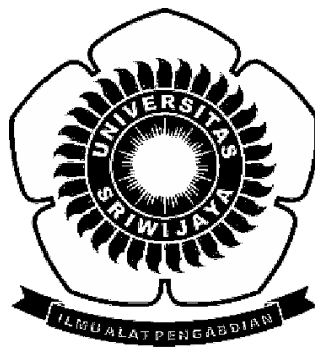


**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT
DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica L.*) PADA TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI CCL₄**

SKRIPSI

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



Oleh

Adelia Indriyani

08061281924028

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2023

HALAMAN PENGESAHAN SEMINAR HASIL

Judul Makalah : Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl₄

Nama Mahasiswa : Adelia Indriyani

NIM : 08061281924028


Jurusan : Farmasi

Telah dipertahankan di hadapan pembimbing dan pembahas pada seminar hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 28 Maret 2023 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 31 Maret 2023

Pembimbing

1. Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt
NIP. 199308162019032025


(.....)

2. Herlina, M.Kes., Apt
NIP. 197107031998022001

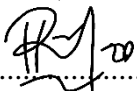
(.....)

Pembahas

1. Indah Solihah, M.Sc., Apt
NIP. 198803082019032015

(.....)

2. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt
NIP. 198711272022032022

(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA UNSRI



Dr. Ter. nat. apt. maruyanto, M. Si
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah : Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl₄

Nama Mahasiswa : Adelia Indriyani

NIM : 08061281924028

Jurusan : Farmasi

Telah dipertahankan di hadapan panitia sidang ujian skripsi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 10 April 2023 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 10 April 2023

Ketua

1. Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt
NIP. 199308162019032025

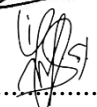
(.....)

Anggota


1. Herlina, M.Kes., Apt
NIP. 197107031998022001

(.....)

2. Indah Solihah, M.Sc., Apt
NIP. 198803082019032015

(.....)

3. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt
NIP. 198711272022032022

(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA UNSRI



Dr. rer. nat. apt. Mardiyanto, M. Si
NIP. 197103101998021002

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang betandatangani dibawah ini :

Nama Mahasiswa : Adelia Indriyani
NIM : 08061281924028
Fakultas/Jurusan : MIPA/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, 11 April 20213

Penulis



Adelia Indriyani

NIM. 08061381823088

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIK**

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

Nama Mahasiswa : Adelia Indriyani
NIM : 08061281924028
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 Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*) 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, mengalihmedia/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.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Inderalaya, 11 April 2023

Penulis



Adelia Indriyani

NIM. 08061281924028

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO



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

Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua, saudara, dosen, sahabat, almamater, dan orang-orang disekelilingku yang telah mendukung dan memberikan doanya setulus hati untuk kelancara penulisan skripsi ini.

”sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmu engkau berharap.”

(Q.S Al-Insyirah: 6-8)

“Allah Tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S Al-Baqarah:286)

Motto :

”Life is not a problem to be solved, but reality to be experienced”

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena rahmat dan karunia-Nya penulis akhirnya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Diinduksi CCl₄”. Shalawat teriring salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad SAW. Skripsi ini disusun sebagai upaya penulis dalam memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW atas berkat, rahmat, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua yang sangat penulis sayangi, Bapak (Makmun) dan Ibu (Ningyu) yang tak henti-hentinya mendoakan, memberikan nasihat, kasih sayang, dan dukungan yang luar biasa di setiap langkah penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan skripsi sampai selesai.
3. Keluarga tersayang, Ayuk, a’dadi, dan keponakanku yang lucu (Aghnia Saziva A) yang selalu mendukung, menghibur, dan memberikan doa.
4. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. Selaku Ketua Jurusan Farmasi FMIPA Unsri dan Ibu Elsa Fitri Apriani, M.Farm.Apt selaku pembimbing akademik yang telah memberikan dukungan, nasihat, dan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi.
5. Ibu Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Herlina, M.Kes., Apt. selaku dosen pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktu dalam membimbing dan memberikan arahan selama proses penyelesaian skripsi.
6. Ibu Indah Solihah, M.Sc., Apt dan Ibu Rennie Puspa Novita, M.Farm.,Apt selaku dosen pembahas dan penguju yang telah memberikan masukan dan saran sehingga dapat memberikan hasil yang maksimal selama penyusunan

skripsi ini.

7. Seluruh dosen Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, atas semua ilmu, saran dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis sejak awal perkuliahan dan selama penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh staf administrasi jurusan farmasi (Kak Erwin dan Kak Ria) yang sudah banyak membantu mengenai legalisasi surat menyurat selama proses penyelesaian skripsi ini.
9. Staf analis laboratorium jurusan farmasi (Kak Tawan, Kak Isti dan Kak Fitri) yang sudah membantu penulis menyelesaikan penelitian.
10. Sahabatku sejak SMP (Nisa, Amau, Puji, Putri, dan Mirah) yang telah memberikan motivasi, doa, mendengarkan cerita-cerita penulis, serta menemani penulis selama penyusunan skripsi.
11. Sahabat seperjuangan PP dari maba hingga semester akhir Manusia Biasya (Namira, Khodijah, Zeza, Miftah, Nana, Ayuni, Arif, dan Adhani) yang selalu berbagi informasi, ilmu, bantuan, keluh kesah, canda tawa, dan dukungan selama menyelesaikan studi ini. Sukses untuk kita semua.
12. Kakak asuh saya (Dhara Fauziah 2018) dan Adik Asuh saya (Monic 2020) yang telah memberikan semangat dan bantuan selama perkuliahan.
13. Teman-teman seperjuangan Farmasi 2019 yang telah membantu penulis selama perkuliahan dan penelitian. Sukses untuk kita semua.
14. Kakak-kakak Farmasi 2016, 2017, dan 2018 yang telah memberikan arahan dan dukungan selama masa perkuliahan dan penelitian. Adik-adik Farmasi 2020, 2021, dan 2022 yang juga mendoakan dan membantu.
15. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik langsung maupun tidak langsung yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu.
16. Saya sendiri. Terima kasih karena telah berjuang, bertahan, dan tidak menyerah hingga akhirnya bisa menyelesaikan skripsi ini.

Penulis sangat berterimakasih dan bersyukur atas segala bantuan, dukungan, dan motivasi yang diberikan dari semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi. Semoga Allah SWT memberikan balasan yang

berlipat ganda kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan. Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dimasa yang akan datang. Hanya kepada Allah SWT penulis menyerahkan segalanya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan seluruh pembaca.

Inderalaya, 10 April 2023

Penulis



Adelia Indriyani

NIM. 08061281924028

**Antioxidant Activity Test of the Ethyl Acetate Fraction of Beluntas Leaves
(*Pluchea indica* L.) in White Male Rats Wistar Strain Induced by CCl₄**

**Adelia Indriyani
08061281924028**

ABSTRACT

Beluntas leaves contain secondary metabolites such as flavonoids that have the potential as antioxidants. The purpose of this study was to determine of the characterization, the total flavonoid content, and the effect of giving the ethyl acetate fraction of beluntas leaves on MDA levels, catalase enzyme activity, macroscopic and histopathology description of white male rats wistar strain induced by CCl₄, and to determine the best dose as an antioxidant. In vivo research using 6 groups of rats, namely normal control, positive control (vitamin C 10 mg/kgBB), negative control (Na-CMC 1%), and treatment groups were given ethyl acetate fraction of beluntas leaves at doses 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, and 100 mg/kgBB. The result showed that the characterization of ethyl acetate beluntas leaves met the requirements of the Ministry of Health RI. Total flavonoid content of ethyl acetate fraction of beluntas leaves was 153 mgQE/g fraction. The average results of MDA levels in the normal, positive, negative, doses fraction groups of 25, 50, and 100 mg/kgBB respectively were 1,155; 0,471; 1,892; 1,218; 0,826; and 0,512 nmol/mL. The average results of the catalase enzyme activity in the normal, positive, negative, doses fraction groups 25, 50, and 100 mg/kgBB respectly were 22,131; 40,489; 3,103; 14,145; 32,176; dan 39,814 U/mL. The macroscopic and histopathology results showed an improvement after being given ethyl acetate fraction of beluntas leaves at doses of 25, 50, and 100 mg/kgBB when compared to negative group. The results showed that the three variations dose of ethyl acetate fraction of beluntas leaves could reducing MDA levels and increasing catalase enzyme activity. Ethyl acetate fraction of beluntas leaves at 100 mg/kgBB had the strongest antioxidant acivity when compared to doses of 25 and 50 mg/kgBB, which was shown by Duncan's statistical analysis that there was no significant difference with positive control.

Keywords : beluntas leaf (*Pluchea indica* L.), total flavonoid content, MDA levels, catalase enzyme activity, hepar histopathology

Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi CCl₄

Adelia Indriyani
08061281924028

ABSTRAK

Daun beluntas (*Pluchea indica* L.) mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakterisasi, jumlah kadar flavonoid total, dan pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun beluntas terhadap kadar MDA, aktivitas enzim katalase, gambaran makroskopik dan histopatologi hepar tikus yang diinduksi CCl₄, serta mengetahui dosis yang paling baik sebagai antioksidan. Penelitian dilakukan secara in vivo dengan menggunakan 6 kelompok tikus yaitu kelompok kontrol normal, kontrol positif (vitamin C 10 mg/kgBB), kontrol negatif (Na-CMC 1%), serta kelompok perlakuan uji yang diberikan fraksi etil asetat daun beluntas dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakterisasi fraksi etil asetat daun beluntas memenuhi syarat Depkes RI. Kadar flavonoid total fraksi etil asetat daun beluntas menunjukkan hasil sebesar 153 mgQE/g fraksi. Hasil rata-rata kadar MDA pada kelompok normal, positif, negatif, pemberian fraksi dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB berturut-turut adalah 1,155; 0,471; 1,892; 1,218; 0,826; dan 0,512 nmol/ml. Hasil rata-rata nilai aktivitas enzim katalase pada kelompok normal, positif, negatif pemberian fraksi dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB berturut-turut adalah 22,131; 40,489; 3,103; 14,145; 32,176; dan 39,814 U/mL. Hasil makroskopik dan histopatologi hepar menunjukkan adanya perbaikan setelah diberikan fraksi etil asetat daun beluntas dengan dosis 25, 50, dan 100 mg/kgBB jika dibandingkan dengan kelompok negatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ketiga variasi dosis fraksi etil asetat mampu menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas enzim katalase. Fraksi etil asetat daun beluntas dosis 100 mg/kgBB memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan dosis 25 dan 50 mg/kgBB yang ditunjukkan oleh analisis statistik Duncan bahwa tidak ada perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif.

Kata kunci : daun beluntas (*Pluchea indica* L.), flavonoid total, kadar MDA, enzim katalase, histopatologi hepar

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN SEMINAR HASIL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIK.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRACT.....	x
ABSTRAK	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	20
2.1 Tanaman Beluntas	20
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Beluntas	20
2.1.2 Kandungan Kimia Daun Beluntas.....	21
2.2 Ekstraksi.....	22
2.3 Fraksinasi	23
2.4 Radikal Bebas.....	24
2.5 Antioksidan	25
2.6 Flavonoid	27
2.7 Vitamin C.....	28
2.8 Karbon Tetraklorida (CCl ₄).....	28
2.9 Peroksida Lipid dan Malondialdehid (MDA)	29
2.10 Uji Aktivitas Antioksidan Secara In-Vivo	30
2.11 HatI	30

2.11.1 Anatomi dan Histologi Hati	31
2.11.2 Histopatologi Hati	32
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	34
3.1 Waktu dan Tempat	34
3.2 Alat dan Bahan	34
3.2.1 Alat	34
3.2.2 Bahan	34
3.3 Hewan Uji	35
3.4 Prosedur Penelitian.....	36
3.4.1 Pengambilan dan Identifikasi Sampel	36
3.4.2 Preparasi Daun Beluntas	36
3.4.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Beluntas	36
3.4.4 Pembuatan Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas	37
3.4.5 Karakterisasi Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas	37
3.4.5.1 Organoleptis	37
3.4.5.2 Kadar Air	37
3.4.5.3 Susut Pengeringan.....	38
3.4.5.4 Kadar Abu Total	38
3.4.5.5 Kadar Sari Larut Etanol	39
3.4.5.6 Kadar Sari Larut Air	39
3.4.5.7 Uji Cemar Mikroba	40
3.4.5.8 Uji Cemar Logam.....	40
3.4.6. Skrinning Fitokimia	41
3.4.6.1 Identifikasi Alkaloid	41
3.4.6.2 Identifikasi Flavonoid	41
3.4.6.3 Identifikasi Saponin	41
3.4.6.4 Identifikasi Tanin	42
3.4.6.5 Identifikasi Fenolik	42
3.4.6.6 Identifikasi Steroid dan Triterpenoid	42
3.4.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total	42
3.4.7.1 Pembuatan Larutan Standar Kuersetin.....	42
3.4.7.2 Pembuatan Kurva Standar Kuersetin	43
3.4.7.3 Penetapan Kadar Flavonoid Total.....	43
3.4.8 Pengujian Aktivitas Antioksidan In Vivo.....	43

3.4.8.1	Pembuatan Sediaan Suspensi	43
3.4.8.2	Preparasi Vitamin C	44
3.4.8.3	Preparasi Sediaan Na-CMC 1%	44
3.4.8.4	Preparasi Larutan Penginduksi CCL ₄	45
3.4.8.5	Preparasi Trichloroacetic Acid (TCA) 20%	45
3.4.8.6	Preparasi Thiobarbituric Acid (TBA) 0,67%	45
3.4.8.7	Preparasi Larutan Standar Tetraetoksipropan (TEP) .	45
3.4.9	Pengujian Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas.....	45
3.4.9.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	45
3.4.9.2	Penentuan <i>Operating Time</i> (OT)	46
3.4.9.3	Pembuatan Kurva Standar TEP	46
3.4.9.4	Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)	47
3.4.9.5	Preparasi Homogenat Hati	48
3.4.9.6	Pengamatan Indeks Organ Hati.....	48
3.4.9.7	Pembuatan Makroskopik Hati	48
3.4.9.8	Pengukuran Aktivitas Enzim Katalase.....	48
3.4.9.9	Pembuatan Preparat Histopatologi Hati.....	49
3.5	Analisis Data	50
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		38
4.1.	Hasil Identifikasi Daun Beluntas	38
4.2	Ekstraksi Daun Beluntas	38
4.3	Hasil Fraksinasi Etil Asetat Daun Beluntas	39
4.4	Hasil Karakterisasi Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas.....	40
4.5	Hasil Skrinning Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas	42
4.6	Hasil Kadar Flavonoid Total.....	45
4.7	Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas.....	47
4.7.1	Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA) Plasma Tikus ...	47
4.7.1.1	Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan <i>Operating Time</i> (OT)	47
4.7.1.2	Hasil Pembuatan Kurva Standar TEP	48
4.7.1.3	Hasil Pengukuran dan Analisis Data Kadar MDA ...	48
4.7.2	Penentuan Aktivitas Enzim Katalase.....	51
4.7.2.1	Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum....	51
4.7.2.2	Hasil Pembuatan Kurva Standar H ₂ O ₂	52

4.7.2.3 Hasil Pengukuran dan Analisis Data Enzim Katalase	52
4.7.3 Hasil Pengamatan Makroskopik dan Analisis Berat Hati	56
4.7.4 Hasil Pengamatan Preparat Histopatologi Hati.....	58
BAB V.....	63
5.1 Kesimpulan	63
5.2 Saran.....	64
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman beluntas.....	21
Gambar 2. Struktur Flavonoid	27
Gambar 3. Persamaan reaksi flavonoid.....	43
Gambar 4. Reaksi antara tanin dan fenolik dengan FeCl_3	44
Gambar 5. Persamaan reaksi senyawa terpenoid/steroid	45
Gambar 6. Persamaan reaksi pembentukan kompleks flavonoid- AlCl_3	46
Gambar 7. Grafik Operating Time TEP.....	47
Gambar 8. Grafik rata-rata kadar MDA plasma tikus.....	49
Gambar 9. Mekanisme reaksi hidrogen peroksida.....	52
Gambar 10. Grafik rata-rata aktivitas enzim katalase hati tikus	53
Gambar 11. Mekanisme peredaman radikal bebas oleh flavonoid	55
Gambar 12. Organ hati tikus secara makroskopis.....	57
Gambar 13. Histopatologi hati tikus (perbesaran 40 x 10)	59

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kelompok perlakuan uji aktivitas antioksidan.....	44
Tabel 2. Parameter skoring degenerasi hidropik.....	50
Tabel 3. Parameter skoring degenerasi lemak (steatosis)	50
Tabel 4. Parameter skoring nekrosis	50
Tabel 5. Hasil karakterisasi fraksi etil asetat daun beluntas.....	40
Tabel 6. Hasil analisis fitokimia fraksi etil asetat daun beluntas	42
Tabel 7. Hasil pengamatan makroskopis organ hati tikus.....	56
Tabel 8. Hasil penilaian histopatologis hati tikus	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Umum	73
Lampiran 2. Preparasi Ekstrak Etanol dan Fraksi etil asetat Daun Beluntas.....	74
Lampiran 3. Skema Preprasi Sediaan Uji dan Agen Penginduksi	75
Lampiran 4. Skema Perlakuan Hewan Uji.....	77
Lampiran 5. Perhitungan Jumlah Hewan Uji	78
Lampiran 6. Perhitungan Sediaan Uji Antioksidan.....	79
Lampiran 7. Perhitungan Konsentrasi 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP).....	84
Lampiran 8. Perhitungan Konsentrasi H ₂ O ₂	86
Lampiran 9. Hasil Identifikasi Tanaman Beluntas.....	88
Lampiran 10. Sertifikat Etik.....	89
Lampiran 11. Sertifikat Hewan Uji	90
Lampiran 12. Sertifikat Co-A Vitamin C.....	91
Lampiran 13. Sertifikat CoA 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP).....	92
Lampiran 14. Sertifikat CoA Trichloroacetic Acid (TCA).....	93
Lampiran 15. Sertifikat CoA Thiobarbituric Acid (TBA)	94
Lampiran 16. Sertifikat CoA Kuersetin	95
Lampiran 17. Surat Keterangan Hasil Uji Cemaran Logam	96
Lampiran 18. Perhitungan Persentase Rendemen	97
Lampiran 19. Hasil Karakterisasi Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas	99
Lampiran 20. Perhitungan Cemaran Mikroba.....	102
Lampiran 21. Hasil Analisis Fitokimia Fraksi Etil Asetat	104
Lampiran 22. Penentuan Kurva Standar Kuersetin.....	105
Lampiran 23. Penentuan Kadar Flavonoid Total	106
Lampiran 24. Data Berat Badan Tikus Selama Pengujian.....	107
Lampiran 25. Berat Badan Tikus dan Bobot Organ Hati Tikus.....	108
Lampiran 26. Data Analisis Statistika Correlations Berat Badan Tikus dan Bobot Organ Hati Tikus.....	109
Lampiran 27. Hasil Makroskopik Organ Hati Tikus	112
Lampiran 28. Data Hasil Panjang Gelombang dan Operating Time	113
Lampiran 29. Data Hasil Kurva Standar TEP	114
Lampiran 30. Perhitungan Kadar MDA Plasma Tikus	115
Lampiran 31. Data Analisis Statistika kadar MDA Plasma Tikus.....	116
Lampiran 32. Data Hasil Kurva Standar H ₂ O ₂	118
Lampiran 33. Penentuan Aktivitas Enzim Katalase.....	119
Lampiran 34. Uji Statistika Normalitas Enzim Katalase	121
Lampiran 35. Data Analisis Statistika Correlations Kadar MDA Plasma dan Aktivitas Enzim Katalase Organ Hati Tikus	123
Lampiran 36. Dokumentasi Penelitian.....	124

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
AlCl ₃	: Aluminium Klorida
Bj	: Berat Jenis
BHA	: <i>Butylated Hidroxyanisol</i>
BHT	: <i>Butylated Hidroxytoluene</i>
C	: Celcius
C	: Karbon
Cl	: Klorida
CCl ₄	: Karbon Tetraklorida
CCl ₃ ⁻	: Radikal Triklorometil
CCl ₃ O ₂ ⁻	: Radikal Triklorometilperoksil
CV	: <i>Coefficient of Variation</i>
Depkes	: Departemen Kesehatan
DMRT	: <i>Duncan multiple range test</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPPH	: <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
EDTA	: <i>Ethylene diamine tetra-acetic acid</i>
FeCl ₃	: Besi (III) Klorida
g	: Gram
g/KgBB	: Gram per Kilogram Berat Badan
GSH-Px	: <i>Glutation Peroksidase</i>
H ₂ O	: Air
H ₂ O ₂	: Hidrogen peroksida
H ₂ SO ₄	: Asam sulfat
HCl	: Asam klorida
IC ₅₀	: <i>Inhibition Concentration 50%</i>
kg	: Kilogram
Kk	: Kelompok kontrol
M	: Molaritas
MDA	: Malondialdehid
mg	: Miligram
mg/kgBB	: Miligram perkilogram berat badan
mg/mL	: Miligram permililiter
mL	: Mililiter
N	: Normalitas
NaCl	: Natrium klorida
Na-CMC	: <i>Natrium Carboxyl Methyl Cellulose</i>

nmol/mL	: Nanomol permililiter
O ₂	: Oksigen
OH ⁻	: Radikal hidroksil
ppm	: <i>Part per million</i>
p.o	: Per oral
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
<i>p-value</i>	: <i>probability-value</i>
RI	: Republik Indonesia
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	: <i>Revolutions per minutes</i>
SFEADB	: Suspensi fraksi etil asetat daun beluntas
<i>sig</i>	: <i>Significance</i>
SOD	: <i>Superoksida Dismutase</i>
SPSS [®]	: Statistical Product and Service Solutio
TBA	: <i>Thiobarbituric Acid</i>
TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substance</i>
TBHQ	: <i>Tert-Butylated Hidroxyquinon</i>
TCA	: <i>Trichloroacetic Acid</i>
TEP	: <i>1,1,3,3-Tetraethoxypropane</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet Visible</i>
VAO	: Volume Administrasi Obat
μL	: Mikroliter
(CH ₃ CO) ₂ O	: Anhidrida asam asetat

DAFTAR ISTILAH

Aklimatisasi	: Penyesuaian fisiologi atau adaptasi dari suatu organisme terhadap suatu lingkungan baru yang akan dimasukinya
Alkaloid	: Sebuah golongan senyawa basa bernitrogen yang kebanyakan heterosiklik dan terdapat di tumbuhan atau hewan
Antioksidan	: Agen yang dapat mengikat radikal bebas dan mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas
Degenerasi hidropik	: Pembengkakan sel yang muncul karena sel tidak mampu mempertahankan homeostasis ion dan cairan, sehingga mengakibatkan hilangnya fungsi pompa-pompa ion dependen-energi pada membran plasma
Eksogen	: Tidak berasal dari dalam tubuh dan bersumber dari luar tubuh makhluk hidup
Endogen	: Berasal dari dalam tubuh atau diproduksi olwh tubuh makhluk hidup
Fenolik	: Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan dengan karakteristik memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi (OH)
Flavonoid	: Kelompok senyawa fenolik yang terdapat pada hampir semua tumbuhan dan sangat beraneka ragam yang tersusun dari 15 atom karbon dengan rumus C ₆ -C ₅ -C ₆
Fosfolipid	: Suatu senyawa golongan lipid yang merupakan komponen utama membran sel yang terdiri dari gliserida yang mengandung fosfor dalam bentuk ester asam folat
<i>In Vitro</i>	: Eksperimen yang dilakukan dalam lingkungan terkendali di luar organisme hidup
<i>In Vivo</i>	: Eksperimen dengan menggunakan keseluruhan, hidup organisme sebagai lawan dari sebagian organisme atau mati, atau in-vitro dalam lingkungan terkendali

Karsinogenik	: Istilah yang menerangkan sifat dari zat-zat atau paparan bahan yang dapat memicu kanker (karsinogen)
Malondialdehid	: Senyawa organik yang mempunyai tiga rantai karbon dengan rumus molekul (C ₃ H ₄ O ₂) dan merupakan indikator stres oksidatif
Maserasi	: Proses pengekstraksian dari suatu simplisia dengan menggunakan pelarut dan dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruang
Metabolisme	: Semua reaksi kimia yang terjadi di dalam organisme termasuk yang terjadi di tingkat seluler
Nekrosis	: Bentuk cedera sel yang mengakibatkan kematian prematur sel-sel pada jaringan hidup dengan autolisis
Oksidasi	: Proses pelepasan elektron dari suatu senyawa
<i>Operating time</i>	: Waktu yang diperlukan oleh suatu senyawa untuk bereaksi dengan senyawa lain hingga terbentuk senyawa produk yang stabil
Oral	: Segala sesuatu yang berhubungan dengan mulut
Penyakit degeneratif	: Penyakit tidak menular yang bersifat kronis timbul karena semakin menurunnya kondisi dan fungsi organ tubuh akibat proses penuaan.
Radikal bebas	: Atom, molekul, atau senyawa yang pada orbital terluarnya terdapat elektron yang tidak berpasangan sehingga sangat reaktif dan tidak stabil
Reduksi	: Proses penangkapan elektron dari suatu senyawa
Reduktan	: Senyawa yang dapat melepaskan elektron (mengalami oksidasi)
Saponin	: Senyawa glikosida terdiri dari gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin
Steatosis	: Perlemakan hati dimana hepatosit pada kondisi ini akan terisi vakuola lemak yang bisa disertai dengan adanya peradangan maupun tidak
Steroid	: Senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang didapat dari hasil reaksi penurunan terpen atau skualen, dengan rumus dasar terdiri dari 17 atom karbon dan 4 buah cincin

- Stres oksidatif : Keadaan dimana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya, akibatnya intensitas proses oksidasi sel-sel tubuh normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak.
- Tanin : Suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sangat sepat atau kelat, dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid
- Triterpenoid : Kelompok senyawa kimia yang terbentuk dari tiga unit terpena dengan rumus molekul $C_{30}H_{48}$

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya, sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel (Utomo *et al.*, 2008). Radikal bebas akan menyerang molekul stabil terdekat dan mengambil elektronnya. Zat yang elektronnya terambil akan menjadi radikal bebas baru, sehingga akan terjadi reaksi berantai yang mengakibatkan kerusakan sel (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas yang meningkat melebihi kemampuan pertahanan endogen menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Wulandari, 2016). Kondisi stress oksidatif dapat menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, tekanan darah tinggi, stroke, sirosis hati, katarak, diabetes mellitus, kanker, dan penuaan dini (Valko, 2007). Oksigen reaktif akan meningkatkan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) yang menyebabkan penimbunan kolesterol di dinding pembuluh darah dan mengakibatkan aterosklerosis (Yuslianti, 2018).

Tubuh manusia membangun suatu sistem untuk dapat bertahan dari serangan bahaya radikal bebas yang disebut dengan antioksidan (Yuslianti, 2018). Antioksidan adalah molekul yang dapat menstabilkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya dan menghambat reaksi pembentukan radikal bebas (Selawa, 2013). Antioksidan berasal dari dalam dan luar tubuh. Antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dalam bentuk sintetis ataupun alami (Deddy,

2013). Antioksidan alami dapat berasal dari buah-buahan, sayur-sayuran, biji-bijian, dan hewani (Silvia *et al.*, 2016). Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan alami adalah tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.) (Widyawati *et al.*, 2016).

Beluntas (*Pluchea indica* L.) adalah tanaman herba kelompok *Asteraceae* yang terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, baik dalam bentuk ekstrak maupun dalam bentuk seduhan (Widyawati *et al.*, 2016). Ekstrak etil asetat daun beluntas mengandung golongan senyawa steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, tannin, dan asam askorbat (Makhrusah, 2021). Kandungan metabolit sekunder daun beluntas mempunyai beberapa aktivitas biologis seperti antioksidan, antiinflamasi, antipiretik, hipoglikemik, dan berbagai aktivitas farmakologi lainnya (Widyawati *et al.*, 2014). Metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan salah satunya berasal dari golongan senyawa flavonoid. Mekanisme kerja antioksidan flavonoid dapat secara langsung maupun tidak langsung. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung bekerja dengan mendonorkan ion hidrogen untuk menetralkan efek toksik dari radikal bebas, sedangkan flavonoid sebagai antioksidan tidak langsung bekerja meningkatkan sensitivitas antioksidan endogen (Kusuma, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian Wanita *et al.* (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas dengan metode pengujian 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) memiliki nilai IC_{50} sebesar 37,25 ppm yang termasuk ke dalam golongan aktivitas antioksidan yang kuat. Penelitian *in vivo* yang dilakukan Fauzia (2022) menyatakan bahwa pada pemberian dosis 40 mg/200gBB fraksi n-heksana daun beluntas mengandung aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan penurunan

kadar MDA tikus sebesar 0,855 U/mL dan peningkatan enzim katalase sebesar 21,488 U/mL. Penelitian yang dilakukan Melani (2022) menyatakan bahwa fraksi etil asetat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang sefamili dengan beluntas mengandung flavonoid aglikon menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 19,821 ppm yang tergolong antioksidan sangat kuat.

Indikator yang digunakan untuk menentukan jumlah radikal bebas pada manusia yaitu kadar enzim katalase (CAT) dan malondialdehid (MDA). Enzim katalase termasuk salah satu enzim antioksidan yang dapat mengetahui kadar antioksidan pada hewan uji (Setiawan dan Nugroho, 2018). Malondialdehid (MDA) adalah penanda dari peroksidasi lipid yang disebabkan oleh aktivitas radikal bebas (Yi *et al.*, 2020). Kadar malondialdehid dapat diukur dengan metode TBARS (*thiobarbituric acid reactive substance*) yang didasarkan pada reaksi malondialdehid (MDA) terhadap asam tiobarbiturat (Sulfiyana *et al.*, 2018).

Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan zat hepatotoksik yang sering digunakan dalam penelitian hepatotoksisitas karena dapat menyebabkan kerusakan hepar pada hewan uji dan manusia. Pemberian CCl_4 dosis toksik terhadap hewan akan menyebabkan jumlah lemak pada hati sebagai akibat dari blockade sintesa lipoprotein yang memiliki fungsi pembawa lemak dari hati. Pemberian CCl_4 dengan dosis 1 ml/kgBB dapat mengakibatkan steatosis yang digambarkan dengan peningkatan kadar SGPT dua kali lebih tinggi dari normal (Yuslianti, 2018).

Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti memiliki ketertarikan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) secara *in vivo* dengan melakukan pengukuran kadar MDA dan

enzim katalase menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Selain itu, penelitian ini juga menentukan kadar flavonoid total, dosis terbaik dari fraksi etil asetat daun beluntas sebagai antioksidan, serta observasi makroskopik dan histopatologi hepar tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi oleh CCl₄.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka didapat beberapa rumusan masalah antara lain :

1. Bagaimana karakterisasi fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.)?
2. Berapa kadar flavonoid total fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.)?
3. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi etil asetat dari daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap profil malondialdehid (MDA) dan enzim katalase pada tikus putih jantan galur wistar yang di induksi CCl₄?
4. Berapa dosis yang paling baik dari fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai antioksidan?
5. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap gambaran makroskopik dan histopatologi hati tikus putih jantan galur wistar yang di induksi CCl₄?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Mengetahui karakterisasi fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.).
2. Menentukan kadar flavonoid total fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.)?

3. Mengetahui pengaruh pemberian fraksi etil asetat dari daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap profil malondialdehid (MDA) dan enzim katalase pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi CCL₄.
4. Mengetahui dosis yang paling baik dari fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai antioksidan.
5. Mengetahui pengaruh pemberian fraksi etil asetat dari daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap gambaran makroskopik dan histopatologi hati tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi CCL₄.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang manfaat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai antioksidan alami dalam penangkalan radikal bebas. Selain itu, hasil penelitian ini juga diharapkan dapat memperkuat kajian ilmiah mengenai aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun beluntas (*Pluche indica* L.) yang diinduksi CCL₄ dan menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, M., & Ariyanti, P.R. (2016). Manfaat Gambir (*Uncaria gambir Roxb*), *Majority*, 5(3), 129-133.
- Agustina, E. (2017). Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Daun (*Ficus carica* Linn) dengan Pelarut Air, Metanol, dan Campuran Metanol-Air, *Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 1(1), 38-47.
- Akhlaghi, M. & Bany, B. (2009). Review Article: Mechanisms of Flavonoid Protection Against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury, *Journal Mollecullarr and Cellular Cardiology*, 46, 30-317.
- Alipin, K., & Azizah N.R.N. 2021, Morfologis dan Berat Relatif Organ Hati Tikus yang Diinduksi Karagenan Setelah Pemberian Ekstrak Kombinasi Rimpang Temulawak dan Buah Belimbing Wuluh, *SNPBS*, 4, 243-247.
- Andriana, R., & Jauhari, T. 2017. Antioksidan dalam Dermatologi. *JKK*, 4(1), 9-48.
- Anggia, V. 2020, 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Pletakan (*Reullia tuberosa* Linn) Terhadap Kadar MDA dan SOD Ginjal Tikus Jantan yang Diinduksi CCl_4 ', *Skripsi*, S.Farm, Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta, Indonesia.
- Aprini, U.A., Virhan, N., & Mistika, Z. (2019). Pengaruh Pemberian Astaxanthin terhadap Kadar Malondialdehid pada Kerusakan Jaringan Testis Tikus Putih yang diinduksi Formaldehid secara Oral, *Jurnal Cerebellum*, 5(1), 1234-1246.
- Ayala, A., Munoz, M., & Arguelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal, *Oxid Med Cell Longev*, 112, 21-28.
- Azwanida, N.N. (2015). A Review on The Extraction Methods Use in Medical Plants and Agricultural by Products: Antioxidants Activity, Occurene, and Potential Uses. *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Baldatina, A.Z.I. (2008). *Pengaruh Pemberian Insektisida (Esbiothrin, Imiprothrin, dan D-Phenothrin) pada Tikus (Rattus rattus): Kajian Histopatologi Hati dan Ginjal*, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Chang, C.M., & When, H.J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Spektrofotometer UV-Vis Methods, *J Food Drugs*, 10(3), 178-182.
- Chen, L. (2012). The Role of Antioxidant in Photoprotector: A Critical Review. *J Am Acad Dermatol*, 67(5), 1013-1024.

- Deddy, M. 2013, *Anioksidan Kiat Sehat di Usia Produktif*, Alfabeta, Bandung, Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 2000, *Parameter Standar Obat Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI, 2017, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia.
- Dewi, Fitriana. (2016). 'Studi Tentang Pengaruh Asam Rokok dengan Biofiller Berbahan Cengkeh dan Daun Kelor Terhadap kadar MDA dan Kualitas Spermatozoa Mencit', Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Islam Negeri Malang, Indonesia.
- Fauziah, H. (2022). 'Uji Aktivitas Antioksidan fraksi N-Heksan Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl_4 ', Skripsi, S.Farm., Jurusan Farmasi, FMIPA Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.
- Febrina, L., Hemi, & Rijai, L. (2016). Profil Kadar Malondialdehida, Glukosa, dan Kolesterol pada Tikus Putih yang Terpapar Asap Rokok, *J Trop Pharm, Chem*, 3(4), 277-282.
- Fitriansyah, Mohammad Irfan, & Rade, B.I. 2018, Profil Fitokimia dan Aktivitas Farmakologi Beluntas (*Pluchea indica*), *J. Farmaka*, 16(2): 337-346.
- Fortes, R.C. (2017). Nutritional Implications in Chronic Liver Disease, *Journal of Liver Research, Disorders & Theraphy*, 3(5), 131-132.
- Hadwan, M.H. (2016). New Method for Assesment of Serum Catalase Activity, *Indian Journal of Science and Technology*, 9(4), 1-5.
- Haeria, Hermawati, & Pine, A. T. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spinachristis* L.), *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Science*, 1(2), 57-61.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 2007., *Free Radicals In Biology And Medicine*, 4th Edition, Oxford University Press, Oxford, UK.
- Heliawati, L. 2018, *Kimia Organik Bahan Alam*, Universitas Pakuan Bogor, Bogor, Indonesia.
- Koeomah, H.A., & Sagung, A.P.D. (2017). *Histopologi dan Anatomi Fisiologi Manusia*, Kemenkes RI, Jakarta, Indonesia

- Ilyas, A. 2013, *Kimia Organik Bahan Alam*, Alaudin University Press, Makassar, Indonesia.
- Indrayana, R. (2008). 'Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) pada Serum Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl_4)'. Skripsi Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Solo, Indonesia.
- Irianto. 2013, *Mikrobiologi Medis*, Penerbit Alfabeta, Bandung, Indonesia.
- Iwai, K., Nakaya, N., Kawasaki, Y., & Matsue, H. (2002). Chlorophyllin as an Effective Antioxidant Against Membrane Damage in vitro and ex vitro. *Biochem Biophys Acta*, 1487(2), 113-127.
- Josephy, P.D., & Mannervik, B. (2006). *Molecular Toxicology*, Oxford University Press, New York.
- Junquiera, L.C. & Carneiro, J. (2012). *Histologi Dasar*, Edisi 10, ECG, Jakarta, Indonesia.
- Koesoemah, H.A., & Dwiastuti, S.A.P. (2017). *Histopatologi dan Anatomi Fisiologi Manusia*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Kumar, V., Abbas, A.K., & Fausto, N. (2009). Adaptasi, Cedera, dan Kematian Sel, dalam *Robbins and Cotran: Dasar Patologi Penyakit 7th Ed*, trans BU Pendi, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Kusuma, A.T., Adela, A., Abisin Z., & Najib, A. (2018). Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus altilis*), *ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 25-31.
- Kusumah, A.S.W. (2015). The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona Muricata* L.) To Decrease Levels of Malondialdehyde, *Medical Journal of Lampung University*, 3(3), 14-18.
- Lailatul, N.F., Diana, L.Y., & Mudiwijono, H. (2015). Efek Pemberian Asam Alfa Lipoat Terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histologi pada Hati Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 1, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28(3), 170-177.
- Li, D., Chen, X.Q., Li, W.J., Yang, Y.H., Wang, J.Z., & Yu, A.C. (2007). Cytoglobin Up-Regulated by Hydrogen Peroxide Plays A Protective Role in Oxidative Stress, *Neurochem Res*, 32, 1375-180.
- Makhrusah, S. (2021). *Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Etil Asetat, n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Daun Beluntas (Pluchea indica L.)*, Skripsi Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang, Indonesia.

- Maulida, W., Jaka, F., dan Laode, R. (2016). Isolasi Senyawa Antioksidan Daun Pila-Pila (*Mallotus paniculatus*), *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasiaan Ke-4*, Samarinda, Indonesia.
- Maulina, M. (2018). *Zat-Zat yang Mempengaruhi Histopatologi Hepar*, Unimal Pressm, Lhokseumawe, Indonesia.
- Marxen, K., Vanselow, K.H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., & Hausen, U. (2007). Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements, *Sensor*, 7(10), 2080-2095.
- Melani, Dhea. (2022). *Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (Vernonia amygdalina Del.) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil)*, Skripsi Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soubandi, Jember, Indonesia.
- Mescher, A. (2016). *Junquiera's Basic Histology Text and Atlas*, 4th Edition, McGraw-Hill Education, New York.
- Momuat, L.I., Gani, N., & Pitoi, M.M. (2013). Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.), *Jurnal MIPA UNSRTAT*, 2(1), 44-49..
- Mondong, F.R., Meiske, S.S., & Maureen, K. (2015). Skinning Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (*Euphorbia prunifloia* Jacq.) dan Bawang Laun (*Proiphys amboinensis* (L.) Herb), *Jurnal Mipa Unstrat*, 4(1), 81-87.
- Mulyani, L.N., Veny, L., Herlina, & Anggia, P. (2018). A Natural Combination Extract of Mangosteen Pericarp and Phycocyanin of *Spirulina platensis* Decrease Plasma Malonaldehyde Level in Acute Exercise-Induces Oxidative Stres, *Majalah Ilmiah Sriwijaya*, 30(17), 1-17.
- Mumpuni, N., Francisca, R.S.S., Siti, M.T., & Ahmad, F. (2021). Antioksidan Vitamin C dan E Memberi Perlindungan Terhadap Elastisitas Sel Darah Merah Selama Penyimpanan Darah Donor, *Syifa Medika*, 11(2), 84-95.
- Mutiasari, I.R. 2012, 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleurotus Ostreatus* dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif', Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Narendra, D., Ramalakshmi, N., Satyanarayana, B., Sudeepthi, P., Hemachakradhar, K., & Pavankumar, R.N. (2013). Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative, and Evaluation of Antimicrobial Activity of *Alstoniamacrophylla* stem bark. *International Journal of Science*, 2(1), 31-39.

- Nazaruddin, Dwinna, A., Amaila, S., & Hafizuddin. (2011). Kadar Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) Serum Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan yang diberi Pakan Mengandung Ikan yang Diasinkan dan Minyak Jagung Konsentrasi Tinggi, *Jurnal Sains Pertanian*, 1, 73-78.
- Noori, S. (2012). An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System, *J Sci Rep*, 1(18), 1-9.
- Nugroho, A. 2017, *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*, Lambung Mangkurat University Press, Banjarmasin.
- Nuriansyah, M., dan Mahyarudin, Andriani. (2019). Uji efek Hepatoprotektor Andropholide terhadap Kadar Glutation Jaringan Hepar Tikus *Rattus novergicus* Galur Wistar yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄), *Jurnal Cerebellum*, 5(2), 1314-1321.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. and Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases, *Indian J Clin Biochem*, 30(1), 11-26.
- Prochazkova, D., Bousoba, I., & Wilhemova, N. (2011). Radiopharmaceuticals in Diagnosis and Therapy, *Asian Journal of Chemistry*, 24(12), 5450-5452.
- Rukmiasih. (2011). *Penurunan Bau Amis (Off-Odor) Daging Itik Lokal dengan Pemberian Daun Beluntas (Pluchea indica Less) dalam Pakan dan Dampaknya terhadap Performa*, Disertasi Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Rullier, A., Trimoulet, P., & Neau, D. (2004), Fibrosis is Worse in HIV-HCV Patients with Low-Level Immunodepression Reffered for HCV Treatment than in HCV-Matched Patients, *Human Pathology*, 35, 1088-1094.
- Sa'adah, L. (2010). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Daun Gamal (Gliricidiasepium (Jackquin) kunt ex walp.)*, Skripsi, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.
- Sadikin, M. 2002, *Biokimia Enzim*, Widya Medika, Jakarta, Indonesia.
- Saifudin, Aziz, *et al.*, (2011). *Standarisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta, Indonesia.
- Salamah, N. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil, *Pharmaciana*, 5(1), 25-34.
- Santoso, H.B. 2019, *Seri Mengenal Tanaman Obat: Daun Beluntas*, Pohon Cahaya Semesta, Yogyakarta, Indonesia.

- Santoso, H.B. 2021, *Seri Mengenal Tanaman Obat: Beluntas*, Pohon Cahaya Semesta, Yogyakarta, Indonesia.
- Satiavani, I. (2010). *Pengaruh Pemberian Deksametason Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari Terhadap Kerusakan Sel Hepar Tikus Wistar*, Skripsi Pendidikan Sarjana Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*, Andalas University Press, Padang, Indonesia.
- Sawan, S.P., Dnyanmote, A.V., Shankar, K., Limaye, P.B., Latendresse, J.R., & Mehendele, H.M. (2004). Potentiation of Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity and Lethality in Type 2 Diabetic Rats, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 308(2), 694-704.
- Selawa, W., Runtuwene, M.R.J., & Citraningtyas, G. (2013), Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (ten.) steenis), *J. Pharmacon*, 2(1), 18- 22.
- Setiabudi, D.A., & Tukiran. (2017). Uji Skrinning Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium litorale*), *UNESA Journal of Chemistry*, 6(3), 155-160.
- Setiawan, J., & Trilaksana, N. (2018). Pengaruh Ekstrak Kulit Manggis terhadap Enzim Katalase Hepar Tikus Terpapar Minyak Jelantah, *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 7(1), 263-272.
- Setyowati, W.A.E., Ashadi, Ariani, S.R.D., Mulyani, B., & Rahmawati, C.P. 2014. *Skrinning Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk*, Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Setzer, W.N. (2008). Non-intercalative triterpenoid inhibitors of topoisomerase ii: a molecular docking study. *Compounds Journal*, 1, 13-17.
- Sharma, N., & Shukla, S. (2011). Hepatoprotective Potential of Aqueous of Butea Monosperma Against CCl₄ Induced Damage in Rats, *Experimental and Toxicologic Pathology : Official Journal of The Gesellschaft Fur Toxikologische Pathologie*, 63(7), 671-676.
- Singh, D., Sachan, A., Singh, H., Nath, R., & Dixit, R.K. (2015). Extraction, Isolation, and Characterizatio of Phytochemicals. *Wld j. of Pharm Res*, 4(5), 2703-2717.
- Stacey, M.D. 2004, *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology 4th Ed*, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

- Sukmawati, Sudewi, S., & Pontoh, J. (2018). Optimasi dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus manihot* L.) yang Diukur Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, *Pharmacon*, 7(3). 32-41.
- Sulfiyana, H., Ambo, L., Elly, W., & Subehan, L. (2018), Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Terenkapsulasi dan Pengaruhnya Terhadap Kadar MDA Darah Tikus Wistar (*Rattus novergicus*) Jantan yang Diinduksi CC14, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 22(3), 93-98.
- Sutomo, Kiptiah, M., Nurmaidah, & Arnida. (2021). Identifikasi Senyawa Antioksidan Dari Fraksi Etil Asetat Daun Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Asal Kalimantan Selatan, *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 6(3).
- Suzek, H., Celik, I., Dogan, A., & Yildirim, S. 2016, Protective Effect and Antioxidant Role of Sweetgum (*Liquidambar orientalis*) Oil Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress in Rats, *Pharmaceutical Biology*, 54(3), 451–457.
- Utomo, A. B., Suprijono, A., & Risdianto, A. (2012). Uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendans*) dan ekstrak teh hitam (*Camellia sinensis* O.K.var.assamica (mast.)) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), *Media Farmasi Indonesia*, 6(1), 1-9.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, & M., Telser, J. (2007). Free Radical and Antioxidant in Normal Physiological Functions and Human Disease, *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84.
- Wahyuni, R., Guswandi, & Harrizul R. (2014). Pengaruh Cara Pengeringan dengan Oven, Kering Angin, dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto, *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), 126-133
- Wahyuningsih, S., Nurjannah, B., Nurhikma, A., & Indra, A. 2021, Serum Wajah Fraksi Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai Antibakter, *Jurnal Katalisator*, 6(2), 270-283.
- Wanita, D., Rusmini, Ashfia, F., & Adriane, Y. 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Duan Beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 2(2), 25.
- Wayan S, & I Made J. (2012). *Ekstrak Air Daun Ubi jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol*, Skripsi Universitas Udayana, Bali, Indonesia.

- Wendersty, N.V., Wewengkang, D.S., & Abdullah, S.S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, dan *Candida albicans*, *Pharmacon*, *10(1)*, 706-712.
- Werdhasari, A., Prijanti, A.R., & Jusman, S.W.A. (2016). Peran Sitoglobulin dalam Mencegah Stres Oksidatif, *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, *5(1)*, 9-19.
- Wesbrook, R.H., Dusheiko, G., & Williamson. 2016, Pregnancy and Liver Disease, *Journal of Hepatology*, *64*, 933-945.
- Widyawati, P.S., Budianta, T.D.W., Kusuma, F.A., & Wijaya, E.L. (2014). Difference of Solvent Polarity to Phytochemical Content and Antioxidant Activity of *Pluchea indica* Less Leaves Extracts, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, *6(4)*, 850-855.
- Yi, X., *et al.*, (2020). Effects of Different Exercise Loads on Testicular Oxidative Stress and Reproductive Function in Obese Male Mice, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-13.
- Yimcharoen, M., *et al.*, (2019). Ascorbic Acid Supplementation on Oxidative Stress Markers in Healthy Women Following a Single Bout of Exercise, *Journal of The International Society of Sports Nutrition*, *16(1)*, 1-9.
- Yuslianti, E.R. 2018, *Radikal Bebas dan Antioksidan*, Penerbit Deepublish, Sleman, Indonesia.
- Yusuf, S. (2010). Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Triterpenoid dari Kulit Batang Kayu Api-api Betina (*Avicennis marina* Neesh), *Jurnal Penelitian Sains*, *13(2)*, 13205.