

Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) pada Tikus Jantan Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Parasetamol (Kajian Aktivitas Enzim Katalase, SGOT dan SGPT)

Abdul Rahman Wahid, Safwan

Program Studi Diploma 3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Mataram, Jl. K. H. Ahmad Dahlan No. 1, Pagesangan, Mataram 83127

E-mail: rahman_apt@yahoo.co.id

Abstrak

Ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) mengandung metabolit sekunder flavonoid yang berfungsi sebagai senyawa antioksidan yang dapat melindungi kerusakan hati. Kerusakan hati selain disebabkan oleh mikroorganisme, seperti virus dan bakteri juga dapat disebabkan oleh obat-obatan dalam dosis toksik seperti parasetamol. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek ekstrak etanol daun gaharu terhadap aktivitas enzim katalase, SGOT dan SGPT tikus putih galur SD (*Sprague Dawley*) yang diinduksi parasetamol. Penelitian ini menggunakan metode true eksperimental dengan rancangan penelitian *post test control group design* terdiri dari 5 kelompok perlakuan, yang terdiri dari kelompok kontrol normal yang diberi Na-CMC 0,5%, kelompok kontrol negatif (parasetamol 180 mg/kgBB), dan kelompok perlakuan ekstrak dosis 10 mg/kgBB, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB. Perlakuan diberikan selama 7 hari berturut-turut dan pada hari ke-8 dilakukan pengambilan darah melewati vena mata. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis ekstrak 100 mg/kgBB dapat mempengaruhi aktivitas enzim katalase tertinggi sebesar $(47,500 \pm 0.0600)$ dan mampu mempengaruhi efek aktivitas enzim SGOT dan SGPT terendah sebesar $98,3 \pm 47,8$ IU/L dan $34,3 \pm 8,02$ IU/L pada hepar yang diinduksi parasetamol.

Kata kunci: Gaharu, *Aquilaria malaccensis*, antioksidan, SGOT, SGPT.

1. Pendahuluan

Berubahnya pola hidup masyarakat serta pola makan yang tidak benar dan pertambahan usia mengakibatkan pembentukan radikal bebas dalam tubuh. Padatnya aktivitas kerja cenderung menyebabkan masyarakat mengkonsumsi makanan yang serba instan dan menerapkan pola makan yang tidak sehat. Makanan yang tidak sehat akan menyebabkan akumulasi jangka panjang terhadap radikal bebas di dalam tubuh. Lingkungan tercemar, kesalahan pola makan dan gaya hidup, mampu merangsang tumbuhnya radikal bebas (*free radical*) yang dapat merusak tubuh [1]. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, akibatnya kerusakan sel dapat dihambat. Antioksidan berfungsi menetralkan radikal bebas, sehingga atom dan elektron yang tidak berpasangan mendapatkan pasangan elektron dan menjadi stabil. Keberadaan antioksidan dapat melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit degeneratif dan kanker [2]. Radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit degeneratif, karena radikal bebas memiliki lektron yang tidak berpasangan pada orbit

terluarnya, sehingga bersifat reaktif untuk bereaksi dengan molekul lain. Radikal bebas dapat merusak makromolekul seperti merusak lipid membran sel, DNA, protein yang menyebabkan stress oksidatif sel [3]. Dalam keadaan normal, produk radikal bebas tidak akan menyebabkan kerusakan hepar, karena dibandingkan organ lain, hepar memiliki sistem protektor antioksidan yang terbaik [4]. Dalam beberapa keadaan, dimana terdapat peningkatan radikal bebas yang disebabkan oleh pemicu, maka dapat terjadi dampak negatif pada sel hepar [5]. Beberapa obat dan bahan kimia yang telah dikenal dapat meningkatkan radikal bebas adalah parasetamol.

Parasetamol merupakan obat golongan NSAIDs (*Non-Steroidal Anti Inflammatory Drugs*) derivat *para*-amino fenol yang digunakan sebagai analgesik ringan sampai sedang dan antipiretik namun efek anti inflamasinya lemah [6]. Riset Kesehatan Dasar tahun 2010 menyatakan bahwa sekitar 50% dari 2000 kasus gagal hepar akut setiap tahun disebabkan oleh toksisitas obat dengan porsi 39% karena parasetamol [7]. Parasetamol dimetabolisme oleh hepar melalui dua fase. Fase pertama adalah sebagian kecil parasetamol dioksidasi oleh sitokrom P-450 menjadi produk radikal bebas NAPQI *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI). Fase kedua adalah sebagian

besar parasetamol dikonjugasi dengan asam glukoronat dan asam sulfat serta nantinya juga dieksresikan melalui urin [8]. Dosis tunggal 10-15 gram (200- 250mg/kgBB) parasetamol menyebabkan gejala hepatotoksitas [6]. Hepar merupakan organ terbesar tubuh yang terletak di bagian teratas dalam rongga abdomen sebelah kanan di bawah diafragma [9].

Radikal bebas adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, reaktivitas tinggi, cenderung untuk mencari pasangan dengan menarik elektron senyawa lain. Target paling rentan dari radikal bebas adalah asam lemak tidak jenuh membran sel. Apabila radikal bebas seperti NAPQI beraksi dengan asam lemak tersebut dalam sel hepar, akibatnya dinding sel menjadi rapuh, kerusakan struktur sel, gangguan fungsi, dan memicu munculnya berbagai penyakit [10]. Kerusakan hepar akibat obat atau DILI (*Drug-Induced Liver Injury*) dibagi menjadi DILI intrinsik yang bersifat bisa diprediksi, *dose-dependent*, dan DILI idiosinkratis yang bersifat tidak bisa diprediksi, *non-dose-dependent* [11]. Lebih dari 900 obat penyebab kerusakan hepar dengan persentase terbesar adalah parasetamol sebesar 37%. Penggunaan jangka panjang dan overdosis parasetamol menyebabkan nekrosis hepatosit sentrilobular. Hasil metabolisme parasetamol yaitu NAPQI akan menyebabkan peroksidasi lipid ditandai dengan kenaikan kadar enzim katalase hepar [12].

Salah satu antioksidan endogen adalah enzim katalase. Aktivitas enzim katalase akan meningkat apabila radikal bebas meningkat. Apabila jumlah radikal bebas tidak seimbang dengan kemampuan antioksidan untuk meredamnya, maka aktivitas akan berkurang. Enzim katalase termasuk enzim hidroperekhidase yang melindungi tubuh terhadap senyawa peroksida yang berbahaya. Penumpukan senyawa peroksida dapat menghasilkan radikal bebas, yang selanjutnya akan merusak membran sel dan kemungkinan dapat menimbulkan penyakit kanker serta arterosklerosis yang memiliki kemampuan untuk inaktivasi hidrogen peroksida. Senyawa H_2O_2 dihasilkan oleh aktivitas enzim oksidase, H_2O_2 berpotensi menimbulkan efek radikal bebas karena membentuk OH [13].

Untuk meredam efek radikal bebas terhadap kerusakan hepar diperlukan suatu antioksidan. Diketahui banyak sekali sumber antioksidan, antioksidan dibedakan dua kelompok; 1. Antioksidan enzimatis yang termasuk di dalamnya adalah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH-px), serta glutathion reduktase (GSH) yang dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal oksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil [14]. 2. Antioksidan non enzimatis (Eksogen): vitamin C, betakaroten, vitamin E, flavonoid dan senyawa fenolik [15].

Salah satu tanaman yang berfungsi sebagai antioksidan adalah tanaman gaharu. Hal ini berkaitan dengan komponen dari tanaman yang kaya akan antioksidan yang dapat melindungi hepar dari kerusakan akibat induksi hepatotoksin [16]. Berdasarkan hasil penelitian I Made Mega (2010) tentang aktivitas anti

radikal bebas ekstrak metanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dengan metode difenil pikril hidrazil (DPPH) menyimpulkan bahwa aktivitas anti radikal bebas cukup tinggi karena mempunyai % peredaman yaitu 106,32 % (pada 5 menit) dan 111,31 % (pada 60 menit) [17], hasil penelitian Afghani Jayuska (2015) tentang isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif dari fraksi n-heksana daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) metode kromatografi GC-MS bahwa daun gaharu mengungkapkan adanya senyawa Trans-Squalene (68%), Stigmast-4-en-3-one (14,52%), Stigmast-5-en-3-ol (5,27%), hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (5,01%), dan metil ester (1,17%) [18].

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan suatu penelitian efek antioksidan ekstrak daun gaharu terhadap aktivitas enzim katalase dan toksisitas hepar tikus yang diinduksi parasetamol.

2. Bahan dan Metode

2.1 Umum

Sampel daun gaharu diperoleh dari Desa Sesait Kecamatan Kayangan Kabupaten Lombok Utara (KLU) pada jam 09.00-12.00. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Farmakologi Universitas Muhammadiyah Mataram dan Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta. Penelitian ini merupakan penelitian true eksperimental menggunakan rancangan penelitian post-test control group design secara in vivo dengan mengukur aktivitas enzim katalase, SGOT dan SGPT.

2.2 Preparasi sampel

Sampel dicuci di bawah air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada sampel, kemudian dilakukan perajangan dengan tujuan untuk mempermudah proses pengeringan. Sampel daun kemudian disortasi kering untuk menghilangkan pengotor yang masih tertinggal dan sampel yang mengalami kerusakan saat proses sortasi basah sehingga diperoleh simplisia kering. Setelah itu dilakukan penghalusan dengan tujuan untuk memperkecil ukuran partikel

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara serbuk simplisia ditimbang sebanyak 300 g dan direndam menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan jumlah sampel dan etanol 1:5, sehingga 300 g sampel dilarutkan dalam 1,5 L etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam, dimana setiap 1x24 jam residu dan filtrat harus dipisahkan dan dilakukan pergantian pelarut yang sama. Setelah proses penyaringan, filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian disimpan dalam cawan porselen yang kemudian dipekatkan menggunakan water bath pada suhu 60°C.

2.4 Uji Toksisitas dengan Parameter Aktivitas Enzim SGOT dan SGPT

Sampel darah tikus disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serumnya. Setelah itu, dilakukan analisis kadar ALT dan AST. Sebanyak 100 µl serum darah tikus dicampur dengan 1000 µl reagen, kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm, Pada menit ke 1, 2 dan 3. Reagen yang digunakan dalam pengukuran SGOT mengandung *buffer Tris* pH 7,8, *L-aspartat*, *2-oksoglutarat*, *laktat dehidrogenase*, *malat dehidrogenase*, dan NADH. Preaksi yang digunakan dalam pengukuran SGPT mengandung *buffer Tris*, *L-alamin*, *2-oksoglutarat*, *laktat dehidrogenase*, dan NADH.

2.5 Aktivitas Enzim Katalase

Pengukuran aktivitas enzim katalase mengikuti prosedur Iwai dkk. (2002) dengan modifikasi [19]. Aktivitas katalase diukur berdasarkan besarnya reduksi hidrogen peroksida. Supernatan serum darah diperoleh dari proses sentrifugasi. Sebanyak 0,05 µL supernatan darah ditambahkan 2000 µl buffer kalium fosfat 50 mM (pH 7,0) yang mengandung 10 mM hidrogen peroksida di dalam kuvet. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 240 nm, dimana perubahan absorbansi dicatat setiap 15 detik selama satu menit. Aktivitas katalase dihitung dengan menggunakan data kemiringan (slope) kurva absorbansi larutan sampel (SL) maupun larutan blanko (SLb) mengikuti persamaan:

$$\text{Aktivitas enzim katalase (U/mg)} = \frac{SL - SLb}{0,463} \times \frac{2,5}{0,5}$$

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Daun gaharu yang telah diambil dibersihkan dari semua kotoran yang melekat lalu dicuci sampai bersih. Proses pengeringan simplisia dilakukan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam agar sampel tidak terkena sinar matahari secara langsung sehingga kandungan aktif dalam simplisia tidak rusak dan juga memiliki sirkulasi udara yang baik sehingga mengoptimalkan proses pengeringan [19]. Sampel selanjutnya dihaluskan sehingga memperluas bidang kontak antara daun notika dengan pelarut dan mempercepat penetrasi pelarut ke dalam sel daun sehingga zat kimia yang diperoleh semakin banyak.

Ekstraksi adalah proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan menggunakan penyari yang sesuai [20]. Proses ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Metode maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana dan dalam tahapanya tidak dilakukan proses pemanasan sehingga menghindari kerusakan dari senyawa yang dikandung oleh simplisia [21]. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol 96% adalah

pelarut semi polar dan pelarut yang baik untuk ekstraksi karena dapat mengekstrak senyawa yang polar dan senyawa yang non-polar. Pelarut etanol 96% relatif kurang toksik dibandingkan metanol, murah, mudah didapat dan ekstrak yang diperoleh tidak mudah ditumbuhi jamur dan bakteri serta umum digunakan dalam pembuatan ekstrak. Selain itu, etanol merupakan pelarut yang tidak karsinogen, dan mudah menguap dengan titik didih 78°C sehingga tidak meninggalkan residu yang tinggi. Pelarut etanol juga merupakan pelarut dengan daya ekstraksi terbesar untuk semua bahan alam berbobot molekul rendah seperti alkaloid, saponin dan flavonoid [22].

Tabel 1. Data rendemen daun gaharu

Bahan	Berat basah (g)	Berat kering (g)	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun gaharu	2000	800	300 gr	28,57	9,52

Rendemen merupakan kadar kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan daun gaharu yang dinyatakan dalam persen. Penetapan rendemen bertujuan untuk mengetahui jumlah kira-kira simplisia yang dibutuhkan untuk pembuatan sejumlah tertentu ekstrak kental.

3.2 Uji Toksisitas dengan Parameter Aktivitas Enzim SGOT dan SGPT

Obat dikatakan hepatotoksik adalah obat yang dapat menginduksi kerusakan hati atau biasanya disebut dengan *drug induced liver injury* [23]. Kerusakan sel hati dapat disebabkan oleh rusaknya makromolekul dalam sel seperti asam lemak, protein, dan asam nukleat. Salah satu indikator untuk mengetahui adanya kerusakan atau gangguan pada organ hati adalah *serum glutamat piruvat transaminase* (SGPT) dan *serum glutamat oksaloasetat transaminase* (SGOT). Konsentrasi enzim ini akan meningkat drastis apabila timbul beberapa macam kerusakan hati seperti pada hepatitis karena virus, hepatitis karena alkohol, serta tumor hati [24].

Tabel 2. Rerata aktivitas enzim SGOT dan SGPT ekstrak daun gaharu.

Kelompok	Aktivitas SGOT rata-rata (IU/L)	Aktivitas SGPT rata-rata (IU/L)
Kontrol Normal	187.3 ± 16.7 ^b	76.3 ± 6.6 ^b
Kontrol Negatif	356 ± 36.2 ^c	147.3 ± 26.6 ^c
Dosis 10 mg/kgBB	155.3 ± 31.5 ^{ab}	61.3 ± 7.2 ^b
Dosis 50 mg/kgBB	153 ± 21.5 ^{ab}	54.3 ± 11.02 ^{ab}
Dosis 100 mg/kgB	98.3 ± 47.8 ^a	34.3 ± 8.02 ^a

Keterangan: Jika huruf "a, b, c" berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok (p<0,05)

Hasil uji statistik aktivitas enzim SGOT pada hepar tikus diketahui tidak terdapat perbedaan yang signifikan (p<0,05) dari setiap kelompok perlakuan dosis setelah pemberian ekstrak daun gaharu, nilai aktivitas enzim SGOT dan SGPT pada kelompok variasi dosis ekstrak etanol daun gaharu dimana aktivitas enzim SGOT dan SGPT pada kelompok variasi dosis ekstrak mendekati

standar kadar normal SGOT dan SGPT. Menurut Laboratorium Hepatika standar kadar normal SGOT untuk tikus adalah 141 ± 67.4 IU/L dan kadar normal SGPT adalah 30.2 IU/L, sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol daun gaharu memiliki kemampuan menyembuhkan beberapa sel-sel hati yang rusak akibat parasetamol dikarenakan pada daun gaharu mengandung kelompok senyawa antara lain flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan. Mekanisme kerja senyawa antioksidan dengan cara memberikan elektronnya atau menghentikan reaksi dari radikal bebas, sehingga dapat mencegah reaksi rantai berlanjut dari peroksidasi lemak dan juga protein akibat dampak dari radikal bebas, dengan demikian kerusakan sel lebih lanjut dapat dicegah [25]. Sedangkan data kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol normal terjadi perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) yang dimana nilai aktivitas enzim SGOT dan SGPT pada kelompok kontrol negatif meningkat dibandingkan kelompok kontrol normal, sedangkan, jika dilihat kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol normal terjadi perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) yang dimana nilai aktivitas enzim SGOT dan SGPT pada kelompok kontrol negatif meningkat dibandingkan kelompok kontrol normal. Hal ini menunjukkan bahwa parasetamol yang digunakan sebagai penginduksi dapat menimbulkan kerusakan hati.

3.3 Aktivitas Enzim Katalase

Enzim katalase merupakan antioksidan endogenus, sebagai antioksidan, enzim-enzim ini bekerja menghambat pembentukan radikal bebas, dengan mengubahnya menjadi produk lain yang stabil, sehingga antioksidan kelompok ini disebut juga *chain-breaking-antioxidant* [10]. Aktivitas enzim katalase hepar tikus yang diinduksi parasetamol dapat dilihat pada Tabel 3.

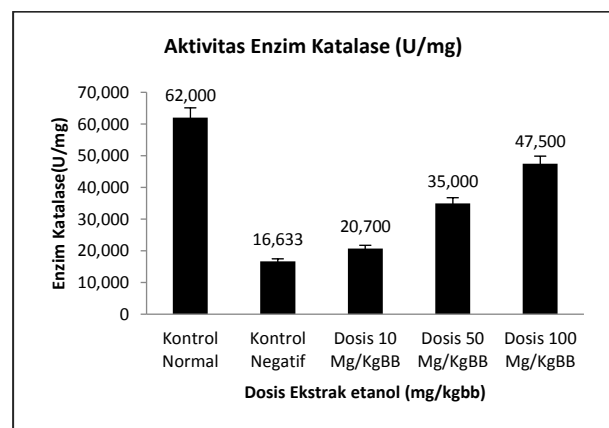
Tabel 3. Rerata aktivitas enzim katalase ekstrak daun gaharu pada hepar tikus yang diinduksi parasetamol.

Kelompok	Aktivitas Enzim Katalase (U/Mg)
Kontrol Normal	62.000 ± 0.036^a
Kontrol Negatif	16.633 ± 0.081^b
Dosis 10 mg/KgBB	20.700 ± 0.046^c
Dosis 50 mg/KgBB	35.000 ± 0.078^d
Dosis 100 mg/KgBB	47.500 ± 0.060^e

Keterangan: Jika huruf "a, b, c, d, dan e" berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p < 0,05$)

Hasil pengukuran aktifitas enzim katalase pada kelompok pemberian induksi katalase (kelompok negatif) terjadi penurunan aktivitas enzim katalase yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok normal ($p < 0.05$). Hal tersebut disebabkan adanya radikal bebas yang menyerang komponen lipid membran sel hati sehingga menyebabkan kerusakan/kematian sel. Reaksi oksidasi tidak hanya menyerang komponen lipid, melainkan komponen sel lainnya seperti protein, lipoprotein maupun DNA. Pada saat produksi radikal bebas maka aktifitas katalase akan mengalami penurunan karena H_2O_2 akan menjadi $\cdot OH$ (Radikal Hidroksil) yang sangat toksik ini bisa merusak protein, membran sel dan DNA [26], sehingga penurunan

aktivitas enzim katalase yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok normal ($p < 0.05$). Pada kelompok perlakuan dosis 10, 50, dan 100 mg/kgBB yang masing-masing diberikan ekstrak daun gaharu mampu meningkatkan aktifitas enzim katalase. Peningkatan aktifitas enzim katalase pada kelompok perlakuan dosis 10, 50, dan 100 mg/kgBB menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kelompok negatif yaitu berturut-turut dengan nilai (20.700 ± 0.046 , 35.000 ± 0.078 , 47.500 ± 0.060 vs 16.633 ± 0.081), dan terlihat pada kelompok dosis perlakuan ekstrak daun gaharu 100 mg/kgBB menunjukkan aktivitas tertinggi bila di bandingkan dengan kelompok perlakuan dosis 10 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB. Peningkatan aktivitas enzim katalase dari setiap dosis perlakuan dapat dilihat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rerata aktivitas enzim katalase ekstrak daun gaharu pada hepar tikus yang diinduksi parasetamol

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun gaharu memiliki kemampuan menyembuhkan sel-sel hati yang rusak akibat parasetamol dengan memperlihatkan aktivitas SGOT dan SGPT yang mendekati kadar normal serta meningkatkan aktivitas enzim katalase yang menghambat radikal bebas.

Daftar Pustaka

- Mega IM, Swastini DA. Screening fitokimia dan aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol daun gaharu (*Gyrinops versteegi*). *J Kimia*, 2010, **4(2)**: 187-192.
- Winarsih A, Puspita F, Khouri A. Pengaruh Stressing Terhadap Percepatan Pembentukan Gubal Gaharu Pada Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk). Departemen Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau. Pekanbaru, 2011.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radical, metal and antioxidant in oxidative stress induced cancer. *J. Chem-Biol*, 2006, **160(1)**.
- Ali S. Peran radikal bebas pada patogenesis kerusakan hepar. Kumpulan Makalah, Seminar Dana Lokakarya Radikal Bebas Patogenesis Penyakit. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya: 1997.
- Cochrane GC. Celluler injury by oxidants. *Am J Med.*, 1991, **91(3C)**:23S-30S.
- Gunawan SG. *Farmakologi dan Terapi*. Ed 5. Jakarta: Balai Penerbit FK UI; 2011.

7. Riset Kesehatan Dasar. Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2010.
8. Bunchorntavakul C, Reddy KR. Acetaminophen-related hepatotoxicity. *Clin Liver Dis.*, 2013, **17(4)**:587-607, viii. doi: 10.1016/j.cld.2013.07.005.
9. Guyton AC, Hall J. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed 11, Editor Widjajakusumah M dan Tanzil A. Jakarta: EGC; 2007.
10. Winarsih. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius; 2007.
11. Fisher K, Vuppalanchi R, Saxena R. Drug- Induced Liver Injury. *Arch Pathol Lab Med*. 2015, **139**; 876-887.
12. Pandit A, Sachdeva T, Bafna P. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. *J. of App. Pharm. Sci.*, 2005, **02(05)**:233-243.
13. Enzim Katalase, diakses September 2018, https://id.wikipedia.org/wiki/Enzim_katalase
14. Chevion S, Moran DS, Heled Y, Shani Y, Regev G, Abbou B, Berenshtein E, Stadtman ER, Epstein Y. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 2003, **100(9)**:5119-23.
15. Kumalaningsih S. *Antioksidan Alami*, Surabaya: Trubus Agrisarana; 2006.
16. Sumarna Y. *Budidaya dan Reka-yasa Produksi Gaharu. Temu Pakar Pengembangan Gaharu*. Jakarta: Direktorat Jenderal RLPS, 2007.
17. Mega, IM dan Swastini, DA. Skrining fitokimia dan aktivitas antiradikal bebas ekstrak metanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia*, 2010, **4(2)**:187-192
18. Jayuska A, Ardiningsih P, Destiarti L, Tiara P. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Dari Fraksi N-Heksana Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* L) Menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Masa (GC-MS), dalam *Prosiding Seminar Nasional FMIPA-UT 2015: Optimalisasi Peran Sains dan Teknologi Menuju Kemandirian Bangsa*.
19. Utomo AD, Rahayu WS, Dhiani BA. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*), *Pharmacy*, 2009, **6(1)**.
20. Departemen Kesehatan RI. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta: Direktorat Jendral POM, 2000.
21. Alam G. *Bhrine Shrimp Lethality Test* (BST) sebagai Bioassay dalam isolasi senyawa bioaktif dari Bahan Alam. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 2002, **6(2)**.
22. Djamal R. *Kimia Bahan Alam: Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*, Padang: Baiturrahman, 2010.
23. Sonderup MW. Drug Induced Liver Injury is a Significant Cause of Liver Disease, *CME*, 2011, **29(6)**.
24. Stockham SL, Scott MA. *Fundamentals of Clinical Veterinary Pathology*. Iowa: Iowa State University Pr; 2008
25. Longe JL. *The Gale Encyclopedia of Alternative Medicine, 2nd Ed, Volume 3*. USA: Thompson Gale, 2005.
26. Suryohudoyo P. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta: Penerbit CV Sagung Seto, 2000.