

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L) SELAMA 90 HARI TERHADAP FUNGSI HATI TIKUS

Tanti Azizah Sujono, Arifah Sri Wahyuni, Muhammad Da'i, Ika Trisharyanti Diah Kusumowati, Andi Suhendi, Rima Munawaroh, Nanik Pratiwi, Saidatul Fauziyyah, Riya Rahadini, Siti Lestari

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

tanti_azizah@ums.ac.id; arifah.wahyuni@ums.ac.id; Muhhammad.Dai@ums.ac.id;
Ika.Trisharyanti@ums.ac.id; Andi.Suhendi@ums.ac.id; Rima.Munawaroh@ums.ac.id
nn.pratiwi@yahoo.co.id

Abstract

Preliminary research showed that meniran herbs (Phyllanthus niruri L.) had various biological activities such as anticarcinogen, hepatoprotective, antioxidant. A medicinal plant to be developed into a standardized herbal medicine, it is needed safety test in animal (preclinic test). This study aimed to evaluate the influence of ethanolic extract of meniran on liver function in rats given for the long term. A total of 36 male and female rats were divided into 3 groups: control (aquadest), ethanolic extract of meniran with dose 50 mg/kgbw and 250 mg/kgbw, each group consisted of 6 rats. Treatment was given with repeated doses for 90 days. To evaluate the liver function, there were 2 parameters: quantitative and qualitative data. The quantitative data include SGPT (serum glutamate piruvate transaminase) and SGOT (serum glutamate oxaloacetate transaminase) and qualitative data was histopathology of liver. SGPT and SGOT level were measured on days 0, and 90. SGPT and SGOT level were compared between before and after treatment using paired t test with a 95% confidence level. Data of histopathology compared to the control group. The results showed that the ethanolic extract of meniran dose 50 and 250 mg/kg body weight administered repeatedly for 90 days had no toxic effect on liver function of male and female rats.

Keywords : *Phyllanthus niruri* L, 90 days, SGPT, SGOT, histopathology

1. PENDAHULUAN

Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) mengandung senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan (Kardinan dan Kusuma, 2004). Meniran juga mengandung zat phyllanthin, hypophyllantin dan corilagin yang mempunyai potensi hepatoprotektif serta mencegah pelepasan enzim-enzim hepar, menurunkan kadar peroksidasi lipid, dan meningkatkan kadar Glutation (Sumardi, 2010). Berdasarkan uji aktivitas antioksidan in vitro menunjukkan bahwa ekstrak meniran (Lestari, 2010) dan fraksi-fraksinya (Saraswati, 2012) menunjukkan efek antioksidan. Penelitian Surya (2014), menunjukkan bahwa ekstrak meniran memiliki aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuannya menurunkan kadar MDA (peroksidasi lipid) pada dosis 100 dan 200 mg/kgbb pada tikus galur Sprague-Dawley yang diinduksi

parasetamol.

Meniran dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan pada penderita diabetes. Pada penderita diabetes melitus (DM) yang tidak terkontrol kadar gula darahnya, berbagai komplikasi dapat terjadi antara lain penyakit vaskuler sistemik, penyakit jantung, penyakit mikrovaskuler pada mata (retinodibetik), kerusakan syaraf tepi (neuropati diabetik). Banyak studi menunjukkan bahwa pada penderita diabetes, stres oksidatifnya meningkat sehingga dapat mempercepat perkembangan komplikasinya lewat metabolisme glukosa yang berlebihan dan asam lemak bebas (Scoot & King, 2004). Salah satu cara untuk mengurangi stres oksidatif pada penderita diabetes adalah dengan penggunaan antioksidan sehingga diharapkan dapat mencegah komplikasi lebih lanjut (Rosen et al., 2002). Hiperglikemia pada diabetes

dapat diatasi dengan pemberian insulin dan obat-obat hipoglikemia namun hal ini belum mampu mencegah terjadinya komplikasi lebih lanjut, sehingga diperlukan senyawa antioksidan. Dalam tubuh terdapat antioksidan endogen seperti enzim glutathione peroxidase, namun jika jumlah radikal bebas berlebih, maka dibutuhkan antioksidan dari luar untuk menetralkannya. Antioksidan dapat mereduksi aktivitas enzim glukosa-6-fosfatase, dan fruktosa-1-6-disfosfatase di hati tikus diabetes serta meningkatkan aktivitas enzim glukokinase (Shetti *et al.*, 2012).

Untuk dapat dikembangkan menjadi obat herbal terstandar, maka ekstrak meniran harus aman pada uji toksisitas praklinik baik jangka pendek (akut) dan jangka panjang. Hasil uji ketoksikan akut ekstrak etanol meniran pada tikus termasuk dalam kategori praktis tidak toksik (LD_{50} semu >15 g/kgBB) (Da'i dkk, 2014). Selain itu pada dosis 100 mg/kgBB ekstrak meniran bersifat nefroprotektif pada tikus diabetes (Da'i, dkk., 2014).

Hati merupakan salah satu organ yang dapat digunakan untuk mengevaluasi ketoksikan obat, karena hati merupakan organ metabolisme yang penting dalam proses sintesis, penyimpanan, metabolisme dan klirens banyak senyawa endogen (Aslam dkk., 2003). Salah satu fungsi hati adalah detoksifikasi, sehingga hati sangat rentan menjadi sasaran utama ketoksikan suatu senyawa kimia (Husada, 1991). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah meniran bersifat tidak toksik pada hati jika digunakan dalam jangka panjang.

2. KAJIAN LITERATUR DAN PENGEMBANGAN HIPOTESIS

Salah satu uji yang termasuk uji ketoksikan tak khas adalah uji ketoksikan subkronis yaitu uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu selama kurang lebih tiga bulan. Uji ketoksikan subkronis bertujuan untuk mengungkap berbagai efek toksik (efek samping) yang

terjadi bila suatu senyawa digunakan dalam jangka waktu tertentu dan untuk melihat hubungan berbagai efek toksik dengan peringkat dosisnya. Pada dasarnya uji ketoksikan subkronis meliputi efek toksik (wujud dan sifat) sesuatu obat yang mungkin timbul selama 10% masa hidup hewan uji yang pada akhirnya dapat disetarakan dengan kejadian yang mungkin timbul ketika obat tersebut digunakan pada manusia (Donatus, 2001)

Penelitian Bagalkotkar *et.al.*, (2006) menunjukkan bahwa herba meniran mempunyai berbagai aktivitas seperti antihipertensi, antilitik, anti-HIV antihepatotoksik, dan antihepatitis B. Selain itu pada penelitian sebelumnya terbukti bahwa meniran mempunyai efek antioksidan baik invitro (Saraswati, 2012) maupun invivo (Surya, 2014). Efek antioksidan ini diharapkan dapat digunakan untuk mencegah komplikasi lebih lanjut pada penderita diabetes melitus. Oleh karena itu perlu dilakukan uji ketoksikan subkronik mengingat obat diabetes digunakan dalam jangka panjang. Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa meniran mengandung zat phyllanthin, hypophyllantin dan corilagin yang mempunyai potensi hepatoprotektif (Sumardi, 2010). Berdasarkan hal ini diduga ekstrak meniran bersifat tidak toksik pada fungsi hati jika digunakan dalam jangka panjang.

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, menggunakan rancangan penelitian acak lengkap pola searah.

Adapun variabel dalam penelitian ini :

- Variabel bebas : dosis ekstrak etanol herba meniran.
- Variabel tergantungan : aktivitas SGPT, SGOT, dan hasil histopatologi organ hati tikus.
- Variabel terkontrol : tikus (galur, jenis kelamin, berat badan, umur, makanan dan minuman), meniran (waktu panen, daerah pengambilan).

Bahan utama:

Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.), etanol 96%, reagen kit GPT-ALAT (DSi), GOT-ALAT (DSi), formalin 10%, NaCl fisiologis 0,9%, aquadest.

Alat utama

Bejana maserasi, corong Buchner, rotary evaporator, waterbath, Sonifikator (Branson) Spektrofotometer UV-Vis (StarDust FC15), Sentrifuse (Minispin Eppendorf), timbangan hewan uji (Triple Beam Balance), micropipette (Socorex), vortex (Thermoline Maxi Mix II), jarum peroral, jarum suntik (Terumo), holder tikus, alat-alat gelas dan seperangkat alat bedah.

Hewan uji

Tikus putih galur Sprague Dawley sehat, jenis kelamin betina dan jantan, berat badan 150-200g, umur 2-3 bulan.

Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Sedangkan pembuatan preparat untuk pemeriksaan histopatologi organ hati dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Jalannya penelitian

1. Pembuatan ekstrak etanol herba meniran

Ekstrak etanol meniran dibuat dengan metode maserasi. Satu kilogram simplisia herba meniran dimasukkan dalam bejana maserasi, kemudian ditambahkan penyari etanol 96% sebanyak 7 Liter, ditutup dan dibiarkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Kemudian maserat disaring dengan corong Buchner. Ampas kemudian diremaserasi sebanyak 2 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Maserat yang terkumpul diuapkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Perlakuan pada hewan uji

Sebelum penelitian berlangsung, tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu. Sebanyak 36 ekor tikus sehat galur Sprague Dawley yang terdiri dari 18 tikus

jantan dan 18 tikus betina dibagi menjadi 3 kelompok yaitu :

Kelompok I : kontrol (diberi aquadest 2,5 mL/200gBB)

Kelompok II : diberi ekstrak etanol meniran dosis 50 mg/kgBB

Kelompok III : diberi ekstrak etanol meniran dosis 250 mg/kgBB

Perlakuan diberikan setiap hari satu kali sehari selama 90 hari. Sampel darah diambil dari vena lateralis ekor tikus pada hari ke-0 dan hari 90. Darah ditampung di ependrof sebanyak kurang lebih 0,5 mL, kemudian didiamkan kurang lebih 20 menit, disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit dan didapatkan serum yang berupa cairan bening (supernatan). Serum selanjutnya diukur aktivitas SGPT dan SGOT-nya, dan pada akhir penelitian (hari ke-90) sebagian tikus dikorbankan, selanjutnya diambil organ hati untuk pemeriksaan histopatologi.

3. Penetapan aktivitas SGPT dan SGOT

Aktivitas SGPT dan SGOT ditetapkan secara fotometri dengan menggunakan Spektrofotometer UV. Pada analisis ini 100 μ L serum dimasukkan dalam kuvet, kemudian ditambah 1000 μ L larutan monoreagen. Larutan monoreagen dibuat dengan mencampurkan empat bagian reagen 1 (R₁) dan satu bagian reagen 2 (R₂). Blangko yang digunakan adalah campuran antara 100 μ L aquadest dengan 1000 μ L monoreagen. Kemudian antara serum dan monoreagen dihomogenkan dengan vortex dan absorbansi dibaca terhadap blangko pada menit 1, 2 dan 3 pada panjang gelombang 340 nm, suhu 37°C. Aktivitas SGPT dan SGOT dinyatakan dalam satuan IU/L.

4. Pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi sel-sel hati tikus

Hati tikus dipotong kecil-kecil dengan mikrotom setebal 3 mm kemudian difiksasi. Preparat dimasukkan dalam larutan etanol secara bertingkat, berturut-turut etanol 50% selama 30 menit, etanol 90%

selama 30 menit, etanol mutlak selama 30 menit, masing-masing 2 kali perlakuan. Selanjutnya preparat dimasukkan xylol-parafin, dimasukkan dalam oven selama 1 jam dalam suhu 60°C. Dipindahkan dalam parafin cair selama 1,5 jam dalam blok preparat. Setelah dicetak, preparat dipotong setebal 5µm, dimasukkan xylol murni selama 5 sampai 10 menit. Ambil preparat dan dimasukkan dalam etanol bergantian berturut-turut 96%, 90%, 70%, dan 50% masing-masing selama 10 menit, cuci dengan air, baru kemudian dimasukkan dalam larutan eosin-alkohol selama 1 sampai 2 menit. Akhirnya preparat dikeringkan dalam suhu kamar dan ditutup dengan kanada balsem serta obyek glass.

Hati tikus yang telah dibuat preparat dengan pengecatan hematoksilin-eosin, diperiksa dibawah mikroskop sinar tampak. Pembuatan preparat histopatologi sel-sel hati tikus dikerjakan di Fakultas Kedokteran Hewan UGM Yogyakarta.

Analisis data

Data aktivitas SGPT dan SGOT hari ke-0 dan 90 tiap kelompok diuji statistik *paired t test* dengan taraf kepercayaan 95%. Histopatologi organ hati kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

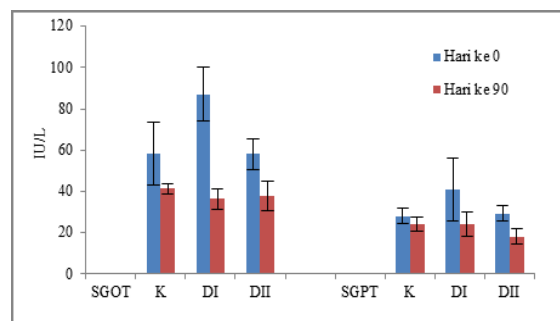
Tabel 1. Data SGPT dan SGOT sebelum dan sesudah perlakuan ekstrak meniran selama 90 hari (n=6)

| Tikus | Uji | Kel | Mean ± SD : | |
|--------|-------------|-----|--------------|---------------|
| | | | Hari ke-0 | Hari ke-90 |
| Jantan | SGOT (IU/L) | K | 58,17 ±15,35 | 41,33 ± 2,58 |
| | | DI | 87,17 ±13,20 | 36,33 ± 4,80* |
| | | DII | 58,00 ± 7,29 | 37,83 ± 6,91* |
| | SGPT (IU/L) | K | 28,17 ± 3,66 | 24,33 ± 3,39 |
| | | DI | 41,00 ±15,17 | 24,00 ± 5,87 |
| | | DII | 29,33 ± 3,67 | 18,17 ± 3,76* |
| Betina | SGOT (IU/L) | K | 68,50 ±15,02 | 44,50 ±12,29 |
| | | DI | 48,50 ± 6,69 | 33,67 ± 7,63 |
| | | DII | 53,33 ± 9,58 | 59,50 ± 25,70 |
| | SGPT (IU/L) | K | 25,67 ± 1,51 | 21,50 ± 2,66 |
| | | DI | 24,17 ± 4,49 | 17,83 ± 3,43 |
| | | DII | 25,33 ± 3,88 | 22,50 ± 3,89 |

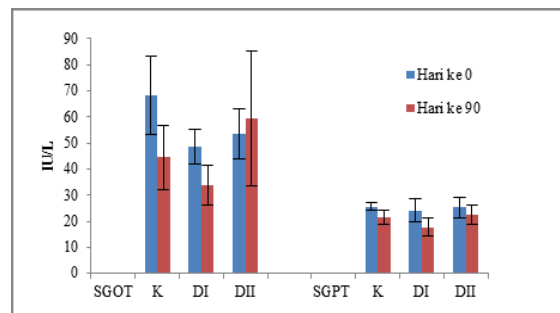
* (p<0,05) : berbeda bermakna, tetapi perubahannya masih berada dalam rentang normal

Keterangan : K (kontrol aquadest), DI (ekstrak meniran 50 mg/kgBB), DII (ekstrak meniran 250 mg/kgBB)

Rentang nilai normal SGPT pada tikus adalah 17,5-30,2 (IU/L), sedangkan nilai normal SGOT pada tikus 45,7-80,8 (IU/L) (Mitruka and Rawnsley, 1981). Berdasarkan literatur yang lain, nilai range normal SGPT tikus jantan 42,9-67,4 (IU/L) dan betina 34,2-61,6 (IU/L), SGOT tikus jantan 92,3-122,5 dan betina 82,7-139,6 (IU/L) (LPPT UGM)



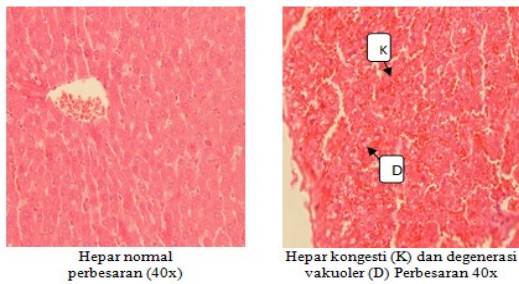
Gambar 1. SGPT dan SGOT tikus jantan sebelum dan setelah perlakuan ekstrak etanol meniran selama 90 hari



Gambar 2. SGPT dan SGOT tikus betina sebelum dan setelah perlakuan ekstrak etanol meniran selama 90 hari

Tabel 2. Histopatologi organ hati setelah perlakuan ekstrak meniran selama 90 hari

| Kel | Tikus (n=3) | |
|-----|---|-------------------------------|
| | Jantan | Betina |
| K | Kongesti, degenerasi vakuoler | Kongesti |
| DI | 1 tikus normal, 2 tikus degenerasi vakuoler | Kongesti, degenerasi vakuoler |
| DII | Kongesti, degenerasi vakuoler | Kongesti, inflamasi vakuoler |



Gambar 3. Histopatologi hati tikus

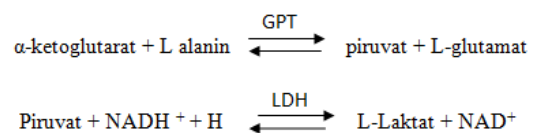
Hati merupakan organ metabolisme yang utama. Salah satu fungsinya adalah untuk mendetoksifikasi berbagai senyawa kimia yang masuk dalam tubuh, sehingga hati sangat rentan mengalami ketoksikan. Kerusakan hati yang disebabkan oleh paparan senyawa toksik dapat diketahui dari histologi sel-sel hati. Kelainan hepatologik pada hepatosit yang sering ditemukan antara lain degenerasi, nekrosis, sirosis, dan fibrosis. Degenerasi adalah perubahan-perubahan morfologik akibat jejas-jejas non fatal dan perubahan tersebut masih dapat pulih (*reversible*). Tetapi apabila berjalan lama dan derajatnya berlebih, akhirnya mengakibatkan kematian sel (nekrosis). Nekrosis adalah kematian hepatosit, biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut (Lu, 1995). Nekrosis ialah tingkat lanjut dari degenerasi dan sifatnya *irreversible*. Fibrosis hati terjadi sebagai respon injuri hati, merupakan perkembangan dari penyakit hati kronik akibat inflamasi berulang. Bentuk stadium lanjut dari fibrosis pada hati adalah sirosis (Muchayat, 2004).

Kerusakan hati selalu ditandai dengan perubahan biokimia. Oleh karena itu pemeriksaan laboratorium diperlukan untuk membantu diagnosis kerusakan hati dan tingkat keparahannya. Salah satu uji yang dapat digunakan untuk kepentingan tersebut adalah pemeriksaan enzim transaminase yang merupakan enzim yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi adanya kerusakan hati atau intensitas kerusakannya. Nekrosis terjadi jika aktivitas SGPT naik menjadi 10-100 kali lipat normal. Pada hati yang mengalami kerusakan maka aktivitas SGPT akan tinggi, karena sel hati yang

mengalami nekrosis akan menyebabkan enzim transaminase yang spesifik berada di hati akan keluar dan masuk ke peredaran darah, sehingga dengan pemeriksaan biokimia pada serum timbul kenaikan SGPT yang tinggi.

Untuk mengetahui adanya kerusakan hati parameter SGPT lebih spesifik dibanding SGOT karena enzim glutamat piruvat transaminase hanya terdapat di hati sedangkan enzim glutamat oksaloasetat transaminase selain terdapat di hati juga terdapat dalam otot, jantung dan jaringan lain. Enzim-enzim tersebut akan meningkat jika terjadi kerusakan pada hati.

Aktivitas SGPT dapat diukur secara kuantitatif dengan alat fotometer menggunakan metode kinetik GPT-ALAT (Alanin Aminotransferase). Serum yang akan dianalisis direaksikan dengan 2-oksoglutarat dan L-alanin di dalam larutan buffer. Enzim SGPT berperan dalam deaminasi asam amino, pengeluaran gugus amino dari asam amino (Hayes, 2007). SGPT akan memindahkan gugus amino pada alanin ke gugus keto dari α -ketoglutarat membentuk glutamat ke piruvat. Piruvat yang terbentuk bereaksi dengan 2,4-dinitro fenilhidrasin dalam larutan alkalis. Selanjutnya piruvat diubah menjadi laktat. Reaksi tersebut dikatalisis oleh enzim laktat dehidrogenase (LDH) yang membutuhkan NADH dalam reaksi yang dikatalisis. Reaksi pembentukan piruvat dan laktat adalah sebagai berikut:



NADH mempunyai serapan pada panjang gelombang 340 nm. Fotometer akan mengukur sisa NADH yang tidak bereaksi. Menurunnya aktivitas serapan menunjukkan bahwa kadar penggunaan NADH meningkat.

Walaupun SGPT dan SGOT sensitif untuk menunjukkan adanya kerusakan sel

hepar, tetapi pemeriksaan enzim ini kurang spesifik sehingga diperlukan pemeriksaan histopatologi (Zimmerman, 1978). Pada penelitian ini, berdasarkan hasil histopatologi organ hati, baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan ekstrak meniran 50 dan 250 mg/kgBB, secara mikroskopik terdapat kongesti dan degenerasi vakuoler. Adanya kongesti jika dilihat dengan mata telanjang, maka daerah yang mengalami kongesti akan berwarna lebih merah, sedangkan jika dilihat secara mikroskopik kapiler-kapiler dalam jaringan melebar penuh berisi darah. Terdapat 2 mekanisme timbulnya kongesti, yaitu kenaikan jumlah darah yang mengalir ke daerah tersebut dan penurunan jumlah darah yang mengalir ke daerah tersebut (Price and Wilson, 2006). Kenaikan jumlah darah yang mengalir ke suatu daerah disebut kongesti aktif (sering terjadi pada daerah arterial karena kapiler berdilatasi), sedangkan mekanisme kedua dikenal sebagai kongesti pasif. Pada kongesti yang ringan bersifat dapat pulih (reversibel). Sedangkan degenerasi vakuoler adalah perubahan seluler akibat gangguan metabolisme seperti hipoksia. Perubahan ini bersifat reversibel (Underwood, 2000). Bentuk yang teramati dibawah mikroskop adalah warna sel memutih atau pudar (seperti ruang kosong), berbutir-butir, albuminoid.

Berdasarkan hasil pemeriksaan SGPT dan SGOT, kelompok perlakuan ekstrak etanol meniran dosis 50 dan 250 mg/kgBB pada tikus jantan, aktivitas SGOT hari ke-0 dan 90 turun secara signifikan (Tabel 1), demikian juga SGPT tikus jantan yang diberi ekstrak meniran 250 mg/kgBB mengalami penurunan yang signifikan (Tabel 1), namun penurunan ini masih berada dalam range normal, sehingga penurunan ini tidak bermakna klinis. Hal ini juga diperkuat oleh hasil histopatologi hati yang menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan hanya mengalami sedikit kongesti dan degenerasi vakuoler yang juga dijumpai pada kelompok kontrol normal. Hal ini berarti pemberian ekstrak meniran dosis 50 dan 250 mg/kgBB selama 90 hari tidak

mempengaruhi fungsi hati. Hal ini dimungkinkan karena meniran bersifat hepatoprotektif (Chatterjee and Sil, 2006; Naaz *et.al*, 2007)

5. SIMPULAN

Ekstrak etanol meniran yang diberikan selama 90 hari tidak bersifat toksik terhadap fungsi hati dilihat dari parameter SGPT, SGOT dan histopatologi organ hati.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada LPPM Universitas Muhammadiyah Surakarta, yang telah membiayai penelitian ini melalui Penelitian Unggulan Program Studi (PUPS) Tahun 2014.

7. REFERENSI

1. Aslam, M. Tan, C.K. dan Prayitno, A. 2003. *Farmasi Klinis: Menuju Pengobatan Rasional dan Penghargaan Pilihan Pasien*. PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia. Jakarta. Hal. 155, 156, 157-158.
2. Bagalkotkar, G. Sagineedu, S.R. Saad, M.S. and Stanslas, J. 2006. Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and their pharmacological properties: a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58 (12) : 1559-1570.
3. Chatterjee, M. and Sil, P.C. 2006, Hepatoprotective effect of aqueous extract of *Phyllanthus niruri* on nimesulide-induced oxidative stress in vivo, *Indian J. Biochem Biophys*, 43(5):299-305.
4. Dai, M. dkk. 2014. Pemanfaatan antioksidan alami pada upaya pencegahan komplikasi akibat stres oksidatif pada tikus yang diinduksi diabetes melitus, *Laporan Penelitian INPRU*.
5. Donatus, I.A. 2001. *Toksikologi Dasar*, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta

6. Hayes, M.A., 2007. *Pathophysiology of the Liver*. Saunder Company. USA.
7. Hushada, Y. 1996. Fisiologi dan Pemeriksaan Biokimia Hati. 11. Dalam Syaiffoelloh N. (Editor Kepala). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi III. Jilid I. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Hal. 224-226.
8. Kardinan, A. dan Kusuma, F.R. 2004. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
9. Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Diterjemahkan oleh Nugroho, E. Edisi Kedua. Universitas Indonesia Press, Jakarta. Hal. 208, 210, 216-217
10. Mitruka, B.M., and H.M. Rawnsley, 1981, *Clinical Biochemical and Hematological. Reference Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans*, Masson Publishing USA. Inc.
11. Muchayat, S., 2004, *Fibronectine Serum sebagai Biomarker Prediktor Fibrosis pada Penderita kronik Hepatitis dan Serosis Hati*, (Online), (<http://www.lisaira@litbang.depkes.go.id/jkpkbbk-gdl-res-2004-muchayat2c-2130-fibrosis>), diakses 10 Desember 2014).
12. Naaz, F. Javed, S. And Abdin, M.Z. 2007. Hepatoprotective effect of ethanolic extract of *Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn on Aflatoxin B1-induced liver damage in mice, *Journal of Ethnopharmacology*, 113 (3):503-509
13. Price S.A. and Wilson L.M. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*, Edisi VI. Volume I. Jakarta: EGC.
14. Rosen, P., Tritschler, H.J., and Packer, L., 2002, Vascular Complications in Diabetes : Mechanisms and the Influence of Antioxidans, 511-524, in *Handbook of Antioxidants*, second edition Revised and Expanded, edited by Enrique Cadenas and Lester Packer, New York.
15. Saraswati, N.F. 2012, Profil kandungan senyawa dan aktivitas penangkap radikal DPPH fraksi-fraksi ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri* L), *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia.
16. Scott, J.A. and King, G.L. 2004, Oxidative Stress and Antioxidant Treatment in Diabetes, *Ann.N.Y. Acad. Sci.* 1031 : 204-213, New York.
17. Shetti, A.A. Sanakal, R.D. & Kaliwal, B.B. 2012 Diabetic effect of ethanolic leaf extract of *Phyllanthus amarus* in alloxan induced diabetic mice, *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2 (1), 11-15.
18. Sumardi, M. 2010. Efek meniran (*Phyllanthus niruri* L) terhadap kadar AST dan ALT mencit BABL/C yang diinduksi asetaminofen. *Skripsi*. Fakultas kedokteran. Universitas Diponegoro. Indonesia.
19. Surya, A.E. 2014. Uji antioksidan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) pada tikus Sprague Dawley yang diinduksi parasetamol. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
20. Underwood, J.C.E. 2000. *Patologi Umum dan Sistemik*. Vol.2. 2nded. Jakarta. EGC.
21. Zimmerman, H.J. 1978. *Hepatotoxicity*. Appleton Century Crofts, New York. p. 46-51. 95-101, 103-110 225-227