

**UJI POTENSI ANTIHEPATOTOKSIK INFUS SIMPLISIA  
SIRIH MERAH (*Piper betle* L. VARIASI RUBRUM)  
TERHADAP HISTOLOGI HATI *Mus musculus* L. JANTAN  
GALUR DDY**

**SKRIPSI**

**SITI MANDARINI  
0606070314**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JULI 2010**

**UJI POTENSI ANTIHEPATOTOKSIK INFUS SIMPLISIA  
SIRIH MERAH (*Piper betle* L. VARIASI RUBRUM)  
TERHADAP HISTOLOGI HATI *Mus musculus* L. JANTAN  
GALUR DDY**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana**

**SITI MANDARINI  
0606070314**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JULI 2010**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan  
semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar

Nama = Siti Mandarini

NPM = 0606070314

Tanda tangan =  .....

Tanggal = 7 Juli 2010 .....

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Siti Mandarini  
NPM : 0606070314  
Program Studi : S1 Biologi  
Judul Skripsi : Uji Potensi Antihepatotoksik Infus Simplisia Sirih Merah (*Piper betle* L. Variasi Rubrum) terhadap Histologi Hati *Mus musculus* L. Jantan Galur DDY

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Dadang Kusmana, M.S. (.....<sup>uz</sup>.....)  
Pembimbing II : Dra. Setiorini, M.Kes. (.....<sup>uz</sup>.....)  
Penguji I : Dr. Abinawanto, M.S. (.....<sup>uz</sup>.....)  
Penguji II : Dr. Luthfiralda S., M.Biomed. (.....<sup>uz</sup>.....)  
Penguji III : Dr. Nisyawati, M.S. (.....<sup>uz</sup>.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 7 Juli 2010

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala anugerah, rahmat, dan karuniaNya yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian hingga akhir penulisan skripsi. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Seluruh staf pengajar Departemen Biologi FMIPA UI atas bekal ilmu yang penulis terima.
2. Dr. Dadang Kusmana, M.S. selaku pembimbing I dan Dra. Setiorini, M.Kes. selaku pembimbing II atas bimbingan dan sumbangan pikiran selama penelitian hingga tersusunnya skripsi.
3. Dr. rer. nat. Mufti Petala Patria, M.Sc. dan Dra. Nining Betawati Prihantini, M.Sc. selaku Ketua dan Sekretaris Departemen Biologi FMIPA UI.
4. Dr. rer. nat. Yasman, M.Sc selaku Penasehat Akademik atas perhatian dan dukungannya.
5. Dr. Abinawanto, M.S., Dr. Luthfirda Sjahfirdi, M.Biomed., Dr. Nisyawati, M.S., Mega Atria, M.Si., dan Dr. Andi Salamah atas saran dan masukan yang diberikan.
6. Ir. Sudewo dari Perusahaan Jamu Sekar Kedhaton, Yogyakarta yang telah memberikan bantuan dalam penyediaan serbuk sirih merah (*Piper betle*) kering untuk penelitian.
7. Seluruh karyawan Departemen Biologi FMIPA UI, terutama Mbak Asri, Mas Arief, dan Ibu Rusmalina, serta Pak Surya dari Departemen Farmasi FMIPA UI atas semua bantuannya.
8. Sembah sujud untuk ayah dan ibu, atas cinta, kasih sayang, dan dukungan moril, serta dukungan materil yang telah diberikan
9. Kedua adikku, Dwi dan Arti atas dukungan, kasih sayang, dan kebersamaan yang selalu menjadi motivasi bagi penulis.

10. Fitri “Ipith” Maisari (Felix), Quamilla “Qumil” Yasmine (Felix), Antonia “Cia” Patricia (Sastra Inggris UI ’07), dan Steffi “Tepy” Magdalena Jayanti (Filsafat UI ’08) atas persahabatan dan dukungan yang telah kalian berikan kepada saya.
11. Teman-teman di Laboratorium Biologi Perkembangan, terutama Kak Acil (Bio ’05), Kak Lia (Bio ’05), Imei, Septi, Elly, Dini “Dibul”, Vinda, dan Vita, serta Kak Wienda (Bio ’04) dan Kak Yesi (Bio ’05) atas semua masukannya.
12. Rekan-rekan Biologi khususnya FELIX (Federation of Biology O’Six) atas pertemanan dan persahabatan yang indah ^^.
13. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.

Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Penulis  
2010

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS  
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Mandarini  
NPM : 0606070314  
Program Studi : S1 Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Uji Potensi Antihepatotoksik Infus Simplisia Sirih Merah (*Piper betle* L. Variasi Rubrum) terhadap Histologi Hati *Mus musculus* L. Jantan Galur DDY

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmediakan/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Depok  
Pada tanggal : 7 Juli 2010

Yang menyatakan



(.....  
SITI MANDARINI  
.....)

## ABSTRAK

Nama : Siti Mandarini  
Program Studi : Biologi  
Judul : Uji Potensi Antihepatotoksik Infus Simplisia Sirih Merah (*Piper betle* L. Variasi Rubrum) terhadap Histologi Hati *Mus musculus* L. Jantan Galur DDY

Penelitian bertujuan untuk mengetahui potensi antihepatotoksik infus simplisia sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum) terhadap histologi hati *Mus musculus* L. jantan galur DDY. Dua puluh lima ekor mencit dibagi secara acak dalam 5 kelompok, terdiri atas kelompok kontrol murni (KK1) yang diinjeksi minyak zaitun, kelompok kontrol perlakuan (KK2), dan kelompok perlakuan (KP1, KP2, dan KP3) yang diinjeksi dengan larutan CCl<sub>4</sub> dosis tunggal 400 mg/ kg bb secara intraperitoneal. Kelompok kontrol selanjutnya diberi akuades dan kelompok perlakuan diberi infus simplisia sirih merah dengan dosis masing-masing 5%, 10%, dan 15% b/v sebanyak 4 kali dengan selang waktu 12 jam secara oral. Mencit dikorbankan setelah 48 jam, sampel berupa organ hati yang dibuat sediaan histologisnya. Hasil uji anava 1-faktor menunjukkan adanya pengaruh ( $P < 0,05$ ) pemberian infus simplisia sirih merah terhadap berat basah organ hati dan ukuran diameter vena sentralis antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Berat basah rata-rata organ hati ( $2,442 \pm 0,289$  g) dan diameter rata-rata vena sentralis ( $140,465 \pm 9,482$   $\mu$ m) mencit yang diberi dosis 5% b/v merupakan nilai yang paling mendekati berat basah organ hati ( $2,326 \pm 0,312$  g) dan rata-rata diameter vena sentralis ( $127,175 \pm 5,368$   $\mu$ m) kelompok kontrol normal. Hasil pengamatan semikuantitatif menunjukkan pemberian infus simplisia sirih merah memiliki potensi antihepatotoksik dengan potensi tertinggi terdapat pada dosis 5% b/v.

Kata kunci: CCl<sub>4</sub>; berat basah rata-rata organ hati; diameter rata-rata vena sentralis; kerusakan hati.

xiii + 70 hlm.; lamp.

Bibliografi: 82 (1963--2009)



## ABSTRACT

Name : Siti Mandarini  
Study Program : Biology  
Title : Test Potential Antihepatotoxic of Infusion Red Betel (*Piper betle* L. Rubrum Variation) on Liver Histology *Mus musculus* L. Male DDY Strain

The aim of this research is to observe potential of antihepatotoxic crude drug infusion red betel (*Piper betle* L. rubrum variation) on liver histology *Mus musculus* male DDY strain. Twenty-five mice were randomly divided into 5 treatment groups, consisting of a control pure group (KK1) is injected with olive oil, control treatment group (KK2) and three treatment groups (KP1, KP2, and KP3) is injected with CCl<sub>4</sub> solution single dose of 400 mg/kg bw intraperitoneally. The control group were administered distilled water and the treatment groups were administered infuse red betel orally with doses of 5%, 10%, and 15% w/v as much as four times with an interval of 12 hours. The mice were sacrificed at 48 hours after treatments. The antihepatotoxic properties were documented by the histopathological data obtained. Anova test results showed the influence of one factor ( $P < 0.05$ ) crude drug infusion red betel on wet weight of liver and diameter of central venous between treatment groups to the control group. The average wet weight of liver ( $2.442 \pm 0.289$  g) and an average diameter of central venous ( $140.465 \pm 9.482$   $\mu\text{m}$ ) mice were given an oral infusion bulbs 5% w/v is the value most approached the average wet weight of liver ( $2.326 \pm 0.312$  g) and an average diameter of central venous ( $127.175 \pm 5.368$   $\mu\text{m}$ ) normal control group. Semi quantitative observations indicate that administration of infuses crude drug infusion red betel has potential of antihepatotoxic with the highest potential in the treatment group with dose of 5% w/v.

Key word: average diameter of central venous; average wet weight of liver; CCl<sub>4</sub>; liver injury.

xiii + 70 hlm.; lamp.

Bibliografi: 82 (1963--2009)

## DAFTAR ISI

|  |           |
|--|-----------|
| HALAMAN JUDUL.....   | i         |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....   | ii        |
| LEMBAR PENGESAHAN .....  | iii       |
| KATA PENGANTAR .....   | iv        |
| LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....                                   | vi        |
| ABSTRAK.....   | vii       |
| DAFTAR ISI.....  | ix        |
| DAFTAR GAMBAR .....  | xi        |
| DAFTAR TABEL.....  | xii       |
| DAFTAR LAMPIRAN.....   | xiii      |
| <b>I. PENDAHULUAN.....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>  | <b>5</b>  |
| 2.1 Sirih merah ( <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum) .....                    | 5         |
| 2.1.1 Klasifikasi sirih merah ( <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum).....       | 5         |
| 2.1.2 Deskripsi sirih merah ( <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum).....         | 6         |
| 2.1.3 Kandungan senyawa sirih merah ( <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum) .... | 7         |
| 2.1.4 Manfaat sirih merah ( <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum).....           | 8         |
| 2.2 Hati .....   | 9         |
| 2.2.1 Histologi Hati .....   | 10        |
| 2.2.1.1 Sel hati (hepatosit) .....   | 10        |
| 2.2.1.2 Lobulus hati .....   | 11        |
| 2.2.2 Fungsi Hati .....  | 13        |
| 2.2.3 Regenerasi hati .....  | 14        |
| 2.3 Patologi Hati .....  | 14        |
| 2.4 Karbon Tetraklorida (CCl <sub>4</sub> ).....                                 | 15        |
| 2.5 Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.).....  | 17        |
| <b>III. BAHAN DAN CARA KERJA .....</b>   | <b>18</b> |
| 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....   | 18        |
| 3.1.1 Bahan .....  | 18        |
| 3.1.1.1 Sirih merah ( <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum) .....                | 18        |
| 3.1.1.2 Hewan uji.....   | 18        |
| 3.1.1.3 Makanan dan minuman <i>Mus musculus</i> .....                            | 18        |
| 3.1.1.4 Bahan-bahan kimia .....  | 19        |
| 3.1.2 Peralatan .....  | 20        |
| 3.1.2.1 Pemeliharaan <i>Mus musculus</i> .....                                   | 21        |
| 3.1.2.2 Pembuatan infus simplisia sirih merah dan larutan CCl <sub>4</sub> ..... | 21        |
| 3.1.2.3 Pemberian infus sirih merah dan larutan CCl <sub>4</sub> .....           | 21        |
| 3.1.2.4 Pengambilan dan pembuatan sediaan histologis organ hati.....             | 21        |
| 3.1.2.5 Pengamatan sediaan histologis organ hati .....                           | 21        |
| 3.1.3 Cara Kerja .....   | 22        |
| 3.1.3.1 Rancangan penelitian.....  | 22        |
| 3.1.3.2 Pemeliharaan hewan percobaan.....  | 23        |

|   |    |
|---|----|
| 3.1.3.3 Pembuatan larutan karbon tetraklorida (CCl <sub>4</sub> ).....                    | 23 |
| 3.1.3.4 Pembuatan infus simplisia sirih merah .....                                       | 24 |
| 3.1.3.5 Perlakuan terhadap <i>M. musculus</i> .....                                       | 24 |
| 3.1.3.6 Pembuatan sediaan histologi dengan metode parafin .....                           | 25 |
| 3.1.3.7 Pengamatan makroskopik organ hati, sediaan histologis, dan pengambilan data ..... | 28 |
| 3.1.3.8 Analisis data.....  | 29 |

#### **IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

|  |    |
|--|----|
| 4.1 Hasil.....   | 30 |
| 4.1.1 Pengamatan makroskopik organ hati .....                              | 30 |
| 4.1.2 Pengamatan mikroskopik organ hati.....                               | 33 |
| 4.1.2.1 Pengamatan semikuantitatif persentase derajat kerusakan hati ..... | 33 |
| 4.1.2.2 Pengamatan kuantitatif diameter vena sentralis.....                | 38 |
| 4.2 Pembahasan .....   | 41 |
| 4.2.1 Pengamatan makroskopik organ hati .....                              | 41 |
| 4.2.2 Pengamatan mikroskopik organ hati.....                               | 42 |

#### **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

|                      |    |
|----------------------|----|
| 5.1 Kesimpulan ..... | 49 |
| 5.2 Saran .....      | 49 |

|                           |    |
|---------------------------|----|
| <b>DAFTAR ACUAN</b> ..... | 50 |
|---------------------------|----|

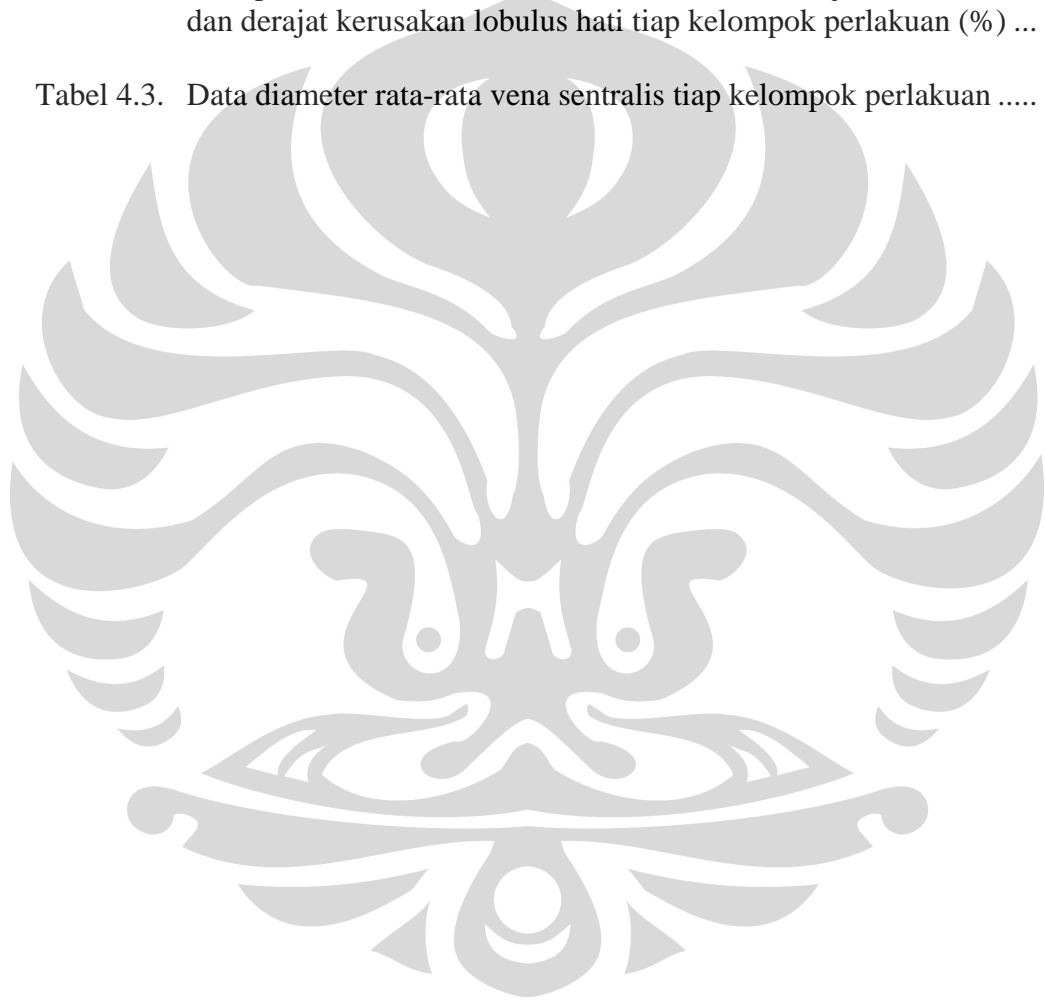
|                       |    |
|-----------------------|----|
| <b>LAMPIRAN</b> ..... | 58 |
|-----------------------|----|

## DAFTAR GAMBAR

|             |  |    |
|-------------|--|----|
| Gambar 2.1. | Tumbuhan sirih merah ( <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum) .....   | 6  |
| Gambar 2.2. | Anatomi lobulus hati .....   | 11 |
| Gambar 2.3. | Konsep lobulus pada hati.....  | 13 |
| Gambar 4.1. | Morfologi organ hati tiap kelompok perlakuan.....  | 30 |
| Gambar 4.2. | Diagram batang berat basah rata-rata organ hati tiap kelompok perlakuan .....  | 32 |
| Gambar 4.3. | Histologis hati kelompok kontrol negatif (KK1).....  | 34 |
| Gambar 4.4. | Histologis hati kelompok kontrol positif (KK2) .....   | 34 |
| Gambar 4.5. | Histologis hati kelompok perlakuan 1 (KP1).....  | 35 |
| Gambar 4.6. | Histologis hati kelompok perlakuan 2 (KP2).....  | 35 |
| Gambar 4.7. | Histologis hati kelompok perlakuan 3 (KP3).....  | 36 |
| Gambar 4.8. | Diagram batang persentase rata-rata lobulus hati normal (derajat kerusakan 0) dan kerusakan lobulus hati (derajat kerusakan 1, 2, dan 3) tiap kelompok perlakuan ..... | 38 |
| Gambar 4.9. | Diagram batang rata-rata diameter vena sentralis tiap kelompok perlakuan .....   | 40 |

## DAFTAR TABEL

|   |    |
|---|----|
| Tabel 3.1. Komposisi pakan mencit .....   | 19 |
| Tabel 3.2. Komposisi larutan yang digunakan dalam pembuatan sediaan histologi.....  | 20 |
| Tabel 4.1. Data berat basah organ hati untuk tiap kelompok perlakuan .....  | 31 |
| Tabel 4.2. Data persentase rata-rata lobulus hati normal (derajat kerusakan 0) dan derajat kerusakan lobulus hati tiap kelompok perlakuan (%) ... | 37 |
| Tabel 4.3. Data diameter rata-rata vena sentralis tiap kelompok perlakuan .....   | 39 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|             |  |    |
|-------------|--|----|
| Lampiran 1  | Perhitungan dosis infus sirih merah ( <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum) untuk <i>M. musculus</i> ..... | 60 |
| Lampiran 2  | Pembuatan larutan karbon tetraklorida dosis 400 mg/kg bb .....   | 61 |
| Lampiran 3  | Cara pengukuran diameter vena sentralis.....   | 62 |
| Lampiran 4  | Uji normalitas Shapiro-Wilk data berat basah rata-rata organ hati .....                                    | 63 |
| Lampiran 5  | Uji homogenitas Levene terhadap berat basah rata-rata organ hati .....                                     | 64 |
| Lampiran 6  | Uji analisis variansi (anava) 1-faktor terhadap data berat basah rata-rata organ hati.....                 | 65 |
| Lampiran 7  | Uji perbandingan berganda LSD terhadap data berat basah rata-rata organ hati .....                         | 66 |
| Lampiran 8  | Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap terhadap data diameter rata-rata vena sentralis.....                  | 68 |
| Lampiran 9  | Uji homogenitas Levene terhadap data diameter rata-rata vena sentralis .....                               | 69 |
| Lampiran 10 | Uji analisis variansi (anava) 1-faktor terhadap data diameter rata-rata vena sentralis .....               | 70 |
| Lampiran 11 | Uji perbandingan berganda LSD terhadap data diameter rata-rata vena sentralis .....                        | 71 |

## BAB 1 PENDAHULUAN

Hati merupakan organ terbesar di dalam tubuh yang terletak dalam rongga abdomen (Sherwood 1996: 565). Hati berperan antara lain dalam fungsi sekresi; dalam metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. Selain itu, hati berfungsi dalam memproduksi protein plasma, empedu, faktor-faktor pembekuan darah; proses eritropoiesis; dan dalam proses detoksifikasi (Sherwood 1996: 565; Setiadi 2007: 80--81; Murugaian *dkk.* 2008: 685).

Hati merupakan organ dalam yang pertama kali dilewati oleh semua bahan hasil penyerapan yang dilakukan oleh usus halus. Bahan tersebut akan dimetabolisme oleh hati sebelum didistribusikan ke bagian tubuh yang lain. Oleh karena itu, hati menjadi organ yang sangat rentan terhadap toksikan (Ngatidjan 1991: 19). Toksikan adalah zat yang dapat menimbulkan efek toksik bagi tubuh organisme. Salah satu toksikan yang dapat menimbulkan efek toksik adalah radikal bebas (Lu 1995: 208).

Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga tidak stabil dan bersifat sangat reaktif (Fessenden & Fessenden 1979: 223). Salah satu contoh zat yang dapat menjadi radikal bebas yaitu karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>). Karbon tetraklorida akan mengalami perubahan struktur di dalam tubuh menjadi radikal bebas, yaitu triklorometil peroksi (CCl<sub>3</sub>OO<sup>·</sup>) (Manahan 2003: 324). Radikal bebas tersebut dapat menginduksi peroksidasi lipid, yang selanjutnya dapat mengakibatkan kerusakan membran sel, termasuk membran sel hati (Manna *dkk.* 2006: 2).

Pengobatan dengan terapi medis untuk mengurangi kerusakan hati akibat penyakit atau radikal bebas dilakukan dengan cara mengurangi peradangan; gejala kerusakan; dan infeksi yang terjadi (*lihat* Afifah 2006: 1). Terapi medis dengan obat-obatan sintesis yang digunakan untuk mengatasi kerusakan hati, kadang-kadang tidak berhasil, dapat menimbulkan efek samping, dan bahkan dapat menambah kerusakan hati (Gips & Wilson 1995: 221 & 269; Mills & Bone 2000: 190; Manokaran *dkk.* 2008: 398). Oleh karena itu, para peneliti di bidang biologi dan farmasi berusaha mencari alternatif pengobatan hati dengan menggunakan

bahan alam (*lihat Afifah 2006: 2*). Penggunaan bahan alam khususnya tumbuh-tumbuhan sebagai obat alternatif memiliki efek holistik, serta tidak menimbulkan efek samping (*Gan 2003: 1*).

Tumbuhan yang telah diketahui berpotensi melindungi hati antara lain daun kepel atau *Stelechocarpus burahol* (*Sunarni dkk. 2007: 114*); herba ceplukan atau *Physalis angulata* (*Amalia 2008: 11*); daun sambung nyawa atau *Gynura procumben* (*Ulfa 2008: 10*); mengkudu atau *Morinda citrifolia* (*Bhawna & Kumar 2009: 1331*); salam atau *Syzygium polyanthum* (*Wijayanti 2008: 5*); dan pepaya atau *Carica papaya* (*Adeneye dkk. 2009: 29*). Tumbuhan-tumbuhan tersebut mempunyai senyawa antara lain polifenol dan flavonoid. Polifenol (*Young dkk. 2006: 52*) dan flavonoid (*Suratmo 2008: 1*) merupakan senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan. Oleh karena itu, polifenol dan flavonoid diduga dapat melindungi dan mengobati kerusakan hati akibat radikal bebas.

Sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum) dikenal sebagai tanaman hias yang sering digunakan dalam upacara adat di Yogyakarta. Sirih merah juga digunakan sebagai tanaman obat. Secara tradisional, sirih merah dapat mengobati penyakit kencing manis, batu ginjal, radang prostat, radang mata, keputihan, asam urat, kelelahan, nyeri sendi, menurunkan kolesterol, dan penyakit hati (*Sudewo 2009: 45*).

Pemanfaatan sirih merah dilakukan dengan mengonsumsi daunnya atau diekstrak untuk mengambil bahan aktif yang terkandung di dalamnya. Bahan aktif tersebut antara lain flavonoid, alkaloid, senyawa polifenol, minyak atsiri, dan tanin (*Manoi 2007: 17; Sudewo 2009: 45*). *Young dkk. (2006: 53)* membuktikan bahwa kerabat sirih merah yaitu sirih hijau mempunyai potensi proteksi terhadap kerusakan hati. Zat yang berperan dalam perbaikan kerusakan hati tersebut adalah flavonoid dan senyawa polifenol. Senyawa polifenol selain dapat berperan sebagai antioksidan, dapat pula mengurangi pertumbuhan sel kanker (*Young dkk. 2006: 52--53*). Selain itu, sirih merah mengandung senyawa penting seperti  $Ca^{2+}$  channel blockers (*Kumar dkk. 2009: 735*), asam amino, dan vitamin C (asam askorbat) (*Prahastuti & Tambunan 2004: 17*).

Penelitian-penelitian tentang sirih merah sebagai bahan uji sudah dilakukan oleh beberapa peneliti. *Juliantina dkk. (2009: 8)* membuktikan bahwa



sirih merah mengandung bahan antibakteri yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit infeksi. Ekstrak etanol sirih merah telah diketahui dapat mengatasi peradangan yang disebabkan oleh karagenan (Subarnas 2007: 50). Suratmo (2008: 4) membuktikan bahwa fraksi ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Berdasarkan kenyataan bahwa sirih merah mengandung senyawa antioksidan, maka sirih merah diduga memiliki potensi antihepatotoksik. Oleh karena itu, penelitian tentang uji potensi antihepatotoksik sirih merah perlu dilakukan.

Penelitian mengenai bahan yang mempunyai potensi antihepatotoksik dilakukan dengan cara merusak hati hewan percobaan terlebih dahulu. Zat yang digunakan untuk merusak hati salah satunya dengan menggunakan karbon tetraklorida. Karbon tetraklorida telah diketahui dapat menyebabkan nekrosis (Hinton & Grasso 1995: 102), steatosis (Jaeschke 2008: 566), dan sirosis (Sherlock & Dooley 2002: 367) pada hati. Menurut Ilyas (1991: 19), dosis karbon tetraklorida sebesar 400 mg/kg bb secara intraperitoneal dapat mengakibatkan kerusakan histologi hati (Lampiran 1). Karbon tetraklorida tersedia dalam bentuk murni dan dapat memberikan efek yang sama pada spesies yang berbeda (Isrizal 1996: 10; Zimmerman 1999: 229 & 233).

Hewan percobaan kemudian diberikan bahan uji berupa infus simplisia sirih merah, dua belas jam setelah disuntik  $\text{CCl}_4$  (Ilyas 1991: 19). Dosis yang digunakan pada penelitian pendahuluan yaitu 5% b/v; 10% b/v; dan 15% b/v (Sudewo 2009: 86). Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan terjadi perbaikan hati yang diberikan dosis 5% b/v jika dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya diberikan  $\text{CCl}_4$ .

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, dosis yang digunakan untuk mengetahui potensi antihepatotoksik daun sirih merah (*Piper betle* L.) yaitu, 5% b/v; 10% b/v; dan 15% b/v. Penentuan dosis tersebut dilakukan untuk mengetahui dosis sirih merah yang paling berpengaruh terhadap perbaikan hati *Mus musculus* jantan galur DDY. Pemberian bahan uji dilakukan selama 48 jam (2 hari) dengan selang waktu tiap 12 jam (Ilyas 1991: 19). Hal tersebut dilakukan karena kerusakan akut pada hati akibat karbon tetraklorida mencapai maksimum dalam

jangka waktu 24--48 jam. Hati kemudian akan melakukan regenerasi dengan sendirinya setelah 48 jam (Isrizal 1996: 10; Zimmerman 1999: 229 & 233).

Kerusakan hati bila dilihat secara histologis akibat  $\text{CCl}_4$ , yaitu terjadi pelebaran vena sentralis yang disertai pembendungan (Leeson *dkk.* 1996: 264--266), nekrosis, dan terbentuknya perlemakan (steatosis) (Lu 1995: 208--213). Hati akan mengalami penambahan berat bila mengalami kerusakan. Hal tersebut terjadi karena terjadinya pembendungan aliran darah dalam hati (Ressang 1984: 58) dan perlemakan (steatosis) (Lu 1995: 96).

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui potensi antihepatotoksik infus simplisia sirih merah dengan dosis 5%; 10%; dan 15% b/v pada *Mus musculus* L. jantan galur DDY terhadap histologi dan berat basah organ hati. Hipotesis penelitian yang ingin diuji adalah pemberian infus simplisia *Piper betle* L. dengan dosis 5%; 10%; dan 15% b/v dapat memberikan pengaruh antihepatotoksik pada histologi hati dan berat basah organ hati *Mus musculus* L. jantan galur DDY yang telah diinduksi karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ).

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. SIRIH MERAH (*Piper betle* L. VARIASI RUBRUM)

*Piper betle* L. dalam bahasa Indonesia disebut dengan sirih. Sirih mempunyai nama lain seperti suruh (Jawa); seureuh (Sunda); ranub (Aceh); cabai (Mentawai); *papek ikmo* (Filipina); dan *phlu* (Thailand). Sirih merupakan tumbuhan asli dari bagian tengah dan timur kawasan Malesia. Sirih telah mengalami kultivasi selama lebih dari 2500 tahun yang lalu. Tumbuhan tersebut kemudian menyebar ke daerah Madagaskar, Afrika bagian timur, dan sampai ke Eropa pada abad ke-15 (Van Der Vossen & Wessel 2000: 102). Sirih (*Piper betle* L.) mempunyai variasi bentuk, ukuran, dan warna daun. Kehalusan permukaan daun sirih, ketajaman aroma, dan kepadaran warna dari tiap variasi sirih pun berbeda. Beberapa variasi sirih memiliki tulang daun dan petiolus yang berwarna merah (Van Der Vossen & Wessel 2000: 104).

#### 2.1.1. Klasifikasi sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum)

Menurut Backer & Van Den Brink (1963: 167--173), *Piper betle* diklasifikasikan sebagai berikut:

|          |  |
|----------|--|
| Kerajaan | : Plantae                              |
| Divisi   | : Magnoliophyta                        |
| Kelas    | : Magnoliopsida                        |
| Bangsa   | : Piperales                            |
| Suku     | : Piperaceae                           |
| Marga    | : <i>Piper</i>                         |
| Jenis    | : <i>Piper betle</i> L. variasi rubrum |

### 2.1.2. Deskripsi sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum)

*Piper betle* merupakan tumbuhan merambat yang dibudidayakan oleh suku-suku di seluruh Indonesia. Pembudidayaan tumbuhan tersebut diperlukan perlakuan khusus, sehingga tidak dapat dilakukan dalam jumlah yang besar. *Piper betle* membutuhkan tiang penyangga yang digunakan untuk tempat merambat. *Piper betle* dapat dipanen daunnya sampai dengan umur 10--12 tahun, tetapi jika dilakukan pemupukan dan pemeliharaan yang baik dapat menghasilkan sampai berpuluh-puluh tahun (Heyne 1987: 623).

Daun *Piper betle* berbentuk *ovatus* dengan bentuk membulat pada bagian pangkalnya. Tepian daun rata dan bagian ujung daun meruncing (*acuminatus*). Posisi duduk daun sirih saling berlawanan satu sama lain (Gambar 2.1) (Backer & Van Den Brink 1963: 173; Van Der Vossen & Wessel 2000: 103). Permukaan atas dan bawah daun halus dan mengilap, serta mempunyai panjang berkisar antara 5--18 cm (Backer & Van Den Brink 1963: 173). Batang *Piper betle* beruas dan pada tiap ruas tumbuh akar adventif yang berfungsi untuk memanjat. Batang tersebut mempunyai ciri pada bagian ruas nodusnya yang membesar (Gambar 2.1 tanda panah) (Van Der Vossen & Wessel 2000: 103).



Gambar 2.1. Tumbuhan sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum) (a. Tampak atas; b. Tampak bawah)

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Sirih (*Piper betle*) mempunyai banyak variasi. Salah satunya adalah sirih merah. Ciri khas tanaman tersebut di antaranya, adalah warna batang hijau keunguan dan tidak berbunga, daunnya bertangkai membentuk jantung. Selain itu, permukaan daun bagian bawah berwarna merah keperakan (Manoi 2008: 17).

*Piper betle* dikategorikan sebagai tumbuhan berumah dua (*dioecious*). Tumbuhan *dioecious* yaitu tumbuhan yang memiliki bunga jantan dan bunga betina terpisah pada masing-masing individu dengan spesies yang sama (Tjitrosoepomo 2005: 146). Tipe perbungaan (*inflorescentia*) pada *P. betle* adalah *amentum* (beruntai). Benang sari *P. betle* mempunyai *pedunculus* yang pendek (1,5--3 cm), sedangkan putik *P. betle* mempunyai panjang *pedunculus* 2,5--6 cm (Backer & Van Den Brink 1963: 173; Van Der Vossen & Wessel 2000: 103).

### 2.1.3. Kandungan senyawa sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum)

Sirih merah mengandung minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin, polifenol, dan flavonoid (Manoi 2007: 17; Sudewo 2009: 45). Polifenol dan flavonoid dikenal berpotensi sebagai antioksidan (Mills & Bone 2000: 32 & 69). Penelitian Sunarni *dkk.* (2007: 113), Cos *dkk.* (1998: 71), dan Kuncahyo & Sunardi (2007: E-2) menyatakan flavonoid dan senyawa polifenol (Young *dkk.* 2006: 53) terbukti memiliki fungsi sebagai penangkap radikal bebas.

Flavonoid merupakan senyawa yang sangat mudah ditemukan pada semua tumbuhan dalam bentuk metabolit sekunder (Oke & Hamburger 2002: 77). Flavonoid biasanya terdapat di daun yang berfungsi sebagai pelindung dari radiasi sinar ultraviolet (Mills & Bone 2000: 31). Flavonoid (Van Hu *dkk. dalam* Mills & Bone 2000: 32) dan senyawa polifenol (Young *dkk.* 2006: 53) mempunyai kemampuan untuk mengikat radikal bebas atau sebagai antioksidan. Oleh karena itu, flavonoid dan senyawa polifenol dapat digunakan untuk mengobati gangguan fungsi hati (Bhawna & Kumar 2009: 1330).

Kandungan kimia lainnya yang terdapat pada daun sirih merah adalah minyak atsiri (1--4,2%) (Manoi 2007: 19; Suratmo 2008: 1), hidroksikavikol, kavikol (7,2--16,7%), kavibetol (2,7--6,2%), allylprokatekol (0--9,6%), karvakrol (2,2--5,6%), eugenol (26,8--42,5%), p-cymene (1,2--2,5%), cineole (2,4--4,8%),

caryofelen (3,0--9,8%), kadinen (2,4--15,8%), estragol, terpenena, dan fenil propada (Baheramsyah 2009: 191). Senyawa karvakrol bersifat desinfektan sehingga dapat digunakan sebagai antiseptik. Eugenol adalah salah satu zat yang dapat digunakan sebagai pengurang rasa sakit, dan tanin dapat digunakan untuk mengatasi sakit perut (Manoi 2007: 19). Senyawa hidroksikavikol mempunyai kemampuan untuk menangkap radikal bebas yang dapat menyebabkan pecahnya trombosit (Chang *dkk.* 2007: 81). Selain itu, sirih mengandung gula, pati (Baheramsyah 2009: 191), *calcium channel blockers* (Kumar 2009: 735), riboflavin, tiamin, asam nikotinat, vitamin (A, B, dan C), yodium, kalium nitrat, enzim katalase, enzim diastase, alkaloid arakene, asam malat, asam oksalat, dan asam amino (Prahastuti & Tambunan 2004: 17--18).

*Calcium channel blockers* yang terdapat dalam *P. betle* akan menghambat terjadinya kematian sel (Farghali *dkk.* 2000: 261--262). Kandungan asam amino dan vitamin C yang ada pada *P. betle* akan merangsang perbaikan jaringan yang rusak (Percival 1997: 3). Kandungan flavonoid dan polifenol terbukti memiliki aktivitas *scavenging* terhadap radikal bebas yang dapat mencegah kerusakan sel, sehingga menghambat kerusakan sel yang semakin meluas (Reyes *dkk.* 2008: 133; Arhoghro *dkk.* 2009: 128--129).

Hasil ekstrak etanol daun sirih merah berupa golongan senyawa-senyawa fenolat, flavonoid, alkaloid (Suratmo 2008: 4), saponin, monoterpen, seskuiterpen, kuinon, dan steroid (Subarnas 2009: 50). Daun sirih merah yang diekstrak menggunakan n-heksana tidak menarik senyawa yang bersifat sebagai anti oksidan, tetapi berupa minyak atsiri, lemak, dan minyak (Suratmo 2008: 4).

#### 2.1.4. Manfaat sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum)

Sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum) secara tradisional dapat mengatasi diabetes melitus, kanker rahim, leukemia, jantung koroner, dan asam urat. Ekstrak daun sirih merah juga mampu mengatasi sariawan, keputihan, dan pembersih luka (Sudewo 2009: 40). Berdasarkan penelitian Juliantina *dkk.* (2009: 8), sirih merah mengandung bahan antibakteri yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit infeksi. Bakteri yang digunakan dalam penelitian tersebut

adalah bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri gram negatif (*E. coli*). Hasil yang didapat dari penelitian tersebut yaitu ekstrak etanol sirih merah yang dipakai mempunyai kemampuan lebih baik pada bakteri gram negatif dibandingkan dengan bakteri gram positif (Juliantina *dkk.* 2009: 8). Menurut Kumar *dkk.* (2009: 735), sirih dapat mengurangi kerusakan sel otot jantung akibat kelebihan kalsium.

Ekstrak etanol sirih merah telah diketahui dapat mengatasi peradangan yang disebabkan oleh karagenan. Ekstrak tersebut diberikan secara oral dengan dosis 250, 500, dan 1000 mg/kg bb. Hasil penelitian menunjukkan dosis 250 dan 500 mg/kg bb mempunyai hasil yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif yang diberi indometasin dengan dosis 10 mg/kg bb (Subarnas 2009: 54). Selain itu, Manoi (2007: 19) menyatakan uji praklinis ekstrak sirih merah dengan dosis 20 mg/kg bb yang diberikan ke tikus tidak menimbulkan efek toksik, bahkan dapat menurunkan glukosa darah sebanyak 34,3% .

## 2.2. HATI

Hati merupakan organ yang paling besar yang terdapat dalam tubuh dengan berat sekitar 3,5% berat badan tikus dewasa atau 2% dari berat badan manusia dewasa. Struktur makroskopik hati berbeda pada setiap spesies. Hati manusia terbagi atas dua lobus, yaitu lobus kiri dan kanan (Hinton & Grasso 1995: 555). Hati tikus dan mencit terbagi atas beberapa lobus, yaitu lobus median, lobus kaudal, dan lobus lateral kiri dan kanan (Sirois 2005: 89). Mencit memiliki kantung empedu yang terletak di bagian posterior lobus median (Sirois 2005: 89), sedangkan tikus tidak memiliki kantung empedu (Suckow *dkk.* 2006: 106).

Hati terletak di sebelah kanan atas rongga pencernaan. Hati dilindungi tulang rusuk (*costae*) bagian bawah, sehingga dalam keadaan normal, hati yang sehat tidak teraba (Miller *dkk.* 1977: 475; Setiadi 2007: 77). Hati dalam keadaan segar berwarna merah tua atau merah coklat. Hal tersebut terjadi karena hati menerima darah yang sangat banyak (Ham 1974: 686; Leeson *dkk.* 1996: 383). Aliran darah yang diterima hati sebanyak 80% berasal dari vena porta dan 20% berasal dari arteri hepatica. Seluruh materi yang diserap oleh usus akan melewati

hati melalui vena porta, kecuali lemak yang diangkut melalui pembuluh limfe. Hal tersebut menyebabkan hati menjadi organ yang pertama kali terpajan zat toksik (Ross *dkk.* 1995: 496; Leeson *dkk.* 1996: 383; Junqueira *dkk.* 1997: 317 & 321).

## 2.2.1. Histologi hati

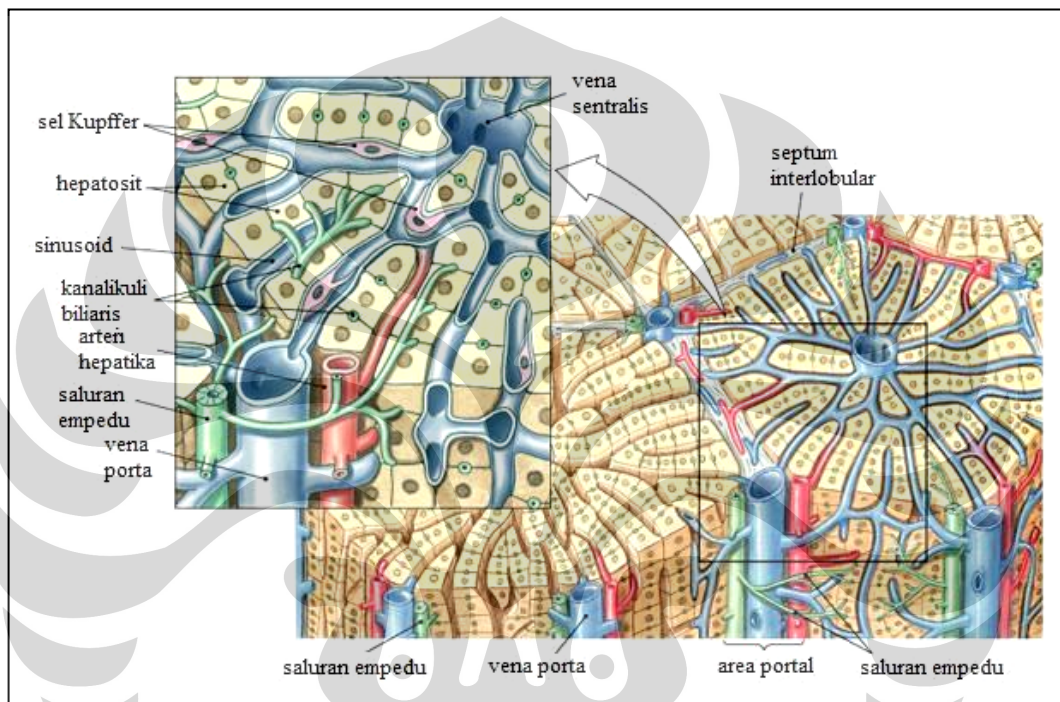
### 2.2.1.1. Sel hati (hepatosit)

Sel hati (hepatosit) merupakan sel epitel yang menyusun hati, berbentuk polihedral dengan enam sisi (Leeson *dkk.* 1996: 386). Hepatosit mempunyai satu atau dua inti berbentuk bulat dengan satu atau dua anak inti (Junqueira *dkk.* 1997: 325). Hepatosit berkelompok membentuk lempeng yang saling berhubungan. Hepatosit berderet secara radial dalam lobulus hati. Lempengan tersebut membentuk lapisan setebal 1--2 sel. Lempengan sel tersebut mengarah dari tepian lobulus ke tengah dan beranastomosa secara bebas membentuk labirin, dengan sinusoid di antaranya (Gambar 2.2) (Leeson *dkk.* 1996: 386; Junqueira *dkk.* 1997: 318--319).

Sinusoid merupakan pembuluh darah kapiler yang melebar tidak teratur. Sinusoid terdiri atas sel-sel endotel yang membentuk lapisan yang tidak utuh (Gambar 2.2) (Ross *dkk.* 1995: 501). Sinusoid berfungsi sebagai tempat pertukaran zat antara darah dan hepatosit sebelum darah mengalir ke vena porta. Sinusoid juga memiliki sel fagositik yang disebut dengan sel Kupffer dan sel penimbun lemak (sel Ito) (Junqueira *dkk.* 1997: 319--321). Sel Kupffer berfungsi untuk menghancurkan sel darah merah yang sudah tua dan bakteri yang terbawa oleh darah (Hinton & Grasso 1995: 568; Sherwood 1996: 565--566). Satu sel Ito dapat ditemukan di antara 20 sel hepatosit. Sel Ito memiliki struktur retikulum endoplasma dan badan golgi yang cukup berkembang dalam fungsinya untuk sekresi. Hal tersebut memperkuat bukti bahwa sel Ito menyekresikan komponen yang digunakan untuk membentuk matriks jaringan ikat (Hinton & Grasso 1995: 568). Sel Ito juga merupakan tempat penyimpanan vitamin A (Jaeschke 2008: 559).



Dua hepatosit yang saling bertemu akan membentuk celah tubular yang disebut dengan kanalikuli biliaris. Kanalikuli biliaris berupa celah yang membentuk tubulus dan memiliki sedikit mikrovili di bagian dalamnya. Kanalikuli biliaris membentuk jaringan-jaring yang rumit menyusuri lempengan lobulus hati dan berakhir dalam duktus biliaris di daerah segitiga portal atau segitiga Kiernan (Gambar 2.2) (Leeson *dkk.* 1996: 384; Junqueira *dkk.* 1997: 324).



Gambar 2.2. Anatomi lobulus hati  
[Sumber: Haford University 2009: 10, diterjemahkan sesuai aslinya.]

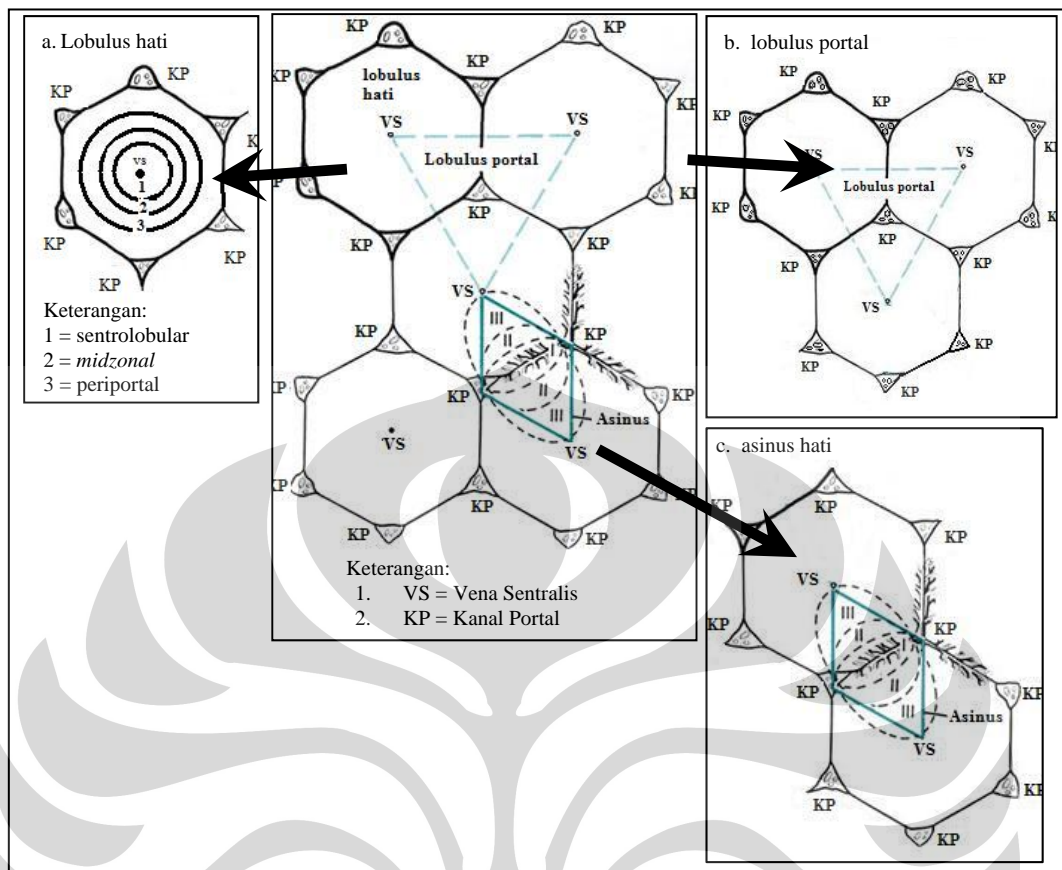
#### 2.2.1.2. Lobulus hati

Lobulus pada hati dapat dibedakan menjadi tiga konsep lobulus, yaitu lobulus klasik atau lobulus hati, lobulus portal, dan asinus hati (Ross *dkk.* 1995: 498). Hati tersusun menjadi unit-unit fungsional yang dikenal sebagai lobulus hati atau lobulus klasik. Lobulus hati dibentuk oleh jaringan berbentuk heksagonal yang berukuran 0,7 x 2 mm dengan vena sentralis di tengah dan segitiga Kiernan yang terdapat pada tepi luar lobulus. Unsur utama segitiga Kiernan terdiri atas arteri hepatika, vena hepatika, dan duktus biliaris (Sherwood

1996: 565). Lobulus hati pada hewan tertentu, seperti babi, terpisah-pisah oleh jaringan ikat. Hal tersebut berbeda dengan manusia yang batas antar lobulusnya berdekatan, sehingga sulit ditetapkan batas lobulusnya (Gambar 2.3a) (Junqueira *dkk.* 1997: 318).

Lobulus klasik merupakan struktur hati berbentuk heksagonal yang digunakan untuk menggambarkan daerah kerusakan hati. Konsep lobulus portal dimaksudkan untuk menegaskan hati sebagai kelenjar eksokrin. Sebuah lobulus portal tampak berbentuk segitiga, mengandung bagian dari tiga lobulus klasik dengan segitiga Kiernan sebagai pusatnya (Gambar 2.3b) (Junqueira *dkk.* 1997: 323).

Asinus hati adalah unit fungsional hati yang terkecil yang digunakan untuk menggambarkan kerusakan patologis hati (Dellman & Brown 1992: 397; Klaassen & Watkins III 1999: 311--312). Asinus hati dibentuk oleh dua bagian lobulus hati dengan pemberian darah dari cabang-cabang vena dan arteri interlobularis (Klaassen & Watkins III 1999: 312). Asinus hati dibagi menjadi tiga zona berdasarkan sistem aliran darah yang melalui hepatosit. Sel-sel pada zona I merupakan sel-sel yang berdekatan dengan pembuluh darah sehingga sel-selnya kaya akan nutrisi, oksigen, dan sedikit metabolit. Sel-sel pada zona II menerima darah dengan kandungan nutrisi dan oksigen yang tidak sebanyak pada zona I. Sel-sel pada zona III merupakan sel-sel yang paling dekat dengan vena sentralis, sehingga mengandung sedikit nutrisi dan oksigen, tetapi kandungan metabolitnya tinggi (Gambar 2.3b) (Telford & Bridgman 1990: 382; Klaassen & Watkins III 1999: 311--312).



Gambar 2.3. Konsep lobulus pada hati  
[Sumber: Keller 2004: 2, dimodifikasi.]

### 2.2.2. Fungsi hati

Hati merupakan salah satu organ yang berperan dalam melaksanakan berbagai fungsi penting di dalam tubuh. Secara fungsional, hati *M. musculus* memiliki kesamaan fungsi dengan hati manusia (Lisdiana 2004: 119). Hati berfungsi sebagai organ sekresi, organ penyimpanan, detoksifikasi, dan berperan dalam metabolisme (Setiadi 2007: 80--81). Hati sebagai organ sekresi yaitu dengan mengeluarkan garam empedu dan menghasilkan enzim glikogenik. Hati sebagai organ penyimpanan dapat menyimpan glikogen, lemak, vitamin A, vitamin D, vitamin E, vitamin K, dan zat besi (Leeson *dkk.* 1996: 395; Setiadi 2007: 80--81). Hati melakukan inaktivasi hormon, detoksifikasi toksin dan obat, serta mengubah zat buangan menjadi bahan racun untuk diekskresi dalam empedu dan urin. Hati berperan dalam mempertahankan homeostatik gula darah dalam

tubuh, mengurai protein, dan menyintesis lemak dari karbohidrat dan protein (Setiadi 2007: 80--81; Murugaian *dkk.* 2008: 685).

### 2.2.3. Regenerasi hati

Hati memiliki kemampuan memperbaiki sel-selnya yang rusak. Sel-sel yang rusak tersebut dapat diganti melalui peningkatan kecepatan pembelahan sel-sel yang sehat (Sherwood 2001: 570). Proses regenerasi sel-sel hati tergantung pada sifat kerusakan, tetapi sel-sel hati yang masih ada mempunyai daya hipertrofi dan hiperplasia (Leeson *dkk.* 1996: 394). Jaringan hati yang rusak akibat pembedahan atau toksikan akan memicu mekanisme pembelahan sel dalam hati. Sel-sel tersebut akan terus membelah sampai jaringan aslinya terbentuk kembali. Jaringan yang digenerasi umumnya serupa dengan jaringan yang hilang (Junqueira *dkk.* 1997: 330--331).

## 2.3. PATOLOGI HATI

Hati berfungsi dalam detoksifikasi senyawa-senyawa toksik. Senyawa toksik yang dapat menyebabkan kerusakan hati di antaranya berasal dari penggunaan obat-obatan farmasi dan zat yang digunakan dalam industri kimia (Jaeschke 2008: 557). Paparan toksikan tersebut dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada sel hati (Lu 1995: 208). Gejala kerusakan sel hati oleh obat dan toksikan tersebut menyerupai gejala penyakit hati lain, seperti gejala kuning (*jaundice*), pembengkakan, dan pelunakan konsistensi hati (Beckingham *dkk.* 2001: 16--17). Secara histologis, kerusakan hati yang terjadi antara lain dapat berupa steatosis, nekrosis, dan sirosis (Lu 1995: 208--213).

Steatosis (perlemakan hati) merupakan kondisi hati yang mengandung berat lemak lebih dari 5% berat total hati (Lu 1995: 208; Jaeschke 2008: 566). Penyebab terjadinya steatosis yaitu penimbunan trigliserida dalam hati (Sherwood 2001: 568--569; Jaeschke 2008: 566). Akumulasi lemak di hati dengan jumlah lebih dari 5%, merupakan penanda toksisitas akut pada kerusakan hati (Hinton & Grasso 1995: 573--574).

Nekrosis merupakan kematian sel-sel hati. Nekrosis hati merupakan manifestasi toksik yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis, karena hati mempunyai kemampuan regenerasi yang luar biasa (Lu 1995: 210). Nekrosis ditandai dengan rusaknya struktur lobulus hati. Sel-sel hati tidak lagi tersusun secara teratur dan berdampingan dengan sel-sel di sebelahnya. Nekrosis biasanya didahului oleh perubahan morfologi sel-sel hati, seperti rusaknya inti sel, homogenisasi sitoplasma, dan pecahnya membran plasma (Lu 1995: 210--211; Manahan 2003: 180).

Sirosis adalah kerusakan hati yang ditandai dengan adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian besar hati (Lu 1995: 212--213). Sirosis merupakan fase akhir dari kerusakan hati yang terjadi akibat pemajanan toksikan secara berulang. Sirosis akan mengakibatkan penggantian sel hepatosit secara permanen oleh jaringan ikat yang kemudian dapat mengganggu sistem vaskular hati (Junquiera *dkk.* 1997: 332; Klaassen & Watkins III 1999: 318).

#### **2.4. KARBON TETRAKLORIDA (CCl<sub>4</sub>)**

Subtansi toksik dapat berupa berbagai macam bentuk dari berbagai macam sumber. Subtansi toksik yang berasal dari alam biasa disebut sebagai toksin, sedangkan subtansi toksik yang dihasilkan dari aktivitas manusia disebut dengan toksikan (Manahan 2003: 116). Paparan toksikan dapat melalui beberapa jalur antara lain, perkutan (kulit), sistem pencernaan, dan sistem pernapasan (Manahan 2003: 120--122).

Karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) merupakan zat yang termasuk dalam jenis toksikan zat organohalida. Zat organohalida merupakan gabungan halogen dengan karbon yang biasa diproduksi dalam jumlah besar untuk pelarut dan katalis. Zat organohalida terbagi atas golongan alkil halida, alkenil halida, dan aril halida (Manahan 2003: 322). Karbon tetraklorida termasuk ke dalam golongan alkil halida, yaitu zat yang atom halogennya digantikan oleh hidrogen dari golongan alkil. Karbon tetraklorida merupakan zat dapat masuk melalui saluran pernapasan dan pencernaan. Efek yang diberikan CCl<sub>4</sub> jika masuk melalui saluran pernapasan akan menimbulkan efek toksik bagi sistem saraf, dan jika

masuk melalui saluran pencernaan, akan menimbulkan efek toksik pada hati, seluruh organ saluran pencernaan, dan ginjal (Manahan 2003: 323--324).

Senyawa toksik yang masuk ke dalam hati akan mengalami proses biotransformasi. Dalam proses biotransformasi, senyawa toksik yang bersifat non-polar akan diubah menjadi senyawa yang lebih larut dalam air, sehingga dapat dieksresikan ke luar tubuh. Oleh karena itu, proses biotransformasi juga disebut sebagai proses detoksifikasi senyawa-senyawa toksik (Lu 1995: 30).

Reaksi yang terjadi pada proses biotransformasi toksikan dibagi menjadi dua, yaitu reaksi fase I yang melibatkan reaksi oksidasi, reduksi, dan hidrolisis; dan reaksi fase II yaitu reaksi konjugasi yang menghasilkan senyawa-senyawa metabolit yang lebih larut dalam air sehingga lebih mudah dieksresikan keluar tubuh (Koolman & Roehm 2005: 316; Jaeschke 2008: 569).

Mekanisme biotransformasi toksikan yang paling utama terjadi pada reaksi fase I dengan enzim-enzim sitokrom P-450 sebagai kelompok enzim utama yang mengkatalisis reaksi tersebut. Enzim-enzim P-450 merupakan suatu protein transpor yang banyak terdapat pada sel hati. Enzim-enzim tersebut memiliki peranan penting dalam mengubah senyawa-senyawa yang bersifat reaktif (toksik) menjadi kurang atau hilang kereaktifannya (netral) (Lu 1995: 30).

Karbon tetraklorida merupakan zat yang sering digunakan sebagai pelarut dalam industri klorofluorokarbon (Manna *dkk.* 2006: 2), pembersih, dan pemadam api (Jaeschke 2008: 1004). Karbon tetraklorida juga merupakan zat yang sering dipakai dalam penelitian yang berhubungan dengan hepatotoksisitas (Murugaian *dkk.* 2008: 686). Karbon tetraklorida dalam dosis rendah dapat mengakibatkan perubahan histopatologik organ hati tanpa menyebabkan perubahan enzim serum dan kematian (Lu 1995: 216).

Proses biotransformasi toksikan fase I dalam hati menyebabkan karbon tetraklorida diubah menjadi radikal bebas triklorometil ( $\text{CCl}_3^\cdot$ ) yang bersifat lebih reaktif. Peristiwa tersebut melibatkan enzim sitokrom P-450 (Lu 1995: 211). Radikal bebas triklorometil kemudian akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal bebas triklorometil peroksi ( $\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$ ) yang lebih reaktif dibandingkan triklorometil. Radikal bebas triklorometil kemudian dapat berikatan dengan sel hati, sehingga dapat menghambat sekresi lipoprotein. Hal tersebut mengakibatkan

terbentuknya jaringan lemak di dalam hati (Manahan 2003: 324; Jaeschke 2008: 572).

## 2.5. MENCIT (*Mus musculus* L.)

Mencit termasuk ke dalam ordo Rodentia, famili Muridae, subfamili Murinae, dan genus *Mus*. Mencit yang dipelihara dalam laboratorium masih satu famili dengan mencit liar. Mencit yang sering digunakan dalam penelitian biomedis adalah *Mus musculus* (Kusumawati 2004: 5).

*Mus musculus* mempunyai sifat yang menguntungkan, antara lain memiliki aktivitas reproduksi yang panjang (2--14 bulan), masa kehamilan yang singkat (19--21 hari), dan dapat hidup hingga tiga tahun. Selain itu, *M. musculus* dapat dipelihara dalam jumlah banyak, memiliki variasi genetik yang cukup besar, dan memiliki sifat anatomis dan fisiologis yang dapat dikenali dengan baik (Malole & Pramono 1989: 94).

Berat badan *M. musculus* jantan dewasa adalah 20--40 g, sedangkan *M. musculus* betina berkisar antara 25--40 g (Malole & Pramono 1989: 96). Seekor *M. musculus* dewasa membutuhkan 15 g makanan dan 15 ml air minum dalam satu hari per 100 g berat badan. *Mus musculus* membutuhkan makanan dengan kadar protein di atas 14% (Malole & Pramono 1989: 99; Sirois 2005: 93). *Mus musculus* digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian toksikologi karena memiliki ciri, sifat, dan pola absorpsi yang mirip dengan manusia (Ngatidjan 1991: 79). Selain itu, *M. musculus* memiliki respon biologik dan adaptasi yang mendekati manusia. Pemilihan *M. musculus* dengan galur, jenis kelamin, umur, dan berat badan yang sama bertujuan untuk menyeragamkan kondisi biologis hewan uji (Malole & Pramono 1989: 5).

## **BAB 3**

### **BAHAN DAN CARA KERJA**

#### **3.1. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Perkembangan, Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia (FMIPA UI), Depok selama 4 bulan, yaitu bulan Februari--Mei 2010.

##### **3.1.1. BAHAN**

###### **3.1.1.1. Sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum)**

Sirih merah yang digunakan berbentuk serbuk kering yang diperoleh dari Perusahaan Jamu Sekar Kedhaton, Blunyahrejo TR II/808, Yogyakarta.

###### **3.1.1.2. Hewan uji**

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus* L.) jantan galur DDY sebanyak 25 ekor, berumur sekitar 2--3 bulan dengan berat 25--30 g, diperoleh dari Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH), Jl. Pembangunan, Gunung Sindur, Bogor, Jawa Barat.

###### **3.1.1.3. Makanan dan minuman *Mus musculus***

Makanan *Mus musculus* berupa pelet yang diperoleh dari CV Kasman, Komplek Depkes Blok C1/8, Sunter Jaya, Jakarta Utara. Komposisi bahan dasar pakan *M. musculus* dapat dilihat pada Tabel 3.1. Minuman *M. musculus* berupa air matang yang diberikan melalui botol gelas minuman di dalam kandang.



Tabel 3.1. Komposisi pakan mencit

| Analisis proksimat pakan tikus | Persentase setiap 100 g (%) |
|--------------------------------|-----------------------------|
| Protein                        | 20--22                      |
| Lemak                          | 2--4                        |
| Serat kasar                    | 4                           |
| Kadar abu                      | 7--9                        |

|                         |
|-------------------------|
| Bahan dasar pakan tikus |
| Bungkil kedelai         |
| Bungkil kelapa          |
| Tepung ikan             |
| Jagung                  |
| Dedak                   |
| Tapioka                 |
| Menir                   |
| Tepung rumput           |
| Minyak kelapa           |

[Sumber: CV. Kasman, Komplek Depkes Blok C1/8, Sunter Jaya, Jakarta Utara.]

#### 3.1.1.4. Bahan-bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah larutan desinfektan [Bayclin], minyak zaitun [Bertolli], larutan karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ), akuades, larutan natrium klorida ( $\text{NaCl}$ ) 0,9% (Tabel 3.2), larutan Bouin (Tabel 3.2), alkohol teknis 70%, alkohol teknis 96%, alkohol 100% [Merck], benzil benzoat (teknis), benzol (teknis), parafin, albumin Meyer (Tabel 3.2), spiritus, xilol (teknis), asam klorida ( $\text{HCl}$ ) 1%, Hemaktosilin Bohmer 1% (Tabel 3.2), Eosin Y 1% (Tabel 3.2), dan entelan [Merck].

Tabel 3.2. Komposisi larutan yang digunakan dalam pembuatan sediaan histologi

| No. | Nama Larutan              | Komposisi zat         | Jumlah zat |
|-----|---------------------------|-----------------------|------------|
| 1.  | Larutan NaCl 0,9%         | NaCl                  | 9 g        |
|     |                           | Akuades               | 1000 ml    |
| 2.  | Larutan Bouin *           | Asam pikrat jenuh     | 75 ml      |
|     |                           | Formalin 40%          | 20 ml      |
|     |                           | Asam asetat glasial   | 5 ml       |
| 3.  | Albumin Meyer             | Putih telur           | 10 ml      |
|     |                           | Gliserin              | 10 ml      |
| 4.  | Larutan Hematoksin Bohmer | Kristal Hematoksin ** | 5 g        |
|     |                           | Potassium alum ***    | 100 g      |
|     |                           | Alkohol 70%           | 60 ml      |
|     |                           | Akuades               | 1000 ml    |
| 5.  | Larutan Eosin Y           | Eosin Y               | 1 g        |
|     |                           | Akuades               | 100 ml     |

Keterangan:

- \* Larutan Bouin dicampur pada saat digunakan
- \*\* Kristal Hematoksin dilarutkan dalam alkohol
- \*\*\* Potassium alum dilarutkan dalam akuades

[Sumber: Luna 1968: 55; Clark *dkk.* 1973: 15 & 25.]

### 3.1.2. PERALATAN

#### 3.1.2.1. Pemeliharaan *Mus musculus*

Kandang yang digunakan untuk *M. musculus* berupa bak plastik berukuran (30 x 20 x 10) cm<sup>3</sup> yang diberi serutan kayu sebagai alas, tutup kandang terbuat dari anyaman kawat dengan jarak anyaman 0,5 cm, *exhaust fan* [National W-100], timbangan *M. musculus* [OHAUS GT 4000], higrotermometer [Baringo], lampu

20 watt [Philips], pengatur cahaya, pemanas air elektrik [Lion Star], dan botol gelas minuman.

#### 3.1.2.2. Pembuatan infus simplisia sirih merah dan larutan $\text{CCl}_4$

Peralatan yang digunakan meliputi timbangan analitik listrik *Libror* [Shimadzu AEL-200], kaca arloji, gelas beaker 100 ml [Pyrex], gelas ukur 10 ml [Pyrex], labu ukur 100 ml [Pyrex], *aluminium foil*, batang pengaduk, pipet kaca, *magnetic stirrer* [Cole Parmer Instrument Company], kain flanel, botol semprot akuades, dan corong kaca [Pyrex].

#### 3.1.2.3. Pemberian infus sirih merah dan larutan $\text{CCl}_4$

Peralatan yang digunakan yaitu sonde lambung (*gavage needle*), *disposable syringe* 1 ml [Terumo], dan jarum suntik 26 gauge [Terumo].

#### 3.1.2.4. Pengambilan dan pembuatan sediaan histologis organ hati

Peralatan yang digunakan yaitu botol film, *dissecting set*, papan bedah, silet [Goal], kertas tisu [Giant], standar warna [Fan Colour Ace Hardware], oven [Lab. Line Instrument], inkubator [Sakura], kotak parafin, lampu spiritus, kayu, kuas kecil, mikrotom putar [American Optical], *hot plate* [Sakura], gelas obyek [Sail Brand], kaca penutup [Assistant], *staining jar* [AHT Co.], lemari pendingin [Bauknecht], dan rak preparat yang terbuat dari kayu.

#### 3.1.2.5. Pengamatan sediaan histologis organ hati

Peralatan yang digunakan yaitu mikroskop medan terang [Nikon], mikrometer obyektif, *microprojector* [Ken A Vision], kamera digital [Sony], jangka sorong [Mitutoyo], dan alat tulis menulis.

### 3.1.3. CARA KERJA

#### 3.1.3.1. Rancangan penelitian

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dilakukan secara acak dengan 5 perlakuan dan 5 kali ulangan. Jumlah perlakuan dan ulangan dibuat berdasarkan rumus Frederer, yaitu  $(t-1)(n-1) \geq 15$ , dengan  $t$  adalah jumlah perlakuan dan  $n$  adalah jumlah ulangan (Hanafiah 1997: 6). Perlakuan yang dimaksud adalah:

- a. Kelompok kontrol 1 (KK1), yaitu kelompok *M. musculus* yang diinjeksi dengan minyak zaitun sebanyak 10 ml/kg bb secara intraperitoneal, kemudian dilanjutkan dengan pencekohan akuades sebanyak 10 ml/kg bb selama 48 jam dengan selang waktu 12 jam, dan 2 jam setelah pemberian akuades terakhir dilakukan pembedahan.
- b. Kelompok kontrol 2 (KK2), yaitu kelompok *M. musculus* yang diinjeksi dengan larutan karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ) dosis tunggal 400 mg/kg bb secara intraperitoneal, kemudian dilanjutkan dengan pencekohan akuades sebanyak 10 ml/kg bb selama 48 jam dengan selang waktu 12 jam, dan 2 jam setelah pemberian akuades terakhir kemudian dilakukan pembedahan.
- c. Kelompok perlakuan 1 (KP1), yaitu kelompok yang diinjeksi dengan larutan  $\text{CCl}_4$  dosis 400 mg/kg bb secara intraperitoneal, kemudian dilanjutkan dengan pencekohan infus sirih merah dosis 5% b/v sebanyak 10 ml/kg bb selama 48 jam dengan selang waktu 12 jam, dan 2 jam setelah pemberian infus terakhir dilakukan pembedahan.
- d. Kelompok perlakuan 2 (KP2) yaitu kelompok yang diinjeksi dengan larutan  $\text{CCl}_4$  dosis 400 mg/kg bb secara intraperitoneal, kemudian dilanjutkan dengan pencekohan infus sirih merah dosis 10% b/v sebanyak 10 ml/kg bb selama 48 jam dengan selang waktu 12 jam, dan 2 jam setelah pemberian infus terakhir dilakukan pembedahan.
- e. Kelompok perlakuan 3 (KP3) yaitu kelompok yang diinjeksi dengan larutan  $\text{CCl}_4$  dosis 400 mg/kg bb secara intraperitoneal, kemudian dilanjutkan dengan pencekohan infus sirih merah dosis 15% b/v sebanyak 10 ml/kg bb selama 48

jam dengan selang waktu 12 jam, dan 2 jam setelah pemberian infus terakhir dilakukan pembedahan.

### 3.1.3.2. Pemeliharaan hewan percobaan

*Mus musculus* jantan yang digunakan diadaptasikan terlebih dahulu dalam ruang kandang Laboratorium Biologi Perkembangan Hewan Departemen Biologi FMIPA-UI selama 7 hari atau sampai beratnya konstan. *Mus musculus* jantan sebanyak 25 ekor dipelihara dalam kandang plastik yang diberi alas serbuk gergaji untuk menyerap kotorannya. Setiap kandang berisi 5 ekor *M. musculus* yang mewakili 5 perlakuan.

Makanan dan minuman diberikan setiap hari secara *ad libitum* (tanpa batas) dan diletakkan pada wadah di dalam kandang. Kandang dibersihkan setiap 2 hari dengan cara mencucinya dengan sabun sampai bersih, lalu direndam dalam desinfektan, dan dibilas dengan air. Alas kandang selanjutnya diganti dengan serutan kayu yang baru. Kandang plastik yang berisi *M. musculus* diletakkan di ruang kandang Laboratorium Biologi Perkembangan Hewan Departemen Biologi FMIPA-UI. Suhu di dalam ruangan adalah 20--30° C, dan kelembabannya 60--80%. Penerangan ruangan menggunakan lampu 20 watt dan pertukaran udara dibantu dengan *exhaust fan*.

### 3.1.3.3. Pembuatan larutan karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>)

Dosis CCl<sub>4</sub> yang digunakan adalah 400 mg/kg bb. Karbon tetraklorida yang digunakan dalam penelitian memiliki berat jenis 1,59 g/ml. Pembuatan larutan karbon tetraklorida dosis 400 mg/kg bb sebanyak 10 ml dilakukan dengan cara memasukkan 0,25 ml CCl<sub>4</sub> ke dalam gelas ukur 10 ml. Minyak zaitun kemudian ditambahkan ke dalam gelas ukur tersebut hingga volumenya mencapai 10 ml (Lampiran 1).

#### 3.1.3.4. Pembuatan infus simplisia sirih merah

Pembuatan infus sirih merah dengan dosis 5% b/v diperoleh dengan cara memasukkan 5 g serbuk sirih merah ke dalam labu ukur, kemudian diisi akuades sampai mencapai volume 100 ml. Larutan dipindahkan ke gelas piala. Kemudian diletakkan pada wadah yang telah dipanaskan di penangas air dengan suhu 90° C. Larutan tersebut kemudian dipanaskan sampai suhu mencapai 90° C selama 15 menit. Infus tersebut didinginkan, kemudian disaring dengan kain flanel. Apabila air berkurang, maka ditambahkan dengan air mendidih melalui ampasnya sampai mencapai volume 100 ml (Depkes RI 1995: 9). Infus sirih merah dosis 10% b/v dan 15% b/v dibuat dengan memasukkan berturut-turut 10 g dan 15 g serbuk sirih merah ke dalam masing-masing labu ukur, kemudian diisi akuades sampai mencapai 100 ml dan dipindahkan ke gelas beaker (Lampiran 2).

#### 3.1.3.5. Perlakuan terhadap *M. musculus*

Infus sirih merah diberikan secara oral dengan menyesuaikan volume infus dengan berat badan. Pemberian akuades juga dilakukan secara oral. Karbon tetraklorida diberikan pada *M. musculus* dengan cara penyuntikan intraperitoneal. Pemberian suatu senyawa toksik secara intraperitoneal akan diikuti oleh penyerapan yang lengkap dan tepat pada organ sasaran (Lu 2006: 87). Sebelum perlakuan, *M. musculus* ditimbang terlebih dahulu kemudian diberikan zat sesuai kelompok-kelompok perlakuan. KK1 hanya diberikan 10 ml/kg bb minyak zaitun secara intraperitoneal, kemudian akuades sebanyak 10 ml/kg bb selama 48 jam dalam selang waktu 12 jam, dan 2 jam setelah pemberian akuades dilakukan pembedahan. KK2 diberikan larutan CCl<sub>4</sub> dosis 400 mg/kg bb secara intraperitoneal, kemudian diberikan akuades sebanyak 10 ml/kg bb selama 48 jam dengan selang waktu 12 jam, dan 2 jam setelah pemberian akuades dilakukan pembedahan. Kelompok perlakuan KP1, KP2, dan KP3 diberikan larutan CCl<sub>4</sub> dosis tunggal 400 mg/kg bb. Dua belas jam kemudian diberikan infus sirih merah (*P. betle*) dengan dosis masing-masing 5% b/v (KP1), 10% b/v (KP2), dan 15% b/v (KP3) secara oral selama 48 jam dengan selang waktu 12 jam. Volume infus

yang diberikan pada kelompok perlakuan setiap kali pengecekkan disesuaikan dengan berat badan *M. musculus* yaitu 1 ml untuk setiap 100 g berat badan (Ngatidjan 1991: 152).

#### 3.1.3.6. Pembuatan sediaan histologi dengan metode parafin

*M. musculus* dikorbankan pada hari kedua dengan cara dislokasi vertebrae servikalis. Pembedahan dilakukan untuk mengisolasi hepar *M. musculus* untuk dibuat preparat dengan metode parafin dan pewarnaan HE (Haematoksilin Eosin).

Tahap pembuatan sediaan tersebut diantaranya adalah:

##### a. Fiksasi

Organ hati dimasukkan ke dalam botol film yang berisi larutan Bouin selama 24 jam, selanjutnya organ tersebut disimpan dalam botol film yang berisi alkohol 70% (Suntoro 1983: 35).

##### b. Dehidrasi

Organ hati direndam dalam alkohol seri konsentrasi naik, diantaranya alkohol 70% selama 1 jam, lalu alkohol 96% selama 1 jam sebanyak 2 kali, dan alkohol 100% selama 1 jam sebanyak 2 kali (Suntoro 1983: 37--38).

##### c. Penjernihan

Organ hati direndam dalam larutan benzil benzoat selama 24 jam hingga organ terlihat transparan, kemudian organ hati dimasukkan dalam larutan benzol selama 15 menit sebanyak 2 kali ulangan (Junquiera *dkk.* 1997: 1).

##### d. Infiltrasi

Parafin dicairkan terlebih dahulu dalam oven (titik leleh 58--72<sup>0</sup> C), kemudian organ hati direndam dalam parafin tersebut selama 1 jam sebanyak 2

kali ulangan. Proses infiltrasi dilakukan dalam inkubator pada suhu tetap 72<sup>0</sup> C (Suntoro 1983: 50).

e. Penanaman (*embedding*)

Potongan-potongan organ hati dimasukkan dalam kotak kertas yang berisi parafin yang telah dicairkan, kemudian dibiarkan hingga parafin dingin dan mengeras. Apabila terdapat gelembung udara di dalam parafin, dapat dihilangkan dengan cara menyentuhkan sonde panas pada gelembung tertentu. Peletakkan organ pada parafin harus sesuai dengan bidang pemotongan yang diinginkan (Suntoro 1983: 59--60).

f. Penyayatan

Parafin yang berisi organ hati dikeluarkan dari kotak kertas, kemudian organ disayat dengan menggunakan mikrotom. Parafin tersebut direkatkan pada kayu pemegang, kemudian dipasang pada mikrotom putar. Penyayatan dilakukan dengan ukuran ketebalan 7  $\mu\text{m}$ , sehingga terbentuk pita-pita (Suntoro 1983: 63--64).

g. Penempelan

Hasil sayatan organ ditempel pada gelas objek yang sudah diusap dengan albumin Meyer dan ditetesi akuades, kemudian sayatan dipanaskan di atas *hot plate* pada suhu 46<sup>0</sup> C hingga jaringan mengembang dan dibiarkan hingga kering (selama 24 jam) (Suntoro 1983: 66--68).

h. Deparafinisasi

Deparafinisasi bertujuan untuk menghilangkan parafin yang melekat pada sayatan dan sekitarnya pada gelas obyek. Cara yang dilakukan adalah dengan



merendam gelas objek dalam larutan xilol selama 5 menit sebanyak 2 kali ulangan (Suntoro 1983: 69).

i. Hidrasi

Hidrasi dilakukan dengan menggunakan. Materi sayatan pada gelas obyek yang sudah dibersihkan, direndam dalam larutan alkohol seri konsentrasi turun berturut-turut 100%, 96%, dan 70% masing-masing selama 3 menit (Suntoro 1983: 69--70).

j. Pewarnaan

Pewarnaan dilakukan di dalam *staining jar*, dengan cara merendam sediaan tersebut dalam larutan pewarna Hematoksilin Bohmer 1% selama 4 menit, kemudian dicuci dengan akuades atau air mengalir. Apabila warna terlihat terlalu pekat, dilakukan pelunturan dengan cara mencelupkan sediaan ke dalam larutan asam klorida (HCl) 1% dengan 1 kali celup, selanjutnya sediaan diwarnai dengan Eosin Y 1% selama 4 menit (Suntoro 1983: 71--72).

k. Dehidrasi

Sediaan dicelupkan ke dalam larutan alkohol seri konsentrasi naik pada alkohol 70%, 96% dan 100% masing-masing selama 3 menit (Suntoro 1983: 72).

l. Penjernihan

Sediaan direndam ke dalam larutan xilol sebanyak 2 kali, masing-masing selama 3 menit (Suntoro 1983: 72).

#### m. Penutupan

Xilol dan kotoran yang tersisa di sekitar jaringan pada sediaan dibersihkan dengan kertas tisu, kemudian ditetesi satu atau dua tetes entelan tepat di atas sayatan dan ditutup dengan kaca penutup. Apabila terdapat gelembung udara pada kaca penutup, dapat dihilangkan dengan cara menekan kaca penutup dengan sonde, selanjutnya sediaan tersebut dibiarkan mengering pada suhu kamar (Suntoro 1983: 72).

#### 3.1.3.7. Pengamatan makroskopik organ hati, sediaan histologis, dan pengambilan data

Pengamatan makroskopik organ hati dilakukan dengan cara membandingkan berat basah organ hati kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Pengamatan kemudian dilanjutkan pada sediaan histologis hati. Pengamatan dilakukan dengan cara membandingkan preparat histologis antara hati kelompok perlakuan terhadap kontrol. Pengamatan untuk mengetahui ada tidaknya perbaikan jaringan hati, yaitu dengan melihat lobulus hati, vena sentralis, dan hepatositnya. Pengamatan sediaan jaringan hati dilakukan secara semikuantitatif dan kuantitatif. Uji semikuantitatif dilakukan pada 50 lobulus hati dari tiga sediaan tiap ekor perlakuan menunjukkan adanya derajat kerusakan vena sentralis dan jaringan parenkim. Kerusakan vena sentralis pada sediaan meliputi lisisnya sel endotel pada dinding pembuluh vena sentralis. Kerusakan daerah parenkim berupa pelebaran sinusoid dan rusaknya sel-sel hepatosit yang mengalami lisis.

Derajat kerusakan hati terbagi dalam tiga tingkatan (Rahmadhani 2009: 30), yaitu derajat kerusakan 1 (kerusakan ringan), derajat kerusakan 2 (kerusakan sedang), dan derajat kerusakan 3 (kerusakan berat). Derajat kerusakan 1 diberikan pada sediaan organ hati yang mengalami kerusakan di daerah sentrolobulus (kerusakan < 20% luas lobulus). Derajat kerusakan 2 diberikan pada sediaan organ hati yang mengalami kerusakan pada vena sentralis dan sel-sel parenkim di sekitar vena sentralis (kerusakan 20--40% dari luas lobulus). Kerusakan vena

sentralis dan kerusakan sel-sel parenkim yang lebih luas pada jaringan hati (kerusakan > 40% luas lobulus) dinilai sebagai derajat kerusakan 3.

Pengamatan kuantitatif dilakukan dengan mengukur diameter vena sentralis (Lampiran 3). Teknik pengukuran dilakukan dengan menggunakan *microprojector* yang sebelumnya telah dikalibrasi. Setiap perlakuan dibuat tiga sediaan dan pengukuran dilakukan pada 50 diameter vena sentralis. Jumlah sediaan yang diamati dari setiap ekor hewan yaitu tiga sediaan. Jumlah seluruh sediaan yang diamati dari 5 kelompok perlakuan dengan 5 ulangan, yaitu 75 sediaan.

#### 3.1.3.8. Analisis data

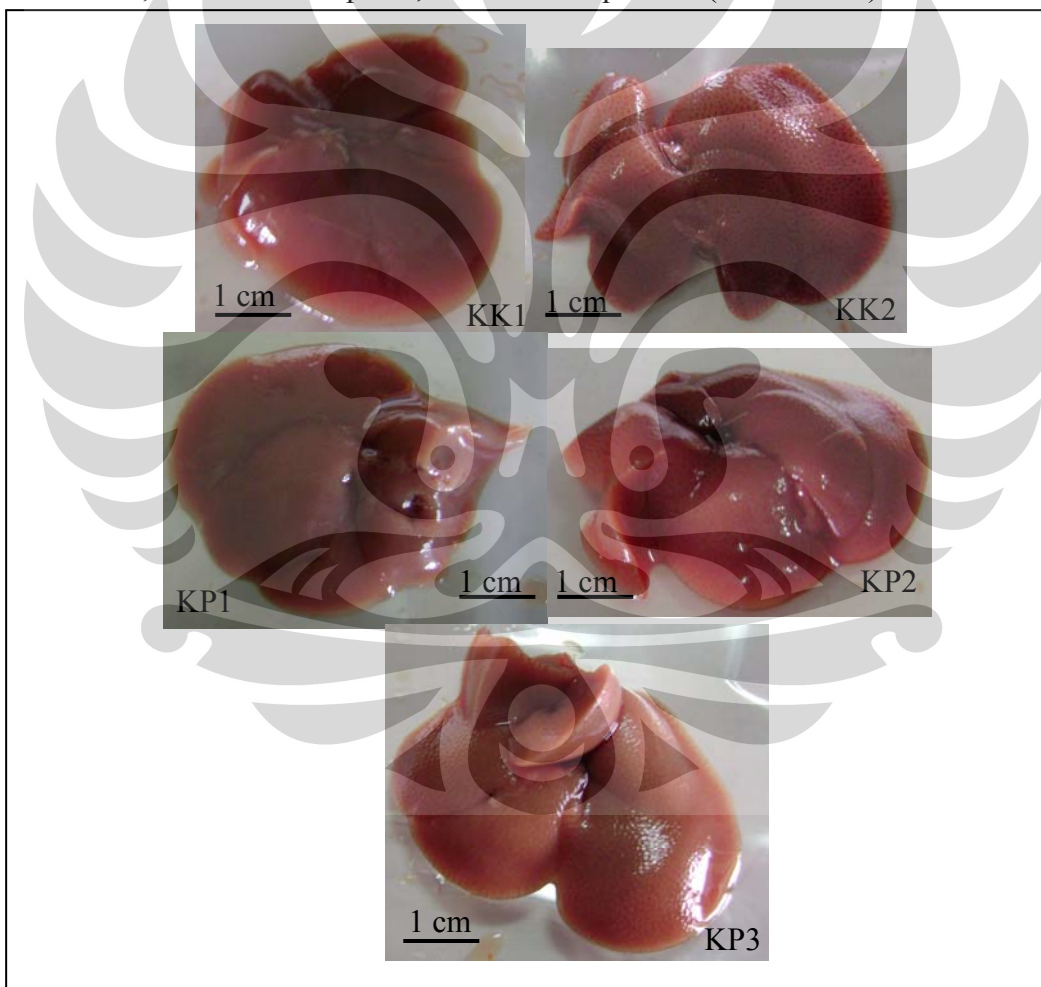
Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental sehingga analisis data dilakukan dengan menggunakan pendekatan statistik. Data diameter vena sentralis dan data berat basah badan organ hati *Mus musculus* diolah dengan menggunakan program komputer *Statistical Product and Service Solution (SPSS)* versi 14.0 for Windows. Data diameter vena sentralis dan berat basah organ hati *M. musculus* diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk, dan diuji homogenitasnya menggunakan uji Levene (Santoso 2003: 183--189, 301). Data diameter vena sentralis yang diperoleh bersifat normal dan variannya homogen, maka data selanjutnya diuji dengan uji parametrik Analisis Variansi (Anava). Uji Anava bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pengaruh faktor perlakuan terhadap diameter vena sentralis pada organ hati dan berat basah organ hati *M. musculus* (Santoso 2003: 189, 291--292). Setelah uji Anava, data diameter vena sentralis diuji dengan uji perbandingan berganda LSD (*Least Significance Difference*) untuk mengetahui perbedaan antara pasangan perlakuan (Conover 1980: 370--372).

## BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. HASIL

#### 4.1.1. Pengamatan makroskopik organ hati

Berdasarkan hasil pengamatan kualitatif organ hati kelompok KK1 berwarna merah segar. Warna organ hati kelompok KK2 tampak pucat. Warna organ hati kelompok perlakuan KP1, KP2, dan KP3 berturut-turut, yaitu merah coklat, merah coklat pucat, dan coklat keputihan (Gambar 4.1).



Gambar 4.1. Morfologi organ hati tiap kelompok perlakuan

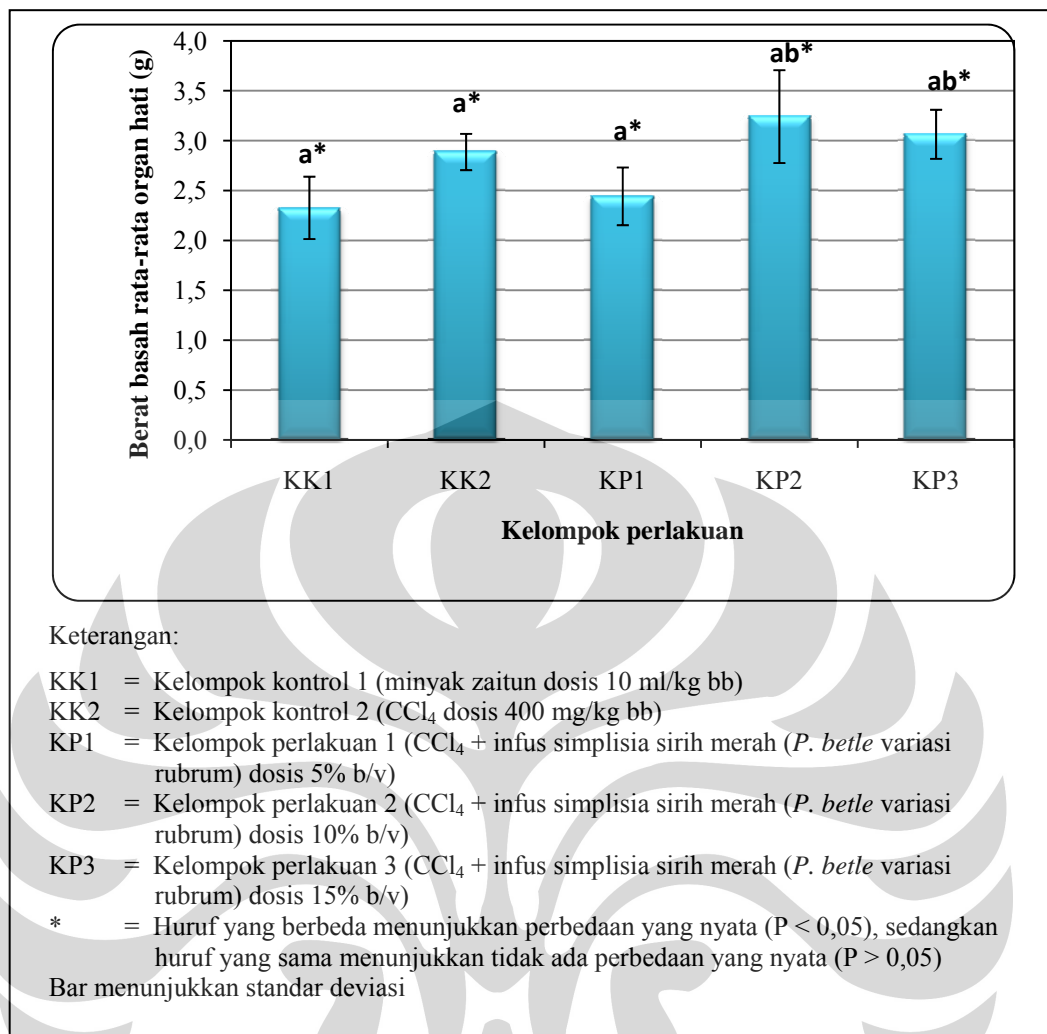
Hasil pengamatan terhadap berat basah organ hati menunjukkan bahwa nilai rata-rata berat basah organ hati pada kelompok kontrol 1 (KK1) menunjukkan nilai terkecil, yaitu 2,326 g. Nilai rata-rata berat organ hati pada kelompok KK2, KP1, KP2, dan KP3 berturut-turut adalah 2,886 g; 2,442 g; 3,241 g; dan 3,063 g.

Tabel 4.1. Data berat basah organ hati untuk tiap kelompok perlakuan

| Ulangan    | Berat basah organ hati <i>Mus musculus</i> (g) |       |       |       |       |
|------------|--|-------|-------|-------|-------|
|            | KK1  | KK2   | KP1   | KP2   | KP3   |
| 1          | 1,052  | 1,604 | 1,567 | 1,578 | 1,743 |
| 2          | 1,210  | 1,542 | 1,192 | 1,557 | 1,736 |
| 3          | 1,819  | 1,941 | 1,712 | 1,929 | 1,710 |
| 4          | 1,286  | 1,664 | 1,122 | 1,952 | 1,723 |
| 5          | 1,611  | 1,908 | 1,732 | 2,707 | 2,277 |
| $\Sigma X$ | 6,978  | 8,658 | 7,326 | 9,723 | 9,190 |
| X          | 2,326  | 2,886 | 2,442 | 3,241 | 3,063 |
| SD         | 0,312  | 0,182 | 0,289 | 0,465 | 0,246 |

Keterangan:

- KK1 = kelompok kontrol 1 (minyak zaitun dosis 10 ml/kg bb)
- KK2 = kelompok kontrol 2 (CCl<sub>4</sub> dosis 400 mg/kg bb)
- KP1 = kelompok perlakuan 1 (CCl<sub>4</sub> + infus simplisia sirih merah (*P. betle* variasi rubrum) dosis 5% b/v)
- KP2 = kelompok perlakuan 2 (CCl<sub>4</sub> + infus simplisia sirih merah (*P. betle* variasi rubrum) dosis 10% b/v)
- KP3 = kelompok perlakuan 3 (CCl<sub>4</sub> + infus simplisia sirih merah (*P. betle* variasi rubrum) dosis 15% b/v)
- $\Sigma X$  = jumlah nilai berat basah organ hati
- X = nilai rata-rata berat basah organ hati
- SD = standar deviasi



Gambar 4.2. Diagram batang berat basah rata-rata organ hati tiap kelompok perlakuan

Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa data berat hati berdistribusi normal dengan  $\alpha=0,05$  ( $P>0,05$ ; Lampiran 4). Hasil uji homogenitas Levene menunjukkan bahwa data tersebut bervariasi homogen dengan  $\alpha=0,05$  ( $P>0,05$ ; Lampiran 5). Hasil uji anava satu faktor menunjukkan bahwa terdapat pengaruh faktor perlakuan terhadap berat basah organ hati (Lampiran 6). Hasil uji perbandingan berganda LSD ( $\alpha=0,05$ ) terhadap nilai rata-rata berat basah organ hati menunjukkan terdapat perbedaan antara KK1 dengan KP2 dan KP3, dan KP1 dengan KP2 (Lampiran 7).

#### 4.1.2. Pengamatan mikroskopik organ hati

##### 4.1.2.1. Pengamatan semikuantitatif persentase derajat kerusakan hati

Hasil pengamatan pada kelompok kontrol 1 (KK1) menunjukkan bahwa persentase rata-rata lobulus hati derajat kerusakan 0 sebesar 94%. Persentase rata-rata untuk kriteria derajat 1, derajat 2, dan derajat 3 pada kelompok KK1 berturut-turut, yaitu 6%; 0,0%; dan 0,0% (Tabel 4.2. dan Gambar 4.3).

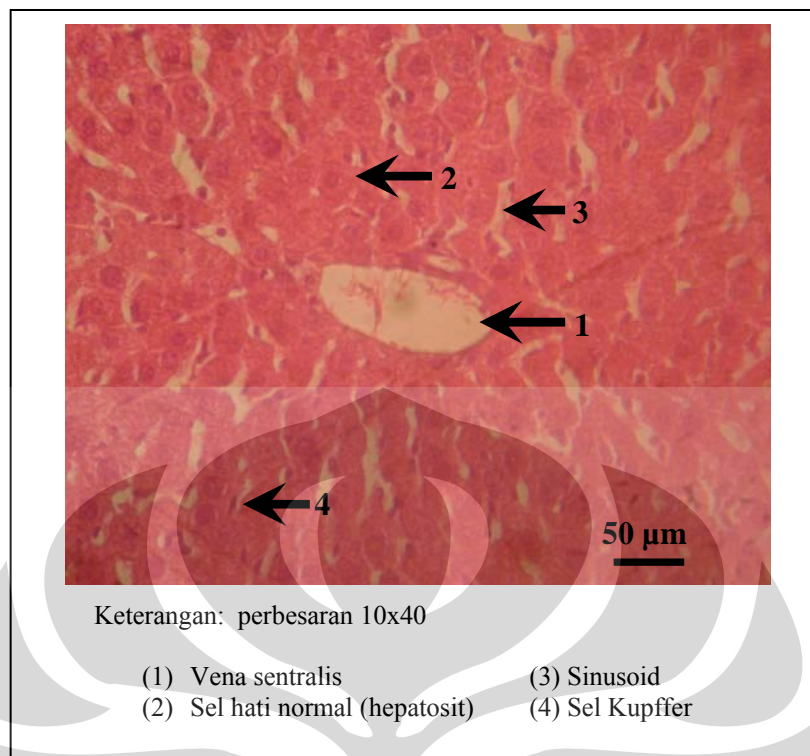
Hasil pengamatan pada kelompok kontrol 2 (KK2) menunjukkan bahwa persentase rata-rata lobulus hati derajat kerusakan 0 adalah sebesar 0%. Persentase rata-rata untuk kriteria derajat 1, derajat 2, dan derajat 3 pada kelompok KK2 berturut-turut, yaitu 10%; 20%; dan 70% (Tabel 4.2. dan Gambar 4.4).

Hasil pengamatan pada kelompok perlakuan 1 (KP1) menunjukkan bahwa persentase rata-rata lobulus hati derajat kerusakan 0 sebesar 78%. Persentase rata-rata untuk kriteria derajat 1, derajat 2, dan derajat 3 pada kelompok KP1 berturut-turut, yaitu 15%; 5%; dan 2% (Tabel 4.2. dan Gambar 4.5).

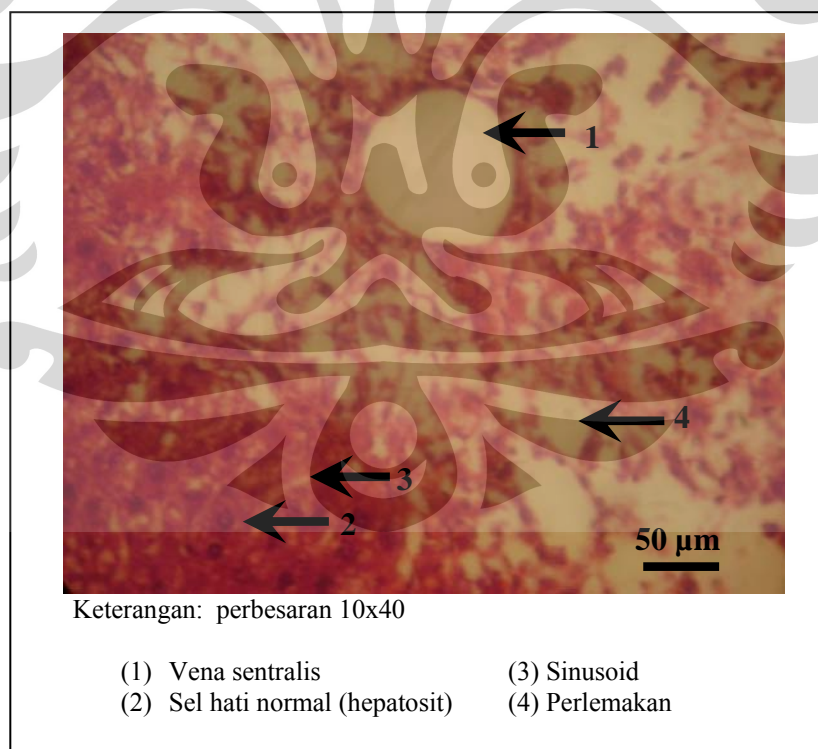
Hasil pengamatan pada kelompok perlakuan 2 (KP2) menunjukkan bahwa persentase rata-rata lobulus hati derajat kerusakan 0 sebesar 35%. Persentase rata-rata untuk kriteria derajat 1, derajat 2, dan derajat 3 pada kelompok KP2 berturut-turut, yaitu 14%; 14%; dan 37% (Tabel 4.2. dan Gambar 4.6).

Hasil pengamatan pada kelompok perlakuan 3 (KP3) menunjukkan bahwa persentase rata-rata lobulus hati derajat kerusakan 0 sebesar 22%. Persentase rata-rata untuk kriteria derajat 1, derajat 2, dan derajat 3 pada kelompok KP3 berturut-turut, yaitu 11%; 22%; dan 46% (Tabel 4.2. dan Gambar 4.7).

Hasil pengamatan terhadap nilai persentase rata-rata setiap derajat kerusakan hepatosit pada lima kelompok perlakuan menunjukkan bahwa hasil terbaik didapatkan pada kelompok kontrol 1 (KK1), dengan persentase rata-rata lobulus hati derajat kerusakan 0 (tidak ada kerusakan) yang paling besar (94%). Kerusakan hati yang paling besar terdapat pada kelompok kontrol 2 (KK2), dengan persentase rata-rata kriteria derajat kerusakan 3 yang paling besar (70%) dibandingkan dengan empat kelompok lainnya (Gambar 4.8).

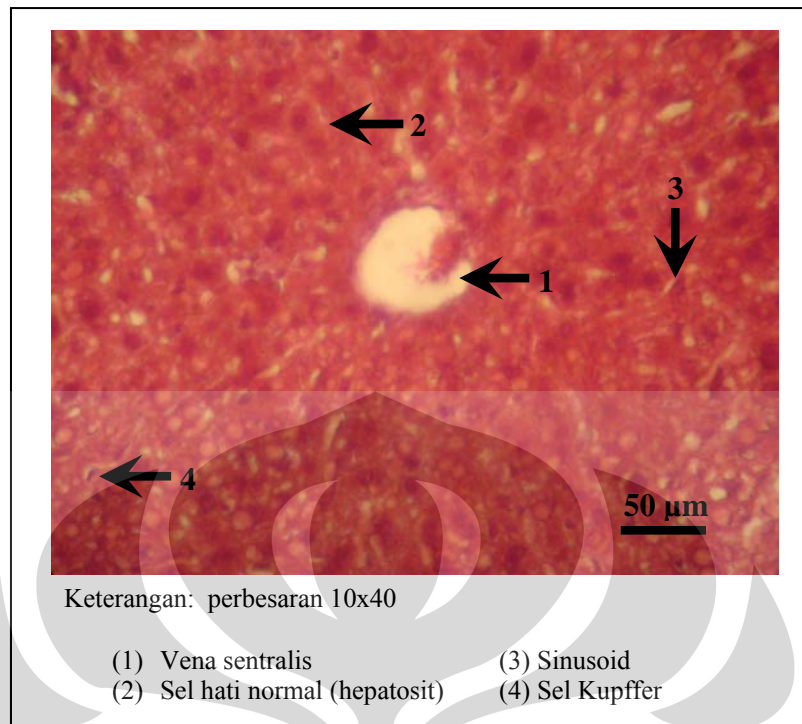


Gambar 4.3. Histologis hati kelompok kontrol negatif (KK1)

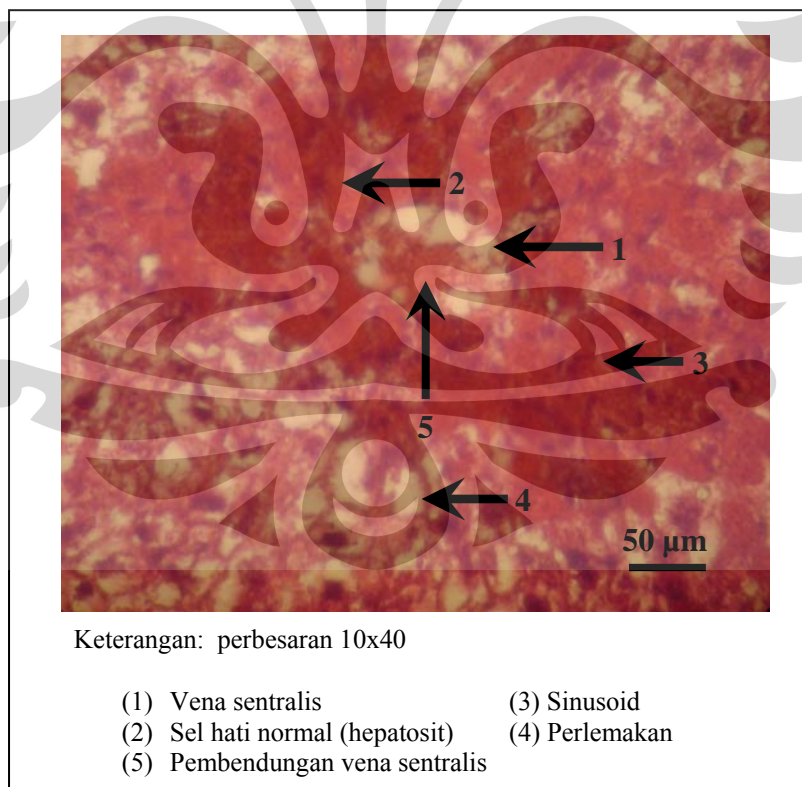


Gambar 4.4. Histologis hati kelompok kontrol positif (KK2)

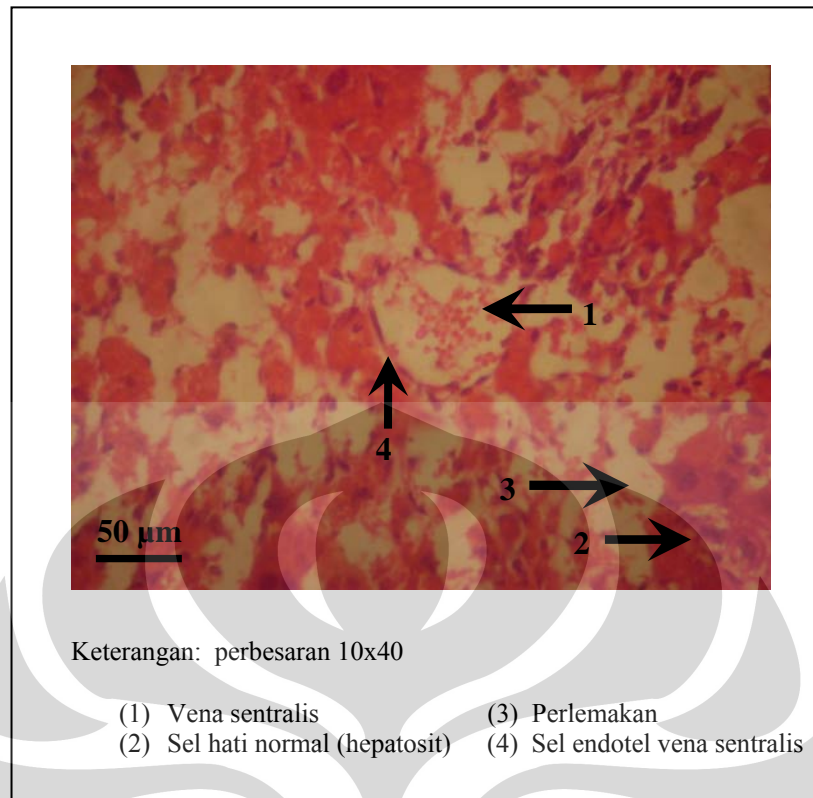




Gambar 4.5. Histologis hati kelompok perlakuan 1 (KP1)



Gambar 4.6. Histologis hati kelompok perlakuan 2 (KP2)



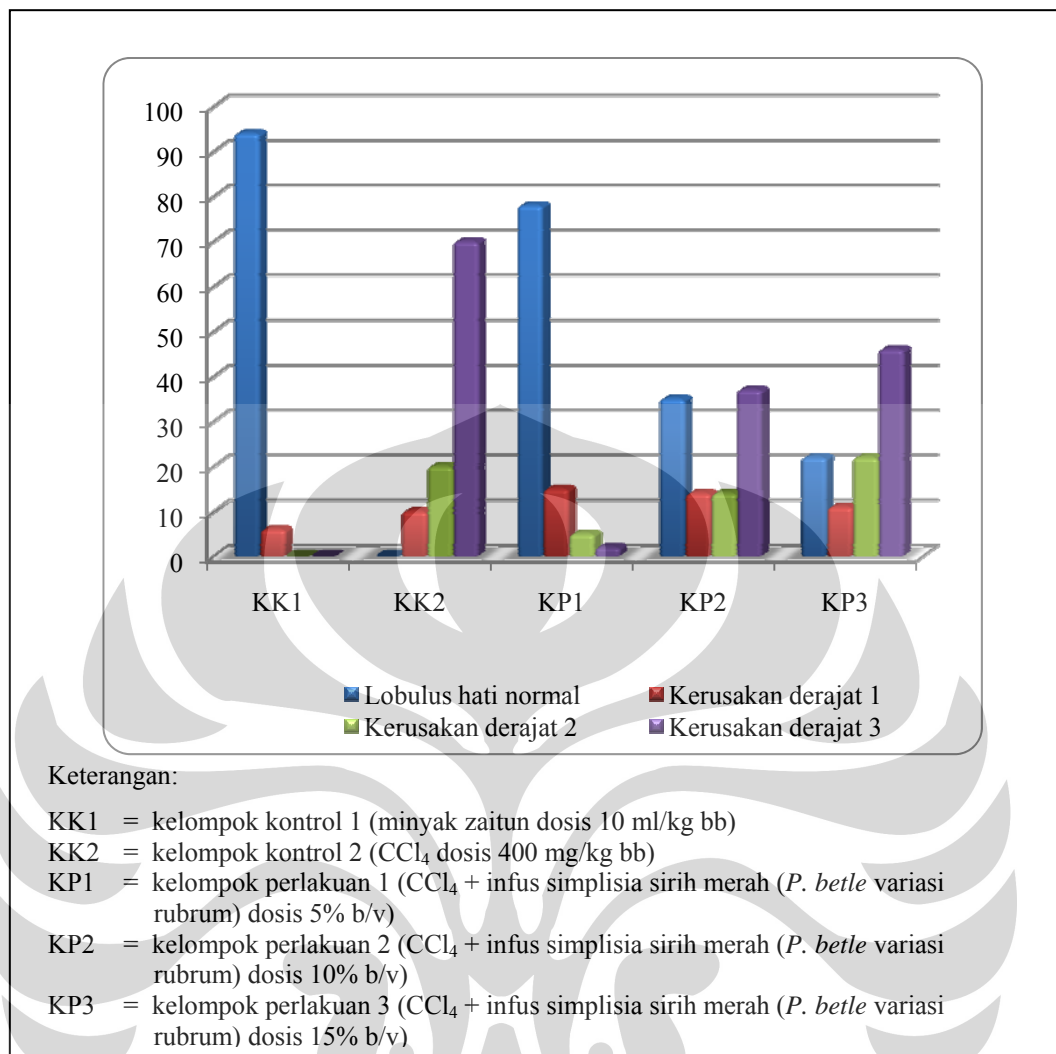
Gambar 4.7. Histologis hati kelompok perlakuan 3 (KP3)

Tabel 4.2. Data persentase rata-rata lobulus hati normal (derajat kerusakan 0) dan derajat kerusakan lobulus hati tiap kelompok perlakuan (%)

| U   | Persentase lobulus hati normal dan derajat kerusakan lobulus hati (%) |    |   |   |     |    |     |     |     |    |    |    |     |    |    |     |     |    |     |     |
|-----|---|----|---|---|-----|----|-----|-----|-----|----|----|----|-----|----|----|-----|-----|----|-----|-----|
|     | KK1   |    |   |   | KK2 |    |     |     | KP1 |    |    |    | KP2 |    |    |     | KP3 |    |     |     |
|     | 0   | 1  | 2 | 3 | 0   | 1  | 2   | 3   | 0   | 1  | 2  | 3  | 0   | 1  | 2  | 3   | 0   | 1  | 2   | 3   |
| I   | 92  | 8  | 0 | 0 | 0   | 18 | 28  | 50  | 50  | 30 | 12 | 8  | 38  | 16 | 12 | 34  | 16  | 14 | 24  | 46  |
| II  | 88  | 12 | 0 | 0 | 0   | 10 | 26  | 62  | 94  | 6  | 0  | 0  | 42  | 16 | 10 | 32  | 20  | 8  | 26  | 46  |
| III | 98  | 2  | 0 | 0 | 0   | 14 | 20  | 66  | 80  | 14 | 6  | 0  | 38  | 16 | 10 | 34  | 42  | 12 | 18  | 28  |
| IV  | 96  | 4  | 0 | 0 | 0   | 4  | 16  | 90  | 74  | 20 | 4  | 2  | 42  | 10 | 14 | 34  | 16  | 8  | 26  | 50  |
| V   | 98  | 2  | 0 | 0 | 0   | 4  | 12  | 84  | 92  | 6  | 2  | 0  | 14  | 10 | 24 | 52  | 14  | 12 | 16  | 58  |
| ΣX  | 472   | 28 | 0 | 0 | 0   | 50 | 102 | 352 | 390 | 76 | 24 | 10 | 174 | 68 | 70 | 186 | 108 | 54 | 110 | 228 |
| X   | 94  | 6  | 0 | 0 | 0   | 10 | 20  | 70  | 78  | 15 | 5  | 2  | 35  | 14 | 14 | 37  | 22  | 11 | 22  | 46  |

Keterangan:

- KK1 = kelompok kontrol 1 (minyak zaitun dosis 10 ml/kg bb)  
 KK2 = kelompok kontrol 2 (CCl<sub>4</sub> dosis 400 mg/kg bb)  
 KP1 = kelompok perlakuan 1 (CCl<sub>4</sub> + infus simplisia sirih merah (*P. betle* variasi rubrum) dosis 5% b/v)  
 KP2 = kelompok perlakuan 2 (CCl<sub>4</sub> + infus simplisia sirih merah (*P. betle* variasi rubrum) dosis 10% b/v)  
 KP3 = kelompok perlakuan 3 (CCl<sub>4</sub> + infus simplisia sirih merah (*P. betle*) dosis 15% b/v)  
 U = ulangan  
 0 = derajat 0 (lobulus hati normal)  
 1 = derajat kerusakan 1 (kerusakan ringan)  
 2 = derajat kerusakan 2 (kerusakan sedang)  
 3 = derajat kerusakan 3 (kerusakan berat)  
 ΣX = jumlah nilai persentase derajat kerusakan hepatosit  
 X = nilai rata-rata persentase derajat kerusakan hepatosit



Gambar 4.8. Diagram batang persentase rata-rata lobulus hati normal (derajat kerusakan 0) dan kerusakan lobulus hati (derajat kerusakan 1, 2, dan 3) tiap kelompok perlakuan

#### 4.1.2.1. Pengamatan kuantitatif diameter vena sentralis

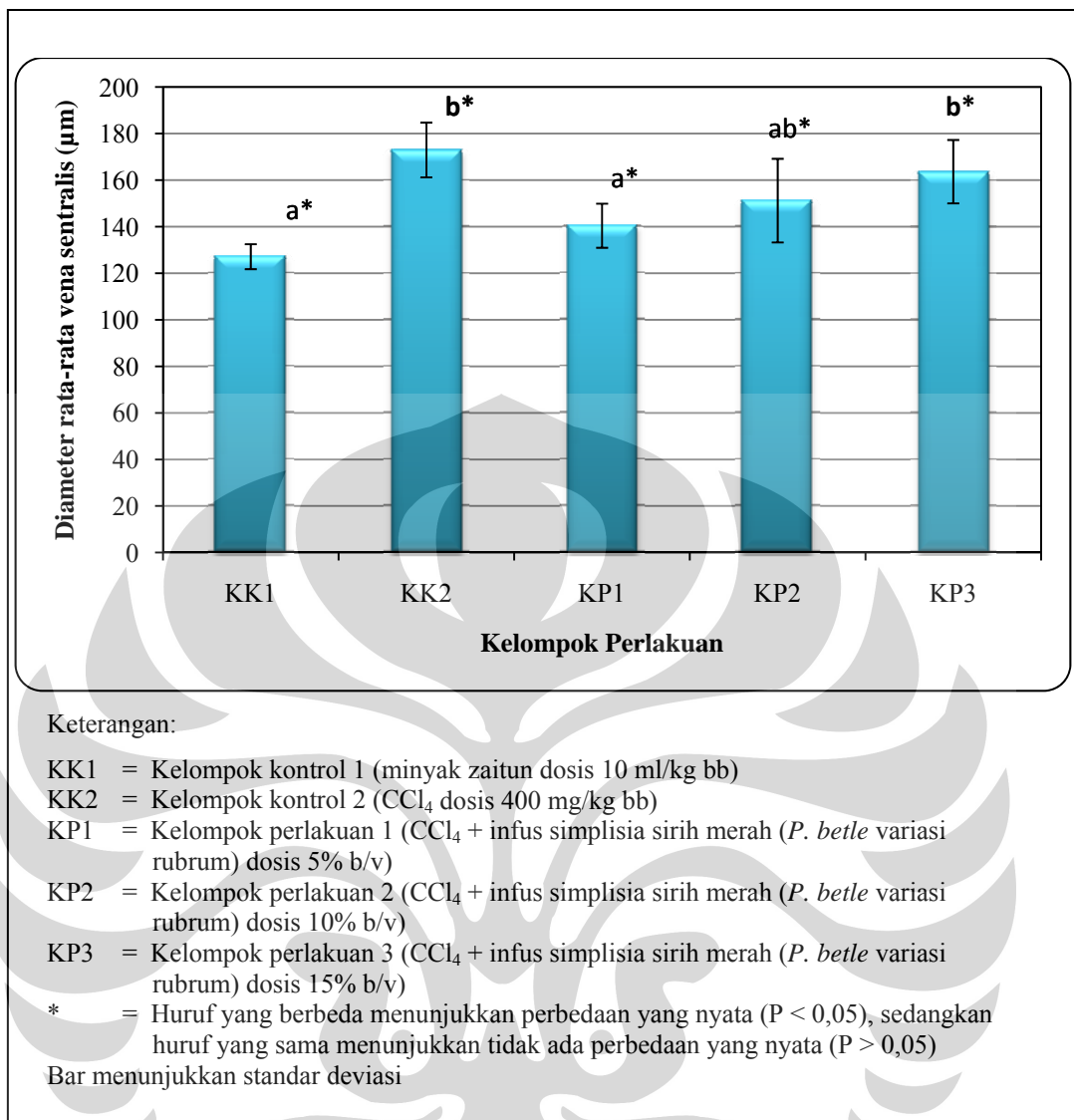
Hasil pengamatan terhadap diameter vena sentralis rata-rata pada kelompok kontrol 1 (KK1), kelompok kontrol 2 (KK2), kelompok perlakuan 1 (KP1), kelompok perlakuan 2 (KP2), dan kelompok perlakuan 3 (KP3) dapat dilihat pada Gambar 4.10 dan Tabel 4.3 Diameter vena sentralis rata-rata (dalam  $\mu\text{m}$ ) pada KK1, KK2, KP1, KP2, dan KP3 secara berturut-turut adalah 127,175  $\mu\text{m}$ ; 173,004  $\mu\text{m}$ ; 140,465  $\mu\text{m}$ ; 151,256  $\mu\text{m}$ ; dan 163,683  $\mu\text{m}$ .

Tabel 4.3. Data diameter rata-rata vena sentralis tiap kelompok perlakuan

| Ulangan    | Diameter rata-rata vena sentralis ( $\mu\text{m}$ ) |         |         |         |         |
|------------|---|---------|---------|---------|---------|
|            | KK1   | KK2     | KP1     | KP2     | KP3     |
| 1          | 76,278  | 120,807 | 86,188  | 75,874  | 94,619  |
| 2          | 74,888  | 97,803  | 96,771  | 118,430 | 119,570 |
| 3          | 85,247  | 110,448 | 82,511  | 73,632  | 81,704  |
| 4          | 74,170  | 91,211  | 70,314  | 92,108  | 97,937  |
| 5          | 70,942  | 98,744  | 85,609  | 93,722  | 97,220  |
| $\Sigma X$ | 381,525   | 519,013 | 421,394 | 453,767 | 491,049 |
| X          | 127,175   | 173,004 | 140,465 | 151,256 | 163,683 |
| SD         | 5,368   | 11,763  | 9,482   | 17,967  | 13,626  |

Keterangan:

- KK1 = kelompok kontrol 1 (minyak zaitun dosis 10 ml/kg bb)  
 KK2 = kelompok kontrol 2 ( $\text{CCl}_4$  dosis 400 mg/kg bb)  
 KP1 = kelompok perlakuan 1 ( $\text{CCl}_4$  + infus simplisia sirih merah (*P. betle* variasi rubrum) dosis 5% b/v)  
 KP2 = kelompok perlakuan 2 ( $\text{CCl}_4$  + infus simplisia sirih merah (*P. betle* variasi rubrum) dosis 10% b/v)  
 KP3 = kelompok perlakuan 3 ( $\text{CCl}_4$  + infus simplisia sirih merah (*P. betle* variasi rubrum) dosis 15% b/v)  
 $\Sigma X$  = jumlah nilai diameter rata-rata vena sentralis  
 X = nilai rata-rata diameter vena sentralis  
 SD = standar deviasi



Gambar 4.9. Diagram batang rata-rata diameter vena sentralis tiap kelompok perlakuan

Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap diameter vena sentralis berdistribusi normal dengan  $\alpha=0,05$  ( $P > 0,05$ ; Lampiran 8). Hasil uji homogenitas Levene menunjukkan bahwa diameter rata-rata vena sentralis bervariasi homogen dengan  $P > 0,05$  (Lampiran 9). Hasil uji anava satu faktor menunjukkan bahwa terdapat pengaruh faktor perlakuan terhadap diameter vena sentralis (Lampiran 10). Hasil uji perbandingan berganda LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara pasangan kelompok perlakuan, yaitu antara KK1 dengan KK2 dan KP3, dan KK2 dengan KK1 dan KP1 (Lampiran 11).

## 4.2. PEMBAHASAN

### 4.2.1. Pengamatan makroskopik organ hati

Hasil pengamatan makroskopik terhadap warna organ hati setelah dilakukan pembedahan menunjukkan adanya perbedaan, yaitu antara kelompok kontrol 1(KK1) dengan keempat kelompok lainnya (KK2, KP1, KP2, dan KP3). Kelompok KK1 menunjukkan warna merah tua kecokelatan dan tampak segar, sedangkan kelompok KK2 terlihat pucat. Warna organ hati kelompok perlakuan KP1 terlihat seperti kelompok KK1. Kelompok KP2 terlihat tidak terlalu pucat dibandingkan dengan kelompok KK2 dan KP3. Warna organ hati kelompok KP3 hampir sama dengan warna organ hati kelompok KK2.

Organ hati kelompok KK1 yang tampak berwarna merah segar merupakan gambaran organ hati normal. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Leeson *dkk.* (1996: 383) bahwa warna merah segar pada hati normal disebabkan oleh adanya aliran darah yang cukup banyak di dalam hati. Kelompok KP1 dan KP2 memiliki warna organ hati yang tampak pucat dibanding dengan kelompok KK1. Kelompok KK2 dan KP3 tampak lebih pucat dibandingkan dengan ketiga kelompok lainnya (Gambar 4.1).

Perubahan warna dan morfologi organ umumnya fisiologik dan struktur mikroskopik yang cukup berarti pada jaringan. Radikal triklorometil peroksi yang terbentuk dari bioaktivasi CCl<sub>4</sub>, akan merusak jaringan hati, termasuk sistem aliran darah hati. Gangguan sistem aliran darah dalam hati terjadi karena rusaknya lapisan otot polos yang terdapat pada tunika media dinding vena sentralis. Pembendungan pada vena sentralis terjadi karena terganggunya kontraksi pada tunika media yang rusak. Sebagai akibatnya, sirkulasi darah terganggu dan sel-sel hati akan mengalami nekrosis karena kekurangan nutrisi dan oksigen, sehingga organ hati berwarna pucat (Leeson *dkk.* 1996: 265--266).

Hasil pengamatan terhadap berat basah organ hati menunjukkan bahwa nilai rata-rata berat hati pada kelompok kontrol normal (KK1) menunjukkan nilai terkecil yaitu 2,326 g. Menurut Dewi & Saraswati (2009: 2), berat basah organ hati mencit normal antara 1,8--2,1 g. Nilai rata-rata berat organ hati pada

kelompok KK2, KP1, KP2, dan KP3 berada di atas nilai rata-rata kelompok KK1. Hal tersebut menunjukkan terdapat perubahan pada jaringan hati.

Pertambahan berat kemungkinan terjadi karena adanya peningkatan kandungan lemak di dalam hati. Perlemakan (steatosis) terjadi akibat terpaparnya  $\text{CCl}_4$  ke dalam jaringan hati yang mengakibatkan munculnya butiran-butiran lemak, yang pada sediaan histologis tidak terwarnai oleh pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) (Lu 1995: 96; Klaassen & Watkins III 1999: 316). Selain itu, pertambahan berat dapat terjadi akibat akumulasi darah yang banyak karena rusaknya otot polos vena sentralis (Leeson *dkk.* 1996: 265--266).

#### 4.2.2. Pengamatan mikroskopik organ hati

Nilai persentase rata-rata lobulus hati normal dan kerusakan ringan (derajat 1) berturut-turut pada KK1 adalah 94% dan 6%. Kerusakan sedang (derajat 2) dan kerusakan berat (derajat 3) tidak ditemukan pada KK1. Persentase tersebut menunjukkan keadaan lobulus hati hampir normal atau dapat dikatakan tanpa kerusakan sesuai dengan pernyataan Ham (1974: 686), Leeson *dkk.* (1996: 386), dan Junquiera *dkk.* (1997: 324), yaitu sel hati berbentuk bulat polihedral, memiliki satu atau dua inti berbentuk bulat atau lonjong, dan memiliki batas-batas sel yang terlihat jelas (Gambar 4.3).

Ukuran diameter vena sentralis dapat diurutkan dari yang terkecil hingga terbesar berdasarkan nilai rata-rata diameter vena sentralis pada setiap kelompok (Gambar 4.10 dan Tabel 4.2). Urutan tersebut secara berturut-turut adalah KK1, KP1, KP2, KP3, dan KK2. Nilai rata-rata diameter vena sentralis kelompok perlakuan 1 (KP1 = 140,465  $\mu\text{m}$ ) paling mendekati nilai rata-rata diameter vena sentralis KK1 (= 127,175  $\mu\text{m}$ ) dibandingkan dengan nilai rata-rata diameter vena sentralis kelompok lainnya (KK2, KP2, dan KP3).

Struktur histologis hati kelompok kontrol positif (KK2) yang diberikan  $\text{CCl}_4$ , dijadikan pembanding terhadap penilaian ada atau tidaknya proses perbaikan sel-sel hati (efek antihepatotoksik) pada kelompok-kelompok perlakuan dengan pencekakan infus simplisia sirih merah setelah terjadinya kerusakan. Nilai persentase rata-rata hepatosit normal (derajat 0) adalah 0%. Nilai persentase



rata-rata kerusakan hepatosit untuk derajat kerusakan 1, derajat kerusakan 2, dan derajat kerusakan 3 berturut-turut adalah 10%, 20%, dan 70% (Tabel 4.2). Persentase tersebut menunjukkan derajat kerusakan 3 (kerusakan > 40% luas lobulus) yang paling besar persentasenya yaitu 70% dan lobulus hati normal tidak ditemukan. Secara histologis, kerusakan-kerusakan pada lobulus hati KK2 meliputi sel endotel vena sentralis yang melisis, diameter vena sentralis melebar, hepatosit-hepatosit melisis (nekrosis), adanya pembendungan darah, dan perlemakan (steatosis). Struktur histologis kelompok KK2 dapat dilihat pada Gambar 4.4. Data hasil pengamatan terhadap nilai rata-rata diameter vena sentralis kelompok kontrol positif (KK2) memberikan nilai 173,004  $\mu\text{m}$ .

Kerusakan vena sentralis menunjukkan bahwa hati mengalami degenerasi pada vena sentralis, dimulai dari bagian endotel yang merupakan bagian yang sangat peka terhadap racun. Sel endotel yang melisis tersebut menyebabkan pelebaran diameter vena sentralis. Kontraksi vena sentralis dapat terganggu akibat rusaknya lapisan otot polos yang terdapat pada lapisan tunika media (Leeson *dkk.* 1996: 264--266). Vena sentralis berada pada zona III asinus hati. Sel-sel yang berada pada zona III asinus hati berada dekat vena sentralis. Zona III asinus hati merupakan daerah yang jauh dengan pembuluh darah. Sel-sel pada daerah tersebut tidak mendapatkan nutrisi dan oksigen yang cukup. Selain itu, pada zona III asinus hati mengandung zat hasil metabolisme hati. Hati akan memetabolisme semua zat yang terbawa oleh darah dari usus. Zat tersebut termasuk toksikan. Toksikan akan mengalami perubahan struktur yang dapat mengakibatkan kerusakan hepatosit. Darah yang mengandung hasil metabolisme tersebut kemudian akan menuju vena sentralis. Oleh karena itu, daerah sekitar vena sentralis (zona III asinus hati) akan terpajan langsung oleh hasil metabolisme toksikan yang kemudian dapat menyebabkan rusaknya sel (Telford & Bridgman 1990: 382).

Gambaran histologis pada kelompok KK2 memperlihatkan terdapat pembendungan aliran darah pada hati. Menurut Ressang (1984: 58), terjadinya pembendungan aliran darah dalam hati selalu dimulai dari vena sentralis. Hal tersebut dapat terjadi karena vena sentralis merupakan tempat penampungan darah yang berasal dari arteri hepatica dan vena porta. Kerusakan yang terjadi pada

lapisan otot polos yang terdapat pada tunika media vena sentralis menyebabkan kontraksi pada vena sentralis terganggu. Sebagai akibatnya, sirkulasi darah terganggu dan sel-sel hati akan mengalami nekrosis (Leeson *dkk.* 265--266).

Perlemakan (steatosis) terlihat pada gambaran histologis kelompok KK2. Ruang kosong yang terdapat pada gambaran histologis tersebut menandakan butiran lemak yang tidak terwarnai oleh pewarnaan Hematoksin-Eosin. Perlemakan tersebut dapat terjadi karena terganggunya proses metabolisme lemak dalam organ hati (Hinton & Grasso 1993: 573--574).

Mekanisme umum penyebab penimbunan lemak dalam hati adalah terganggunya jalur pelepasan trigliserida dari organ hati ke plasma. Trigliserida yang ada dalam jaringan hati hanya dapat disekresi jika berikatan dengan lipoprotein dengan densitas yang sangat rendah (VLDL=*Very Low Density Lipoprotein*). Karbon tetraklorida dapat menghambat konjugasi trigliserida dengan lipoprotein, sehingga trigliserida akan tertimbun dalam jaringan hati (Lu 1995: 210; Murray *dkk.* 2001: 262--263).

*Free fatty acid* (FFA) akan mengalami metabolisme di dalam sel hepatosit. *Free fatty acid* dilepaskan dari jaringan adiposa atau berasal dari hasil hidrolisis kilomikron dalam hati. *Free fatty acid*, ketika di sitosol, dibawa ke mitokondria untuk didegradasi atau mengalami esterifikasi menjadi trigliserida. Trigliserida tersebut diangkut oleh *very low density lipoprotein* (VLDL) yang kemudian dibawa menuju jaringan adiposa perifer. Jika sintesis, pemakaian, dan penyimpanan FFA dalam keadaan seimbang, maka trigliserida tidak akan terakumulasi di dalam hati. Akan tetapi, jika FFA berlebih dan tidak dapat didegradasi, FFA akan mengalami esterifikasi menjadi trigliserida. Sebagian trigliserida akan diangkut oleh VLDL, sedangkan sebagian lagi akan disimpan di hati, yang kemudian dapat menyebabkan steatosis (Jaeschke 2008: 566).

Persentase rata-rata lobulus hati normal dan kerusakan derajat 1, derajat 2, dan derajat 3 pada kelompok perlakuan dosis 5% b/v (KP1) secara berturut-turut adalah 78%, 15%, 5%, dan 2% (Tabel 4.2). Nilai tersebut bila dibandingkan dengan KK1 hampir mendekati nilai normal dan sudah terjadi perbaikan hati. Nilai tersebut jika dibandingkan dengan kedua dosis perlakuan lainnya (KP2 dan KP3) menunjukkan nilai yang paling baik. Nilai rata-rata ukuran diameter vena

sentralis kelompok KP1 yaitu sebesar 140,465  $\mu\text{m}$ , merupakan nilai rata-rata yang paling mendekati angka rata-rata diameter vena sentralis kelompok KK1 (127,175  $\mu\text{m}$ ).

Gambaran histologis kelompok KP1 yang mendekati gambaran histologis KK1 menunjukkan adanya mekanisme perbaikan pada jaringan hati (Gambar 4.5). Preparat histologis KP1 terlihat adanya sel-sel hepatosit yang sedang mengalami mitosis. Mekanisme perbaikan dari hepatosit diduga disebabkan oleh senyawa-senyawa yang terkandung dalam infus simplisia sirih merah (*Piper betle* variasi rubrum). Senyawa-senyawa seperti flavonoid, polifenol (Young *dkk.* 2006: 53), *calcium channel blockers* (Kumar 2009: 735), vitamin C, dan asam amino (Prahastuti & Tambunan 2004: 17--18) diduga berperan dalam perbaikan hati *Mus musculus*. Senyawa-senyawa tersebut bersifat polar yang dipisahkan dari senyawa non-polar dengan menggunakan pelarut polar. Pelarut polar yang efektif untuk menarik senyawa tersebut, yaitu etanol (Suppakul *dkk.* 2006: 98; Suratmo 2008: 4), etil asetat (Suratmo 2008: 4), metanol, aseton, dan air (Robinson 1995: 208).

Senyawa polifenol dan flavonoid memiliki aktivitas *scavenging* (penangkapan) yang tinggi terhadap radikal bebas dan dapat meningkatkan kerja enzim antioksidan dalam tubuh, seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GSH) (Young *dkk.* 2007: 53). Reaktifitas radikal bebas merupakan upaya untuk mencari pasangan elektron. Kerja radikal bebas tersebut akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya (Winarsi 2007: 16).

Enzim glutathion peroksidase berfungsi untuk mengubah molekul  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan lipid peroksida menjadi air. Enzim GSH tersebut berperan sebagai peredam (*quenching*) radikal bebas dan memetabolisme xenobiotik. Enzim GSH yang berada pada sitoplasma, akan bekerja pada membran fosfolipid yang teroksidasi radikal bebas (Winarsi 2007: 100--104).

Aktivitas antioksidan dari flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksi pada struktur molekulnya. Flavonoid dengan gugus hidroksi bebas mempunyai aktivitas penangkap radikal bebas dan adanya gugus hidroksi lebih dari satu akan

meningkatkan aktivitas antioksidan zat tersebut (Sunarni *dkk.* 2007: 114). Hal tersebut disebabkan sifat *scavenging* antioksidan dihubungkan dengan kestabilan molekul yang terbentuk (Oke & Hamburger 2002: 78).

Proses bioaktivasi CCl<sub>4</sub> menyebabkan terbentuknya radikal bebas triklorometil (CCl<sub>3</sub>). Radikal bebas tersebut akan mengikat protein dan lipid secara kovalen, sehingga menyebabkan peroksidasi lipid. Hal tersebut akan mengganggu permeabilitas membran sel dan Ca-ATPase. Radikal bebas akan mengaktifkan kanal kation *unspecific* yang menyebabkan kanal-kanal tersebut terbuka. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya peningkatan kalsium intraseluler pada hati sehingga mengganggu homeostasis kalsium (Trump *dkk.* 1984: 286; Kristian & Siesjo 1998: 706). Hal tersebut kemudian dapat menyebabkan kematian sel (Lu 1995: 211). *Calcium channel blockers* yang terdapat pada *P. betle* diduga dapat menghambat terjadinya kematian sel dengan cara menonaktifkan kanal kalsium *unspecific*, kemudian mengaktifkan Ca-ATPase. Cara-cara tersebut akan mengurangi kandungan kalsium intraseluler pada sitosol dan mitokondria, sehingga dapat mengembalikan homeostatis kalsium (Farghali *dkk.* 2000: 261--261).

Vitamin C (asam askorbat) merupakan salah satu sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Asam askorbat dapat meningkatkan sistem imun dengan cara memicu sintesis faktor humoral, terutama IgG dan IgM, dan meminimalkan terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh CCl<sub>4</sub> (Percival 1997: 3; Winarsi 2007: 137--139). Asam amino mempunyai peran dalam proses perbaikan jaringan (Percival 1997: 3). Asam-asam amino yang terdapat pada *Piper betle*, antara lain leusin, fenilalanin, serin, asam aspartat, asam glutamat, metionin, valin, tirosin, dan asam aminobutarat (Prahastuti & Tambunan 2004: 18). Oleh karena itu, vitamin C dan asam-asam amino yang terdapat pada sirih merah dapat memperbaiki kerusakan sel akibat CCl<sub>4</sub>.

Efektivitas suatu produk herbal sebagai obat dapat dipengaruhi oleh dosis efektif (Viablehealth 2003: 3). Dosis efektif adalah dosis minimal obat yang dapat menimbulkan efek yang diinginkan (Siegel 2005: 297). Infus simplisia sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum) dengan dosis 5% b/v (KP1) merupakan

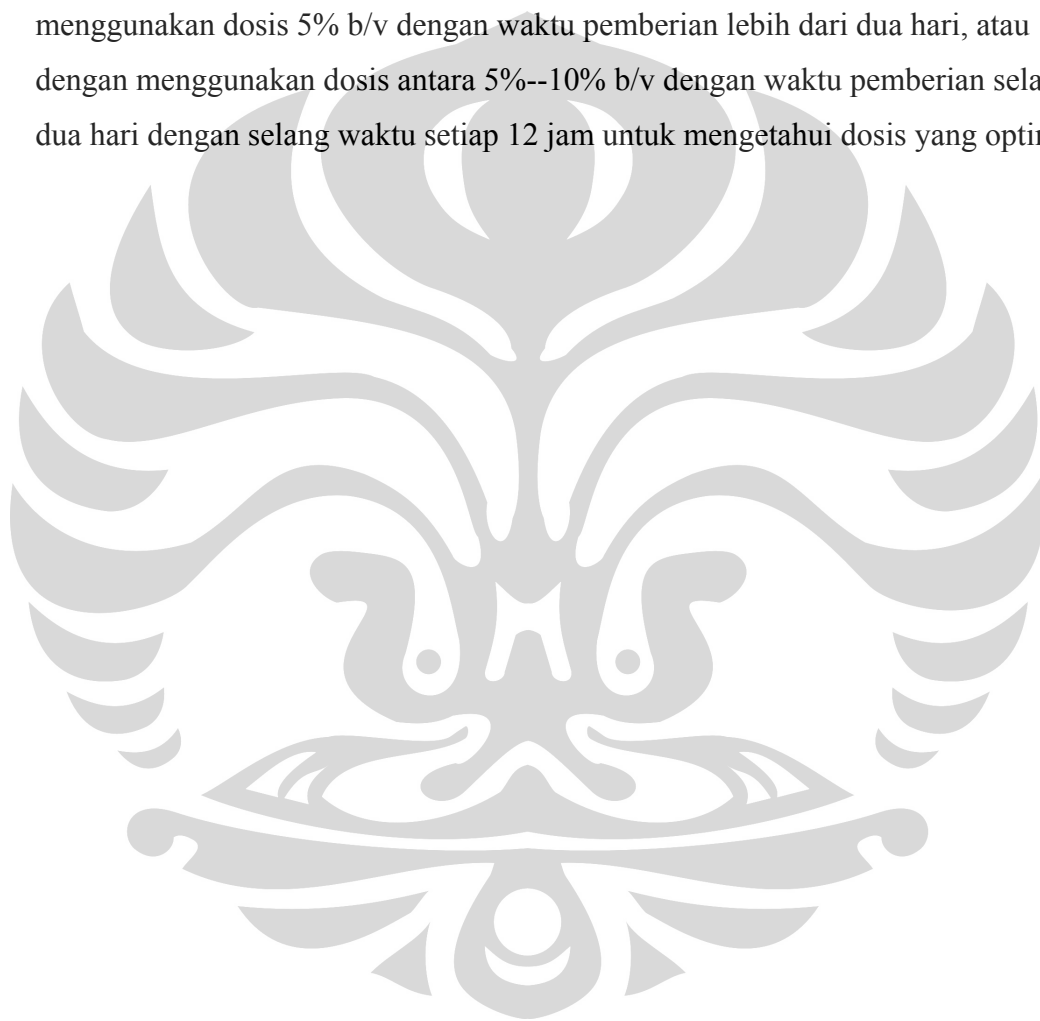
dosis efektif untuk memperbaiki organ hati yang diinduksi  $\text{CCl}_4$  karena struktur histologis KP1 mendekati struktur histologis KK1.

Gambaran histologi hati pada KP2 dan KP3 terlihat tidak jauh berbeda dengan KK2. Persentase rata-rata lobulus hati normal dan kerusakan derajat 1, derajat 2, dan derajat 3 pada kelompok perlakuan dosis 10% b/v (KP2) secara berturut-turut adalah 35%, 14%, 14%, dan 37% (Tabel 4.2). Persentase rata-rata lobulus hati normal dan kerusakan derajat 1, derajat 2, dan derajat 3 pada kelompok perlakuan dosis 15% b/v (KP3) secara berturut-turut adalah 22%, 11%, 22%, dan 46% (Tabel 4.2). Data hasil pengamatan histologis menunjukkan bahwa pencekokan infus simplisia sirih merah dosis 10% b/v (KP2) dan dosis 15% b/v (KP3), menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dari kelompok KK2 (Gambar 4.6 dan Gambar 4.7). Nilai rata-rata ukuran diameter vena sentralis kelompok KP2 yaitu sebesar 151,256  $\mu\text{m}$  (Tabel 4.3). Nilai rata-rata ukuran diameter vena sentralis kelompok KP3 yaitu sebesar 163,683  $\mu\text{m}$  (Tabel 4.3).

Semua jenis senyawa kimia merupakan zat yang sebenarnya berpotensi sebagai racun jika masuk ke dalam tubuh. Suatu senyawa kimia dapat bertindak sebagai obat jika jumlah yang masuk ke dalam tubuh sesuai dengan yang diperlukan. Jika suatu senyawa kimia masuk ke dalam tubuh dalam jumlah yang berlebihan, maka akan memberikan efek toksik bagi tubuh. Oleh karena itu, setiap obat dapat berpotensi sebagai racun, tergantung pada rentang dosis yang digunakan (Klaassen & Watkins III 1999: 12). Dosis yang diberikan pada kelompok KP2 dan KP3 mungkin sudah melebihi dosis optimal, sehingga memberikan efek toksik kepada organ hati. Hal tersebut memberikan gambaran histologis KP2 dan KP3 yang tidak jauh berbeda dengan KK2.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis daun sirih merah yang digunakan harus diperhatikan agar didapatkan hasil yang efektif, sehingga dapat meminimalkan efek samping. Jika dosis dosis yang diberikan terlalu rendah, maka belum memberikan efek perbaikan. Sebaliknya, jika dosis yang digunakan terlalu tinggi, maka dapat mengakibatkan efek samping. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rentang dosis yang dimiliki oleh simplisia sirih merah agar dapat memberikan efek sebagai antihepatotoksik diduga sangat kecil.

Gambaran histologis hati kelompok KP1 yang diberikan infus simplisia sirih merah dosis 5% b/v menunjukkan gambaran histologis yang hampir mendekati struktur histologis kelompok KK1. Hal tersebut mencerminkan gambaran histologis hati kembali normal. Apabila waktu pemberian dosis tersebut diperpanjang akan terdapat dua kemungkinan, yaitu perbaikan histologis hati akan menjadi lebih baik atau dapat mengakibatkan efek samping (menjadi toksik). Oleh karena itu, penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan menggunakan dosis 5% b/v dengan waktu pemberian lebih dari dua hari, atau dengan menggunakan dosis antara 5%--10% b/v dengan waktu pemberian selama dua hari dengan selang waktu setiap 12 jam untuk mengetahui dosis yang optimal.



## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. KESIMPULAN**

Hasil penelitian antihepatotoksik terhadap *Mus musculus* L. jantan galur DDY yang diberi infus simplisia sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum) secara oral dengan dosis 5% b/v, 10% b/v, dan 15% b/v memberikan pengaruh terhadap perbaikan histologi hati dan berat basah organ hati *M. musculus*. Potensi antihepatotoksik tertinggi pada kelompok perlakuan yang diberikan dosis 5% b/v, baik dilihat dari pengamatan makroskopik maupun pengamatan mikroskopik organ hati *Mus musculus* L. jantan galur DDY.

#### **5.2. SARAN**

1. Penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan menggunakan dosis 5% b/v dengan waktu pemberian lebih dari dua hari, atau dengan menggunakan dosis antara 5%--10% b/v dengan waktu pemberian selama dua hari dengan selang waktu setiap 12 jam untuk mengetahui dosis yang optimal.
2. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mencari alternatif bahan alam lain yang mengandung senyawa polifenol dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antihepatotoksik.

## DAFTAR ACUAN

- Adeneye, A.A., J.A. Olagunju, A.A.F. Banjo, S.F. Abdul, O.A. Sanusi, O.O. Sanni, B.A. Osarodion & O.E. Shonoiki. 2009. The aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. prevents carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products* **2**(2): 19--32.
- Afifah. 2006. Uji potensi antihepatotoksik ekstrak rimpang *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. (temu putih) terhadap organ hati *Rattus norvegicus* L. (tikus putih) galur Sprague Dawley. Skripsi Sarjana S-1 Departemen Biologi FMIPA UI, Depok: xi + 99 hlm.
- Amalia, D. 2008. Efek hepatoprotektif ekstrak etanol 70% daun ceplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap mencit jantan galur swiss terinduksi parasetamol. Skripsi sarjana S1 Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta: 1--16.
- Arhoghro, E. M., K.E. Ekpo, E.O. Anosike & G.O. Ibeh. 2009. Effect of aqueous extract of bitter leaf (*Vernonia Amygdalina* Del) on carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) induced liver damage in albino wistar rats. *European Journal of Scientific Research* **26**(1): 122-130.
- Backer, A. & R.C.B. Van Den Brink. 1963. *Flora of Java: Spermatophytes only*. Vol.3. Wolters-Noordhoff N.V., Gronigen: xxiii + 648 hlm.
- Baheramsyah. 2009. *Tumbuhan obat di sekitar rumah kita*. Lampung Herba Center, Bandar Lampung: v + 250 hlm.
- Beckingham, I.J., P.C. Bornman, J.E.J. Krige, J.P.A. Lodge, K.R. Prasad & S.D. Ryder. 2001. *ABC of liver, pancreas, and gall bladder*. BMJ Publishing Group, London: ix + 54 hlm.
- Bhawna, S. & S.U. Kumar. 2009. Hepatoprotective activity of some indigenous plants. *International Journal of PharmTech Research* **1**(4): 1330--1334.
- Chang, M.C., B.J. Uang, C.Y. Tsai, H.L. Wu, B.R. Lin, C.S. Chen, C.H. Chang, Y.L. Tsai, C.J. Kao & J.H. Jeng. 2007. Hydroxychavicol, a novel betel leaf component, inhibits platelet aggregation by suppression of cyclooxygenase, thromboxane production and calcium mobilization. *British Journal of Pharmacology* **152**: 73--82.



- Clark, G., R.E. Coalson & R.E. Nordquist. 1973. Animal histology. *Dalam*: Clark, G (ed.). 1973. *Staining procedures*. 3rd ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore: 33--167.
- Conover, W.J. 1980. *Practical non parametric statistic*. Ed. ke-2. John Wiley & Sons, Inc., New York: xiv + 493 hlm.
- Cos, P., L. Ying, M. Calomme, J.P. Hu, K. Cimanga, B. V. Poel, L. Pieters, A.J. Vlietinck & D. V. Berghe. 1998. Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *Journal of Natural Products* **61**: 71--76.
- Dellman, H.D. & E.M. Brown. 1992. *Buku teks histologi veteriner II*. Ed ke-3. Terj. dari *Textbook of veterinary histology*, oleh Hartono, R. & S.S. Juwono. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta: x + 718 hlm.
- Depkes RI (=Departemen Kesehatan Republik Indonesia). 1995. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-4. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta: xiii + 1.290 hlm.
- Dewi, K.U. & T.R. Saraswati. 2009. Efek rebusan daun tapak dara pada dosis dan frekuensi yang berbeda terhadap kerusakan dan akumulasi glikogen pada hepar mencit (*Mus musculus*). *Bioma* **11**(1): 1--5.
- Farghali, H., E. Kmonickova, H. Lotkova & J. Martinek. 2000. Evaluation of calcium channel blockers as potential hepatoprotective agents in oxidative stress injury of perfused hepatocytes. *Physiological Research* **49**(2): 261--268.
- Fessenden, R.J. & J.S. Fessenden. 1979. *Organic chemistry*. Williard Grand Press, Boston: iv + 1040 hlm.
- Gan, S. 2003. *Kewaspadaan dalam menggunakan obat herbal*. Penerbit UI-Press, Jakarta: ii + 37 hlm.
- Gips, C.H. & J.H.P. Wilson. 1995. *Diagnostik dan terapi penyakit hati dan empedu*. Terj. dari *Lever en galwegen diagnostiek en therapie*, oleh Effendi, I. Hipokrates, Jakarta: viii + 284 hlm.
- Haford University. 2009. *Liver histology*.  
[http://www.harford.edu/faculty/WRappazzo/a\\_oldsite/liver%20histology.j](http://www.harford.edu/faculty/WRappazzo/a_oldsite/liver%20histology.j)  
 pg: 17 Mei 2010. pk. 12.47 WIB.

- Ham, A.W. 1974. *Histology*. 7th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia: xviii + 1006 hlm.
- Hanafiah, A.K. 1997. *Rancangan percobaan: Teori dan aplikasi*. Ed ke-2. Penerbit PT Raja Grafindo Persada, Jakarta: xii + 238 hlm.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berbunga Indonesia II*. Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta: vii + 1247 hlm.
- Hinton, R.H. & P. Grasso. 1995. Hepatotoxicity. *Dalam: Ballantyne, B., T. Marrs, & P.Turner (eds.). 1995. General and applied toxicology abridged edition*. The Macmillan Press, Ltd., Basingstoke: 555--598.
- Ilyas, E. 1991. Uji potensi antihepatotoksik ekstrak temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap kadar GOT & GPT tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* Linn.) yang diinduksi dengan karbon tetraklorida. Skripsi Sarjana S-1 Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok: vii + 74 hlm.
- Isrizal. 1996. Efek hepatoprotektif lokio (*Allium schoenoprasium* L.) dan kucai (*Allium odorum* L.) pada tikus yang diberi karbon tetraklorida. Skripsi S1 Departemen Farmasi FMIPA-UI, Depok: x + 70 hlm.
- Jaeschke, H. 2008. Toxic responses of the liver. *Dalam: Klaassen, C.D. 2008. Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons*. 7th ed. McGraw-Hill Co., New York: 557--582.
- Juliantina, R., D.A. Citra, B. Nirwani, T. Marsitoh & E.T. Bowo. 2009. Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *JKKI - Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia* 1(1): 1--10.
- Junqueira, L., C.J. Carneiro & R.O. Kelly. 1997. *Histologi dasar*. Terj. dari *Basic histology*, oleh Tambajong, J. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: xiii + 496 hlm.
- Keller, S.R. 2004. *Histology of the liver, gall bladder, and pancreas*. 21 April: 5 hlm. [http://www.med-ed.virginia.edu/public/CourseSitesDocs/CellandTissueStructure/handouts/unrestricted/original/MMHndt\\_Liver.html](http://www.med-ed.virginia.edu/public/CourseSitesDocs/CellandTissueStructure/handouts/unrestricted/original/MMHndt_Liver.html): 17 mei 2010. pk. 14.10 WIB.

- Klaassen, C.D. & J.B. Watkins III. 1999. *Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons*. 5th ed. McGraw-Hill Co., New York: vii + 861 hlm.
- Koolman, J. & K.H. Roehm. 2005. *Color Atlas of Biochemistry*. 2nd ed. Thieme, Stuttgart: x + 467 hlm.
- Kristian, T. & B.K. Siesjo. 1998. Calcium in ischemic cell death. *Journal of American Heart Association* **29**(3): 705--718.
- Kumar, V., S.M.B. Asdaq & M. Asad. 2009. Influence of betel quid on effect of calcium channel blockers on isoprenaline induced myocardial necrosis in mice. *Indian Journal of Experimental Biology* **47**: 730--736.
- Kuncahyo, I. & Sunardi. 2007. Uji aktivitas antioksidan ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi 2007*. Yogyakarta: 9 hlm.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan hewan coba*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta: xiv + 121 hlm.
- Leeson, C.R., T.S. Leeson & A.A. Paparo. 1996. *Buku ajar histologi*. Ed. ke-6. Terj. dari *Textbook of histology* oleh Tambajong, J. & S. Wonodirekso. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: xi + 622 hlm.
- Lisdiana. 2004. Pemanfaatan rimpang kunir putih (*Curcuma zedoaria*) sebagai pengurangan kerusakan struktur mikroanatomi hepar mencit akibat alkohol. *Berkala Penelitian Hayati* **9**(2): 119--123.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi dasar: Asas, organ sasaran, dan penilaian resiko*. Ed ke-2. Terj. dari *Basic toxicology: Fundamentals, target organs, and risk assessment*, oleh Nugroho, E. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta: xv + 429 hlm.
- Luna, L.G. 1968. *Manual of histology staining methods of Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. McGraw-Hill Co., Baltimore: xii + 258 hlm.
- Malole, M.B. & C.S.V. Pramono. 1989. *Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor: vii + 161 hlm.
- Manahan, S.E. 2003. *Toxicological chemistry and biochemistry*. 3rd Ed. Lewis Publishers, Florida: xx + 404 hlm.

- Manna, P., M. Sinha & P.C. Sil. 2006. Aqueous extract of *Terminalia arjuna* prevents carbon tetrachloride induced hepatic and renal disorders. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **6**(33): 1--10.
- Manoi, F. 2008. Sirih merah sebagai tanaman obat multifungsi. *Warta Puslitbangbun* **13**(2): 17--19.
- Manokaran, S., A. Jaswanth, S. Sengottuvelu, J. Nandhakumar, R. Duraisamy, D. Karthikeyan & R. Mallegaswari. 2008. Hepatoprotective activity of *Aerva lanata* Linn. against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Research Journal Pharmacy and Technology* **1**(4): 398--400.
- Miller, M.A., A.B. Drakontides & L.C Leavell. 1977. *Kimber-gray-stackpole's anatomy and physiology*. 17th ed. MacMillan Publishing Co., New York: x + 656 hlm.
- Mills, S. & K. Bone. 2000. *Principles and practice of phytotherapy: Modern herbal medicine*. Harcourt publishers, London: xx + 643 hlm.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes & V.W. Rodwell. 2001. *Biokimia Harper*. 1st ed. Terj. dari *Harper's biochemistry*, oleh Hartono, A. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: x + 883 hlm.
- Murugaian, P., V. Ramamurthy & N. Karmegam. 2008. Hepatoprotective activity of *Wedelia calendulacea* L. against acute hepatotoxicity in rats. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* **4**(6): 685--687.
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk laboratorium: Metode laboratorium dalam toksikologi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Yogyakarta UGM: x + 283 hlm.
- Oke, J.M. & M.O. Hamburger. 2002. Screening of some nigerian medicinal plants for antioxidant activity using 2, 2, diphenyl-picryl-hydrazyl radical. *African Journal of Biomedical Research* **5**: 77--79.
- Percival, M. 1997. Nutritional support for connective tissue repair and wound healing. *Clinical Nutrition Insights* **26**: 1--4.
- Prahastuti, S & K. Tambunan. 2004. *Tinjauan literatur sirih*. Pusat Dokumentasi dan Informasi Ilmiah LIPI, Jakarta: v + 36 hlm.
- Rahmadhani, T.M. 2009. Uji potensi antihepatotoksik infus simplisia *Hippocampus kuda* Bleeker (kuda laut) terhadap histologi hati *Mus*

- musculus* Linnaeus (mencit) jantan galur DDY. Skripsi S1. Departemen Biologi FMIPA UI, Depok: x + 96 hlm.
- Ressang, A.A. 1984. *Patologi khusus veteriner*. Ed. ke-2. Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Bogor: xix + 666 hlm.
- Reyes, A.G.L., N.A. Curras, B.G. Cano, V.J.L. Díaz, G.E.G. Salinas, J.F. Islas, V.M. Oyarvide, L.A.M. Garza, F.J.G. Gastelum, G. Grijalva & J.E.M. Cuevas. 2008. Black bean extract ameliorates liver fibrosis in rats with CCl<sub>4</sub>-induced injury. *Annals of Hepatology* 7(2): 130-135.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. Penerbit ITB, Bandung: 367 hlm.
- Ross, M.H., L.J. Romrell & G.I. Kaye. 1995. *Histology: A text and atlas*. 3rd ed. Williams & Wilkins, Maryland: xiii + 823 hlm.
- Santoso, S. 2003. *Mengatasi berbagai masalah statistik dengan SPSS 11.5*. PT Alex Media, Jakarta: xi + 591 hlm.
- Setiadi. 2007. *Anatomi dan fisiologi manusia*. Ed ke-1. Graha ilmu, Yogyakarta: xviii + 310 hlm.
- Sherlock, S. & J. Dooley. 2002. *Diseases of the liver and biliary system*. 11th ed. Blackwell Science Ltd, Milan: xvi + 706 hlm.
- Sherwood, L. 1996. *Fisiologi manusia: Dari sel ke sistem*. Ed ke-2. Terj. dari *Human physiology: From cells to systems*, oleh Pendit, B.U. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: xvi + 739 hlm.
- Siegel, S. 2005. Drug tolerance, drug addiction, and drug anticipation. *American Psychological Society* 14(6): 296--300.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory animal medicine principles and procedures*. Mosby, Inc All Right resesued, Elsevier: xi + 350 hlm.
- Subarnas, A, Y. Susilawati & E. Mulyasari. 2007. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper betle* Var. *Rubrum*) pada tikus putih jantan. *Jurnal Ilmiah Farmasi Indonesia* 5(1): 42--55.
- Suckow, M. A., S. H. Weisbroth & C. L. Franklin. 2006. *The laboratory rat second edition*. Elsevier, London: v + 884 hlm.
- Sudewo, B. 2009. *Basmi penyakit dengan sirih merah*. Agromedia Pustaka, Jakarta: iv + 101 hlm.

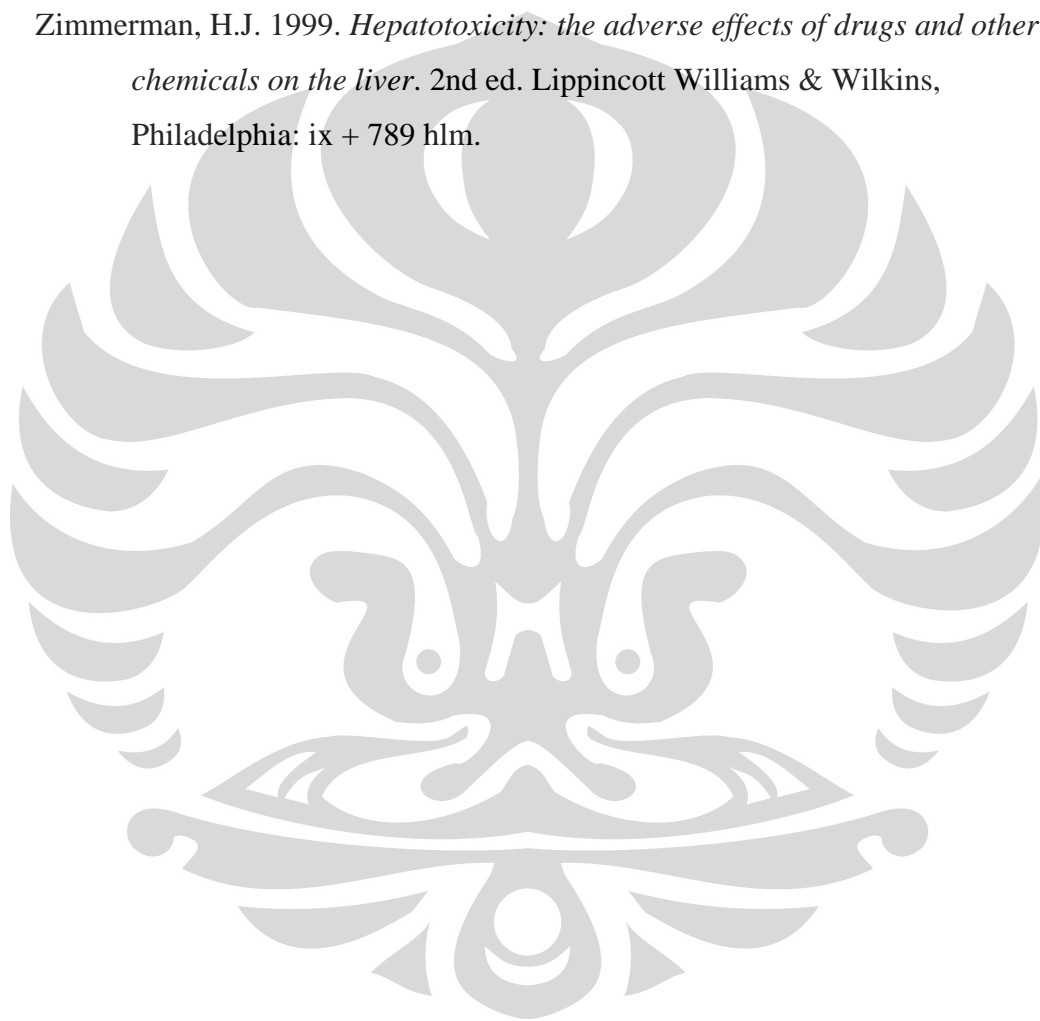
- Sunarni, T., S. Pramono & R. Asmah. 2007. Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Majalah Farmasi Indonesia* **18**(3): 111--116.
- Suntoro, S.H. 1983. *Metode pewarnaan*. Penerbit Bhatara Karya Aksara, Jakarta: viii + 395 hlm.
- Suppakul, P., N. Sanla-Ead & P. Phoopuritham. 2006. Antimicrobial and antioxidant activities of betel oil. *Nutritional Science* **40**: 91--100.
- Suratmo. 2008. *Potensi sirih merah (Piper crocatum) sebagai antioksidan*. 2008. [http://fisika.brawijaya.ac.id/bssub/PDF%20FILES/BSS\\_205\\_1.pdf](http://fisika.brawijaya.ac.id/bssub/PDF%20FILES/BSS_205_1.pdf): 5 hlm. 25 Januari 2010. pk. 10.15 WIB.
- Telford, I.R. & C.F. Brigman. 1990. *Introduction to functional histology*. Harper & Row Publisher, New York: xxi + 598 hlm.
- Tjitraoepomo, G. 2005. *Morfologi tumbuhan*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta: x + 266 hlm.
- Trump, B.F., I.K. Berezsky, T. Sato, K.U. Laiho, P.C. Phelps & N. DeClaris. 1984. Cell calcium, cell injury, and cell death. *Environmental Health Perspectives* **57**: 281--287.
- Ulfa, M. 2008. Efek hepatoprotektif ekstrak etil asetat daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) DC.) terhadap mencit jantan galur swiss terinduksi parasetamol. Skripsi sarjana S1 Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta: 1--16.
- Van Der Vossen, H.A.M. & M. Wessel. 2000. *Plant resources of South East*. No. 16. Stimulants. Backhuys Publishers, Leiden: 201 hlm.
- Viablehealth. 2005. *The herbal standardization process*. 4 hlm. <http://www.viablehealth.com/herb/herbs40.html>: 17 Mei 2010. pk. 10.24 WIB.
- Widiastuti, T.A. 1998. Pengaruh pencekokan jus lidah buaya (*Aloe vera* L.) terhadap organ hati mencit (*Mus musculus* L.) galur Swiss. Skripsi sarjana S1 Departemen Biologi FMIPA UI, Depok: x + 55 hlm.
- Wijayanti. 2008. *Efek hepatoproteltif ekstrak etanol 70% daun salam (Syzygium polyanthum [Wight.] Walp.) pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karbol tetraklorisa (CCl4)*. 16 hlm.

<http://etd.eprints.ums.ac.id/2328/1/K100040201.pdf>: 12 Februari 2010. pk.  
10.30 WIB.

Winarsi, H. 2007. Antioksidan alami dan radikal bebas: potensi dan aplikasinya dalam kesehatan. Penerbit Kanisius, Yogyakarta: 281 hlm.

Young, S.C., C.J. Wang, J.J. Lin, P.L. Peng, J.L. Hsu & F.P. Chou. 2006. Protection effect of piper betel leaf extract against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Archive Toxicology* **81**: 45--55.

Zimmerman, H.J. 1999. *Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver*. 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia: ix + 789 hlm.



## Lampiran 1

Perhitungan dosis infus sirih merah (*Piper betle* L. variasi rubrum) untuk *M. musculus*

---

**Diketahui :**

Dosis pada manusia dewasa (per 70 kg bb) = 6 lembar daun besar basah  
 = 16,8 g basah  
 = 4 g daun kering

(Sudewo 2009: 86).

Faktor konversi dosis dari manusia ke mencit (per 20 g bb) = 0.0026

Volume maksimum pencekokan untuk mencit = 1 ml  
 (per 100 g bb)

**Ditanya:**

Dosis untuk *M. musculus*

**Perhitungan:**

Dosis untuk *M. musculus* (per 20 g bb) = 0,0026 x 4 g  
 = 0,0104 g

Jika berat mencit 20 g, maka 0.0078 g disuspensikan dengan pelarut (aquades) sebanyak 0.2 mL

$$\% \text{ b/v} = \frac{0,0104}{0,2} \times 100\% = 5,2\% \sim 5\%$$

Rentang dosis yang digunakan pada penelitian pendahuluan  
 = 5; 10; dan 15 %

Jadi, rentang dosis yang digunakan untuk mencit adalah: 5; 10; 15%

(Ngatidjan 1991: 94 & 121).



## Lampiran 2

Pembuatan larutan karbon tetraklorida dosis 400 mg/kg bb**Diketahui:**

|  |                |
|--|----------------|
| Berat jenis CCl <sub>4</sub>                                 | = 1,59 g/ml    |
| Dosis yang digunakan   | = 400 mg/kg bb |
| Berat mencit standar yang disuntik CCl <sub>4</sub> (per ml) | = 100 g        |
| Volume akhir yang dikehendaki                                | = 10 ml        |
| Volume maksimal yang dicekok ke <i>Mus musculus</i>          | = 1 ml         |

**Ditanya:**

Volume CCl<sub>4</sub> yang dibutuhkan

**Perhitungan:**

Dosis 400 mg/kg bb = 0,4 mg/g bb

0,4 mg/g bb x 100 g = 40 mg/ml = 0,04 g/ml

Volume CCl<sub>4</sub> yang dibutuhkan =  $\frac{0,04 \frac{g}{ml} \times 10 ml}{1,59 \frac{g}{ml}}$

= 0,251 ml

(Ilyas 1991: 19)

Lampiran 3  
Cara pengukuran diameter vena sentralis

---



Misalkan kedua gambar di atas adalah 2 bentuk (elips dan lingkaran) penampang vena sentralis yang terlihat pada mikroyektor. Diameter vena sentralis diukur dengan cara menjumlahkan panjang garis a (vertikal) dan panjang garis b (horizontal), kemudian jumlah tersebut dibagi 2.

$$d = \frac{a+b}{2}$$

[Sumber: Widiastuti 1998: 44.]

## Lampiran 4

## Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data berat basah rata-rata organ hati

**Tujuan:**

Untuk mengetahui normalitas distribusi data berat basah rata-rata organ hati

**Hipotesis:**

$H_0$ : Data berat basah rata-rata organ hati berdistribusi normal

$H_1$ : Data berat basah rata-rata organ hati tidak berdistribusi normal

**Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

**Kriteria pengujian:**

Jika  $P < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $P > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

**Hasil perhitungan:**

| PERLAKUAN | Shapiro-Wilk |    |                  |
|-----------|--------------|----|------------------|
|           | Statistik    | db | Probabilitas (P) |
| KK1       | 0,943        | 5  | 0,687            |
| KK2       | 0,869        | 5  | 0,263            |
| KP1       | 0,842        | 5  | 0,170            |
| KP2       | 0,843        | 5  | 0,173            |
| KP3       | 0,895        | 5  | 0,383            |

Jika  $P > 0,05$ ;  $H_0$  diterima.

**Kesimpulan:**

Data berat basah rata-rata organ hati berdistribusi normal.

## Lampiran 5

Uji homogenitas Levene terhadap data berat basah rata-rata organ hati

**Tujuan:**

Untuk mengetahui homogenitas variansi data berat basah rata-rata organ hati

**Hipotesis:**

$H_0$ : Data berat basah rata-rata organ hati bervariasi homogen

$H_1$ : Data berat basah rata-rata organ hati tidak bervariasi homogen

**Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

**Kriteria pengujian:**

Jika  $P < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $P > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

**Hasil perhitungan:**

| $F_{hit}$ | db1 | db2 | Probabilitas (P) |
|-----------|-----|-----|------------------|
| 0,770     | 4   | 20  | 0,557            |

**Kesimpulan:**

Data berat basah rata-rata organ hati bervariasi homogen.

## Lampiran 6

Uji analisis variansi (anava) 1-faktor terhadap data berat basah rata-rata  
organ hati

---

**Tujuan:**

Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh faktor perlakuan terhadap berat basah rata-rata organ hati antara kelompok perlakuan

**Hipotesis:**

$H_0$ : Tidak ada pengaruh faktor perlakuan terhadap berat basah rata-rata organ hati antara kelompok perlakuan

$H_1$ : Ada pengaruh faktor perlakuan terhadap berat basah rata-rata organ hati antara kelompok perlakuan

**Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

**Kriteria pengujian:**

Jika  $P < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $P > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

**Hasil perhitungan:**

| Keragaman      | Jumlah kuadrat | db | Kuadrat tengah | $F_{hitung}$ | Probabilitas |
|----------------|----------------|----|----------------|--------------|--------------|
| Antar kelompok | 1,123          | 4  | 0,281          | 2,945        | 0,046        |
| Dalam kelompok | 1,907          | 20 | 0,095          |              |              |
| Total          | 3,030          | 24 |                |              |              |

**Kesimpulan:**

Ada pengaruh faktor perlakuan terhadap berat basah rata-rata organ hati antara kelompok perlakuan.

## Lampiran 7

Uji perbandingan berganda LSD terhadap data berat basah rata-rata organ hati

---

**Tujuan:**

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan berat basah rata-rata organ hati antara pasangan kelompok perlakuan

**Hipotesis:**

$H_0$ : Tidak ada perbedaan data berat basah rata-rata organ hati antara pasangan kelompok perlakuan

$H_1$ : Ada perbedaan data berat basah rata-rata organ hati antara pasangan kelompok perlakuan

**Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

**Kriteria pengujian:**

Jika  $P < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $P > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

**Hasil perhitungan:**

| PERLAKUAN<br>(I) | PERLAKUAN<br>(J) | Selisih<br>mean<br>(I-J) | SE      | P      | Interval kepercayaan<br>95% |               |
|------------------|------------------|--------------------------|---------|--------|-----------------------------|---------------|
|                  |                  |                          |         |        | Batas<br>bawah              | Batas<br>atas |
| KK1              | KK2              | -0,33604                 | 0,19529 | 0,101  | -0,7434                     | 0,0713        |
|                  | KP1              | -0,06948                 | 0,19529 | 0,726  | -0,4768                     | 0,3379        |
|                  | KP2              | -0,54906                 | 0,19529 | 0,011* | -0,9564                     | -0,1417       |
|                  | KP3              | -0,44238                 | 0,19529 | 0,035* | -0,8497                     | -0,0350       |
| KK2              | KK1              | 0,33604                  | 0,19529 | 0,101  | -0,0713                     | 0,7434        |
|                  | KP1              | 0,26656                  | 0,19529 | 0,187  | -0,1408                     | 0,6739        |
|                  | KP2              | -0,21302                 | 0,19529 | 0,288  | -0,6204                     | 0,1943        |
|                  | KP3              | -0,10634                 | 0,19529 | 0,592  | -0,5137                     | 0,3010        |
| KP1              | KK1              | 0,06948                  | 0,19529 | 0,726  | -0,3379                     | 0,4768        |
|                  | KK2              | -0,26656                 | 0,19529 | 0,187  | -0,6739                     | 0,1408        |
|                  | KP2              | -0,47958                 | 0,19529 | 0,023* | -0,8869                     | -0,0722       |
|                  | KP3              | -0,37290                 | 0,19529 | 0,071  | -0,7803                     | 0,0345        |
| KP2              | KK1              | 0,54906                  | 0,19529 | 0,011* | 0,1417                      | 0,9564        |
|                  | KK2              | 0,21302                  | 0,19529 | 0,288  | -0,1943                     | 0,6204        |
|                  | KP1              | 0,47958                  | 0,19529 | 0,023* | 0,0722                      | 0,8869        |
|                  | KP3              | 0,10668                  | 0,19529 | 0,591  | -0,3007                     | 0,5140        |
| KP3              | KK1              | 0,44238                  | 0,19529 | 0,035* | 0,0350                      | 0,8497        |
|                  | KK2              | 0,10634                  | 0,19529 | 0,592  | -0,3010                     | 0,5137        |
|                  | KP1              | 0,37290                  | 0,19529 | 0,071  | -0,0345                     | 0,7803        |
|                  | KP2              | -0,10668                 | 0,19529 | 0,591  | -0,5140                     | 0,3007        |

Keterangan:

(\*)  $P < 0,05$ : ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan

**Kesimpulan:**

Terdapat perbedaan nyata pada berat basah rata-rata organ hati antara KK1 dengan KP2 dan KP3, serta KP1 dengan KP2.

## Lampiran 8

## Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data diameter rata-rata vena sentralis

**Tujuan:**

Untuk mengetahui normalitas distribusi data diameter rata-rata vena sentralis

**Hipotesis:**

$H_0$ : Data diameter rata-rata vena sentralis berdistribusi normal

$H_1$ : Data diameter rata-rata vena sentralis tidak berdistribusi normal

**Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

**Kriteria pengujian:**

Jika  $P < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $P > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

**Hasil perhitungan:**

| PERLAKUAN | Shapiro-Wilk |    |                  |
|-----------|--------------|----|------------------|
|           | Statistik    | db | Probabilitas (P) |
| KK1       | 0,870        | 5  | 0,267            |
| KK2       | 0,933        | 5  | 0,616            |
| KP1       | 0,949        | 5  | 0,729            |
| KP2       | 0,900        | 5  | 0,408            |
| KP3       | 0,908        | 5  | 0,456            |

**Kesimpulan:**

Data diameter rata-rata vena sentralis secara keseluruhan berdistribusi normal.



## Lampiran 9

Uji homogenitas Levene terhadap data diameter rata-rata vena sentralis**Tujuan:**

Untuk mengetahui homogenitas variansi data diameter rata-rata vena sentralis

**Hipotesis:**

$H_0$ : Data diameter rata-rata vena sentralis bervariasi homogen

$H_1$ : Data diameter rata-rata vena sentralis tidak bervariasi homogen

**Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

**Kriteria pengujian:**

Jika  $P < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $P > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

**Hasil perhitungan:**

| $F_{hit}$ | db1 | db2 | Probabilitas (P) |
|-----------|-----|-----|------------------|
| 1,024     | 4   | 20  | 0,419            |

**Kesimpulan:**

Data diameter rata-rata vena sentralis bervariasi homogen.

## Lampiran 10

Uji analisis variansi (anova) 1-faktor terhadap data diameter rata-rata vena sentralis

---

**Tujuan:**

Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh faktor perlakuan terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati *M. musculus* antara kelompok perlakuan

**Hipotesis:**

H<sub>0</sub>: Tidak ada pengaruh faktor perlakuan terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati *M. musculus* antara kelompok perlakuan

H<sub>1</sub>: Ada pengaruh faktor perlakuan terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati *M. musculus* antara kelompok perlakuan

**Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

**Kriteria pengujian:**

Jika  $P < 0,05$ ; maka H<sub>0</sub> ditolak

Jika  $P > 0,05$ ; maka H<sub>0</sub> diterima

**Hasil perhitungan:**

| Keragaman      | Jumlah kuadrat | db | Kuadrat tengah | F <sub>hitung</sub> | Probabilitas |
|----------------|----------------|----|----------------|---------------------|--------------|
| Antar kelompok | 2382,626       | 4  | 595,656        | 3,890               | 0,017        |
| Dalam kelompok | 3062,177       | 20 | 153,109        |                     |              |
| Total          | 5444,803       | 24 |                |                     |              |

**Kesimpulan:**

Ada pengaruh faktor perlakuan terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati *M. musculus* antara kelompok perlakuan.

Lampiran 11  
Uji perbandingan berganda LSD terhadap data diameter rata-rata vena  
sentralis

---

**Tujuan:**

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan diameter rata-rata vena sentralis hati *M. musculus* antara pasangan kelompok perlakuan

**Hipotesis:**

$H_0$ : Tidak ada perbedaan data diameter rata-rata vena sentralis hati *M. musculus* antara pasangan kelompok perlakuan

$H_1$ : Ada perbedaan data diameter rata-rata vena sentralis hati *M. musculus* antara pasangan kelompok perlakuan

**Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

**Kriteria pengujian:**

Jika  $P < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $P > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

**Hasil perhitungan:**

| PERLAKUAN<br>(I) | PERLAKUAN<br>(J) | Selisih<br>mean<br>(I-J) | SE      | P      | Interval kepercayaan<br>95% |               |
|------------------|------------------|--------------------------|---------|--------|-----------------------------|---------------|
|                  |                  |                          |         |        | Batas<br>bawah              | Batas<br>atas |
| KK1              | KK2              | -27,49772                | 7,82583 | 0,002* | -43,8221                    | -11,1733      |
|                  | KP1              | -7,97392                 | 7,82583 | 0,320  | -24,2983                    | 8,3505        |
|                  | KP2              | -14,44840                | 7,82583 | 0,080  | -30,7728                    | 1,8760        |
|                  | KP3              | -21,90494                | 7,82583 | 0,011* | -38,2293                    | -5,5806       |
| KK2              | KK1              | 27,49772                 | 7,82583 | 0,002* | 11,1733                     | 43,8221       |
|                  | KP1              | 19,52380                 | 7,82583 | 0,021* | 3,1994                      | 35,8482       |
|                  | KP2              | 13,04932                 | 7,82583 | 0,111  | -3,2751                     | 29,3737       |
|                  | KP3              | 5,59278                  | 7,82583 | 0,483  | -10,7316                    | 21,9172       |
| KP1              | KK1              | 7,97392                  | 7,82583 | 0,320  | -8,3505                     | 24,2983       |
|                  | KK2              | -19,52380                | 7,82583 | 0,021* | -35,8482                    | -3,1994       |
|                  | KP2              | -6,47448                 | 7,82583 | 0,418  | -22,7989                    | 9,8499        |
|                  | KP3              | -13,93102                | 7,82583 | 0,090  | -30,2554                    | 2,3934        |
| KP2              | KK1              | 14,44840                 | 7,82583 | 0,080  | -1,8760                     | 30,7728       |
|                  | KK2              | -13,04932                | 7,82583 | 0,111  | -29,3737                    | 3,2751        |
|                  | KP1              | 6,47448                  | 7,82583 | 0,418  | -9,8499                     | 22,7989       |
|                  | KP3              | -7,45654                 | 7,82583 | 0,352  | -23,7809                    | 8,8678        |
| KP3              | KK1              | 21,90494                 | 7,82583 | 0,011* | 5,5806                      | 38,2293       |
|                  | KK2              | -5,59278                 | 7,82583 | 0,483  | -21,9172                    | 10,7316       |
|                  | KP1              | 13,93102                 | 7,82583 | 0,090  | -2,3934                     | 30,2554       |
|                  | KP2              | 7,45654                  | 7,82583 | 0,352  | -8,8678                     | 23,7809       |

Keterangan:

(\*)  $P < 0,05$ : ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan

**Kesimpulan:**

Terdapat perbedaan yang nyata pada diameter rata-rata vena sentralis antara KK1 dengan KK2 dan KP3, serta KK2 dengan KP1.