

**PENGARUH PEMBERIAN JAMU “K” TERHADAP FUNGSI HATI PADA TIKUS PUTIH
DITINJAU DARI AKTIVITAS ALANIN AMINOTRANSFERASE DAN ALKALI FOSFATASE
PLASMA SERTA GAMBARAN HISTOLOGIS HATI**

DESTI FAJARWATI

0305050175



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
2009**

**PENGARUH PEMBERIAN JAMU “K” TERHADAP FUNGSI HATI PADA TIKUS PUTIH
DITINJAU DARI AKTIVITAS ALANIN AMINOTRANSFERASE DAN ALKALI FOSFATASE
PLASMA SERTA GAMBARAN HISTOLOGIS HATI**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**Oleh:
DESTI FAJARWATI
0305050175**



**DEPOK
2009**

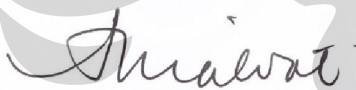
SKRIPSI : PENGARUH PEMBERIAN JAMU "K" TERHADAP
FUNGSI HATI PADA TIKUS PUTIH DITINJAU DARI
AKTIVITAS ALANIN AMINOTRANSFERASE DAN
ALKALI FOSFATASE PLASMA SERTA GAMBARAN
HISTOLOGIS HATI

NAMA : DESTI FAJARWATI

NPM : 0305050175

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009

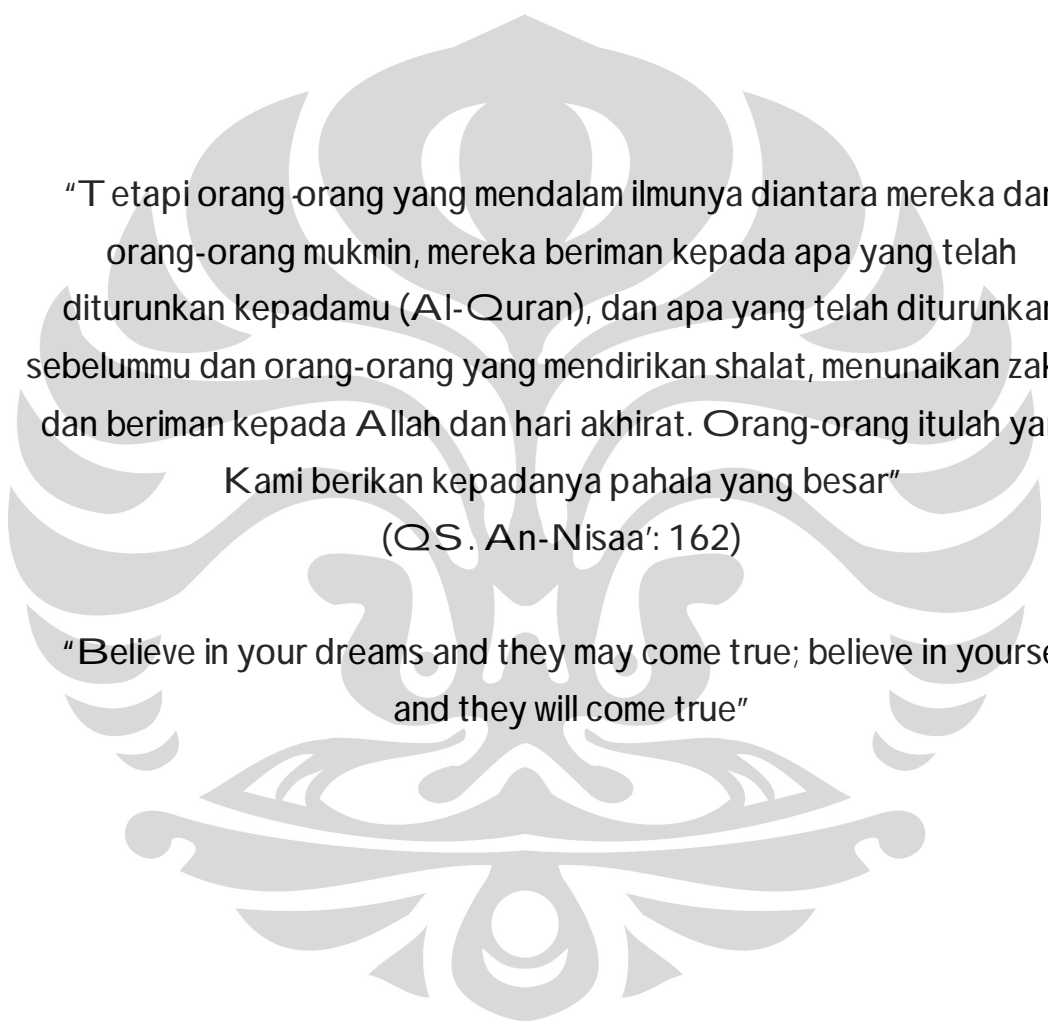


Dra. AZIZAHWATI, MS, Apt
PEMBIMBING I



SANTI PURNA SARI, M.Si
PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana:	10-7-2009
Penguji I	: Dr. Harmita, Apt	(.....)
Penguji II	: Dra. Juheini, Msi	(.....)
Penguji III	: Dr. Berna Elya, MS	(.....)



"T etapi orang-orang yang mendalam ilmunya diantara mereka dan orang-orang mukmin, mereka beriman kepada apa yang telah diturunkan kepadamu (Al-Quran), dan apa yang telah diturunkan sebelumnya dan orang-orang yang mendirikan shalat, menunaikan zakat, dan beriman kepada Allah dan hari akhirat. Orang-orang itulah yang Kami berikan kepadanya pahala yang besar"

(QS. An-Nisaa': 162)

"Believe in your dreams and they may come true; believe in yourself and they will come true"

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis mengucapkan puji syukur kepada Allah SWT, karena atas izin, rahmat dan kasih sayang-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak mulai dari masa perkuliahan sampai penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dra. Azizahwati, MS, Apt selaku pembimbing I dan Ibu Santi Purna Sari, M.Si selaku pembimbing II yang telah rela mengorbankan waktunya untuk membimbing penulis, memberikan arahan, saran dan ide-ide terbaik serta ilmu yang bermanfaat selama penyusunan skripsi ini
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI
3. Ibu Prof. Dr. Atiek Soemiati, MS selaku pembimbing akademis yang telah memberikan arahan terhadap akademis penulis
4. Bapak Dr. Dadang Kusmana yang telah membantu selama penelitian
5. Ibu Prof. Dr. Endang Hanani dan bapak Dr. Abdul Mun'im, MS yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama penelitian berlangsung
6. Seluruh staf pengajar, laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu kelancaran dalam perkuliahan, dan penelitian serta penyusunan skripsi ini

7. Ibu dan bapak yang selalu memberikan dukungan, semangat, doa, dan kasih sayang tiada tara kepada penulis; Nurul, Fadhil, Cici Lala, Ibu Uwi dan semua keluarga tercinta yang telah mendukung dan menghidupkan suasana selama penyusunan skripsi ini
8. Pak Stephen yang telah memberikan bantuan, semangat, inspirasi dan pemikiran-pemikiran yang sangat berarti bagi penulis
9. Sahabat-sahabatku di Farmasi Tami, Wangi, Niken, Anis, Emi; teman-teman penelitian sekaligus sahabat: Lisna, Lina, kak Nana; teman-teman laboratorium Farmakologi: Atika, Okta, kak Uwi, Femmi, Retno; sahabatku yang takkan pernah tergantikan: Annisa, Karima dan Sasha serta Farmasi 2005 yang telah memberikan semangat dan warni-warni dalam sekelumit perjalanan hidupku di Farmasi

Penulis menyadari masih ada kekurangan dalam penulisan skripsi. Saran dan kritik yang membangun akan diterima dengan baik sebagai evaluasi agar dapat menjadi lebih baik lagi selanjutnya.

Penulis

Juni 2009

ABSTRAK

Berdasarkan uji khasiat yang telah dilakukan, *Curcuma zedoaria* dan *Azadirachta indica* masing-masing telah terbukti memiliki khasiat sebagai antikanker. Jamu “K” adalah obat tradisional yang mengandung ekstrak rimpang *Curcuma zedoaria* dan daun *Azadirachta indica* yang digunakan untuk mengobati kanker dan biasanya digunakan dalam jangka panjang. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jamu “K” terhadap fungsi hati tikus putih secara oral selama 90 hari. Tikus putih jantan dan betina galur *Sprague-Dawley*, masing-masing 24 ekor dibagi secara acak sederhana ke dalam 4 kelompok. Kelompok I, II, III diberikan suspensi uji dosis 1980, 3960, 7920 mg/kg bb/hari, dan kelompok IV sebagai kontrol diberi larutan CMC 0,5%. Pada hari ke-91 sampel darah dan organ hati diambil, kemudian dilakukan pengukuran aktivitas alanin aminotransferase (ALT) dan alkali fosfatase (ALP) plasma serta dilakukan pemeriksaan histologis hati. Hasil pengukuran aktivitas ALT dan ALP plasma serta diameter vena sentralis dianalisis dengan uji ANAVA satu arah ($\alpha > 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna aktivitas ALT, ALP dan diameter vena sentralis antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Hasil pemeriksaan histologis hati menunjukkan tidak adanya kerusakan sel hati. Sehingga dapat disimpulkan

pemberian jamu “K” selama 90 hari tidak mempengaruhi fungsi hati tikus putih.

Kata kunci: Alanin Aminotransferase, Alkali Fosfatase, *Azadirachta indica*,
Curcuma zedoaria, histologis hati

xiii + 101 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi: 38 (1957-2009)



ABSTRACT

Based on efficacy evaluations which had been done, *Curcuma zedoaria* and *Azadirachta indica* were known have anticancer effect. Jamu “K” is traditional medicine which has contained extracts of *Curcuma zedoaria* rhizome and *Azadirachta indica* leaves and used to cancer treatment in long periods. This study aimed to assess the effect of jamu “K” orally on liver function for 90 days. Twenty four male and 24 female *Sprague-Dawley* white rats were divided at simple random into 4 groups. Group I, II, III were given dose 1980; 3960 and 7920 mg/kg bw, and group IV as control was given CMC 0,5% solution. On the 91st day, blood and the liver were taken, then activities of alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) plasma were measured and liver histology was observed. Results of ALT, ALP activity and central vein diameter measurement were analyzed by ANOVA one way test ($\alpha > 0,05$) showed that there were no significant difference on activities of ALT, ALP plasma and central vein diameter between dose groups and control groups. Result of liver histology examination showed that there were no hepatocytes damage. The results concluded that administered jamu “K” within 90 days did not effect white rats liver function.

Keywords: Alanine Aminotransferase, Alkaline Phosphatase, *Azadirachta*

indica, *Curcuma zedoaria*, liver histology

xiii + 101 pages; pictures; tables; appendixes

Bibliography: 38 (1957-2009)



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	4
C. Hipotesis	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Hewan Coba	5
B. Jamu “K”	8
C. Hati.....	16
D. Alanin Aminotransferase (ALT).....	22
E. Alkali Fosfatase (ALP).....	23
BAB III. METODE PENELITIAN	25
A. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	25

B. Alat.....	25
C. Bahan	26
D. Cara Kerja	27
E. Analisis Data	39
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
A. Hasil Percobaan	41
B. Pembahasan	45
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	53
A. Kesimpulan	53
B. Saran	53
DAFTAR ACUAN	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun kandungan kimia <i>Curcuma zedoaria</i>	10
2. Rumus bangun kandungan kimia <i>Azadirachta indica</i>	13
3. Serbuk jamu "K"	59
4. Reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat dengan ALT sebagai katalisator	59
5. Reaksi pembentukan fosfat inorganik (hidrogen fosfat dan alkohol dengan ALP sebagai katalisator)	60
6. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata.....	60
7. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran ALT plasma secara kolorimetri	61
8. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran ALP plasma secara kolorimetri	61
9. Kurva kalibrasi aktivitas ALT.....	62
10. Diagram aktivitas ALT rata-rata tikus putih jantan dan betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari	62
11. Diagram aktivitas ALP rata-rata tikus putih jantan dan betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari	63
12. Diagram diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan dan betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari.....	63
13. Gambaran histologis hati tikus betina kelompok dosis 1980 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X	64
14. Gambaran histologis hati tikus betina kelompok dosis 3960 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X	64
15. Gambaran histologis hati tikus betina kelompok dosis 7920 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X	65

16. Gambaran histologis hati tikus betina kelompok kontrol normal setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X	65
17. Gambaran histologis hati tikus jantan kelompok dosis 1980 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X	66
18. Gambaran histologis hati tikus jantan kelompok dosis 3960 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X	66
19. Gambaran histologis hati tikus jantan kelompok dosis 7920 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X	67
20. Gambaran histologis hati tikus jantan kelompok kontrol normal setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X	67

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat pada pembuatan kurva kalibrasi.....	69
2. Pengukuran aktivitas ALT plasma	70
3. Pengukuran aktivitas ALP plasma	71
4. Serapan larutan standar piruvat dan dapar substrat dalam berbagai perbandingan konsentrasi pada pembuatan kurva kalibrasi ALT	71
5. Aktivitas ALT plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 Hari	72
6. Aktivitas ALT plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 Hari	73
7. Aktivitas ALP plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 Hari	74
8. Aktivitas ALP plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 Hari	75
9. Diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	76
10. Diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	77

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan dosis	79
2. Pembuatan suspensi uji	80
3. Perolehan regresi linier	82
4. Perhitungan aktivitas ALT plasma	83
5. Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)	84
6. Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)	85
7. Uji ANAVA terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)	86
8. Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)	87
9. Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)	88
10. Uji ANAVA terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)	89
11. Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)	90
12. Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)	91
13. Uji ANAVA terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)	92
14. Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)	93

15. Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)	94
16. Uji ANAVA terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)	95
17. Uji distribusi normal terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina (SPSS 16.00)	96
18. Uji kesamaan varians terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus Putih betina (SPSS 16.0)	97
19. Uji ANAVA terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina (SPSS 16.0)	98
20. Uji distribusi normal terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 16.0)	99
21. Uji kesamaan varians terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus Putih jantan (SPSS 16.0)	100
22. Uji ANAVA terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 16.0)	101

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Masyarakat di Indonesia pada umumnya sama seperti keadaan di mancanegara memiliki beragam latar belakang budaya etnik masing-masing, dan lazim menggunakan obat tradisional atau yang disebut jamu. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, dan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan. Jamu dapat dibuat dalam bentuk serbuk, pil atau cairan yang berasal dari bahan alam (1).

Pada dasarnya, pemakaian obat tradisional secara garis besar bertujuan sebagai upaya promotif, preventif, kuratif, dan rehabilitatif (1). Salah satu penyakit yang dapat diobati oleh obat tradisional adalah kanker, penyakit ini termasuk penyebab utama kematian hampir di seluruh dunia, dari tahun ke tahun jumlahnya meningkat baik di Jepang, Eropa, Amerika dan Indonesia. Faktor genetik telah diketahui memegang peranan penting pada perkembangan sel kanker. Selain itu, faktor kebiasaan hidup, usia, keadaan geografis juga ikut berperan dalam timbulnya penyakit kanker (2).

Usaha-usaha pencegahan atau pengobatan kanker semakin penting mengingat frekuensi kejadiannya yang cukup tinggi. Usaha pencarian dan

pemanfaatan obat tradisional sebagai upaya alternatif pengobatan kanker terus ditingkatkan. Salah satu obat tradisional yang banyak digunakan sebagai antikanker adalah temu putih (2).

Hasil uji efek ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) terhadap pertumbuhan tumor paru fase post inisiasi pada mencit betina diinduksi benzo[a]piren menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang temu putih dengan dosis 750 mg/kg bb mampu menghambat proses karsinogenesis pada mencit betina yang diinduksi benzo[a]piren secara signifikan (77,78%) (2). Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) pada tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* menunjukkan temu putih tidak menyebabkan kematian hewan uji sampai pada dosis 21262,5 g/kg bb (3).

Selain temu putih, tanaman mimba juga telah diteliti memiliki khasiat sebagai antikanker. Penelitian uji khasiat ekstrak daun mimba telah banyak dilakukan, salah satunya yaitu pemberian 100 mg/kg bb ekstrak air mimba telah diteliti efektif menurunkan 58,4% pertumbuhan tumor pada mencit yang menderita kanker perut setelah diinduksi benzo[a]piren (4). Selain itu, hasil penelitian lain menunjukkan pada pemberian 100 mg/kg bb selama 182 hari ekstrak air daun mimba berkhasiat untuk mencegah zat-zat kimia toksik (*chemopreventif*) dan pemberian 250 mg/kg bb selama 182 hari memiliki khasiat sebagai hepatoprotektif (5).

Uji keamanan ekstrak daun mimba yang telah dilakukan, antara lain: Pemberian 40 mg/kg bb ekstrak air daun mimba secara intravena

menimbulkan kematian pada *Guinea pig*. Dua puluh empat jam setelah pemberian 2500 mg/kg bb ekstrak air daun mimba secara oral pada mencit tidak menyebabkan kematian. Begitu pula pada pemberian 1000 mg/kg bb ekstrak air daun mimba secara oral pada mencit selama 28 hari tidak menimbulkan kematian pada hewan coba (6). Pemberian ekstrak etanol 50% daun mimba yang diberikan secara intraperitoneal pada mencit memiliki nilai LD₅₀ sebesar 681 mg/kg bb (7).

Jamu "K" adalah salah satu sediaan obat tradisional yang mengandung ekstrak rimpang temu putih dan ekstrak daun mimba yang digunakan untuk mengobati penyakit kanker. Pengobatan kanker dengan obat tradisional biasanya dilakukan dalam waktu yang relatif lama, terutama obat yang diberikan secara peroral. Pemberian obat dalam jangka waktu lama akan menyebabkan resiko terjadinya proses toksisitas kronis (8). Salah satu organ yang berpotensi dipengaruhi oleh zat-zat toksik adalah hati, karena hati memiliki peranan besar dan kompleks yang mencakup fungsi metabolisme dan ekskresi (9). Hati adalah suatu organ yang memiliki kemampuan regenerasi yang sangat baik dan dapat tetap berfungsi dalam batas normal walaupun 80% hepatosit mengalami kerusakan. Oleh karena itu, angka kejadian efek samping obat pada hati relatif rendah ($\pm 2\%$), namun angka kefatalannya relatif besar (10-50%) (10).

Sehubungan dengan cara pemakaian obat antikanker yang relatif lama dan kemungkinan adanya efek akumulasi obat, maka perlu dilakukan uji untuk melihat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak rimpang temu putih

dan ekstrak daun mimba dalam jangka panjang (90 hari). Pengaruh obat ini terhadap organ hati dapat dinilai dengan mengukur aktivitas enzim alanin aminotransferase (ALT) dan alkali fosfatase (ALP) plasma, serta melihat gambaran histologis hati pada hari ke-91.

B. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian jamu "K" dengan dosis 1980, 3960, dan 7920 mg/kg bb/hari pada tikus putih selama 90 hari terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase dan alkali fosfatase plasma serta gambaran histologis hati.

C. HIPOTESIS

Pemberian jamu "K" dengan dosis 1980, 3960, dan 7920 mg/kg bb/hari pada tikus putih selama 90 hari tidak mempengaruhi fungsi hati ditinjau dari pengukuran aktivitas alanin aminotransferase dan alkali fosfatase plasma serta gambaran histologis hati.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. HEWAN COBA

1. Jenis dan Jumlah Hewan Coba

Hewan coba yang biasa digunakan dalam uji toksisitas terdiri dari golongan bukan pengerat dan golongan pengerat. Golongan bukan pengerat yang biasa digunakan adalah anjing, sedangkan untuk golongan pengerat biasa digunakan tikus dan mencit (11). Usia tikus dan mencit yang lazim digunakan dalam uji toksisitas adalah 6 sampai 8 minggu, sedangkan untuk anjing adalah 4 sampai 6 bulan, maksimal berusia 9 bulan (12). Pada umumnya tikus lebih sering digunakan dalam eksperimen, karena tikus memiliki ukuran yang kecil, tersedia dalam galur yang murni dan seragam, serta dapat bertahan pada penelitian jangka panjang yang menggunakan anestesi (13). Galur tikus yang biasa digunakan, yaitu:

a. *Wistar rat*

Tikus galur ini memiliki bentuk kepala yang lebar, terutama pada tikus jantan. Memiliki telinga yang panjang dan ekor yang lebih panjang dari panjang tubuh, serta tahan terhadap infeksi (13).

b. *Sprague-Dawley*

Tikus galur ini memiliki kepala yang panjang dan sempit. Panjang ekor dan tubuhnya sama. Memiliki kemampuan berkembang biak cepat. Tikus jenis ini jinak dan mudah ditangani (13).

Jumlah hewan coba yang digunakan dalam uji toksisitas terbagi menjadi dua regulasi, yaitu:

a. Menurut WHO

Penetapan hewan coba menurut WHO, yaitu bila digunakan hewan coba anjing, digunakan minimal 3 ekor jantan dan 3 ekor betina tiap kelompok. Sedangkan bila digunakan hewan coba tikus digunakan 10 ekor tikus jantan dan 10 ekor tikus betina tiap kelompok (9).

b. Rumus empiris Federer

Menurut rumus empiris Federer, digunakan perhitungan sebagai berikut:

$$(T-1)(n-1) \geq 15$$

T = jumlah beda kelompok perlakuan terhadap hewan coba

n = jumlah ulangan

Misalnya jumlah perlakuan yaitu 4 kelompok, maka nilai n adalah 6. Jadi, jumlah minimal hewan coba yang digunakan tiap kelompok adalah 6 ekor.

2. Metode Pengelompokan Hewan Coba

Pengelompokan hewan coba ke dalam tiap kelompok perlakuan dilakukan dengan cara random. Teknik pengelompokan hewan coba terdiri dari beberapa metode, antara lain (14):

a. Pengambilan sampel acak sederhana

Dilakukan dengan memberi kesempatan yang sama pada setiap anggota populasi untuk menjadi anggota sampel. Ada 2 cara yang dikenal, yaitu:

1) Dengan cara mengundi "cointoss"

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara undian, sehingga setiap unit mempunyai peluang yang sama untuk dapat dipilih. Misalnya setiap nomor unit penelitian dalam daftar kerangka sampling ditulis dalam secarik kertas, kertas-kertas tersebut digulung dan dimasukkan dalam sebuah kotak. Setelah dikocok, sejumlah gulungan kertas diambil sesuai dengan jumlah sampel yang direncanakan. Nomor-nomor yang terambil, menjadi unit penelitian yang terpilih sebagai sampel. Penggunaan cara ini tidak praktis untuk sampel dalam jumlah yang besar (14).

2) Dengan menggunakan tabel angka acak (*Random Numbers*).

Digunakan bila jumlah populasi besar. Pada pengambilan sampel ini, sifat populasi harus homogen, agar tidak terjadi bias (14).

b. Pengambilan sampel random berstrata

Populasi dibagi berstrata-strata (subpopulasi), kemudian pengambilan sampel dilakukan dalam setiap strata baik secara random sederhana maupun secara random sistematis (14).

c. Pengambilan sampel random berkelompok (*Cluster Sampling*)

Cara ini dipakai bila populasi dibagi dalam kelompok-kelompok dan setiap karakteristiknya yang dipelajari ada dalam setiap kelompok. Kelemahan cara ini adalah sangat sulit untuk menghitung kesalahannya (*standar error*) (14).

d. Pengambilan sampel bertingkat (*Multi Stage Sampling*)

Proses pengambilan sampel dilakukan bertingkat, baik bertingkat dua maupun lebih. Cara ini dipakai bila populasinya cukup homogen, jumlah populasi sangat besar, populasi menempati daerah yang sangat luas dan biaya penelitian kecil (14).

B. JAMU “K”

Jamu “K” yang akan dilihat pengaruh pemberiannya selama 90 hari terhadap hewan coba dalam penelitian ini adalah isi kapsul yang berupa serbuk mengandung ekstrak rimpang temu putih dan ekstrak daun mimba.

Dosis lazim Jamu “K” adalah sehari 2 kali 2 kapsul, dengan berat tiap kapsul 550 mg, sehingga jumlah kombinasi ekstrak rimpang temu putih dan daun mimba yang dikonsumsi adalah 2200 mg/hari (15). Dosis yang akan diujikan pada penelitian ini adalah dosis lazim; kelipatan 2 dan kelipatan 4 dari dosis lazim, setelah dikonversi dosis yang diberikan pada tikus yaitu: 1980, 3960, dan 7920 mg/kg bb/hari. Dosis diatas diberikan berulang selama 90 hari.

1. Temu Putih

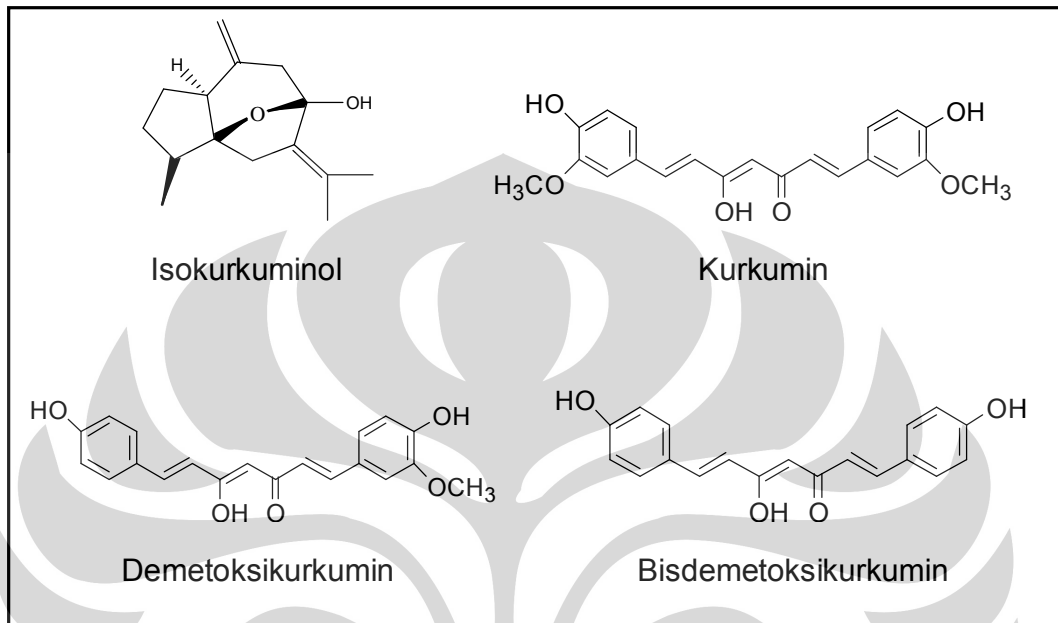
a. Klasifikasi (16)

Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida (*monocots*)
Subkelas : Zingiberidae
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : *Curcuma*
Spesies : *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe

b. Kandungan kimia

Kandungan kimia rimpang temu putih terdiri dari kurkuminoid, minyak atsiri, dan polisakarida (3). Kandungan minyak atsiri dalam temu putih yaitu 1,5 % (17). Kandungan minyak atsiri memiliki efek sitotoksik yaitu

isokurkuminol (18). Kurkuminoid yang terkandung dalam temu putih meliputi kurkumin, desmetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin (17).



Gambar 1. Rumus bangun kandungan kimia *Curcuma zedoaria*

c. Khasiat

Ekstrak etanol rimpang temu putih menunjukkan aktivitas menghambat sel-sel OVCAR-3, yaitu sel line kanker ovarium manusia. Kurkumin telah diteliti mampu menekan proliferasi sel kanker. Minyak atsirinya yang terdiri dari monoterpen dan seskuiterpen menunjukkan efek antiinflamasi pada udem kaki tikus betina galur Wistar yang diinduksi karagenan (2). Ekstrak air rimpang temu putih juga telah diteliti memiliki aktivitas hepatoprotektif pada tikus putih yang telah diinduksi karbon tetraklorida. Aktivitas hepatoprotektif terbesar ditunjukkan pada dosis 20 mg/kg bb yaitu berupa penurunan

aktivitas ALT sebesar 69,02% dan penurunan aktivitas AST sebesar 83,99% (19).

d. Data uji keamanan

Penelitian uji toksisitas akut yang telah dilakukan yaitu: dua puluh lima tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* dibagi menjadi 5 kelompok sama banyak secara acak. Kelompok I digunakan sebagai kontrol negatif, diberi CMC Na 0,5 %, kelompok II, III, IV diberi ekstrak etanol rimpang temu putih dosis 6,3; 94,5; 1417,5 dan 21262,5 mg/kg bb (dalam CMC Na 0,5%) secara oral (3).

Setelah hewan diberi perlakuan sesuai kelompoknya, hewan uji diamati secara intensif selama 3 jam pertama, untuk diamati adanya gejala toksik yang maupun adanya kematian. Setelah itu, diamati 24 jam kemudian, apabila tidak terjadi kematian, dua hewan coba dikorbankan untuk melihat gambaran histologisnya dengan pewarnaan haematoksilin-eosin. Sisa hewan coba diamati setiap hari sampai 14 hari kemudian untuk melihat efek toksik yang tertunda (3).

Hasil yang diperoleh yaitu: sampai dosis tertinggi yang diberikan tidak menyebabkan kematian hewan coba, potensi ketoksikan akut ekstrak etanol rimpang temu putih pada tikus jantan berupa LD₅₀ semu sebesar lebih dari 21262,5 mg/kg bb dan berdasarkan pemeriksaan histologis pada paru, ginjal, jantung, limfa dan usus tidak memperlihatkan terjadinya perubahan,

sedangkan pada organ hati terdapat perubahan berupa degenerasi dan kongesti, namun perubahan ini bersifat reversibel karena pada pemeriksaan histologis hari ke-14 tidak ditemukan adanya perubahan morfologi (3).

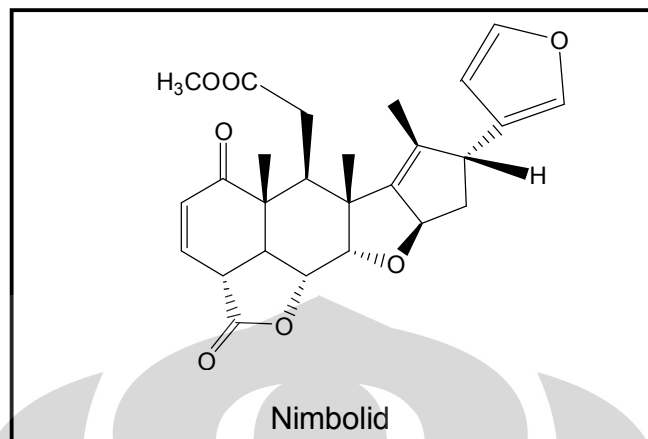
2. Mimba

a. Klasifikasi (16)

Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida (*dicots*)
Subkelas : Rosidae
Ordo : Sapindales
Famili : Meliaceae
Genus : *Azadirachta*
Spesies : *Azadirachta indica* A. Juss

b. Kandungan Kimia

Kandungan kimia ekstrak daun mimba yaitu triterpenoid meliputi azadirachtin, nimbin dan nimbolid (7). Nimbolid adalah senyawa yang paling memiliki sifat sitotoksik (20). Selain itu, ekstrak daun mimba juga mengandung kuersetin dan β sitosterol (6).



Gambar 2. Rumus bangun kandungan kimia *Azadirachta indica*

c. Khasiat

Ekstrak daun mimba berkhasiat sebagai hepatoprotektor, hal ini ditunjukkan pada penelitian terhadap ekstrak air daun mimba yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pemberian 500 mg/kg bb secara intragastrik pada tikus yang menderita nekrosis hati setelah diinduksi oleh parasetamol dapat mengurangi peningkatan aktivitas AST, ALT dan α -glutamil peptidase. Khasiat sebagai antioksidan ditunjukkan pada pemberian 100 mg/kg bb ekstrak air daun mimba yang dapat menurunkan tingkat lipid peroksidase dan meningkatkan glutathion tereduksi dalam hati pada tikus yang menderita tumor lambung setelah diinduksi oleh N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidin. Ekstrak daun mimba juga telah terbukti efektif sebagai *antiulcer*, antidiabetik, antifungi dan antivirus (7).

d. Data uji keamanan

Uji toksisitas akut yang telah dilakukan dengan menggunakan 5 kelompok mencit jantan dan betina galur Charles-Foster tiap kelompok terdiri dari 10 ekor. Ekstrak air daun mimba diberikan secara oral dengan dosis yang digunakan 200, 500, 1000 dan 2500 mg/kg bb. Kelompok kontrol diberikan larutan CMC 1%. Setelah 24 jam, hewan coba diamati setiap gejala yang timbul dan kematian yang terjadi (6).

Sedangkan untuk uji subakut digunakan tikus yang diberikan 1000 mg/kg bb ekstrak air daun mimba secara oral satu kali sehari selama 28 hari dan kelompok kontrol yang hanya diberikan larutan CMC 1%. Asupan makanan dan minuman, berat badan dan kematian diamati setiap 1 minggu sekali. Setelah 28 hari, tikus dikorbankan dengan cara pemenggalan leher. Darah diambil untuk pemeriksaan hematologi dan serum digunakan untuk pengukuran aktivitas enzim. Organ tubuh diambil, lalu ditimbang dan diawetkan untuk dibuat sediaan histologis. Data kemudian dianalisis dengan uji ANAVA (6).

Hasil yang diperoleh yaitu: pada 24 jam setelah pemberian dosis tunggal 2500 mg/kg bb dan pada hari ke-29 setelah pemberian 1000 mg/kg bb menunjukkan tidak adanya hewan coba yang mati. Pemeriksaan fisik menunjukkan tidak terjadinya perubahan pada berat badan dan asupan makanan, minuman. Pemeriksaan histologis menunjukkan terjadinya peningkatan berat organ testis, hati, ginjal dan kelenjar adrenal. Tetapi berdasarkan uji ANAVA pemeriksaan histologis, hematologi, dan

pemeriksaan fungsi hati dan ginjal menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dosis 1000 mg/kg bb dan kelompok kontrol (6).

Toksisitas akut ekstrak daun mimba juga telah diuji pada siput murbei (*Pomacea canaliculata*). Penelitian ini dilakukan dengan cara menghaluskan dengan *blender* daun mimba yang telah dikeringkan, kemudian ditambahkan dalam aquades sebagai pelarut yang dinyatakan dalam % (b/v). Daun yang telah dihaluskan diendapkan selama satu malam, kemudian disaring dengan kertas saring dan disimpan dalam botol kering, steril dan ditutup rapat. Selanjutnya ekstrak ini diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan konsentrasi (b/v) 0 % (kontrol); 17,5 %; 20,0 %; 22,5 %; 25 % dan 27,5 %. Masing-masing dari konsentrasi tersebut dimasukkan ke dalam medium kultur yang berisi anakan siput murbei. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan, masing-masing dengan 20 anakan dan diamati setelah 24 jam.

Ekstrak daun mimba bersifat toksik pada anakan siput murbei dengan tingkat kematian anakan mencapai 98,35% pada konsentrasi 27,5%. Semakin besar konsentrasi ekstrak daun mimba menyebabkan kematian anakan siput murbei semakin besar. Besarnya nilai LC_{50} -24 jam ekstrak daun mimba terhadap anakan siput murbei adalah 25,64873% (21).

Berikut ini beberapa hasil uji keamanan lain yang telah dilakukan: nilai LD_{50} ekstrak etanol 50% daun mimba yang diberikan secara intraperitoneal pada mencit memiliki adalah 681 mg/kg bb, nilai LD_{50} pada pemberian

ekstrak metanol daun mimba pada mencit adalah 13 g/kg bb, nilai LD₅₀ pada pemberian ekstrak etanol daun mimba pada mencit adalah 4,6 g/kg bb dan pada pemberian 40 mg/kg bb ekstrak air daun mimba secara intravena menimbulkan kematian pada *Guinea pig* (7,5).

C. HATI

1. Anatomi Hati

Hati merupakan organ terberat di dalam tubuh, beratnya 2,5 % berat orang dewasa normal atau antara 1200-1600 g (10). Dalam keadaan segar warnanya merah tua atau merah coklat, warna tersebut terutama disebabkan oleh adanya darah yang sangat banyak (22). Hati dibagi menjadi dua lobus utama yang terletak pada rongga perut di bawah diafragma dengan lobus kanan enam kali lebih besar dari lobus kiri (10,23). Sel utama pada hati adalah hepatosit dan sel *Kupffer* (23). Tiap-tiap sel hati atau hepatosit mampu melaksanakan berbagai tugas metabolik, kecuali aktivitas fagositik yang dilaksanakan oleh makrofag residen atau yang dikenal sebagai sel *Kupffer* (24).

Hati tersusun menjadi unit-unit fungsional yang dikenal sebagai lobulus, yaitu susunan heksagonal jaringan dengan ukuran lebih kurang 1 sampai 2 mm yang mengelilingi sebuah vena sentral. Pada tepi luar lobulus terdapat tiga pembuluh, yaitu cabang arteri hepatis, cabang vena porta, dan duktus biliaris (24,22). Hati manusia mengandung 50.000 sampai 100.000

lobulus (25). Darah dari cabang-cabang arteri hepatica dan vena porta mengalir dari perifer lobulus ke ruang kapiler yang melebar yang disebut sinusoid. Sel-sel *Kupffer* melapisi bagian dalam sinusoid dan menghancurkan sel darah merah yang usang serta bakteri yang terlewat bersama darah. Vena sentral dari semua lobulus hati menyatu untuk membentuk vena hepatica, yang menyalurkan darah keluar dari hati (24). Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica yang melingkari bagian perifer lobulus hati, juga terdapat saluran empedu. Saluran empedu interlobular membentuk kapiler empedu yang sangat kecil yang disebut kanalikuli (tidak tampak), yang berada di antara sel-sel hati yang berdekatan. Empedu yang dibentuk dalam hepatosit diekskresi ke dalam kanalikuli yang bersatu membentuk saluran empedu yang makin lama makin besar hingga menjadi duktus koledokus (26).

2. Fungsi Hati

Hati memiliki fungsi yang sangat penting dan berperan dalam proses metabolik tubuh, diantaranya:

a. Pembentukan dan sekresi empedu

Fungsi utama hati adalah membentuk dan mengekskresi empedu. Saluran empedu mengangkut empedu sedangkan kantung empedu menyimpan dan mengeluarkan empedu ke dalam usus halus sesuai kebutuhan. Hati menyekresi sekitar 500 hingga 1000 ml empedu setiap hari.

Unsur utama empedu adalah air (97 %), elektrolit, garam empedu, fosfolipid, kolesterol, garam anorganik, dan pigmen empedu (25).

b. Metabolisme karbohidrat

Hati berperan dalam mempertahankan kadar glukosa darah normal dan menyediakan energi untuk tubuh. Karbohidrat disimpan dalam hati sebagai glikogen. Fungsi hati dalam metabolisme karbohidrat mencakup proses glikogenesis, glikogenolisis, dan glukoneogenesis (25).

c. Metabolisme protein

Hati merupakan tempat sintesis utama sebagian besar protein plasma. Protein plasma yang disintesis oleh hati adalah albumin serta globulin alfa dan beta, dan faktor pembekuan darah. Faktor pembekuan darah yang disintesis oleh hati adalah fibrinogen (I), protrombin (II), dan faktor V, VII, IX dan X. Vitamin K merupakan faktor yang penting untuk sintesis semua faktor ini, kecuali faktor V (25).

d. Metabolisme lemak

Fungsi hati dalam metabolisme lemak yaitu: sel hati mengoksidasi asam lemak menjadi asetil koA dengan kecepatan lebih tinggi dibandingkan sel lain. Asetil koA selanjutnya masuk ke dalam siklus asam sitrat dan dioksidasi untuk menghasilkan energi dalam jumlah besar (26). Selain itu,

koenzim A di dalam hati membentuk badan keton yang merupakan bahan bakar alternatif dan sumber energi dalam keadaan tertentu (27). Hati juga berfungsi dalam pembentukan kolesterol, trigliserida dan fosfolipid dalam jumlah besar, dan dalam sintesis lemak dari karbohidrat dan protein (26).

e. Penimbunan vitamin dan mineral

Vitamin larut lemak (A, D, E, K) disimpan dalam hati, juga vitamin B₁₂, tembaga, dan besi (25)

f. Detoksifikasi

Manusia memiliki dua mekanisme detoksifikasi senyawa-senyawa asing (xenobiotik) seperti obat, racun, dan produk metabolit yang beracun seperti ammonia dan bilirubin. Mekanisme pertama, dengan cara mengikat senyawa pada protein secara reversibel, sehingga senyawa tersebut menjadi inaktif, contohnya bilirubin diikat dengan albumin, yang kemudian berikatan dengan hemoglobin. Mekanisme kedua, dengan cara mengubah kandungan kimia senyawa tersebut, sehingga dapat diekskresi, contohnya ammonia yang dikonversi menjadi urea dan bilirubin dikonversi menjadi bilirubin-glukoronide (23).

3. Kerusakan Hati

Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel dalam sel hati, mengakibatkan berbagai jenis kerusakan dalam hati antara lain:

a. Perlemakan hati (steatosis)

Perlemakan hati adalah penumpukan lemak lebih dari 5% pada organ hati. Penyebab perlemakan hati terdiri dari dua faktor utama. Pertama, berhubungan dengan kenaikan kadar asam lemak bebas dalam plasma yang terjadi akibat hasil lipolisis triasilgliserol oleh enzim lipoprotein lipase dalam jaringan ekstrahepatik. Produksi VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) tidak dapat mengikuti kecepatan aliran masuk asam lemak bebas sehingga terjadi penimbunan triasilgliserol yang menyebabkan perlemakan hati. Kedua, karena adanya penghambat metabolik dalam produksi lipoprotein yang menyebabkan terjadinya penimbunan triasilgliserol (28).

b. Nekrosis hati

Nekrosis hati adalah kematian hepatosit. Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma. Perubahan biokimia yang terjadi bersifat kompleks, dan berbagai hepatotoksikan bekerja melalui berbagai mekanisme. Mekanisme tersebut diantaranya yaitu hepatotoksikan berikatan secara kovalen dengan protein dan lipid tidak jenuh dan menyebabkan peroksidasi

lipid. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan membran dan inaktivasi enzim (28).

c. Kolestatis

Jenis kerusakan hati ini yang biasanya bersifat akut, lebih jarang ditemukan dibandingkan dengan perlemakan hati dan nekrosis. Mekanisme utama kolestatis, yaitu berkurangnya aktivitas ekskresi empedu pada membran kanalikulis (28).

d. Sirosis

Sirosis adalah penyakit hati kronis yang dicirikan dengan distorsi arsitektur hati normal oleh lembar-lembar jaringan ikat dan nodul-nodul regenerasi sel hati, yang tidak berkaitan dengan vaskulatur normal. Nodul-nodul vaskulatur ini dapat berukuran kecil (mikronodular) atau besar (makronodular). Sirosis dapat mengganggu sirkulasi darah intrahepatik, dan pada kasus yang sangat lanjut dapat menyebabkan kegagalan fungsi hati secara bertahap (25).

Patogenesis sirosis tidak sepenuhnya dimengerti, tetapi dalam sebagian besar kasus, tampaknya sirosis berasal dari nekrosis sel tunggal, karena kurangnya mekanisme perbaikan. Kemudian keadaan ini menyebabkan aktivitas fibroblastik dan pembentukan jaringan parut. Aliran darah yang tidak cukup ke hati mungkin menjadi faktor pendukung (27).

Penyebab sirosis yang terpenting, yaitu alkoholisme kronis, hepatitis virus, dan penyakit biliar (25).

e. Karsinogenesis

Karsinoma hepatoseluler dan kolangiokarsinoma adalah jenis neoplasma ganas yang paling umum pada hati. Jenis karsinoma lainnya, antara lain angiosarkoma, karsinoma kelenjar, karsinoma trabekular, dan karsinoma sel hati yang tidak berdiferensiasi. Sejumlah besar toksikan diketahui menyebabkan kanker hati pada hewan, namun, karsinogenisitasnya pada hati manusia belum pasti (28).

D. ALANIN AMINOTRANSFERASE (ALT)

Alanin aminotransferase adalah enzim yang mengkatalisis pemindahan gugus amino secara reversibel dari L-alanin ke α -ketoglutarat membentuk piruvat dan glutamat. Reaksi ini selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 3 (10). ALT ditemukan dalam konsentrasi besar di dalam jaringan hati dan hanya ditemukan di sitosol. ALT juga ditemukan dalam jumlah yang lebih kecil di otot rangka, ginjal, jantung, pankreas, paru-paru, limfa dan eritrosit (10).

Peningkatan ALT diduga akibat kebocoran dari sel hati yang rusak atau nekrosis sel. ALT menunjukkan perkembangan awal kerusakan hati pada hampir semua penyakit hati dan meningkat dalam 2-6 minggu dengan

adanya penyakit. Konsentrasi tertinggi (lebih dari 1000 IU) terdapat pada kondisi akut seperti hepatitis akibat virus, nekrosis hati akibat diinduksi obat maupun racun, dan iskemia hepatic. Penurunan enzim ini biasanya berhubungan dengan pemulihan fungsi hati, tetapi penurunan yang cepat sekali mengindikasikan adanya nekrosis hepatosit dengan ketidakmampuan untuk menghasilkan enzim dan kerusakan hati yang ireversibel (10)

Apabila enzim yang seharusnya bekerja intraseluler berada dalam darah dengan konsentrasi tinggi, maka dapat dijadikan indikator adanya kerusakan jaringan tempat enzim tersebut berasal (29).

E. ALKALI FOSFATASE (ALP)

Alkali fosfatase adalah sekelompok isoenzim yang mengkatalisis hidrolisis fosfat monoester pada keadaan pH alkali. Fungsi ALP adalah melepaskan fosfat inorganik dari ester fosfat organik dengan menghasilkan alkohol. Reaksi ini selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4 (10).

ALP memiliki pH sekitar 10 secara *in vitro*, tetapi pH optimum setiap isoenzim bervariasi tergantung pada asal dan konsentrasi substrat, dan jenis buffer atau adanya penerima fosfat. Substrat alami ALP dalam tubuh tidak diketahui dengan pasti (30). Enzim ini terletak dalam membran sel. Aktivitas ALP paling tinggi terdapat dalam hati, tulang, usus, ginjal dan plasenta, dan 11 isozim ALP yang berbeda telah ditemukan di dalam serum (23). ALP dalam serum terutama berasal dari hati dan tulang. Aktivitas ALP terlokalisasi

pada membran sel yang mengikat tepi sinusoid sel parenkim dengan kanalikuli biliar (10).

ALP meningkat pada kebanyakan penyakit hati baik penyakit obstruktif intrahepatik dan ekstrahepatik, tetapi peningkatan paling tinggi (lebih dari tiga kali batas atas normal) seringkali menggambarkan adanya penyakit obstruktif. Penyakit hati yang menyebabkan nekrosis hepatosit, tidak selalu menyebabkan peningkatan konsentrasi ALP plasma, kecuali jika terjadi nekrosis kanalikuli biliaris dan duktus biliaris. ALP juga meningkat secara signifikan pada penyakit hati metastatik dan penyakit tulang yang berhubungan dengan peningkatan osteoblastik. Konsentrasi normal ALP ditemukan pada pasien *jaundice* yang telah pulih dari obstruksi. ALP meningkat pula pada anak dalam masa pertumbuhan dan wanita hamil trimester terakhir, seiring dengan meningkatnya pertumbuhan tulang dan adanya isoenzim plasenta (10).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi dan Laboratorium Biologi Perkembangan Departemen Biologi FMIPA UI Depok. Penelitian dilakukan selama empat bulan yaitu bulan Februari - Mei 2009.

B. ALAT

Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah pipet eppendorf (Socorex), pH meter (Eutech), paraffin stretcher (Sakura), sentrifugator (Biofuge 13, Heraeus Sepatech), spektrofotometer (Genesys 20), mikrotom putar (Spencer), *mikroprojector* (Ken-A-Vision), mikroskop medan terang (Nikon SE), timbangan analitik (Ohaus dan Mettler toledo), kuvet semimikro, penangas air, termometer, alat-alat gelas (Pyrex), alat-alat bedah, sonde lambung, mikrohematokrit (Marienfeld) dan mikrotube.

C. BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah:

1. Hewan Coba

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan dan betina (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* berat badan 200 gram, berumur sekitar 2 bulan. Tikus diperoleh dari Fakultas Peternakan Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.

2. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian adalah serbuk dari kapsul jamu "K" yang diperoleh dari PT. Industri Jamu Borobudur, Semarang. Gambar dapat dilihat pada Gambar 5. Bahan uji diberikan ke hewan uji berupa suspensi dalam CMC 0,5%.

3. Bahan Kimia

Zat kimia yang digunakan, yaitu: asam alfa-ketoglutarat (Sigma), asam klorida (Merck), dl-alanin (Merck), heparin sodium (Pratapa Nirmala), natrium piruvat (Merck), kalium dihidrogen fosfat (Merck), dinatrium hidrogen fosfat (Merck), 2,4-dinitrofenilhidrazin (Sigma), natrium hidroksida (Merck), kit alkali fosfatase (Randox), CMC (Daiichi Kogyo Seikaku) dan dietil eter teknis.

Bahan untuk pembuatan sediaan histologis telah tersedia di laboratorium biologi perkembangan departemen biologi FMIPA UI, meliputi:

larutan natrium klorida 0,9 %, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% teknis, etanol absolut (Merck), parafin teknis, benzyl benzoat (Merck), benzol, albumin Mayers, entelan (Merck), xilol (Merck), asam pikrat (Merck), larutan Bouin (terdiri dari larutan asam pikrat jenuh 75 ml, formalin teknis 20 ml dan 5 ml asam asetat glasial (Merck)), larutan haematoksilin dan eosin.

D. CARA KERJA

1. Persiapan Hewan Coba

Berdasarkan rumus empiris Federer bila dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan jumlah tikus putih tiap kelompok minimal 6 ekor. Jadi digunakan 24 ekor tikus putih betina dan 24 tikus putih jantan yang dibagi secara acak sederhana dengan metode pengundian ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari tikus putih jantan dan betina masing-masing berjumlah 6 ekor. Empat kelompok perlakuan tersebut, yaitu kelompok I adalah kelompok perlakuan yang diberikan larutan uji dosis I, kelompok II adalah kelompok yang diberikan larutan uji dosis II, kelompok III adalah kelompok perlakuan yang diberikan larutan uji dosis III dan kelompok IV adalah kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%.

Tikus diaklimatisasi selama dua minggu dalam kandang karantina laboratorium farmakologi FMIPA UI. Tikus diberi makanan dan minuman yang mencukupi. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat, putih bersih, mata jernih bersinar, tingkah laku normal, serta mengalami peningkatan berat

badan dalam batas waktu tertentu yang diukur secara rutin (9). Tikus tidak sehat atau menunjukkan kelainan tidak diikutsertakan dalam percobaan.

2. Perhitungan Dosis

Dosis yang diberikan berdasarkan pada dosis untuk manusia pada etiket sediaan jamu “K”. Dosis tersebut kemudian dikonversikan ke dalam dosis untuk tikus dan dikalikan dengan faktor farmakokinetik. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1. Percobaan menggunakan dosis berturut-turut: 1980 mg/kg bb /hari; 3960 mg/kg bb /hari; 7920 mg/kg bb/hari.

3. Persiapan Suspensi Bahan Uji

Pembuatan bahan uji dilakukan dengan menimbang ekstrak kering jamu “K”, kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 0,5%. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2.

4. Pembuatan Larutan Pereaksi

Larutan pereaksi yang dibuat meliputi larutan pereaksi untuk pengukuran aktivitas Alkali Fosfatase dan Alanin Aminotransferase, yaitu:

a. Larutan pereaksi untuk pengukuran aktivitas Alkali fosfatase

Pembuatan reagen alkali fosfatase:

Pereaksi 1 : larutan dapar dietanolamin 1mol/l, pH 9,8 dan $MgCl_2$ 0,5 mmol/l

Pereaksi 2 : substrat (p-Nitrofenilfosfat 10 mmol/l)

Sebanyak 10 ml pereaksi 1 dicampur dengan 1 vial pereaksi 2. Larutan ini dapat digunakan untuk 2-3 hari bila disimpan pada suhu $15^{\circ} - 25^{\circ}C$ dan 30 hari bila disimpan pada suhu $2^{\circ}-8^{\circ}C$ (31).

b. Larutan pereaksi untuk pengukuran aktivitas ALT

1) Pembuatan Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M

Ditimbang seksama *dinatrium hidrogen fosfat P* sebanyak 5,629 g dan dilarutkan dalam 420 ml aquades, aduk ad homogen (32).

2) Larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M

Ditimbang seksama *kalium dihidrogen fosfat P* sebanyak 1,089 g. Lalu dilarutkan dalam 80 ml aquades, aduk ad homogen (32).

3) Larutan natrium hidroksida 1 N

Ditimbang seksama 40,0 g natrium hidroksida, kemudian dilarutkan dengan aquades bebas CO_2 , lalu dicukupkan hingga 1000 ml dengan aquades bebas CO_2 (33).

4) Larutan natrium hidroksida 0,4 N

Dipipet 40 ml larutan natrium hidroksida 1 N, ditambahkan dengan aquades bebas CO_2 sampai tanda batas labu ukur 100,0 ml.

5) Larutan asam klorida 1 N

Diencerkan 8,5 ml *asam klorida P* dengan air hingga 100 ml (33)

6) Pembuatan dapar fosfat 0,1 M pH 7,4

Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M sebanyak 420 ml ditambah dengan larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M sebanyak 80 ml, kemudian pH-nya disesuaikan sampai 7,4 (32).

7) Pembuatan larutan standar piruvat 2 mM/l

Sebanyak 22,0 mg natrium piruvat dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml, kemudian ditambahkan dapar fosfat sampai batas tanda batas (32).

8) Pembuatan larutan dapar-substrat untuk pemeriksaan ALT plasma

Sebanyak 29,3 mg asam- α -ketoglutarat dicampur dengan 1,78 g dl-alanin di gelas piala ukuran 50 ml, ditambahkan larutan natrium hidroksida 1 N hingga larut, pH disesuaikan dengan pH 7,4 lalu ditambahkan dapar fosfat sampai 100,0 ml di dalam labu ukur (32).

9) Pembuatan pereaksi warna

Sebanyak 19,8 mg 2,4-dinitrofenilhidrazin ditambahkan larutan asam klorida 1 N sampai 100,0 ml di dalam labu ukur (32)

5. Pelaksanaan Percobaan

Kelompok I, II, III diberi suspensi bahan uji 1980 mg/kg bb, 3960 mg/kg bb, dan 7920 mg/kg bb/hari, kelompok IV adalah kelompok kontrol yang hanya diberi larutan CMC 0,5 %.

Suspensi bahan uji diberikan secara oral satu kali setiap hari selama 90 hari dengan menggunakan sonde lambung. Selama perlakuan, tikus diberikan makanan dan minuman secara teratur.

6. Pengambilan Plasma Darah

Setelah perlakuan selama 90 hari, hari ke-91 dilakukan pengambilan darah melalui mata 6 tikus jantan dan pada 6 tikus betina pada tiap kelompok perlakuan. Pengambilan darah juga dilakukan dengan cara sebagai berikut:

Sebelum pengambilan sampel darah, terlebih dahulu tikus dianestesi dengan menggunakan dietil eter. Setelah itu, dengan menggunakan mikrohematokrit, mata tikus ditusuk pada bagian sinus orbital, yakni pada sudut dalam bola mata yang mengarah ke daerah belakang bola mata, digerakkan masuk sambil diputar-putar, sehingga darah akan keluar karena aksi kapilaritas. Gambar proses pengambilan darah dapat dilihat pada Gambar 6. Kemudian darah ditampung dalam mikrotube yang sebelumnya telah diberi heparin. Selanjutnya, sampel darah tersebut disentrifugasi selama 5 menit dengan putaran 7000 rpm (34).

Setelah disentrifugasi, plasma darah diambil dan dimasukkan dalam vial dan disimpan dalam *freezer* lemari pendingin untuk dianalisis kemudian. Hemolisis harus dihindari dalam pengambilan plasma untuk mengurangi kemungkinan terjadinya peningkatan aktivitas ALT (29).

7. Pengukuran Aktivitas ALT Plasma

Prinsip dari pengukuran alanin aminotransferase (ALT) berdasarkan bahwa ALT mengkatalisis proses pemindahan gugus amino dari DL-alanin ke asam α -ketoglutarat, sehingga terbentuk asam piruvat dan asam glutamat. Asam piruvat yang terbentuk direaksikan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin yang kemudian menghasilkan senyawa 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang membentuk warna coklat kemerahan pada larutan alkali, yang dapat diukur pada panjang gelombang 505 nm. Reaksi ini selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 7 (23).

a. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat untuk kurva kalibrasi dicampur dalam tabung reaksi dengan berbagai perbandingan. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1. Sebagai blanko digunakan larutan dapar substrat sebanyak 1 ml (35).

Setiap tabung ditambahkan 1,0 ml pereaksi warna, lalu dikocok sampai homogen dan diamkan pada suhu kamar selama 20 menit. Selanjutnya ditambahkan 10,0 ml larutan natrium hidroksida 0,4 N, dikocok sampai homogen dan diamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 505 nm (35).

b. Pengukuran sampel ALT plasma

Disiapkan dua buah tabung reaksi untuk tabung uji dan blanko; larutan dapar-substrat sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tiap tabung, lalu tabung diinkubasi pada suhu 37⁰ selama 10 menit; pada tabung uji dimasukkan 0,1 ml plasma, dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu 37⁰ selama 30 menit; dimasukkan 0,5 ml pereaksi warna ke dalam tabung uji dan blanko, untuk tabung blanko ditambahkan 0,1 ml plasma, dikocok sampai homogen, dan inkubasi pada suhu kamar selama 20 menit; dimasukkan 10,0 ml larutan natrium hidroksida 0,4 N ke dalam setiap tabung lalu didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit; serapan diukur pada panjang gelombang 505 nm (35). Sistematika cara pengukuran sampel selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

8. Pengukuran Aktivitas ALP Plasma

Prinsip dari pengukuran alkali fosfatase (ALP) berdasarkan bahwa alkali fosfatase mengkatalisis perubahan p-nitrofenilfosfat menjadi p-nitrofenol dan fosfat. Reaksi ini selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 8. p-nitrofenol yang terbentuk berwarna kuning dalam larutan alkali dan diukur pada panjang gelombang 405 nm selama 3 menit pada suhu 25⁰ C. Perubahan absorbansi persatuan waktu sebanding dengan kecepatan disosiasi substrat yang juga sebanding dengan aktivitas enzim (10).

Metode pengukuran aktivitas alkali fosfatase adalah sebagai berikut: dua kuvet semimikro disiapkan untuk kuvet uji dan kuvet kontrol, pada kuvet uji dimasukkan 20 µl plasma dan 1000 µl larutan pereaksi, sedangkan pada kuvet kontrol dimasukkan 20 µl aquabides dan 1000 µl larutan pereaksi. Sistematika cara pengukuran selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3 (31).

Setelah itu, ukur serapan sampel dengan menggunakan kontrol sebagai blankonya. Pengukuran serapan sampel dilakukan selama 3 menit dengan mencatat serapan tiap menitnya. Penetapan aktivitas alkali dihasilkan berdasarkan rumus (31):

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas Alkali Fosfatase (U/l)} &= \text{ÄA/min} \times \text{faktor konversi} \\ &= \text{ÄA/min} \times 2760\end{aligned}$$

9. Pengambilan Organ Hati

Pengambilan organ hati dilakukan dengan cara pembedahan pada hari ke-91. Sebelum pembedahan, tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan dietil eter, lalu diletakkan terlentang pada papan bedah. Keempat kaki tikus diikat, bagian dada dan perut dibasahi dengan alkohol 70%, perut tikus dibuka menggunakan gunting bedah. Hati tikus diambil, dimasukkan ke dalam gelas kimia berisi natrium klorida 0,9% untuk menghilangkan darah yang menempel pada jaringan hati, lalu dilakukan prosedur pembuatan sediaan histologis.

10. Pembuatan Sediaan Histologis Hati

Tahap-tahap pembuatan sediaan histologis, yaitu:

a. Pengambilan jaringan segar

Hati yang telah dibersihkan dengan natrium klorida 0,9% kemudian diambil tiga sediaan yang didapat dengan memotong bagian tengah lobus hati (36).

b. Fiksasi

Tujuan fiksasi adalah untuk mencegah pembusukan, mengeraskan jaringan agar mudah dipotong, mengawetkan jaringan dan untuk memudahkan pewarnaan. Jaringan hati difiksasi dengan larutan Bouin selama 24 jam. Setelah fiksasi selesai, sisa-sisa fiksasi dapat dihilangkan dengan perendaman dalam larutan alkohol 70% (36).

c. Dehidrasi

Tujuan dari dehidrasi adalah menarik air agar proses pemberian parafin menjadi lebih mudah. Jaringan hati direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat: alkohol 70% selama 24 jam, alkohol 96% sebanyak dua kali masing-masing 60 menit, alkohol absolut sebanyak dua kali masing-masing 1 jam, benzil benzoat selama lebih dari 24 jam, dan dalam benzol sebanyak dua kali masing-masing selama 15 menit (36).

d. Infiltrasi

Infiltrasi bertujuan agar jaringan dapat diiris setipis mungkin (5-10 μm). Jaringan hati yang telah didehidrasi direndam dalam parafin cair dalam dua tahap: parafin I selama 1 jam; parafin II selama 1 jam di inkubator pada suhu 60°C (36).

e. Penanaman

Jaringan hati yang telah diinfiltrasi dimasukkan ke dalam cetakan berupa kotak-kotak kertas yang berisi parafin cair hingga terendam, kemudian dibiarkan pada suhu kamar hingga dingin dan membeku. Setelah parafin menjadi keras, maka blok parafin yang berisi jaringan dapat dilepaskan dari kotak kertas. Kelebihan parafin di sekitar jaringan dipotong dan dirapikan lalu dilekatkan pada kayu pemegang dengan bantuan pemanasan (36).

f. Penyayatan

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada mikrotom dan pisau mikrotom diatur agar mendapat sayatan berbentuk pita. Tebal sayatan adalah 7 μm (36).

g. Penempelan pada gelas objek

Hasil sayatan yang baik diletakkan pada gelas objek yang telah diolesi sedikit albumin mayers dan ditetesi air suling. Albumin mayers adalah campuran putih telur dan gliserin (1:1), digunakan untuk menempelkan jaringan ke gelas objek. Selanjutnya gelas objek diletakkan di atas parafin stretcher pada suhu 30-40⁰ C agar sayatan organ mengembang sempurna dan tidak ada yang terlipat. Sisa-sisa air pada gelas objek diserap dengan kertas tisu (36).

h. Melarutkan parafin

Parafin dilarutkan agar dihasilkan jaringan yang bening dan transparan. Parafin yang melekat di seputar sayatan dihilangkan dengan cara merendam gelas objek pada larutan xilol selama lebih kurang 6 menit (36).

i. Hidrasi

Hidrasi dilakukan agar jaringan dapat diwarnai. Gelas objek yang sudah dibersihkan dari parafin dimasukkan dalam larutan alkohol dengan konsentrasi menurun; alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 80%, dan alkohol 70% masing-masing selama 3 menit (36).

j. Pewarnaan

Pewarnaan dilakukan agar bagian-bagian tertentu dari jarak tampak lebih menonjol, sehingga bisa diamati dengan mikroskop. Gelas objek yang telah dihidrasi direndam dalam larutan haematoksilin selama 4 menit, kemudian dicuci dalam bak air dengan air mengalir hingga bagian gelas objek di luar jaringan bersih dari zat warna. Bila warna jaringan terlalu ungu, maka gelas objek dicelupkan ke dalam larutan HCl 1% selama beberapa detik, selanjutnya direndam ke dalam larutan eosin selama 4 menit (36).

k. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan agar tidak terjadi pembusukkan. Gelas objek yang telah diwarnai direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat: alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, alkohol absolut selama 3 menit, campuran alkohol:xilol (1:1) selama 5 menit (36).

l. Penjernihan

Penjernihan dilakukan untuk mendapatkan jaringan yang bening transparan. Gelas objek yang telah didehidrasi direndam dalam larutan xilol sebanyak 3 kali, masing-masing selama 2 menit (36).

m. Penutupan

Sebelum xilol mengering, setetes entelan diteteskan di atas preparat kemudian ditutup perlahan dengan kaca penutup dan dijaga agar tidak ada gelembung udara (36).

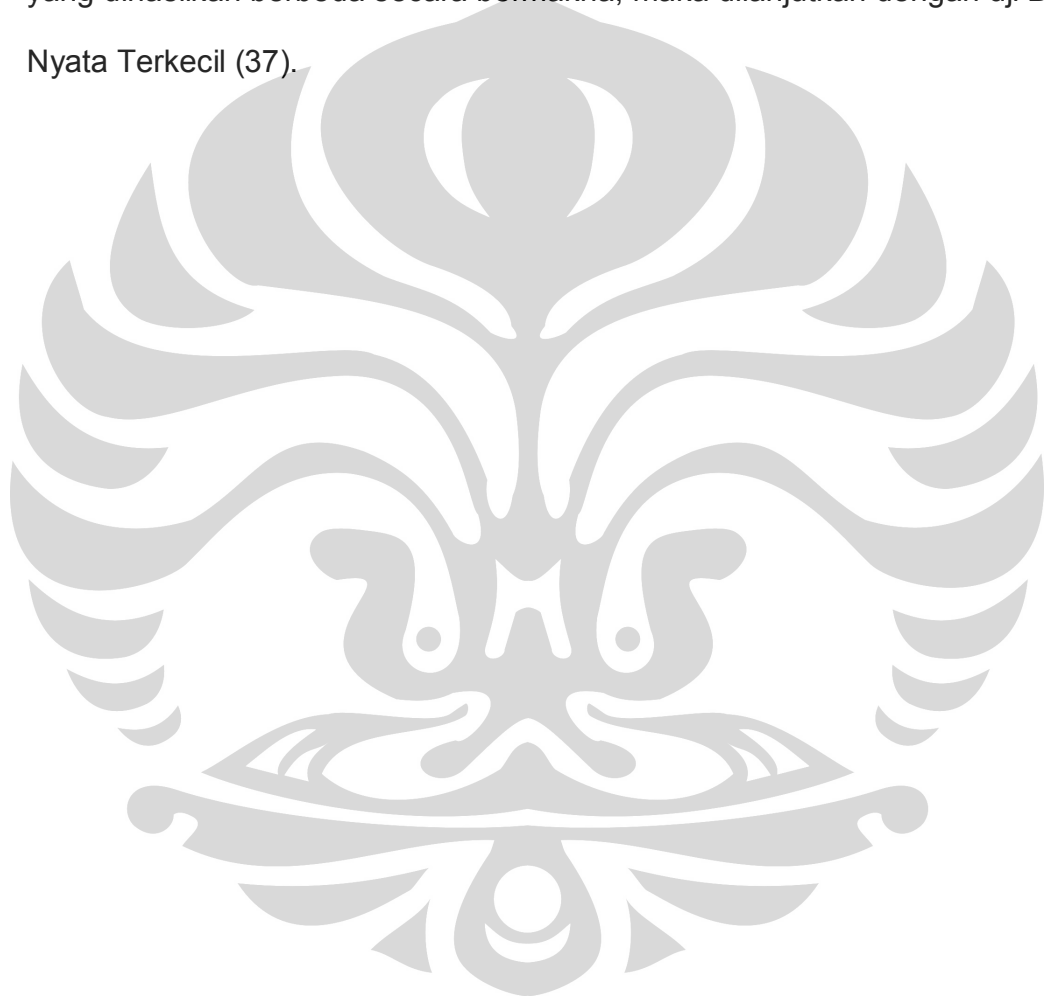
n. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan cara membandingkan preparat histologis antara hati kelompok kontrol normal dengan hati kelompok perlakuan dengan menggunakan mikroskop medan terang dengan perbesaran 400x. Penilaian derajat kerusakan lobulus hati dilakukan dengan mengukur diameter vena sentralis dan mencatat kerusakan-kerusakan yang terjadi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, pengukuran diameter vena sentralis dilakukan dengan cara menjumlahkan diameter vena sentralis yang panjang dan yang pendek, kemudian hasilnya dibagi dua. Derajat kerusakan dibedakan dalam 3 tingkatan, yaitu: degenerasi 0% (tanpa kerusakan), degenerasi 20-40% (degenerasi sedang), dan lebih dari 40% (nekrosis berat).

E. ANALISIS DATA

Data-data aktivitas ALP, ALT dan data diameter vena sentralis tikus putih yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 16.0. Analisis yang digunakan adalah uji normalitas dengan metode *Shapiro-*

Wilk untuk aktivitas ALP, ALT plasma dan diameter vena sentralis. Uji homogenitas dengan menggunakan metode *Levene*, dan analisis satu varian (ANAVA) yang bertujuan untuk menguji hipotesis kesamaan rata-rata antara kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol normal. Bila data yang dihasilkan berbeda secara bermakna, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (37).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PERCOBAAN

1. Pengukuran Aktivitas ALT

a. Kurva kalibrasi

Perhitungan regresi linier nilai aktivitas (x) terhadap hasil serapan (y) pada pembuatan kurva kalibrasi, diperoleh persamaan garis $y = 0,01388 + 4,611 \times 10^{-3} x$, dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9964. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 9.

b. Pengukuran nilai aktivitas ALT plasma

Nilai aktivitas rata-rata ALT plasma pada tikus putih setelah 90 hari perlakuan, yaitu:

1) Tikus putih betina

Kelompok I : $26,99 \pm 5,55$ U/l

Kelompok II : $27,89 \pm 8,66$ U/l

Kelompok III : $29,74 \pm 9,03$ U/l

Kelompok IV : $25,69 \pm 8,38$ U/l

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 10.

2) Tikus putih jantan

Kelompok I : $25,40 \pm 9,27$ U/l

Kelompok II : $30,93 \pm 10,20$ U/l

Kelompok III : $30,39 \pm 13,44$ U/l

Kelompok IV : $23,20 \pm 6,37$ U/l

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 10.

Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* dan *Lavene* menunjukkan bahwa nilai aktivitas rata-rata ALT plasma tikus putih betina dan jantan bervariasi secara homogen dan terdistribusi normal, dan berdasarkan analisis varian satu arah (ANOVA) menunjukkan bahwa aktivitas rata-rata ALT plasma tikus betina dan jantan pada kelompok I, II, dan III tidak berbeda secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok IV sebagai kontrol normal. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5-10.

2. Pengukuran aktivitas ALP

Nilai aktivitas rata-rata ALP plasma pada tikus putih setelah 90 hari perlakuan, yaitu:

a. Tikus putih betina

Kelompok I : $361,71 \pm 103,93$ U/l

Kelompok II : $293,94 \pm 62,74$ U/l

Kelompok III : $302,68 \pm 94,86$ U/l

Kelompok IV : $275,54 \pm 73,09$ U/l

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 7 dan Gambar 11.

b. Tikus putih jantan

Kelompok I : $312,34 \pm 102,39$ U/l

Kelompok II : $248,63 \pm 84,51$ U/l

Kelompok III : $248,06 \pm 108,49$ U/l

Kelompok IV : $249,78 \pm 70,26$ U/l

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 8 dan Gambar 11.

Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* dan *Lavene* menunjukkan bahwa nilai aktivitas rata-rata ALP plasma tikus putih betina dan jantan bervariasi secara homogen dan terdistribusi normal, dan berdasarkan analisis varian satu arah (ANOVA) menunjukkan bahwa aktivitas rata-rata ALP plasma tikus betina dan jantan pada kelompok I, II, dan III tidak berbeda secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok IV sebagai kontrol normal. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 11-16.

3. Pemeriksaan histologis hati

a. Diameter vena sentralis

Diameter rata-rata vena sentralis tikus putih setelah 90 hari perlakuan, yaitu:

1) Tikus putih betina

Kelompok I : $75,89 \pm 3,24$ μ m

Kelompok II : $79,22 \pm 10,18$ μ m

Kelompok III : $79,45 \pm 8,31 \mu\text{m}$

Kelompok IV : $72,87 \pm 5,65 \mu\text{m}$

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 9 dan Gambar 12.

2) Tikus putih jantan

Kelompok I : $72,29 \pm 10,73 \mu\text{m}$

Kelompok II : $85,27 \pm 15,59 \mu\text{m}$

Kelompok III : $72,98 \pm 10,40 \mu\text{m}$

Kelompok IV : $71,49 \pm 5,44 \mu\text{m}$

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 10 dan Gambar 12.

Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* dan *Lavene* menunjukkan bahwa nilai diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina dan jantan bervariasi secara homogen dan terdistribusi normal, dan berdasarkan analisis varian satu arah (ANAVA) menunjukkan bahwa diameter rata-rata vena sentralis tikus betina dan jantan pada kelompok I, II, dan III tidak berbeda secara bermakna antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok IV sebagai kontrol normal. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 11-22.

b. Jumlah kerusakan sel hati

Hasil pemeriksaan histologis hati terhadap derajat kerusakan sel hati pada tikus putih betina maupun tikus putih jantan kelompok I, II, III dan IV yaitu: jumlah tikus putih jantan dan betina yang mengalami kerusakan kerusakan 20-40% dan diatas 40% adalah 0. Sehingga dapat disimpulkan,

pada tikus putih betina dan tikus putih jantan tidak terdapat kerusakan pada sel hati.

B. PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian jamu “K” apabila digunakan dalam jangka panjang. Jamu “K” adalah jamu yang mengandung kombinasi ekstrak rimpang temu putih dan ekstrak daun mimba yang diindikasikan untuk pengobatan kanker, dimana pada umumnya proses pengobatan penyakit kanker memerlukan waktu yang relatif lama, sehingga perlu dilakukan suatu penelitian untuk mengetahui pengaruh jamu ini pada penggunaan jangka panjang (8).

Pada penelitian ini, pengaruh pemberian jamu “K” ditinjau dari fungsi hati dengan parameter pengukuran aktivitas enzim ALT, ALP dan pengamatan histologis hati. Organ hati merupakan organ yang berpotensi dipengaruhi oleh zat-zat toksik, dikarenakan organ ini memiliki peranan besar dalam proses metabolisme dan ekskresi dimana sebagian besar toksikan yang memasuki tubuh melalui saluran gastrointestinal dibawa ke hati, sehingga hati dapat dijadikan indikator yang baik untuk menilai pengaruh pemberian dan keamanan suatu obat (7, 10).

Penelitian dilakukan dengan cara memberikan jamu “K” secara oral selama 90 hari pada 48 ekor tikus putih yang terdiri dari 24 ekor tikus putih jantan dan 24 ekor tikus putih betina yang masing-masing telah dibagi secara

acak sederhana dengan metode pengundian ke dalam 4 kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Pemberian jamu “K” dilakukan selama 90 hari, dikarenakan penelitian ini menggunakan hewan coba tikus dimana 10% dari masa hidupnya adalah 3 bulan (90 hari) (28). Penggunaan hewan coba berupa tikus putih dikarenakan tikus mudah diperoleh, mudah dalam pemeliharaannya, dapat digunakan untuk penelitian jangka panjang yang menggunakan anestesi, dan tikus tidak mempunyai pusat muntah sehingga tikus tidak akan memuntahkan kembali obat yang diberikan secara oral (13,28). Tikus yang digunakan jantan dan betina untuk menentukan apakah perbedaan jenis kelamin mempengaruhi respon dari pemberian jamu “K” pada tikus (12). Tikus yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih galur *Sprague-Dawley* dengan berat 150-200 gram dan berumur 2-3 bulan, dimana pada usia tersebut aktivitas hormonal tikus telah stabil dan memiliki sistem organ dan metabolisme yang baik. Pemberian jamu “K” dilakukan secara oral untuk meminimalisasi efek yang berbahaya pada hewan coba karena pada penelitian ini pemberian dilakukan secara berulang (28). Sebelum perlakuan tikus diaklimatisasi terlebih dahulu dalam kandang karantina laboratorium farmakologi FMIPA UI selama 2 minggu agar tikus dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru.

Dosis yang diberikan berdasarkan dosis lazim dengan melakukan uji pendahuluan terhadap kelipatan dari dosis lazim dan diperoleh dosis 4 kali dari dosis lazim adalah dosis tertinggi yang masih dapat diberikan melalui sonde oral. Sehingga digunakan tiga tingkatan dosis, yaitu dosis lazim dan

kelipatan 2 dan 4 dari dosis lazim, setelah dikonversi dosis yang diberikan pada tikus yaitu: 1980, 3960 dan 7920 mg/kg bb perhari. Jamu “K” tidak larut dalam air, sehingga harus disuspensikan dengan larutan CMC 0,5 %. Pemilihan CMC sebagai *suspending agent* dikarenakan CMC tidak toksik dan tidak bersifat iritan (38). Konsentrasi yang digunakan untuk mensuspensi jamu “K” adalah 0,5% dikarenakan hasil dari uji pendahuluan menunjukkan bahwa suspensi uji dengan konsentrasi CMC 0,5% lebih mudah melewati lubang alat sonde oral dibandingkan dengan konsentrasi larutan CMC lain.

Kelompok I, II dan III diberi perlakuan dosis berturut-turut 1980, 3960 dan 7920 mg/kg bb, sedangkan kelompok IV sebagai kontrol hanya diberikan larutan CMC 0,5%. Setelah pemberian berulang selama 90 hari, pada hari ke-91 tikus putih jantan dan betina diambil darahnya melalui sinus orbital dan dibedah untuk diambil organ hatinya. Untuk mengurangi ketidaknyamanan, sebelum diambil darah tikus dianestesiakan terlebih dahulu dengan dietil eter. Pemilihan dietil eter sebagai anestesi dikarenakan dietil eter mudah didapat, murah dan memiliki efek pulih yang cepat. Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital dikarenakan cara ini lebih cepat dan mudah dilakukan, darah yang diperoleh cukup banyak dan tikus masih dapat bertahan hidup setelah diambil darahnya (34). Darah yang diperoleh ditampung dalam mikrotube yang telah diberikan heparin kemudian di sentrifugasi, dan diambil plasmanya.

Parameter yang digunakan untuk menilai fungsi hati antara lain aktivitas enzim ALT. ALT merupakan enzim aminotransferase yang paling

banyak ditemukan di hati dan hanya ditemukan di dalam sitosol. Oleh karena itu, ALT dapat dijadikan parameter yang spesifik dan sensitif untuk melihat adanya kerusakan sel hati. Peningkatan ALT terjadi diduga akibat kebocoran dari sel hati yang rusak atau nekrosis sel (10). Analisis yang digunakan untuk mengukur aktivitas ALT yaitu dengan metode kolorimetri (29). Prinsip dari pengukuran ALT adalah ALT mengkatalisis proses pemindahan gugus amino dari dl-alanin ke asam α -ketoglutarat, sehingga terbentuk asam piruvat dan asam glutamat. Asam piruvat yang terbentuk bereaksi dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin sehingga menghasilkan senyawa 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang berwarna coklat kemerahan pada larutan alkali dan serapannya dapat diukur pada panjang gelombang 505 nm (23). Persamaan reaksi digambarkan pada Gambar 7.

Hasil pengukuran aktivitas ALT plasma pada tikus putih betina yaitu kelompok I $26,99 \pm 5,55$ U/l, kelompok II $27,89 \pm 8,66$ U/l, kelompok III $29,74 \pm 9,03$ U/l, dan kelompok kontrol $25,69 \pm 8,38$ U/l. Sedangkan pada tikus putih jantan aktivitas ALT yaitu: kelompok I $25,40 \pm 9,27$ U/l, kelompok II $30,93 \pm 10,20$ U/l, kelompok III $30,39 \pm 13,44$ U/l, dan kelompok kontrol $23,20 \pm 6,37$ U/l. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5 dan Tabel 6. Hasil uji ANAVA ($\alpha > 0,05$) terhadap aktivitas ALT tikus putih jantan dan betina pada keempat kelompok perlakuan setelah pemberian jamu "K" selama 90 hari menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dosis maupun dengan kelompok kontrol. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5-10.

Parameter kedua yang digunakan untuk menilai fungsi hati adalah pengukuran aktivitas ALP plasma. Pengukuran aktivitas ALP dijadikan sebagai pertanda enzimatik untuk kolestasis, karena peningkatan aktivitas ALP lebih utama terjadi pada gangguan saluran empedu dibandingkan pada gangguan hepatoseluler. Pada kolestasis atau obstruksi hepatobilier peningkatan ALP bisa mencapai 10-15 kali dari nilai normal, sedangkan pada penyakit hepatoseluler seperti hepatitis, ALP hanya mengalami peningkatan 2-3 kali (9). Peningkatan ALP dalam serum disebabkan oleh keluarnya isoenzim ALP intrasel karena perubahan permeabilitas membran sel (10).

Pengukuran aktivitas ALP plasma dilakukan dengan metode kolometri dengan menggunakan reagen kit dari *Randox*. Prinsip dari pengukuran ALP berdasarkan bahwa alkali fosfatase mengkatalisis perubahan p-nitrofenil fosfat menjadi p-nitrofenol yang membentuk warna kuning dalam larutan alkali yang serapannya dapat diukur pada panjang gelombang 405 nm (10). Persamaan reaksi digambarkan pada Gambar 8.

Hasil pengukuran aktivitas enzim ALP pada tikus putih betina menunjukkan kelompok I $362,71 \pm 103,93$ U/l, kelompok II $293,94 \pm 62,74$ U/l, kelompok III $302,68 \pm 94,86$ U/l, dan kelompok kontrol $275,54 \pm 73,09$ U/l. Sedangkan pada tikus putih jantan aktivitas ALP yaitu: kelompok I $312,34 \pm 102,39$ U/l, kelompok II $248,63 \pm 84,51$ U/l, kelompok III $248,06 \pm 108,49$ U/l dan kelompok kontrol $249,78 \pm 70,26$ U/l. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 7 dan Tabel 8. Hasil uji ANAVA ($\alpha > 0,05$) terhadap aktivitas ALP keempat kelompok tikus putih jantan dan betina setelah diberi perlakuan

selama 90 hari menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna baik antara kelompok perlakuan dosis maupun dengan kelompok kontrol. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 11-16.

Pada pemeriksaan histologis hati, parameter yang dilihat adalah diameter vena sentralis hati dan derajat kerusakan sel hati. Diameter vena sentralis dijadikan sebagai parameter kerusakan karena vena sentralis menerima paling sedikit oksigen dan vena sentralis menyalurkan darah dari semua lobulus hati, sehingga jika terdapat toksikan akan terakumulasi di vena sentralis (22). Apabila terdapat gangguan maka yang terlebih dahulu mengalami kerusakan dan terlihat lebih parah adalah vena sentralis. Jika terjadi kerusakan, sel-sel endotel yang terdapat di sekitar vena sentralis akan lisis dan mengakibatkan terjadinya pembesaran diameter vena sentralis (22). Derajat kerusakan dilihat pada sel hati, dikarenakan sel hati memiliki peranan yang kompleks dan penting dalam proses metabolisme (22). Metode yang digunakan pada pemeriksaan histologis hati yaitu metode parafin dan metode pewarnaan haematoksilin-eosin.

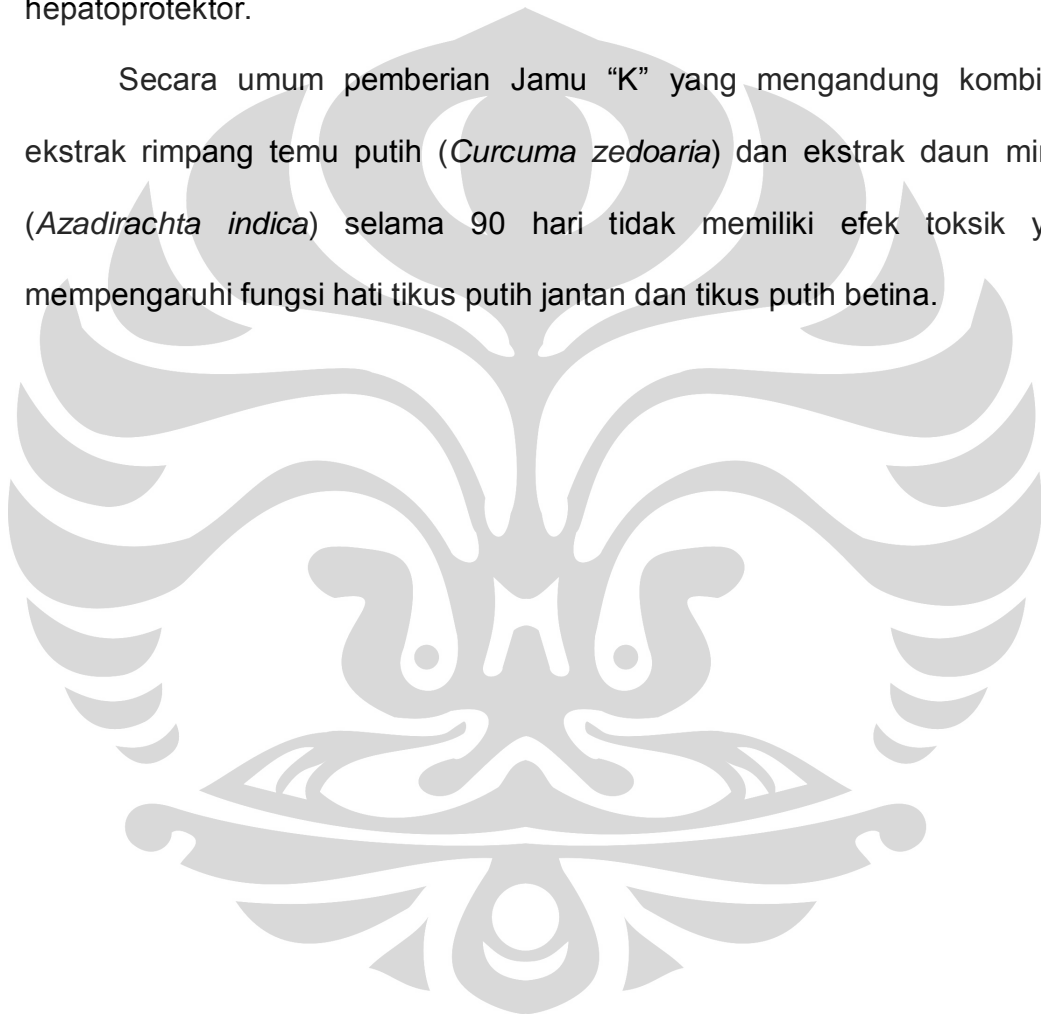
Hasil pemeriksaan histologis hati pada tikus putih betina dan jantan setelah perlakuan selama 90 hari menunjukkan tidak adanya kerusakan pada sel hati jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil pengukuran diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina didapatkan data diameter vena sentralis kelompok I $75,89 \pm 3,24 \mu\text{m}$, kelompok II $79,22 \pm 10,18 \mu\text{m}$, kelompok III $79,45 \pm 8,31 \mu\text{m}$ dan kelompok kontrol $72,87 \pm 5,65 \mu\text{m}$. Sedangkan pada tikus putih jantan data pengukuran diameter rata-rata

vena sentralis yaitu: kelompok I $72,29 \pm 10,73 \mu\text{m}$, kelompok II $85,27 \pm 15,59 \mu\text{m}$, kelompok III $72,98 \pm 10,40 \mu\text{m}$ dan kelompok kontrol $71,49 \pm 5,44 \mu\text{m}$. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 9 dan Tabel 10. Hasil uji ANAVA ($\alpha > 0,05$) terhadap diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina dan jantan menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol. Penjelasan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 17-22.

Berdasarkan keseluruhan data parameter-parameter yang dianalisis untuk menilai fungsi hati tikus putih menandakan bahwa pemberian jamu "K" selama 90 hari, dengan tiga tingkatan dosis: 1980, 3960 dan 7920 mg/kg bb perhari tidak mempengaruhi fungsi hati. Faktor yang menyebabkan jamu "K" tidak bersifat toksik terhadap hati dikarenakan jamu "K" mengandung ekstrak tanaman temu putih dan daun mimba. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak air rimpang temu putih memiliki aktivitas hepatoprotektif yang dapat menurunkan aktivitas ALT dan AST pada tikus putih yang telah diinduksi oleh karbon tetraklorida (19). Aktivitas hepatoprotektif pada tanaman temu putih ditimbulkan karena temu putih mengandung minyak atsiri dan kurkumin yang memiliki efek antioksidan (2,19). Selain itu, tanaman mimba memiliki fungsi menetralkan radikal bebas yang berbahaya bagi hati (efek antioksidan) dengan mekanisme menurunkan tekanan oksidatif dengan cara menurunkan tingkat peroksidasi lipid dan meningkatkan kadar glutathione tereduksi dalam hati (7). Kandungan kimia mimba yaitu nimboldin telah terbukti mampu menghambat proliferasi sel dan

menginduksi apoptosis pada hamster yang telah diinduksi kanker dengan dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) secara *buccal* (20). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak rimpang temu putih dan daun mimba memiliki efek yang sinergis baik untuk pengobatan kanker maupun sebagai hepatoprotektor.

Secara umum pemberian Jamu “K” yang mengandung kombinasi ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) dan ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) selama 90 hari tidak memiliki efek toksik yang mempengaruhi fungsi hati tikus putih jantan dan tikus putih betina.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Pemberian jamu “K” dengan dosis 1980, 3960, dan 7920 mg/kg bb/hari pada tikus putih selama 90 hari tidak menimbulkan pengaruh terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase dan alkali fosfatase plasma serta gambaran histologis hati.

B. SARAN

Penelitian mengenai uji toksisitas kronis dan uji toksisitas khusus, meliputi uji mutagenik, teratogenik dan karsinogenik perlu dilakukan untuk lebih mengetahui keamanan jamu “K” dalam waktu yang lebih panjang.

DAFTAR ACUAN

1. Anonim. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. DEPKES RI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000: 1, 13, 15, 18.
2. Murwanti, Retno, Edy M, Arief N & Susi AK. Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) terhadap Pertumbuhan Tumor Paru Fase Post Inisiasi pada Mencit Betina Diinduksi Benzo[a]piren. *Majalah Farmasi Indonesia* **15** (1), 2004: 7-12.
3. Murwanti, Retno, Arief N, Agung EN & Imono AD. Ketoksikan Akut Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) pada Tikus Putih Galur Sprague-Dawley. *Temu Ilmiah Bidang Farmasi Klinik*, 9 Oktober 2004. Yogyakarta: Bagian Farmakologi dan Farmasi klinik UGM, 2004: 125-131.
4. Gangar, Subhash C, Rajat S, Durg VR & Ashwani K. Modulatory Effects of *Azadirachta indica* on Benzo(a)pyrene-induce Forestomach Tumorigenesis in Mice. *World Journal of Gastroentology* **12** (17), 2006: 2749-2754.
5. Boeke, Sara J, Marelle GB, Gerrit MA, Joop JA van Loon, Arnold van Huis, Marcel D, Ivonne MCM, Rietjens. Safety Evaluation of Neem (*Azadirachta indica*) Derived Pesticide. *Journal of Ethnopharmacology* **94**, 2004: 25-41.
6. Dorababu, M, MC Joshi, M Mohan K, Aditi C & RK Goel. Effect of Aqueous Extract of Neem (*Azadirachta indica*) Leaves on Offensive and Defensive Gastric Mucosal Factors in Rats. *Indian J Physiol Pharmacol* **50** (3), 2006: 241-249.
7. WHO. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants Volume 3*. Geneva: WHO Press, 2007: 94.
8. Sumarny, Ros, Dwi P & Darmono. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kering Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoria*. Rosc.) per Oral terhadap Beberapa Parameter Gangguan Ginjal pada Tikus Putih Jantan. *Majalah Farmasi Indonesia* **17** (1), 2006: 19-24.

9. WHO. *General Guideliness for Methodologies and Evaluation of Traditional Medicine*. Geneva: WHO Press, 2000: 30.
10. Anderson, SC. *Clinical Chemistry: Concepts and Applications*. Philadelphia: W.B Saunders Company, 1993: 249, 260, 261, 263, 283, 284, 293, 294.
11. Harmita & Maksum R. Buku Ajar Analisis Hayati Edisi kedua. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 2005: 48-68.
12. Hayes, WA, PK Chan, GPC Hara. *Principles and Methodes for Acute and Subchronic Toxocity*. New York: Raven Press, 1982: 27.
13. Parmar, NS & Shiv P. *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford: á-Science International Ltd, 2006: 46.
14. Nasution, R. Teknik Sampling. <http://www.library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-rozaini.pdf>. 30 Mei 2009. 17.10 WIB
15. Anonim. Borobudur Herbal Medicine Industry. <http://www.jamuborobudur.com>. 9 Januari 2009. 12.40 WIB.
16. Jr, Samuel BJ, Arlene EL. *Plant Systematics Second Edition*. Singapore: McGraw-Hill book company, 1987: 477-482.
17. Anonim. *Prosea Plant-Resources of South East Asia 12 (1) Medical and Poisonous Plants 1*. Editor: Padua, de LS, N Bunyapraphatsara, RHMJ Lemmens. Bogor, 1999: 210.
18. Lakshmi, S, EGS Dhanya, E. Beena J, EG Padmaja & EP Remani. Inhibitory Effect of an Extract of *Curcuma zedoaria* on Human Cervical Carcinoma Cells. *Med Chem Res* **17**. 2008: 335, 343.
19. Rachmani, Eka PN & Sidik. Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Air Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe) pada Tikus Putih. *Majalah Farmasi Indonesia (Indonesian Journal of Pharmacy)* **17** (1). 2006: 45.
20. Kumar, GH, Vidya P, G Vinothini, P Vidjaya L & S Nagini. The Neem Limonoids Azadirachtin and Nimbolide Inhibit Cell Proliferation and Induce Apoptosis in an Animal Model of Oral Oncogenesis. *Springer*, 2009.

21. Adriansyah, Wiryanto & Edwi M. Toksisitas Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) pada Anakan Siput Murbei (*Pomacea canaliculata L.*). *Bio Smart* **4** (1), 2002: 29-33.
22. Lesson, CR, Thomas SL & Anthony AP. *Buku Ajar Histologi Edisi 5*. Terj. dari *Textbook of Histology*, oleh S. Koesparto Siswojo, et. al. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1989: 382, 385.
23. Kaplan, LA. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation 3rd Edition*. Missouri: Mosby-Year Inc, 1996: 506-510, 514, 518.
24. Sherwood, L. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem Edisi 2*. Terj. dari *Human Physiology: from Cells to Systems*, oleh Brahm UP. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1996: 565, 566.
25. Price, SA & LM Wilson. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit Edisi 6*. Terj. dari *Pathofisiology Clinical Concepts of Disease Processes*, oleh Brahm UP, Huriawati H, Pita W & Dewi AM. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2005: 472-477, 493, 510.
26. Guyton, AC. *Buku Teks Fisiologi Kedokteran*. Terj. dari *Textbook of Medical Physiology*, oleh Adji D & P Lukmanto. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1983: 392, 395, 398, 399.
27. Murray, RK, Daryl KG, Peter AM & Victor WR. *Biokimia Harper Edisi 25*. Terj. Dari *Harper's Biochemistry 25th Edition*, oleh Andry H. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2003: 161.
28. Lu, CF. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko Edisi 2*. Terj. dari *Basic Toxicology : Fundamentals, Target Organ, and Risk Assesment*, oleh Edi N. Jakarta: UI Press, 1995: 208-215.
29. Calbreath, Donald F. *Clinical Chemistry: A Fundamental Textbook*. New York: W.B Saunders Company, 1992: 191, 193.
30. Burtis, CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry 3rd Edition*. Philadelphia: W.B Saunders Company, 1999: 676.
31. Anonim. *Prosedur Kerja Reagen Kit Alkali Phosphatase*. United Kingdom: Randox, 2005: 1-2.
32. Reitman & Frankel SA. Colorimetric Method for The Determination of Serum Glutamic Oxaloacetate and Glutamic Pyruvic Transaminase. *Am J. Clin. Pathology* **28**, 1957: 56.

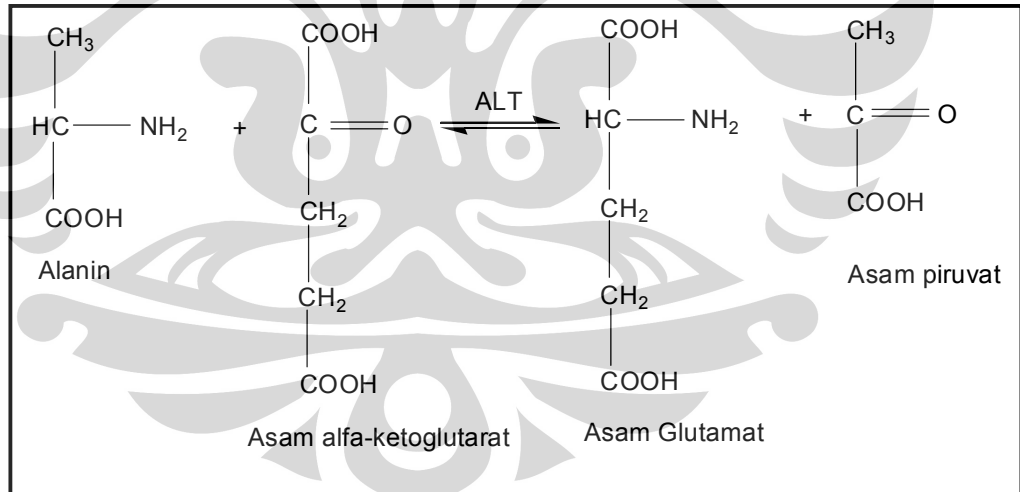
33. Anonim. Farmakope Indonesia Edisi 4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995: 1165, 1182, 1212, 1216.
34. Hoff, Sanet. Methods of Blood Collection in the Mouse. *Lab Animal* **29** (10), 2000: 50-51.
35. Merck. *Diagnostic Merck, Directions for Use Clinical Chemistry*. Jerman: E. Merck Darmstadt, 1976: 46-47.
36. Tanzil, R. *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologis*. Bagian Histologis Fakultas Kedokteran UI, 1996.
37. Santoso, S. *Panduan Lengkap Menguasai SPSS 16.0*. Jakarta: Elex Media Komputindo, 2008: 237-247.
38. Rowe, CR, Sheskey PJ, Weller PJ. *Pharmaceutical Exipients 2001 Single-User Windows Version 2.0*. London: American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press, 2001.



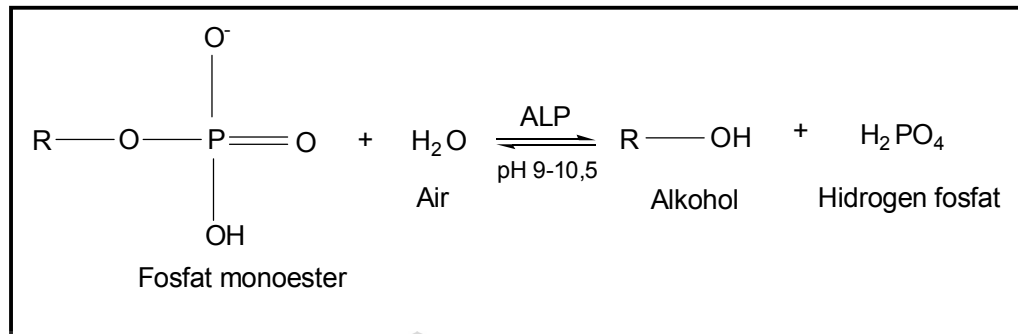




Gambar 3. Serbuk jamu "K"



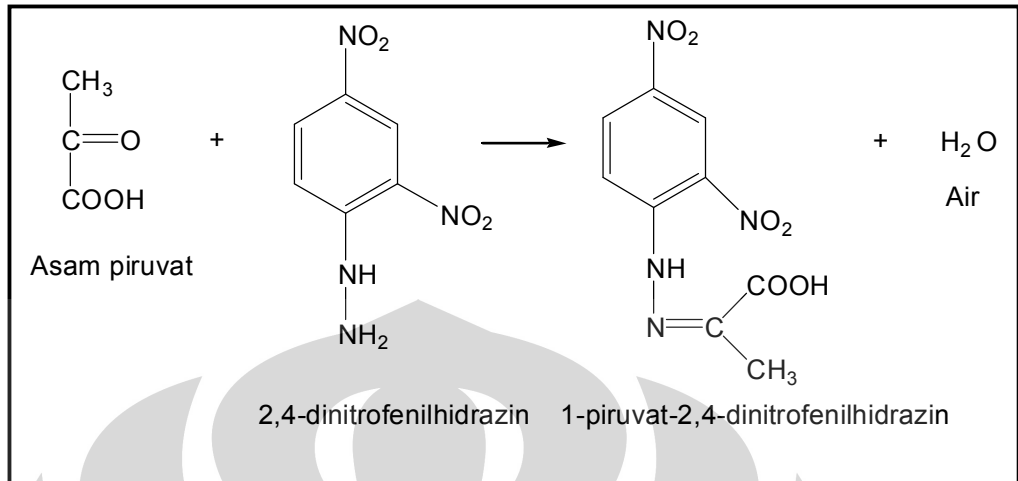
Gambar 4. Reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat dengan ALT sebagai katalisator (10)



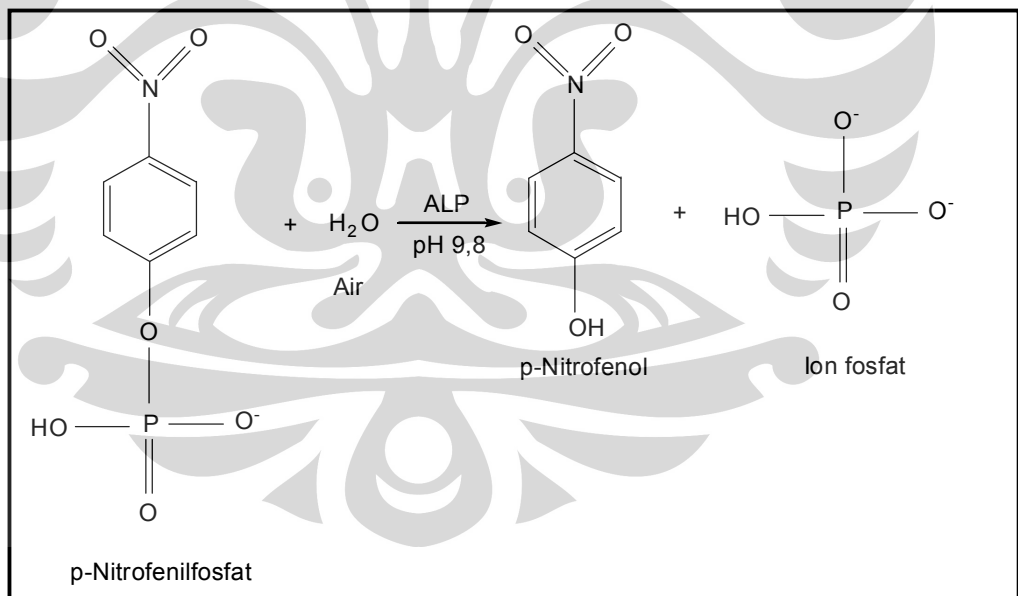
Gambar 5. Reaksi pembentukan fosfat inorganik (hidrogen fosfat) dan alkohol dengan ALP sebagai katalisator (10)



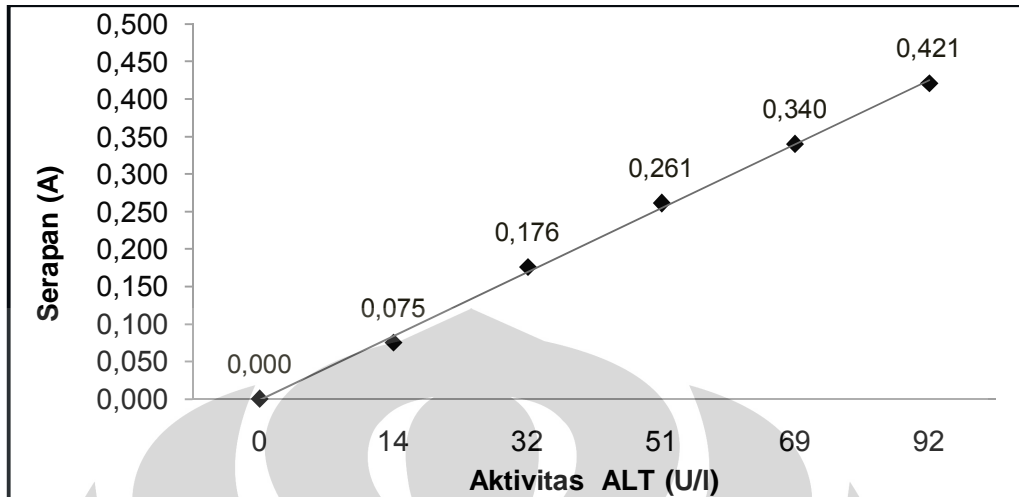
Gambar 6. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata



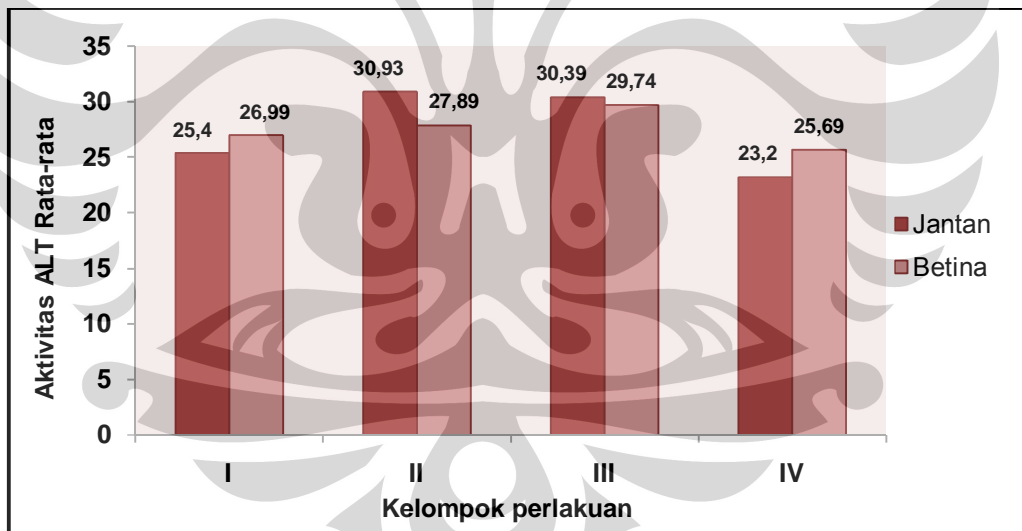
Gambar 7. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran ALT plasma secara kolorimetri (24)



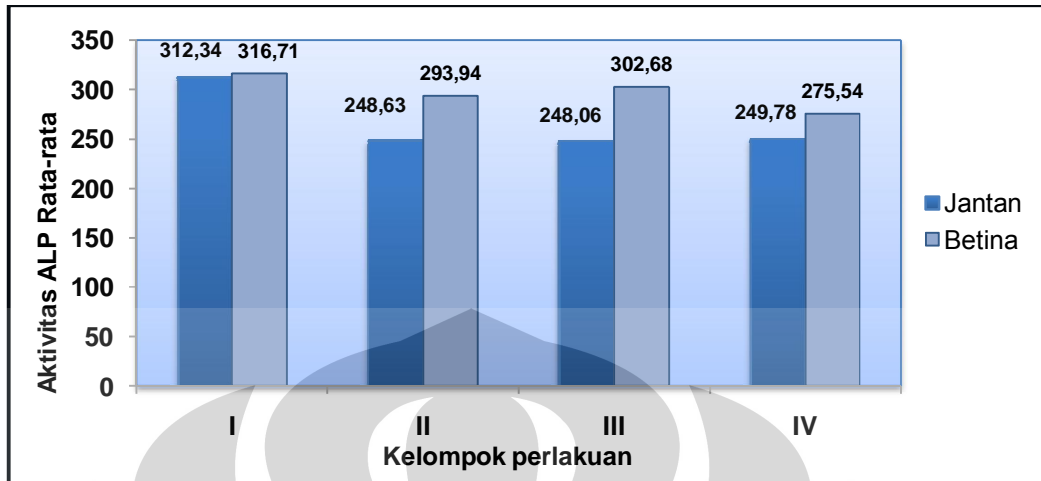
Gambar 8. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran ALP plasma secara kolorimetri (10)



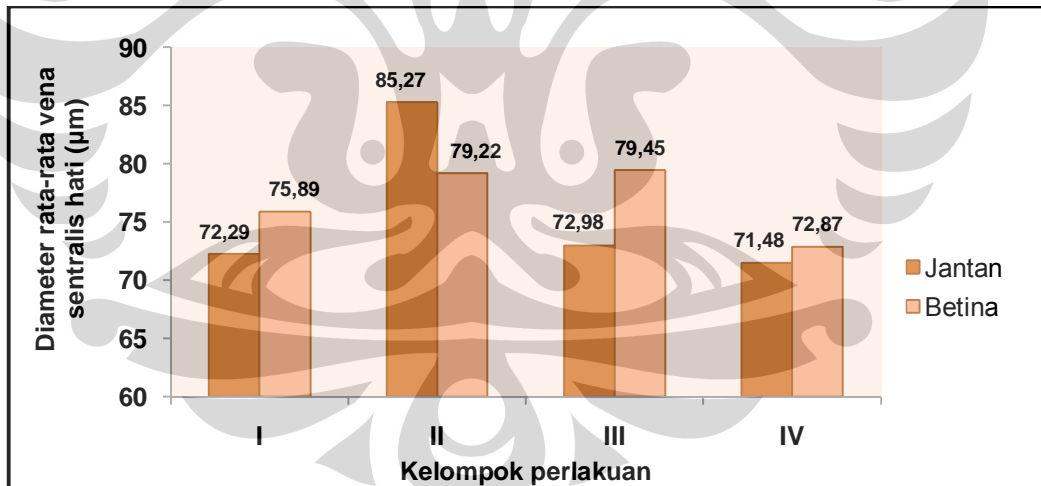
Gambar 9. Kurva kalibrasi aktivitas ALT
 Keterangan: Persamaan garis yang diperoleh yaitu $y = 0,01388 + 4,611 \times 10^{-3} x$, dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9964



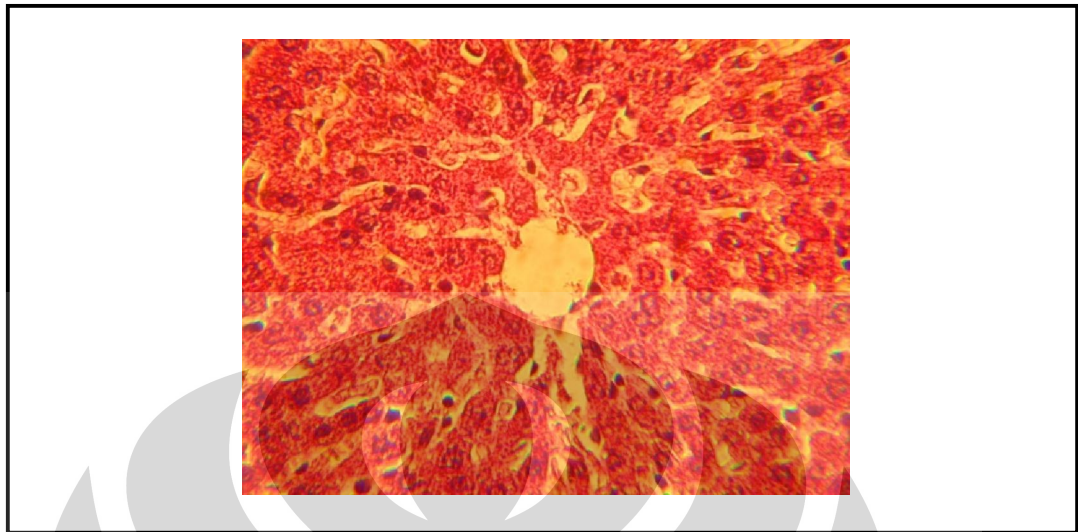
Gambar 10. Diagram aktivitas ALT rata-rata tikus putih jantan dan betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari
 Keterangan: I = kelompok dosis 1980 mg/kg bb, II = kelompok dosis 3960 mg/kg bb, III = kelompok dosis 7920 mg/kg bb, IV = kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%



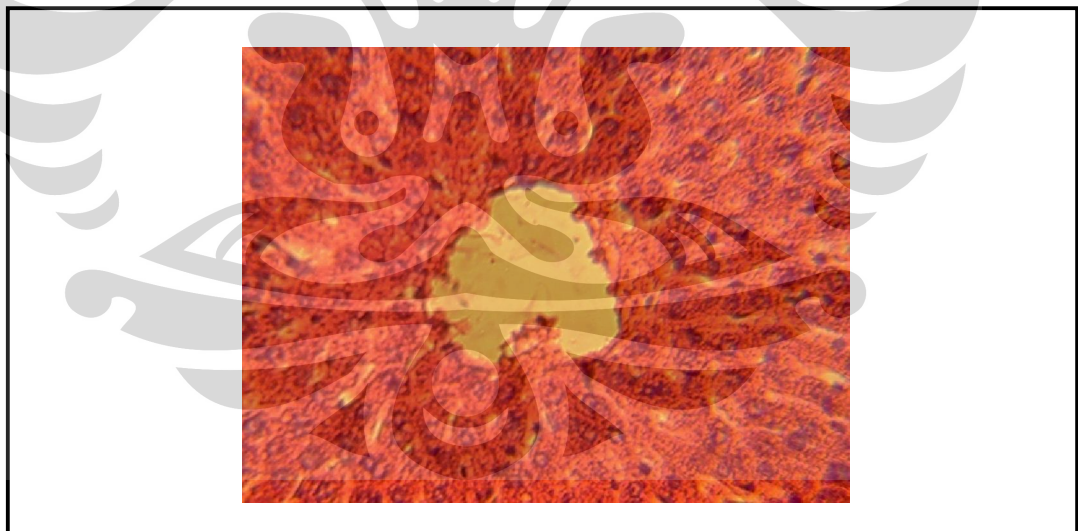
Gambar 11. Diagram aktivitas ALP rata-rata tikus putih jantan dan betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari
Keterangan: I = kelompok dosis 1980 mg/kg bb, II = kelompok dosis 3960 mg/kg bb, III = kelompok dosis 7920 mg/kg bb, IV = kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%



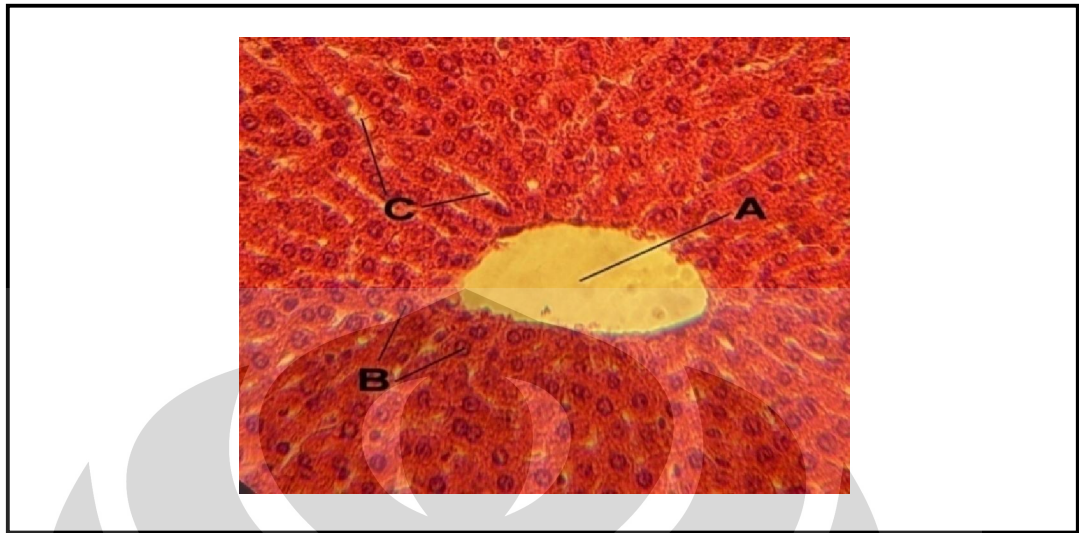
Gambar 12. Diagram diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan dan betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari
Keterangan: I = kelompok dosis 1980 mg/kg bb, II = kelompok dosis 3960 mg/kg bb, III = kelompok dosis 7920 mg/kg bb, IV = kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%



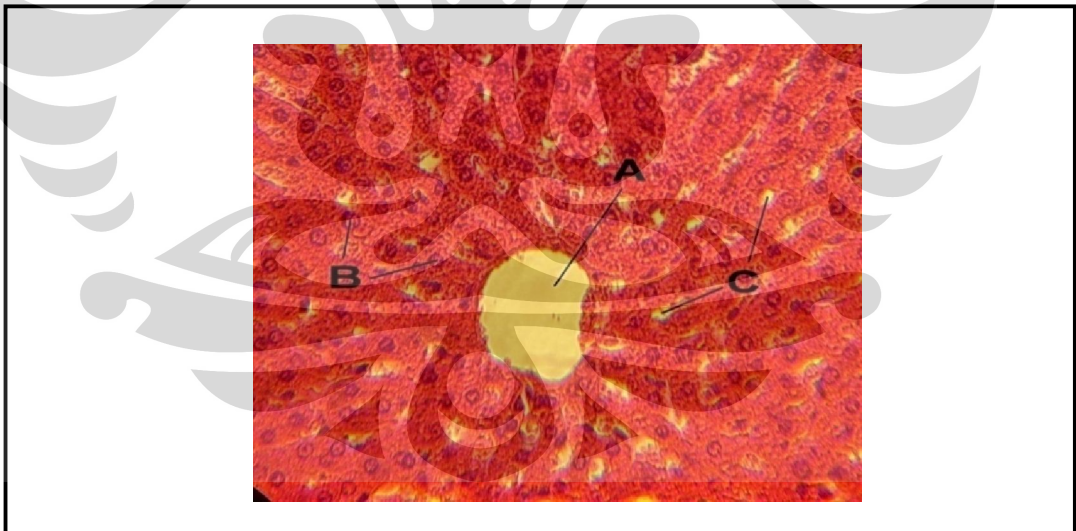
Gambar 13. Gambaran histologis hati tikus betina kelompok dosis 1980 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X. Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B = Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = Sinusoid.



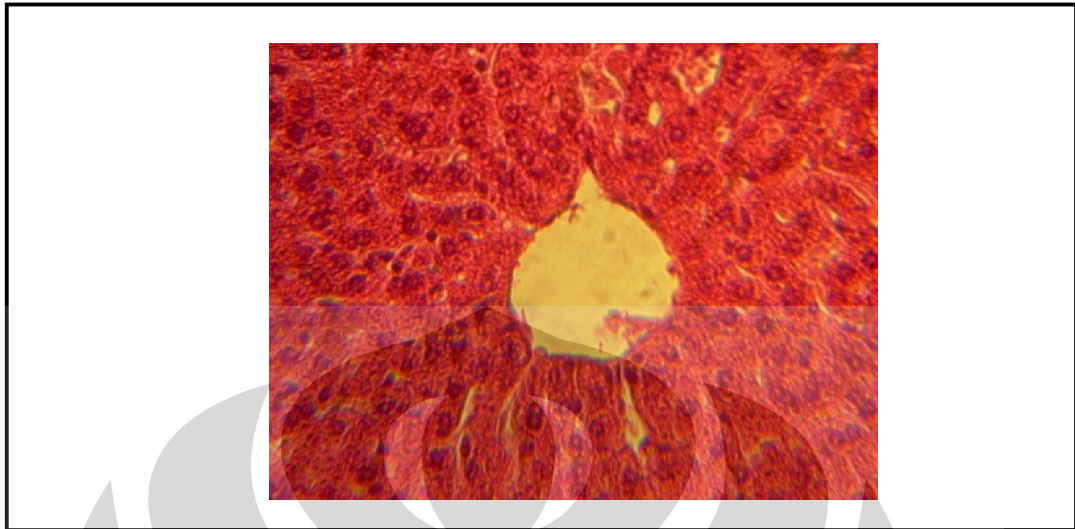
Gambar 14. Gambaran histologis hati tikus betina kelompok dosis 3960 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X. Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B = Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = Sinusoid.



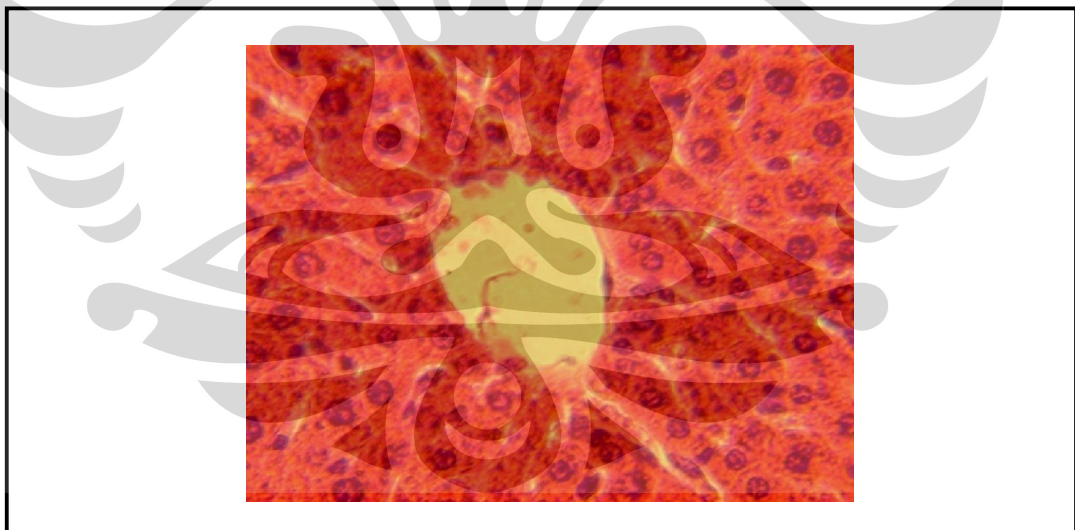
Gambar 15. Gambaran histologis hati tikus betina kelompok dosis 7920 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X. Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B = Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = Sinusoid.



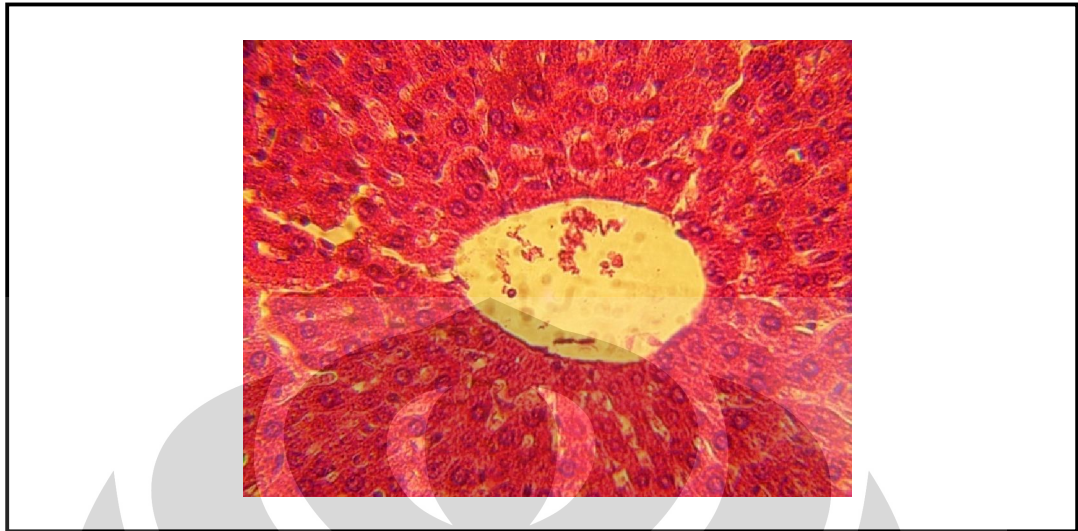
Gambar 16. Gambaran histologis hati tikus betina kelompok kontrol normal setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X. Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B = Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = Sinusoid.



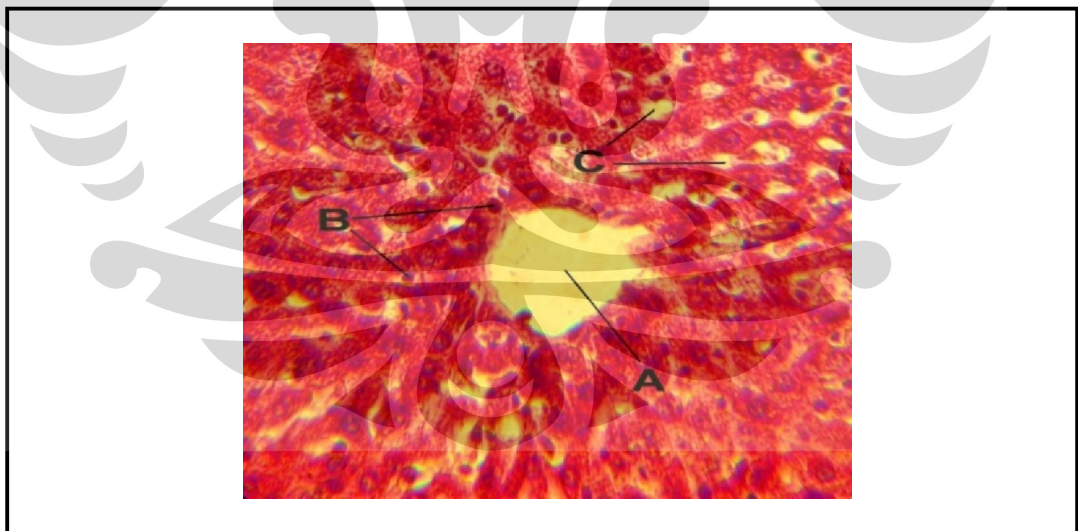
Gambar 17. Gambaran histologis hati tikus jantan kelompok dosis 1980 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X. Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B = Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = Sinusoid



Gambar 18 Gambaran histologis hati tikus jantan kelompok dosis 3960 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X. Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B = Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = Sinusoid



Gambar 19. Gambaran histologis hati tikus jantan kelompok dosis 7920 mg/kg bb setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X.
Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B = Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = Sinusoid.



Gambar 20. Gambaran histologis hati tikus jantan kelompok kontrol normal setelah diberi perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400X.
Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B = Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = Sinusoid



Tabel 1

Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat pada pembuatan kurva kalibrasi ALT

Tabung reaksi	Larutan standar piruvat (ml)	Larutan dapar substrat (ml)
1	0,00	1,00
2	0,10	0,90
3	0,20	0,80
4	0,30	0,70
5	0,40	0,60
6	0,50	0,50

Tabel 2

Pengukuran aktivitas ALT plasma

	Tabung uji	Tabung blanko
Larutan dapar-substrat	0,5 ml	0,5 ml
Inkubasi pada suhu 37 ⁰ C selama 10 menit		
Plasma	0,1 ml	-
Kocok ad homogen, inkubasi pada suhu 37 ⁰ C selama 30 menit		
Pereaksi warna	0,5 ml	0,5 ml
Plasma	-	0,1 ml
Kocok ad homogen, inkubasi pada suhu kamar selama 20 menit		
Larutan natrium hidroksida 0,4 N	5,0 ml	5,0 ml
Kocok ad homogen, diamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm		

Tabel 3
Pengukuran aktivitas ALP plasma

	Tabung uji	Tabung kontrol
Plasma	20 μ l	-
Aquabides	-	20 μ l
Larutan pereaksi	1000 μ l	1000 μ l

Tabel 4
Serapan larutan standar piruvat dan dapar substrat dalam berbagai perbandingan konsentrasi pada pembuatan kurva kalibrasi ALT

No. Tabung	Larutan Standar Piruvat (ml)	Larutan Dapar Substrat (ml)	Nilai Aktivitas (U/l)	Serapan (A)
1	0,00	1,00	0	0,000
2	0,10	0,90	14	0,075
3	0,20	0,80	32	0,176
4	0,30	0,70	51	0,261
5	0,40	0,60	69	0,340
6	0,50	0,50	92	0,421

Tabel 5

Aktivitas ALT plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 Hari

Kelompok	Serapan (A)	Aktivitas (U/l)	Aktivitas rata-rata \pm SD
I (1980 mg/kg bb)	0,109	20,63	26,99 \pm 5,55
	0,117	22,36	
	0,123	23,67	
	0,147	28,87	
	0,165	32,77	
	0,169	33,64	
II (3960 mg/kg bb)	0,075	13,26	27,89 \pm 8,70
	0,123	23,67	
	0,136	26,48	
	0,165	32,77	
	0,174	34,73	
	0,182	36,46	
III (7920 mg/kg bb)	0,110	20,85	29,74 \pm 9,03
	0,120	23,01	
	0,136	26,48	
	0,150	29,52	
	0,164	32,56	
	0,226	46,00	
IV (Larutan CMC 0,5%)	0,084	15,21	25,69 \pm 8,38
	0,098	18,24	
	0,112	21,28	
	0,165	32,77	
	0,167	33,21	
	0,168	33,42	

Tabel 6

Aktivitas ALT plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 Hari

Kelompok	Serapan (A)	Aktivitas (U/l)	Aktivitas rata-rata ± SD
I (1980 mg/kg bb)	0,066	11,30	25,40 ± 9,27
	0,097	18,03	
	0,133	25,83	
	0,145	28,44	
	0,165	32,77	
II (3960 mg/kg bb)	0,180	36,03	30,93 ± 10,20
	0,099	18,46	
	0,131	25,40	
	0,144	28,22	
	0,158	31,26	
III (7920 mg/kg bb)	0,168	33,42	30,39 ± 13,44
	0,239	48,82	
	0,099	18,46	
	0,114	21,71	
	0,167	33,21	
IV (Larutan CMC 0,5%)	0,236	48,17	23,20 ± 6,37
	0,074	13,04	
	0,105	19,76	
	0,115	21,93	
	0,132	25,62	
	0,144	28,22	
	0,155	30,61	

Tabel 7

Aktivitas ALP plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 Hari

Kelompok	Serapan (A)		Aktivitas (U/l)	Aktivitas rata-rata \pm SD
	Menit ke-1	Menit ke-3		
I (1980 mg/kg bb)	0,057	0,170	155,94	361,71 \pm 103,93
	0,174	0,345	235,98	
	0,179	0,411	320,16	
	0,308	0,579	373,98	
	0,393	0,665	375,36	
	0,172	0,490	438,84	
II (3960 mg/kg bb)	0,089	0,262	238,74	293,94 \pm 62,74
	0,128	0,305	244,26	
	0,157	0,341	253,92	
	0,213	0,417	281,52	
	0,323	0,590	368,46	
	0,173	0,446	376,74	
III (7920 mg/kg bb)	0,144	0,260	160,08	302,68 \pm 94,86
	0,180	0,370	262,20	
	0,207	0,406	274,62	
	0,213	0,439	311,88	
	0,427	0,698	373,98	
	0,135	0,449	433,32	
IV (Larutan CMC 0,5%)	0,084	0,195	153,18	275,54 \pm 73,09
	0,176	0,354	245,64	
	0,146	0,329	252,54	
	0,284	0,521	327,06	
	0,193	0,436	335,34	
	0,176	0,422	339,48	

Tabel 8

Aktivitas ALP plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 Hari

Kelompok	Serapan (A)		Aktivitas (U/l)	Aktivitas rata-rata \pm SD
	Menit ke-1	Menit ke-3		
I (1980 mg/kg bb)	0,093	0,205	154,56	312,34 \pm 102,39
	0,063	0,263	276,00	
	0,205	0,432	313,26	
	0,234	0,466	320,16	
	0,115	0,360	338,10	
	0,238	0,580	471,96	
II (3960 mg/kg bb)	0,257	0,370	155,94	248,63 \pm 84,51
	0,103	0,244	194,58	
	0,280	0,429	205,62	
	0,129	0,305	242,88	
	0,193	0,415	306,36	
	0,402	0,682	386,40	
III (7920 mg/kg bb)	0,287	0,376	122,82	248,06 \pm 108,49
	0,196	0,370	240,12	
	0,177	0,352	241,50	
	0,459	0,740	387,78	
IV (Larutan CMC 0,5%)	0,149	0,285	187,68	249,78 \pm 70,26
	0,110	0,259	205,62	
	0,162	0,314	209,76	
	0,106	0,264	218,04	
	0,338	0,573	324,30	
	0,344	0,600	353,28	

Tabel 9
Diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari

Ulangan	Diameter rata-rata vena sentralis (μm)			
	I	II	III	IV
1	73,09	69,51	91,93	79,82
2	79,37	83,41	86,10	67,26
3	80,31	76,68	73,09	73,99
4	73,79	97,76	78,92	76,68
5	72,97	74,89	69,51	74,44
6	75,83	73,09	77,13	65,02
Rata-rata \pm SD	75,89 \pm 3,24	79,22 \pm 10,18	79,45 \pm 8,31	72,87 \pm 2,31

Keterangan: I = kelompok dosis 1980 mg/kg bb, II = kelompok dosis 3960 mg/kg bb, III = kelompok dosis 7920 mg/kg bb, IV = kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%

Tabel 10

Diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari

Ulangan	Diameter rata-rata vena sentralis (μm)			
	I	II	III	IV
1	80,27	93,27	86,55	81,17
2	79,82	110,31	68,16	65,23
3	59,79	67,67	74,89	68,16
4	72,20	70,85	62,33	69,96
5	58,70	82,96	-	72,65
6	82,96	86,55	-	71,75
Rata-rata \pm SD	72,29 \pm 10,76	85,27 \pm 15,59	72,98 \pm 10,40	71,49 \pm 5,44

Keterangan: I = kelompok dosis 1980 mg/kg bb, II = kelompok dosis 3960 mg/kg bb, III = kelompok dosis 7920 mg/kg bb, IV = kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%



Lampiran 1
Perhitungan dosis

Sediaan jamu “K” berupa kapsul 550 mg yang berisi ekstrak temu putih dan ekstrak daun mimba. Aturan pakai jamu ini 2 kali sehari dua kapsul. Sehingga, dosis terapi untuk satu hari = $2 \times 2 \times 550 \text{ mg} = 2200 \text{ mg}$. Faktor konversi dari manusia ke tikus adalah 0,018.

Dosis untuk tikus dengan berat badan 200 g:

$$= 2200 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 \text{ (faktor farmakokinetika)}$$

$$= 396 \text{ mg}/200 \text{ g bb / hari}$$

$$= 1980 \text{ mg}/\text{kg bb / hari}$$

Dosis 1980 mg/kg bb/hari adalah dosis I. Dosis II dan III berturut-turut adalah kelipatan 2 dan kelipatan 4 dari dosis I. Jadi percobaan menggunakan dosis berturut-turut: 1980 mg/kg bb /hari; 3960 mg/kg bb/hari; 7920 mg/kg bb/hari

Lampiran 2

Pembuatan suspensi uji

Pembuatan bahan uji dilakukan dengan menimbang ekstrak kering jamu “K”, kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 0,5%.

Jika volume yang akan disondekan 3,0 ml, maka volume suspensi yang dibutuhkan untuk masing-masing dosis adalah:

$$\text{Dosis III} = (12 \text{ ekor} \times 3 \text{ ml}) = 36 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis II} = \frac{1}{2} \times 36 \text{ ml} = 18 \text{ ml dosis III}$$

$$\text{Dosis I} = \frac{1}{4} \times 36 \text{ ml} = 9 \text{ ml dosis III}$$

Volume suspensi dosis III yang dibutuhkan adalah 63 ml dosis III, dilebihkan 7 ml, jadi total volume dosis III yang dibuat adalah 70 ml.

Maka berat bahan uji yang ditimbang untuk dosis III dengan berat badan tikus 200 g:

$$= \frac{(7920 \text{ mg/kg bb} \times 0,2 \text{ kg})}{3 \text{ ml}} \times 70 \text{ ml} = 36960 \text{ mg} = 36,96 \text{ g}$$

$$\text{CMC yang ditimbang} = \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 70 \text{ ml} = 0,35 \text{ g} = 350 \text{ mg}$$

Pembuatan dosis III, didahului dengan mengembangkan CMC sebanyak 350 mg dalam 7 ml air hangat ($\pm 60^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit. Bahan uji yang telah ditimbang disuspensikan ke dalam CMC yang telah dikembangkan dan digerus ad homogen, setelah itu ditambahkan aquades sampai 70 ml.

Selanjutnya dibuat Larutan CMC 0,5 % , volume yang dibuat :

untuk kelompok kontrol = 12 ekor x 3 ml = 36 ml

untuk pengenceran dosis I = 36 ml – 18 ml = 18 ml

untuk pengenceran dosis II = 36 ml – 9 ml = 27 ml

volume larutan CMC 0,5% yang dibutuhkan adalah 81 ml, dilebihkan 9 ml,

jadi total larutan CMC 0,5% yang dibuat = 90 ml.

$$\text{CMC yang ditimbang} = \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 90 \text{ ml} = 0,45 \text{ g} = 450 \text{ mg}$$

450 mg serbuk CMC dikembangkan dalam 9 ml air hangat ($\pm 60^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, kemudian digerus dan ditambahkan aquades sampai 90 ml.

Dosis II dan I dibuat dengan cara pengenceran dari dosis III:

Dosis II : 18 ml suspensi dosis III, ditambahkan larutan CMC 0,5% ad 36 ml.

Dosis I : 9 ml suspensi dosis III, ditambahkan larutan CMC 0,5% ad 36 ml.

Lampiran 3

Perolehan regresi linier

Regresi linier dari persamaan garis $y = a+bx$ diperoleh dengan cara, menghitung nilai a dan b. A dan b adalah bilangan garis normal yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$a = \frac{(\sum y) \sum x^2 - (\sum x)(\sum xy)}{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

Derajat kelinieran atau yang disebut juga koefisien korelasi dapat dihitung dengan rumus:

$$r = \frac{N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{\{N(\sum x^2) - (\sum x)^2\} \{N(\sum y^2) - (\sum y)^2\}}}$$

Jika nilai $r = 1$ maka korelasi antara x dan y sempurna sehingga semua titik pada kurva antara x dan y terletak pada satu garis lurus.

Lampiran 4

Perhitungan aktivitas ALT plasma

Persamaan garis yang diperoleh dari kurva kalibrasi:

$$y = 0,01388 + 4,611 \cdot 10^{-3} x$$

Contoh:

Serapan yang diperoleh (y) = 0,109

$$\begin{aligned} \text{Maka, aktivitas ALT (x)} &= \frac{0,109 - 0,0138}{4,611 \times 10^{-3}} \\ &= 20,629 \text{ U/l} \end{aligned}$$

Lampiran 5

Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)

Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALT plasma tikus putih betina

Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok terdistribusi normal

H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*

α : 0,05

Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok $> \alpha$

Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok terdistribusi normal.

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Betina Dosis 1	.895	6	.347
Dosis 2	.913	6	.458
Dosis 3	.898	6	.359
Kontrol	.816	6	.081

Lampiran 6

Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varians dari data aktivitas ALT plasma tikus putih betina
- Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen
 H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Lavene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,682 > α
- Kesimpulan : H_0 diterima, sehingga aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen.

Test of Homogeneity of Variances

Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Betina

Levene Statistik	df1	df2	Sig.
.507	3	20	.682

Lampiran 7

Uji ANAVA terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALT plasma tikus putih betina

Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok berbeda secara bermakna

Statistik uji : uji F

α : 0,05

Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$

Hasil : Nilai signifikansi = 0,847 $> \alpha$

Kesimpulan : H_0 diterima, sehingga aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

ANOVA

Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Betina

	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	52.058	3	17.353	.269	.847
Dalam kelompok	1290.916	20	64.546		
Total	1342.974	23			

Lampiran 8

Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)

Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan

Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok terdistribusi normal

H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*

α : 0,05

Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok $> \alpha$

Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok terdistribusi normal.

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Jantan Dosis 1	.956	6	.785
Dosis 2	.935	6	.616
Dosis 3	.921	4	.540
Kontrol	.967	6	.870

Lampiran 9

Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varians dari data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan
- Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen
 H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Lavene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,520 > α
- Kesimpulan : H_0 diterima, sehingga aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen.

Test of Homogeneity of Variances

Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Jantan

Levene Statistik	df1	df2	Sig.
.781	3	18	.520

Lampiran 10

Uji ANAVA terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALT plasma tikus putih betina

Hipotesis : Ho = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

Ha = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok berbeda secara bermakna

Statistik uji : uji F

α : 0,05

Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai Signifikansi < α

Hasil : Nilai signifikansi = 0,485 > α

Kesimpulan : Ho diterima, sehingga aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

ANOVA

Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Jantan

	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	239.821	3	79.940	.849	.485
Dalam kelompok	1694.025	18	94.113		
Total	1933.846	21			

Lampiran 11

Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)

Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALP plasma tikus putih betina

Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok terdistribusi normal

H_a = data aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*

α : 0,05

Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok $> \alpha$

Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok terdistribusi normal.

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Aktivitas ALP Plasma Tikus Putih Betina Dosis 1	.944	6	.689
Dosis 2	.807	6	.068
Dosis 3	.983	6	.967
Kontrol	.860	6	.188

Lampiran 12

Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varians dari data aktivitas ALP plasma tikus putih betina
- Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen
 H_a = data aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Lavene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,705 > α
- Kesimpulan : H_0 diterima, sehingga aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen.

Test of Homogeneity of Variances

Aktivitas ALP Plasma Tikus Putih Betina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.472	3	20	.705

Lampiran 13

Uji ANAVA terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih betina (SPSS 16.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALP plasma tikus putih betina

Hipotesis : Ho = data aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

Ha = data aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok berbeda secara bermakna

Statistik uji : uji F

α : 0,05

Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai Signifikansi < α

Hasil : Nilai signifikansi = 0,864 > α

Kesimpulan : Ho diterima, sehingga aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

ANOVA

Aktivitas ALP Plasma Tikus Putih Betina

	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	5342.715	3	1780.905	.245	.864
Dalam kelompok	145401.257	20	7270.063		
Total	150743.972	23			

Lampiran 14

Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)

- Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan
- Hipotesis : Ho = data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok terdistribusi normal
Ha = data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak terdistribusi normal
- Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*
- α : 0,05
- Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok > α
- Kesimpulan : Ho diterima sehingga data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok terdistribusi normal.

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Aktivitas ALP Plasma Tikus Putih Jantan Dosis 1	.941	6	.669
Dosis 2	.936	6	.629
Dosis 3	.941	4	.663
Kontrol	.800	6	.059

Lampiran 15

Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varians dari data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan
- Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen
 H_a = data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Lavene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,993 > α
- Kesimpulan : H_0 diterima, sehingga aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen.

Test of Homogeneity of Variances

Aktivitas ALP Plasma Tikus Putih Jantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.029	3	18	.993

Lampiran 16

Uji ANAVA terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan (SPSS 16.0)

- Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALP plasma tikus putih betina
- Hipotesis : H_0 = data aktivitas ALP plasma tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok berbeda secara bermakna
- Statistik uji : uji F
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,558 > α
- Kesimpulan : H_0 diterima, sehingga aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

ANOVA

Aktivitas ALP Plasma Tikus Putih Jantan

	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	17560.285	3	5853.428	.711	.558
Dalam kelompok	148122.169	18	8229.009		
Total	165682.454	21			

Lampiran 17

Uji distribusi normal terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina
(SPSS 16.0)

Tujuan : Mengetahui distribusi data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina

Hipotesis : H_0 = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok terdistribusi normal

H_a = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*

α : 0,05

Daerah kritis : H_0 ditolak jika Signifikansi < 0,05

Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok > α

Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data diameter vena sentralis tikus putih betina antar kelompok terdistribusi normal.

Tests of Normality

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diameter Rata-rata Vena Sentralis Tikus Betina	Dosis 1	.847	6	.148
	Dosis 2	.869	6	.221
	Dosis 3	.963	6	.843
	Kontrol	.932	6	.599

Lampiran 18

Uji kesamaan varians terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina (SPSS 16.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varians dari diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina
- Hipotesis : Ho = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen
Ha = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Lavene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,191 > α
- Kesimpulan : Ho diterima, sehingga diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen.

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Rata-rata Vena Sentralis Tikus Betina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.740	3	20	.191

Lampiran 19

Uji ANAVA terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina (SPSS 16.0)

- Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina
- Hipotesis : H_0 = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok berbeda secara bermakna
- Statistik uji : uji F
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,378 > α
- Kesimpulan : H_0 diterima, sehingga diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

ANOVA

Diameter Rata-rata Vena Sentralis Tikus Betina

	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	174.864	3	58.288	1.084	.378
Dalam kelompok	1075.298	20	53.765		
Total	1250.162	23			

Lampiran 20

Uji distribusi normal terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan
(SPSS 16.0)

Tujuan : Mengetahui distribusi data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan

Hipotesis : Ho = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok terdistribusi normal

Ha = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*

α : 0,05

Daerah kritis : Ho ditolak jika Signifikansi < 0,05

Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok > α

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data diameter vena sentralis tikus putih jantan antar kelompok terdistribusi normal.

Tests of Normality

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diameter Rata-rata Vena	Dosis 1	.843	6	.138
Sentralis Hati Tikus Putih	Dosis 2	.952	6	.760
Jantan	Dosis 3	.973	4	.858
	Kontrol	.921	6	.516

Lampiran 21

Uji kesamaan varians terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 16.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varians dari diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan
- Hipotesis : Ho = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen
Ha = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Lavene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,227 > α
- Kesimpulan : Ho diterima, sehingga diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen.

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Rata-rata Vena Sentralis Hati Tikus Putih Jantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.589	3	18	.227

Lampiran 22

Uji ANAVA terhadap diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 16.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan

Hipotesis : H_0 = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

H_a = data diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok berbeda secara bermakna

Statistik uji : uji F

α : 0,05

Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi < α

Hasil : Nilai signifikansi = 0,150 > α

Kesimpulan : H_0 diterima, sehingga diameter rata-rata vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

ANOVA

Diameter Rata-rata Vena Sentralis Hati Tikus Putih Jantan

	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	755.110	3	251.703	2.002	.150
Dalam Kelompok	2263.030	18	125.724		
Total	3018.140	21			