 2E1 (CYP2E1), enzim yang terlibat dalam bioaktivasi xenobiotik ¹⁷⁰. Kerusakan hepar akut yang diinduksi oleh asetaminofen triterpenoid terbukti mengurangi pembentukan metabolit beracun *N*-asetil-*p*-benzoquinone imine (NAPQI), mencegah penurunan glutathione (GSH). Triterpenoid juga memiliki peran dalam meningkatkan translokasi Nrf2 dan menurunkan ekspresi gen seperti *Nqo1* dan *Hmox1* pada cedera hati yang diinduksi alkohol¹⁷¹.

Triterpenoid mengganggu pensinyalan pro-inflamasi pada beberapa mekanisme. Triterpenoid menurunkan inflamasi hepar dengan menghambat rantai TLR4 / MyD88 / NF- κ B, mengurangi sintesis TNF- α , IL-6, dan IL-1 β ¹⁷¹. Triterpenoid memblokir translokasi NF- κ B dengan menstabilkan I κ B α , protein penghambat yang mendegradasi NF- κ B dalam sitoplasma. Triterpenoid juga menginaktivasi inflammasom NLRP3 yang dimediasi mitophagy pada makrofag, membatasi maturasi IL-1 β dan infiltrasi neutrofil ke dalam jaringan hepar yang terluka ¹⁷².

Alkaloid memiliki efek anti-inflamasi melalui modulasi sel imun dan penekanan sitokin. Alkaloid menghambat inflammasome NLRP3 dengan memblokir aktivasi NF- κ B, mengurangi transkripsi pro-IL-1 β . Ini juga secara langsung menekan aktivasi caspase-1¹⁷³. Alkaloid juga menurunkan sekresi TNF- α dan IL-6 dalam sel Kupffer dengan mengganggu jalur pensinyalan MAPK (misalnya, p38 dan JNK) dan NF- κ B. Selain itu, alkaloid juga mengurangi infiltrasi neutrofil dengan menghambat ekspresi molekul adhesi

(ICAM-1, VCAM-1) pada sel endotel, sehingga membatasi ekstrasvasasi leukosit menjadi parenkim hati ¹⁷⁴.

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa kulit salak memiliki potensi antioksidan dan anti inflamasi.^{30,33,36-38} Penelitian sebelumnya membuktikan ekstrak batang salak dapat menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada mencit obesitas.⁴¹



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Kerusakan hepar yang disebabkan CCl_4 ini menyerupai kerusakan hepar pada manusia dari segi morfologi maupun karakteristik biokimia.²⁷ CCl_4 dimetabolisme di hepar oleh enzim *cytrocrome P450 2E1* (CYP2E1) untuk membentuk *trichloromethyl* yang memiliki sifat sebagai radikal bebas. *Trichloromethyl* kemudian dioksidasi membentuk *trichloromethyl peroxy* yang memiliki sifat radikal bebas lebih reaktif.¹²⁴ Radikal bebas tersebut akan bereaksi dengan fosfolipid dan trigliserid pada proses peroksidasi lipid yang menyebabkan stress oksidatif (Gambar 1). Peroksidasi lipid yang terjadi pada membran lipid sel dapat merusak integritas, dan membran organel sel hepatosit sehingga mengakibatkan gangguan permeabilitas.¹²⁷ Permeabilitas sel yang rusak ini akan menonaktifkan Ca^{2+} -ATPase pada membran sel sehingga meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} pada sitoplasma yang berakibat pada kerusakan sitoskeleton, dan aktivasi fosfolipase. Peningkatan Ca^{2+} pada sitoplasma juga mengakibatkan kerusakan asam amino fungsional yang menyebabkan kerusakan rantai asam nukleat sehingga regulasi sel hepar terganggu, dan menyebabkan apoptosis.¹²⁵ Aldehid reaktif yang terbentuk dari degradasi asam lemak saat proses peroksidasi lipid juga akan mengikat protein fungsional dan menghambat fungsi enzimatik pada hepar yang dapat berujung pada kematian sel.¹²⁴ Rangkaian reaksi tersebut akan menyebabkan kerusakan pada sel-sel hepar yang ditandai dengan peningkatan SGPT dan SGOT.

Berdasarkan penelitian sebelumnya induksi CCl_4 baik secara intraperitoneal maupun secara oral melalui orogastric tube dapat memberikan efek kerusakan pada hepar yang ditandai dengan peningkatan SGPT, dan IL-6 serta penurunan GPx.^{22,46,47} Okoro (2022) membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Alstonia congensis* yang mengandung flavonoid dapat menurunkan SGPT, SGOT, dan meningkatkan SOD, *catalase*, GSH, dan GPx pada tikus yang mengalami kerusakan hepar dengan diinduksi CCl_4 .⁴⁷ Penelitian lain yang dilakukan oleh Wu (2021) menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk gonggan yang mengandung flavonoid dapat menurunkan SGPT, SGOT, IL-6 dan $\text{TNF-}\alpha$, serta meningkatkan SOD dan *catalase* pada mencit yang mengalami kerusakan hepar dengan induksi CCl_4 .²²

Ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) pada beberapa penelitian sebelumnya telah terbukti mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan alkaloid.^{31,40,135} Flavonoid memiliki potensi antioksidan yang kuat melalui berbagai mekanisme komplementer. Flavonoid bekerja sebagai scavengers dari ROS melalui donor elektron dari gugus hidroksil fenolik mereka. Transfer atom hidrogen ini menetralkan radikal bebas seperti anion superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$), dan radikal peroksil ($\text{ROO}\bullet$), sehingga mengganggu reaksi berantai yang menyebabkan peroksidasi lipid, oksidasi protein, dan kerusakan DNA¹³⁸. Flavonoid juga mengaktifkan jalur pensinyalan antioksidan intraseluler untuk mempercepat produksi antioksidan endogen seperti GSH, SOD, dan katalase.^{140,141} Secara fisiologis tubuh mengontrol stres oksidatif dengan

mempercepat pelepasan antioksidan endogen. *Nuclear factor eritroid 2* (Nrf2) adalah salah satu mekanisme seluler penting yang bertanggung jawab atas produksi antioksidan endogen saat terjadi stres oksidatif. Nrf2 akan berpasangan dengan KEAP1 ditranslokasikan ke nukleus dan terkonjugasi menjadi *antioxidant response element* (ARE); akan merangsang regulasi gen responsif antioksidan seperti HO1, NQO1, yang selanjutnya mempercepat produksi dan pelepasan antioksidan endogen seperti GSH, SOD, GPx dan katalase untuk mengontrol stres oksidatif. Stres oksidatif yang berlebih akan mengakibatkan disregulasi ikatan Nrf2-KEAP1, mengalami degradasi pada sitosol dan terjadi penurunan produksi antioksidan.¹⁴²⁻¹⁴⁴ Flavonoid akan berperan dalam mengaktifkan jalur pensinyalan Nrf2-KEAP1-ARE dan meningkatkan produksi antioksidan.^{140,141}

Flavonoid juga dapat memodulasi protein kinase dengan penghambatan faktor transkripsi, seperti NF- κ B. Faktor transkripsi ini mengatur beberapa sitokin, kemokin dan molekul adhesi sel yang terlibat dalam peradangan. I κ B bertindak sebagai molekul penghambat NF- κ B, namun, selama peradangan, I κ B difosforilasi dan terdegradasi. Akibatnya, NF- κ B dipindahkan dari sitoplasma ke nukleus di mana ia menginduksi ekspresi gen pro-inflamasi. Flavonoid telah terbukti mengatur aktivitas I κ B dan NF- κ B, sehingga berdampak pada penurunan inflamasi.¹⁴⁵⁻¹⁴⁸ Asam arakidonat dilepaskan selama inflamasi dari fosfolipid yang terkandung dalam membran plasma oleh enzim *phospholipase A2* (PLA2). Asam arakidonat kemudian dimetabolisme oleh oksigenase yang berbeda, seperti *cyclooxygenase* (COX) dan

lipoxygenase (LOX), untuk menghasilkan prostaglandin, tromboksan, leukotrien, dan mediator inflamasi lainnya.¹⁴⁵ Flavonoid memiliki potensi untuk menghambat enzim yang terlibat dalam metabolisme asam arakidonat, mengurangi pelepasan mediator inflamasi yang berasal dari jalur ini. Flavonoid dapat menghambat biosintesis prostaglandin, tromboksan, leukotrien dengan penghambatan enzim PLA2^{145,151–153}. Flavonoid juga dapat menghambat COX dan LOX terbukti menurunkan kadar IL-6 dan TNF α ^{154,155}.

Tanin adalah sekelompok polifenol bebas nitrogen dengan berat molekul tinggi yang terdapat di hampir semua spesies tanaman. Tanin terbukti memiliki efek anti-inflamasi dan antioksidan^{156–158}. Tanin memiliki aktivitas antioksidan karena tingkat hidroksilasi cincin aromatik yang tinggi karena berat molekulnya yang tinggi¹⁵⁷. Kemampuan untuk mengikat radikal bebas tergantung pada jumlah gugus hidroksil pada tanin, semakin banyak gugus hidroksil dalam tanin maka kadar radikal bebas yang diikat dan dinetralkan menjadi lebih tinggi^{158,159}. Sifat antioksidan tanin mencegah oksidasi kolesterol, yang merupakan prekursor pembentukan plak di pembuluh darah, sehingga mencegah tubuh dari penyakit kardiovaskular. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa tanin dapat melindungi terhadap kardiotoxicitas akut yang diinduksi doxorubicin dengan menghambat peradangan, stres oksidatif, dan apoptosis. Selain itu, tanin menekan oksidasi lipid dengan cara *scavenging* ROS^{160,161} dan menurunkan nefrotoksitas yang diinduksi arsenik trioksida dengan penghambatan simultan NF- κ B dan menghambat aktivasi jalur Nrf2¹⁶². Selain itu tanin juga menghambat efek prostaglandin E2 (PGE2)

dalam proses metabolisme arakidonat dan menurunkan efek inflamasi. Tanin juga dapat menurunkan kadar ROS, MDA, dan, meningkatkan aktivitas SOD, CAT, GSH, dan GPx. Tanin juga terbukti menekan ekspresi IL-6, IL-8, dan TNF- α . Tanin bekerja dengan menghambat aktivasi inflammosom NLRP3 dengan memblokir pensinyalan NF- κ B untuk menekan sekresi IL-1 β pada makrofag dan menghentikan produksi sitokin proinflamasi berlebih¹⁶³. Asam arakidonat dilepaskan selama inflamasi dari fosfolipid yang terkandung dalam membran plasma oleh enzim *phospholipase A2* (PLA2). Asam arakidonat kemudian dimetabolisme oleh oksigenase yang berbeda, seperti *cyclooxygenase* (COX) dan *lipoxygenase* (LOX), untuk menghasilkan prostaglandin, tromboksan, leukotrien, dan mediator inflamasi lainnya.¹⁴⁵ Tanin dalam penelitian sebelumnya juga terbukti menghambat enzim COX dan LOX yang berperan dalam proses inflamasi¹⁶⁴.

Saponin adalah glikosida amfifilik yang ditandai dengan glikson hidrofofik ditambah dengan bagian gula hidrofilik. Struktur unik ini memungkinkan interaksi membran yang memodulasi pensinyalan seluler. Saponin menunjukkan efek *scavenging* ROS yang dapat melawan berbagai radikal bebas, sehingga mencegah oksidasi lipid. Saponin juga dapat mempengaruhi pembentukan ROS yang diinduksi H₂O₂ pada hepatosit. Nrf2 adalah pengatur potensial resistensi sel terhadap oksidan, dan menunjukkan efek preventif sel terhadap berbagai toksisitas dan penyakit kronis yang terkait dengan stres oksidatif¹⁶⁵. Ketika sel terpapar stres oksidatif, glutamat sistein

ligase (GCL) dengan cepat diaktifkan oleh Nrf2, berkontribusi pada perlindungan sel yang dimediasi Nrf2 setelah stres oksidatif¹⁶⁶.

Saponin juga dapat menurunkan inflamasi dengan menghambat jalur pensinyalan NF- κ B. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa saponin mengurangi peradangan saraf pada sel glial¹⁶⁷. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa saponin memodulasi kerusakan hepar akut dan fibrosis dengan menekan produksi sitokin proinflamasi melalui pemblokiran pensinyalan NF- κ B dan jalur apoptosis pada tikus yang diinduksi D-galactosamine/LPS^{168,169}.

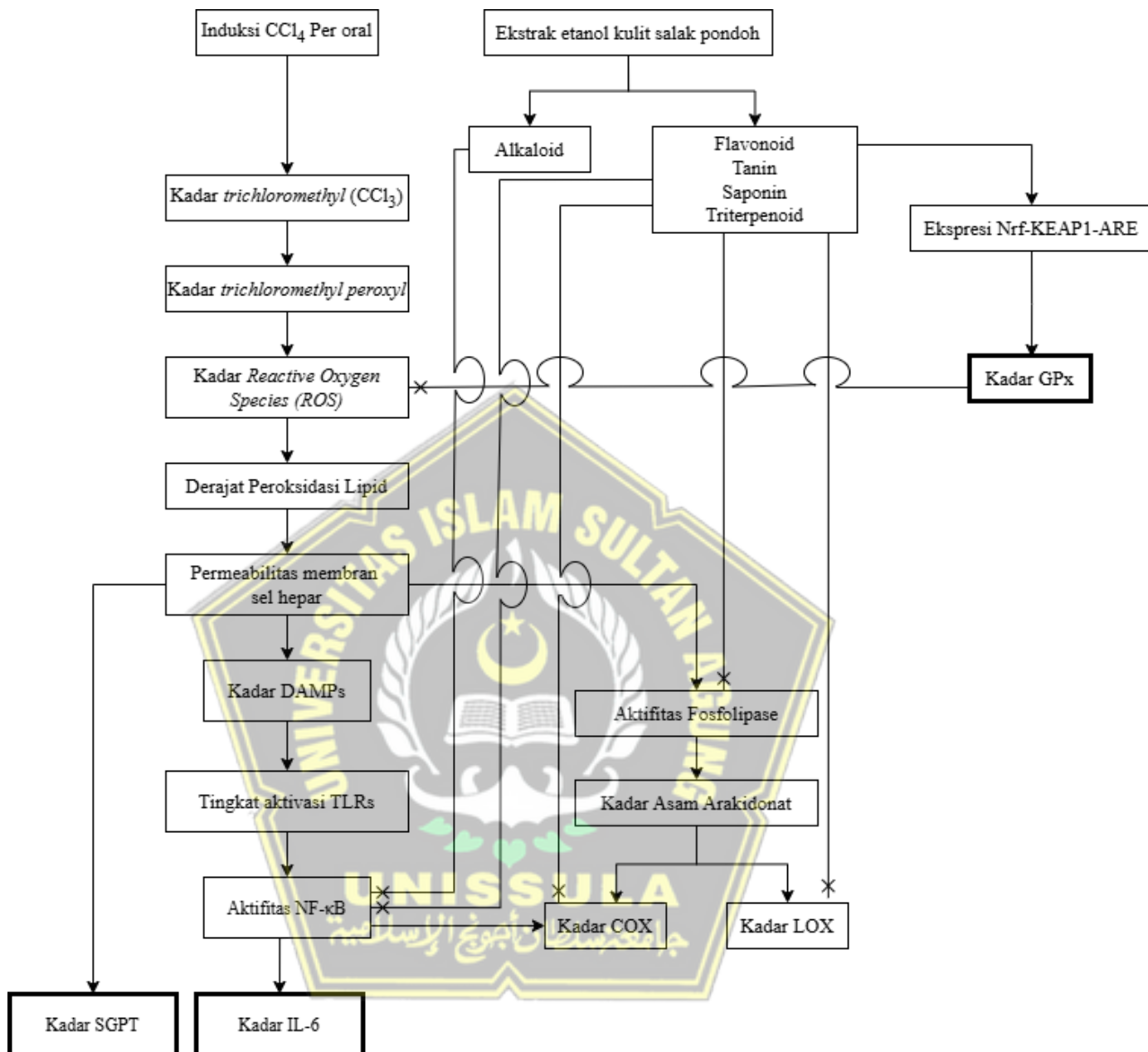
Triterpenoid meningkatkan kapasitas antioksidan mitokondria dengan memodulasi rantai transpor elektron dan mengurangi kebocoran ROS. Triterpenoid mengatur enzim antioksidan seperti SOD dan GPx melalui aktivasi Nrf2, sementara secara bersamaan menghambat *cytochrome* P450 2E1 (CYP2E1), enzim yang terlibat dalam bioaktivasi xenobiotik⁵¹⁷⁰. Kerusakan hepar akut yang diinduksi oleh asetaminofen triterpenoid terbukti mengurangi pembentukan metabolit beracun *N*-asetil-*p*-benzoquinone imine (NAPQI), mencegah penurunan glutathione (GSH). Triterpenoid juga memiliki peran dalam meningkatkan translokasi Nrf2 dan menurunkan ekspresi gen seperti *Nqo1* dan *Hmox1* pada cedera hati yang diinduksi alkohol¹⁷¹.

Triterpenoid mengganggu pensinyalan pro-inflamasi pada beberapa mekanisme. Triterpenoid menurunkan inflamasi hepar dengan menghambat rantai TLR4 / MyD88 / NF- κ B, mengurangi sintesis TNF- α , IL-6, dan IL-1 β

¹⁷¹. Triterpenoid memblokir translokasi NF- κ B dengan menstabilkan I κ B α , protein penghambat yang mendegradasi NF- κ B dalam sitoplasma.¹⁷²

Alkaloid memiliki efek anti-inflamasi melalui modulasi sel imun dan penekanan sitokin. Alkaloid menghambat inflammasome NLRP3 dengan memblokir aktivasi NF- κ B, mengurangi transkripsi pro-IL-1 β . Ini juga secara langsung menekan aktivasi caspase-1¹⁷³. Alkaloid juga menurunkan sekresi TNF- α dan IL-6 dalam sel Kupffer dengan mengganggu jalur pensinyalan MAPK (misalnya, p38 dan JNK) dan NF- κ B¹⁷⁴.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 dan GPx serum pada tikus Wistar yang diinduksi CCl₄ oleh karena itu penelitian pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 dan GPx serum pada tikus Wistar yang diinduksi CCl₄ perlu dilakukan.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

Keterangan :



: Menstimulasi

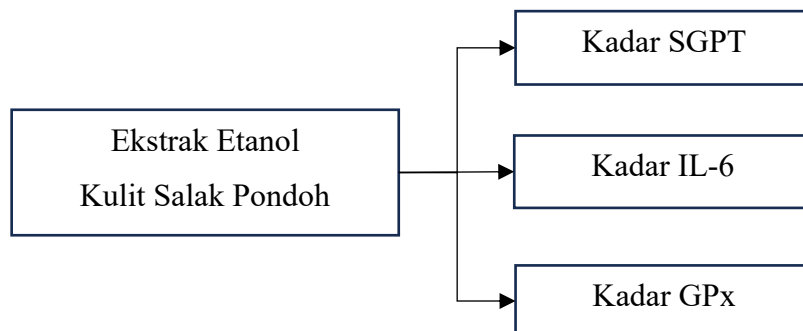


: Variabel Terikat yang diteliti



: Menghambat

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap kadar SGPT, IL-6 dan GPx serum pada tikus Wistar yang diinduksi CCl₄.

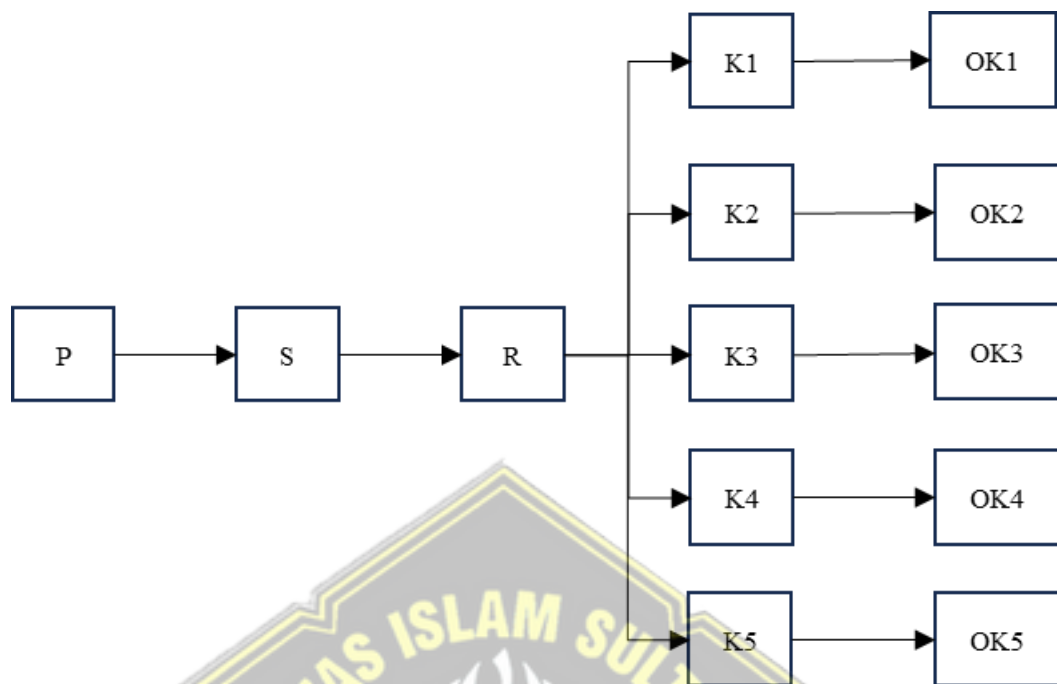
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* terhadap hewan coba tikus jantan galur wistar. Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari:

1. Kontrol Sehat (Tikus sehat tanpa induksi CCl₄ dan diberi pakan standar)
2. Kontrol Negatif (Tikus yang diinduksi CCl₄ dan tidak diberikan perlakuan)
3. Kontrol Positif (Tikus yang diinduksi CCl₄ dan diberikan *N-Acetylcystein*)
4. Kelompok perlakuan 1 (Tikus yang diinduksi CCl₄ dan diberikan Ekstrak kulit salak pondoh 400 mg/kgBB)
5. Kelompok perlakuan 2 (Tikus yang diinduksi CCl₄ dan diberikan Ekstrak kulit salak pondoh 600 mg/kgBB)



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

P : Populasi

S : Sampel

R : Randomisasi

K1 : Kelompok Kontrol Sehat

K2 : Kelompok Kontrol Negatif

K3 : Kelompok Kontrol Positif

K4 : Kelompok Perlakuan 1

K5 : Kelompok Perlakuan 2

OK1 : Observasi Parameter pada Kontrol Sehat

OK2 : Observasi Parameter pada Kontrol Negatif

OK3 : Observasi Parameter pada Kontrol Positif

OK4 : Observasi Parameter pada Kelompok Perlakuan 1

OK5 : Observasi Parameter pada Kelompok Perlakuan 2

4.2. Populasi Penelitian dan Sampel Penelitian

4.2.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus galur Wistar (*Rattus norvegicus*).

4.2.2. Sampel Penelitian

4.2.2.1. Kriteria Inklusi

- Jenis kelamin jantan
- Berat Badan Tikus 180-200 gram
- Usia Tikus 2-3 bulan
- Tikus bergerak aktif

4.2.2.2. Kriteria Eksklusi

Tikus menjadi sakit selama perlakuan

4.2.2.3. Kriteria *Drop Out*

Tikus mati selama penelitian.

4.2.2.4. Besar Sampel

Besar sampel penelitian ditentukan melalui Rumus Federer¹⁸¹, sebagai berikut:

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

Keterangan :

t : Jumlah kelompok penelitian

n : Jumlah sampel penelitian per kelompok

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

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

$$n - 1 \geq 15/4$$

$$n \geq 4,75$$

Lima tikus dipergunakan dalam riset ini sebagai sampel atau kelompok perlakuan, dan satu tikus ditambahkan ke setiap kelompok untuk memperkirakan kemungkinan droup out. Jumlah total sampel dalam riset ini ialah 30 ekor tikus Wistar jantan.

4.2.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Teknik pengambilan sampel penelitian ini menggunakan cara *simple random sampling*. Tikus jantan galur wistar yang memenuhi syarat kriteria inklusi dimasukkan ke dalam sampel penelitian, didapatkan 30 ekor kemudian dibagi menjadi 6 kelompok secara acak, yaitu kelompok kontrol sehat, kontrol negatif, kontrol positif dan tiga kelompok perlakuan.

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Penelitian

4.3.1.1. Variabel bebas

a. Dosis Ekstrak Kulit Salak Pondoh

Ekstrak kulit salak pondoh diberikan berdasarkan berat rerata tikus dengan dosis 400 mg/kgBB, dan 600mg/kgBB.

4.3.1.2. Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah

1. Kadar Serum Glutamic Pyruvate Transaminase
2. Kadar Interleukin-6 Serum
3. Kadar Glutathion Peroxidase

4.3.1.3. Variabel Prakondisi

Variabel prakondisi penelitian ini adalah penginduksian CCl_4 2% dengan dosis 0,2 ml/10 gBB melalui sonde selama 14 hari.

4.3.2. Defenisi Operasional

4.3.2.1. Ekstrak Kulit Salak Pondoh

Ekstrak kulit salak pondoh merupakan ekstrak etanol kulit salak pondoh yang diekstraksi di Laboratorium Kimia IBL FK UNISSULA yang diberikan secara oral yang terbagi dalam dosis yaitu 400 mg/KgBB (K4), dan 600 mg/kgBB (K5) selama 14 hari.

Satuan : mg/KgBB

Skala : Rasio

4.3.2.2. Serum *Glutamic Pyruvate Transaminase*

Kadar Serum *Glutamic Pyruvate Transaminase* (SGPT) pada serum yang didapatkan dari sampel darah dari vena orbital yang diukur dengan metode ELISA pada hari ke-14 pasca perlakuan.

Satuan : U/L

Skala : Rasio

4.3.2.3. Interleukin-6

Kadar Interleukin-6 (IL-6) pada serum yang didapatkan dari sampel darah dari vena orbital yang diukur dengan metode ELISA pada hari ke-14 pasca perlakuan.

Satuan : pg/mL

Skala : Ratio

4.3.2.4. GPx

Kadar GPx pada serum yang didapatkan dari sampel darah dari vena orbital yang diukur dengan metode ELISA pada hari ke-14 pasca perlakuan.

Satuan : pg/mL

Skala : Rasio

4.4. Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1. Alat

1. Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak kulit salak pondoh yaitu tempat penyimpanan steril, sendok kaca steril, *vacuum dryer*, *rotator evaporator*, blender, mesh ukuran 40, kertas saring dan labu erlemeyer.
2. Alat yang digunakan untuk pemeliharaan hewan coba tikus Jantan galur wistar dan induksi CCl₄ yaitu kandang dengan kelengkapan tempat makan dan minum, sonde, spuit 3 mL, sarung tangan, dan timbangan analitik.

3. Alat yang digunakan untuk pengambilan darah dan preparasi plasma antara lain *vacutainer*, tabung hematokrit, mikropipet 1000 uL, dan cone tip 1000 uL.
4. Alat yang digunakan untuk menganalisis plasma dengan metode ELISA terdiri dari, *assay plate*, mikropipet, incubator, tabung Eppendorf, vorteks, *cover glass*, dan laptop dengan RAM 2GB.

4.4.2. Bahan

1. CCl_4 2%
2. Kulit salak pondoh segar dari varietas salak pondoh Magelang, yang diperoleh dari Nglumut, Magelang, Indonesia ($7^\circ 36' 50'' \text{ S}$, $110^\circ 21' 27'' \text{ E}$).
3. *N-Acetylcystein* 200 mg
4. Pelarut Etanol 96%
5. Aquades
6. Reagen kit ELISA IL-6
7. Reagen kit SGPT
8. Reagen kit ELISA GPx
9. Ketamin
10. Aquadest

4.5. Cara Penelitian

4.5.1. *Ethical Clearance*

Penelitian telah disetujui komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dengan *ethical clearence* No. 349/ VI/2025/Komisi Bioetik.

4.5.2. Cara Pembuatan Ekstrak Kulit Salak

Cara pembuatan ekstrak kulit salak dilakukan dengan metode sebagai berikut:

- Kulit salak pondoh dari varietas salak pondoh magelang, yang diperoleh dari Nglumut, Magelang, Indonesia ($7^{\circ} 36' 50''$ S, $110^{\circ} 21' 27''$ E) sebanyak ± 600 gram digunting, dikeringkan pada suhu $50 - 60^{\circ}\text{C}$ dan diblender menjadi bubuk kering.
- Serbuk kulit salak kemudian diayak menggunakan mesh ukuran 40, dan kemudian ditimbang.
- Bubuk kering dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:10 selama 4 hari, kemudian disaring menggunakan kertas saring dan filtrat yang dihasilkan ditampung, sedangkan residu yang tertinggal di kertas saring kemudian dimaserasi kembali dengan metode yang sama.
- Kandungan etanol dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga tersisa ekstrak kental.

- Ekstrak kental yang terbentuk kemudian disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 2-8°C hingga pemberian perlakuan diberikan.

4.5.3. Penetapan Dosis

Dosis ekstrak kulit salak ditentukan dengan studi literatur sebelum proses penelitian. Penelitian terdahulu membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari, 600 mg/KgBB/hari dan 600 mg/KgBB/hari selama 10 hari secara oral pada tikus wistar dapat melindungi fungsi hepar, dengan dosis 600 mg/KgBB/hari menjadi yang paling signifikan²³. Dosis ekstrak kulit salak yang digunakan dalam penelitian ini 400 mg/KgBB/hari dan 600 mg/KgBB/hari selama 14 hari.

Dosis N-Acetylcystein diberikan berdasarkan berat rerata tikus. Dosis N-Acetylcystein pada manusia adalah 200mg kemudian dikonversikan pada tikus :

$$200 \times 0,018 = 3,6 \text{ mg/kgBB.}$$

Dosis CCl₄ ditentukan dengan studi literatur sebelum proses penelitian. Penelitian terdahulu membuktikan bahwa pemberian CCl₄ 2% dengan dosis 0,2 ml/gBB pada mencit secara per oral selama 10 hari memberikan gambaran kerusakan hepar akut yang memiliki karakteristik sama dengan kerusakan hepar akut yang dialami manusia⁵¹. Dosis CCl₄ diberikan berdasarkan berat rerata tikus. Dosis CCl₄ yang digunakan pada penelitian ini adalah CCl₄ 2% dengan dosis 0,2 ml/gBB.

4.5.4. Pembagian Kelompok

Kelompok penelitian dibagi menjadi 4, dan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor sampel.

1. Kelompok 1 : Tikus sehat tanpa induksi CCl_4
2. Kelompok 2 : Kelompok Kontrol Negatif (Tikus diberikan aquades dan diinduksi CCl_4 2% 0,2 ml/10 gBB selama 14 hari)
3. Kelompok 3 : Kelompok Kontrol Positif (Tikus diberikan N-Acetylcystein 3,6 mg/KgBB dan diinduksi CCl_4 2% 0,2 ml/10 gB selama 14 hari)
4. Kelompok 4 : Kelompok perlakuan 1 (Tikus diinduksi CCl_4 2% 0,2 ml/10 g BB dan diberikan Ekstrak kulit salak pondoh 400 mg/kgBB selama 14 hari)
5. Kelompok 5 : Kelompok perlakuan 2 (Tikus diinduksi CCl_4 2% 0,2 ml/10 g BB dan diberikan Ekstrak kulit salak pondoh 600 mg/kgBB selama 14 hari)

4.5.5. Urutan Penelitian

1. Sejumlah 30 ekor tikus jantan galur wistar berumur 2-3 bulan dilakukan penimbangan dengan berat badan 180-200 gram.
2. Tikus diadaptasi selama 1 minggu. Pemberian makan dan minum ad libitum, berupa pelet dan air mineral.

3. Pada hari ke-8 dilakukan randomisasi dengan cara masing-masing tikus diberi nomor dan diundi. 30 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K1, K2, K3, K4, dan K5.
4. K 1 : Tikus diberikan pellet + air selama 14 hari
5. K 2 : Tikus diberikan pellet + diinduksi CCl_4 2% 0,2 ml/10 gBB secara per sonde selama 14 hari
6. K 3 : Tikus diberikan pellet + air, CCl_4 2% 0,2 ml/10 gBB secara per sonde, 3 jam kemudian diberikan N-Acetylcystein 3,6 mg/KgBB. Perlakuan diberikan selama 14 hari.
7. K 4 : Tikus diberikan pellet + air, CCl_4 2% 0,2 ml/10 gBB secara per sonde, 3 jam kemudian diberikan Ekstrak kulit salak 400 mg/KgBB. Perlakuan diberikan selama 14 hari.
8. K 5 : Tikus diberikan pellet + air, CCl_4 2% 0,2 ml/10 gBB secara per sonde, 3 jam kemudian diberikan Ekstrak kulit salak 600 mg/KgBB. Perlakuan diberikan selama 14 hari.
9. 24 jam setelah perlakuan terakhir, semua tikus pada setiap kelompok diterminasi dan dilakukan pengambilan sampel darah tikus melalui medial canthus sinus orbitalis.

4.5.6. Pengambilan Sampel Darah

Darah diambil melalui vena orbital menggunakan tabung hematokrit sebanyak 3 mL pada hari ke 15 hari dari hari pertama penelitian. Sampel darah dimasukkan ke tabung sentrifus dan disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Serum yang terbentuk,

secara hati-hati diambil menggunakan *micropipete*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifus 1,5 mL dan disimpan pada suhu -80°C hingga proses analisis dilakukan.

4.5.7. Perhitungan Kadar SGPT

Sampel serum darah yang telah diperoleh kemudian dianalisis Kadar SGPT menggunakan metode spektrofotometri. Sebelum proses analisis, serum darah dicairkan dalam suhu ruang dan diresuspensi agar serum tercampur secara merata. Analisis SGPT dilakukan dengan menggunakan Thermo Fisher Scientific, USA). Langkah-langkah analisis Kadar SGPT diawali dengan pembuatan larutan pereaksi dengan melarutkan tablet reagen SGPT dalam larutan buffer dengan perbandingan 1:10. Sampel serum diambil sebanyak 50 µl dan ditambahkan 500 µl larutan pereaksi kemudian dihomogenkan dan ditunggu selama 1 menit sebelum diukur. Setelah 1 menit, kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer gelombang 340 nm, dan penurunan absorbansinya dicatat setiap menit selama 3 menit.

4.5.8. Perhitungan Kadar IL-6

Sampel serum darah yang telah diperoleh kemudian dianalisis Kadar IL-6 menggunakan metode ELISA. Sebelum proses analisis, serum darah dicairkan dalam suhu ruang dan diresuspensi agar serum tercampur secara merata. Analisis ELISA IL-6 dilakukan dengan menggunakan kit dari Mybiosource ® (No. Katalog MBS3807826 ,Wuhan, China). Langkah-langkah analisis Kadar Interleukin-6

mengikuti *protocol* yang sesuai dengan petunjuk yang ada dalam kit insert reagen. Pembacaan dilakukan dengan menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm.

4.5.9. Perhitungan Kadar GPx

Sampel serum darah yang telah diperoleh kemudian dianalisis Kadar GPx menggunakan metode ELISA. Sebelum proses analisis, serum darah dicairkan dalam suhu ruang dan diresuspensi agar serum tercampur secara merata. Analisis ELISA GPx dilakukan dengan menggunakan kit dari Mybiosource ® (No. Katalog MBS3807826 ,Wuhan, China). Langkah-langkah analisis Kadar GPx mengikuti *protocol* yang sesuai dengan petunjuk yang ada dalam kit insert reagen. Pembacaan dilakukan dengan menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm.

4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di *Integrated Biomedical Laboratory* Universitas Islam Sultan Agung, Semarang dan PAU Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Penelitian akan dilakukan pada bulan Juli 2025.

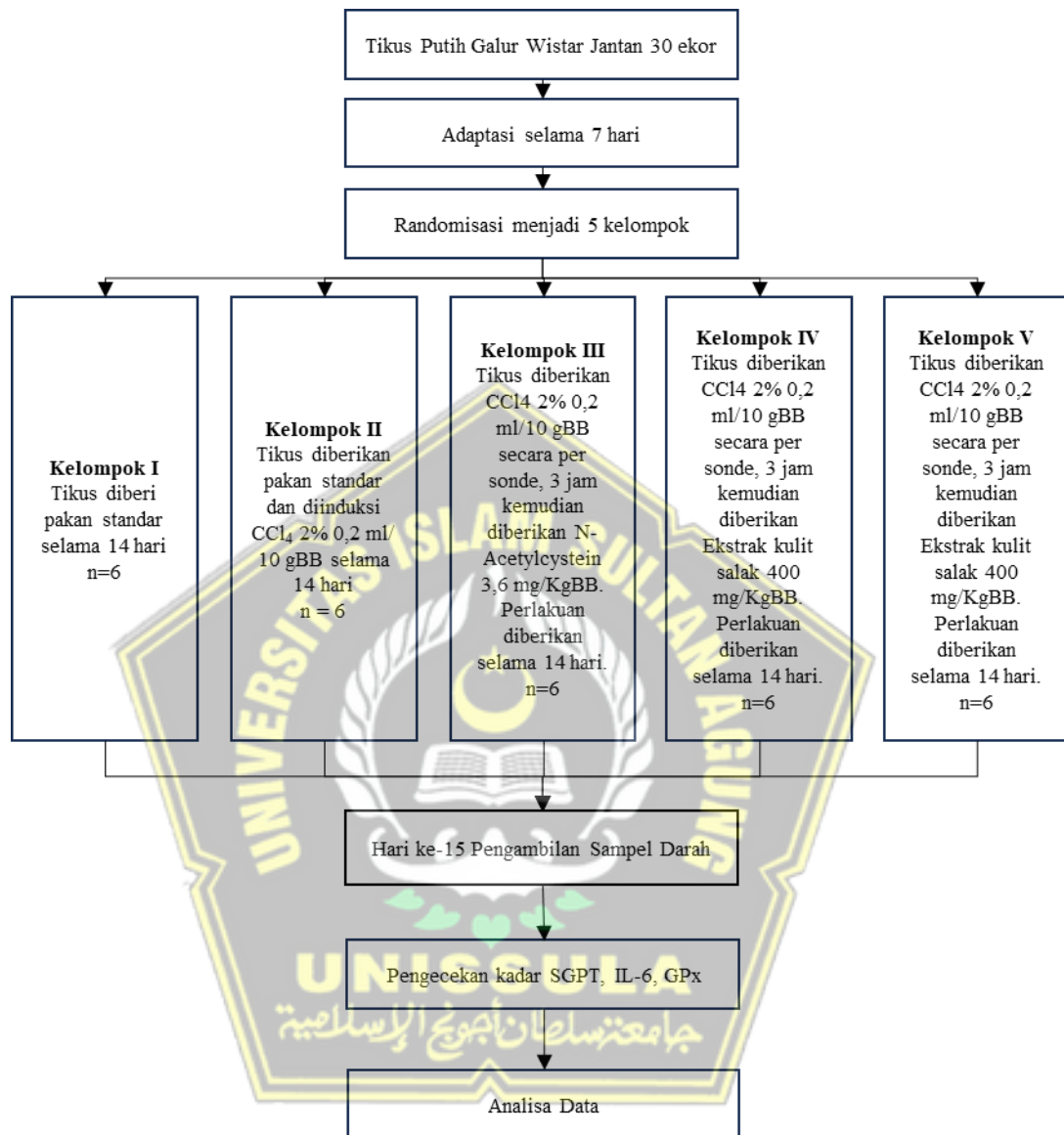
4.7. Analisa Data

Data penelitian diolah dalam bentuk deskriptif, kemudian dilakukan pengujian normalitas data menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas data dengan Levene test. Data penelitian kadar IL-6 dan GPx terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) dilakukan uji beda uji *One Way Anova* untuk melihat perbedaan antara IL-6 dan GPx antar kelompok, dan

dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui dosis yang paling berpengaruh antara kelompok perlakuan. Data penelitian kadar SGPT terdistribusi normal namun tidak homogen dilakukan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* untuk mengetahui dosis yang paling berpengaruh antara kelompok perlakuan. Pengolahan analisis data ini dilakukan menggunakan aplikasi SPSS series 25.0.



4.8. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Subyek penelitian menggunakan tikus galur wistar jantan sebanyak 30 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok K1 (kontrol sehat), K2 (kontrol negatif; tikus diinduksi CCl₄, tanpa perlakuan), K3 (kontrol positif; tikus diinduksi CCl₄, N-Acetylcysteine 3,6 mg/kgBB/hari), K4 (perlakuan 1; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari), dan K5 (perlakuan 2; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 600 mg/kgBB/hari). Penelitian pengaruh ekstrak kulit salak pondoh terhadap kadar SGPT, IL-6 dan Glutathion Peroxidase pada tikus galur wistar yang diinduksi *Carbon Tetrachloride* (CCl₄) ini dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta selama 14 hari. Selama perlakuan tidak ada hewan coba yang sakit atau mati sampai akhir penelitian. Pada hari ke 15 paska perlakuan, dilakukan pemeriksaan kadar SGPT, IL-6 dan *Glutathion Peroxidase* (GPx).

5.1.1. Kadar SGPT

Hasil analisis deskriptif, didapatkan rerata kadar SGPT paling tinggi pada kelompok K2 ($43,371 \pm 0,590$), dan yang paling rendah pada kelompok K 1 ($19,095 \pm 0,503$). Kadar SGPT pada kelompok K4 dan K5 didapatkan adanya penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($29,050 \pm 0,569$; $23,466 \pm 0,795$). Hasil analisis variabel SGPT

terdistribusi normal ($p>0,05$) namun tidak homogen ($p<0,05$) dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Hasil uji deskriptif, homogenitas, dan normalitas variabel SGPT dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Hasil Analisis Deskriptif, Uji Normalitas, Homogenitas dan *One Way Anova* variabel SGPT

Kelompok (n=6)	Rerata $\pm$ SD (U/L)	Uji <i>Saphiro</i> <i>wilk</i> (p)	Uji <i>Levene</i> (p)	Uji <i>One</i> <i>Way</i> <i>Anova</i> (p)
K 1	19,095 $\pm$ 0,503	0,462*	<0,001	<0,001 ^a
K 2	43,371 $\pm$ 0,590	0,410*		
K 3	29,373 $\pm$ 1,983	0,267*		
K 4	29,050 $\pm$ 0,569	0,423*		
K 5	23,466 $\pm$ 0,795	0,508*		

Keterangan: K 1 (kontrol sehat), K 2 (kontrol negatif; tikus diinduksi CCl₄, tanpa perlakuan), K 3 (kontrol positif; tikus diinduksi CCl₄, N-Acetylcysteine 3,6 mg/kgBB/hari), K 4 (perlakuan 1; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari), dan K 5 (perlakuan 2; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 600 mg/kgBB/hari). SGPT (*Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*), *= $p>0,05$, ^a=Signifikan $p<0,05$

Tabel 5.1 menunjukkan rerata kadar SGPT pada kelompok K2 mengalami peningkatan signifikan dibanding dengan kelompok lain (43,371 $\pm$ 0,590; $p<0,001$). Rerata kadar SGPT pada kelompok K3, K4, dan K5 mengalami penurunan signifikan dibandingkan dengan kelompok lain (29,373 $\pm$ 1,983; 29,050 $\pm$ 0,569; 23,466 $\pm$ 0,795; $p<0,001$). Hasil uji *One Way Anova* didapatkan hasil $p<0,001$ ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan setidaknya terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan bermakna, sehingga dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Hasil uji *Post Hoc Tamhane* tertera pada tabel 5.2.

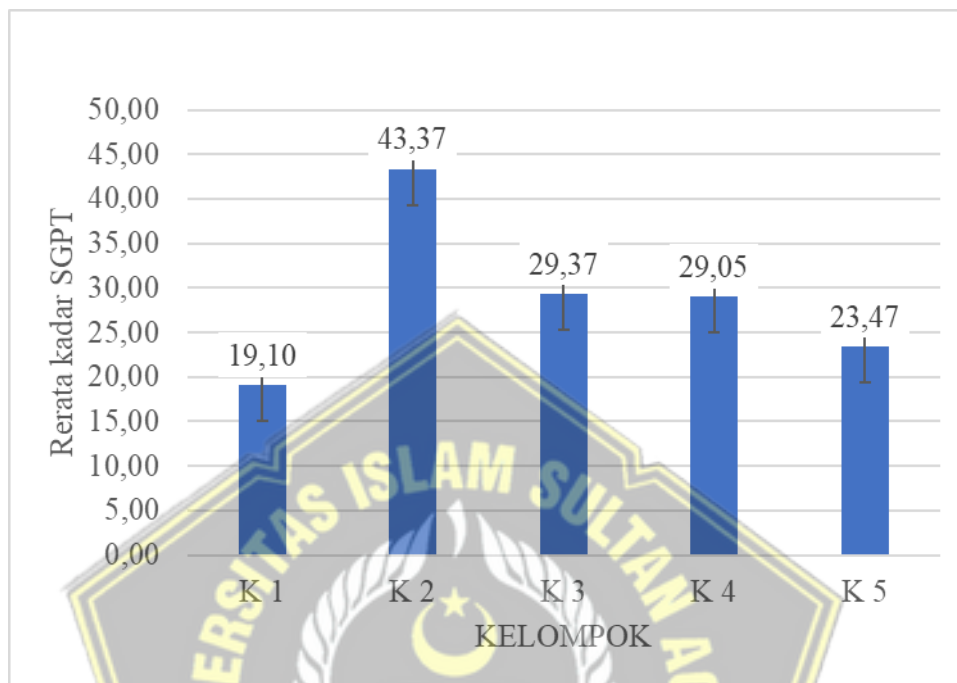
Tabel 5.2. Hasil Uji *Post Hoc Tamhane* Variabel SGPT

Kelompok	K 2	K 3	K 4	K 5
K 1	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
K 2		<0,001*	<0,001*	<0,001*
K 3			1,000	0,003*
K 4				<0,001*

Keterangan: K 1 (kontrol sehat), K 2 (kontrol negatif; tikus diinduksi CCl₄, tanpa perlakuan), K 3 (kontrol positif; tikus diinduksi CCl₄, N-Acetylcysteine 3,6 mg/kgBB/hari), K 4 (perlakuan 1; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari), dan K 5 (perlakuan 2; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 600 mg/kgBB/hari). *signifikan $p < 0,05$

Hasil Uji *Post Hoc Tamhane* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar SGPT pada hampir setiap kelompok. Rerata kadar SGPT pada kelompok K2 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan K1 ($p < 0,001$). Rerata kadar SGPT pada kelompok K4 dibanding K3 menunjukkan tidak didapatkan perbedaan signifikan ($p = 1,000$), namun rerata kadar SGPT pada kelompok K4 memiliki perbedaan signifikan bila dibandingkan dengan K1, K2, dan K5 ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$). Rerata kadar SGPT pada kelompok K5 menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan K1, K2, K3, dan K4 ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p = 0,003$; $p < 0,001$). Hal ini menunjukkan tikus yang diberi perlakuan ekstrak kulit salak dengan dosis 400 mg/kgBB/hari tidak memiliki efek bermakna pada rerata kadar SGPT bila dibandingkan dengan tikus yang diberikan N-Acetylcystein 3,6 mg/kgBB/hari sebagai kontrol positif. Tikus yang diberi perlakuan ekstrak kulit salak dengan dosis 400 mg/kgBB/hari, maupun 600 mg/kgBB/hari memiliki efek bermakna pada rerata kadar SGPT bila dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan

perlakuan, baik itu kontrol sehat maupun kontrol negatif. Perbedaan data rerata kadar SGPT dipresentasikan pada gambar 5.1.



Gambar 5.1. Rerata Kadar SGPT

5.1.2. Kadar IL-6

Hasil analisis deskriptif menunjukkan bahwa didapatkan penurunan kadar IL-6 pada kelompok yang mendapatkan ekstrak kulit salak pondoh pada K4 dan K5 dibandingkan dengan kelompok kontrol ($47,455 \pm 0,960$; $43,423 \pm 0,899$). Rerata kadar IL-6 paling tinggi pada kelompok K2 ($71,683 \pm 0,720$), dan yang paling rendah pada kelompok K1 ($42,286 \pm 0,875$). Hasil analisis variabel SGPT terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Hasil uji deskriptif, homogenitas, dan normalitas variabel IL-6 dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil Analisis Deskriptif, Uji Normalitas, Homogenitas dan *One Way Anova* variabel IL-6

Kelompok (n=6)	Rerata $\pm$ SD (pg/mL)	Uji <i>Saphiro</i> <i>wilk</i> (p)	Uji <i>Levene</i> (p)	Uji <i>One</i> <i>Way</i> <i>Anova</i> (p)
K 1	42,287 $\pm$ 0,875	0,461*	0.842*	<0,001 ^a
K 2	71,683 $\pm$ 0,720	0,958*		
K 3	50,578 $\pm$ 0,705	0,224*		
K 4	47,455 $\pm$ 0,960	0,429*		
K 5	43,423 $\pm$ 0,899	0,082*		

Keterangan: K 1 (kontrol sehat), K 2 (kontrol negatif; tikus diinduksi CCl₄, tanpa perlakuan), K 3 (kontrol positif; tikus diinduksi CCl₄, N-Acetylcysteine 3,6 mg/kgBB/hari), K 4 (perlakuan 1; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari), dan K 5 (perlakuan 2; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 600 mg/kgBB/hari). *= $p > 0,05$, ^a=Signifikan $p < 0,05$

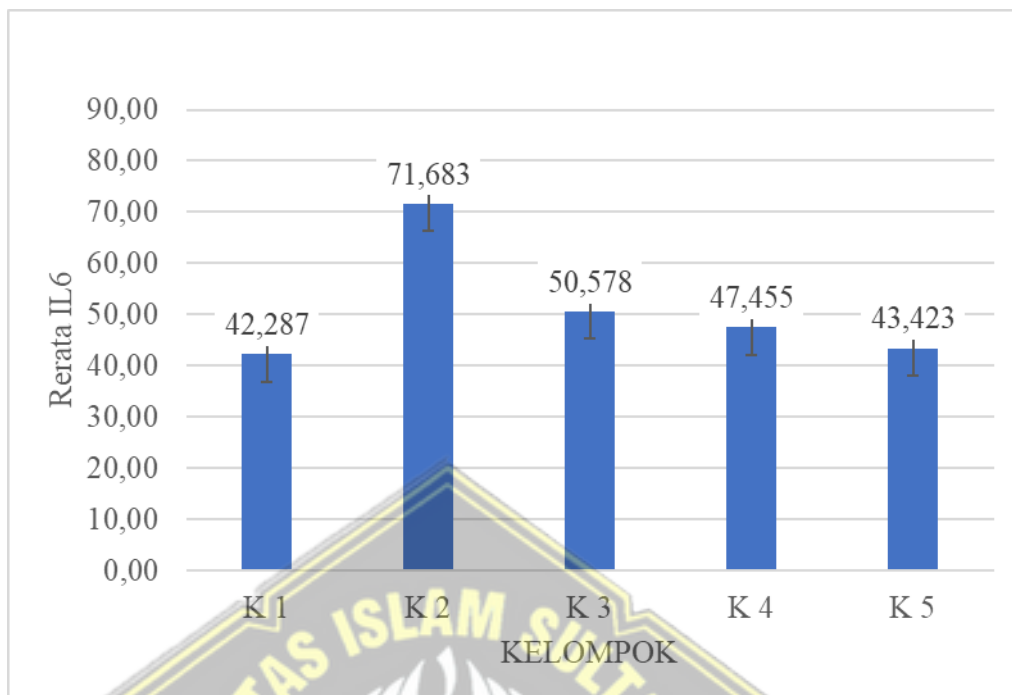
Tabel 5.3 menunjukkan rerata kadar IL-6 pada kelompok K2 mengalami peningkatan signifikan dibanding dengan kelompok lain (71,683 $\pm$ 0,720; $p < 0,001$). Rerata kadar IL-6 pada kelompok K3, K4, dan K5 mengalami penurunan signifikan dibandingkan dengan kelompok lain (50,578 $\pm$ 0,705; 47,455 $\pm$ 0,960; 43,423 $\pm$ 0,899; $p < 0,001$). Hasil uji *One Way Anova* didapatkan hasil $p < 0,001$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan setidaknya terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan bermakna, sehingga dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Hasil uji *Post Hoc LSD* tertera pada tabel 5.4.

Tabel 5.4. Hasil Uji *Post Hoc* LSD Variabel IL-6

Kelompok	K 2	K 3	K 4	K5
K 1	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,027*
K 2		<0,001*	<0,001*	<0,001*
K 3			<0,001*	<0,001*
K 4				<0,001*
K 5				

Keterangan: K 1 (kontrol sehat), K 2 (kontrol negatif; tikus diinduksi CCl₄, tanpa perlakuan), K 3 (kontrol positif; tikus diinduksi CCl₄, N-Acetylcysteine 3,6 mg/kgBB/hari), K 4 (perlakuan 1; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari), dan K 5 (perlakuan 2; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 600 mg/kgBB/hari). *signifikan $p < 0,05$

Hasil *Uji Post Hoc* LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar IL-6 pada hampir setiap kelompok. Rerata kadar IL-6 pada kelompok K2 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan K1 ($p < 0,001$). Rerata kadar IL-6 pada kelompok K4 menunjukkan perbedaan signifikan dibanding dengan K1, K2, K3 dan K5 ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$). Rerata kadar IL-6 pada kelompok K5 menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan K1, K2, K3, dan K4 ($p = 0,027$; $p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$). Hal ini menunjukkan tikus yang diberi perlakuan ekstrak kulit salak pondoh dengan dosis 400 mg/kgBB/hari, maupun 600 mg/kgBB/hari memiliki efek bermakna pada rerata kadar IL-6 bila dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan perlakuan, baik itu kontrol sehat maupun kontrol positif dan negatif. Perbedaan data rerata kadar IL-6 dipresentasikan pada gambar 5.2.



Gambar 5.2. Rerata Kadar IL-6

5.1.3. Kadar GPx

Hasil analisis deskriptif, didapatkan bahwa rerata kadar GPx paling tinggi pada kelompok K 1 ($70,481 \pm 2,745$), dan yang paling rendah pada kelompok K 2 ($24,308 \pm 1,444$). Rerata kadar GPx pada kelompok K4 dan K5 mengalami peningkatan dibandingkan dengan K2 ($45,145 \pm 1,440$; $64,437 \pm 1,443$; $24,308 \pm 1,444$). Hasil analisis variabel SGPT terdistribusi normal dan homogen ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* dan terdapat hasil $p < 0,001$ ($p < 0,05$). Hasil analisis deskriptif, uji homogenitas, dan uji normalitas variabel GPx dapat dilihat pada tabel 5.5

Tabel 5.5. Hasil Analisis Deskriptif, Uji Normalitas, Homogenitas dan *One Way Anova* variabel GPx

Kelompok (n=6)	Rerata $\pm$ SD (pg/mL)	Uji <i>Saphiro</i> <i>wilk</i> (p)	Uji <i>Levene</i> (p)	Uji <i>One</i> <i>Way</i> <i>Anova</i> (p)
K 1	70,482 $\pm$ 2,745	0,696*	0,56*	<0,001 ^a
K 2	24,308 $\pm$ 1,444	0,960*		
K 3	43,602 $\pm$ 1,444	0,960*		
K 4	45,145 $\pm$ 1,440	0,961*		
K 5	64,437 $\pm$ 1,443	0,962*		

Keterangan: K 1 (kontrol sehat), K 2 (kontrol negatif; tikus diinduksi CCl₄, tanpa perlakuan), K 3 (kontrol positif; tikus diinduksi CCl₄, N-Acetylcysteine 3,6 mg/kgBB/hari), K 4 (perlakuan 1; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari), dan K 5 (perlakuan 2; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 600 mg/kgBB/hari). GPx (*Glutathione Peroxidase*)
 *=p>0,05, ^a=Signifikan p<0,05

Tabel 5.5 menunjukkan rerata kadar GPx pada kelompok K2 mengalami penurunan signifikan dibanding dengan kelompok lain (24,308 $\pm$ 1,444; p<0,001). Rerata kadar GPx pada kelompok K3, K4, dan K5 mengalami peningkatan signifikan dibandingkan dengan kelompok lain (43,602 $\pm$ 1,444; 45,145 $\pm$ 1,440; 64,437 $\pm$ 1,443; p<0,001). Hasil uji *One Way Anova* didapatkan hasil p<0,001 (p<0,05). Hal ini menunjukkan setidaknya terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan bermakna, sehingga dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Hasil uji *Post Hoc LSD* tertera pada tabel 5.6.

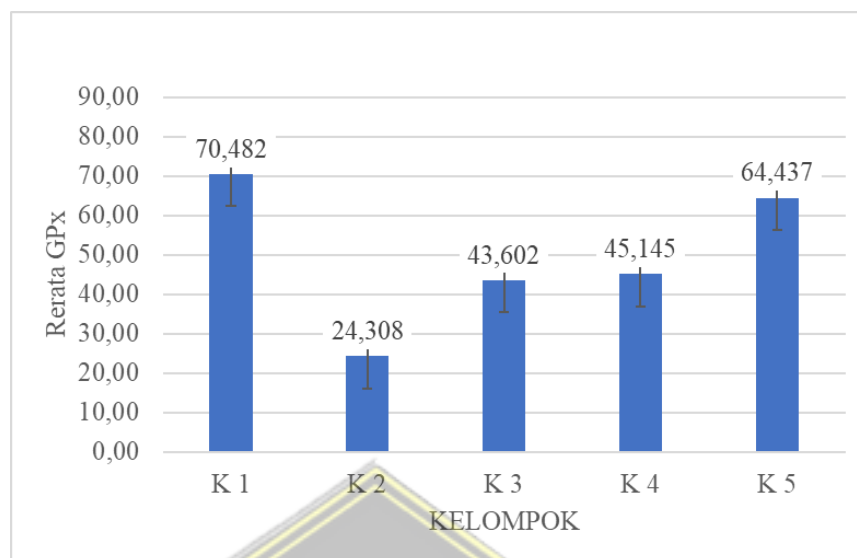
Tabel 5.6. Uji *Post Hoc LSD* variabel GPx

Kelompok	K 2	K 3	K 4	K 5
K 1	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
K 2		<0,001*	<0,001*	<0,001*
K 3			0,146	<0,001*
K 4				<0,001*

Keterangan: K 1 (kontrol sehat), K 2 (kontrol negatif; tikus diinduksi CCl₄, tanpa perlakuan), K 3 (kontrol positif; tikus diinduksi CCl₄, N-Acetylcysteine 3,6 mg/kgBB/hari), K 4 (perlakuan 1; tikus diinduksi

CCl₄, ekstrak kulit salak 400 mg/kgBB/hari), dan K 5 (perlakuan 2; tikus diinduksi CCl₄, ekstrak kulit salak 600 mg/kgBB/hari). *signifikan $p < 0,05$

Hasil *Uji Post Hoc LSD* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar GPx pada hampir setiap kelompok. Rerata kadar GPx pada kelompok K2 lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan K1 ($p < 0,001$). Rerata kadar GPx pada kelompok K4 menunjukkan perbedaan signifikan dibanding dengan K1, K2, dan K5 ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$), namun tidak menunjukkan perbedaan signifikan bila dibandingkan dengan K3 ($p = 0,146$). Rerata kadar GPx pada kelompok K5 menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan K1, K2, K3, dan K4 ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$). Hal ini menunjukkan tikus yang diberi perlakuan ekstrak kulit salak pondoh dengan dosis 400 mg/kgBB/hari tidak memiliki efek bermakna pada rerata kadar GPx bila dibandingkan dengan tikus yang diberikan N-Acetylcystein 3,6 mg/kgBB/hari sebagai kontrol positif. Tikus yang diberi perlakuan ekstrak kulit salak pondoh dengan dosis 400 mg/kgBB/hari, maupun 600 mg/kgBB/hari memiliki efek bermakna pada rerata kadar GPx bila dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan perlakuan, baik itu kontrol sehat maupun kontrol negatif. Perbedaan data rerata kadar GPx dipresentasikan pada gambar 5.3.



Gambar 5.3. Rerata Kadar GPx

5.2. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan CCl_4 sebagai induksi kerusakan hepar akut, karena kerusakannya menyerupai kerusakan hepar pada manusia dari segi morfologi maupun biokimia.²⁷ Dosis CCl_4 yang diberikan pada penelitian ini adalah CCl_4 2% 0,2ml/10g BB/hari selama 14 hari secara per sonde, hal ini berbeda dengan penelitian Zou (2016) yang menginduksi kerusakan hepar akut dengan menggunakan CCl_4 2% 0,2ml/10g BB/hari selama 10 hari per sonde⁵¹. Induksi CCl_4 pada penelitian ini diberikan secara per sonde bersamaan dengan perlakuan dengan selisih pemberian 3 jam untuk melihat efek preventif ekstrak kulit salak pada kerusakan hepar, berbeda dengan penelitian terdahulu dimana induksi CCl_4 secara intraperitoneal, maupun intra subkutan diberikan setelah perlakuan selesai^{1,22,46,47,50,126,182,183}.

5.2.1. Pengaruh Ekstrak Kulit Salak Pondoh terhadap Kadar SGPT pada Tikus Wistar yang Diinduksi CCl₄

Rerata kadar SGPT pada penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi secara signifikan pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat, hal ini menunjukkan keberhasilan CCl₄ dalam menginduksi kerusakan hepar akut. SGPT merupakan enzim yang keberadaan dan kadarnya dalam darah dijadikan penanda terjadinya gangguan fungsi hati. Kerusakan pada hati akan menyebabkan enzim tersebut lepas ke dalam aliran darah sehingga kadarnya dalam darah meningkat dan menandakan adanya gangguan fungsi hati.¹⁷ CCl₄ tidak memiliki efek sitotoksik langsung kepada hepar, namun produk metabolisme CCl₄ seperti *trichloromethyl* dan *trichloromethyl peroxy* memiliki efek radikal toksik sehingga mengakibatkan kerusakan membran hepatosit.^{1,126} CCl₄ dimetabolisme di hepar oleh enzim *cytchrome P450 2E1* (CYP2E1) untuk membentuk *trichloromethyl* yang memiliki sifat sebagai radikal bebas. *Trichloromethyl* kemudian dioksidasi membentuk *trichloromethyl peroxy* yang memiliki sifat radikal bebas lebih reaktif.¹²⁴

Radikal bebas yang dihasilkan dari metabolit CCl₄ akan bereaksi dengan fosfolipid dan trigliserid pada proses peroksidasi lipid yang menyebabkan stress oksidatif. Peroksidasi lipid yang terjadi pada membran lipid sel dapat merusak integritas, dan membran organel sel hepatosit sehingga mengakibatkan gangguan permeabilitas.¹²⁷

Permeabilitas sel yang rusak ini akan menonaktifkan Ca^{2+} -ATPase pada membran sel sehingga meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} pada sitoplasma yang berakibat pada kerusakan sitoskeleton, dan aktivasi fosfolipase. Peningkatan Ca^{2+} pada sitoplasma juga mengakibatkan kerusakan asam amino fungsional yang menyebabkan kerusakan rantai asam nukleat sehingga regulasi sel hepar terganggu, dan menyebabkan apoptosis.¹²⁵ Aldehid reaktif yang terbentuk dari degradasi asam lemak saat proses peroksidasi lipid juga akan mengikat protein fungsional dan menghambat fungsi enzimatis pada hepar yang dapat berujung pada kematian sel.¹²⁴ Rangkaian reaksi tersebut akan menyebabkan kerusakan pada sel-sel hepar yang ditandai dengan peningkatan SGPT dan SGOT. Penelitian terdahulu juga telah membuktikan bahwa induksi CCl_4 meningkatkan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT), *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase* (SGPT), *lactate dehydrogenase* (LDH), and *sorbitol dehydrogenase* (SDH) sebagai bukti kerusakan morfologis hepatosit.⁸⁻¹³ Teori tersebut sejalan penelitian ini, didukung dengan penelitian Frank Dmitri (2020) bahwa pemberian Pemberian CCl_4 melalui *orogastric tube* meningkatkan kadar SGPT.⁴⁶ Penelitian lain juga membuktikan bahwa pemberian CCl_4 selama 10 hari secara per oral dapat meningkatkan kadar SGPT dan menyebabkan kerusakan hepar akut pada mencit.⁵¹

N-Acetylcystein yang selama ini digunakan untuk penanganan kerusakan hepar yang disebabkan oleh intoksikasi paracetamol juga

terbukti dapat mempengaruhi rerata kadar SGPT lebih rendah secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan *N-Acetylcystein* terbukti menurunkan kadar SGPT dan SGOT pada kerusakan hepar dengan cara menetralkan proses lipid peroksidase sehingga dapat melindungi hepar dari stress oksidatif.¹⁷⁹ *N-Acetylcystein* memiliki potensi untuk mencegah kerusakan hepar, namun belum bisa dijadikan terapi standar dikarenakan Rerata kadar SGPT pada kelompok yang diberikan *N-Acetylcystein* masih memiliki perbedaan signifikan dibanding kelompok kontrol sehat.

Pemberian ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari selama 14 hari pada penelitian ini terbukti dapat mempengaruhi kadar SGPT lebih rendah secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) pada beberapa penelitian sebelumnya telah terbukti mengandung banyak senyawa aktif, salah satunya flavonoid.^{31,40,135} Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit salak pondoh bekerja sebagai scavengers dari ROS melalui donor elektron dari gugus hidroksil fenolik mereka. Transfer atom hidrogen ini menetralkan radikal bebas seperti anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil ($\bullet OH$), dan radikal peroksil ($ROO\bullet$), sehingga mengganggu reaksi berantai yang menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan hepar¹³⁸. Ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari pada penelitian ini secara klinis

memberikan efek terhadap rerata kadar SGPT yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, namun tidak berbeda signifikan. Hal ini menunjukkan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari memiliki efek yang sama dalam mempengaruhi rerata kadar SGPT dibanding dengan *N-Acetylcystein*. Rerata kadar SGPT pada kelompok yang diberikan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari juga masih memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol sehat. Hal ini menunjukkan meskipun ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar rerata SGPT, dosis tersebut tidak bisa digunakan sebagai alternatif pencegahan yang efektif.

Pemberian ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari selama 14 hari pada penelitian ini terbukti dapat mempengaruhi kadar SGPT yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini sejalan dengan penelitian Rusfardy (2025) yang membuktikan bahwa ekstrak kulit salak dapat menurunkan kadar SGPT pada mencit obesitas²³. Ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari pada penelitian ini memberikan efek terhadap rerata kadar SGPT yang lebih rendah secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif maupun kelompok ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari memiliki efek yang lebih baik terhadap rerata kadar SGPT yang lebih rendah dibandingkan dengan *N-Acetylcystein* dan

ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari. Flavonoid, tanin dan saponin dalam ekstrak kulit salak pondoh memiliki kemampuan mengikat radikal bebas melalui hidroksilasi cicin aromatik. Ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari memiliki kandungan flavonoid, tanin dan saponin yang lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 400 mg/kgBB/hari sehingga lebih efektif mencegah kerusakan hepar dan menurunkan kadar SGPT.^{138,158,159,165,167} Rerata kadar SGPT pada kelompok yang diberikan ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari masih memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol sehat. Hal ini menunjukkan meskipun ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari merupakan dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar rerata SGPT pada penelitian ini, dosis tersebut tidak bisa digunakan sebagai alternatif pencegahan yang efektif.

5.2.2. Pengaruh Ekstrak Kulit Salak Pondoh terhadap Kadar IL-6 pada Tikus Wistar yang Diinduksi CCl₄

Rerata kadar IL-6 pada penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi secara signifikan pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat, hal ini menunjukkan tingkat inflamasi kerusakan hepar akut yang diinduksi CCl₄. CCl₄ tidak memiliki efek sitotoksik langsung kepada hepar, namun produk metabolisme CCl₄ seperti *trichloromethyl* dan *trichloromethyl peroxy* memiliki efek radikal toksik sehingga mengakibatkan kerusakan membran hepatosit.^{1,126} CCl₄ dimetabolisme di hepar oleh enzim

cytchrome P450 2E1 (CYP2E1) untuk membentuk *trichloromethyl* yang memiliki sifat sebagai radikal bebas. *Trichloromethyl* kemudian dioksidasi membentuk *trichloromethyl peroxy* yang memiliki sifat radikal bebas lebih reaktif dan menyebabkan stress oksidatif pada sel hepar.¹²⁴ Stress oksidatif pada hepar juga merangsang sel *kupffer* hepar untuk memproduksi sitokin inflamasi yang berlebihan, seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α).⁷⁻¹³ Penelitian ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang membuktikan bahwa pemberian CCl₄ dapat meningkatkan sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α .^{1,8,9,22,27,47,50,126,184}

Pemberian *N-Acetylcystein* pada penelitian ini terbukti dapat mempengaruhi rerata kadar IL-6 yang lebih rendah secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan *N-Acetylcystein* terbukti menurunkan kadar malondialdehyde dan homocystein, dan menurunkan sitokin pro inflamasi seperti IL-8, IL-6 dan TNF- α .^{177,178} *N-Acetylcystein* memiliki potensi untuk mencegah peningkatan inflamasi kerusakan hepar, namun belum bisa dijadikan terapi standar dikarenakan rerata kadar IL-6 pada kelompok yang diberikan *N-Acetylcystein* masih memiliki perbedaan signifikan dibanding kelompok kontrol sehat.

Pemberian ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari selama 14 hari pada penelitian ini terbukti dapat mempengaruhi kadar IL-6 lebih rendah secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok

kontrol negatif. Ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) pada beberapa penelitian sebelumnya telah terbukti mengandung banyak senyawa aktif, seperti flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan alkaloid.^{31,40,135} Flavonoid telah terbukti mengatur aktivitas I κ B dan NF- κ B, sehingga berdampak pada penurunan inflamasi. Flavonoid juga dapat mengatur faktor transkripsi regulasi utama untuk sitokin CD4 + T helper 2 (Th2) seperti GATA-3, dan transduser sinyal dan aktivator transkripsi 6 (STAT-6) yang dapat menurunkan reaksi inflamasi.^{145–148} Flavonoid juga dapat menghambat COX dan LOX terbukti menurunkan kadar IL-6 dan TNF α ^{154,155}. Tanin bekerja dengan menghambat aktivasi inflammasom NLRP3 dengan memblokir pensinyalan NF- κ B untuk menekan sekresi IL-1 β pada makrofag dan menghentikan produksi sitokin proinflamasi berlebih¹⁶³. Saponin yang terkandung pada ekstrak salak pondoh bekerja dengan menekan produksi sitokin proinflamasi melalui pemblokiran pensinyalan NF- κ B dan jalur apoptosis pada tikus yang diinduksi D-galactosamine/LPS^{168,169}. Triterpenoid mengganggu pensinyalan proinflamasi pada beberapa mekanisme. Triterpenoid menurunkan inflamasi hepar dengan menghambat rantai TLR4 / MyD88 / NF- κ B, mengurangi sintesis TNF- α , IL-6, dan IL-1 β ¹⁷¹. Alkaloid juga menurunkan sekresi TNF- α dan IL-6 dalam sel Kupffer dengan mengganggu jalur pensinyalan MAPK (misalnya, p38 dan JNK) dan NF- κ B. Selain itu, alkaloid juga mengurangi infiltrasi neutrofil dengan menghambat

ekspresi molekul adhesi (ICAM-1, VCAM-1) pada sel endotel, sehingga membatasi ekstrasvasasi leukosit menjadi parenkim hati ¹⁷⁴.

Ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari pada penelitian ini secara klinis memberikan efek terhadap rerata kadar IL-6 yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari memiliki efek yang lebih baik dalam mempengaruhi rerata kadar IL-6 yang lebih rendah dibanding dengan *N-Acetylcystein*. Rerata kadar IL-6 pada kelompok yang diberikan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari masih memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol sehat. Hal ini menunjukkan meskipun ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar rerata IL-6, dosis tersebut tidak bisa digunakan sebagai alternatif anti inflamasi yang efektif.

Pemberian ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari selama 14 hari pada penelitian ini terbukti mempengaruhi kadar IL-6 yang lebih rendah secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari pada penelitian ini memberikan efek terhadap rerata kadar IL-6 yang lebih rendah secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif maupun kelompok ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari memiliki efek yang lebih baik terhadap rerata kadar IL-6

yang lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan *N-Acetylcystein* dan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari. Ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari memiliki kandungan flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan alkaloid yang lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 400 mg/kgBB/hari sehingga lebih efektif mencegah inflamasi pada kerusakan hepar. Flavonoid telah terbukti dapat menghambat pensinyalan NF- κ B, menghambat COX dan LOX terbukti menurunkan kadar IL-6 dan TNF α ^{146-148,154,155}. Tanin dan saponin juga terbukti bekerja dengan menghambat aktivasi pensinyalan NF- κ B untuk menekan sekresi IL-1 β pada makrofag dan menghentikan produksi sitokin proinflamasi berlebih^{163,168,169}. Triterpenoid mengganggu pensinyalan pro-inflamasi pada beberapa mekanisme. Triterpenoid menurunkan inflamasi hepar dengan menghambat rantai TLR4 / MyD88 / NF- κ B, mengurangi sintesis TNF- α , IL-6, dan IL-1 β ¹⁷¹. Alkaloid juga menurunkan sekresi TNF- α dan IL-6 dalam sel Kupffer dengan mengganggu jalur pensinyalan MAPK (misalnya, p38 dan JNK) dan NF- κ B¹⁷⁴.

Rerata kadar IL-6 pada kelompok yang diberikan ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari masih memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol sehat. Hal ini menunjukkan meskipun ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari merupakan dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar rerata IL-6 pada

penelitian ini, dosis tersebut tidak bisa digunakan sebagai alternatif pencegahan inflamasi yang efektif.

5.2.3. Pengaruh Ekstrak Kulit Salak Pondoh terhadap Kadar GPx pada Tikus Wistar yang Diinduksi CCl₄

Rerata kadar GPx pada penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih rendah secara signifikan pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat, hal ini menunjukkan keberhasilan CCl₄ dalam menginduksi stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan hepar akut. CCl₄ tidak memiliki efek sitotoksik langsung kepada hepar, namun produk metabolisme CCl₄ seperti *trichloromethyl* dan *trichloromethyl peroxy* memiliki efek radikal toksik sehingga mengakibatkan kerusakan membran hepatosit.^{1,126} CCl₄ dimetabolisme di hepar oleh enzim *cytchrome P450 2E1* (CYP2E1) untuk membentuk *trichloromethyl* yang memiliki sifat sebagai radikal bebas. *Trichloromethyl* kemudian dioksidasi membentuk *trichloromethyl peroxy* yang memiliki sifat radikal bebas lebih reaktif dan menyebabkan stress oksidatif.¹²⁴

Stress oksidatif yang disebabkan oleh induksi CCl₄ juga mengganggu keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan pada hepar. Hal tersebut akan mengakibatkan penurunan antioksidan enzimatis (SOD, GPx, CAT, *glutathione reductases*-GRX, *peroxiredoxins*-PRX, dan *thioredoxins*-TRX) dan antioksidan non

enzimatik (GSH, dan ubiquinone).¹²⁸ Produk metabolit CCl₄ yang menginisiasi peroksidasi lipid yang mengakibatkan stress oksidatif yang ditandai dengan produksi zat *pro-oxidative* (*xanthine oxidase*, *hydrogen peroxide*-H₂O₂, *NADPH oxidase*) dan penurunan marker antioksidan (CAT, *superoxide dismutase*-SOD, *glutathione S-transferase*-GST, *glutathione peroxidase*-GPx, *glutathione reductase*-GR dan *glutathione*-GSH).

N-Acetylcystein pada penelitian ini terbukti dapat meningkatkan kadar GPx lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan *N-Acetylcystein* terbukti meningkatkan aktifitas GPx dengan meningkatkan avabilitas GSH. Pasien yang mengalami kerusakan hepar yang mengkonsumsi *N-Acetylcystein* dapat meningkatkan kadar GSH. GSH bekerja secara sinergis, dan meningkatkan aktifitas GPx untuk menetralkan proses lipid peroksidasi sehingga dapat melindungi hepar dari stress oksidatif.¹⁷⁹ *N-Acetylcystein* sebagai prekursor Glutathione meningkatkan kadar GSH yang menurun akibat radikal bebas, toksin, atau penyakit. GSH menetralkan radikal bebas, mendetoksifikasi xenobiotik, dan menjaga fungsi respon imun.¹⁷⁶ *N-Acetylcystein* memiliki potensi untuk mencegah kerusakan hepar melalui potensinya sebagai antioksidan, namun belum bisa dijadikan terapi standar dikarenakan rerata kadar GPx pada kelompok yang diberikan *N-*

Acetylcystein masih memiliki perbedaan signifikan dibanding kelompok kontrol sehat.

Pemberian ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari selama 14 hari pada penelitian ini terbukti dapat meningkatkan kadar GPx bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) pada beberapa penelitian sebelumnya telah terbukti mengandung banyak senyawa aktif, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid.^{31,40,135} Flavonoid akan berperan dalam mengaktifkan jalur pensinyalan Nrf2-KEAP1-ARE dan meningkatkan produksi antioksidan endogen seperti GSH, SOD, GPx.¹⁴⁰⁻¹⁴⁴ Tanin dan saponin juga dapat menurunkan kadar ROS, MDA, dan meningkatkan aktivitas SOD, CAT, GSH, dan GPx melalui aktivasi Nrf2^{163,165}. Triterpenoid mengatur enzim antioksidan seperti SOD dan GPx melalui aktivasi Nrf2, sementara secara bersamaan menghambat *cytochrome* P450 2E1 (CYP2E1), enzim yang terlibat dalam bioaktivasi xenobiotik.⁵¹⁷⁰

Ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari pada penelitian ini secara klinis memberikan efek peningkatan rerata kadar GPx bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, namun tidak berbeda signifikan. Hal ini menunjukkan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari memiliki efek yang sama dalam peningkatan rerata kadar GPx dibanding dengan *N-Acetylcystein*. Rerata kadar GPx pada kelompok yang diberikan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400

mg/kgBB/hari juga masih memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol sehat. Hal ini menunjukkan meskipun ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari dapat meningkatkan kadar rerata GPx, dosis tersebut tidak bisa digunakan sebagai alternatif antioksidan yang efektif.

Pemberian ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari selama 14 hari pada penelitian ini terbukti dapat meningkatkan kadar GPx bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari pada penelitian ini memberikan efek peningkatan rerata kadar GPx secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif maupun kelompok ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari memiliki efek yang lebih baik dalam peningkatan rerata kadar GPx dibandingkan dengan *N-Acetylcystein* dan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari. Ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari memiliki kandungan flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 400 mg/kgBB/hari sehingga lebih efektif mencegah stress oksidatif pada kerusakan hepar.^{138,158,159,165,167} Rerata kadar GPx pada kelompok yang diberikan ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari masih memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol sehat. Hal ini menunjukkan meskipun ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan

kadar rerata GPx pada penelitian ini, dosis tersebut tidak bisa digunakan sebagai alternatif antioksidan yang efektif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit salak pondoh dapat mencegah kerusakan hepar secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Ekstrak kulit salak pondoh dosis 600 mg/kgBB/hari terbukti paling signifikan dalam mencegah kerusakan hepar bahkan jika dibandingkan dengan N-Acetylcystein sebagai kontrol positif yang sering digunakan untuk terapi kerusakan hepar karena intoksikasi parasetamol.

5.3. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak kulit salak pondoh dosis 400 mg/kgBB/hari dan 600 mg/kgBB/hari, namun hasil penelitian menunjukkan masih ditemukan adanya perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol sehat. Penelitian ini menguji kadar SGPT, IL-6 dan GPx sebagai marker kerusakan hepar. Peneliti tidak menguji ekspresi Nrf2, MAPK, dan NF- κ B sebagai indikator yang lebih spesifik terhadap mekanisme kerja ekstrak kulit salak pondoh secara molekuler. Peneliti tidak meneliti makroskopis, dan histopatologis hepar, untuk mengetahui sejauh mana kerusakan dan perbaikan kondisi hepar yang terjadi secara anatomis dan histologis. Peneliti tidak melakukan uji toksisitas terhadap ekstrak kulit salak

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak kulit salak pondoh berpengaruh terhadap kadar SGPT pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄ dan diberi Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca (Gaertn.) Voss*) dosis 400 dan 600 mg/kgBB/hari selama 14 hari dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Pemberian ekstrak kulit salak pondoh berpengaruh terhadap kadar IL-6 pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄ dan diberi Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca (Gaertn.) Voss*) dosis 400 dan 600 mg/kgBB/hari selama 14 hari dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Pemberian ekstrak kulit salak pondoh berpengaruh terhadap kadar GPx pada tikus wistar yang diinduksi CCl₄ dan diberi Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca (Gaertn.) Voss*) dosis 400 dan 600 mg/kgBB/hari selama 14 hari dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian yang membandingkan dosis ekstrak kulit salak yang lebih tinggi dari 600mg/kgBB per hari untuk mengetahui dosis yang paling efektif dalam mencegah kerusakan hepar.
2. Perlu dilakukan pengujian terhadap ekspresi Nrf2, MAPK, dan NF-κB sebagai indikator yang lebih spesifik terhadap mekanisme kerja ekstrak kulit salak pondoh secara molekuler.

3. Perlu dilakukan pengujian terhadap makroskopis, dan imuno-histopatologis hepar, untuk mengetahui sejauh mana kerusakan dan perbaikan kondisi hepar yang terjadi secara anatomis dan imuno-histologis.
4. Perlu dilakukan uji toksisitas terhadap ekstrak kulit salak



DAFTAR PUSTAKA

1. Wang B, Cui S, Mao B, Zhang Q, Tian F, Zhao J, et al. Cyanidin Alleviated CCl₄-Induced Acute Liver Injury by Regulating the Nrf2 and NF- κ B Signaling Pathways. *Antioxidants*. 2022 Dec 1;11(12):2383.
2. Chang SN, Kim SH, Dey DK, Park SM, Nasif O, Bajpai VK, et al. 5-O-Demethylnobiletin Alleviates CCl₄-Induced Acute Liver Injury by Equilibrating ROS-Mediated Apoptosis and Autophagy Induction. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 22;22(3):1083.
3. Martínez-Martínez LM, Rosales-Sotomayor G, Jasso-Baltazar EA, Torres-Díaz JA, Aguirre-Villarreal D, Hurtado-Díaz de León I, et al. Acute liver failure: Management update and prognosis. *Revista de Gastroenterología de México (English Edition)*. 2024 Jul;89(3):404–17.
4. Liu W, Zeng X, Liu Y, Liu J, Li C, Chen L, et al. The Immunological Mechanisms and Immune-Based Biomarkers of Drug-Induced Liver Injury. *Front Pharmacol*. 2021 Oct 15;12.
5. Neuman MG. Hepatotoxicity: Mechanisms of Liver Injury. In: *Liver Diseases*. Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 75–84.
6. Allison R, Guraka A, Shawa IT, Tripathi G, Moritz W, Kermanizadeh A. Drug induced liver injury – a 2023 update. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 2023 Nov 17;26(8):442–67.
7. Liang X, Zhang J, Guo F, Wei L, Zhou Q. Oxidative stress and inflammatory responses in the liver of swamp eel (*Monopterus albus*) exposed to carbon tetrachloride. *Aquaculture*. 2018 Nov;496:232–8.
8. Torres LR de O, Santana FC de, Torres-Leal FL, Melo ILP de, Yoshime LT, Matos-Neto EM, et al. Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almond oil attenuates carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rats:

Antioxidant and anti-inflammatory effects. *Food and Chemical Toxicology*. 2016 Nov;97:205–16.

9. Kostic T, Popović D, Perisic Z, Stanojevic D, Dakic S, Saric S, et al. The hepatoprotective effect of aminoguanidine in acute liver injury caused by CCl₄ in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022 Dec;156:113918.
10. Ahn M, Kim J, Bang H, Moon J, Kim GO, Shin T. Hepatoprotective effects of allyl isothiocyanate against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat. *Chem Biol Interact*. 2016 Jul;254:102–8.
11. Aayadi H, Mittal SPK, Deshpande A, Gore M, Ghaskadbi SS. Protective effect of geraniin against carbon tetrachloride induced acute hepatotoxicity in Swiss albino mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 May;487(1):62–7.
12. Popović D, Đukić D, Katić V, Jović Z, Jović M, Lalić J, et al. Antioxidant and proapoptotic effects of anthocyanins from bilberry extract in rats exposed to hepatotoxic effects of carbon tetrachloride. *Life Sci*. 2016 Jul;157:168–77.
13. Yu H he, Qiu Y xing, Li B, Peng C yun, Zeng R, Wang W. Kadsura heteroclita stem ethanol extract protects against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice via suppression of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *J Ethnopharmacol*. 2021 Mar;267:113496.
14. Schmidt-Arras D, Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *J Hepatol*. 2016 Jun;64(6):1403–15.
15. McGill MR. The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI J*. 2016;15:817–28.
16. Wang D, Zhou BY, Xiang L, Chen XY, Feng JX. Alanine aminotransferase as a risk marker for new-onset metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2024 Jul 7;30(25):3132–9.

17. Tamber SS, Bansal P, Sharma S, Singh RB, Sharma R. Biomarkers of liver diseases. *Mol Biol Rep.* 2023 Sep 24;50(9):7815–23.
18. Zaccherini G, Weiss E, Moreau R. Acute-on-chronic liver failure: Definitions, pathophysiology and principles of treatment. *JHEP Reports.* 2021 Feb;3(1):100176.
19. Maiwall R, Kulkarni A V, Arab JP, Piano S. Acute liver failure. *The Lancet.* 2024 Aug;404(10454):789–802.
20. Björnsson H, Björnsson E. Drug-induced liver injury: Pathogenesis, epidemiology, clinical features, and practical management. *Eur J Intern Med.* 2022 Mar;97:26–31.
21. Devarbhavi H, Aithal G, Treeprasertsuk S, Takikawa H, Mao Y, Shasthry SM, et al. Drug-induced liver injury: Asia Pacific Association of Study of Liver consensus guidelines. *Hepatol Int.* 2021 Apr 27;15(2):258–82.
22. Wu Y, He Y, Wang R, Zhao X. Preventive Effect of Flavonoid Extract from the Peel of Gonggan (*Citrus reticulata* Blanco Var. Gonggan) on CCl₄-Induced Acute Liver Injury in Mice. *J Inflamm Res.* 2021 Oct;Volume 14:5111–21.
23. Rusfardy J, Putri NN, Tambunan AZ, Chiuman L, Hadi L. The Effect of Giving Salak Fruit Skin Extract (*Salacca zalaca*) on Liver Function and Histopathology of the Liver of Male Wistar White Rats with Diabetes Mellitus. *HASIL SEMINAR NASIONAL UNPRI* [Internet]. 2025 [cited 2025 Apr 21];1(2). Available from: <https://jurnal.unprimdn.ac.id/index.php/hasenf/article/view/6742>
24. Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan Kementrian Kesehatan. Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023 dalam Angka. Jakarta: BKPK Kementrian Kesehatan; 2023.

25. Berumen J, Baglieri J, Kisseleva T, Mekeel K. Liver fibrosis: Pathophysiology and clinical implications. *WIREs Mechanisms of Disease*. 2021 Jan 26;13(1).
26. Global Health Estimates 2021. Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2021. World Health Organization. 2021.
27. Popović D, Kocić G, Katić V, Zarubica A, Janković Veličković L, Ničković VP, et al. Anthocyanins Protect Hepatocytes against CCl₄-Induced Acute Liver Injury in Rats by Inhibiting Pro-inflammatory mediators, Polyamine Catabolism, Lipocalin-2, and Excessive Proliferation of Kupffer Cells. *Antioxidants*. 2019 Oct 4;8(10):451.
28. Yevseyenko DA, Dundarov ZA, Nadyrov EA. An Experimental Model of Liver Cirrhosis in Laboratory Animals. *Health and Ecology Issues*. 2019 Mar 28;(1):72–7.
29. Puryono RI, Puspitasari E, Ningsih IY. Uji Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Varietas Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) (Antioxidant Assay of Some *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss Varieties using DPPH (1,1 - Diphenyl - 2 – Picrylhydrazyl) Method). *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. 2015;
30. Peni Fitriarningsih S, Lestari F, Aminah S. Uji EFEK ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH SALAK [*SALACCA ZALACCA* (GAERTNER) VOSS] dengan Metode Perendaman DPPH. In: *Prosiding SNaPP2014 Sains* . 2014. p. 49–54.
31. Girsang E. *KULIT SALAK*. 1st ed. Novalinda C, editor. 2020.
32. Insights of phytoconstituents and pharmacology activities of *Salacca* plants. *J Appl Pharm Sci*. 2019 Oct;9(10):120–4.

33. Diana Yuswanti Putri, Sri Utami, Nirmala Halid, Husnul Khotimah, Yuyun Yueniwati. Research development of Salacca zalacca skin against metabolic syndrome: A Review. *World Journal of Advanced Research and Reviews*. 2024 Dec 30;24(3):688–93.
34. Widowati W, Dani D, Vera V, Yuninda VA. Antioxidant and Antiaging Potential of Salak Fruit Extract (Salacca zalacca (Gaertn.)Voss). *Majalah Obat Tradisional*. 2023 Nov 30;28(3).
35. Widowati W, Dani D, Vera V, Yuninda VA. Antioxidant and Antiaging Potential of Salak Fruit Extract (Salacca zalacca (Gaertn.)Voss). *Majalah Obat Tradisional*. 2023 Nov 30;28(3).
36. Girsang E, Ginting C, Lister I, Wijayanti C, Widowati W, Rizal R. Antioxidant Properties of Salacca zalacca (Gaertn.) Voss Peel Ethanolic Extract Compared to Chlorogenic Acid. In: *Proceedings of the 1st International Conference on Emerging Issues in Technology, Engineering and Science*. SCITEPRESS - Science and Technology Publications; 2021. p. 87–94.
37. Girsang E, Lister INE, Ginting CN, Nasution SL, Suhartina S, Munshy UZ, et al. Antioxidant and Anti-inflammatory Activity of Salacca zalacca (Gaertn.) Voss Peel Ethanolic Extract on Lead Induced Fibroblast Cells. In: *Proceedings of the 6th International Conference on Advanced Molecular Bioscience and Biomedical Engineering*. SCITEPRESS - Science and Technology Publications; 2019. p. 68–73.
38. Saleh MohammedSM, Siddiqui M, Mat So'ad S, Murugesu S, Khatib A, Rahman M. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities and gas chromatography–mass spectrometry profile of salak (Salacca zalacca) fruit peel extracts. *Pharmacognosy Res*. 2018;10(4):385.
39. Robbiyan, Marpaung Pandapotan M, Apriani R. PENENTUAN KADAR FLAVONOID DARI EKSTRAK KULIT SALAK (Salacca zalacca. Reinw)

BERDASARKAN PERBEDAAN PENGERINGAN SIMPLISIA. Vol. 9, Lantanida Journal. 2021.

40. Girsang E, Lister INE, Ginting CN, Khu A, Samin B, Widowati W, et al. Chemical Constituents of Snake Fruit (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) Peel and in silico Anti-aging Analysis. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*. 2019 Sep 1;3(2):122.
41. Arhami A, Djohan LT, Rajagukguk H. The Effect of Giving Salak (*Salacca Zalacca*) Bark Extract on Liver Function and Histopathological Features of the Liver of Male Wistar White Rats Obesity Model. *International Journal of Public Health Excellence (IJPHE)*. 2024 Feb 9;3(2):607–16.
42. Tan P, Jin L, Qin X, He B. Natural flavonoids: Potential therapeutic strategies for non-alcoholic fatty liver disease. *Front Pharmacol*. 2022 Sep 16;13.
43. Shen CY, Hao YF, Hao ZX, Liu Q, Zhang L, Jiang CP, et al. Flavonoids from *Rosa davurica* Pall. fruits prevent high-fat diet-induced obesity and liver injury *via* modulation of the gut microbiota in mice. *Food Funct*. 2021;12(20):10097–106.
44. Je J, Kim H, Park EJ, Kim SR, Dusabimana T, Jeong K, et al. Fermentation of Sprouted Ginseng (*Panax ginseng*) Increases Flavonoid and Phenolic Contents to Attenuate Alcoholic Hangover and Acute Liver Injury in Mice. *Am J Chin Med (Gard City N Y)*. 2021 Jan 26;49(01):131–46.
45. Gou S hu, He M, Li B bei, Zhu N yi, Ni J man. Hepatoprotective effect of total flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch in liver injury mice. *Nat Prod Res*. 2021 Dec 17;35(24):6083–7.
46. Frank D, Savir S, Gruenbaum BF, Melamed I, Grinshpun J, Kuts R, et al. Inducing Acute Liver Injury in Rats via Carbon Tetrachloride (CCl4) Exposure Through an Orogastic Tube. *Journal of Visualized Experiments*. 2020 Apr 28;(158).

47. Okoro IO, Okoro EO, Isoje FE, Oyubu G. Protective effects of *Alstonia congensis* Methanolic extract against CCl₄ induced liver damage in Wistar rats. *Sci Afr* [Internet]. 2022 Sep;17:e01315. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468227622002228>
48. Setyawaty R, Aptuning B R, Dewanto D. Preliminary Studies on the Content of Phytochemical Compounds On Skin of Salak Fruit (*Salacca zalacca*). *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 2020 Dec 1;6(1):1–6.
49. Pertiwi D, Aulia A, Wibowo J, Nisa M, Guscella D, Anggita N. The Effect of Ethanol Extract from *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss Peel on Antioxidant and Uric Acid Levels in Hyperuricemia Rats. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 2025 Apr 30;9(4):1706.
50. Wu H, Qiu Y, Shu Z, Zhang X, Li R, Liu S, et al. Protective effect of *Trillium tschonoskii*saponin on CCl₄ induced acute liver injury of rats through apoptosis inhibition. *Can J Physiol Pharmacol*. 2016 Dec;94(12):1291–7.
51. Zou J, Qi F, Ye L, Yao S. Protective Role of Grape Seed Proanthocyanidins Against Ccl₄ Induced Acute Liver Injury in Mice. *Med Sci Monit*. 2016 Mar 17;22:880–9.
52. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *American Journal of Gastroenterology*. 2017 Jan;112(1):18–35.
53. Aulbach AD, Amuzie CJ. Biomarkers in Nonclinical Drug Development. In: *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development*. Elsevier; 2017. p. 447–71.
54. 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.

55. Ruhl CE, Everhart JE. Upper Limits of Normal for Alanine Aminotransferase Activity in the United States Population. *Hepatology*. 2012 Feb;55(2):447–54.
56. Rinella ME, Lazarus J V., Ratziu V, Francque SM, Sanyal AJ, Kanwal F, et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology*. 2023 Dec;78(6):1966–86.
57. Alvaro D, Gores GJ, Walicki J, Hassan C, Sapisochin G, Komuta M, et al. EASL-ILCA Clinical Practice Guidelines on the management of intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatol*. 2023 Jul;79(1):181–208.
58. Devarbhavi H, Asrani SK, Arab JP, Nartey YA, Pose E, Kamath PS. Global burden of liver disease: 2023 update. *J Hepatol*. 2023 Aug;79(2):516–37.
59. Du K, Farhood A, Jaeschke H. Mitochondria-targeted antioxidant Mito-Tempo protects against acetaminophen hepatotoxicity. *Arch Toxicol*. 2017 Feb 22;91(2):761–73.
60. Ramachandran A, Jaeschke H. Mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity and their translation to the human pathophysiology. *J Clin Transl Res*. 2017;
61. Rada P, González-Rodríguez Á, García-Monzón C, Valverde ÁM. Understanding lipotoxicity in NAFLD pathogenesis: is CD36 a key driver? *Cell Death Dis*. 2020 Sep 25;11(9):802.
62. Cui N, Li H, Dun Y, Ripley-Gonzalez JW, You B, Li D, et al. Exercise inhibits JNK pathway activation and lipotoxicity via macrophage migration inhibitory factor in nonalcoholic fatty liver disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:961231.
63. Loomba R, Friedman SL, Shulman GI. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell*. 2021 May;184(10):2537–64.

64. Svegliati-Baroni G, Pierantonelli I, Torquato P, Marinelli R, Ferreri C, Chatgililoglu C, et al. Lipidomic biomarkers and mechanisms of lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med*. 2019 Nov;144:293–309.
65. Chen Z, Tian R, She Z, Cai J, Li H. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med*. 2020 May;152:116–41.
66. Blanco I, Bueno P, Diego I, Pérez-Holanda S, Casas-Maldonado F, Esquinas C, et al. Alpha-1 antitrypsin Pi*Z gene frequency and Pi*ZZ genotype numbers worldwide: an update. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017;12:561–9.
67. Katzer D, Ganschow R, Strnad P, Hamesch K. Pi*ZZ-related liver disease in children and adults—narrative review of the typical presentation and management of alpha-1 antitrypsin deficiency. *Dig Med Res*. 2021 Jun;4:31–31.
68. Shahsavari A, D'Occhio MJ, Al Jassim R. The role of rumen-protected choline in hepatic function and performance of transition dairy cows. *British Journal of Nutrition*. 2016 Jul 14;116(1):35–44.
69. Lu W, Yang J, Hu M, Zhong K, Wang Y, Yang Y, et al. Effects of choline deficiency and supplementation on lipid droplet accumulation in bovine primary liver cells in vitro. *J Dairy Sci*. 2023 Dec;106(12):9868–78.
70. Berzigotti A, Tsochatzis E, Boursier J, Castera L, Cazzagon N, Friedrich-Rust M, et al. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update. *J Hepatol*. 2021 Sep;75(3):659–89.
71. Garbers C, Heink S, Korn T, Rose-John S. Interleukin-6: designing specific therapeutics for a complex cytokine. *Nat Rev Drug Discov*. 2018 Jun 4;17(6):395–412.

72. Grebenciucova E, VanHaerents S. Interleukin 6: at the interface of human health and disease. *Front Immunol.* 2023 Sep 28;14.
73. Aliyu M, Zohora FT, Anka AU, Ali K, Maleknia S, Saffarioun M, et al. Interleukin-6 cytokine: An overview of the immune regulation, immune dysregulation, and therapeutic approach. *Int Immunopharmacol.* 2022 Oct;111:109130.
74. Choy EH, De Benedetti F, Takeuchi T, Hashizume M, John MR, Kishimoto T. Translating IL-6 biology into effective treatments. *Nat Rev Rheumatol.* 2020 Jun 23;16(6):335–45.
75. Raziyeve K, Kim Y, Zharkinbekov Z, Kassymbek K, Jimi S, Saparov A. Immunology of acute and chronic wound healing. *Biomolecules.* 2021.
76. Norris CA, He M, Kang LI, Ding MQ, Radder JE, Haynes MM, et al. Synthesis of IL-6 by hepatocytes is a normal response to common hepatic stimuli. *PLoS One.* 2014;
77. Castell J V., Gómez-Lechón MJ, David M, Hirano T, Kishimoto T, Heinrich PC. Recombinant human interleukin-6 (IL-6/BSF-2/HSF) regulates the synthesis of acute phase proteins in human hepatocytes. *FEBS Lett.* 1988;
78. Rückerl R, Greven S, Ljungman P, Aalto P, Antoniadis C, Bellander T, et al. Air pollution and inflammation (Interleukin-6, C-reactive protein, fibrinogen) in myocardial infarction survivors. *Environ Health Perspect.* 2007;
79. Schmidt-Arras D, Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *Journal of Hepatology.* 2016.
80. Hou X, Yin S, Ren R, Liu S, Yong L, Liu Y, et al. Myeloid-Cell–Specific IL-6 Signaling Promotes MicroRNA-223-Enriched Exosome Production to Attenuate NAFLD-Associated Fibrosis. *Hepatology.* 2021;

81. Burmester H, Wolber EM, Freitag P, Fandrey J, Jelkmann W. Thrombopoietin production in wild-type and interleukin-6 knockout mice with acute inflammation. *Journal of Interferon and Cytokine Research*. 2005;
82. Gewiese-Rabsch J, Drucker C, Malchow S, Scheller J, Rose-John S. Role of IL-6 trans-signaling in CCl4 induced liver damage. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2010;
83. Fazel Modares N, Polz R, Haghighi F, Lamertz L, Behnke K, Zhuang Y, et al. IL-6 Trans-signaling Controls Liver Regeneration After Partial Hepatectomy. *Hepatology*. 2019;
84. Schmidt-Arras D, Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *Journal of Hepatology*. 2016.
85. Allameh A, Niayesh-Mehr R, Aliarab A, Sebastiani G, Pantopoulos K. Oxidative Stress in Liver Pathophysiology and Disease. *Antioxidants*. 2023 Aug 22;12(9):1653.
86. GBD 2015 Obesity Collaborators, Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine*. 2017 Jul 6;377(1):13–27.
87. Naseem S, Hussain T, Manzoor S. Interleukin-6: A promising cytokine to support liver regeneration and adaptive immunity in liver pathologies. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2018 Feb;39:36–45.
88. Widjaja AA, Chothani SP, Cook SA. Different roles of interleukin 6 and interleukin 11 in the liver: implications for therapy. *Hum Vaccin Immunother*. 2020 Oct 2;16(10):2357–62.
89. Wang MJ, Zhang HL, Chen F, Guo XJ, Liu QG, Hou J. The double-edged effects of IL-6 in liver regeneration, aging, inflammation, and diseases. *Exp Hematol Oncol*. 2024 Jun 18;13(1):62.

90. Grebenciucova E, VanHaerents S. Interleukin 6: at the interface of human health and disease. *Front Immunol.* 2023 Sep 28;14.
91. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int Immunol.* 2021 Mar 1;33(3):127–48.
92. Ding J, Su S, You T, Xia T, Lin X, Chen Z, et al. Serum interleukin-6 level is correlated with the disease activity of systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Clinics.* 2020;75:e1801.
93. Shahini A, Shahini A. Role of interleukin-6-mediated inflammation in the pathogenesis of inflammatory bowel disease: focus on the available therapeutic approaches and gut microbiome. *J Cell Commun Signal.* 2023 Mar;17(1):55–74.
94. Rašková M, Lacina L, Kejík Z, Venhauerová A, Skaličková M, Kolář M, et al. The Role of IL-6 in Cancer Cell Invasiveness and Metastasis—Overview and Therapeutic Opportunities. *Cells.* 2022 Nov 21;11(22):3698.
95. Wu S, Cao Z, Lu R, Zhang Z, Sethi G, You Y. Interleukin-6 (IL-6)-associated tumor microenvironment remodelling and cancer immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2025 Jan;
96. Karakasheva TA, Lin EW, Tang Q, Qiao E, Waldron TJ, Soni M, et al. IL-6 Mediates Cross-Talk between Tumor Cells and Activated Fibroblasts in the Tumor Microenvironment. *Cancer Res.* 2018 Sep 1;78(17):4957–70.
97. Wu S, Cao Z, Lu R, Zhang Z, Sethi G, You Y. Interleukin-6 (IL-6)-associated tumor microenvironment remodelling and cancer immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2025 Jan;
98. D’Esposito V, Di Tolla MF, Lecce M, Cavalli F, Libutti M, Misso S, et al. Lifestyle and Dietary Habits Affect Plasma Levels of Specific Cytokines in Healthy Subjects. *Front Nutr.* 2022 Jun 24;9.

99. Smidowicz A, Regula J. Effect of Nutritional Status and Dietary Patterns on Human Serum C-Reactive Protein and Interleukin-6 Concentrations. *Advances in Nutrition*. 2015 Nov;6(6):738–47.
100. Nestal De Moraes G, Carvalho É, Maia RC, Sternberg C. Immunodetection of caspase-3 by Western blot using glutaraldehyde. *Anal Biochem*. 2011;
101. Li S, Li J, Peng W, Hao G, Sun J. Characterization of the responses of the caspase 2, 3, 6 and 8 genes to immune challenges and extracellular ATP stimulation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *BMC Vet Res*. 2019;
102. Bressenot A, Marchal S, Bezdetnaya L, Garrier J, Guillemain F, Plénat F. Assessment of Apoptosis by Immunohistochemistry to Active Caspase-3, Active Caspase-7, or Cleaved PARP in Monolayer Cells and Spheroid and Subcutaneous Xenografts of Human Carcinoma. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2009;
103. Flohé L, Toppo S, Orian L. The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism. *Free Radic Biol Med*. 2022 Jul;187:113–22.
104. Sies H, Belousov V V., Chandel NS, Davies MJ, Jones DP, Mann GE, et al. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022 Jul 21;23(7):499–515.
105. Lucena IM, García-Martín E, Andrade RJ, Martínez C, Stephens C, Ruiz JD, et al. Mitochondrial Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase in Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury. *Hepatology*. 2017 Jul;52(1):303–12.
106. Handy DE, Loscalzo J. The role of glutathione peroxidase-1 in health and disease. *Free Radic Biol Med*. 2022 Aug;188:146–61.
107. Forcina GC, Dixon SJ. GPX4 at the Crossroads of Lipid Homeostasis and Ferroptosis. *Proteomics*. 2019 Sep 31;19(18).

108. Liu Y, Wan Y, Jiang Y, Zhang L, Cheng W. GPX4: The hub of lipid oxidation, ferroptosis, disease and treatment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2023 May;1878(3):188890.
109. Sharma G, Shin EJ, Sharma N, Nah SY, Mai HN, Nguyen BT, et al. Glutathione peroxidase-1 and neuromodulation: Novel potentials of an old enzyme. *Food and Chemical Toxicology*. 2021 Feb;148:111945.
110. Capelletti MM, Manceau H, Puy H, Peoc'h K. Ferroptosis in Liver Diseases: An Overview. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 11;21(14):4908.
111. Imai H, Matsuoka M, Kumagai T, Sakamoto T, Koumura T. Lipid Peroxidation-Dependent Cell Death Regulated by GPx4 and Ferroptosis. In 2016. p. 143–70.
112. Pei J, Pan X, Wei G, Hua Y. Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxitation. *Front Pharmacol*. 2023 Mar 2;14.
113. Amin AA, Agarwal B, Jalan R. Acute liver failure: updates in pathogenesis and management. *Medicine*. 2023 Jun;51(6):445–9.
114. Wendon J, Cordoba J, Dhawan A, Larsen FS, Manns M, Nevens F, et al. EASL Clinical Practical Guidelines on the management of acute (fulminant) liver failure. *J Hepatol*. 2017 May;66(5):1047–81.
115. Shingina A, Mukhtar N, Wakim-Fleming J, Alqahtani S, Wong RJ, Limketkai BN, et al. Acute Liver Failure Guidelines. *American Journal of Gastroenterology*. 2023 Jul;118(7):1128–53.
116. Stravitz RT, Lee WM. Acute liver failure. *The Lancet*. 2019 Sep;394(10201):869–81.
117. S Arikunto. *Prosedur penelitian: suatu pendekatan praktik*. 14th ed. Vol. Edisi Revisi. Jakarta: Rineka Cipta; 2010.

118. Wang M, Feng Z. Mechanisms of Hepatocellular Injury in Hepatitis A. *Viruses*. 2021 May 8;13(5).
119. Dong V, Nanchal R, Karvellas CJ. Pathophysiology of Acute Liver Failure. *Nutrition in Clinical Practice*. 2020 Feb 15;35(1):24–9.
120. Ramos-Tovar E, Muriel P. Molecular Mechanisms That Link Oxidative Stress, Inflammation, and Fibrosis in the Liver. *Antioxidants (Basel)*. 2020 Dec 15;9(12).
121. Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci*. 2015 Nov 2;16(11):26087–124.
122. An P, Wei LL, Zhao S, Sverdlov DY, Vaid KA, Miyamoto M, et al. Hepatocyte mitochondria-derived danger signals directly activate hepatic stellate cells and drive progression of liver fibrosis. *Nat Commun*. 2020 May 12;11(1):2362.
123. Gama JFG, Cardoso LM da F, Lagrota-Candido JM, Alves LA. Animal models applied to acute-on-chronic liver failure: Are new models required to understand the human condition? *World J Clin Cases*. 2022 Mar 26;10(9):2687–99.
124. Hefler J, Marfil-Garza BA, Pawlick RL, Freed DH, Karvellas CJ, Bigam DL, et al. Preclinical models of acute liver failure: a comprehensive review. *PeerJ*. 2021 Dec 9;9:e12579.
125. Mao J, Tan L, Tian C, Wang W, Zhang H, Zhu Z, et al. Research progress on rodent models and its mechanisms of liver injury. *Life Sci*. 2024 Jan;337:122343.
126. El-Kot SM, Wanas W, Hafez AM, Mahmoud NA, Tolba AM, Younis AH, et al. Effect of silymarin on the relative gene expressions of some

- inflammatory cytokines in the liver of CCl₄-intoxicated male rats. *Sci Rep*. 2023 Sep 14;13(1):15245.
127. McGill MR, Jaeschke H. Animal models of drug-induced liver injury. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2019 May;1865(5):1031–9.
 128. Wang M, Zhang XJ, Feng R, Jiang Y, Zhang DY, He C, et al. Hepatoprotective properties of *Penthorum chinense* Pursh against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Chin Med*. 2017;12:32.
 129. Fu K, Ma C, Wang C, Zhou H, Gong L, Zhang Y, et al. Forsythiaside A alleviated carbon tetrachloride-induced liver fibrosis by modulating gut microbiota composition to increase short-chain fatty acids and restoring bile acids metabolism disorder. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022 Jul;151:113185.
 130. Zhu J, Li B, Fang W, Zhou X, Li D, Jin J, et al. Oral matrine alleviates CCl₄-induced liver fibrosis via preserved HSP72 from modulated gut microbiota. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024 Sep;178:117262.
 131. Madbouly NA, Ali DM, Farid AA. Nanoparticles from grape seed extract inhibit inflammatory cytokines and ameliorate CCl₄-induced hepatotoxicity. *BMC Complement Med Ther*. 2025 Jul 19;25(1):276.
 132. Li R, Yang W, Yin Y, Ma X, Zhang P, Tao K. 4-OI Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury via Regulating Oxidative Stress and the Inflammatory Response. *Front Pharmacol*. 2021;12:651444.
 133. Alejolowo OO, Oluba OM, Adeyemi OS. *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. extract-protected rats against CCl₄-induced liver fibrosis. *J Taibah Univ Med Sci*. 2025 Aug;20(4):474–86.
 134. Kelsaba AB, Kilkoda AK, Mahulette AS, Program M, Agroteknologi S, Pertanian JB, et al. Karakterisasi Morfologi Tanaman Salak

AGROLOGIA [Internet]. 2024;3:24–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.30598/ajibt.v13i1>

135. Girsang E, Lister INE, Ginting CN, Nasution SL, Suhartina S, Munshy UZ, et al. Antioxidant and Anti-inflammatory Activity of *Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss Peel Ethanolic Extract on Lead Induced Fibroblast Cells. In: Proceedings of the 6th International Conference on Advanced Molecular Bioscience and Biomedical Engineering. SCITEPRESS - Science and Technology Publications; 2019. p. 68–73.
136. Wang T yang, Li Q, Bi K shun. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J Pharm Sci*. 2018 Jan;13(1):12–23.
137. Marzouk MM. Flavonoid constituents and cytotoxic activity of *Erucaria hispanica* (L.) Druce growing wild in Egypt. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016 Sep;9:S411–5.
138. Khan J, Deb PK, Priya S, Medina KD, Devi R, Walode SG, et al. Dietary Flavonoids: Cardioprotective Potential with Antioxidant Effects and Their Pharmacokinetic, Toxicological and Therapeutic Concerns. *Molecules*. 2021 Jun 30;26(13):4021.
139. Beaufay F, Quarles E, Franz A, Katamanin O, Wholey WY, Jakob U. Polyphosphate Functions In Vivo as an Iron Chelator and Fenton Reaction Inhibitor. *mBio*. 2020 Aug 25;11(4).
140. Golonko A, Olichwier AJ, Swislocka R, Szczerbinski L, Lewandowski W. Why Do Dietary Flavonoids Have a Promising Effect as Enhancers of Anthracyclines? Hydroxyl Substituents, Bioavailability and Biological Activity. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 26;24(1):391.
141. L. Suraweera T, Rupasinghe HPV, Dellaire G, Xu Z. Regulation of Nrf2/ARE Pathway by Dietary Flavonoids: A Friend or Foe for Cancer Management? *Antioxidants*. 2020 Oct 11;9(10):973.

142. He F, Ru X, Wen T. NRF2, a Transcription Factor for Stress Response and Beyond. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 6;21(13):4777.
143. Satta S, Mahmoud AM, Wilkinson FL, Yvonne Alexander M, White SJ. The Role of Nrf2 in Cardiovascular Function and Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2017 Jan 14;2017(1).
144. Baird L, Yamamoto M. The Molecular Mechanisms Regulating the KEAP1-NRF2 Pathway. *Mol Cell Biol.* 2020 Jun 15;40(13).
145. Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem.* 2019 Nov;299:125124.
146. Chen L, Wei Y, Zhao S, Zhang M, Yan X, Gao X, et al. Antitumor and immunomodulatory activities of total flavonoids extract from persimmon leaves in H22 liver tumor-bearing mice. *Sci Rep.* 2018 Jul 12;8(1):10523.
147. Peng HL, Huang WC, Cheng SC, Liou CJ. Fisetin inhibits the generation of inflammatory mediators in interleukin-1 β -induced human lung epithelial cells by suppressing the NF- κ B and ERK1/2 pathways. *Int Immunopharmacol.* 2018 Jul;60:202–10.
148. Yokoyama T, Kosaka Y, Mizuguchi M. Structural Insight into the Interactions between Death-Associated Protein Kinase 1 and Natural Flavonoids. *J Med Chem.* 2015 Sep 24;58(18):7400–8.
149. Wahlang B, McClain C, Barve S, Gobejishvili L. Role of cAMP and phosphodiesterase signaling in liver health and disease. *Cell Signal.* 2018 Sep;49:105–15.
150. Guo YQ, Tang GH, Lou LL, Li W, Zhang B, Liu B, et al. Prenylated flavonoids as potent phosphodiesterase-4 inhibitors from *Morus alba*: Isolation, modification, and structure-activity relationship study. *Eur J Med Chem.* 2018 Jan;144:758–66.

151. Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients*. 2018 Nov 2;10(11):1618.
152. Kumar R, Caruso IP, Ullah A, Lopes Cornelio M, Andres Fossey M, Pereira de Souza F, et al. Exploring the Binding Mechanism of Flavonoid Quercetin to Phospholipase A2: Fluorescence Spectroscopy and Computational Approach. *Eur J Exp Biol*. 2017;07(05).
153. Novo Belchor M, Hessel Gaeta H, Fabri Bittencourt Rodrigues C, Ramos da Cruz Costa C, De Oliveira Toyama D, Domingues Passero L, et al. Evaluation of Rhamnetin as an Inhibitor of the Pharmacological Effect of Secretory Phospholipase A2. *Molecules*. 2017 Aug 31;22(9):1441.
154. González Mosquera DM, Hernández Ortega Y, Fernández PL, González Y, Doens D, Vander Heyden Y, et al. Flavonoids from *Boldoa purpurascens* inhibit proinflammatory cytokines (TNF- α and IL-6) and the expression of COX-2. *Phytotherapy Research*. 2018 Sep 3;32(9):1750–4.
155. Hanáková Z, Hošek J, Kutil Z, Temml V, Landa P, Vaněk T, et al. Anti-inflammatory Activity of Natural Geranylated Flavonoids: Cyclooxygenase and Lipoxygenase Inhibitory Properties and Proteomic Analysis. *J Nat Prod*. 2017 Apr 28;80(4):999–1006.
156. Chen X, Yu J, Shi J. Management of Diabetes Mellitus with Puerarin, a Natural Isoflavone From *Pueraria lobata*. *Am J Chin Med (Gard City N Y)*. 2018 Jan 7;46(08):1771–89.
157. Gourlay G, Constabel CP. Condensed tannins are inducible antioxidants and protect hybrid poplar against oxidative stress. *Tree Physiol*. 2019 Mar 1;39(3):345–55.
158. Kumar N, Goel N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*. 2019 Dec;24:e00370.

159. Zhang J, Cui L, Han X, Zhang Y, Zhang X, Chu X, et al. Protective effects of tannic acid on acute doxorubicin-induced cardiotoxicity: Involvement of suppression in oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017 Sep;93:1253–60.
160. Jin W, Xue Y, Xue Y, Han X, Song Q, Zhang J, et al. Tannic acid ameliorates arsenic trioxide-induced nephrotoxicity, contribution of NF- κ B and Nrf2 pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020 Jun;126:110047.
161. Mancini S, Minieri S, Buccioni A, Marzoni Fecia di Cossato M, Russo C, Paci G. The influence of dietary chestnut and quebracho tannins mix on rabbit meat quality. *Animal Science Journal*. 2019 May 7;90(5):680–9.
162. Ambreen M, Mirza SA. Evaluation of anti-inflammatory and wound healing potential of tannins isolated from leaf callus cultures of *Achyranthes aspera* and *Ocimum basilicum*. *Pak J Pharm Sci*. 2020 Jan;33(1(Supplementary)):361–9.
163. Song D, Zhao J, Deng W, Liao Y, Hong X, Hou J. Tannic acid inhibits NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β production via blocking NF- κ B signaling in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Sep;503(4):3078–85.
164. Mukhopadhyay N, Shukla A, Makhal PN, Kaki VR. Natural product-driven dual COX-LOX inhibitors: Overview of recent studies on the development of novel anti-inflammatory agents. *Heliyon*. 2023 Mar;9(3):e14569.
165. Ma Q. Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2015 Jan 6;53(1):401–26.
166. Krejsa CM, Franklin CC, White CC, Ledbetter JA, Schieven GL, Kavanagh TJ. Rapid Activation of Glutamate Cysteine Ligase following Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry*. 2015 May;285(21):16116–24.

167. Khan MI, Khan MZ, Shin JH, Shin TS, Lee YB, Kim MY, et al. Neuroprotective Effects of Green Tea Seed Isolated Saponin Due to the Amelioration of Tauopathy and Alleviation of Neuroinflammation: A Therapeutic Approach to Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2022 Mar 24;27(7):2079.
168. Fan X gong, Pei S ya, Zhou D, Zhou P cheng, Huang Y, Hu X wang, et al. Melittin ameliorates inflammation in mouse acute liver failure via inhibition of PKM2-mediated Warburg effect. *Acta Pharmacol Sin*. 2021 Aug 16;42(8):1256–66.
169. El-Agamy D, Shebl A, Shaaban A. Modulation of <scp>d</scp> - galactosamine/lipopolysacharride-induced fulminant hepatic failure by nilotinib. *Hum Exp Toxicol*. 2018 Jan 26;37(1):51–60.
170. Zhu Y, Jia Y, Zhang E. Oxidative stress modulation in alcohol-related liver disease: From chinese botanical drugs to exercise-based interventions. *Front Pharmacol*. 2025 Apr 25;16.
171. Zhou J, Zhang N, Zhao L, Wu W, Zhang L, Zhou F, et al. Astragalus Polysaccharides and Saponins Alleviate Liver Injury and Regulate Gut Microbiota in Alcohol Liver Disease Mice. *Foods*. 2021 Nov 3;10(11):2688.
172. Wang F, Park JS, Ma Y, Ma H, Lee YJ, Lee GR, et al. Ginseng Saponin Enriched in Rh1 and Rg2 Ameliorates Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Inhibiting Inflammasome Activation. *Nutrients*. 2021 Mar 5;13(3):856.
173. Zhou Y, Wang J, Zhang D, Liu J, Wu Q, Chen J, et al. Mechanism of drug-induced liver injury and hepatoprotective effects of natural drugs. *Chin Med*. 2021 Dec 11;16(1):135.
174. Zhao JW, Zhao WY, Zhao M, Yu L. Functional foods and bioactive compounds: a comprehensive review on their role in mitigating drug-induced liver injury. *Front Nutr*. 2025 May 21;11.

175. Faghfour AH, Zarezadeh M, Tavakoli-Rouzbehani OM, Radkhah N, Faghfuri E, Kord-Varkaneh H, et al. The effects of N-acetylcysteine on inflammatory and oxidative stress biomarkers: A systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *Eur J Pharmacol.* 2020 Oct;884:173368.
176. Nikbaf-Shandiz M, Adeli S, Faghfour AH, Khademi F, Jamilian P, Zarezadeh M, et al. The efficacy of N-acetylcysteine in improving liver function: A systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *PharmaNutrition.* 2023 Jun;24:100343.
177. Mian P, van den Anker JN, van Calsteren K, Annaert P, Tibboel D, Pfister M, et al. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Characterize Acetaminophen Pharmacokinetics and N-Acetyl-p-Benzoquinone Imine (NAPQI) Formation in Non-Pregnant and Pregnant Women. *Clin Pharmacokinet.* 2020 Jan 25;59(1):97–110.
178. Faghfour AH, Zarezadeh M, Tavakoli-Rouzbehani OM, Radkhah N, Faghfuri E, Kord-Varkaneh H, et al. The effects of N-acetylcysteine on inflammatory and oxidative stress biomarkers: A systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *Eur J Pharmacol.* 2020 Oct;884:173368.
179. Galal AAA, Ramadan RA, Metwally MMM, El-Sheikh SMA. Protective effect of N-acetylcysteine on fenitrothion-induced toxicity: The antioxidant status and metabolizing enzymes expression in rats. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019 Apr;171:502–10.
180. Ershad M, Naji A, Patel P, Vearrier D. N-Acetylcysteine. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
181. Rukmana A, Supardi LA, Sjatha F, Nurfadilah M. Responses of Humoral and Cellular Immune Mediators in BALB/c Mice to LipX (PE11) as Seed Tuberculosis Vaccine Candidates. *Genes (Basel).* 2022 Oct 26;13(11):1954.

182. Chen Y, Wang Y, Jiang S, Xu J, Wang B, Sun X, et al. Red-fleshed apple flavonoid extract alleviates CCl₄-induced liver injury in mice. *Front Nutr.* 2022;9:1098954.
183. Al-Qabba MM, El-Mowafy MA, Althwab SA, Alfheaid HA, Aljutaily T, Barakat H. Phenolic Profile, Antioxidant Activity, and Ameliorating Efficacy of Chenopodium quinoa Sprouts against CCl₄-Induced Oxidative Stress in Rats. *Nutrients.* 2020 Sep 23;12(10).
184. Zakaria ZA, Mahmood ND, Omar MH, Taher M, Basir R. Methanol extract of *Muntingia calabura* leaves attenuates CCl₄-induced liver injury: possible synergistic action of flavonoids and volatile bioactive compounds on endogenous defence system. *Pharm Biol.* 2019 Dec;57(1):335–44.

