

**UJI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR FRAKSI ETIL ASETAT
DAUN CEMPEDAK (*Artocarpus champeden*) PADA TIKUS
PUTIH JANTAN GALUR WISTAR DIINDUKSI CCl₄**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm) dibidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



Oleh:

MEILITA RAHMA

08061281722030

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah Proposal :Uji Aktivitas Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat Daun Cempedak (*Artocarpus champeden*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Diinduksi CCl₄

Nama : Meilita Rahma

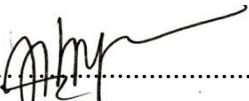
NIM : 08061281722030

Jurusan : Farmasi

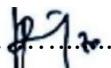
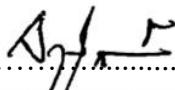
Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 26 Juli 2021 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 6 Agustus2021

Pembimbing:

1. Fitrya, M.Si., Apt. (..... 
NIP. 197212101999032001)
2. Annisa Amriani S,M.Farm.,Apt. (..... 
NIP. 198412292014082201)

Pembahas:

1. Prof. Dr. Elfita, M.Si. (..... 
NIP. 196903261994122001)
2. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt.(..... 
NIP. 198711272013012201)
3. Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt. (..... 
NIP. 199201182019032023)



Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA, Unsri
Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP.197103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat Daun Cempedak (*Artocarpus champeden*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Diinduksi CCl₄

Nama : Meilita Rahma

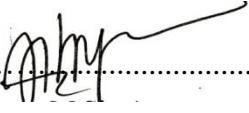
NIM : 08061281722030

Jurusan : Farmasi

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 27 Agustus 2021 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 13 September 2021

Ketua:

1. Fitrya, M.Si., Apt. (.....) 
NIP. 197212101999032001

Anggota:

1. Annisa Amriani S,M.Farm.,Apt. (.....) 
NIP. 198412292014082201

2. Prof. Dr. Elfita, M.Si. (.....) 
NIP. 196903261994122001

3. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt. (.....) 
NIP. 198711272013012201

4. Adik Ahmadi,S.Farm, M.Si., Apt. (.....) 
NIP. 199003232019031017



Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA, Unsri
Dr. rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP.197103101998021002

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Meilita Rahma
NIM : 08061281722030
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, 13 September 2021



Penulis

Meilita Rahma

NIM. 08061281722030

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Meilita Rahma
NIM : 08061281722030
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif” (non-exclusively royalty-freeright) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Uji Aktivitas Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat Daun Cempedak (*Artocarpus Champeden*) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Diinduksi CCl₄” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media / memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, 13 September 2021

Penulis



Meilita Rahma
NIM. 08061281722030

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO

Bismillah ar-Rahman ar-Rahim

(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)

Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orangtua, adik, keluarga, sahabat, dan almamater yang selalu memberikan semangat serta doa.

-Wa ma khalaqtul jinna wal insa illa liya' budun-

(Q.S. Adz-Dzariyat : 56)

- la yukallifullahu nafsan illa wus'aha-

(QS.Al-baqarah : 286)

“Sungguh beruntung orang yang diberi petunjuk dalam islam, diberi rizki yang cukup, dan qana’ah (merasa cukup) dengan rizki tersebut”

(HR. Ibnu Majah no. 4138)

Motto:

Dunia ini ibarat bayangan. Kejar dia, dan engkau tak akan pernah bisa menangkapnya. Balikkan badanmu darinya, dan dia tidak punya pilihan lain selain mengikutimu.

-Ibnu Qayyim Al Jauziyyah-

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah Subhanahu Wa ta'ala yang telah melimpahkan rahmat, berkat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat Daun Cempedak (*Artocarpus Champeden*) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Diinduksi CCl₄”. Penyusunan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah Subhanahu Wa ta'ala dan Nabi Muhammad Shalallahu Alaihi Wasallam., atas berkat, rahmat dan ridhoNya penulis dapat menyelesaikan studi ini.
2. Kedua orang tuaku, Ayah (Syamsudin) dan Ibu (Komariah) yang senantiasa mendoakan, memberikan cinta dan kasih sayang, perhatian, dukungan, dan nasihat, adikku Rizki Merdiyansah dan seluruh keluarga yang juga turut memberikan semangat, doa, dan bantuannya dalam perjalanan studi ini.
3. Ibu Fitrya, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Annisa Amriani, M. Farm., Apt. selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu memberikan masukan, bimbingan, semangat, doa, dan nasihat untuk menyelesaikan penelitian ini dengan baik.
4. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto., M.Si., Apt. selaku kepala jurusan Farmasi atas sarana dan prasarana serta dukungan yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini berjalan lancar.
5. Ibu Dr. Hj. Budi Untari selaku dosen pembimbing akademik atas semua dukungan dan nasihat selama perkuliahan hingga penulisan skripsi selesai.
6. Ibu Prof. Dr. Elfita, M.Si., Ibu Rennie Puspa Novita, M. Farm., Apt., Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt. dan Bapak Adik Ahmadi, S.Farm., M.Si., Apt. selaku dosen pembahas atas saran yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.

7. Semua dosen-dosen Jurusan Farmasi yang telah memberikan pengetahuan, wawasan, dan bantuan dalam studi baik di dalam maupun di luar kampus selama perkuliahan.
8. Seluruh staf (Kak Ria dan Kak Erwin) dan analis laboratorium (Kak Tawan, Kak Isti, dan Kak Fitri) Jurusan Farmasi FMIPA yang telah memberikan banyak bantuan sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian dengan lancar.
9. Sahabat-sahabat tercintaku di Farmasi dari MABA sekaligus partner seperjuangan Uji Hepatoprotektor Mella Riski dan Venny Fatya Sahara yang sudah meluangkan waktu selama ini untuk berdiskusi, berkeluh kesah, berdebat, memberikan semangat dan motivasi. Semoga kita dapat bersahabat sampai jannah dan di lain kesempatan bisa berkumpul kembali dengan versi terbaik yang kita harapkan dan cita-citakan aamiin allahumma aamiin.
10. Partner Artocarpus dan pejuang KLT Mutik, Beje, Eva, Hannan dan Harum. Penyemangat ketika futur Ummu Habibah semoga kita bisa senantiasa berteman karena Allah Subhanahu Wa ta'ala aamiin allahumma aamiin.
11. Seluruh keluarga Farmasi Unsri 2017 terkhusus Farmasi 17B Depyo, Atip, Fitria, Nopita, Sella, Cici, Kak zaa, Adi, Arief, Usi, dan semuanya yang tidak bisa disebut satu persatu terimakasih atas kebersamaan dan pelajaran hidup selama 4 tahun ini.
12. Kakak asuhku Kak Mufliah Amelia yang telah membimbing dan membantu dari awal perkuliahan. Kakak-kakak Farmasi 2013, 2014, 2015, dan 2016 yang telah memberikan arahan dan dukungan, adik-adik Farmasi 2018, 2019 dan 2020 yang juga mendoakan penulis dan seluruh pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan studi hingga selesai.

Inderalaya, 13 September 2021

Penulis



Meilita Rahma
NIM. 08061281722030

**Hepatoprotector activity test of ethyl acetate fraction of
cempedak leaves (*Artocarpus champeden*) in white
male rats Wistar strain induced by CCl₄.**

**Meilita Rahma
08061281722030**

ABSTRACT

Cempedak is a endemic plant in Indonesia. Cempedak leaves contain secondary metabolites in the form flavonoid compounds , which is thought to have properties as a hepatoprotector. The purpose of this study was to determine the effect of the ethyl acetate fraction of cempedak leaves on the levels of AST, ALT and ALP, the macroscopic and histopathological features of CCl₄-induced male rats and to determine the ED₅₀ value of the ethyl acetate fraction of cempedak leaves as a hepatoprotector. Rats were divided into six groups, namely the normal control group (NaCMC 0,5%), negative control (CCl₄ 1mL / kgBW), positive control (silymarin 100 mg / kgBW), the ethyl acetate fraction test group of cempedak leaves doses of 125, 250, and 500 mg / kgBW. Rats were treated according to the group for 7 days, on the 8th day CCl₄ was induced. On the 9th day the rats were measured for AST, ALT, and ALP levels and continued with macroscopic and histopathological observations on the liver after the rats were sacrificed. The results showed that the ethyl acetate fraction of cempedak leaves had activity as a hepatoprotector and there was a significant difference with the negative control group ($p <0,05$). Based on the hepatoprotector percentage relationship to the fraction dose, the ED₅₀ value of the ethyl acetate fraction of cempedak leaves is 45,15 mg/kgBW. Doses of 500 mg / kgBW provide better hepatoprotector activity compared to doses of 125 and 250 mg / kgBW. The concentration variation of the ethyl acetate fraction of cempedak leaves affected the levels of AST, ALT and ALP, macroscopic and histopathological features in male rats induced by CCl₄. The greater the concentration of ethyl acetate fraction of cempedak leaves the greater the decrease in AST, ALT and ALP levels and the better the macroscopic and histopathological picture.

Key words : Artocarpus champeden, hepatoprotector, AST, ALT, ALP

**Uji Aktivitas Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat
Daun Cempedak (*Artocarpus Champeden*) Pada Tikus Putih
Jantan Galur Wistar Diinduksi CCl₄**

**Meilita Rahma
08061281722030**

ABSTRAK

Cempedak merupakan tanaman endemik Indonesia. Daun cempedak mengandung senyawa metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid yang diduga memiliki khasiat sebagai hepatoprotektor. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun cempedak terhadap kadar AST, ALT dan ALP, gambaran makroskopis dan histopatologi masing-masing pada tikus jantan yang diinduksi CCl₄ serta mengetahui ED₅₀ dari fraksi etil asetat daun cempedak sebagai hepatoprotektor. Tikus dibagi menjadi enam kelompok yaitu kelompok kontrol normal (NaCMC 0,5%), kontrol negatif (CCl₄ 1mL/kgBB), kontrol positif (silimarin100 mg/kgBB), kelompok uji fraksi etil asetat daun cempedak (*Artocarpus champeden*) dosis 125, 250, dan 500 mg/kgBB. Tikus diberi perlakuan sesuai kelompok selama 7 hari, pada hari ke- 8 dilakukan penginduksian dengan CCl₄. Hari ke-9 tikus diukur kadar AST, ALT, dan ALP dan dilanjutkan dengan pengamatan secara makroskopis dan histopatologi pada organ hepar setelah tikus dikorbankan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun cempedak memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor dan terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol negatif ($p<0,05$). Berdasarkan hubungan persen hepatoprotektor terhadap dosis fraksi, maka nilai ED₅₀ fraksi etil asetat daun cempedak adalah 45,15 mg/kgBB. Dosis 500mg/kgBB memberikan aktivitas hepatoprotektor yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 125 dan 250 mg/kgBB. Variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun cempedak mempengaruhi kadar AST, ALT dan ALP, gambaran makroskopis dan histopatologi pada tikus jantan yang diinduksi CCl₄. Semakin besar konsentrasi fraksi etil asetat daun cempedak semakin besar penurunan kadar AST, ALT dan ALP dan semakin baik gambaran makroskopis dan histopatologinya.

Kata kunci : *Artocarpus champeden*, hepatoprotektor, AST, ALT, ALP

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	i
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iii
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRACT.....	ix
ABSTRAK	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ISTILAH	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	1
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Uraian Tumbuhan Cempedak.....	5
2.1.1. Taksonomi dan Karakteristik Morfologi Tumbuhan Cempedak	5
2.1.2. Kandungan Senyawa Tumbuhan Cempedak	6
2.1.3. Khasiat Tumbuhan Cempedak	7
2.2. Metode Ekstraksi.....	7
2.3. Hepar	8
2.3.1. Struktur Anatomi Hepar	8
2.3.2. Sitologi Hepar	9

2.3.3.	Histologi Hepar	9
2.3.4.	Fisiologi Hepar.....	9
2.3.4.1.	Fungsi Metabolik	10
2.3.4.2.	Fungsi Eksokrin	11
2.3.4.3.	Fungsi Pertahanan	11
2.3.5.	Kelainan pada Hepar	11
2.3.5.1.	Sirosis Hati	11
2.3.5.2.	Kolestasis	12
2.3.5.3.	Perlemakan Hati	12
2.3.5.4.	Nekrosis	12
2.3.6.	Pengukuran Enzim Penanda Faal Hati	13
2.3.6.1.	Aspartate Transaminase	13
2.3.6.2.	Alanine Transaminase	13
2.3.6.3.	Alkaline Phosphatase	14
2.3.7.	Silimarin.....	14
2.4.	Karbon Tetraklorida	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		16
3.1.	Waktu dan Tempat	16
3.2.	Alat dan Bahan	16
3.2.1.	Alat.....	16
3.2.2.	Bahan.....	16
3.2.3.	Hewan Uji	17
3.3.	Prosedur Penelitian	17
3.3.1.	Pengumpulan dan Determinasi Sampel	17
3.3.2.	Preparasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Cempedak (EEDC)	17
3.3.3.	Fraksinasi	18
3.3.4.	Analisa Senyawa Flavonoid dengan KLT.....	18
3.3.5.	Penentuan Kadar Flavonoid Total.....	19
3.3.5.1.	Pembuatan Larutan Baku Kuersetin.....	19
3.3.5.2.	Pengukuran Kadar Flavonoid Total	19
3.3.6.	Preparasi Sediaan Uji	20
3.3.6.1.	Preparasi Suspensi NaCMC 0.5%	20

3.3.6.2. Preparasi Suspensi Silimarin.....	20
3.3.6.3. Preparasi Larutan CCl ₄	20
3.3.6.4. Preparasi Sediaan Fraksi Etil Asetat Daun Cempedak (FEADC). 20	
3.3.7. Rancangan Percobaan Hewan Uji	21
3.3.8. Perlakuan Hewan Uji	21
3.3.9. Pengukuran Kadar ALT, AST dan ALP	22
3.3.10. Pengamatan Makroskopik.....	22
3.3.11. Pengamatan Histopatologi	22
3.4. Penetapan Effective Dose 50 (ED ₅₀)	23
3.5. Analisis Data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. Determinasi Tumbuhan Cempedak (<i>Artocarpus champeden</i>)	25
4.2. Preparasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Cempedak (EEDC).....	25
4.3. Fraksinasi.....	26
4.4. Analisa Senyawa Flavonoid dengan KLT	27
4.5. Penentuan Kadar Flavonoid Total	29
4.6. Aktivitas Hepatoprotektor	31
4.7 Pengukuran dan Analisis Data Kadar ALT, AST dan ALP	32
4.8. Penetapan Effective Dose 50 (ED ₅₀)	32
4.9. Pengamatan Makroskopik	39
4.10. Pengamatan Histopatologi	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1. Kesimpulan.....	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	53
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	93

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.Kelompok Hewan Uji	21
Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Total Flavonoid	30
Tabel 3. Hasil pengukuran kadar ALT AST dan ALP pada hewan uji.....	35
Tabel 4.Hasil %EH kadar ALT, AST dan ALP berbagai variasi dosis	38
Tabel 5. Skoring hasil penilaian histopatologi.....	41
Tabel 6. Hasil Penilaian histopatologi	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.Pohon Cempedak Dan Daun Cempedak	6
Gambar 2.Struktur Flavonoid Pada Cempedak.....	7
Gambar 3.Anatomi Hati Tampak Depan Dan Belakang.....	9
Gambar 4.Steatosis Hepatosit	12
Gambar 5.Nekrosis Hepatosit	13
Gambar 6.KLT fraksi etil asetat daun cempedak.....	28
Gambar 7.KLT fraksi etanol daun cempedak	28
Gambar 8. Pembentukan senyawa kompleks.....	30
Gambar 9.Reaksi pengukuran kadar ALT	33
Gambar 10.Reaksi pengukuran kadar AST.....	33
Gambar 11.Reaksi pengukuran kadar ALP.....	34
Gambar 12. Grafik hasil pengukuran kadar SGPT, SGOT dan ALP.....	35
Gambar 15.Makroskopik pada organ hati tikus	40
Gambar 16.Histopatologi Hati Tikus berbagai kelompok Perlakuan	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja Umum	54
Lampiran 2. Penentuan Jumlah Hewan Uji.....	55
Lampiran 3. Persiapan Hewan Uji dan Desain Penelitian	56
Lampiran 4. Pengukuran Kadar ALT, AST Dan ALP.....	57
Lampiran 5. Perhitungan dan Pembuatan Suspensi Silimarin	58
Lampiran 6. Perhitungan dan Pembuatan Larutan CCl ₄	59
Lampiran 7. Perhitungan dan Pembuatan Sediaan FEADC.....	60
Lampiran 8. Perhitungan Dan Pembuatan Larutan Baku Kuersetin	62
Lampiran 9. CoA Sylimarin.....	63
Lampiran 10.Surat Keterangan Hasil Identifikasi Tumbuhan	65
Lampiran 11.Surat Keterangan Lolos Kaji Etik.....	66
Lampiran 12.Perhitungan Persen Rendemen	67
Lampiran 13.Penentuan Kurva Baku Kuersetin.....	68
Lampiran 14. Perhitungan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Cempedak.....	69
Lampiran 15.Perhitungan Kadar Flavonoid Fraksi	70
Lampiran 16.Hasil Pengukuran Kadar ALP	72
Lampiran 17.Hasil Pengukuran Kadar AST	73
Lampiran 18.Hasil Pengukuran Kadar ALT	74
Lampiran 19.Hasil Analisis Statistika Kadar ALP	75
Lampiran 20.Hasil Analisis Statistika Kadar AST	77
Lampiran 21.Hasil Analisis Statistika Kadar ALT	79
Lampiran 22. Karbon Tetraklorida	81
Lampiran 23.Hasil Pengukuran Bobot Tikus.....	82
Lampiran 24.Makroskopis pada Organ Hati Tikus.....	83
Lampiran 25.Bobot Tikus dan Bobot Organ Hati Tikus.....	84
Lampiran 26.Analisis Statistika Correlations Bobot dan Bobot Hati	85
Lampiran 27.Penetapan ED50 Kadar ALP	86
Lampiran 28.Penetapan ED50 Kadar AST	88
Lampiran 29.Penetapan ED50 Kadar ALT	90
Lampiran 30. Dokumentasi Proses Selama Penelitian.....	92

DAFTAR ISTILAH

Absorbansi	: rasio logaritmik dari radiasi yang dipaparkan ke suatu objek
Aklimatisasi	: penyesuaian (diri) dengan iklim, lingkungan, kondisi, atau suasana baru
Akut	: timbul secara mendadak dan cepat memburuk (penyakit)
Antioksidan	: zat yang menghambat proses oksidasi terhadap sistem atau penyusunan utama sistem
Detoksifikasi	: penawaran atau penetralan toksin di dalam tubuh
Enzim	: molekul protein yang kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia di dalam tubuh makhluk hidup
Homolitik	: pembelahan ikatan kovalen antara dua atom terjadi dengan cara yang memungkinkan setiap atom mempertahankan satu elektron
Hepatitis	: peradang hati
Hepatoprotektor	: suatu senyawa obat yang dapat memberikan perlindungan pada hati dari kerusakan yang ditimbulkan oleh obat, senyawa kimia, dan virus
Hepatotoksik	: bersifat merupakan racun untuk hati
Intraperitoneal	: di dalam rongga peritoneal, area yang mengandung organ-organ perut
Kolestasis	: gangguan aliran ampedu akibat kekurangan cairan atau mengalami sumbatan
Kronis	: berjangkit terus dalam waktu yang lama; menahun (tentang penyakit yang melanda diri seseorang) yang tidak sembuh-sembuh
Lobulus	: unit struktural yang terdiri dari sel-sel hati berbentuk seperti segi enam dengan enam triad portal yang mengelilingi sebuah vena pusat
Makroskopis	: dapat dilihat dengan mata telanjang tanpa bantuan mikroskop

Nekrosis	: mati setempat pada jaringan tubuh yang disebabkan oleh pengaruh dari luar yang merusak jaringan itu (sifat bakteri atau luka bakar) dan oleh berkurangnya darah yang mengalir ke tempat itu .
Oksidasi	: penggabungan suatu zat dengan oksigen, pelepasan elektron dari suatu partikel (molekul)
Peroksidasi lipid	: kerusakan oksidatif dari minyak dan lemak yang mengandung ikatan karbon-karbon rangkap
Radikal bebas	: molekul yang kehilangan satu buah elektron dari pasangan elektron bebasnya, atau merupakan hasil pemisahan homolitik suatu ikatan kovalen
Reduksi	: pengurangan, pemotongan (harga dan sebagainya)
Simplisia	: bahan alamiah yang digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun (kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan)
Sirosis	: penyakit hati yang ditandai dengan hilangnya pita-pita jaringan fibrosa yang terjalin difus, yang membagi parenkim hati menjadi daerah-daerah mikronodulator atau makronodulator
Transaminase	: jenis enzim yang memindahkan gugus amino dari asam amino ke akseptor asam keton
Toksik	: beracun/racun

DAFTAR SINGKATAN

- %EH : persen efek hepatoprotektor
ALP : *alkaline phosphatase*
ALT : *alanine aminotransferase*
AST : *aspartate aminotransferase*
DNA : *deoxyribonucleic acid*
ED50 : *effective dose 50*
IFCC : *international federation of chemical chemistr*
i.p. : intraperitoneal
KLT : kromatografi lapis tipis
LDH : *lactate dehydrogenase*
MDH : *malate dehydrogenase*
NADH : *nicotinamide adenine dinucleotide hydrogenase*
p.o. : per oral
QE : *Quercetin Eqivalence*
RE : retikulum endoplasma
RNA : *ribonucleic acid*
SGOT : *serum glutamic oxaloacetic transaminase*
SGPT : *serum glutamic piruvic transaminase*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Organ metabolismik terbesar pada manusia adalah hati. Hati sangat rentan mengalami terjadinya kerusakan. Hati memiliki peranan yang sangat vital dalam metabolisme zat, konjugasi dan detoksifikasi, yang menyebabkan hati menjadi rusak jika terpapar senyawa toksik (Sherwood, 2011). Hati secara metabolismik menyimpan glukosa dalam bentuk glikogen didalam sel. Asam amino akan mengalami perubahan menjadi protein. Asam lemak seperti trigliserida dalam hati akan dimetabolisme menjadi gliserol dan asam emak bebas. Kolesterol oleh hati akan dimetabolisme sebagian untuk pencernaan dan sebagian lagi terikat langsung dengan fosfolipid menjadi lipoprotein (Corwin, 2009).

Berdasarkan data Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia (PPHI) (2019) penyakit hati di Indonesia terus mengalami peningkatan. Faktor resiko terkait pola hidup seperti minuman beralkohol, merokok, kelebihan berat badan, dan kurangnya aktivitas fisik juga dapat mencerminkan status hati. Penyakit hati dapat berakibat fatal, karena tidak ada organ yang bisa menggantikan fungsi penting hati. Alkohol, obat-obatan, xenobiotik dan metabolit dapat merusak sel hati dengan melepas AST dan ALT ke dalam sirkulasi darah (Chiang, 2014).

Alternatif kandungan senyawa metabolit sekunder sebagai hepatoprotektor adalah flavonoid. Flavonoid bekerja melindungi hati dengan berperan sebagai antioksidan. Efek antioksidan dapat mencegah kerusakan pada sel hati

akibat radikal bebas (Krisnansari dkk., 2014). Flavonoid mendonorkan atom hidrogen pada gugus hidroksil yang terikat dengan cincin aromatik ke senyawa radikal agar menjadi stabil (Hardiningtyas dkk., 2014). Salah satu tanaman endemik Indonesia yang diduga memiliki efek hepatoprotektor adalah tanaman cempedak (*Artocarpus champeden*). Ekstraksi berbagai bagian tanaman dari *Artocarpus champeden* menghasilkan 25 flavonoid dari berbagai kelas yang berbeda (Hakim *et al.*, 2005).

Berdasarkan dari studi literatur yang ada ,telah diketahui beberapa spesies dari *Artocarpus* menghasilkan senyawa metabolit sekunder berupa terpenoid, flavonoid dan kelas stilbenoid (Hakim, 2010). Tanaman dari genus artocarpus yang telah terbukti memiliki efek hepatoprotektor adalah *Artocarpus artilis* (Juliaستuti *et al.*, 2017). Menurut Palupi *et al.* (2020) kandungan tertinggi flavonoid dan fenolik pada tanaman ini terletak pada bagian daun. Studi penelitian lain dilakukan pada tanaman *Artocarpus heterophyllus* Lam. juga terbukti memiliki efek hepatoprotektor (Prakash *et al.*, 2016).

Daun cempedak terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Subiyandono, 2015). Menurut Sahib (2017) fraksi daun cempedak juga memiliki aktivitas antimikroba. Menurut Hakim *et al.* (2005) flavonoid dalam cempedak terbukti memiliki efek sitotoksik yang kuat. Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Nabilah dkk. (2020) daun cempedak juga terbukti memiliki efek sebagai antidiabetes. Berdasarkan penelusuran diatas, belum ada studi penelitian hepatoprotektor terhadap tanaman cempedak (*Artocarpus champeden*).

Fraksi etil asetat memberikan efek antioksidan lebih tinggi. Hal ini dipengaruhi sifat kepolaran etil asetat yang bersifat semi polar (Lulan *et al.*, 2018). Menurut Hakim *et al.* (2005) flavonoid yang terkandung pada tumbuhan cempedak berupa flavonoid aglikon. Dari uraian yang telah ada, penelitian dilakukan untuk mengetahui aktivitas hepatoprotektor fraksi etil asetat daun cempedak (*Artocarpus champeden*) terhadap tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi CCl₄ dengan mengamati dan mengukur kadar enzim penanda faal hati (AST, ALT dan ALP) dan melakukan pemeriksaan makroskopis dan histopatologi organ hati.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang adapun rumusan masalah yaitu:

1. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun cempedak (*Artocarpus champeden*) terhadap kadar AST, ALT dan ALP, gambaran makroskopis dan histopatologi pada tikus jantan yang diinduksi CCl₄?
2. Berapa dosis efektif (ED₅₀) dari fraksi etil asetat daun cempedak (*Artocarpus champeden*) sebagai hepatoprotektor?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun cempedak (*Artocarpus champeden*) terhadap kadar AST, ALT dan ALP, gambaran makroskopis dan histopatologi pada tikus jantan yang diinduksi CCl₄.
2. Untuk mengetahui dosis efektif (ED₅₀) dari fraksi etil asetat daun cempedak (*Artocarpus champeden*) sebagai hepatoprotektor.

1.4. Manfaat Penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai aktivitas hepatoprotektor daun cempedak (*Artocarpus champeden*). Hasil yang diperoleh diharapkan membuka wawasan sebagai dasar pengembangan obat baru dan menjadi landasan penelitian berikutnya mengenai khasiat daun cempedak(*Artocarpus champeden*).

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A., Hakim, E.H., Juliawaty, L.D., Makmur, L. & Suyatno. 1996, A new prenylated flavone from *Artocarpus champeden*, *J Nat Prod*, **59(9)**:878–879.
- Agoes, G. 2007, *Teknologi Bahan Alam*, Penerbit ITB, Bandung, Indonesia.
- Arafah, E., Muchtadi, D., Zakaria, F.R., Wresdiyati, T., & Sidik, S. 2004, Pengaruh Perlindungan Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb*) Terhadap Kerusakan Hati Tikus yang Diinduksi CCl₄, *Jurnal Teknol dan Industri Pangan*, **15(3)** : 214-220.
- Azizah, D.N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. 2014, Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*), *Kartika J. Ilm. Far*, **2 (2)** : 45-49.
- Badrunasar, A. & Nurahmah, Y. 2012, *Pertelaan Jenis Pohon Koleksi Arboretum, Balai Penelitian Teknologi Agroforestry*, Bandung, Indonesia.
- Blancke, R. 2016, *Tropical fruits and other edible plants of the world*, Cornell University Press, New York.
- Chiang, J. 2014, Liver Physiology: Metabolism and Detoxification, In: Linda M. McManus, Richard N. Mitchell, editors. *Pathobiology of Human Disease* (1770-1782), Elsevier, San Diego.
- Corwin, E.J. 2009, *Buku Saku Patofisiologi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Depkes RI. 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Dirjen POM, Jakarta, Indonesia.
- Ellyawati. 2018, Penentuan Waktu yang Tepat Pada Proses Staining Dalam Pembuatan Preparat Histologis Hati, *ISSN*, **1(1)** : 28-30.
- Fahmi, M., Fahrimal, Y., Aliza, D., Budiman, H., Aisyah, S., & Hambal, M. 2015, Gambaran Histopatologis Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetreasperma Roxb*), *Jurnal Medika Veterinaria*, **9(2)** : 141-145.
- Fitmawati, A.V. & Sofiyanti, N. 2018, Jenis-Jenis Cempedak (*Artocarpus Champaden* Lour.) Di Kabupaten Kampar Provinsi Riau, *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, **03(1)**: 35-43.
- Geneser, F. 1994, *Buku Teks Histologi*, Binarupa Aksara, Jakarta, Indonesia.

- Giannini, E.G., Testa, R. & Savarino, V. 2005, Liver Enzyme Alteration: a Guide for Clinicians, *CMAJ*, **172(3)**: 367-379
- Hakim, E.H., Marlina, E.E., Mujahidin, D., Achmad, S.A., Ghisalberti, E.L., & Makmur, L. 1998, Artokarpin dan Heteroflavanon-A Dua Senyawa Flavonoid Bioaktif dari *Artocarpus champeden*, *Proc. ITB*, **30(1)** : 31-36.
- Hakim, E.H., Achmad, S.A., Aimi, N., Kitajima, M., Makmur, L., Mujahidin, D., Syah, Y.M. & Takayama, H. 1999, Artoindonesianin and its derivatives from *Artocarpus champeden*. *Natural Prod*, **62(9)**: 49–53.
- Hakim, E.H., Aripin, A., Achmad, S.A., Aimi, N., Kitajima, M., Makmur, L., Mujahidin, D., Syah, Y.M. & Takayama, H. 2001, Artoindonesianin E, a new flavanone derivative from *Artocarpus champeden*. *Proc ITB* , **33(3)**: 69–73.
- Hakim, E.H., Juliawaty, L.D., Syah, Y.M. & Achmad, S.A. 2005, Molecular diversity of *Artocarpus champeden* (Moraceae): a species endemic to Indonesia, *Molecular Diversity*, **9**: 149-158.
- Hakim,E.H. et al. 2006, Prenylated Flavonoids and Related Compound of the Indonesian Artocarpus (Moraceae), *J Nat Med*, **60** :161-184.
- Hakim, A. 2010, Diversity of secondary metabolites from Genus *Artocarpus* (Moraceae), *Bioscience*, **2(3)**: 146-156.
- Han, A.R., Kang, Y.J., Windono, T., Lee, S.K., & Seo, E.K. 2006, Prenylated Flavonoids from the Heratwood of *Artocarpus communis* with Inhibitory Activity on Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Production, *J.Nat. Prod*, **69(4)**: 719-721.
- Hardiningtyas, S.D., Purwaningsih, S. & Handharyani, E. 2014, Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api- Api Putih, *JPHPI*, **17(1)**: 80-91.
- Hayati, H., Sunaryo, H., & Syahbandono, T.H. 2014, Efek Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat Daun Sangitan (*Sambucus Canadensis* L.) Pada Tikus Sparague Dawley, *Media Farmasi*, **11(1)** : 55-61.
- Himawan, S. 1992, *Patologi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Idrus, H.R.A., Iswahyudi, I. & Wahdaningsih, S. 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (*Eleutherine Americana* Merr.) Terhadap Gambaran Histopatologi Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, **1(2)**: 52-60.
- Julastuti, H., Novianti, A.T., Fatawi, B.A. & Yusliani, A.R. 2017, Ethanol-based Breadfruit Leaf (*Artocarpus altilis*) Extract as Hepatoprotective in Carbon

- Tetrachloride-induced Liver Injury, *Journal of Pharmacology and Toxicology*, **12(3)** : 136-141.
- Junaidi, A. & Ramadhania, Z.M. 2018, Potensi Silymarin (Hepamax) Sebagai Suplemen dan Terapi Penunjang Pada Gangguan Liver, *FARMAKA*, **16(1)**: 119-126.
- Kahar, H. 2017, Pengaruh Hemolisir Terhadap Kadar Serum Glutamate Pyruvate Transaminase (SGPT) Sebagai Salah Satu Parameter Fungsi Hati, *The Journal Of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*. **2(1)**: 38-46.
- Kee, J.L. 2007, Pedoman *Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik*, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Kenny, B.J. dan McPhee, A.S. 2020, *ED₅₀*, Statpearls Publishing, Florida.
- Krisnansari, D., Sulistyo, H., Kusdaryantoi, W.D. 2014, Potensi Hepatoprotektor Propolis Terhadap Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Karbon Tetraklorida, *Jurnal Ners*, **9(2)** : 270-278.
- Kumar, M. & Fausto, A. 2008, *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit Robbins & Cotran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Lim, S.W. et al. 2016, Protective Effect of a Polymethoxy Flavonoids-rich *Citrus aurantium* peel extract on liver fibrosis induced by bile duct ligation in mice, *Journal of Tropical Medicine*, **9(12)** : 1158-1164.
- Lim, T.K. 2012, *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plant*, Springer Dordrecht Heidelberg, New York.
- Lindawati, N.Y. dan Ma'ruf, S.H. 2020, Penetapan Kadar Total flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Dengan Metode Kompleks Kolorimetri Secara Spektrfotometri Visibel, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, **6(1)**: 83-91.
- Linder MC.1992, Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian Secara Klinis, UI Press, Jakarta, Indonesia.
- Lulan, T.Y.K., Fatmawati, S., Santoso, M. & Ersam, T. 2018, Free Radical Scavenging of Artocarpus Champeden Extracts, *AIP Conf. Proc.*, **2049(1)**: 1-6.
- Makiyah, A. & Khumaisah, L.L. 2018, Studi Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih Strain Wistar yang Diinduksi Aspirin Pasca pemberian Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) Selama 7 Hari, *Majalah Kedokteran Bandung*, **50(2)**: 93-101.

- Margareta, S., Handayani, S.D., Indraswati, S., & Hindarso, H. 2011, Ekstraksi Senyawa Phenolic *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Sebagai Antioksidan Alami, *Widya Teknik*, **10(1)**: 21-30.
- Maulina, M. 2018, *Zat Zat Yang Mempengaruhi Histopathologi Hepar*, Unimal Press, Aceh, Indonesia.
- Nabilah ST, A.N., Fitrya, F. & Amriani, A. 2020, Uji Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus champeden*) Terhadap Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2, *Skripsi*, S.Farm., Farmasi, MIPA, Univeritas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia.
- Narang, T.K., Ahrens, W., & Russo, M.W. 2010, Post-Liver Transplant Cholestatic Hepatitis C: A Systematic Review of Clinical and Pathological Findings and Application of Consensus Criteria, *Liver Transplantation*, **16(1)** : 1228-1235.
- Nur, S., Sami, F.J., Wilda, R., Awaluddin, A., & Afsari, M.I.A. 2019, Kolerasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan, *Jurnal Farmasi Galenika*, **5(1)**: 33-42.
- Palupi, D.H.S., Retnoningrum, D.S., Iwo, M.S. & Soemardji, A.A. 2020, Leaf Extract of *Artocarpus altilis* [Park.] Fosberg Has Potency as Antiinfamatory, Antioxidant, and Immunosuppressant, *RJC*, **13(1)**: 636-646.
- Pambudi, A., Syaefudin, S., Noriko, N., Swandari, R., & Azura, P.R. 2014, Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.), *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, **2(3)**: 178-187.
- Panjaitan, R.G.P., Handharyani, E., Chairul, C., Masriani, M., Zakiah, Z. & Manalu, W. 2007, Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus, *Makara Kesehatan*, **11(1)**: 11-17.
- Polyak, S.J. et al. 2010, Identification of hepatoprotective flavonolignans from silymarin, *Proc Natl Acad Sci USA*, **107(13)**: 5995-5999.
- Prakash, O., Srivastava, R. & Kumar, R. 2016, Hepatoprotective Activity of *Artocarpus Heterophyllus* Lam. Leaves Against Thioacetamide Induced Hepatotoxicity on Wistar Albino Rats, *International Research Journal of Pharmacy*, **7(4)**: 24-29.
- Pratoko, D.K., Wardhani, F.A., Kristiningrum, N., Fajrin, F.A. & Pangaribowo, A. 2018, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total serta Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var.*Rubrum*), *Al-Kimia*, **6(2)**: 171-183.

- Riasari, H., Zainuddin, A. & Dini, Y.H. 2015, Karakterisasi Senyawa Fenol Dari Fraksi Terpilih Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) Kuning Nempel sebagai Antioksidan, *JSTFI Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, **4(2)**: 18 – 34.
- Robbins, S.L. & Kumar, V. 1992, *Buku Ajar Patologi 1*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Surabaya, Indonesia.
- Sahib, N.A. 2017, Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Cempedak (*Artocarpus champeden* L.) Terhadap Mikroba Patogen, *Skripsi*, S.Farm., UIN Alauddin Makassar, Makassar, Indonesia.
- Scholten, D., Trebicka, J., Liedtke, C., & Weiskirchen, R. 2015, The Carbon Tetrachloride Model in Mice, *Laboratorium Animals*, **49(51)**: 4-11.
- Sherwood, L. 2011, *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sisterm*, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Singhal, K.G. & Gupta, G.D. 2012, Hepatoprotective and Antioxidant Activity of Methanolic Extract of Flowers of *Nerium oleander* Against CCl₄-Induced Liver Injury in Rats, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **2(1)**: 677-685.
- Subiyandono & Nurhasanah, A. 2015, Uji Aktivitas Daun sukun (*Artocarpus altilis*), daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dan Daun Cempedak (*Artocarpus champeden*) dengan Metode DPPH, *Jurnal Kesehatan*, **9(1)**: 21-29.
- Wijaya, L.S. 2013, Efek Antihepatotoksik Infusa *Mimosa pigra* L. Terhadap Tikus Putih Jantan Galur wistar Terinduksi Karbon Tetraklorida, *Skripsi*, S.Farm., Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Indonesia.
- Yoon, H., Lee, J.G., Yoo, J.H., Son, M.S., Kim, D.Y., Hwang, S.G. & Rim, K.S. 2013, Effect of Metabolic Syndrome on Fibrosis in Chronic Viral Hepatitis, *Gut and Liver*, **7(4)**: 469-474.
- Zhu, Y.Z., Tan, B.K.H., Bay, B.H. & Liu, C.H. 2007, *Natural Product*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, Singapore.