

## ABSTRAK

### DAYA PROTEKSI CATECHIN DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) TERHADAP HEPAR TIKUS YANG KERACUNAN $CCl_4$ DITINJAU DARI GAMBARAN HISTOPATOLOGIS

Oleh :

ERNA ILYAS ; ETI YERIZEL ; TITIN RAHAYU

Akhir-akhir ini berbagai penyakit sering dikaitkan dengan aktifitas radikal bebas, termasuk penyakit hati. Dalam keadaan normal hati dapat meredam aktifitas radikal bebas tersebut. Bila terdapat suatu pemicu yang meningkatkan radikal bebas akan dapat mengakibatkan kerusakan sel hati. Salah satu pemicu radikal bebas yang sering dipakai dalam mempelajari kerusakan hati yaitu  $CCl_4$ . Catechin, suatu senyawa polifenol yang merupakan komponen terbesar penyusun komposisi teh, terutama teh hijau yang sudah dibuktikan mempunyai banyak manfaat terhadap kesehatan. Saat ini yang menjadi perhatian para peneliti adalah aktifitasnya sebagai peredam radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek catechin dalam meredam radikal bebas akibat  $CCl_4$  yang ditinjau dari gambaran histopatologis hepar. Untuk tujuan tersebut dilakukan penelitian eksperimental sederhana menggunakan 4 kelompok tikus galur wistar berumur rata-rata 2 bulan dengan berat 170-220 gr. P-1 merupakan kelompok perlakuan 1, terdiri dari 5 ekor tikus yang dilindungi dengan catechin 5 ml/kgbb selama 8 hari berturut-turut sebelum diberi  $CCl_4$  5 ml/kgbb pada hari ke-9. K-1 merupakan kelompok kontrol negatif terdiri dari 4 ekor tikus yang tidak diberi perlakuan apa-apa, tetapi langsung dibedah untuk mengambil heparnya. K-2 merupakan kelompok kontrol positif yang terdiri dari 4 ekor tikus yang selama 8 hari berturut-turut tidak diberi perlakuan apapun dan pada hari ke-9 diberi  $CCl_4$  5 ml/kgbb. Pada hari ke-11, kelompok P-1 + 2 ekor tikus kelompok K-2 dikorbankan dengan menggunakan eter dan pada hari ke-13, kelompok P-2 + 2 ekor tikus kelompok K-2 dikorbankan juga dengan eter. Hepar diambil dan dilakukan pemeriksaan sayatan histologis dengan fiksasi dan pewarnaan HE. Secara kuantitas didapatkan jumlah nekrosis sel hati pada K-2 yang dibedah hari ke-11 sebesar 70,63 % , K2 yang dibedah pada hari ke -13 sebesar 46,53 % , P-1 sebesar 41,73 % dan P-2 sebesar 24,60 % . Secara kualitas, sel hati menunjukkan gambaran kearah normal pada kelompok yang dilindungi oleh catechin. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa catechin daun teh hijau dapat melindungi sel hati dari serangan radikal bebas yang ditimbulkan oleh  $CCl_4$  dan membantu proses degenerasinya. Hal ini terbukti dari penurunan luas kerusakan sel hati pada kelompok yang diberi catechin lebih baik daripada kelompok kontrol positif.

## PENDAHULUAN

Katekin adalah salah satu senyawa polifenol yang terdapat pada daun teh hijau (*Camellia sinensis*), yang merupakan senyawa tidak berwarna pada pengolahan, langsung atau tidak langsung perubahannya selalu dihubungkan dengan sifat teh jadi, yaitu rasa dan aromanya. Katekin dalam teh hijau merupakan "Mayor Components". Kandungan senyawa polifenol ini pada daun teh sekitar 30% dari berat kering. Enam dari senyawa katekin yang terbanyak konsentrasinya pada pucuk teh segar adalah katekin, galokatekin, epikatekin, epigalo katekin, epikatekin galat dan epigalokatekin galat. Dengan adanya enzim polifenol oksidase, maka senyawa-senyawa polifenol tersebut dapat teroksidasi secara enzimatik antara lain menjadi theaflavin dan thearubigin, senyawa ini merupakan sebagian faktor yang berperan dalam kualitas seduhan teh hitam (Sanderson, 1965).

Katekin sebagai antioksidan telah dibuktikan dengan percobaan di laboratorium (Yukihiko Hara, 1991), diantaranya dapat mencegah pembusukan dan ketengikan dari makanan, infeksi akibat makanan atau penyakit saluran nafas, penyakit kardiovaskuler atau pertumbuhan tumor (1,2).

Peneliti lain Sri Herwiyanti (1999) membuktikan bahwa pemberian teh hijau pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) mampu menghambat hepatotoksisitas parasetamol ditinjau dari gambaran histologik hepar (3). Sedangkan Terao *et al.* (1994) meneliti efek antioksidan dari epikatekin, epikatekin galat dan quercetin melawan peroksida lemak bila membran sel dikenai radikal bebas dalam cairan (4).

Dalam tubuh radikal bebas diproduksi secara terus menerus dan akhirnya akan mengalami netralisasi melalui reaksi dengan radikal bebas atau dengan anti oksidan yang berasal dari dalam atau luar tubuh (5). Dalam keadaan normal produk radikal bebas (tanpa inducer) tidak akan menyebabkan kerusakan karena hepar memiliki sistem protektor dan anti oksidan terbaik dibanding organ lain (6). Pada beberapa keadaan dimana terdapat peningkatan radikal bebas yang disebabkan oleh pemicu, maka dapat terjadi kerusakan pada membran sel yang bersifat irreversibel (7).

Diantara zat kimia yang bersifat oksidan dan dapat menyebabkan kerusakan pada hepar, terdapat satu prototype yang karakteristik dan sering dipakai untuk menggambarkan kerusakan hepatosit yang irreversibel, yaitu karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>).

Kerusakan hepatosit pada kasus ini terjadi karena serangan radikal bebas (oksidan) pada asam lemak tak jenuh pada fosfolipid membran. Reaksi oksidasi ini bersifat otokatalitik, sehingga dalam waktu relatif singkat terjadi kerusakan hepatosit yang berat (7). Tanda - tanda kerusakan hepatosit dapat dilihat beberapa jam atau 2-3 hari pasca pemaparan CCl<sub>4</sub> (8). Pada hewan coba tikus, dosis tunggal CCl<sub>4</sub> 2 mg/kgbb akan memberi gambaran nekrosis sentrolobuler, degenerasi hidropik, perlemakan hati dan infiltrasi sel radang di sekitar vena sentralis yang tampak setelah 48 jam pemberian CCl<sub>4</sub>. (9).

Dengan pemberian katekin sebagai antioksidan terhadap tikus percobaan, maka diharapkan akan terjadinya perbaikan sel atau jaringan hepar yang telah rusak akibat radikal bebas CCl<sub>4</sub>.

Untuk mengamati seberapa jauh kerusakan sel hepar akibat pemberian CCl<sub>4</sub> dan perbaikan sel hepar setelah pemberian katekin, maka dapat dilihat gambarannya dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x10 dan 40x10.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **A. Tempat dan Waktu Penelitian.**

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biokimia, Anatomi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, bulan Januari-Juni 2002.

### **B. Jenis Penelitian.**

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba.

### C. Bahan Penelitian.

1. Binatang Percobaan  
Penelitian dilakukan dengan menggunakan 16 ekor tikus galur Wistar yang berumur  $\geq$  2 bulan dan berat 170-220 gr, diberi makan pelet dan air secukupnya selama percobaan.
2. Ekstrak katekin daun teh hijau dilakukan di laboratorium Kimia Bahan Alam FMIPA Unand, dan diencerkan dengan NaCl fisiologis.
3. Karbon tetraklorida diencerkan dengan minyak kelapa.

### D. Cara Kerja

Penelitian dilakukan dengan menggunakan 16 ekor tikus yang dibagi secara acak dalam empat kelompok :

- Kelompok I (P-1) :  
5 ekor tikus yang merupakan kelompok perlakuan I yang diberi catechin 1% dengan dosis 5 ml/kgbb yang diencerkan dengan NaCl fisiologis, selama 8 hari berturut-turut dan pada hari ke-9 diberi  $CCl_4$  sebanyak 5 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak kelapa.
- Kelompok II (P-2) :  
5 ekor tikus yang merupakan kelompok perlakuan II yang diberi catechin 1% dengan dosis 5 ml/kgbb yang diencerkan dengan NaCl fisiologis, selama 8 hari berturut-turut dan pada hari ke-9 diberi  $CCl_4$  sebanyak 5 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak kelapa.
- Kelompok III (K-1) :  
4 ekor tikus yang merupakan kelompok kontrol negatif, tidak diberi perlakuan apapun tetapi langsung dibedah untuk mengambil hatinya dan dibuat preparat histopatologis.
- Kelompok IV (K-2) :  
4 ekor tikus yang merupakan kelompok kontrol positif. Selama 8 hari tidak mendapatkan perlakuan apa-apa dan pada hari ke-9 diberi  $CCl_4$

dengan dosis 5 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak kelapa.

Pemberian  $\text{CCl}_4$  dan catechin dilakukan dengan cara sonde lambung.

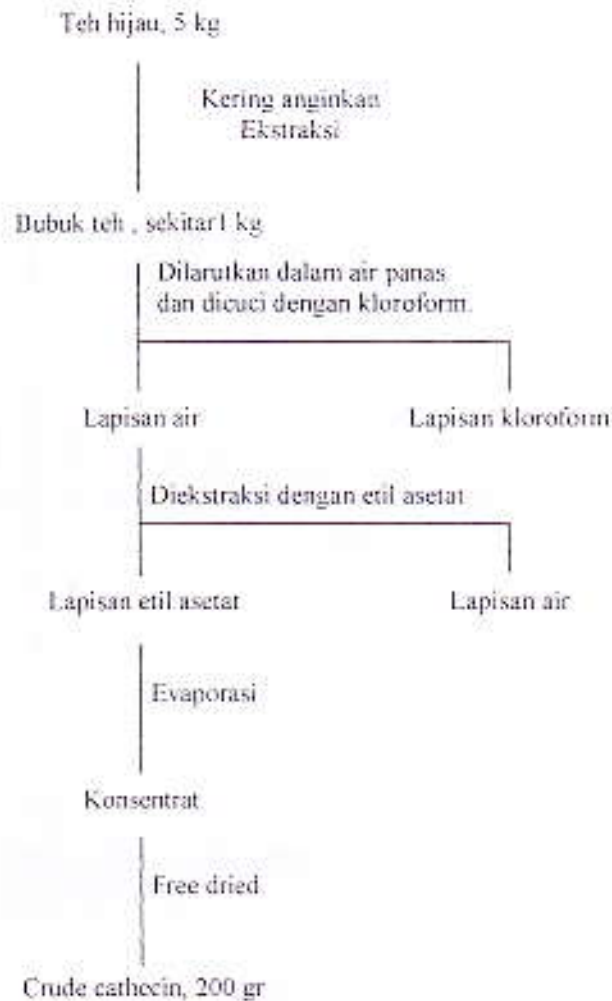
Hari ke-2 setelah pemberian  $\text{CCl}_4$ , 5 ekor tikus dari kelompok P-1 + 2 ekor tikus dari kelompok K-2 dikorbankan dengan terlebih dahulu dilakukan pembiusan menggunakan eter. Selanjutnya dibedah untuk mengambil heparnya dan kemudian dilihat kerusakan selnya. Pada hari ke-4 setelah pemberian  $\text{CCl}_4$ , 5 ekor tikus dari kelompok II + 2 ekor tikus dari kelompok K-2 dikorbankan dan dibedah dengan cara yang sama.

#### **E. Pemeriksaan Cuplikan Hepar**

Setiap tikus yang dibedah diambil 3 contoh sayatan heparnya pada daerah yang sama. Sayatan tersebut difiksasi dengan formalin 10%, didehidrasi dengan xylol dan aseton, diblok parafin, dipotong setebal 7 mikrometer dengan mikrotom, dan diwarnai dengan hematoxilin eosin (HE). Preparat yang dihasilkan dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10. Preparat tersebut diperiksa dengan menggeser-geser objeknya, sehingga tidak ada bagian preparat yang terlepas dari pengamatan. Untuk melihat lebih jelas jaringan yang diamati dilakukan pengamatan dengan pembesaran 40 x 10.

Untuk menentukan kemampuan regenerasi sel hepar setelah terpapar  $\text{CCl}_4$  baik pada kelompok yang sebelumnya diberi catechin atau tidak dapat dilihat dari perubahan luas nekrosis dari hari ke-2 ke hari ke-4 setelah pemaparan.

**F. Proses Pembuatan Ekstrak Cathecin dari Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*).**



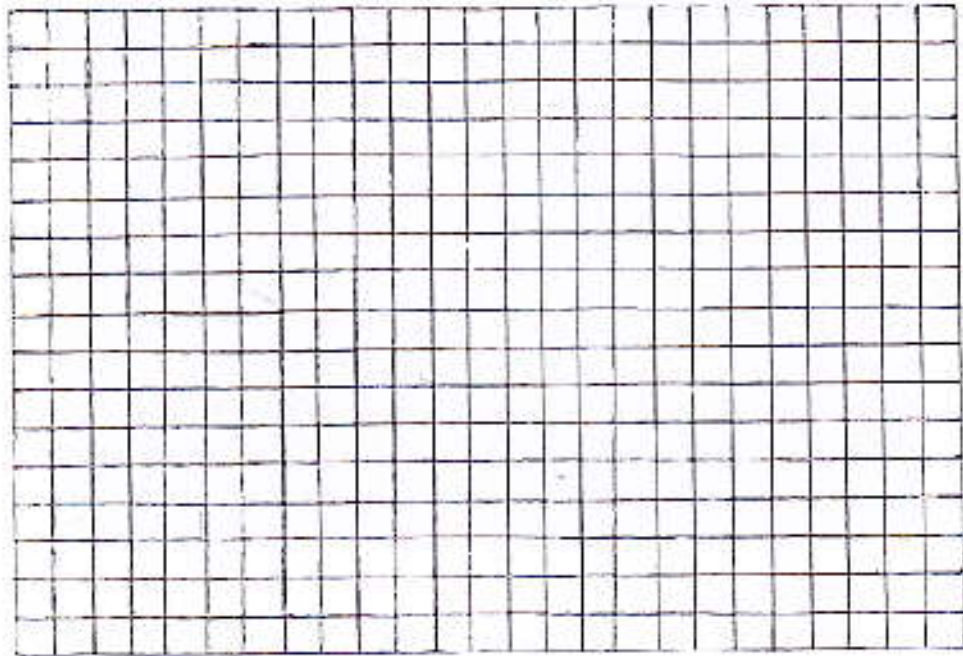
Gambar 3.1. Preparation of "Crude Cathecins" (1)

**F. Analisa Data**

Untuk membuktikan bahwa secara histopatologis terdapat perbedaan kuantitas luas kerusakan, maka bagian yang sudah diamati dibawah mikroskop cahaya, dibuat foto mikroskopis pada pembesaran 10x10 dan 40x10. Masing-masing sampel dibuat foto pada daerah yang berbeda-beda.

Luas kerusakan dihitung dengan membuat kisi-kisi berukuran 0,5 x 0,5 cm<sup>2</sup> pada plastik transparan berukuran identik

dengan foto 3R. Kemudian dihitung banyaknya petak kerusakan hati pada masing-masing kelompok. Hasil perhitungan dinyatakan dalam % (30). Adapun model dari plastik transparan yang digunakan untuk menghitung luas kerusakan hepatosit adalah sebagai berikut :

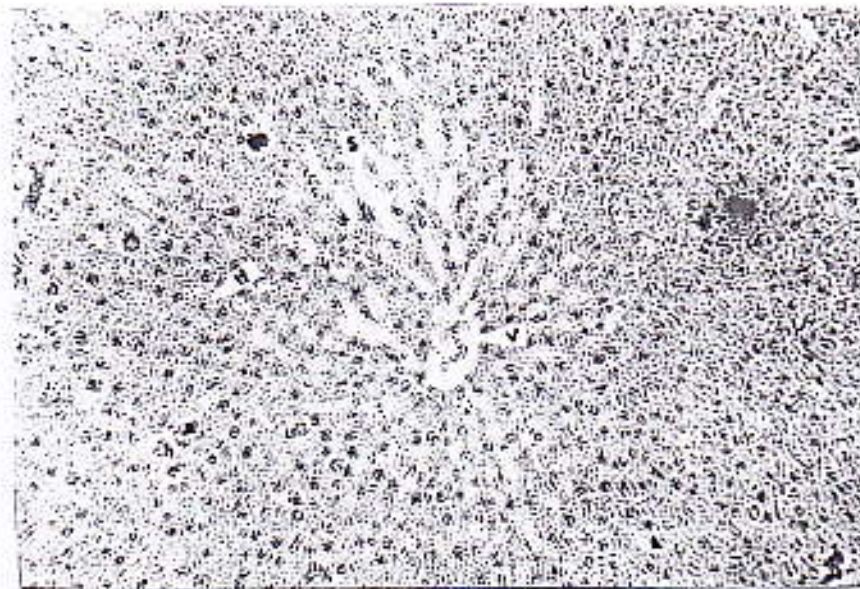


Gambar 3.2 Plastik transparan untuk menghitung luas kerusakan hepatosit (identik dengan foto ukuran 3R).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. HASIL

Hasil pengamatan histopatologis terhadap jaringan hepar tikus kelompok kontrol negatif (K-1) menunjukkan gambaran hepatosit tikus normal, terlihat sel-sel hepar tersusun secara radier dengan vena sentralis sebagai pusatnya, sitoplasma tanpa vakuola, nukleus serta sinusoid tampak jelas tanpa kelainan. (gambar 4.1).

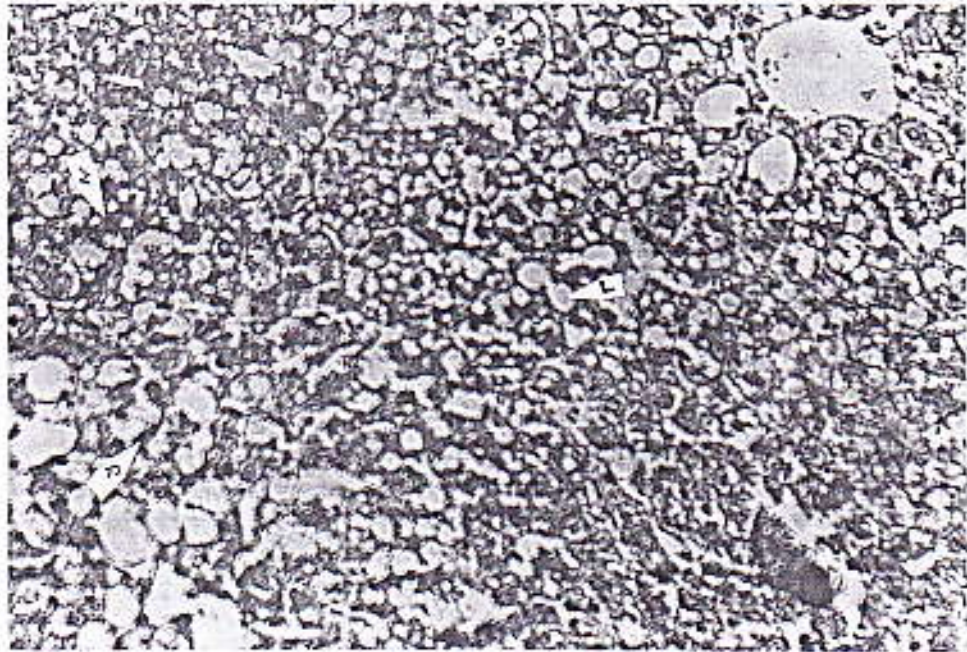


Gambar 4.1 Jaringan hepar tikus normal ( kelompok kontrol negatif ) (10x10).

Dari gambar 4.1 tampak hepatosit poligonal berbaris membentuk lempengan (H), sinusoid (S), dan di tengah tampak pembuluh darah (V).

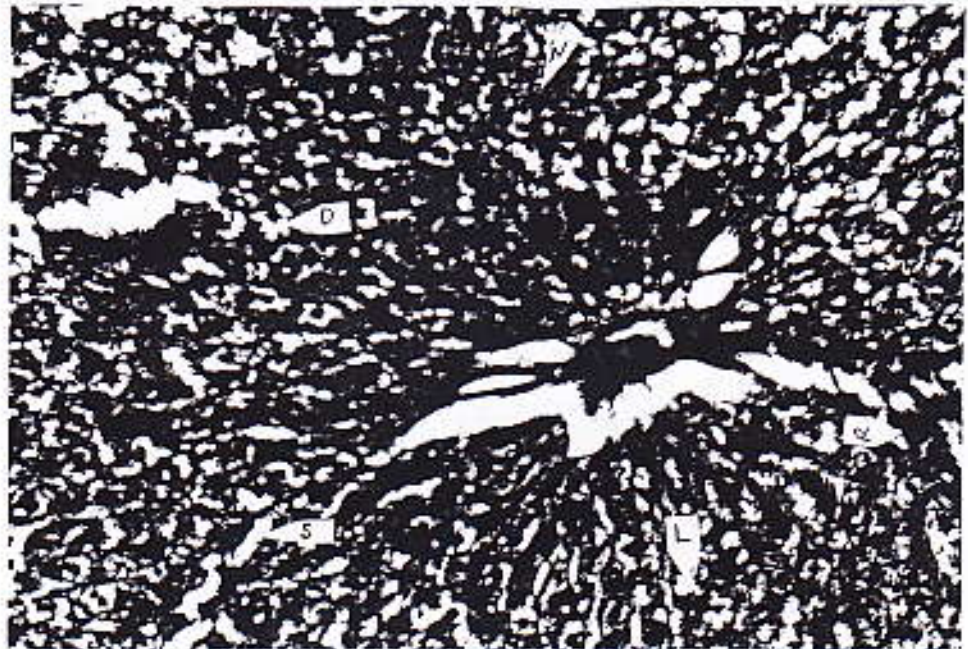
Pengamatan pada hari ke-2 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  terhadap kelompok kontrol positif yang hanya mendapat  $\text{CCl}_4$  (K-2), tampak sebagian besar hepatosit rusak. Kerusakan tampak berupa degenerasi hidropik (D), nekrosis hepatosit (N), perlemakan (L), serta sebaran sel-sel radang (gambar 4.2).





Gambar 4.2 Jaringan hepar tikus kelompok kontrol positif pada hari ke-2 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  ( $10\times 10$ ).

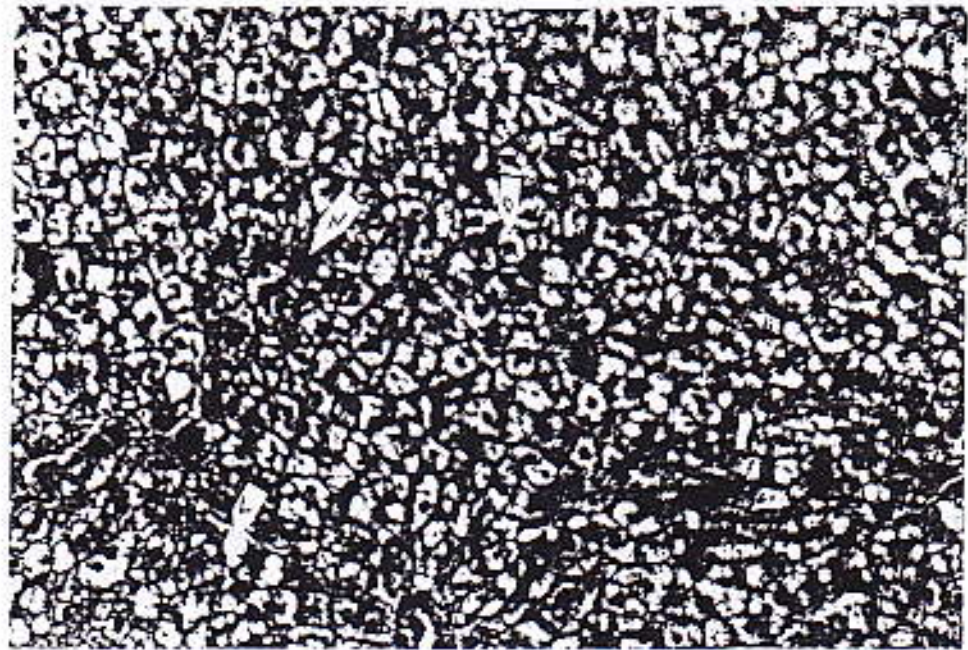
Pengamatan pada hari ke-2 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  terhadap sel hepar tikus yang sebelumnya mendapat perlakuan catechin selama 8 hari berturut-turut, tampak adanya perbaikan sel hepar bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Perbaikan ini disebabkan oleh efek perlindungan catechin. Terlihat kerusakan sel hepar lebih ringan. (gambar 4.3).



Gambar 4.3 Jaringan hepar tikus dua hari pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  yang didahului dengan pemberian catechin 5 mg/kgbb selama 8 hari berturut-turut. (10x10).

Dari gambar 4.3 terlihat perlemakan (L) lebih sedikit, nekrosis (N), dan degenerasi hidropik dengan nukleus piknotik (D), masih ditemukan, infiltrasi ringan sel-sel radang (R), serta terlihat sinusoid (S).

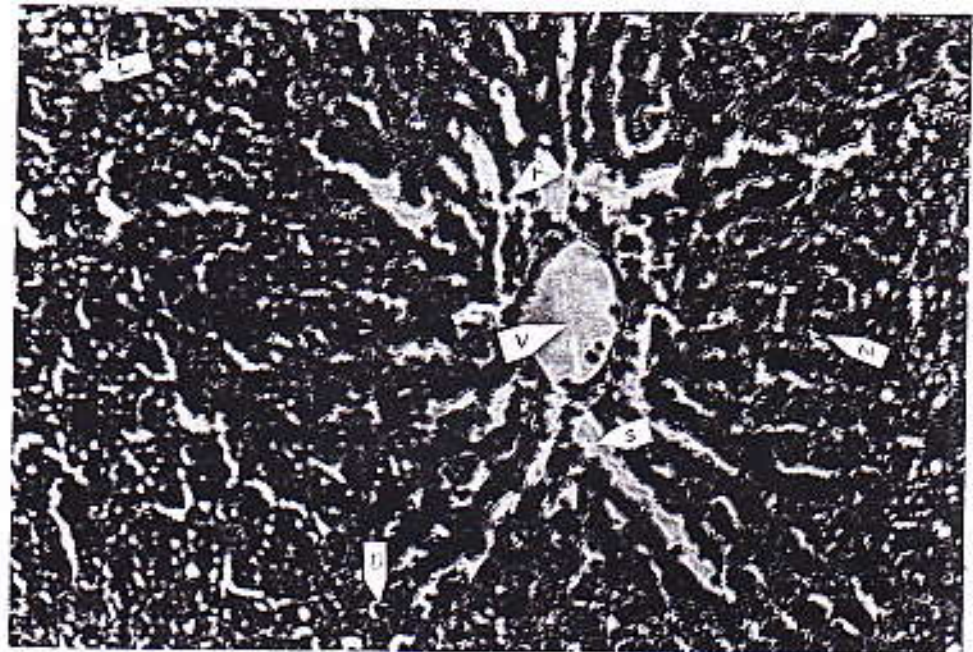
Pengamatan pada hari ke-4 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  terhadap kelompok kontrol positif yang hanya mendapat perlakuan  $\text{CCl}_4$  (K-2), tampak adanya perbaikan sel hepar bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif hari ke-2 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$ . Perbaikan ini disebabkan oleh kemampuan regenerasi sel hepar dan tubuh sendiri mempunyai pertahanan antioksidan endogen terhadap serangan radikal bebas. Terlihat kerusakannya lebih ringan (Gambar 4-4).



Gambar 4.4 Jaringan hepar tikus kelompok kontrol positif pada hari ke-4 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  (10x10).

Dari gambar 4.4 terlihat perlemakan (L) lebih sedikit, nekrosis (N) dan degenerasi hidropik dengan nukleus piknotik (D).

Pengamatan pada hari ke-4 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  terhadap sel hepar tikus yang sebelumnya mendapat perlakuan catechin 5 ml/kgbb selama 8 hari berturut-turut, tampak gambaran sel hepar kearah normal dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Perbaikan ini disebabkan oleh kemampuan regenerasi sel hepar, adanya pertahanan antioksidan endogen yang dimiliki oleh tubuh serta adanya efek perlindungan dari catechin (gambar 4.5).



Gambar 4.5 Jaringan hepar tikus empat hari pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  yang didahului dengan pemberian catechin 5 ml/kgbb selama 8 hari berturut-turut. (10x10)

Dari gambar 4.5 terlihat vena sentralis (V) dan sinusoid (S). Perlemakan (L) masih ditemukan, hepatosit yang mengalami nekrosis (N) dan degenerasi hidropik (D) lebih sedikit. Demikian juga dengan sel-sel radang, tampak lebih sedikit.

Secara kuantitas, pada hari ke-2 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  didapatkan rata-rata luas kerusakan hepatosit tikus pada kelompok kontrol positif sebesar 70,63 % ( gambar 4.2 ). Sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi catechin didapatkan angka yang lebih rendah 41,73 % ( gambar 4.3).

Pada hari ke-4 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  didapatkan jumlah persentase kerusakan hepatosit tikus pada kedua kelompok telah menurun. Pada kelompok kontrol positif didapatkan angka rata-rata sebesar 46,53 % ( gambar 4.4) sedangkan kelompok perlakuan yang diberi catechin sebesar 24,60 % (gambar 4.5).

## B. PEMBAHASAN

Dari sediaan mikroskopis jaringan hepar tikus pada hari ke-2 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  dari kelompok kontrol positif (gambar 4.2) dan perlakuan (mendapatkan catechin) (gambar 4.3) tampak sel-sel hepar mengalami kerusakan, sedangkan pada kelompok kontrol negatif yang tidak mendapat  $\text{CCl}_4$  tidak terdapat kerusakan tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan sel hepar tersebut disebabkan oleh  $\text{CCl}_4$  yang merupakan senyawa hepatotoksik sehingga terjadi kerusakan sel-sel hepar yang irreversibel. Kerusakan sel hepar dapat dilihat beberapa jam atau 2-3 hari pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  (8). Efek hepatotoksik  $\text{CCl}_4$  bergantung pada aktivasi metabolitnya yang menghasilkan zat antara bersifat reaktif yaitu radikal bebas  $\text{CCl}_3^\bullet$  sehingga bereaksi dengan asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen membran sel juga membran organel sel dan mengakibatkan kehancuran sel.

Padahari ke-2 setelah pemaparan  $\text{CCl}_4$ , pada kelompok perlakuan yang diberi catechin didapatkan persentase kerusakan hepatosit tikus lebih rendah (41,73 %) seperti pada gambar 4.3 daripada kelompok kontrol positif (70,63 %) seperti pada gambar 4.2. Hal ini menunjukkan bahwa catechin dapat meredam aktivitas radikal bebas akibat pemaparan  $\text{CCl}_4$  dan hepatosit tikus yang mendapat catechin beregenerasi lebih cepat dibandingkan dengan yang tidak mendapat catechin.

Pada hari ke-4 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  didapatkan luas kerusakan hepatosit tikus pada kelompok kontrol positif yang hanya mendapat  $\text{CCl}_4$  saja menurun menjadi 46,53 % (gambar 4.4). Begitu pula pada kelompok perlakuan yang diberi catechin, terjadi penurunan luas kerusakan menjadi 24,60 % (gambar 4.5).

Hal ini berarti catechin mungkin dapat membantu proses regenerasi hepatosit, dan meredam efek buruk radikal bebas terhadap hepatosit tetapi bagaimana mekanisme kerjanya belum diketahui secara pasti. Kemungkinan proses hambatan hepatotoksik oleh catechin teh hijau adalah melalui hambatan aktifitas enzim  $\text{P}_{450}$  hepar. Muhtar *et al* (1992) dalam penelitiannya mengenai efek anti mutagenik dan anti karsinogenik dari komponen teh menyebutkan bahwa teh hijau yang mengandung catechin menghambat ikatan cytochrom  $\text{P}_{450}$  dengan enzim oksidase pada model karsinogenik dan hal ini juga ditemukan oleh Wang *et al* (1998) dan Nakajima (1991). (3)

Pengamatan histopatologis pada kedua kelompok hari ke-4 pasca pemaparan  $\text{CCl}_4$  memperlihatkan penurunan luas kerusakan jaringan hepar, ini mungkin saja terjadi karena tubuh sendiri mempunyai pertahanan antioksidan endogen terhadap serangan radikal bebas. Selain itu hepar tergolong organ tubuh dengan daya regenerasi stabil sehingga telah terjadi regenerasi membentuk hepatosit baru menggantikan sel-sel yang rusak. Tetapi perlu diperhatikan bahwa penurunan luas kerusakan hepatosit pada kelompok yang diberi catechin lebih baik daripada kelompok kontrol positif (tanpa catechin) seperti pada gambar 4.4 dan 4.5.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. KESIMPULAN**

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian catechin daun teh hijau dengan dosis 5 ml/kgbb per oral pada tikus selama 8 hari berturut-turut sebelum pemaparan  $\text{CCl}_4$  dapat menurunkan luas kerusakan hepatosit tikus dan mempercepat proses regenerasi yang dapat dilihat dari pengamatan pada hari ke-2 dan ke-4.
2. Hepar memiliki daya regenerasi yang baik. Hal ini terbukti dari terjadinya penurunan luas kerusakan hepatosit yang terpapar  $\text{CCl}_4$  (tanpa catechin) yang dapat dilihat dari pengamatan pada hari ke-2 dan ke-4. Tetapi proses menuju perbaikannya lebih lambat bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi catechin.

### **B. SARAN**

Dianjurkan untuk :

1. Mengadakan penelitian berikutnya untuk melihat efek catechin teh hijau terhadap kerusakan hepatosit tikus yang terpapar  $\text{CCl}_4$  ditinjau dari kadar beberapa enzim hati.
2. Memasyarakatkan penggunaan teh hijau untuk dikonsumsi sebagai salah satu alternatif pengobatan dan terapi preventif dalam mengatasi berbagai penyakit khususnya penyakit hati yang disebabkan oleh radikal bebas.

## DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Yukihiko-Hara, "Prophylactic Functions of Tea Polyphenols", Food Research Laboratories, Mitsui Noria Co, LTD, Fujieda City, Proceeding of the International Symposium on Tea Science, Shizuoka, Japan, August, 26-29, 1991.
2. Balai Penelitian Teh hijau dan Teh wangi, "Kumpulan Pengolahan Teh hijau dan Teh wangi", Balai Penelitian Teh dan Kina, Pasir Serongga, 1983.
3. Sri-Hewiyanti. Gambaran histologik hepar tikus putih (*Ratus norvegicus*) setelah pemberian teh hijau dan parasetamol. *Jurnal Kedokteran Yarsi* ; 7(3) : 45-50. UGM, Yogyakarta, 1999.
4. Fadil-Oenzil. Radikal Bebas, antioksidan dan penuaan. Dalam : Simposium Radikal Bebas dan Penyakit Degeneratif. Padang, 10 Oktober 1998.
5. Anita-Saparjiman. Peran radikal bebas pada Mikroangiopati Diabetika. Dalam : Simposium Radikal Bebas dan Penyakit Degeneratif. Padang 10 Oktober 1998.
6. Mulyohadi-Ali. Peran radikal bebas pada patogenesis kerusakan hepar. Dalam : Kumpulan makalah Seminar dan Lokakarya Radikal Bebas dan Patogenesis Penyakit. Malang, 13-15 Maret 1997.
7. Robbin SL, Kumar V. *Pathologic Basis of Disease*, edisi 4. Philadelphia : W.B Saunders Company, 1989.
8. Goodman and Gilman. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, edisi 9. New York : McGraw-Hill Companies, 1996.
9. Yanwirasti, Gusti-Revilla, Salmiah-Agus. Daya hambat flavanoid kencur (*kaempferia galanga* Linn) terhadap kerusakan sel hepar tikus akibat keracunan klorotetraklorida ( $CCl_4$ ). Laporan Penelitian. Universitas Andalas, Padang, 1996.
10. Price SA, Wilson LM. *Pathophysiology, clinical concept of disease processes*, edisi 4 (1992). Anugrah P, Wijaya C, Penerjemah. *Patofisiologi, Konsep klinis proses-proses penyakit*. Jakarta : EGC, 1995.
11. Sadikin-Darmawan. Hati dan saluran empedu. Dalam : Sutisna-Himawan, ed *Patologi*. Jakarta : Bagian Patologi Anatomi FKUI, 1996.
12. LU Frank C. *Basic Toxicologi-fundamentals, target organs and risk assessment*, edisi 2 (1994). Edi-Nugroho, Zunilda S Bustami, Penerjemah.

- Toksikologi Dasar, Azas, Organ Sasaran dan Penelitian Resiko. Jakarta : PUI, 1994.
13. Junqueira LC, Carneiro I, Kelley RO. Basic Histologi, edisi 8 (1997). Jan Tambayong, Penerjemah. Histologi Dasar. Jakarta : EGC, 1998.
  14. Anderson JR, Muirs. Textbook of Pathologi, edisi 12, Baltimora : Edwards Arnold, 1985.
  15. Sherlock S. Disease of the liver and biliary system, edisi 1 (1990). Petrus-Andrianto, Penerjemah. Penyakit Hati dan Sistem Saluran Empedu. Jakarta : Widya Medika, 1995.
  16. Suryolusodo P. Oksidan, Antioksidan dan radikal Bebas. Dalam : Simposium Oksidan dan antioksidan. Surabaya, 28 Agustus 1993.
  17. Lautan J. Radikal bebas pada eritrosit dan leukosit. CDK 1997 ; 116 : 54-2.
  18. Gusti-Revilla. Kajian pustaka pengaruh karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) terhadap kerusakan hepar. Tinjauan Kepustakaan. Universitas Andalas, Padang, 1997.
  19. Fadilah-Supari. Radikal bebas dan patofisiologi beberapa penyakit. Dalam : Senyawa Radikal dan Sistem Pangan : Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan. Jakarta, 1996.
  20. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Phisiologi, edisi 9 (1997). Irawati-Setiawan, LMA Ken Ariata-Tengadi, Alex-Santoso, Penerjemah. Fisiologi Kedokteran. Jakarta : EGC, 1997.
  21. I-Darmansyah. Dasar Toksikologi. Dalam : Sulistia GG, eds. Farmakologi dan Terapi. Jakarta, Bagian Farmakologi FKUI, 1995.
  22. Harahap IP, M. Sadikin, Elvi. S, Azizahwati. Daya Hepatoprotektor Bawang Merah (*Allium ascalonicum l*) terhadap Efek Destruksi Radikal Bebas pada Tikus Keracunan CCl<sub>4</sub>. Maj Kedokt Ind 1995 ; vol 45 No 12 : 682-3.
  23. Tjokroprawiro A. Radikal bebas, aspek klinik dan kemungkinan aplikasi terapi. Dalam : Simposium Oksidan dan Antioksidan. Surabaya, 28 Agustus 1993.
  24. James J-Spillane. Komoditi Teh, Peranannya dalam Perekonomian Indonesia. Yogyakarta : Kanisus, 1992.
  25. Dalimartha-Setiawan. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, jilid 1. Jakarta, 1999.
  26. Audrey-luize, Agung-Yudana. Mengenal Ragam dan Manfaat teh, diakses dari [http:// www.IndoMedia.com](http://www.IndoMedia.com). Januari 2002.



27. Budi-Nuratni, BSc. Uji hepatoprotektor ekstrak etanol daun teh (*Camellia sinensis*) pada tikus putih. Dalam : Buletin Penelitian Kesehatan, Vol XXV, No 3, diakses dari <http://www.litbang.depkes.go.id>, Januari 2002.
28. Eti-Yerizel. Pengaruh konsentrasi catechin pada daun teh hijau terhadap aktivitas antioksidan. Laporan Penelitian. Universitas Andalas, Padang, 1996.
29. Lokakarya Replanting Tanaman Teh, "Aspek-aspek Kesehatan Minum Teh", Gunung Mas, 17 September 1991.
30. Subowo, Sidik, Widjaja. Khasiat anti hepatotoksik daun dewa dalam menanggulangi kerusakan hati mencit. Universitas Padjajaran, Bandung, 1991.