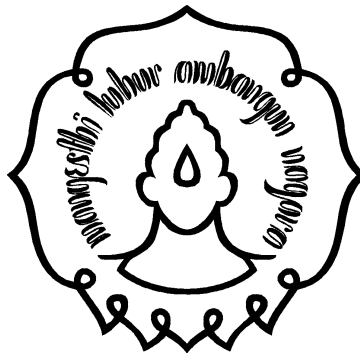


**PENGARUH PEMBERIAN JUS STROBERI TERHADAP KERUSAKAN HISTOLOGIS
HEPATOSIT MENCIT AKIBAT PEMBERIAN ASETAMINOFEN**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Desi Recsanti

G.0005076

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2009

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Secara fisiologis, sel-sel dalam tubuh kita menghasilkan radikal bebas sebagai hasil dari metabolisme normal. Produksi radikal bebas terus bertambah akibat paparan toksin dari lingkungan atau iradiasi. Radikal bebas adalah bentuk atom yang tidak stabil yang mempunyai kemampuan untuk merusak sel dan merubah gen bila tidak cepat dinetralkan. Keadaan ini lebih dikenal dengan istilah stress oksidatif (Kamau, 2007).

Mekanisme pertahanan tubuh kita dalam melawan stres oksidatif dibantu oleh enzim-enzim seperti dismutase, katalase, reduktase dan peroksidase. Selain itu asupan makanan kita juga mempunyai peranan sebagai antioksidan kimiawi, meliputi vitamin A, C, E, mineral (Se, Mn, dan Zn) dan pigmen dari tumbuhan yang kita makan. Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya ditemukan salah satu kelas pigmen flavonoid dalam stroberi yang disebut antosianin dengan aktivitas anti oksidan yang kuat (Kamau, 2007).

Penelitian tentang stroberi beberapa tahun kebelakang ini sering dilakukan, penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa stroberi memiliki suatu senyawa antioksidan yaitu asam ellagic, merupakan zat fitokemikali yang memiliki daya anti karsinogenik dan anti mutagenik. Asam ellagic

tersedia dalam bentuk suplemen, sedangkan pada tumbuhan asam ellagic berada dalam bentuk elligitanin yaitu bentuk asam ellagic yang berikatan dengan molekul gula yang mempunyai kemampuan antioksidan. Kandungan asam ellagic dalam buah stroberi berkisar antara 0,43 - 4,64 mg per gram berat kering (Hannum, 2004).

Kemampuan antioksidan dari asam ellagic atau elligitanin dalam golongan buah *beri* adalah dengan mengikat radikal bebas oksigen atau singlet oksigen (O_2^-) dari dalam ataupun luar sel.

Senyawa bioaktif dalam golongan buah beri seperti *hydrolyzable tannins, anthocyanins, flavonols, flavonol and hydroxinnamic acid derivates* dapat memberi efek anti kanker melalui mekanisme yang kompleks dan terjadi bersamaan serta saling melengkapi. Hal ini meliputi efek anti oksidan sebagai pengikat radikal bebas ataupun bekerja secara tidak langsung melalui aktivitas anti oksidan yang melindungi DNA dari kerusakan, pengaturan enzim-enzim penting dalam metabolisme xenobiotik dan karsinogen, modulasi inti reseptor, ekspresi gen dan jalur sinyal subseluler akan proliferasi, angiogenesis dan apoptosis (Seeram, 2006).

Asetaminofen seringkali merupakan salah satu kandungan berbagai macam preparat obat, baik yang dijual bebas di toko obat atau apotek maupun yang diresepkan oleh dokter. Dengan tersedianya asetaminofen sebagai obat bebas maka potensi terjadinya overdosis dan toksisitas menjadi lebih besar.

Tanpa perawatan yang rutin, overdosis asetaminofen dapat berkembang menjadi gagal hepar dan keracunan asetaminofen seringkali menyebabkan gagal hepar akut di Amerika dan Inggris (Daly *et al.*, 2008 ; Khashab *et al.*, 2007 ; Hawkins *et al.*, 2007 ; Larson *et al.*, 2005).

Asetaminofen disukai karena efek samping yang lebih ringan, khususnya tidak nefrotoksik, tidak menimbulkan euphoria dan ketergantungan psikis. Karena tidak menimbulkan perdarahan lambung seperti asetosal, maka pada tahun-tahun terakhir asetaminofen banyak digunakan sebagai analgesik antipiretik yang aman. Namun dalam penggunaannya tetap harus dengan hati-hati, karena dosis harian 6-10 g sudah dapat merusak hepar secara fatal. Hal ini disebabkan oleh karena terbentuknya metabolit toksik di dalam hepar, dimana pada dosis dibawah 10 g dapat diikat oleh glutathion. Tetapi pada dosis yang lebih tinggi persediaan zat ini telah terpakai seluruhnya dan terjadilah pengikatan pada molekul-molekul makro lainnya dari hepatosit hingga mengakibatkan kerusakan yang irreversibel (Tjay & Raharja, 2002).

Berdasarkan uraian di atas, tanaman stroberi khususnya jus buah stroberi dengan kandungan antioksidannya seperti asam ellagic atau elligitannin, antosianin, senyawa bioaktif lainnya dan mineral serta mikronutrien yang terkandung didalamnya, peneliti ingin mengetahui pengaruh pemberian jus stroberi dalam melindungi hepatosit mencit dari radikal bebas akibat pemberian asetaminofen dosis sub toksik pada mencit.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan yang muncul “Apakah pemberian jus stroberi dapat mengurangi kerusakan histologis inti hepatosit mencit akibat paparan asetaminofen?”

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian jus stroberi dalam mengurangi kerusakan histologis inti hepatosit mencit akibat pemberian asetaminofen.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian jus stroberi pada hepatosit mencit yang dipaparkan asetaminofen sehingga dapat dipakai sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.

2. Manfaat Aplikatif

Sebagai bahan pertimbangan dalam mengembangkan jus stroberi menjadi tanaman obat (fitofarmaka) yang berkhasiat hepatoprotektor.

BAB II

LANDASAN TEORI

1. Tinjauan Pustaka

1. Asetaminofen

a. Data kimia

Formula : $C_8H_9NO_2$

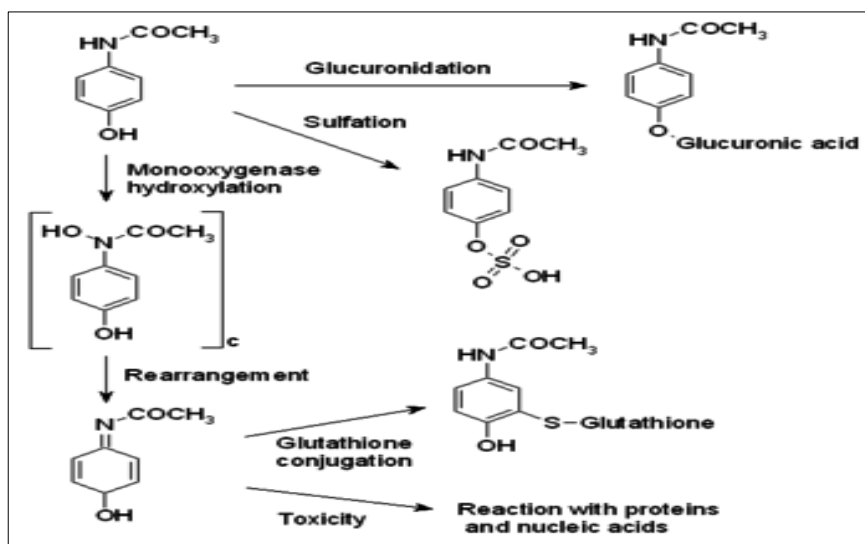
Berat molekul : 151.169 g/mol

b. Farmakodinamik

Asetaminofen (parasetamol) merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang sama dan telah digunakan sejak tahun 1983. Efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus aminobenzen. Efek analgesik asetaminofen yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Asetaminofen menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga berdasarkan efek sentral. Efek anti inflamasinya sangat lemah, oleh karena itu tidak digunakan sebagai anti reumatik. Asetaminofen dan fenasetin merupakan penghambat biosintesis prostaglandin yang lemah. Efek iritasi, erosi, dan pendarahan lambung tidak terlibat pada kedua obat ini, demikian juga gangguan pernapasan dan keseimbangan asam basa (Wilmana, 1995).

c. Farmakokinetik

Asetaminofen diabsorpsi secara cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu 30 menit dan masa paruh plasma antara 1-3 jam. Obat ini tersebar ke seluruh cairan tubuh. Dalam plasma 25% asetaminofen terikat protein plasma. Obat ini dimetabolisme oleh sistem mikrosom hepar, 80% dikongjugasi dengan asam glukoronat dan sebagian oleh asam sulfat. Selain itu, asetaminofen juga mengalami hidroksilasi, metabolit hasil hidroksilasi ini dapat menyebabkan methemoglobinemia dan hemolisis eritrosit. Asetaminofen diekskresi melalui ginjal, sebagian dalam bentuk utuh (3%) dan sebagian besar dalam bentuk terkonjugasi (Wilmana, 1995).



Gambar.1 Reaksi metabolisme asetaminofen (Wikipedia, 2008).

Asetaminofen dimetabolisme pertama kali di hepar, dimana metabolit terbesar melibatkan sulfat inaktif dan konjugat glukoronid yang akan diekskresi oleh ginjal. Walaupun yang dimetabolisme melalui sistem enzim sitokrom P450 (isoenzim CYP2E1 dan CYP1A) hanya sedikit namun metabolit yang dihasilkan bisa menjadi berbahaya bagi tubuh. Sistem enzim tersebut yang bertanggung jawab terhadap metabolit toksik dari asetaminofen yaitu *N-asetil-p-benzo-quinon imine* atau lebih dikenal dengan NAPQI (Borne & Ronald , 1995). Selain itu, polimorfisme genetik pada CYP2D6, yang terdapat polimorfisme pada gen P450, memberikan kontribusi terbentuknya NAPQI. Walaupun tidak setingkat dengan isoenzim P450 yang lain, CYP2D6 ini memiliki kemampuan yang dapat menyebabkan keracunan asetaminofen karena aktivitas metabolisme yang sangat cepat ketika asetaminofen diminum dalam dosis berlebih (Dong *et al.*, 2000).

Metabolit NAPQI lebih berperan dalam terjadinya keracunan dibanding bentuk asetaminofen itu sendiri. Dalam dosis yang biasa, metabolit toksik NAPQI tersebut akan didetoksifikasi secara cepat dari tubuh dengan berikatan secara ireversibel dengan gugus sulfhidril dari glutathion dan menghasilkan konjugat yang tidak beracun, kemudian diekskresikan lewat ginjal (Richardson, 2000).

Tahapan terbentuknya metabolit reaktif ini adalah, pertama terjadi ikatan antara obat dengan sitokrom P450 sehingga terbentuk kompleks obat dan P450. Kemudian melalui proses oksidasi kompleks obat dan P450 tersebut menghasilkan oksigen reaktif, oksigen reaktif ini yang nantinya akan mengoksidasi hasil metabolit obat ini sehingga menjadi reaktif (Wikipedia, 2008).

Metabolit tersebut kemudian didetoksifikasi oleh glutation hepar menjadi metabolit sistein dan metabolit merkapturat. Pada dosis tinggi, metabolit aktif NAPQI terbentuk karena jalur konjugasi menjadi jenuh (Rochmah, 2000). Metabolit toksik tersebut akan berikatan kovalen dengan makromolekul, seperti: DNA, RNA, protein. Jika makromolekul yang terikat dengan NAPQI merupakan molekul yang penting terhadap bagi kelangsungan hidup jangka pendek sel, misalnya makromolekul protein atau enzim yang terlibat dalam fungsi seluler yang menentukan fosforilasi oksidatif atau pengaturan permeabilitas membran plasma, maka akibat yang paling fatal adalah fungsi sel terganggu (Murray *et al.*, 2003).

d. Efek samping

Reaksi alergi terhadap derivat asetaminofen jarang terjadi jika digunakan dengan dosis yang sesuai. Manifestasinya berupa eritem atau urtikaria dan gejala yang lebih berat berupa demam dan lesi pada mukosa. Methaemoglobinemia dan sulfhemoglobinemia jarang menimbulkan

masalah pada dosis terapi, karena hanya kira-kira 1-3% Hb diubah menjadi met-Hb. Methaemoglobinemia baru merupakan masalah pada takar lajak (Wilmana, 1995).

Pemberian asetaminofen yang berlebih dapat menimbulkan kerusakan hepar. Akibat dosis toksik yang paling sering adalah nekrosis hepar. Nekrosis tubuli renalis serta koma hipoglikemik juga dapat terjadi. Hepatotoksisitas dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15 gram (200-250 mg/kgBB) asetaminofen. Gejala pada hari pertama keracunan akut asetaminofen belum mencerminkan bahaya yang mengancam. Anoreksi, mual, muntah dan sakit perut terjadi dalam 24 jam pertama dan dapat berlangsung selama seminggu atau lebih. Gangguan hepar dapat terjadi pada hari kedua, dengan peningkatan aktivitas serum transaminase, laktat dehidrogenase, kadar bilirubin serum serta perpanjangan masa protrombin. Aktivitas alkali fosfatase dan kadar albumin serum tetap normal. Kerusakan hepar dapat mengakibatkan ensefalopati, koma, dan kematian. Kerusakan hepar yang tidak berat dapat pulih dalam beberapa minggu sampai beberapa bulan (Wilmana, 1995). Penderita overdosis oleh asetaminofen harus segera cuci lambung dan diberikan zat-zat penawar (asam amino N-Asetilsistein atau metionin) sedini mungkin, sebaiknya dalam 8-10 jam setelah intoksikasi (Tjay & Raharja, 2002).

e. Dosis Toksik

Dosis toksik untuk asetaminofen bervariasi, untuk dewasa dosis tunggal di atas 10 gram atau 200mg/kg BB atau sedikit lebih rendah dapat menyebabkan keracunan. Sedangkan pada anak-anak keracunan dapat terjadi jika dosis akut asetaminofen di atas 200 mg/Kg BB (Daly *et al.*, 2008 ; Dart *et al.*, 2006 ; Tenenbein, 2004). Akibat dosis toksik yang paling serius adalah nekrosis hepar. Hepatotoksisitas dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15 gram (200-250 mg/kg BB) asetaminofen (Wilmana, 1995).

1. Toksisitas akut

Hal ini terjadi jika dosis lebih dari 200mg/kg BB pada anak-anak sedangkan pada dewasa 6-7 g dalam 24 jam dapat menyebabkan hepatotoksik.

Pada anak-anak berumur dibawah 10-12 tahun kejadian hepatotoksisitas jarang terjadi karena metabolisme asetaminofen melalui sistem enzim sitokrom P450 tidaklah sebesar pada orang dewasa.

Sebaliknya, beberapa pasien mempunyai ambang batas yang lebih rendah terhadap dosis asetaminofen. Induksi terhadap sistem enzim sitokrom P450 pada pasien dengan faktor resiko seperti alkoholik dan yang sedang menggunakan terapi isoniazid yang

menginduksi CYP 2E1. Selain itu, pada keadaan puasa dan malnutrisi dapat juga meningkatkan resiko terjadinya hepatotoksisitas karena cadangan glutathion yang menurun (Olson, 2007).

2. Toksisitas kronik

Hal ini pernah dilaporkan dalam penggunaan harian dosis supratherapeutik pada pasien alkoholik dan pada penderita yang mendapat terapi isoniazid. Pada anak-anak keracunan asetaminofen terjadi setelah mendapat dosis 60-150 mg/kg BB dalam 2-8 hari (Olson, 2007).

2. Tanaman stroberi

a. Asal usul tanaman stroberi

Menurut sejarahnya, tanaman yang tergolong sebagai tanaman buah herba ini pertama kali di temukan di negara Chili, Amerika. Salah satu spesiesnya yang terkenal adalah *Fragaria chiloensis* L yang menyebar ke berbagai belahan dunia seperti Amerika, Eropa dan Asia. Selain itu, ada spesies stroberi yang lebih luas penyebarannya yaitu *F. vesca*. L dan jenis stroberi inilah yang pertama kali masuk ke Indonesia (Much, 2007).

[Amédée-François Frézier](#) (1682-1773) adalah orang pertama yang membawa lima spesimen *Fragaria chiloensis* dari

Amerika Selatan dan memperkenalkan ke Afrika-Euroasia sebagai buah baru (GRIN Taxonomy Database, 2008).

Stroberi yang dapat kita temukan di pasar swalayan adalah hibrida yang dihasilkan dari persilangan *F. virginiana* L. var Duchesne asal Amerika Utara dengan *F. chiloensis* L. var Duchesne asal Chili. Persilangan itu menghasilkan hibrid yang merupakan stroberi modern (komersil) *Fragaria x annanassa* var Duchesne (Prihatman, 2000).

Rasa stroberi berasal dari kombinasi fruktosa, glukosa dan sukrosa, asam organik (asam sitrat dan asam fenolik) serta tannin bercampur dengan aroma senyawa yang terkandung di dalamnya (Emsley, 2007).

b. Taksonomi Stroberi

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Orde : Rosales

Famili : Rosaceae

Sub Famli : Rosoideae

Genus : *Fragaria*

Spesies : *F.chiloensis*

(Dikutip dari : GRIN Taxonomy Database, 2008)

c. Kandungan kimia dan khasiat stroberi

Stroberi merupakan sumber senyawa polifenol yang besar dengan aktivitas antioksidan dapat memberikan perlindungan terhadap penyakit kardiovaskular (Seeram, 2006).

Senyawa fenolik stroberi terdiri atas senyawa polimer (ellagitannin and gallotannin), dan juga molekul-molekul monomer seperti asam ellagic dan glikosid asam ellagic, antosianin, flavonols, catechin dan *coumaroyl glycosides*. Ellagitannin termasuk senyawa tannin yang dapat dihirolisis juga ditemukan dalam buah delima, raspberry merah dan hitam, blackberry dan beberapa kacang-kacangan (Seeram, 2006).

Stroberi adalah salah satu buah yang kaya akan pigmen warna. Warna merah pada stroberi disebabkan oleh antosianin, pigmen warna yang juga memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan antioksidan, yang cukup tinggi dibandingkan buah-buahan dan sayuran lain,

menyebabkan stroberi dapat digunakan untuk menanggulangi masalah penyakit akibat radikal bebas seperti kanker, stroke dan proses penuaan. Di samping itu dapat mencegah terjadinya radang dan alergi. Stroberi merupakan buah-buahan yang mengandung gula rendah sehingga cocok untuk diet pengidap diabetes, melawan encok dan radang sendi. Karena antioksidan yang tinggi, buah ini juga dapat digunakan untuk menghaluskan kulit dan membuat cerah (Kumalaningsih, 2007).

Kandungan antioksidan lain yang terdapat dalam buah stroberi adalah senyawa derivat fenol catechin, quercetin dan kaemferol yang merupakan senyawa antioksidan aktif yang berperan dalam proses inflamasi. Selain itu, stroberi juga mengandung asam ellagic yang bermanfaat sebagai anti karsinogenik dan anti mutagenik (Johnston, 2005). Di dalam stroberi juga terdapat sejumlah kandungan vitamin C yang cukup banyak dan mineral lainnya yang juga bermanfaat bagi tubuh manusia (Hannum, 2004).

Kandungan gizi buah stroberi segar dalam 160 gram mengandung: energi 50 kalori; protein 1 gram; karbohidrat 11,65 gram; serat 3,81 gram; kalsium 23, 24 mg; magnesium 16,60 mg; fosfor 31,54 mg; potasium 44,82 mg; selenium 1,16 mg; vitamin C

94,12 mg; folat 29,38 mg; vitamin A 44,82 IU (Kumalaningsih, 2007).

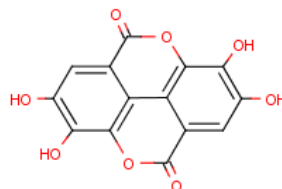
Stroberi merupakan tanaman yang selalu hijau, tinggi tanaman ini kurang lebih 15-30 cm, daunnya berwarna hijau mengkilap dimana tiap lembaran panjangnya sekitar 5 cm, buahnya dapat dimakan, kulitnya berwarna merah dan di bagian dalamnya berwarna putih (GRIN Taxonomy Database, 2008).

Penelitian terakhir menunjukkan bahwa konsumsi stroberi dengan kadar antioksidan fenolik yang tinggi memiliki hubungan dengan penurunan resiko terhadap penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer (Emsley, 2007).

Stroberi telah dibuktikan mempunyai aktivitas anti oksidan melawan spesies oksigen radikal seperti ROO, O₂⁻, H₂O₂, OH dan ¹O₂ (Seeram, 2006).

d. Asam ellagic pada stroberi

Data dan Struktur Kimia



Formula : C₁₄H₆O₈

Berat Molekul : 302.197 g/mol

Asam ellagic merupakan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan, ditemukan di beberapa jenis buah-buahan dan juga sayuran termasuk raspberry, strawberry, cranberry, dan tumbuhan lainnya (Wikipedia, 2007).

Asam ellagic terdapat baik dalam bentuk bebas atau terikat yang dikenal sebagai ellagitannin. Tannin adalah molekul dengan *polyol* (D-glukosa) sebagai inti tengah. Kelompok hidroksil dari karbohidrat ini adalah sebagian atau seluruhnya diesterifikasi dengan kelompok fenolik, seperti asam gallic atau asam ellagic. Bentuk tannin yang dapat dihidrolisis ini ditemukan pada berbagai tanaman contohnya, teh anggur merah, buah-buahan dan jus. Bentuk tannin ini mudah dihidrolisis oleh air panas, enzim-enzim, dan asam atau basa yang melepaskan unit asam ellagic. Asam ellagic telah terbukti dapat memacu aktivitas anti mutagenik, anti viral, anti kanker, anti tumor, antioksidan dan juga dapat mencerahkan kulit (Kamau, 2007).

Tumbuhan memproduksi asam ellagic dan glukosa, yang dikombinasikan dalam bentuk elligitannin, yang larut dalam air sehingga memudahkan hewan dan manusia dalam menyerapnya. Asam ellagic merupakan unsur utama untuk beberapa jenis tannin dan

mendukung tumbuhan untuk membuat tannin yang lebih dikenal sebagai gallotannin (Wikipedia, 2007).

Asam ellagic, mempunyai kemampuan antioksidan, anti mutagenik dan anti kanker. Penelitian telah menunjukkan aktivitas anti kanker pada sel-sel kanker pada payudara, oesophagus, kulit, colon, prostat dan pancreas. Lebih spesifik, asam ellagic mencegah penghancuran gen P53 oleh sel-sel kanker. Asam ellagic dapat berikatan dengan molekul penyebab kanker, kemudian membuat molekul tersebut inaktif. Efek pemberian asam ellagic pada hepar tikus dan mukosa esophagus terjadi melalui proses dalam sitokrom P450 dan enzim fase II, dimana asam ellagic menyebabkan penurunan pada aktivitas sitokrom mukosa jaringan hepar dan peningkatan aktivitas enzim fase II hepar, kemudian memacu kemampuan target jaringan untuk mendetoksifikasi metabolit reaktif (Ahn *et al.*, 1996).

Istilah enzim fase 1 dan fase 2 datang dari perspektif metabolisme xenobiotik. Xenobiotik dimetabolisme oleh enzim-enzim yang termasuk dalam fase 1 (mono oksigenase contohnya sitokrom P450) dan yang termasuk dalam fase 2. Produk dari aktivitas enzim fase 1 adalah elektrofil yang diaktifkan oleh enzim-enzim fase 2. Yang termasuk dalam enzim fase 2 adalah *γ-glutamyl-cysteine synthase*, *quinone reductase*, *glutathione transferase*, *epoxide hydrolase*, *UDP-*

glucoronosyltransferase dan juga yang termasuk dalam kelompok *thioredoxin reductases*. Enzim fase 2 tersebut membentuk konjugat seperti *glutathyl-xenobiotic*. Sedangkan enzim-enzim fase 1 secara umum mengoksidasi atau mereduksi xenobiotik, dan seringkali menghasilkan produk yang membahayakan (Juurlink, 2005).

Berdasarkan bukti klinis bahwa asam ellagic dapat menghambat kanker prostat dan servik. Penelitian sebelumnya menunjukkan asam ellagic muncul di jaringan servik setelah pemberian secara oral raspberry merah. Asam ellagic tidak hanya mencegah kanker. Golongan *beri* juga dapat mencegah terjadinya serangan jantung karena kandungan senyawa salisilat alami seperti yang terkandung dalam aspirin (Nixon, 2003).

Asam ellagic, secara farmakologis aktif, telah dibuktikan dapat mengontrol perdarahan pada hewan dan manusia. Hal ini dimungkinkan terjadi oleh karena kemampuan asam ellagic untuk mengaktifvasi faktor Hageman. Pada hewan coba menunjukkan bahwa raspberry merah yang kaya akan asam ellagic dapat mengurangi kadar glukosa darah, sehingga mungkin dapat membantu penanganan diabetes (Nixon, 2003).

Elligitannin juga dipercaya oleh para herbalist juga efektif dalam mengobati diare, mual, muntah dan *morning sickness* pada kehamilan (Nixon, 2003).

e. Antosianin dalam stroberi

Antosianin berasal dari bahasa Yunani yaitu “anthos” yang berarti bunga dan “kyanos” yang berarti biru gelap dan termasuk senyawa flavonoid. Senyawa ini merupakan sekelompok zat warna berwarna kemerahan yang larut di dalam air dan tersebar sangat luas di dunia tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini adalah penyebab hampir semua warna merah, oranye, ungu, dan biru. Warna ini biasanya tidak dibentuk oleh satu pigmen, namun seringkali dibentuk oleh lebih dari satu kombinasi atau sistem dari pigmen atau senyawa tersebut. Sebagai contoh *blueberries* terdiri dari 10-15 pigmen yang berbeda. Umumnya buah-buahan dan sayur-sayuran terdiri dari 4-6 pigmen (Kumalaningsih, 2007).

Antosianin adalah pigmen yang memberi warna merah, biru, ungu, violet dan merah keunguan pada buah beri juga pada buah lain, sayuran dan biji (Seeram *et al.*, 2006). Seperti flavanoid yang lain, antosianin terdapat secara alami dalam buah dan sayuran sebagai glikosid.

f. Vitamin C

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air. Secara alami bentuk vitamin C adalah isomer-L, isomer ini memiliki aktivitas lebih besar dibandingkan dengan bentuk isomer-D (Winarsi, 2007)

Sebagai antioksidan, vitamin C bekerja dengan menjadi donor electron, dengan cara memindahkan satu electron ke senyawa logam Cu. Selain itu, vitamin C juga dapat menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia interseluler dan ekstraseluler. Vitamin C dapat menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah terjadinya LDL teroksidasi, mentransfer electron ke dalam tokoferol teroksidasi dan mengabsorpsi logam dalam saluran pencernaan (Winarsi, 2007)

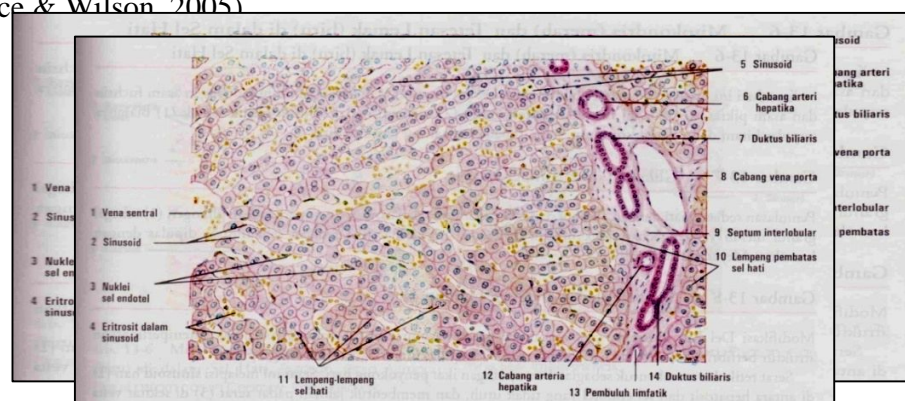
Antioksidan vitamin C mampu bereaksi dengan radikal bebas, kemudian mengubahnya menjadi radikal askorbil. Senyawa radikal ini akan segera berubah menjadi askorbat dan dehidroaskorbat. Asam askorbat dapat bereaksi dengan oksigen teraktivasi, seperti anion superoksida dan radikal hidroksil (Winarsi, 2007)

3. Struktur Histologis Hepar

Hepar adalah organ tubuh terbesar dan merupakan kelenjar terbesar, beratnya $\pm 1,5$ Kg. Hepar terletak di rongga perut di bawah diafragma. Sebagian besar darahnya dipasok dari vena porta, dan sebagian

kecil dipasok dari arteri hepatica. Posisi hepar dalam sistem sirkulasi optimal untuk menampung, mengubah, menimbun metabolit, menetralisasi dan mengeluarkan substansi toksik (Junqueira *et al.*, 1995).

Hepar terdiri atas beberapa lobus dan tiap lobus hepar terbagi menjadi struktur-struktur yang dinamakan lobulus, yang merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ. Setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hepar berbentuk kubus, tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Diantara lempengan-lempengan sel hepar terdapat kapiler-kapiler yang dinamakan sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid ini dibatasi oleh sel fagositik atau sel kuffer, yang berfungsi seperti sistem monosit-makrofag. Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica yang melingkari bagian perifer lobules hepar, juga terdapat saluran empedu (Price & Wilson, 2005)



Gambar 2. Lobulus Hepar (sediaan seksional, potongan melintang).
Pulasan: HE. Pembesaran kuat (Eroschenko, 2003).

a. Lobulus Hepar

Pembagian lobulus hepar sebagai unit fungsional dibagi menjadi tiga zona:

1. Zona 1 : Zona aktif, sel-sel paling dekat pembuluh, akibatnya zona ini yang pertama kali dipengaruhi oleh perubahan darah yang masuk.
2. Zona 2 : Zona intermedia, sel-selnya memberi respon kedua terhadap darah.
3. Zona 3 : Zona pasif, aktivitas sel-selnya rendah dan tampak aktif bila kebutuhan meningkat. Lokasinya paling dekat dengan vena sentralis.

Lobulus hepar sebagai kesatuan histologis berbentuk prisma poligonal, diameter 1-2 mm, penampang melintang tampak sebagai heksagonal dengan pusatnya vena sentralis dan sudut-sudut luar lobuli terdapat kanalis porta (Lesson *et al.*, 1996).

b. Parenkim Hepar

Parenkim atau sel-sel hepar tersusun dalam rangkaian lempeng-lempeng, atau lembaran-lembaran bercabang-cabang dan beranastomosis membentuk labirin dan diantaranya terdapat sinusoid. Lempeng-lempeng ini secara radial bermula dari tepi lobulus menuju ke vena sentralis sebagai pusatnya. Sel hepar berbentuk poligonal

dengan enam atau lebih permukaan, berukuran sekitar 20-35 um. Inti bulat atau lonjong dengan permukaan teratur dan besarnya bervariasi dari sel satu dengan lainnya. Masing-masing inti berbentuk vesikuler dengan granula kromatin tampak jelas dan tersebar dengan satu atau lebih anak inti (Leeson *et al.*, 1996).

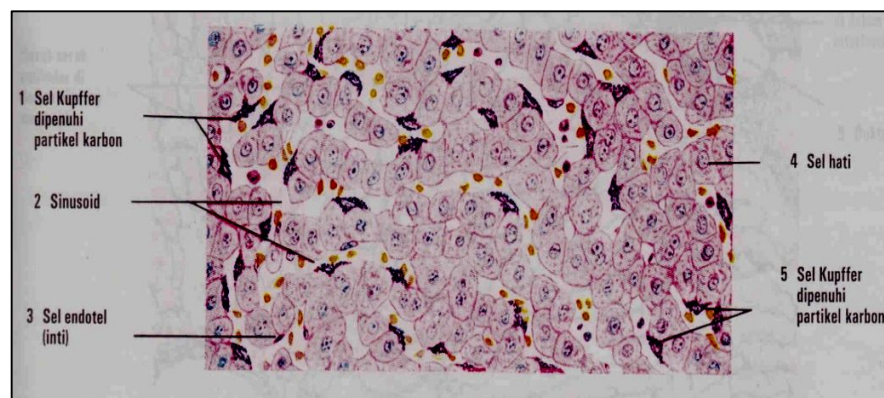
c. Kanalikuli Biliaris

Kanalikuli biliaris kadang-kadang tampak pada sajian HE sebagai rongga kecil di antara sel hepar yang bersebelahan, tetapi dapat lebih baik diperlihatkan dengan pulasan khusus, misalnya reaksi Gomori untuk fosfatase alkali atau dengan impregnasi perak. Kanalikuli biliaris berbentuk jala-jala tiga dimensi di antara sel-sel hepar. Dinding kanalikuli biliaris terdiri atas sel-sel hepar. Pada bagian perifer lobulus, sel-sel parenkim yang membentuk dinding kanalikuli biliaris secara bertahap diganti dengan sel kecil jernih dengan inti gelap dan organel-organel yang tidak sempurna. Sel-sel ini disebut sel-sel duktulus (Leeson *et al.*, 1996).

d. Sinusoid Hepar

Bagian yang membentuk jaringan intralobuler yang kaya akan susunan pembuluh-pembuluh darah yang saling bertemu satu sama lainnya pada vena sentralis. Menurut tipe kapilernya dibedakan menjadi dua: (1) sinusoid yang lebar dan bervariasi dalam ukuran

diameter, dan (2) sinusoid yang dindingnya terdiri atas dua tipe sel yang dapat dibedakan, yaitu sel *endotel* dan sel *kuffer*. Sel kuffer di sini bersifat “*endogenous peroxidase activity*” dan beregenerasi atau berproliferasi dengan sendirinya. Sel *kuffer* ini berperan dalam produksi benda-benda imun, fagositosis, dan formasi darah (Jones, 1993). Sinusoid mengandung sel-sel darah, dan pada neonatus mengandung elemen *hemopoetik*. Diantara sinusoid terdapat sebuah celah, disebut *celah disse*, yang memisahkan permukaan sel hepatosit yang menghadap sinusoid dengan barisan sel endotel (Damjanov, 1996)



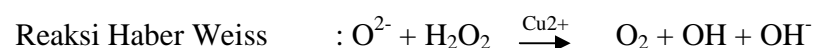
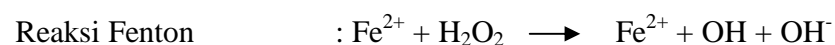
Gambar 3. Hepar: Sel Kupffer (sediaan tinta india). Pulasan: HE. Pembesaran kuat (Eroschenko, 2003).

4. Kerusakan Hepatosit Akibat Asetaminofen

Kematian sel dan kematian jaringan pada tubuh yang hidup disebut nekrosis. Nekrosis juga dapat diartikan sebagai proses perubahan

morfologi sebagai akibat tindakan degenerasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas letal (Robbins & Kumar, 1995). Umumnya perubahan-perubahan lisis yang terjadi pada sel nekrotik dapat terjadi pada semua bagian sel. Tetapi perubahan pada inti sel adalah petunjuk yang paling jelas pada kematian sel. Bagian sel yang telah mati terdapat inti yang menyusut, batas tidak teratur dan berwarna gelap dengan zat warna yang biasa digunakan oleh para ahli patologi anatomi. Proses ini dinamakan piknosis dan intinya disebut piknotik (Price & Wilson, 2005).

Mekanisme kerusakan sel hepar akibat dosis toksik asetaminofen dapat terjadi akibat reaksi toksik dan radikal bebas. Reaksi toksik disebabkan langsung oleh ikatan antara NAPQI dengan gugus nukleofilik yang terdapat pada makromolekul sel seperti protein sehingga mengakibatkan kematian sel atau nekrosis sentrolobuler (Veryadi, 2007). NAPQI juga mengandung ion superoksida/radikal bebas oksigen/ O_2^- yang merupakan oksidan bagi sel (David & Etti, 1990). O_2^- ini dapat dinetralkan oleh SOD (*Super Okside Dismutase*) dan Cu^{+2} menjadi H_2O_2 (Hidrogen Peroksida). SOD merupakan salah satu antioksidan enzimatik (dalam sitoplasma dan mitokondria). Melalui reaksi Fenton dan Haber Weiss terbentuklah OH^- (Radikal Hidroksil).



Radikal hidroksil yang terbentuk akibat dosis toksik asetaminofen melalui reaksi Fenton-Haber Weiss tersebut juga dapat merusak rantai *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) menjadi lipid hidroperoksida (COOH). Radikal ini akan memisahkan atom hidrogen dari rantai PUFA dalam membran sel hepar, sehingga terjadi peroksidasi lipid. Penimbunan zat tersebut pada membran sel akan mengakibatkan gangguan fungsi sel hingga akhirnya terjadi nekrosis sel hepar (Santoso, 2004).

Dalam kondisi normal, NAPQI didetoksifikasi melalui konjugasi dengan glutathion sulhidril secara ireversibel. Jika terjadi keracunan asetaminofen, jalur sulfat dan glukoronat menjadi jenuh, dan makin banyak asetaminofen yang disalurkan ke sitokrom P450 untuk memproduksi NAPQI. Akibatnya, jaringan hepar yang memproduksi glutathion akan kelelahan dan NAPQI menjadi bebas unruk bereaksi dengan molekul membran sel (protein, RNA dan DNA), dan akan menyebar sehingga terjadi kerusakan dan kematian sel-sel hepatosit, lebih lanjut akan terjadi nekrosis hepar akut (Richardson, 2000).

Asetaminofen paling banyak dirubah menjadi senyawa tidak aktif melalui metabolisme enzim fase II dengan cara mengkonjugasikan sulfat dan glukoronat, sedangkan sebagian kecilnya dioksidasi melalui sistem enzim sitokrom P450. Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) dan 3A4 (CYP3A4) merubah asetaminofen menjadi metabolit yang cukup reaktif *N-acetyl-p-*

benzo-quinone imine atau [NAPQI](#) (Richardson, 2000 ; Rumbelha *et al.*, 1995 ; Sellon, 2001).

Dalam kondisi normal, NAPQI didetoksifikasi melalui konjugasi dengan glutathion sulhidril secara ireversibel. Jika terjadi keracunan asetaminofen, jalur sulfat dan glukoronat menjadi jenuh, dan makin banyak asetaminofen yang disalurkan ke sitokrom P450 untuk memproduksi NAPQI. Akibatnya, jaringan hepar yang memproduksi glutathion akan kelelahan dan NAPQI menjadi bebas untuk bereaksi dengan molekul membran sel (protein, RNA dan DNA), dan akan menyebar sehingga terjadi kerusakan dan kematian sel-sel hepatosit, lebih lanjut akan terjadi nekrosis hepar akut (Richardson, 2000).

Proses nekrosis yang paling berat terjadi di zona 3, zona 3 merupakan daerah yang paling sensitif terhadap kerusakan sel hepatosit, hal ini disebabkan oleh karena letaknya di dekat vena sentralis sehingga zona ini memiliki cadangan oksigen yang sangat minim dibanding dua zona lainnya (Gartner & Hiatt, 2007). Zona 3 merupakan lokasi enzim yang mengubah asetaminofen menjadi metabolit yang reaktif. Pada zona 3 sel-sel hepatosit aktivitasnya rendah dan akan aktif bila kebutuhan meningkat. NAPQI merupakan metabolit aktif yang ikut memacu peningkatan aktivitas sel-sel di zona 3. Bila dosis meningkat dan kadar

glutation berkurang, maka pengikatan kovalen zat kimia terhadap protein meningkat dan menyebabkan nekrosis (Else, 2002).

Nekrosis sel hepar akibat asetaminofen dapat bersifat fokal, sentral, perifer atau masif. Kematian sel terjadi bersamaan dengan pecahnya membran plasma. Perubahan morfologis awal berupa: edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma dan disagregasi polisom. Selanjutnya terjadi akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel, pembengkakan mitokondria progresif dengan kerusakan krista dan pembengkakan biokimia yang bersifat kompleks (Wenas, 1999). Stadium selanjutnya dapat mengalami degenerasi hidropik, susunan sel yang terpisah-pisah, inti sel piknotik, karioreksis (hancurnya inti yang meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar didalam sel), kariolisis (hilangnya kemampuan inti sel yang mati untuk diwarnai dan menghilang), pecahnya membran plasma, dan akhirnya terjadi nekrosis (Thomas, 1988).

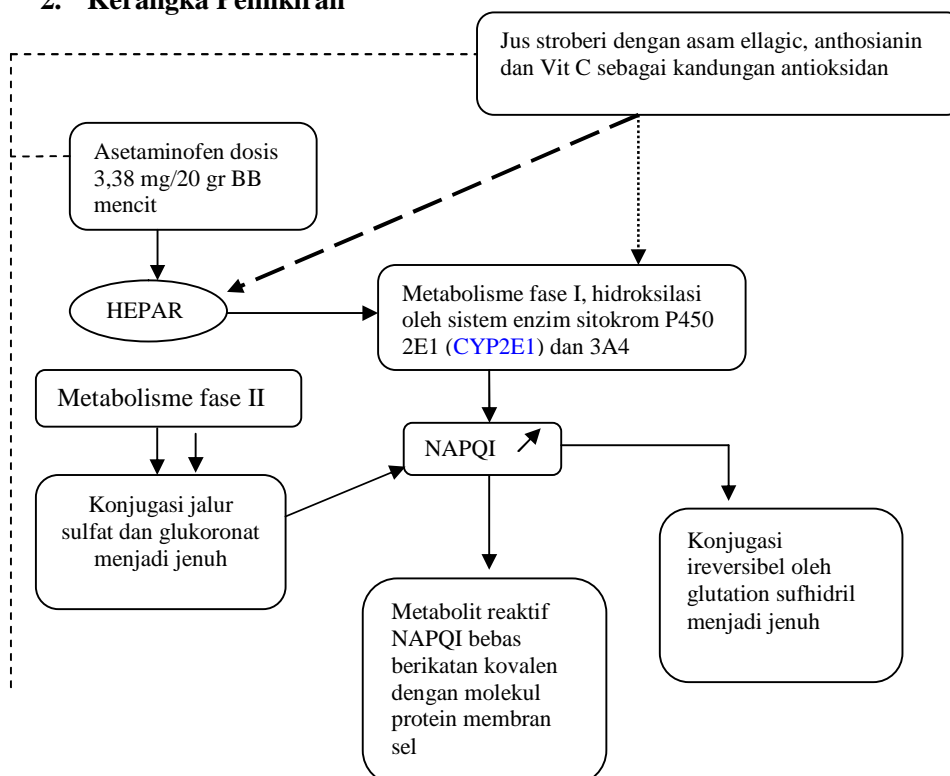
5. Mekanisme Perlindungan Jus Stroberi Terhadap Kerusakan Sel Hepar Akibat Asetaminofen.

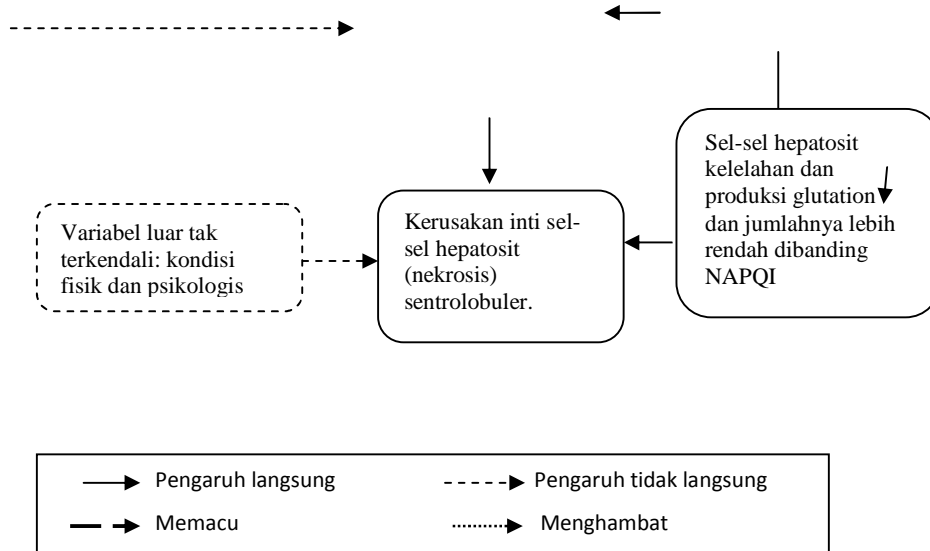
Jus stroberi dengan kandungan senyawa antioksidan, terutama asam ellagic. Asam ellagic mampu mengikat radikal oksigen bebas yang dapat merusak sel-sel hepar. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa asam ellagic mampu menurunkan kadar sitokrom P450 yang menjadi

mediator terbentuknya metabolit reaktif dan juga mampu meningkatkan kadar dan aktivitas enzim fase II yang merupakan enzim penetralisir racun dalam tubuh (Ahn *et al.*, 1996).

Tahapan aktivitas antioksidan asam ellagic adalah, pertama asam ellagic dapat memacu klirens mutagen dan karsinogen dari cairan ekstraseluler melalui aktivasi enzim detoksifikasi yang berada di hepar. Kemudian asam ellagic mencegah mutagen dan karsinogen berikatan dengan DNA sel. Setelah itu asam ellagic menangkap radikal oksigen bebas dari dan dalam luar sel (Gold, 2005).

2. Kerangka Pemikiran





3. Hipotesis

Pemberian jus stroberi dapat mengurangi kerusakan inti hepatosit akibat pemberian asetaminofen.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Peneliti memberikan perlakuan terhadap sampel berupa hewan coba yang diambil dari Universitas Setiabudhi (USB) dan dilakukan di laboratorium Histologi FK UNS (Taufiqqurohman, 2003).

B. Subjek Penelitian dan Besar Sampel

Populasi : Mencit (*Mus musculus L.*) jenis kelamin jantan, yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan ± 20 gram.

Sampel : 30 mencit dari populasi yang sudah ditetapkan kriterianya. Populasi mencit yang telah memenuhi kriteria tersebut di atas kemudian diambil 30 ekor kemudian dikelompokkan ke dalam 3 kelompok perlakuan, sehingga masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 10 ekor mencit.

Jumlah sampel ini ditetapkan berdasarkan rumus federer :

$$= (n-1)(t-1) > 15$$

$$(n-1)(3-1) > 15$$

$$(n-1)2 > 15$$

$$(n-1) > 7,5$$

$$n > 8,5$$

Keterangan :

n : jumlah sampel tiap kelompok

t : jumlah kelompok / jumlah perlakuan

Jumlah kelompok yang akan diteliti adalah 3, di sini peneliti akan memakai 10 mencit dalam tiap kelompok.

C. Lokasi Penelitian

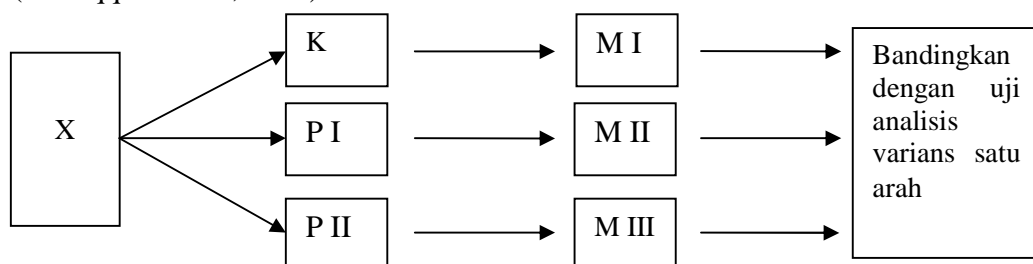
Penelitian dilakukan di Laboratorium histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

D. Teknik Sampling

Pengambilan sampel dilakukan secara *incidental sampling*. Pemilihan subjek sampel berasal dari individu-individu yang secara kebetulan dijumpai (Taufiqurohman, 2003). Sampel berasal dari 30 ekor mencit yang telah dikelompokkan menjadi kelompok satu, dua dan tiga.

E. Rancangan penelitian

Desain penelitian yang dipakai adalah *Post Test Only Control Group Design*. Di sini kelompok kontrol dipakai sebagai pembanding (Taufiqurohman, 2003).



Gambar.4. Skema Desain Penelitian

Keterangan :

- X : Subjek penelitian, mencit sebanyak 30 ekor.
- K : Kelompok kontrol, tanpa diberi asetaminofen ataupun jus stroberi.
- PI : Kelompok perlakuan I,
- PII : Kelompok perlakuan II,
- MI : Hasil pengamatan mikroskopis sel hepatosit kelompok kontrol
- MII : Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan sel hepatosit pada kelompok perlakuan I
- MIII : Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan sel hepatosit pada kelompok perlakuan II

Jus stroberi diberikan setiap hari selama 14 hari berturut-turut. Sedangkan asetaminofen diberikan pada hari ke 11, 12, 13, dan 14. Observasi pada jumlah inti hepatosit yang mengalami piknosis, karyoreksis dan karyolisis, dilakukan pada hari ke-15 setelah perlakuan pertama dikerjakan.

F. Identifikasi Variabel

1. Variabel bebas :

Pemberian jus stroberi.

2. Variabel terikat :

Gambaran histologis sel hepar mencit.

3. Variabel luar :

 - a. Variabel terkendali :
Makanan, minuman, genetik, jenis kelamin, umur, berat badan, dan suhu udara
 - b. Variabel tak terkendali :
Kondisi psikologis hewan percobaan, efek toksik dan hipersensitivitas, daya regenerasi sel hati, imunitas, keadaan awal hepar mencit sebelum dilakukan perlakuan.

G. Definisi Operasional Variabel

1. Variabel Bebas
Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian jus stroberi. Jus stroberi dengan dosis 624 mg/20grBB mencit diberikan peroral dengan sonde lambung sekali sehari selama 14 hari berturut-turut pada kelompok perlakuan II. Skala pengukuran nominal.
2. Variabel Terikat
Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histologis sel hepar mencit. Inti hepatosit yang diamati adalah jumlah inti yang mengalami piknosis, karyoreksis, dan karyolisis yang dihitung dari 100 sel pada zona 3 yang ditentukan secara random. Skala pengukuran ratio.

Tanda-tanda kerusakan sel :

- a. Sel
yang mengalami piknosis intinya kisut dan bertambah basofil, berwarna gelap dan batasnya tidak teratur.
- b. Sel
yang mengalami karyoreksis intinya mengalami fragmentasi atau hancur dengan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel.
- c. Sel
yang mengalami karyolisis yaitu kromatin basofil menjadi pucat, inti sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja. Sitoplasma berubah menjadi massa asidofil suram bergranula yang mencerminkan aktivasi DNA-se pada penurunan pH sel (Price & Wilson, 2005 ; Robbins & Kumar, 1995).

3. Variabel Luar yang Dapat Dikendalikan

- a. Makanan dan minuman
Makanan yang diberikan berupa pellet dan air PAM.
- b. Genetik
Mencit galur Swiss Webster.
- c. Jenis kelamin
Mencit berjenis kelamin jantan.

d. Umur

Mencit umur \pm 2-3 bulan.

e. Berat badan

Mencit dengan berat badan \pm 20 gram.

f. Suhu udara

Hewan percobaan ditempatkan di dalam ruangan dengan suhu berkisar antara 25-28⁰ C.

4. Variabel Luar yang Tidak Dapat Dikendalikan

a. Kondisi psikologis mencit dipengaruhi lingkungan sekitar.

Lingkungan yang terlalu gaduh/ramai, pemberian perlakuan yang berulang kali dan perkelahian antar mencit dapat mempengaruhi kondisi psikologis mencit.

b. Patogenesis suatu zat yang dapat merusak hepar selain radikal bebas yaitu : efek toksik dan hipersensitivias.

c. Daya regenerasi sel hati dari masing-masing binatang percobaan.

d. Imunitas dari masing-masing binatang percobaan.

e. Keadaan awal hepar mencit sebelum dilakukan perlakuan.

H. Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Instrumen

a. Kandang hewan percobaan (mencit) (ukuran 38 x 30 x 15 cm³)

b. Timbangan hewan (merk camry)

- c. Sonde lambung (volume 1 ml)
 - d. Alat bedah hewan percobaan (Scalpel, pinset, gunting, jarum, dan meja lilin)
 - e. Alat untuk pembuatan preparat histologi
 - f. Mikroskop cahaya medan terang (merk Olympus)
 - g. Gelas ukur dan pengaduk (IWAKI)
 - h. Becker glass 250cc (IWAKI, pyrex)
 - i. Lampu spiritus
 - j. Blender (merk Miyako)
2. Bahan
- a. Makanan hewan percobaan (pelet dan air PAM)
 - b. Asetaminofen tablet 500 mg
 - c. Stroberi 240 g
 - d. Bahan untuk pembuatan preparat histologis

I. Cara Kerja

1. Persiapan Percobaan

a. Hewan coba

Hewan coba diperoleh dari Universitas Setiabudhi (USB) Surakarta. Kemudian dilakukan adaptasi di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta selama 7 hari dan dilakukan pengelompokan secara random menjadi 3 kelompok. Tiap

kelompok terdiri atas 10 ekor. Pada minggu I dilakukan penimbangan dan penandaan.

b. Jus Stroberi

Stroberi yang digunakan adalah stroberi buah yang didapatkan di Pasar Besar Surakarta. Setelah itu, stroberi dicuci dengan air bersih. Kemudian stroberi diblender selama kurang lebih 5 menit. Di sini, peneliti menggunakan stroberi sebanyak 240 gram yang pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa 2 jam setelah konsumsi buah stroberi terdapat peningkatan kadar antioksidan dalam serum (Cao *et al.*, 1998). Nilai konversi dari manusia (70 kg) ke mencit (20 gr) adalah 0,0026 (Ngatidjan, 1991). Jadi dosis untuk mencit adalah $0,0026 \times 240 \text{ gr} = 0,624 \text{ gr} = 624 \text{ mg stroberi}/20 \text{ gram BB mencit}$.

Peneliti menggunakan stroberi sebanyak 240 gram, untuk itu dibutuhkan penambahan aquadest sebanyak 192 ml, sehingga dalam 0,5 ml jus stroberi terdapat 624 mg. Dosis yang diberikan pada mencit peroral adalah 0,5 ml jus stroberi yang setara dengan 624 mg/20g BB. Jus stroberi ini diberikan pada kelompok perlakuan 2. Jus stroberi diberikan satu kali sehari secara per oral selama 14 hari.

Bila dilakukan penghitungan dengan penambahan pelarut air adalah sebagai berikut :

$$\frac{240000}{x} = \frac{624}{0.5}$$

c. Asetaminofen

Asetaminofen yang digunakan oleh peneliti didapatkan dari apotek. Dosis asetaminofen yang diberikan untuk menimbulkan kerusakan sel hepar mencit merujuk dari penelitian oleh Veryadi (2007), dimana dosis yang digunakan adalah 3,38 mg/20 grBB mencit.

Dosis 3,38/20 gr mencit didasarkan pada LD-50 dari mencit secara oral yaitu 338 mg/kgBB, dosis yang diberikan adalah setengah dari dosis LD-50 untuk mencit, jika dilakukan penghitungan maka : $338 \text{ mg/kgBB} \times 0,5 = 169 \text{ mg/kgBB} = 3,38 \text{ mg/20grBB}$.

Kemudian jika hitung dengan penambahan pelarut air untuk mendapatkan dosis asetaminofen sesuai dengan 3,38 mg/20grBB mencit yang diperoleh dari 500 mg asetaminofen adalah sebagai berikut :

$$\frac{500}{x} = \frac{3.38}{0.1} \quad x = 14,79 \text{ ml} \sim 15 \text{ ml}$$

Jumlah larutan asetaminofen yang diberikan yaitu 0,1 ml = 3,38 mg/20 grBB mencit diberikan peroral pada hari ke 11-14.

2. Pelaksanaan Percobaan

Percobaan mulai dilakukan pada minggu II, dan percobaan berlangsung selama 14 hari.

Pengelompokan subjek:

- a. X1 = Kelompok kontrol, terdiri dari 10 ekor mencit, hanya diberi diet standar yaitu pellet dan air PAM selama 14 hari.
- b. X2 = Kelompok perlakuan I, terdiri dari 10 ekor mencit, diberi diet standar pellet dan air PAM, serta diberi asetaminofen dosis 3,38 mg/20 grBB mencit peroral pada hari ke 11-14.
- c. X3 = Kelompok perlakuan II, terdiri dari 10 ekor mencit, diberi diet standar yaitu pellet dan air PAM, serta diberi jus stroberi dosis 624 mg/20grBB mencit peroral. Setelah \pm 1 jam, diberikan asetaminofen dosis 3,38 mg/20 grBB mencit peroral. Pemberian jus stroberi adalah selama 14 hari berturut-turut. Sedangkan pemberian asetaminofen adalah pada hari ke 11- 14.

3. Pengukuran Hasil

Pada hari ke-15 setelah perlakuan pertama diberikan, semua hewan percobaan dikorbankan dengan cara dislokasi leher. Organ hepar diambil untuk dibuat preparat histologis dengan pengecatan HE. Untuk penyeragaman sampel maka lobus hepar yang diambil adalah lobus kanan dan irisan untuk preparat pada bagian tengah dari lobus tersebut. Selanjutnya dari tiap lobus tersebut dibuat 5 irisan setebal 3-8 μm .

Pengamatan preparat dengan perbesaran 100 kali untuk mengamati seluruh lapangan pandang, selanjutnya ditentukan daerah yang akan diamati, yaitu zona 3 lobulus hepar (zone sentrolobuler). Penentuan daerah zona 3 dilakukan secara random dan dari tiap preparat dipilih 3 daerah pada zona 3. Selanjutnya pengamatan dengan perbesaran 400 kali pada tiap daerah zona 3 lalu dihitung jumlah inti hepatosit yang mengalami piknosis, karyoreksis, dan karyolisis dari tiap 100 sel. Penghitungan jumlah inti hepatosit ini menggunakan sistem *scoring* sebagai berikut :

Tabel 1. *Scoring* penjumlahan inti hepatosit yang rusak

Inti hepatosit	<i>Score</i>
Normal	0
Degeneratif	
Piknotik	1
Karyoreksis	1
Karyolisis	1

J.

Anal

isis Data

Data yang didapat dianalisis secara statistik dengan uji *Oneway* ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan diantara ketiga kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Post-hoc test* untuk mengetahui letak perbedaan terdapat diantara kelompok yang mana. Derajat kemaknaan yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$. Data diolah menggunakan program komputer SPSS versi 16.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Perbandingan gambaran histologis tiap kelompok percobaan dapat dilihat pada bagian lampiran. Pada kelompok kontrol gambaran histologis hepatosit lebih teratur, walaupun ada kerusakan sel itu dapat merupakan hal fisiologis metabolisme sel. Gambaran histologis hepatosit tampak kerusakan lebih berat pada kelompok perlakuan I dimana susunan sel tidak lagi teratur, kemudian ditemukan inti hepatosit lebih banyak dibanding kelompok kontrol dan perlakuan II. Hal ini yang menunjukkan kerusakan sel menuju ke arah kematian sel yaitu, piknosis, karyoreksis dan karyolisis. Nekrosis sel di daerah sentrolobuler ini terutama pada kelompok perlakuan I sangat mungkin disebabkan oleh reaksi metabolisme asetaminofen secara langsung lewat dosis sub toksis dan juga melalui metabolit reaktif dari hasil metabolisme asetaminofen tersebut. Pada kelompok perlakuan II, gambaran histologis hepatosit mencit lebih teratur dan mendekati gambaran histologis pada kelompok kontrol, kemudian kerusakan sel lebih sedikit dibanding kelompok perlakuan I.

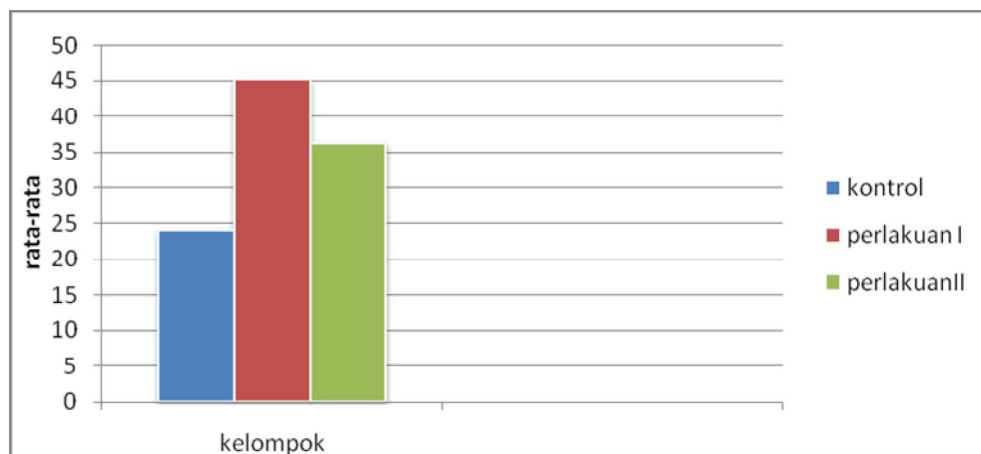
Dari hasil penghitungan inti hepatosit mencit, pada kelompok kontrol skor kerusakan tertinggi adalah 35 dan untuk skor terendah adalah 21. Pada kelompok perlakuan I skor kerusakan tertinggi adalah 63 sedangkan skor terendahnya adalah 36. Pada kelompok perlakuan II didapatkan skor kerusakan tertinggi adalah 37 dan skor terendah adalah 20.

Tabel 2. Rata-rata skor kerusakan inti Tiap Lobulus Sel Hepar Mencit pada Masing-masing Kelompok

Kelompok	Rata-rata skor kerusakan	Standar Deviasi
Kontrol	24.13	3.683
Perlakuan I	45.27	7.367
Perlakuan II	36.43	4.141

(sumber : data primer)

Dari data di tabel tersebut dapat dilihat bahwa pada kelompok perlakuan I memiliki rata-rata skor kerusakan tertinggi yaitu 45.27 ± 7.367 . Sedangkan untuk kelompok kontrol adalah 24.13 ± 3.683 dan untuk kelompok perlakuan II adalah 36.43 ± 4.141 .



Gambar 5. Grafik rata-rata skor kerusakan inti hepatosit mencit setelah perlakuan pada kelompok kontrol, perlakuan I, dan perlakuan II

Data skor kerusakan tiap kelompok yang terlampir, selanjutnya dilakukan uji ANOVA, untuk melihat apakah ada perbedaan rata-rata skor kerusakan yang bermakna antara kelompok kontrol, perlakuan I dan perlakuan II. Hasil uji ANOVA tersebut didapat $F_o = 142.359$ dan $F_t = 3.10$ ($F_o > F_t$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara ketiga kelompok perlakuan.

Setelah dilakukan uji ANOVA dilanjutkan uji LSD atau Post HOC test untuk mengetahui letak perbedaan antara ketiga kelompok perlakuan.

Tabel 3. Hasil Uji LSD Skor Kerusakan Inti Hepatosit Mencit setelah Perlakuan pada Kelompok Kontrol, Perlakuan I, dan Perlakuan II

Kelompok	P	Pengambilan Keputusan	Perbedaan skor inti hepatosit antar kelompok
K – PI	0.000	Ho ditolak	Signifikan
K – PII	0.098	Ho diterima	Tidak signifikan
PI – PII	0.000	Ho ditolak	Signifikan

(sumber : data primer)

BAB V

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini yang diamati adalah kerusakan inti hepatosit (piknosis, karyoreksis, dan karyolisis) setelah pemberian jus stroberi dan asetaminofen. Pengamatan dilakukan terhadap inti hepatosit kecil yang terdapat di zona 3 lobulus hepar, karena zona 3 merupakan daerah yang paling sensitif terhadap kerusakan sel hepatosit, hal ini disebabkan letaknya di dekat vena sentralis sehingga zona ini memiliki cadangan oksigen yang sangat minim dibanding dua zona lainnya (Gartner & Hiatt, 2007). Zona 3 merupakan lokasi enzim yang mengubah asetaminofen menjadi metabolit yang reaktif (Else, 2002).

Hasil penghitungan skor ternyata juga terdapat kerusakan inti hepatosit pada kelompok kontrol, namun kerusakan pada kelompok kontrol ini termasuk dalam derajat normal. Gambaran sel hati pada kelompok kontrol menunjukkan gambaran mikroskopik hati yang normal yaitu sel-selnya tersusun radier, inti normokromatis, bentuk sel sama (isomorf), tidak ada kelainan pada sitoplasmanya. Selain itu sel yang normal dapat mengalami proses penuaan dan kematian sel yang fisiologis (apoptosis) (Muljono, 2004).

Hasil uji LSD perbandingan antara kelompok kontrol dengan perlakuan I menunjukkan perbedaan kerusakan inti hepatosit yang signifikan ($p < 0.05$). Pengamatan terhadap kelompok perlakuan I ternyata memiliki skor kerusakan inti

hepatosit paling tinggi. Hal ini dapat dilihat pada gambaran histologis inti hepatosit pada lampiran. Kerusakan inti hepatosit pada kelompok perlakuan I ini sangat dimungkinkan akibat pemberian paretamol yang menyebabkan nekrosis hepatosit.

Nekrosis sel hati ditimbulkan oleh NAPQI (*N-asetil-p-benzokuinon*) sebagai metabolit yang sangat reaktif. NAPQI menghasilkan zat radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme asetaminofen di hati berupa oksigen tunggal yang merupakan oksidan bagi sel (David *et al.*, 1998). Melalui reaksi Fenton dan Haber Weiss terbentuklah radikal hidroksil (OH^\cdot). OH^\cdot inilah yang akan berdampak buruk pada sel hati apabila berikatan dengan protein, asam lemak tak jenuh dan DNA hingga akhirnya terjadi kerusakan sel hati. Untuk meredam reaksi radikal hidroksil tersebut, secara normal diatasi oleh hati melalui konjugasi dengan glutathion. Tetapi jika hal itu terus berlanjut sampai melewati batas kemampuan hati untuk membentuk glutathion (akibat kejenuhan jalur glukoronida dan sulfat oleh aktivitas sitokrom P-450) maka OH^\cdot akan tetap dihasilkan dan bereaksi dengan protein. Hal ini berakibat kematian sel atau nekrosis sentrilobular (Katzung, 1998) karena sitokrom P450 paling banyak terdapat pada daerah tersebut (Wilmana, 1995). Nekrosis sel hati akibat asetaminofen dapat bersifat fokal, sentral, perifer atau masif.

Kandungan antioksidan dalam stroberi terutama asam ellagic, mampu mengikat radikal oksigen bebas yang dapat merusak sel-sel hepar. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa asam ellagic mampu menurunkan kadar sitokrom P450 yang menjadi mediator terbentuknya metabolit reaktif dan juga mampu

meningkatkan kadar dan aktivitas enzim fase II yang merupakan enzim penetralisir racun dalam tubuh (Ahn *et al.*, 1996).

Pada gambaran histologisnya dapat kita lihat bahwa pada kelompok perlakuan I kerusakan sel lebih nyata terlihat dibanding dengan perlakuan II yang telah diberikan jus stroberi pada 10 hari sebelumnya dan juga selama 4 hari pemberian asetaminofen. Hal ini terjadi oleh karena efek antioksidan dari jus stroberi khususnya asam ellagic, yang berperan dalam proses peningkatan aktivitas enzim fase II. Enzim fase II ini dapat menghambat pembentukan metabolit NAPQI dan secara tidak langsung dapat meningkatkan cadangan glutathion yang pada akhirnya dapat mengurangi terjadinya nekrosis hepatosit terutama di daerah sentrolobuler.

Radikal hidroksil (OH^\cdot) ini juga dapat menyebabkan timbulnya reaksi radang, induksi sitokin, aktivitas fibrosis, dan sebagian dapat menyebabkan kematian sel secara langsung (Muljono, 2004). Selain efek antioksidan stroberi yang berikatan dengan radikal bebas, stroberi juga mempunyai efek anti inflamasi yang disebabkan oleh radikal bebas tersebut, reaksi radang ini tampak jelas disekitar vena sentralis terutama pada kelompok perlakuan I yang diberi asetaminofen.

Hasil skor analisis kerusakan inti hepatosit antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan II tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan dosis jus stroberi 624 mg/20 grBB yang diberikan memiliki efek antioksidan yang efektif dan dapat memberikan hasil yang mendekati perbaikan hati ke arah yang normal. Penggunaan dosis jus stroberi 624 mg/20grBB ini berdasarkan

pada penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh Cao *et al.*, 1998, dimana stroberi sebanyak 240 gram yang pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa 2 jam setelah konsumsi buah stroberi terdapat peningkatan kadar antioksidan dalam serum.

Dari uji LSD perbandingan antara kelompok perlakuan I dengan perlakuan II menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Pada kelompok perlakuan I kerusakan inti hepatosit disebabkan oleh pengaruh pemberian asetaminofen dosis sub toksik. Sedangkan pada kelompok perlakuan II tampak bahwa skor kerusakan hepatosit mengalami penurunan dan mendekati normal akibat pengaruh pemberian jus stroberi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jus stroberi dapat berperan efektif sebagai hepatoprotektor dan kemungkinan juga efektif pada model kerusakan lain yang melibatkan radikal bebas dan menyebabkan adanya stress oksidatif. Sejauh yang peneliti ketahui, penelitian tentang jus stroberi sebagai hepatoprotektor akibat paparan asetaminofen masih sangat jarang sehingga hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai salah satu referensi baru.

SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

1. Adanya perbedaan kerusakan inti sel hepar mencit yang signifikan antara ketiga kelompok setelah pemberian jus stroberi dan asetaminofen
2. Pemberian jus stroberi dosis 624 mg/20 grBB mencit yang diberikan selama 14 hari berturut-turut mempunyai efek hepatoprotektor terhadap hepar mencit yang dipaparkan asetaminofen.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis dan lama pemberian jus stroberi yang lebih bervariasi.
2. Penelitian ini masih memiliki beberapa kekurangan terutama pada metodologi penelitian yang digunakan dan kemungkinan pada beberapa aspek lainnya, seperti kurangnya referensi literatur tentang teori mekanisme proteksi stroberi. Alat dan bahan penelitian juga tidak distandardisasi secara khusus sehingga kemungkinan mempunyai pengaruh terhadap hasil penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, D., Putt, D., Kresty, L., Stoner, G.D., Fromm, D., and Hollenberg, P.F. 1996. *The effects of dietary ellagic acid on rat hepatic and esophageal mucosal cytochromes P450 and phase enzymes. Carcinogenesis* **17**: 821-828.
- Anonym. *Phytochemicals*.
<http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/ellagic-acid.php>
 (6 September 2008).
- Berry Doctor Corporation. 2006. America's Favorite - *Strawberi Anthocyanins and Ellagic Acid as Antioxidants. Complex with nutrients and phytchemcials. And what is an achene?*
<http://berrydrjournal.com/pdf/Strawberi%2011-11-06a.pdf> (22 Oktober 2008)
- Borne., Ronald, F. *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs" in Principles of Medicinal Chemistry*, Fourth Edition. Eds. Foye, William O.; Lemke, Thomas L.; Williams, David A. Published by Williams & Wilkins, 1995. p. 544–545.
- Cao, G., R.M. Russell, N. Lischner, and R.L. Prior. 1998. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine, or vitamin C in elderly women. *J. Nutr* 128:2383-2390.
- Daly, F.F., Fountain, J.S., Murray, L., Graudins, A., Buckley, N.A. 2008. [Guidelines for the management of paracetamol poisoning in Australia and New Zealand—explanation and elaboration. A consensus statement from clinical toxicologists consulting to the Australasian poisons information centres. Med. J. Aust. 188 \(5\): 296–301. PMID 18312195.](#)
- Damjanov I. 1996. Liver. In: *Anderson's Pathology*. Edisi 10. Mosby. USA, p: 1780.
- Dart, R.C., Erdman, A.R., Olson, K.R., Christianson, G., Manoguerra, A.S., Chyka, P.A., Caravati, E.M., Wax, P.M., Keyes, D.C., Woolf, A.D., Scharman, E.J., Booze, L.L., Troutman, W.G. ; American Association of Poison Control Centers. 2006. *Acetaminophen*

poisoning: an evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. Clin Toxicol (Phila) **44** (1): 1–18. [PMID 16496488](#).

- Dong, H., Haining, R.L., Thummel, K.E., Rettie, A.E., Nelson, S.D. 2000. *Involvement of human cytochrome P450 2D6 in the bioactivation of acetaminophen. Drug Metab Dispos* **28** (12): 1397–400. [PMID 11095574](#). [Free full text](#)
- Ekowati, P. 2007. *Pengaruh Pemberian Air Rebusan Meniran (Phyllanthus niruru Linn.) Terhadap Hepatotoksisitas Karbon Tetraklorida (CCl4) pada Mencit (Mus musculus L.,)*. Skripsi FK UNS. Surakarta
- Else F. 2002. *Pengaruh Pemberian Temulawak Terhadap Hepatotoksisitas Parasetamol Pada Mencit*. Skripsi FK UNS. Surakarta.
- Emsley, B. 2007. *Strawberry-Champagne good for health, says science*. Royal Society of Chemistry. <http://www.rsc.org/AboutUs/News/PressReleases/2007/Strawberries.asp>. (16 September 2008).
- Eroschenko, V. 2003. *Atlas Histologi di Fiore Dengan Korelasi Fungsional*. Alih bahasa: Jan Tambayong. Edisi 9. Jakarta: EGC, p: 219.
- Gartner, L. P., Hiatt, J. L. 2007. *Color Textbook of Histology. International edition. Saunders. Elsevier. Philadelphia. p : 429*
- Gold, L.S. *Ellagic-schema*. <http://www.ellagic.net/ellagic-schema.html>. (9Juni 2008)
- GRIN Taxonomy Database. Germplasm Resources Information Network ([GRIN](#)). <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?246> (16 September 2008).
- Hannum, S.M. Potential Impact of Strawberry on Human Health : a review of the science, *Cnt Rev Food Sci Nutr*. 2004;44(1):1-17
- Hawkins, L.C., Edwards, J.N., Dargan, P.I 2007. *Impact of restricting paracetamol pack sizes on paracetamol poisoning in the United Kingdom: a review of the literature. Drug Saf* **30** (6): 465–79. [PMID 17536874](#).

- Johnston, C.. Strawberry Processing Techniques: Freezing and Freeze-Drying, *Nutritional Science 519S*. 2005. p:2
- Junqueira, L.E., Carneiro J., Kelley R.O. 1995. *Histologi Dasar*. Alih Bahasa: Jan Tambayong. Jakarta: EGC, pp: 387-7.
- Juurlink, B.H.J. 2005. *Therapeutic Potential of Dietary Phase 2 Enzyme Inducers in Ameliorating Disease that Have an Underlying Inflammatory Component* : Department of Anatomy & Cell Biology and The Cameco Multiple Sclerosis and Neuroscience Research Centre College of Medicine, University of Saskatchewan, pp: 11-2.
- Kamau, C. 2007. *Fruit Juices : Ellagic Acid Concentration and Sensory Appeal* . Bowling Green State University. Thesis.
- Katzung, B. 2002. *Basic & Clinical Pharmacology*. 8th ed. Jakarta: Salemba Medika, pp: 485-6.
- Khashab, M., Tector, A.J., Kwo, P.Y. 2007. *Epidemiology of acute liver failure*. *Curr Gastroenterol Rep* **9** (1): 66–73. [PMID 17335680](#).
- Kumalaningsih, S. 2007. 3. *Antioksidan, Sumber & Manfaatnya*. <http://antioxidantcentre.com/> (10 September 2008).
- Larson, A.M., Polson, J., Fontana, R.J., et al 2005. *Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study*. *Hepatology* **42** (6): 1364–72. [doi:10.1002/hep.20948](https://doi.org/10.1002/hep.20948). [PMID 16317692](#)
- Leeson, C. R., Leeson, T. S., Paparo, A. A. 1996. *Buku teks Histologi. Alih bahasa : Yaan Tambayong, dkk. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. pp 383-7.*
- Much. 2007. *Strawberry, Buah Cinta yang Kaya Manfaat*. <http://bangfirman.multiply.com/> (2 Juli 2008).
- Muljono, DH. 2004. Keterlibatan Mitokondria pada Penyakit Hati. In: *Mitochondrial Medicine*. Lembaga Biologi Molekul Eijkman. Jakarta. Hal:145-64.

- Murray, R.K., Granner, D.K, Mayes, P.A., Rodwell, V.W. 2003 . Biokimia Harper. EGC. Jakarta. pp: 743-9
- Nationmaster Encyclopedia. 2005. *The Beach Strawberry, Chilean Strawberry, Sand Strawberry, or Coastal Strawberry*. http://www.nationmaster.com/encyclopedia/beach_strawberry/ (16 September 2008).
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk Laboratorium Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Yogyakarta : Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM.
- Nixon. 2003. *Medical References*. <http://www.ellagic.net/ellagic-acid-medical-references.html> (16 September 2008).
- Olson, K.R. 2007. *Poisoning & Drug Overdose*. 5th ed. San Fransisco : McGraw Hill, p : 68.
- Price, A.S. & Wilson, M.L. 2005. *Patofisiologi – Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Alih Bahasa: Adji Dharma. Jakarta: EGC, pp:47-9.
- Prihatman, K. 2000. Stroberi (*Fragaria chiloensis* L. / *F. vesca* L.), BAPPENAS pp : 1.
- Richardson, J.A. 2000. [Management of acetaminophen and ibuprofen toxicoses in dogs and cats](#). *J Vet Emerg Crit Care* **10**: 285–291.
- Rieger, M. 2002. *Mark's Fruit Crops: Strawberry *Fragaria* X *Ananassa**. <http://www.uga.edu/fruit/strawbry.html> (22 Oktober 2008).
- Robbins, S. L., Kumar, V. 1995. Buku Ajar Patologi. Alih Bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi FK UNAIR. Jakarta: EGC, p: 14.
- Rochmah, K. 2000. Potensi Ekstrak Bawang Putih (*Allivum sativum*) Sebagai Hepatoprotektor. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 8(1) : 47-52
- Rumbeiha, W.K., Lin, Y.S., Oehme, F.W. 1995. *Comparison of N-acetylcysteine and methylene blue, alone or in combination, for treatment of acetaminophen toxicosis in cats*. *Am. J. Vet. Res.* **56** (11): 1529–33. [PMID 8585668](#).

- Santoso, A.B. 2004. *Gambaran Histologis Hati Mencit Setelah Pemberian Parasetamol dan Vitamin C*. Skripsi FK UNS. Surakarta.
- Seeram, N.P. 2006. Berries. *Elsevier*. 210:615-7.
- _____. 2006. *Strawberry Phytochemicals and Human Health: A Review*. UCLA Center for Human Nutrition, David Geffen School of Medicine, University of California.
- Sellon, R.K. Acetaminophen. In: Peterson ME, Talcott PA, eds. *Small Animal Toxicology*. Toronto: WB Saunders, 2001: 388–395.
- Taufiqqurohman, M. A., 2003. Metodologi Penelitian Kedokteran Untuk Ilmu Kesehatan. Surakarta : CSGF. Klaten, p : 69.
- Tenenbein, M. 2004. Acetaminophen: the 150 mg/kg myth. *J Toxicol Clin Toxicol* **42** (2): 145–48. [PMID 15214618](#)
- Thomas, C. 1988. *Histopatologi Edisi X*. Alih Bahasa: Tonang dkk. Jakarta: EGC, hal: 169.
- Tjay, T.H. & Raharja, K. 2002. *Obat-Obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi 5. Jakarta: Gramedia, p: 296-8.
- Veryadi, I. 2007. *Pengaruh Pemberian Rebusan Daun Kelengkeng Terhadap Kerusakan Sel Hepar Mencit Akibat Pemberian Parasetamol*. Skripsi FK UNS. Surakarta
- Wenas, N.T. 1996. Kelainan hati akibat obat. Dalam: *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I*. Edisi III. Jakarta: Balai Penerbit FK UI, p: 364.
- Winarsi, H. 2007. *Vitamin C*. Dalam : Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Kanisisus, p ; 137-147.
- Wikipedia. 2007. *Ellagic Acid*. http://en.wikipedia.org/wiki/Ellagic_acid#column-one Wikipedia, the free encyclopedia (2 Juni 2008).
- Wikipedia. 2008. *Paracetamol*. <http://en.wikipedia.org/wiki/paracetamol/> Wikipedia, the free encyclopedia. (9 September 2008).

Wilmana, P.F. 1995. Analgetik antipiretik, analgetik antiinflamasi non steroid dan obat pirai. Dalam : Ganiswara S.G. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: Bagian Farmakologi FK UI, pp: 214-5.