

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

**ATIKA WAHYU PUSPITASARI
0305057013**



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

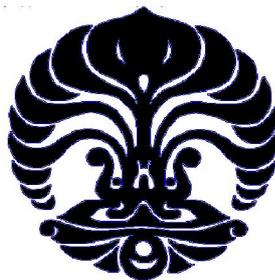
**PENGARUH PEMBERIAN JAMU “D” TERHADAP FUNGSI HATI
DITINJAU DARI AKTIVITAS ALANIN AMINOTRANSFERASE
DAN ALKALI FOSFATASE PLASMA SERTA
HISTOLOGIS HATI PADA TIKUS PUTIH**

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

Oleh :

ATIKA WAHYU PUSPITASARI

0305057013



DEPOK

2009

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

NAMA : ATIKA WAHYU PUSPITASARI

NPM : 0305057013

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009



Dra. Azizahwati, MS, Apt.

Pembimbing I



Dr. Dadang Kusmana

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.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT. yang selalu melimpahkan rahmat, hikmah, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Azizahwati, M.S, Apt. sebagai pembimbing I dan Bapak Dr. Dadang Kusmana sebagai pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan nasihat kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Yahdiana Harahap selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Ibu Dr. Retno Andrajati, M.S sebagai Ketua Laboratorium Farmakologi atas izin pemakaian laboratorium yang telah diberikan.
4. Ibu Dra. Juheini, M.Si sebagai pembimbing akademik yang telah memberikan bantuan dan nasihat kepada penulis selama menuntut ilmu di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Seluruh dosen dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan ilmu yang berharga dan bantuan yang sangat berarti bagi penulis.
6. Kedua orang tua tercinta (Kastomo, S.Pd dan Endah Wahyudiyati, S.Pd) dan kakak (mas aris) serta adikku (rinda, nia) tersayang yang telah mencurahkan seluruh tenaga, perhatian, kasih sayang, dan doa

kepada penulis sehingga penulis dapat mampu menyelesaikan skripsi ini.

7. Muhammad Iqbal atas seluruh doa, pengertian, semangat, bantuan, dan waktu yang selalu diberikan kepada penulis,
8. Sahabat-sahabatku (ndit, ita, erna, wahyu, galih) atas dukungan, persahabatan, bantuan, dan doa kepada penulis selama perkuliahan dan penulisan skripsi ini,
9. Teman-teman farmasi 2005 dan rekan satu tim di laboratorium penelitian farmakologi (Tami, Okta Lisna, Desti, Lina, Emi, Femmi, Retno, Anis, Kak Uwie, dan Kak Nana) atas bantuan dan dukungan yang diberikan,
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna dan masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat menambah pengetahuan dan informasi sehingga skripsi ini dapat lebih sempurna. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada masyarakat dalam bidang ilmu pengetahuan.

Penulis

2009

ABSTRAK

Jamu "D" merupakan salah satu obat tradisional yang mengandung ekstrak herba pegagan dan ekstrak herba seledri. Jamu ini digunakan untuk mengobati penyakit hipertensi. Untuk mendapatkan efek hipotensi, jamu "D" biasanya dikonsumsi secara berulang dalam jangka waktu yang relatif lama sehingga dapat berpengaruh terhadap organ tubuh. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji keamanan dengan melihat pengaruh pemberian jamu "D" secara oral terhadap fungsi hati tikus ditinjau dari aktivitas alanin amino transferase (ALT) dan alkali fosfatase (ALP) plasma serta histologis hati selama 90 hari. Uji ini menggunakan 24 ekor tikus putih jantan dan 24 ekor tikus putih betina galur Sprague-Dawley yang dibagi dalam empat kelompok perlakuan secara acak. Kelompok I, II, dan III adalah kelompok uji yang diberi suspensi jamu "D" dengan dosis 1980, 3960, dan 7920 mg/ kg bb per hari, sedangkan kelompok IV adalah kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%. Pada hari ke-91, aktivitas ALT dan ALP plasma tikus putih diukur dengan metode kolorimetri serta dilakukan pemeriksaan histologis hati. Berdasarkan hasil pengukuran yang dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA satu arah ($\alpha = 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan secara bermakna antara aktivitas ALT dan ALP plasma serta histologis hati pada kelompok uji dengan kelompok kontrol. Dengan demikian, pemberian suspensi jamu "D" secara oral selama 90 hari tidak mempengaruhi fungsi dan organ hati tikus putih.

Kata kunci : ALP, ALT, hati, histologi, jamu, "D", tikus

xii + 98 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi: 36 (1957 - 2008)



ABSTRACT

Jamu "D" is one of the traditional medicine which contains of Asiatic Pennywort Herb Extract and Celery Herb Extract. In community, this jamu has been used to treat hypertension disease. To give its hypotensive effect, it should be consumed frequently during a long period so that it can influence our vital organ. Therefore, it is necessary to take safety test by monitoring the effect of orally given jamu "D" in rat liver function evaluated from activity of alanin amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) in plasma, and histological of liver for 90 days. This test used 24 males and 24 females albino rats strained Sprague –Dawley which were divided in random manner into four groups. Group I, II, III are treated groups that were given jamu "D" suspension with 1980, 3960, and 7920 mg/ kg bw, whereas group IV is control group which were given CMC 0,5% solution. Activity of ALT and ALP in the plasma were measured by colorimetry method and histological examination was done as a parameter of liver toxicity in the 91st day. The result were analyzed by ANOVA one-way test and showed that there was no significant ($\alpha = 0,05$) differences of the activity of ALT and ALP between dose groups and control group. Histological examination also did not show any damage. Therefore, it is concluded that the usage of jamu "D" for antihypertension treatment for 90 days does not has significant effect on the liver function.

Key words : ALP, ALT, liver, histology, jamu "D", rat

xii + 98 pages.; pic.; tab.; encl.

Bibliography: 36 (1957 - 2008)

DAFTAR ISI

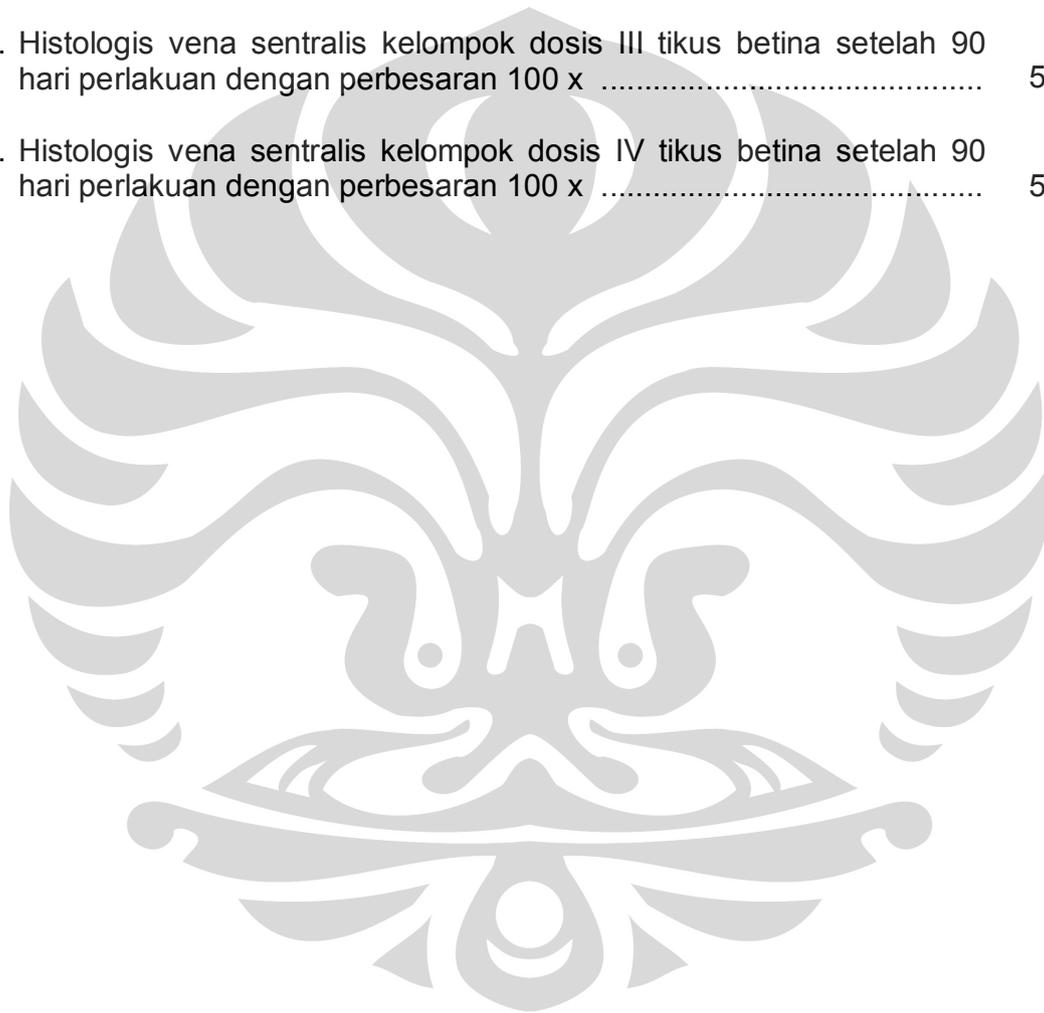
	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. LATAR BELAKANG	1
B. TUJUAN PENELITIAN	3
C. HIPOTESIS	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. HEWAN COBA	4
B. JAMU "D"	7
C. HATI	12
D. ALANIN AMINOTRANSFERASE	16
E. ALKALI FOSFATASE	17

BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	19
A. LOKASI DAN WAKTU	19
B. ALAT-ALAT	19
C. BAHAN-BAHAN	20
D. CARA KERJA	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. HASIL	32
B. PEMBAHASAN	35
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
A. KESIMPULAN	44
B. SARAN	44
DAFTAR ACUAN	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun senyawa kimia pada herba pegagan	8
2. Rumus bangun senyawa kimia pada herba seledri	11
3. Ekstrak kering jamu "D"	49
4. Reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat dengan ALT sebagai katalisator	49
5. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran ALT secara kolorimetri	50
6. Reaksi pembentukan p-nitrofenol dari p-nitroenolfosfat pada pengukuran aktivitas enzim alkali fosfatase	50
7. Kurva kalibrasi aktivitas ALT plasma dengan persamaan $y = 6,3518 \cdot 10^{-3} + 1,8639 \cdot 10^{-3} \times 46$	51
8. Diagram batang aktivitas rata-rata ALT plasma tikus putih jantan dan betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari	51
9. Diagram batang aktivitas rata-rata ALP plasma tikus putih jantan dan betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari	52
10. Diagram batang nilai rata-rata diameter vena sentralis tikus putih jantan dan betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari	52
11. Histologis vena sentralis kelompok dosis I tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x	53
12. Histologis vena sentralis kelompok dosis II tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x	53
13. Histologis vena sentralis kelompok dosis III tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x.....	54

14. Histologis vena sentralis kelompok dosis IV tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x	54
15. Histologis vena sentralis kelompok dosis I tikus betina setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x	55
16. Histologis vena sentralis kelompok dosis II tikus betina setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x	55
17. Histologis vena sentralis kelompok dosis III tikus betina setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x	56
18. Histologis vena sentralis kelompok dosis IV tikus betina setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x	56



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan dan jumlah tikus jantan dan betina yang diperlukan ..	58
2. Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat pada pembuatan kurva kalibrasi aktivitas enzim ALT plasma beserta nilai aktivitas dan serapannya	59
3. Tahapan metode spektrokolorimetri pada pengukuran sampel ALT plasma	60
4. Tahapan metode spektrokolorimetri pada pengukuran sampel ALP plasma	61
5. Aktivitas ALT plasma tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan	62
6. Aktivitas ALT plasma tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan	63
7. Aktivitas ALP plasma tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan	64
8. Aktivitas ALP plasma tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan	65
9. Diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan	66
10. Diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Cara Perhitungan Dosis	69
2. Cara Pembuatan Suspensi Bahan Uji	70
3. Cara Perhitungan Regresi Linier untuk Mendapatkan Persamaan Garis $y = a + bx$	72
4. Perhitungan Aktivitas ALT Plasma	73
5. Perhitungan Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma	74
6. Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	75
7. Uji Homogenitas Lavene terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	76
8. Uji Analisis Variansi satu arah terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	77
9. Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	79
10. Uji Homogenitas Lavene terhadap Aktivitas ALT Plasma pada tikus Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	80
11. Uji Analisis Variansi satu arah terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	81
12. Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	83
13. Uji Homogenitas Lavene terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	84

14. Uji Analisis Variansi satu arah terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	85
15. Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	87
16. Uji Homogenitas Lavene terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada tikus Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	88
17. Uji Analisis Variansi satu arah terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	89
18. Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	91
19. Uji Homogenitas Lavene terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	92
20. Uji Analisis Variansi satu arah terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis Plasma pada Tikus Putih Jantan pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	93
21. Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis pada Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	95
22. Uji Homogenitas Lavene terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis pada tikus Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	96
23. Uji Analisis Variansi satu arah terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis Plasma pada Tikus Putih Betina pada Hari Ke-91 Setelah Perlakuan	97

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Jamu sebagai salah satu obat tradisional sudah dikenal baik oleh masyarakat di Indonesia. Jamu merupakan bahan atau ramuan yang berasal dari tumbuhan-tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan dalam pengobatan. Jamu dapat dibuat dalam bentuk serbuk, cairan, pil maupun kapsul (1).

Pada dasarnya pemakaian jamu dalam kehidupan sehari-hari mempunyai beberapa tujuan, diantaranya digunakan untuk mengobati penyakit (kuratif), untuk mencegah penyakit (preventif), dan untuk memelihara kesehatan dan menjaga kebugaran jasmani (promotif) (1). Salah satu jamu yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit, yaitu jamu "D".

Jamu "D" merupakan jamu yang digunakan untuk mengobati penyakit tekanan darah tinggi. Penyakit tekanan darah tinggi atau yang lebih dikenal dengan istilah hipertensi merupakan suatu keadaan di mana tekanan darah sistolik lebih dari atau sama dengan 140 mmHg dan tekanan darah diastolik lebih dari atau sama dengan 90 mmHg (2).

Untuk mendapatkan efek penurunan tekanan darah sampai mendekati batas normal, jamu “D” biasanya digunakan berulang-ulang dalam jangka waktu yang lama sehingga kemungkinan dapat berpengaruh terhadap organ vital. Keamanan dari masing-masing tanaman yang terkandung dalam jamu “D” telah dilaporkan tidak menunjukkan adanya efek toksik. Studi toksisitas akut terhadap ekstrak herba pegagan menunjukkan tidak adanya efek toksik pada pemberian per oral dosis 3, 5, dan 7 g/kg bb mencit putih Swiss (3). Begitu juga dengan ekstrak herba seledri yang tidak menunjukkan adanya efek toksik pada pemberian per oral dosis 5 g/kg bb tikus (4). Akan tetapi, uji keamanan dalam bentuk kombinasi kedua tanaman tersebut belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, sesuai dengan Keputusan Menteri Kesehatan nomor 661/Menkes/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional, diperlukan pengujian ilmiah mengenai khasiat, keamanan, dan standar kualitas jamu agar dapat digunakan dalam sistem pelayanan kesehatan (1).

Pengujian keamanan jamu diantaranya dapat dilakukan melalui pengamatan pengaruh pemberian jamu “D” terhadap fungsi organ vital. Salah satu organ yang mungkin dipengaruhi adalah hati karena hati memiliki peranan besar dan kompleks yang mencakup fungsi metabolik tubuh (5).

Penilaian terhadap fungsi hati dapat dilakukan melalui tes kimia rutin di antaranya dengan menguji aktivitas alanin amino transferase dan

alkali fosfatase plasma. Selain itu, gambaran histologis hati setelah pemberian jamu “D” juga diamati untuk mengetahui derajat kerusakan sel hati secara kuantitatif dan kualitatif. Percobaan dilakukan dengan variasi dosis yang bertujuan untuk mengetahui hubungan antara besarnya variasi dosis dan pengaruhnya terhadap fungsi hati.

B. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jamu “D” dengan dosis 1980 mg/ kg bb per hari, 3960 mg/ kg bb per hari, dan 7920 mg/ kg bb per hari terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin amino transferase (ALT) dan alkali fosfatase (ALP) plasma, serta histologis hati pada tikus putih.

C. HIPOTESIS

Pemberian jamu “D” secara oral dengan dosis 1980 mg/ kg bb per hari, 3960 mg/ kg bb per hari, dan 7920 mg/ kg bb per hari pada tikus putih tidak mempengaruhi fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin amino transferase (ALT) dan alkali fosfatase (ALP) plasma, serta histologis hati.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. HEWAN COBA

1. Jenis Hewan Coba

Pada uji toksisitas, hewan coba yang digunakan biasanya sekurang-kurangnya terdiri dari dua spesies, dua jenis kelamin, sehat, dan dewasa. Jenis hewan coba yang digunakan meliputi jenis hewan pengerat, seperti tikus dengan umur 5 sampai 6 minggu, dan hewan bukan pengerat, seperti anjing dengan umur 4 sampai 6 bulan (6).

Umumnya pada uji toksisitas digunakan tikus karena lebih mudah perawatannya, lebih mudah diperoleh, harganya lebih murah, dan tersedia data toksikologi yang lebih banyak untuk sebagian besar senyawa. Sebagai hewan coba, terdapat dua strain tikus yang biasa digunakan, yaitu (7) :

a. *Wistar Rat*

Tikus dari strain ini memiliki kepala yang lebih besar, khususnya tikus jantan, telinga lebih panjang, dan panjang ekornya umumnya lebih panjang dari tubuhnya. Selain itu, tikus ini juga resisten terhadap infeksi.

b. *Sprague-Dawley Rat*

Tikus dari strain ini memiliki kepala yang lebih panjang dan lebih kecil, panjang ekornya sama dengan panjang tubuhnya, lebih mudah berkembang biak, lebih jinak dan lebih mudah ditangani.

2. Metode Penentuan Jumlah Hewan Coba

Penentuan jumlah hewan coba yang akan digunakan selama penelitian dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu :

- a. Berdasarkan petunjuk pengaturan untuk uji toksisitas jangka panjang menurut WHO, hewan coba yang digunakan sekurang-kurangnya terdiri dari 10 ekor tikus jantan dan 10 ekor tikus betina (8).
- b. Berdasarkan rumus empiris Federer, jumlah ulangan hewan coba pada tiap kelompok perlakuan dihitung berdasarkan rumus empiris Federer, yaitu :

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

t = jumlah beda kelompok perlakuan terhadap hewan uji

n = jumlah ulangan tikus

Contoh :

Beda kelompok perlakuan, t = 4

Maka: $(4-1) (n-1) \geq 15$

$$n \geq 6$$

3. Metode Pengelompokkan Hewan Coba

Pemilihan teknik pengelompokkan hewan coba merupakan upaya untuk mendapat sampel (hewan coba) yang representatif (mewakili). Umumnya pengelompokkan hewan coba dalam penelitian dilakukan secara acak agar data hasil penelitian tidak bias. Dengan cara acak, bias

pengambilan hewan coba tiap kelompok dapat diperkecil dan pemilihan hewan coba berdasarkan pertimbangan peneliti dapat dihindarkan. Metode pengelompokan hewan coba diantaranya, meliputi (9) :

a. Sampel Random Sederhana (*Simple Random Sampling*).

Proses pengambilan sampel dengan cara ini dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu :

- 1) Pengundian, jika jumlah populasi sedikit
- 2) Tabel random, jika jumlah populasi besar

b. Sampel Random Berstrata (*Stratified Random Sampling*)

Proses pengambilan sampel dengan cara ini dapat dilakukan jika populasi dibagi strata-strata (sub populasi) kemudian pengambilan sampel dilakukan dalam setiap strata dengan cara *simple random sampling*.

c. Sampel Random Berkelompok (*Cluster Sampling*)

Pengambilan sampel dilakukan terhadap sampling unit, di mana sampling unitnya terdiri dari satu kelompok (*cluster*). Tiap sampel di dalam kelompok yang terpilih akan diambil sebagai sampel. Cara ini dipakai jika populasi dapat dibagi dalam kelompok - kelompok dan setiap karakteristik yang dipelajari ada dalam setiap kelompok.

d. Sampel Bertingkat (*Multi Stage Sampling*)

Proses pengambilan sampel dilakukan secara bertingkat, baik bertingkat dua maupun lebih. Cara ini dipergunakan jika populasinya cukup homogen, jumlah populasi sangat besar, populasi menempati daerah yang sangat luas, dan biaya penelitian kecil.

B. JAMU “D”

Jamu “D” merupakan obat tradisional yang digunakan untuk menurunkan tekanan darah tinggi. Jamu “D” sebagai bahan uji mengandung dua macam simplisia, yaitu: herba pegagan dan herba seledri. Deskripsi dari masing-masing tanaman tersebut, yaitu:

1. Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

a. Klasifikasi

Tanaman pegagan memiliki klasifikasi sebagai berikut (10) :

Dunia : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Umbelliales

Suku : Umbelliferae

Marga : *Centella*

Jenis : *Centella asiatica* (L.) Urban

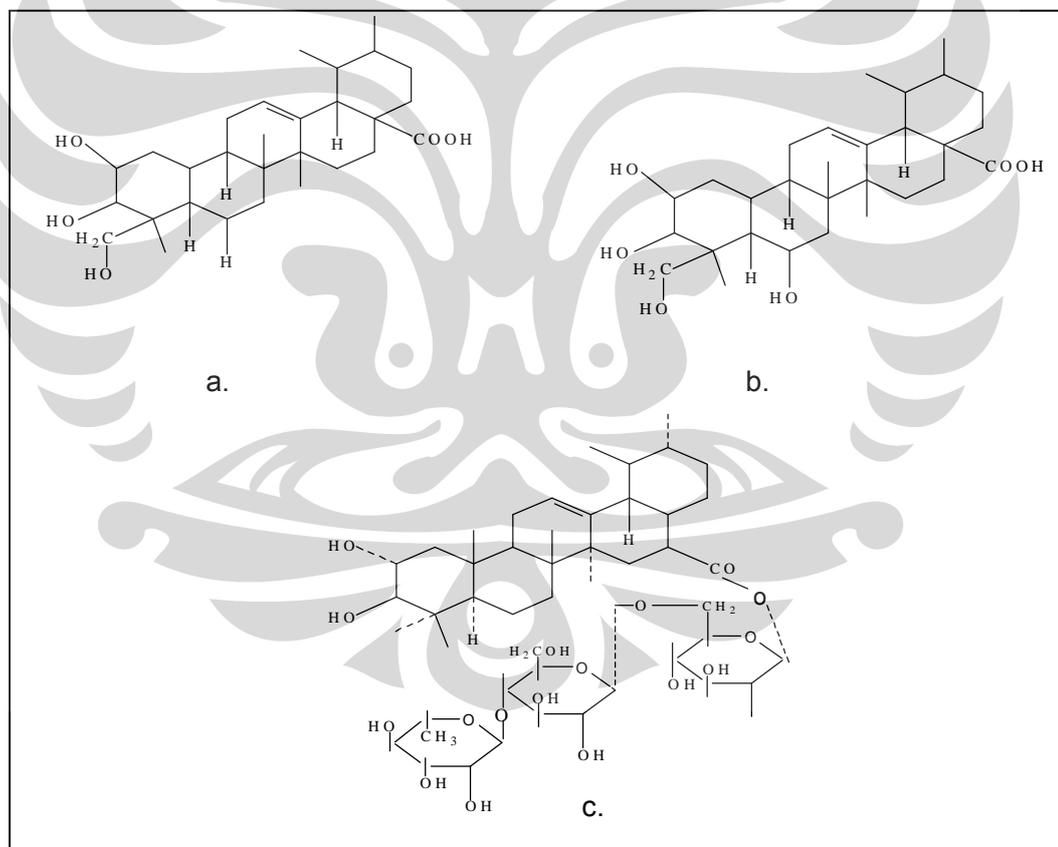
b. Morfologi

Tanaman pegagan merupakan tanaman terna menahun tanpa batang. Pegagan mempunyai rimpang pendek dan stolon-stolon yang merayap dengan panjang 10 - 80 cm. Akarnya banyak keluar dari bonggol, banyak bercabang yang membentuk tumbuhan baru. Helaian daun dari pegagan yaitu tunggal dan bertangkai panjang sekitar 5 - 15 cm berbentuk ginjal. Bunga pegagan berwarna putih atau merah muda yang tersusun dalam

karangan berupa payung. Pegagan menghasilkan buah kecil bergantung yang bentuknya lonjong dengan panjang 2 - 2,5 cm dan berbau wangi, rasa pahit, dan berwarna kuning kecoklatan (11,12).

c. Kandungan Kimia

Pegagan memiliki kandungan triterpenoid dengan komponen utama, meliputi *asiaticoside*, *asiatic acid*, dan *madecassic acid* (12). Selain itu, pegagan juga mengandung garam-garam mineral seperti garam kalium, natrium, magnesium, kalsium, besi, flavonoid, meliputi *quercetin*, kaemferol, katekin, dan minyak atsiri, seperti *caryophyllene*, farnesol (13,14).



Gambar 1. Rumus bangun senyawa kimia pada herba pegagan (13)
Keterangan : a = *asiatic acid*; b = *madecassic acid*; c = *asiaticoside*

d. Manfaat

Dengan berbagai kandungan kimia yang dimilikinya, pegagan dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Khasiat tanaman ini diantaranya sebagai diuretik, antiinflamasi, dan peptik ulcer (14). Selain itu, pegagan juga dimanfaatkan untuk menyembuhkan luka dan meningkatkan mikrosirkulasi jaringan (12,14).

e. Data Keamanan

Uji toksisitas akut ekstrak herba pegagan dalam larutan air dilakukan pada mencit putih Swiss. Uji keamanan ini digunakan 3 kelompok perlakuan dengan pemberian dosis 3, 5, dan 7 g/kg bb mencit putih Swiss secara oral di mana masing-masing kelompok terdiri dari satu ekor tikus jantan dan satu ekor tikus betina. Hewan coba diperoleh dari Raj Biotech (India) dengan berat badan 35 sampai 55 gram, sedangkan herba pegagan diperoleh dari kawasan Pune dan Ahmednagar. Herba pegagan yang diperoleh dikering dalam tempat yang teduh dan dipotong-potong kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 85 mesh. Pada studi uji toksisitas akut herba pegagan yang diamati adalah perubahan tingkah laku selama 14 hari setelah pemberian larutan uji, perubahan berat badan, dan tingkat kematian. Hasil studi menunjukkan bahwa pemberian ekstrak herba pegagan dalam air dengan dosis 3, 5, dan 7 kg/ bb mencit putih Swiss tidak menunjukkan adanya perubahan berat badan yang signifikan pada hari ke-0 dan ke-14, tidak ada kematian, dan tidak adanya efek toksik yang ditimbulkan (3).

2. Seledri (*Apium graveolens* L.)

a. Klasifikasi

Tanaman seledri memiliki klasifikasi sebagai berikut (10) :

Dunia : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdividi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Umbelliales

Suku : Umbelliferae

Marga : *Apium*

Jenis : *Apium graveolens* L.

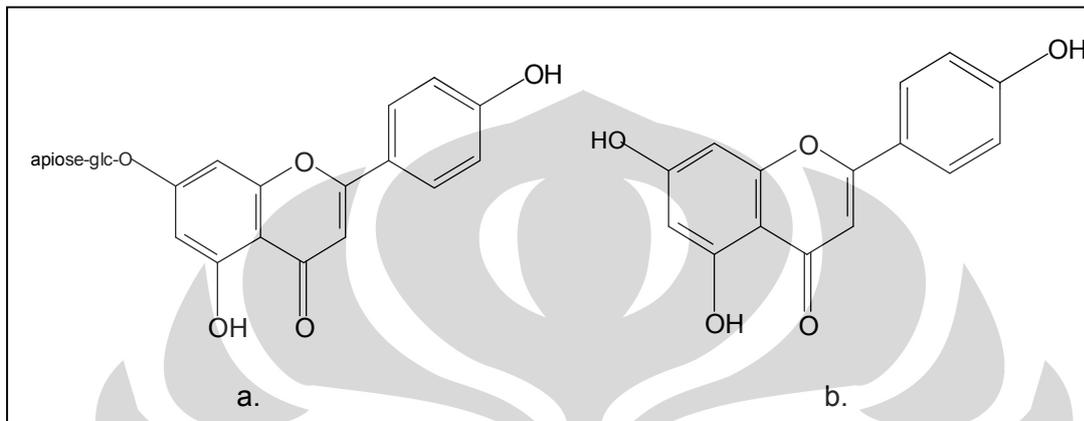
b. Morfologi

Seledri merupakan tanaman 1-2 tahunan. Daun seledri berupa daun majemuk dengan anak daun antara 3-7 helai. Tepi daun seledri pada umumnya beringgit. Tulang-tulang daunnya menyirip dengan panjang 2-7,5 cm dan lebar 2-5 cm. Tangkai daun seledri berwarna hijau tua atau hijau keputih-putihan (15,16).

c. Kandungan Kimia

Tanaman seledri memiliki kandungan gizi yang tinggi, meliputi kalium, kalsium, besi, fosfor, natrium, vitamin A, vitamin C, vitamin B₁, vitamin B₂, dan vitamin K. Selain itu, seledri juga mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder, seperti minyak atsiri, kumarin, dan flavonoid. Komponen minyak

atsiri yang terdapat dalam tanaman ini meliputi *limonena*, *santalol*, *caryophyllene*, dan *pinene*. Komponen flavonoid terdiri dari apiin dan apigenin (17,18).



Gambar 2. Rumus bangun senyawa kimia pada herba seledri (18)
Keterangan : a = apiin; b = apigenin

d. Manfaat

Dalam kehidupan sehari-hari, seledri banyak dimanfaatkan sebagai pelengkap sayuran dan penyedap berbagai masakan. Selain itu, seledri juga berguna untuk kesehatan sebagai obat tradisional. Bagian dari seledri yang sering digunakan untuk pengobatan adalah biji dan herbanya. Khasiat dari tanaman ini diantaranya sebagai diuretik, antiinflamasi, antihiperlipidemia, dan mencegah terjadinya kanker (16,17).

e. Data Keamanan

Studi toksisitas akut terhadap ekstrak herba seledri menunjukkan tidak adanya efek toksik pada pemberian per oral dosis 5 g/kg bb tikus (4).

C. Hati

1. Anatomi Hati

Hati adalah organ metabolik terbesar di tubuh. Hati mempunyai berat sebesar 2% berat badan pada orang dewasa, yaitu sekitar 1500 gram. Hati terdapat langsung di bawah diafragma, mengisi bagian kubah kanan ruang abdomen dan sebagian di kubah kiri (5). Dalam keadaan segar hati berwarna merah tua sampai merah coklat. Warna tersebut disebabkan oleh adanya darah yang sangat banyak (19).

Organ hati memiliki dua lobus utama, yaitu kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi menjadi segmen anterior dan posterior oleh sekat segmentalis. Sedangkan lobus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamentum falsiformis (5).

Setiap lobus hati tersebut terbagi menjadi struktur-struktur yang disebut sebagai lobulus, yang merupakan unit mikroskopis dan fungsional hati. Setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hati berbentuk kubus, tersusun radial mengelilingi vena sentralis yang mengalirkan darah dari lobulus. Hati manusia memiliki maksimal 100.000 lobulus (19,20).

Pada bagian luar lobulus terdapat tiga pembuluh, yaitu cabang arteri hepatis, cabang vena porta, dan duktus biliaris. Darah dari cabang arteri hepatis dan vena porta tersebut mengalir dari perifer lobulus ke dalam ruang kapiler yang melebar yang disebut sinusoid. Sinusoid terdapat di antara

barisan sel-sel hati ke vena sentral. Sel-sel Kupffer melapisi bagian dalam sinusoid. Sel-sel Kupffer ini merupakan sistem monosit-makrofag, yaitu menghancurkan bakteri dan benda asing dalam darah serta menghancurkan sel darah merah yang telah usang. Hepatosit tersusun di antara sinusoid-sinusoid dalam lempeng yang tebalnya dua lapis sel, sehingga setiap tepi lateral berhadapan dengan darah sinusoid. Vena sentral dari semua lobulus hati menyatu untuk membentuk vena hepatica, yang menyalurkan darah dari hati (5,20).

2. Fungsi Hati

Hati sangat penting untuk mempertahankan hidup dan berperan dalam hampir setiap fungsi metabolik tubuh. Fungsi hati dalam tubuh, meliputi :

a. Pembentukan dan sekresi empedu

Hati menyekresi sekitar 500 hingga 1000 ml empedu setiap hari. Unsur utama empedu adalah air (97%), elektrolit, garam empedu, fosfolipid (terutama lesitin), kolesterol, garam anorganik, dan pigmen empedu (terutama bilirubin terkonjugasi). Empedu penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak serta vitamin larut lemak di dalam usus (20,21).

b. Metabolisme karbohidrat

Fungsi hati dalam metabolisme karbohidrat di antaranya meliputi proses glikogenesis, glikogenolisis, dan glukoneogenesis serta pembentukan senyawa-senyawa kimia yang penting dari hasil metabolisme karbohidrat. Proses-proses tersebut berperan penting dalam mempertahankan kadar

glukosa darah normal dan menyediakan energi untuk tubuh. Karbohidrat disimpan di hati sebagai glikogen (21,22).

c. Metabolisme protein

Fungsi hati berkaitan dengan metabolisme protein mencakup proses deaminasi asam amino, pembentukan urea untuk pembuangan amonia dari cairan tubuh, pembentukan protein plasma, kecuali gamma globulin, dan interkonversi berbagai asam amino dan senyawa lain yang penting dalam metabolisme tubuh (21,22).

d. Metabolisme lemak

Metabolisme lemak di hati meliputi proses ketogenesis dan sintesis kolesterol, dan penimbunan lemak. Selain itu, juga mencakup proses hidrolisis trigleserida, kolesterol, fosfolipid, dan lipoprotein menjadi asam lemak dan gliserol (22).

e. Penimbunan vitamin dan mineral

Hati berperan dalam penyimpanan vitamin, seperti vitamin larut lemak (vitamin A, D, E, K). Selain itu, tembaga dan besi juga disimpan di dalam hati (21,22).

f. Detoksifikasi

Fungsi detoksifikasi yang dilakukan oleh enzim-enzim di hati sangat penting dalam mengubah zat-zat yang tidak berbahaya, misalnya obat, menjadi zat-zat yang tidak berbahaya yang kemudian diekskresi oleh ginjal (5).

3. Gangguan Hati

Beberapa gangguan yang dapat terjadi pada hati, antara lain:

a. Perlemakan Hati (*steatosis*)

Perlemakan hati adalah penumpukan lemak lebih dari 5% pada organ hati. Perlemakan hati dapat disebabkan oleh adanya 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 di hati (22).

b. Hepatitis

Hepatitis merupakan peradangan hati yang dapat disebabkan oleh berbagai sebab, termasuk infeksi virus atau pajanan bahan-bahan toksik. Pada hepatitis virus, virus bereplikasi di inti hepatosit, menimbulkan cedera, peradangan, dan bahkan kematian sel-sel yang terinfeksi. Sedangkan hepatitis oleh bahan toksik terjadi akibat cedera dan destruksi sel-sel hati karena pajanan berlebihan bahan-bahan kimia toksik atau obat, seperti alkohol, karbon tetraklorida, dan obat penenang tertentu (20).

c. Sirosis Hati

Peradangan hati yang berkepanjangan atau berulang yang biasanya berkaitan dengan alkoholisme kronik dapat menyebabkan sirosis hati. Sirosis merupakan penyakit hati kronis yang dicirikan dengan kerusakan arsitektur

hati yang normal oleh lembar-lembar jaringan ikat dan nodul-nodul regenerasi sel hati. Nodul-nodul regenerasi 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 (5,20).

d. Kanker Hati

Kanker hati atau *Karsinoma Hepato Seluler* merupakan tumor ganas dimana sel-selnya memiliki kemampuan menyebar ke organ tubuh lain. Kanker hati dapat terjadi akibat perkembangan penyakit yang lebih serius, seperti hepatitis kronik dan sirosis hati. Selain itu, kanker hati dapat juga terjadi karena tubuh terpajan karsinogen atau berbagai bahan perusak hati, seperti polivinil klorida (PVC) (5).

D. ALANIN AMINOTRANSFERASE

Alanin Aminotransferase (ALT) atau disebut juga Glutamat Piruvat Transaminase (GPT) adalah enzim yang berperan dalam mengkatalisis reaksi pemindahan gugus amino dari alanin ke asam α -ketoglutarat. Hasil reaksi tersebut terbentuklah asam keto lain, yaitu asam piruvat dan asam amino yang lain, yaitu asam glutamat (Gambar 1). Reaksi ini memerlukan vitamin B₆ fosfat (piridoksal-5' fosfat) sebagai koenzim (23,24).

Enzim ini paling banyak ditemukan di hati. Selain itu, ALT juga terdapat di berbagai jaringan lain, seperti jantung, otot rangka, ginjal,

pankreas, limpa, paru-paru, sel darah merah, dan serum. ALT juga terdapat dalam beberapa cairan tubuh selain darah, seperti cairan serbospinal, getah empedu, dan liur. Akan tetapi, enzim ini tidak terdapat dalam urin, kecuali jika terjadi suatu kerusakan pada ginjal (23,24).

Dalam keadaan normal, terdapat keseimbangan antara pembentukan enzim dengan penghancurannya. Apabila enzim yang seharusnya bekerja intraseluler berada dalam darah dengan konsentrasi tinggi maka dapat dijadikan indikator adanya kerusakan pada jaringan tempat enzim tersebut berasal (23).

E. ALKALI FOSFATASE

Alkali fosfatase (ALP) merupakan metaloenzim yang mengandung Zn sebagai bagian integral molekul. Enzim ini berperan dalam menghidrolisis ester fosfat pada suasana alkali. Enzim ini mempunyai pH optimum antara 9 – 10 (23,25).

Enzim ini terdapat hampir di seluruh jaringan tubuh, khususnya membran sel. Selain itu, kadar ALP tertinggi di dalam tubuh juga dapat ditemukan pada sel-sel yang mengalami pembelahan yang cepat, seperti pada jaringan epitel saluran empedu dan hati, jaringan tulang, sel-sel epitel usus, jaringan sel tubulus proksimal ginjal, dan plasenta. Berat molekul ALP hati ialah 100.000 (23,26).

Informasi tentang aktivitas ALP plasma sangat diperlukan dalam memastikan ada tidaknya suatu proses kerusakan dalam sistem hepatobiliaris dan dalam tulang. Jika terjadi pembendungan empedu atau kerusakan hati dan empedu maka hati akan meningkatkan sintesis ALP sehingga jumlah ALP dalam darah meningkat. Peningkatan terjadi karena ALP tidak mengalir ke dalam empedu tetapi dialirkan ke darah (25,26).

Peningkatan ALP pada kondisi normal juga dapat terjadi, khususnya pada wanita hamil dan anak-anak yang dalam masa pertumbuhan. Selain peningkatan kadar ALP, juga dimungkinkan terjadi penurunan aktivitas ALP yang terjadi pada keadaan hipotiroid, kreatinisme, dan kwashiorkor (22,27).

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia Depok. Penelitian berlangsung selama lebih kurang 4 bulan, yaitu Februari 2009 sampai Mei 2009.

B. ALAT-ALAT

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi sonde lambung, timbangan hewan (Mettler Toledo), timbangan analitik (Ohaus), mikroskop cahaya (Nikon SE), mikrohematokrit (Superior Marienfield), mikrotube, spektrofotometer (Genesys), sentrifugator (Gemmy Industrial Corp), pipet Eppendorf (Scorex), lemari pendingin, pH meter (Eutech), paraffin stretcher (Sakura), paraffin oven (Sakura), mikrotom (American Optical), mikroprojektor (Ken-A-Vision), seperangkat alat bedah, dan alat-alat gelas.

C. BAHAN-BAHAN

1. Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan dan betina galur *Sprague Dawley* (SD), berumur sekitar 2 bulan dengan berat badan lebih kurang 200 gram yang diperoleh dari bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan IPB. Jumlah tikus yang digunakan berjumlah 48 ekor yang terdiri dari 24 ekor tikus jantan dan 24 ekor tikus betina.

2. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak kering dari sediaan kapsul jamu "D" yang diperoleh dari PT Jamu Borobudur, Semarang dan kemudian disuspensikan ke dalam larutan CMC 0,5%.

3. Bahan Kimia

Bahan – bahan kimia yang digunakan dalam penelitian, meliputi heparin (PT Pratapa Nirmala), dietil eter (Merck), asam klorida (Merck), kalium dihidrogen fosfat (Merck), dinatrium hidrogen fosfat (Merck), natrium piruvat (Merck), asam á-ketoglutarat (Sigma), natrium hidroksida (Merck), dl-Alanain (Merck), 2,4-dinitrofenilhidrazin (Sigma), reagen kit alkalifosfatase (Randox), karboksimetilselulosa (Dai icip Kogyo Seikaku Jepang), alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% teknis, asam pikrat (Merck), larutan eosin,

larutan hematoksin, xilol (Merck), albumin Mayer's (Merck), paraffin, formalin 10% (Merck), benzil benzoat, benzol, entellan (Merck), asam asetat glasial, larutan Bouin, dan aquadest.

D. CARA KERJA

1. Persiapan Hewan Coba

Penelitian menggunakan tikus putih jantan dan betina galur SD yang berusia sekitar dua bulan dengan berat badan lebih kurang 200 gram. Hewan uji diaklimatisasi selama 14 hari dalam kandang laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI Depok agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Pada tahap ini hewan coba diamati keadaan umumnya dan ditimbang setiap satu minggu sekali. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian adalah tikus yang sehat dengan ciri-ciri, yaitu gerakannya lincah, rambut putih bersih dan tidak berdiri, berat badan terus meningkat atau konstan selama aklimatisasi (28). Hewan coba yang telah memenuhi kriteria sehat ditimbang bobotnya kemudian dilakukan pengelompokan hewan coba secara acak ke dalam empat kelompok dengan menggunakan metode pengundian. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus jantan dan 6 ekor tikus betina. Jumlah ulangan tikus tiap kelompok ini berdasarkan rumus empiris Federer.

2. Penetapan dosis

Sediaan jamu "D" berupa kapsul dengan berat 550 mg. Jamu "D" digunakan dengan aturan pakai dua kali sehari dua kapsul. Jadi, dosis terapi sehari jamu "D" adalah 2200 mg. Dosis ini kemudian dikonversikan dengan menggunakan faktor konversi manusia ke tikus 200 gram sebesar 0,018 dan 10 sebagai faktor farmakokinetiknya.

Kelompok dosis II dan III dibuat kelipatan 2 dan 4 dari dosis I. Maka dosis yang diperoleh adalah sebagai berikut :

Dosis I : 1980 mg/ kg bb per hari

Dosis II : 3960 mg/ kg bb per hari

Dosis III: 7920 mg/ kg bb per hari

Masing-masing tikus dengan berat badan 200 gram diberikan suspensi bahan uji sebanyak 3 ml.

Perhitungan dosis selengkapnya dapat dilihat dalam Lampiran 1.

3. Pembuatan Suspensi Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah jamu "D" dalam bentuk kapsul yang diperoleh dari PT. Borobudur, Semarang. Suspensi bahan uji dibuat dengan menimbang bahan uji sesuai dengan dosis yang akan digunakan kemudian disuspensikan dalam larutan CMC 0,5%.

Perhitungan dosis selengkapnya dapat dilihat dalam Lampiran 2.

4. Pembuatan Larutan dan Perekasi

a. Larutan Dinatrium Hidrogen Fosfat 0,1 M

Sebanyak 5,962 gram dinatrium hidrogen fosfat dilarutkan dengan menggunakan aquadest dalam gelas piala yang telah ditara kemudian ditambahkan aquadest sampai batas volume 420 ml (29).

b. Larutan Kalium Dihidrogen Fosfat 0,1 M

Sebanyak 1,088 gram kalium dihidrogen fosfat dilarutkan dengan menggunakan aquadest dalam gelas piala yang telah ditara kemudian ditambahkan aquadest sampai batas volume 80 ml (29).

c. Larutan Dapar Fosfat 0,1 M pH 7,4

Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M sebanyak 420 ml ditambah dengan larutan kalium hidrogen fosfat 0,1 M sebanyak 80 ml, kemudian pHnya disesuaikan sampai 7,4 (30).

d. Reagen Kit Alkali Fosfatase

Pereaksi 1 : larutan dapar dietanolamin pH 9,8 dan magnesium klorida

Pereaksi 2 : substrat (p-nitrofenilfosfat)

Sebanyak 10 ml pereaksi 1 dicampur dengan 1 vial pereaksi 2. Larutan tersebut dapat digunakan untuk 2-3 hari apabila disimpan pada suhu 15-25°C dan 30 hari apabila disimpan pada suhu 2-8°C (31).

e. Larutan Standar Piruvat 2 mM/l

Sebanyak 22,0 mg natrium piruvat dimasukkan ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan dapar fosfat sampai 100,0 ml (30).

f. Larutan Substrat untuk Pemeriksaan ALT

Sebanyak 29,3 mg asam α -ketoglutarat dicampur dengan 1,78 gram di-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 labu ukur (30).

g. Pereaksi Warna

Sebanyak 19,8 mg 2,4-dinitrofenilhidrazin ditambahkan larutan asam klorida 1 N sampai 100,0 ml di labu ukur (30).

5. Pelaksanaan Percobaan

Hewan coba yang telah dikelompokkan diberikan suspensi bahan uji secara oral satu kali setiap hari selama 90 hari dengan menggunakan sonde lambung dalam jumlah tertentu sesuai dengan dosis yang akan diberikan. Selama perlakuan, tikus diberikan makanan dan minuman secara teratur.

Setelah perlakuan selama 90 hari, pada hari ke-91 dilakukan pengambilan darah melalui sinus orbitalis mata untuk mendapatkan sampel dan pengambilan organ hati. Plasma diperoleh dari sampel darah yang disentrifugasi kemudian diukur aktivitas ALT dan alkali fosfatase secara spektrofotometri. Sedangkan dari organ hati akan dibuat sediaan histologi hati.

6. Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui mata setelah 90 hari pemberian larutan uji. Sebelum pengambilan darah, tikus terlebih dahulu dianestesi dengan menggunakan dietil eter. Setelah itu, dengan menggunakan mikrohematokrit mata tikus ditusuk pada bagian sinus orbital mata, yaitu pada sudut dalam bola mata yang mengarah ke belakang bola mata. Digerakkan masuk sambil diputar-putar sehingga darah akan keluar. Kemudian darah ditampung dalam mikrotube yang sebelumnya telah diberi heparin (32). Selanjutnya sampel darah tersebut disentrifugasi selama 5 menit dengan putaran 7000 rpm. Setelah disentrifugasi, plasma darah diambil dan dimasukkan dalam vial serta disimpan dalam *frezeer*.

7. Pengambilan Organ Hati

Pengambilan organ hati dilakukan dengan cara pembedahan. Sebelum pembedahan tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan dietil eter, lalu diletakkan telentang di atas papan bedah. Keempat kakinya diikat, bagian dada dan perut dibasahi dengan alkohol 70%, dada dibuka menggunakan gunting bedah. Organ hati diambil, dimasukkan ke dalam gelas kimia berisi natrium klorida 0,9% untuk menghilangkan darah yang menempel pada jaringan, lalu dilakukan prosedur pembuatan histologi hati.

8. Pengukuran Aktivitas Alanin Aminotransferase

Prinsip dari pengukuran ALT adalah ALT mengkatalisis proses pemindahan gugus amino dari di-alanin ke asam α -ketoglutarat sehingga terbentuk asam piruvat dan asam glutamat (gambar 4). Asam piruvat yang terbentuk direaksikan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin membentuk senyawa fenilhidrazon yang berwarna coklat kuning dalam larutan alkali (Gambar 5). Warna yang terbentuk dapat diukur serapannya secara spektrofotometri pada panjang gelombang 505 nm (24,30).

1) Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat dicampur dalam tabung reaksi dengan berbagai perbandingan (Tabel 2). Kemudian ke dalam setiap tabung ditambahkan 1,0 ml pereaksi warna, lalu dikocok sampai homogen. Campuran tersebut didiamkan pada suhu kamar selama 20 menit lalu ditambahkan 10,0 ml natrium hidroksida 0,4 N. Setelah itu dikocok sampai homogen dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 505 nm (33).

2) Pengukuran Sampel ALT Plasma

Dua buah tabung reaksi disiapkan untuk larutan uji dan larutan blanko. Kemudian 1,0 ml larutan dapar substrat dimasukkan ke dalam setiap tabung lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu dimasukkan 0,2

ml plasma ke dalam tabung uji lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian dimasukkan 1,0 ml pereaksi warna ke dalam tabung uji dan blanko. Pada tabung blanko ditambahkan 0,2 ml plasma, lalu didiamkan pada suhu kamar selama 20 menit. Setelah itu, dimasukkan 10,0 ml natrium hidroksida 0,4 N ke dalam setiap tabung dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm (30). Pengukuran ALT plasma dapat dilihat pada Tabel 3.

9. Pengukuran Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma

Prinsip pengukuran aktivitas alkali fosfatase adalah alkali fosfatase mengkatalisis perubahan p-nitrofenilfosfat menjadi p-nitrofenol dan fosfat. P-nitrofenol yang terbentuk berwarna kuning dalam larutan alkali dan diukur pada panjang gelombang 405 nm selama 3 menit pada suhu 25°C (31) (Gambar 6). Perubahan absorbansi per satuan waktu sebanding dengan kecepatan disosiasi substrat yang juga sebanding aktivitas enzim.

Metode penentuan aktivitas alkali fosfatase adalah sebagai berikut :

Pada tabung uji dan tabung kontrol, masing-masing dimasukkan 20 il aquabidest sebagai blanko, sedangkan pada tabung uji dimasukkan 20 il sampel plasma. Setelah itu, pada tabung uji dan tabung kontrol dimasukkan 1000 il larutan pereaksi. Kemudian sampel diukur serapannya dengan menggunakan kontrol sebagai blankonya (Tabel 4). Pengukuran serapan sampel dilakukan pada panjang gelombang 405 nm selama 3 menit dengan

mencatat serapannya setiap menitnya (31). Penetapan aktivitas akali dihasilkan berdasarkan rumus :

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas Alkali Fosfatase (IU/L)} &= \text{AA/ min} \times \text{faktor konversi} \\ &= \text{AA/ min} \times 2760\end{aligned}$$

10. Pembuatan Sediaan Histologis Hati

Pembuatan sediaan histologis hati dapat dilakukan melalui prosedur di bawah ini, yaitu (34) :

a. Pengambilan Jaringan Segar

Hati yang telah diambil dibersihkan dengan larutan natrium klorida 0,9 %. Kemudian diambil tiga sediaan yang didapat dengan memotong bagian tengah lobulus hati.

b. Fiksasi

Jaringan hati difiksasi dengan larutan Bouin selama 48 jam. Setelah fiksasi selesai, sisa fiksasi dapat dihilangkan dengan perendaman dalam larutan etanol 70 %.

c. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan dengan cara merendam jaringan hati di dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat. Pertama, jaringan direndam dalam alkohol 70 % selama 24 jam, kemudian di dalam alkohol 96 % dua kali masing-masing selama 60 menit, lalu direndam dalam alkohol absolut sebanyak dua kali masing-masing selama 1 jam. Kemudian dilakukan

penjernihan dengan benzil benzoat selama 24 jam, selanjutnya direndam dalam benzol sebanyak dua kali masing-masing selama 30 menit.

d. Infiltrasi

Setelah melalui tahap dehidrasi, jaringan diinfiltrasi dengan cara merendamnya ke dalam parafin cair dalam dua tahap, yaitu parafin I selama 1 jam dan parafin II selama 1 jam di dalam inkubator pada suhu 60°C.

e. Penanaman

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 direkatkan pada kayu pemegang dengan bantuan paraffin cair panas.

f. Penyayatan

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada mikrotom dan diatur pisau mikrotom agar mendapat sayatan berbentuk pita setebal 7 μ m .

g. Penempelan pada Gelas Objek

Hasil sayatan yang baik diletakkan pada gelas objek yang telah diolesi sedikit albumin Mayer's dan ditetesi air. Selanjutnya gelas diletakkan pada pemanas dengan suhu 30 - 40°C. Setelah sayatan pada objek mengembang sempurna, sisa air pada objek diserap dengan kertas tisu.

h. Melarutkan Parafin

Parafin yang melekat di seputar sayatan dihilangkan dengan cara merendam gelas objek pada xilol selama lebih kurang 6 menit

i. Hidrasi

Gelas objek yang sudah dibersihkan dari parafin dimasukkan dalam larutan alkohol dengan konsentrasi menurun, yaitu alkohol absolut, alkohol 96 %, alkohol 80 %, dan alkohol 70 % masing-masing selama 3 menit.

j. Pewarnaan

Gelas objek yang telah dihidrasi direndam dalam larutan hematoksilin selama 4 menit, kemudian dicuci dalam bak air dengan air mengalir hingga bagian gelas objek di luar jaringan bersih dari zat warna. Apabila warna jaringan terlalu ungu maka gelas objek dicelupkan ke dalam larutan asam klorida 1 % selama beberapa detik. Selanjutnya direndam ke dalam larutan eosin selama 4 menit.

k. Dehidrasi

Gelas objek yang telah diwarnai direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat, yaitu alkohol 70 % selama 3 menit, alkohol 96 % selama 3 menit, alkohol absolut selama 3 menit, campuran alkohol xilol (1:1) selama 5 menit.

l. Penjernihan

Gelas objek yang telah didehidrasi direndam dalam xilol selama tiga kali, masing-masing selama 2 menit.

m. Penutupan

Sebelum xilol mengering, setetes entelan diteteskan di atas preparat kemudian ditutupi perlahan-lahan dengan kaca penutup dan dijaga agar tidak ada gelembung udara.

n. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan cara membandingkan preparat histologis hati kelompok kontrol normal dengan preparat histologis hati kelompok perlakuan dengan menggunakan mikroskop cahaya. Penilaian derajat kerusakan lobulus hati dilakukan dengan mengukur diameter vena sentralis dan mencatat kerusakan-kerusakan yang terjadi. Derajat kerusakan dibedakan dalam tiga tingkatan, yaitu degenerasi 0% atau tanpa kerusakan, degenerasi 20 – 40% atau degenerasi sedang, dan lebih dari 40% atau nekrosis berat.

11. Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari percobaan diolah secara statistik menggunakan uji distribusi normal (uji Shapiro-wilk) dan uji homogenitas (uji Lavene). Setelah uji normalitas dan uji homogenitas dilaksanakan, kemudian dilanjutkan dengan uji analisis multivarian satu arah (Anava). Apabila data yang dihasilkan berbeda secara bermakna, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (35).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Penetapan Aktivitas Enzim Alanin Aminotransferase Plasma

a. Kurva kalibrasi

Persamaan garis : $y = 6,3518 \cdot 10^{-3} + 1,8639 \cdot 10^{-3} x$

Nilai koefisien korelasi : $r = 0,9964$

y = serapan

x = nilai aktivitas ALT plasma (U/l)

Keterangan selanjutnya dapat dilihat pada Gambar 4, Tabel 2, dan Lampiran 3

b. Nilai aktivitas ALT plasma tikus putih jantan

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut :

Kelompok I : $63,924 \pm 14,747$ U/l

Kelompok II : $56,770 \pm 9,924$ U/l

Kelompok III : $57,911 \pm 11,113$ U/l

Kelompok IV : $70,362 \pm 14,359$ U/l

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu "D" tidak mempengaruhi aktivitas ALT plasma tikus putih jantan. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 5, Tabel 5, dan Lampiran 8.

c. Nilai aktivitas ALT plasma tikus putih betina

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut :

Kelompok I : $67,769 \pm 17,653$ U/l

Kelompok II : $65,176 \pm 11,737$ U/l

Kelompok III : $74,654 \pm 18,770$ U/l

Kelompok IV : $67,411 \pm 10,392$ U/l

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu “D” tidak mempengaruhi aktivitas ALT plasma tikus putih betina. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 5, Tabel 6, dan Lampiran 11.

2. Penetapan Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma

a. Nilai aktivitas ALP plasma tikus putih jantan

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut :

Kelompok I : $626,98 \pm 154,335$ U/l

Kelompok II : $571,55 \pm 177,69$ U/l

Kelompok III : $610,65 \pm 191,000$ U/l

Kelompok IV : $604,90 \pm 172,564$ U/l

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu “D” tidak mempengaruhi aktivitas ALP plasma tikus putih jantan. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 6, Tabel 7, dan Lampiran 14.

b. Nilai aktivitas ALP plasma tikus putih betina

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut :

Kelompok I : $528,77 \pm 142,161$ U/I

Kelompok II : $649,52 \pm 194,169$ U/I

Kelompok III : $568,10 \pm 156,133$ U/I

Kelompok IV : $446,89 \pm 103,801$ U/I

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu "D" tidak mempengaruhi aktivitas ALP plasma tikus putih betina. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 6, Tabel 8, dan Lampiran 17.

3. Pemeriksaan Histologi Hati melalui Pengukuran Diameter Rata-rata Vena Sentralis dan Derajat Kerusakan Sel Hati

a. Nilai diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut :

Kelompok I : $76,845 \pm 5,670$ μ m

Kelompok II : $75,336 \pm 6,025$ μ m

Kelompok III : $74,334 \pm 3,891$ μ m

Kelompok IV : $74,918 \pm 5,314$ μ m

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu "D" tidak mempengaruhi nilai diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 7, Tabel 9, dan Lampiran 20.

b. Nilai diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut :

Kelompok I : $77,428 \pm 5,872 \text{ }\mu\text{m}$

Kelompok II : $75,934 \pm 5,974 \text{ }\mu\text{m}$

Kelompok III : $76,322 \pm 4,932 \text{ }\mu\text{m}$

Kelompok IV : $73,901 \pm 5,385 \text{ }\mu\text{m}$

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu “D” tidak mempengaruhi nilai diameter rata-rata vena sentralis tikus putih tikus putih betina. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 7, Tabel 9, dan Lampiran 23.

c. Derajat kerusakan sel hati tikus putih jantan dan betina

Hasil pemeriksaan histologis hati secara kualitatif terhadap derajat kerusakan sel hati setelah 90 hari perlakuan menunjukkan tidak adanya kerusakan sel hati pada tingkat kerusakan 20 – 40% dan lebih dari 40%.

B. PEMBAHASAN

Pengujian ilmiah mengenai khasiat, keamanan, dan standar kualitas obat tradisional atau jamu diperlukan untuk mengetahui apakah jamu tersebut dapat digunakan dalam sistem pelayanan kesehatan. Salah satu uji keamanan untuk obat tradisional dapat dilakukan dengan mengamati pengaruh pemberian obat tersebut terhadap organ vital (1).

Pada penelitian ini, dilakukan uji keamanan terhadap jamu "D" pada penggunaan jangka panjang yang dilihat pengaruhnya terhadap organ hati karena hati terlibat dalam seluruh proses metabolisme tubuh. Hepatosit (sel parenkim hati) merupakan sel yang bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal. Setelah diserap, toksikan dibawa oleh vena porta ke hati. Kadar enzim yang memetabolisme xenobiotik dalam hati tinggi (terutama sitokrom P-450), yang merubah toksikan menjadi kurang toksik dan lebih mudah larut air sehingga lebih mudah diekskresikan (5).

Pemeriksaan fungsi hati dapat dilakukan dengan patologi makroskopik, pemeriksaan mikroskopik dan secara enzimatik. Salah satu pemeriksaan hati secara enzimatik dapat dilakukan melalui pengukuran aktivitas enzim alanin amino transferase dan alkali fosfatase. Enzim alanin aminotransferase (ALT) paling banyak ditemukan di hati dan merupakan indikator paling sensitif pada destruksi selular hati karena enzim ini akan meningkat lebih cepat dibanding enzim lain yang ada di dalam sel hati. Oleh karena itu, pengamatan terhadap aktivitas ALT sangat berguna sebagai parameter terjadinya kerusakan hati (25). ALT secara normal terlokalisasi di dalam sel (sitosol) dari organ tersebut sehingga keberadaan ALT di plasma memberikan informasi adanya kerusakan organ hati (27).

Enzim alkali fosfatase (ALP) juga banyak ditemukan di hati. Pemeriksaan enzim ini memberikan informasi ada tidaknya suatu proses kerusakan dalam sistem hepatobiliaris. Jika terjadi pembendungan empedu

atau kerusakan hati dan empedu maka hati akan meningkatkan sintesis ALP sehingga jumlah ALP dalam darah meningkat. Peningkatan terjadi karena ALP tidak mengalir ke dalam empedu tetapi dialirkan ke darah (23,26).

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih jantan dan betina galur *Sprague-Dawley* yang berusia sekitar dua bulan dengan berat badan kurang lebih 200 gram. Hewan uji yang dipilih tikus karena tikus mudah didapat, relatif murah, mudah perawatan, dan tersedia data toksikologi yang lebih banyak untuk sebagian besar senyawa. Hewan uji yang digunakan terdiri dari dua jenis kelamin, yaitu jantan dan betina. Hal ini bertujuan untuk melihat perbedaan pengaruh efek toksik yang ditimbulkan pada kedua jenis kelamin tersebut. Pengaruh hormonal dapat memodifikasi respon toksik tertentu sehingga efek toksik yang ditimbulkan dapat berbeda antara hewan jantan dan betina (7).

Selain dipengaruhi hormon, efek toksik dapat bervariasi karena adanya perbedaan usia, kondisi kesehatan, berat badan, perbedaan proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Hewan uji yang digunakan berumur sekitar dua bulan, yaitu usia yang memenuhi syarat untuk digunakan dalam uji toksisitas. Hewan uji dengan umur yang terlalu muda memiliki sistem organ dan metabolisme yang belum sempurna sehingga efek toksik yang ditimbulkan dapat lebih besar. Begitu juga hewan uji dengan umur yang terlalu tua cenderung memiliki fungsi organ dan metabolisme tubuh yang menurun sehingga toksisitas yang ditimbulkan juga lebih besar (7).

Hewan uji yang akan digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu selama dua minggu. Hal ini bertujuan agar hewan uji dapat menyesuaikan diri dengan keadaan lingkungan sekitarnya. Selama proses aklimatisasi, tikus diberi makan dan minum secara teratur dan ditimbang berat badannya secara berkala. Pada akhir masa aklimatisasi, dipilih hewan uji yang sehat yang akan digunakan selama penelitian. Hewan uji yang sehat memiliki ciri-ciri sebagai berikut : gerakannya lincah, bulu putih dan tidak berdiri, dan berat badan cenderung bertambah atau konstan selama proses aklimatisasi.

Penelitian uji toksisitas jangka panjang ini dilakukan selama 90 hari, dimana larutan uji diberikan secara terus menerus selama periode tersebut. Pemberian larutan uji dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde lambung. Hal ini dikarenakan jamu yang diujicobakan juga dikonsumsi secara per oral pada manusia. Sebelum diberi larutan uji, hewan uji terlebih dahulu dipuasakan selama tiga sampai empat jam untuk mengosongkan lambung hewan uji sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya interaksi antara makanan dengan larutan uji.

Pembuatan larutan uji disesuaikan dengan sifat bahan uji. Bahan uji yang tersedia berupa ekstrak kering yang tidak larut dalam air. Oleh karena itu, bahan uji disuspensikan dalam larutan CMC 0,5% sehingga bahan uji dapat terbasahi dan membentuk suspensi yang stabil. Kadar CMC sebesar 0,5% didasarkan pada uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui jumlah CMC yang dapat digunakan agar terbentuk suspensi yang stabil dan masih dapat dikeluarkan melalui sonde.

Setelah perlakuan selama 90 hari, pada hari ke-91 dilakukan pengambilan darah melalui vena sinus orbitalis mata karena darah yang diperoleh lebih banyak, lebih cepat, dan lebih mudah. Sebelum pengambilan darah, tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan dietil eter untuk mengurangi ketidaknyaman dalam proses pengambilan darah (32). Dietil eter dipilih sebagai anestesi karena efeknya yang cepat pulih, relatif lebih murah, dan mudah didapat.

Darah ditampung dalam mikrotube yang telah diberi heparin. Pemberian larutan heparin bertujuan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. Selanjutnya, darah disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan plasma. Plasma yang diperoleh digunakan untuk mengukur aktivitas ALT dan alkali fosfatase.

Hasil pengukuran dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) satu arah untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara rata-rata hitung tiga kelompok data atau lebih. Analisis ini digunakan untuk mengetahui apakah ada perbedaan aktivitas ALT dan ALP plasma yang signifikan antara kelompok perlakuan dosis dengan kelompok kontrol. Analisis menggunakan ANOVA dapat dilakukan jika data tiap kelompok terdistribusi normal dan variansi dari kelompok tersebut sama. Oleh karena itu, terlebih dahulu dilakukan uji distribusi normal (uji *Shapiro-Wilk*) terhadap seluruh data pada masing-masing variabel, kemudian dilanjutkan dengan uji kesamaan variansi (metode *Lavene*) (35).

Pengukuran ALT digunakan metode kolorimetri yang diperkenalkan oleh Reitman dan Frankel (30). Analisis ALT dengan metode ini sederhana dan relatif lebih mudah. Prinsip dari pengukuran ALT adalah alanin amino transferase (ALT) mengkatalisis proses pemindahan gugus amino dari di-alanin ke asam α -ketoglutarat sehingga terbentuk asam piruvat dan glutamat. Asam piruvat yang terbentuk akan bereaksi dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin membentuk kompleks 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang berwarna coklat pada suasana basa dengan penambahan natrium hidroksida. Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm (24,30). Serapan yang diperoleh kemudian diplot terhadap aktivitas ALT pada kurva kalibrasi dengan persamaan garis $y = 6.3518.10^{-3} + 1.8639.10^{-3}x$.

Hasil uji analisis variansi satu arah terhadap data aktivitas ALT tikus putih jantan dan betina pada ketiga kelompok perlakuan dosis menunjukkan tidak ada perbedaan secara bermakna dengan kelompok kontrol karena nilai signifikansi yang diperoleh lebih besar dari 0,05, yaitu masing-masing sebesar 0,257 dan 0,725 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan menunjukkan bahwa pemberian jamu "D" tidak menimbulkan gangguan hepatoselular yang dapat menyebabkan pelepasan ALT ke plasma.

Pengukuran aktivitas enzim alkali fosfatase dilakukan dengan menggunakan reagen kit alkali fosfatase. Metode ini digunakan karena lebih mudah dan lebih efisien dalam pengerjaannya. Prinsip pengukuran alkali fosfatase adalah alkali fosfatase mengkatalisis perubahan p-nitrofenil fosfat menjadi p-nitrofenol dan fosfat. P-nitrofenol yang terbentuk berwarna kuning

dalam larutan alkali dan diukur serapannya pada panjang gelombang 405 nm selama 3 menit pada suhu 25°C (24,31). Perubahan absorbansi per satuan waktu sebanding dengan kecepatan disosiasi substrat yang juga sebanding dengan aktivitas enzim.

Hasil analisis variansi satu arah terhadap data aktivitas ALP tikus putih jantan dan betina pada ketiga kelompok perlakuan dosis menunjukkan tidak ada perbedaan secara bermakna dengan kelompok kontrol berdasarkan nilai signifikansi masing-masing sebesar 0,960 dan 0,174 ($p > 0,05$). Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa pemberian larutan uji pada tikus putih jantan dan betina tidak menimbulkan gangguan saluran empedu yang dapat menyebabkan pelepasan alkali fosfatase ke plasma.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan terhadap gambaran histologis organ hati untuk mengetahui tingkat kerusakan yang terjadi pada organ hati. Pemeriksaan histologis hati dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif dengan melihat gambaran mikroskopik histologi organ hati. Pengukuran secara kuantitatif dilakukan dengan mengukur diameter vena sentralis hati karena daerah vena sentralis merupakan pusat lobulus hati dan berdasarkan aliran peredaran darah, vena sentralis menerima paling sedikit oksigen sehingga apabila terjadi gangguan maka akan terlebih dahulu mengalami kerusakan dan terlihat paling parah. Jika terjadi kerusakan, sel-sel endotel dari vena sentralis akan lisis dan akan mengakibatkan pelebaran diameter vena sentralis (19).

Pembuatan sediaan histologis hati digunakan metode pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. Metode ini paling populer digunakan karena sediaan yang dihasilkan tidak mudah rusak dan warna yang terbentuk juga tahan lebih lama (34).

Hasil pengukuran diameter rata-rata vena sentralis pada tikus putih jantan dan betina setelah 90 hari pemberian suspensi uji tidak menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Hasil pemeriksaan histologis hati secara kualitatif terhadap tingkat kerusakan sel-sel hati menunjukkan tidak ada kerusakan pada sel hati.

Berdasarkan empat parameter tersebut di atas, yaitu aktivitas enzim ALT, ALP, diameter rata-rata vena sentralis, dan derajat kerusakan sel hati, menunjukkan bahwa pemberian jamu "D" selama 90 hari secara oral pada tikus putih jantan dan betina tidak menimbulkan adanya kerusakan pada fungsi dan organ hati. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya kandungan kimia yang dimiliki herba seledri, yaitu polifenol yang berperan dalam proses detoksifikasi tubuh (17). Detoksifikasi merupakan proses biotransformasi di mana zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh (seperti jamu, obat) diubah menjadi zat yang tidak berbahaya sehingga mudah diekskresikan oleh ginjal (5). Selain itu, kandungan kimia yang dimiliki oleh herba pegagan, yaitu flavonoid (*quercetin*, kaemferol, katekin) dan triterpenoid (*asiaticoside*, *asiatic acid*, dan *madecassic acid*) juga memiliki fungsi sebagai antioksidan. Di samping sebagai antioksidan, senyawa triterpenoid dari herba pegagan juga

memiliki kemampuan dalam meningkatkan reepitelisasi dan normalisasi pembuluh vena yang mengalami luka atau kerusakan (36).

Pada penelitian terdahulu juga menyebutkan bahwa penggunaan ekstrak herba pegagan secara per oral dengan dosis 3, 5, dan 7 g/kg bb pada mencit putih Swiss tidak menunjukkan efek toksik pada organ hati (3). Begitu juga, pada penggunaan ekstrak herba seledri secara per oral dengan dosis 5 g/kg bb tikus (4). Pada penelitian ini penggunaan kombinasi kedua ekstrak herba tersebut secara oral dengan dosis 1980 mg/ kg bb per hari, 3960 mg/ kg bb per hari, dan 7920 mg/ kg bb per hari pada tikus putih jantan dan betina juga tidak menimbulkan gangguan atau kerusakan pada fungsi dan organ hati. Dengan demikian, kandungan kimia yang dimiliki kedua tanaman tersebut tidak berefek toksik, tetapi bekerja saling sinergis dalam memelihara fungsi dan organ hati.

BAB V

KESIMPULAN SAN SARAN

A. KESIMPULAN

Pemberian jamu "D" secara oral dengan dosis 1980 mg/ kg bb per hari, 3960 mg/ kg bb per hari, dan 7920 mg/ kg bb per hari tidak mempengaruhi fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase, alkali fosfatase, rata-rata diameter vena sentralis, dan secara kualitatif terhadap derajat kerusakan sel hati pada tikus putih jantan dan betina.

B. SARAN

Perlu dilakukan uji keamanan jamu "D" dalam jangka waktu yang lebih panjang, yaitu uji kronik dan perlu adanya uji klinik untuk mendukung dan melengkapi data ilmiah dari jamu "D" ini.

DAFTAR ACUAN

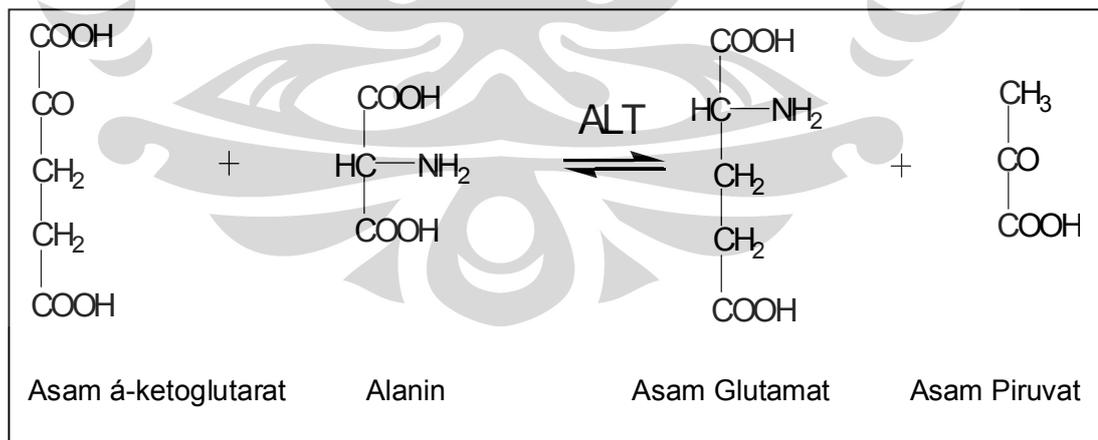
1. Anonim. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2000: 1-3, 15-17
2. Well, BG., Joseph TD., Terry LS., Cindy WH. *Pharmacotherapy Handbook Sixth Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies, 2006: 99
3. Pingale, SS. 2008. *Acute Toxicity Study for Centella asiatica Whole Plant Powder*.
http://www.unisa.it/download/1966_10305_1020482825_10_Pingale_1r.pdf, 15 Januari 2009, pk. 17.49
4. Phoenix Natural Product. 2005. *Material Safety Data Sheet*.
<http://www.phoenixproducts.co.uk/client/msds/Essential%20oil%20M%20SDS/Celery%20Seed.pdf>, 21 Februari 2009, pk. 21.36
5. Lawrence, AK & Amadeon JP. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation Third Edition*. Philadelphia: Mosby Year Book Inc, 1996 : 414-524
6. Harmita & Maksum R. *Buku Ajar: Analisis Hayati Edisi Kedua*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, 2005: 47-71
7. Parmar, NS and Shiv P. *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford: Alpha Science International Ltd, 2006: 46
8. WHO. *General Guidelines for Methodologies and Evaluation of Traditional Medicine*. Geneva: WHO, 2000: 29-30
9. Nasution R. 2003. *Teknik Sampling*.
<http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-rozaini.pdf>, 20 Mei 2009, pk. 20.00
10. Tjitrosoepomo, G. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press, 1991: 152-155, 443-445
11. Anonim. *Materia Medika Indonesia Jilid I*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1977: 34-39
12. De Padua, LS & Bunyapraphatsara. *Plant Resource of South East Asia 12: Medicinal and Poisonous Plants 1*. Bogor: Prosea, 1999: 190-194

13. Anonim. *Standard of Asean Herbal Medicines Volume II*. Jakarta: Asean Countries, 2004: 141-153
14. Zheng, CJ & Lu-ping Q. *Chemical Components of Centella asiatica and Their Bioactivities*.
<http://www.jcimjournal.com/en/FullText2.aspx?articleID=167219772007030348>, 15 Januari 2009, pk. 21.49
15. -----. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1979 : 63 – 70
16. Siemonsma, JS. & Kasem P. *Plant Resources of South-East Asia 8: Vegetables*. Bogor: Prosea, 1994: 86-88
17. Departemen Pertanian Ditjen Bina Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. *Hidup Sehat dengan Produk Hortikultura Nusantara*. Jakarta: Departemen Pertanian Ditjen Bina Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian, 2003: 8-92
18. Anonim. *Standar of Asean Herbal Medicine Volume 1*. Jakarta: Asean Countries, 1993: 63-73
19. Leeson, CR & Thomas SL. Buku Ajar *Histologi Edisi Kelima*. Terj. dari *Textbook of Histology*, oleh S. Koesparto Siswojo, dkk. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1993: 383-395
20. Sherwood, L. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem*. Terj. dari *Human Physiology. From Cell to System*, oleh Brahma U. Pendit. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1996: 565-570
21. Guyton, C. & John EH. Buku Ajar *Fisiologi Kedokteran Edisi Kesembilan*. Terj. dari: *Textbook of Medical Physiology*, oleh Irawati Setiawan, dkk. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1997: 392-399
22. Murray, RK., Daryl KG., Peter AM., & Victor WR. *Biokimia Harper Edisi Ke-24*. Terj. Dari: *Harper's Biochemistry*, oleh Andry Hartono. Jakarta: penerbit Buku Kedokteran EGC, 1997: 269-271
23. Sadikin, M. *Seri Biokimia: Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika, 2000: 300-306, 309-311
24. Risterich, R & Colombo JP. *Clinical Chemistry: Theory, Practise, and Interpretation*. Switzerland: John Willey and Sons, 1981: 260-264, 606-610

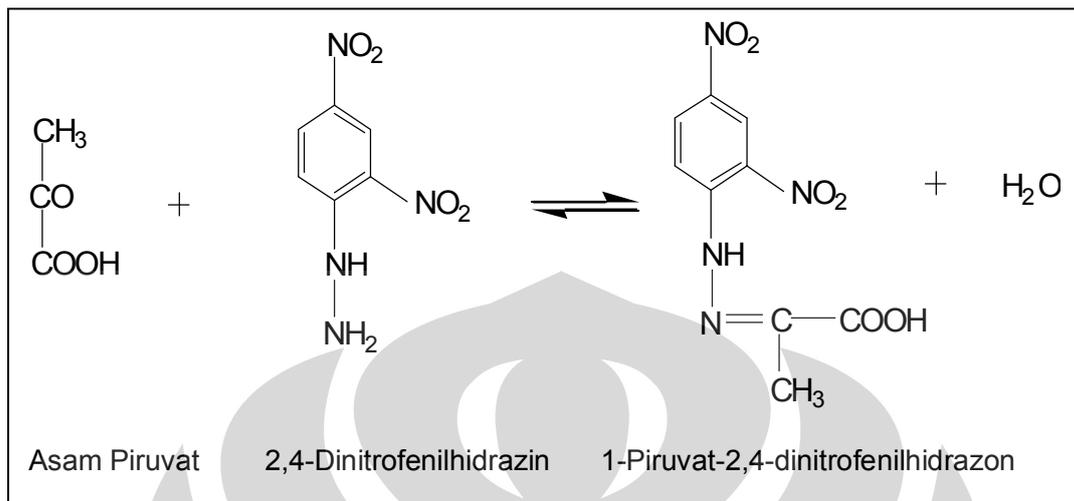
25. Calbreath DF. *A Fundamental Text Book Clinical Chemistry*. New York: W. B. Saunders Company, 1992: 186-193
26. Burtis, CA & Edward RA. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry Third Edition*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1999: 676-1169
27. Anderson, SC. *Clinical Chemistry: Concepts and Application*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993: 260-264
28. Smith, JB & Mangkoewidjojo S. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press, 1988: 30-44
29. Anonim. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979: 746, 710
30. Reitman, S & Frankle SA. Colorimetric Method for The Determination of Serum Glutamic Oxaloacetat and Glutamic Pyruvic Transaminase. *Am J. Clin. Pathology Volume 28*, 1957: 56-57
31. Randox. *Prosedur Kerja Reagen Kit Alkaline Phosphatase Randox*. Randox, United Kingdom, 2007: 1-2
32. Hoff, J. Methods of Blood Collection in The Mouse. *Lab Animal J*, 2000: 47-53
33. Merck. *Diagnostic Merck, Direction For Use Cinical Chemistry*. Jerman: Merck Darmstadt, 1976: 46-47
34. Tanzil, R. *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologi*. Jakarta: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran UI, 2003: 1-29
35. Santoso S. *Panduan Lengkap Menguasai SPSS 16*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo, 2008: 237-247
36. ----- . *Centella Asiatica Selected Triterpenes: A Highly Standardized Natural Remedy for The Maintenance of An Healty Venous System*. www.indena.com/pdf/centella.pdf, 15 Januari 2009, pk: 21:35



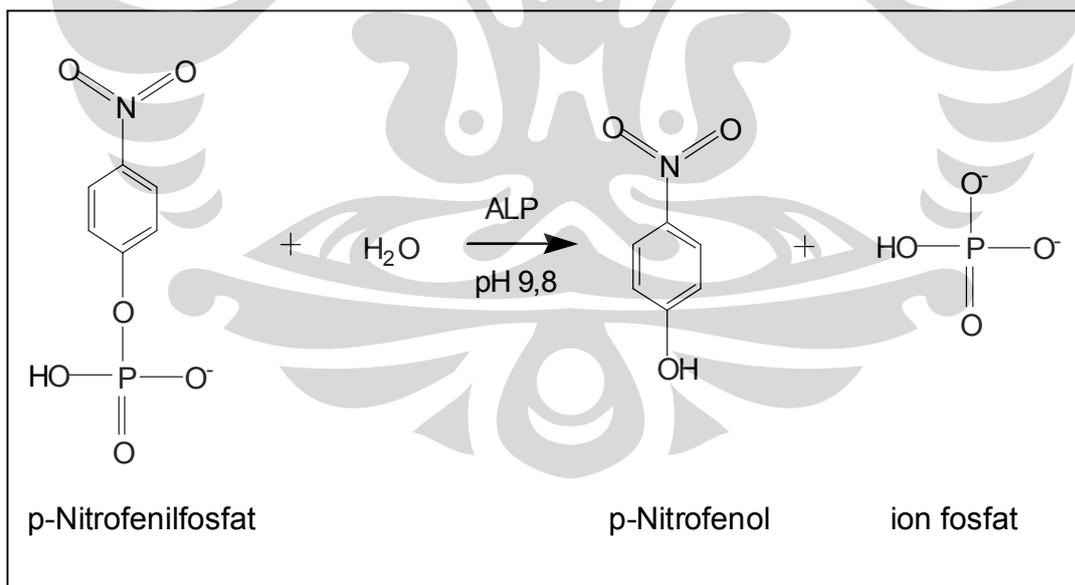
Gambar 3. Ekstrak kering jamu "D"



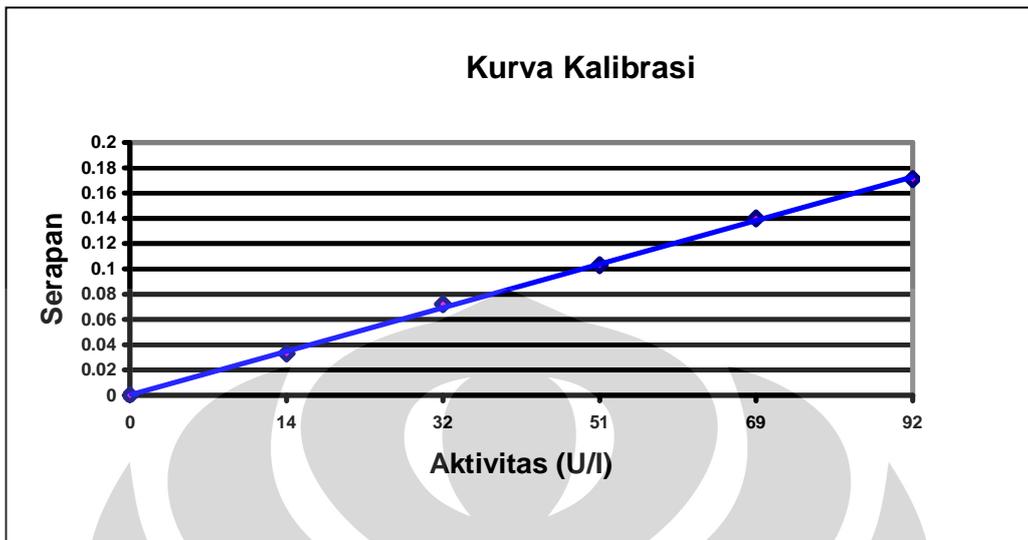
Gambar 4. Reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat dengan ALT sebagai katalisator (24)



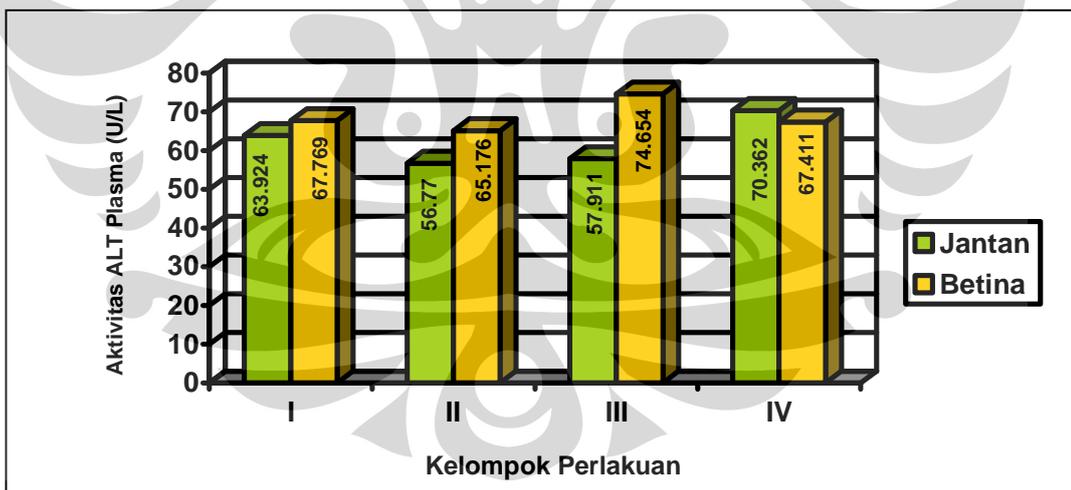
Gambar 5. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran ALT plasma secara kolorimetri (25)



Gambar 6. Reaksi pembentukan p-nitrofenol dari p-nitrofenilfosfat pada pengukuran aktivitas enzim alkali fosfatase (27)

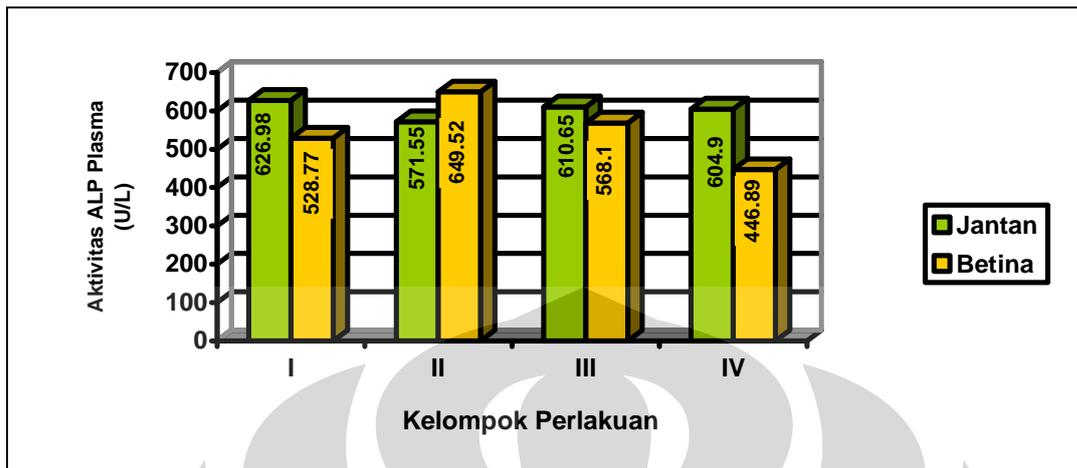


Gambar 7. Kurva kalibrasi aktivitas ALT plasma dengan persamaan $y = 6,3518 \cdot 10^{-3} + 1,8639 \cdot 10^{-3} x$ ($r = 0,9964$)



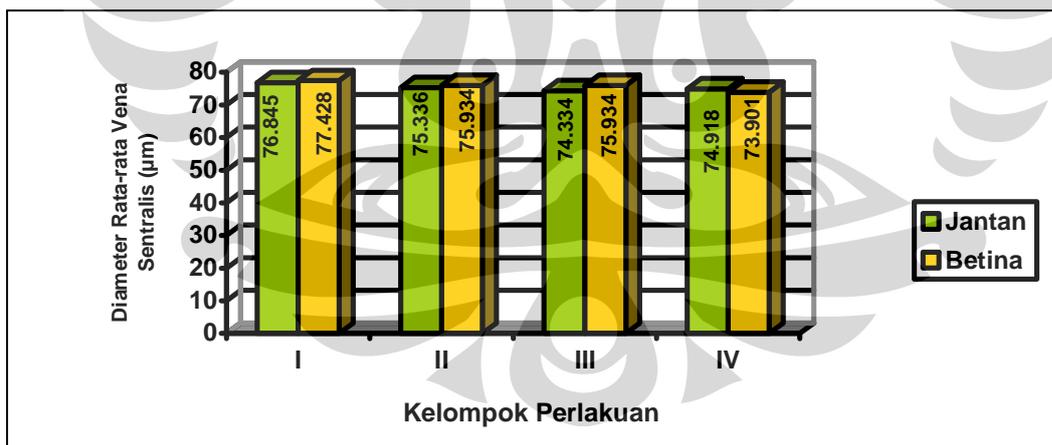
Gambar 8. Diagram batang aktivitas rata-rata ALT plasma tikus putih jantan dan betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari

Keterangan : (I) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/ kg bb; (II) kelompok dosis 3960 mg/ kg bb; (III) kelompok dosis 7920 mg/ kg bb; (IV) kelompok kontrol dengan larutan CMC 0,5%



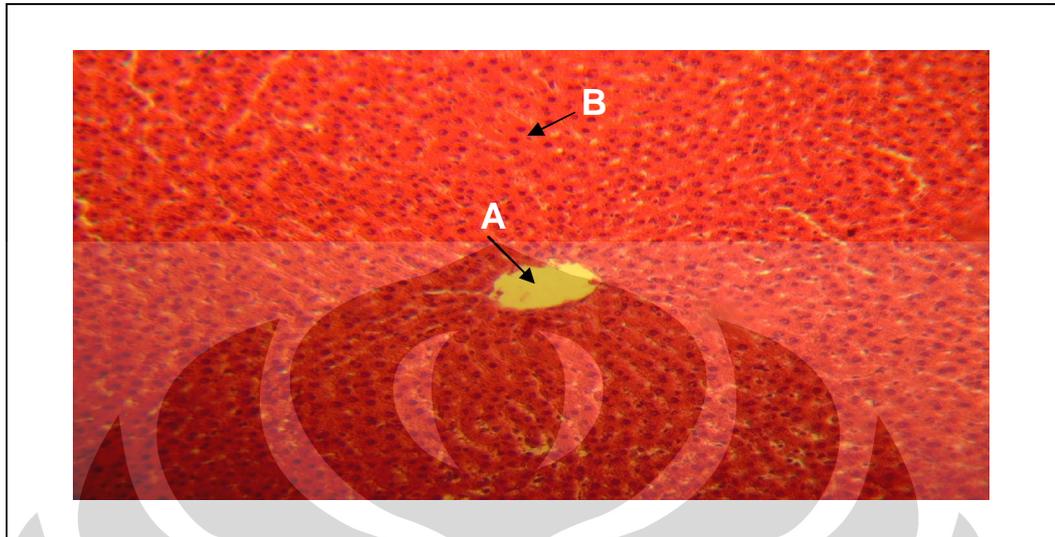
Gambar 9. Diagram batang aktivitas rata-rata ALP plasma tikus putih jantan dan betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari

Keterangan : (I) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/ kg bb; (II) kelompok dosis 3960 mg/ kg bb; (III) kelompok dosis 7920 mg/ kg bb; (IV) kelompok kontrol dengan larutan CMC 0,5%

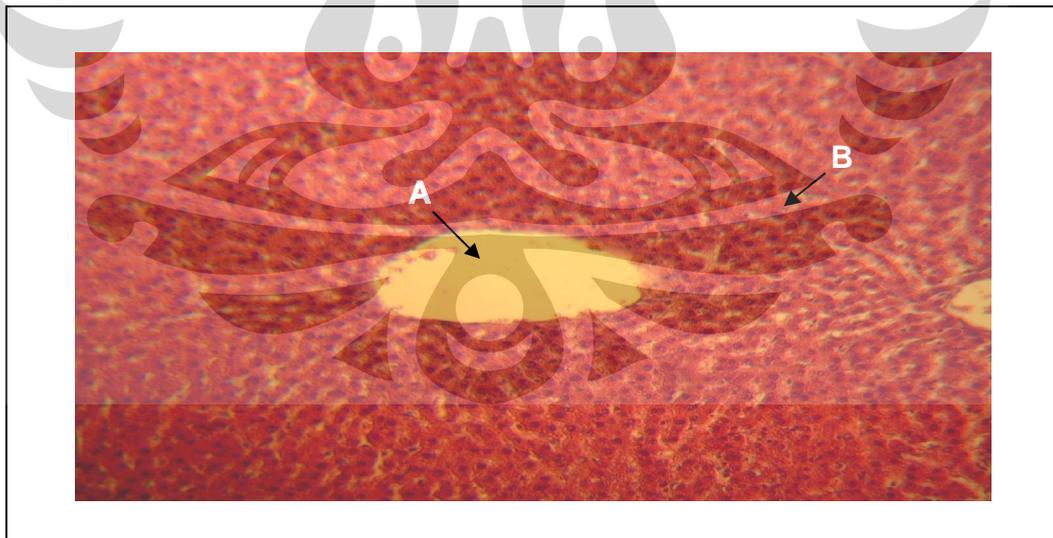


Gambar 10. Diagram batang nilai rata-rata diameter vena sentralis tikus putih jantan dan betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari

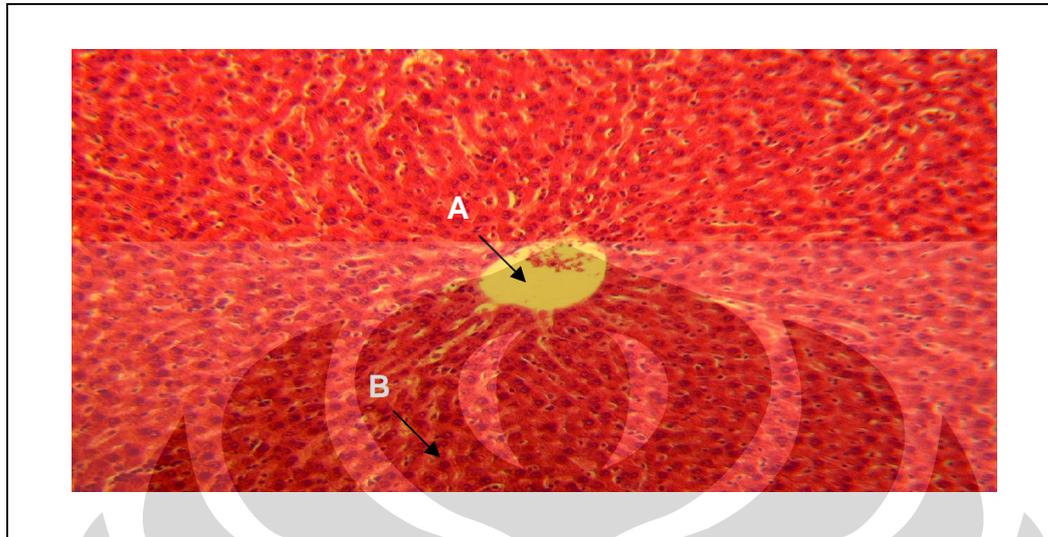
Keterangan : (I) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/ kg bb; (II) kelompok dosis 3960 mg/ kg bb; (III) kelompok dosis 7920 mg/ kg bb; (IV) kelompok kontrol dengan larutan CMC 0,5%



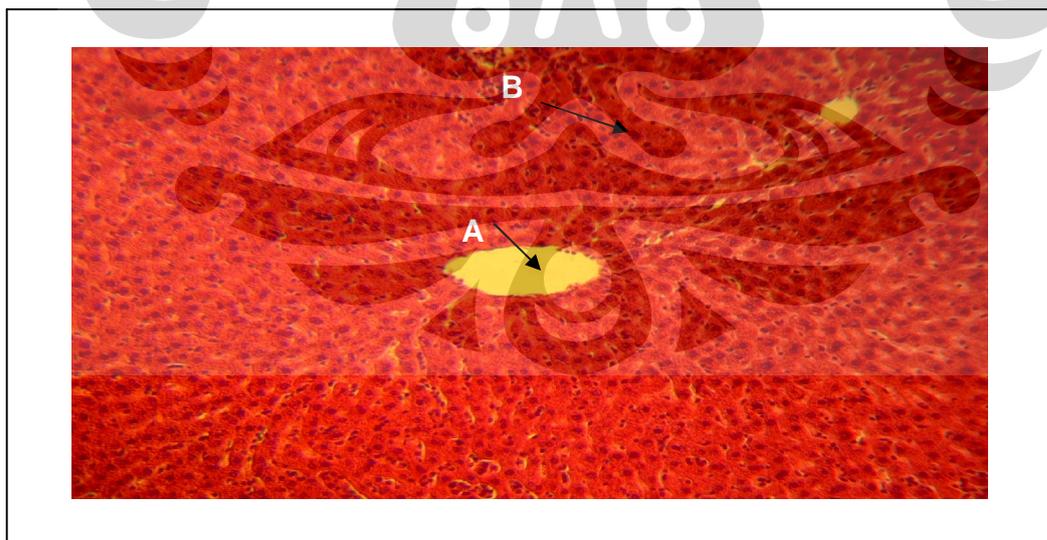
Gambar 11. Histologis vena sentralis kelompok dosis I tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x
Keterangan : A = vena sentralis normal; B = sel hati normal



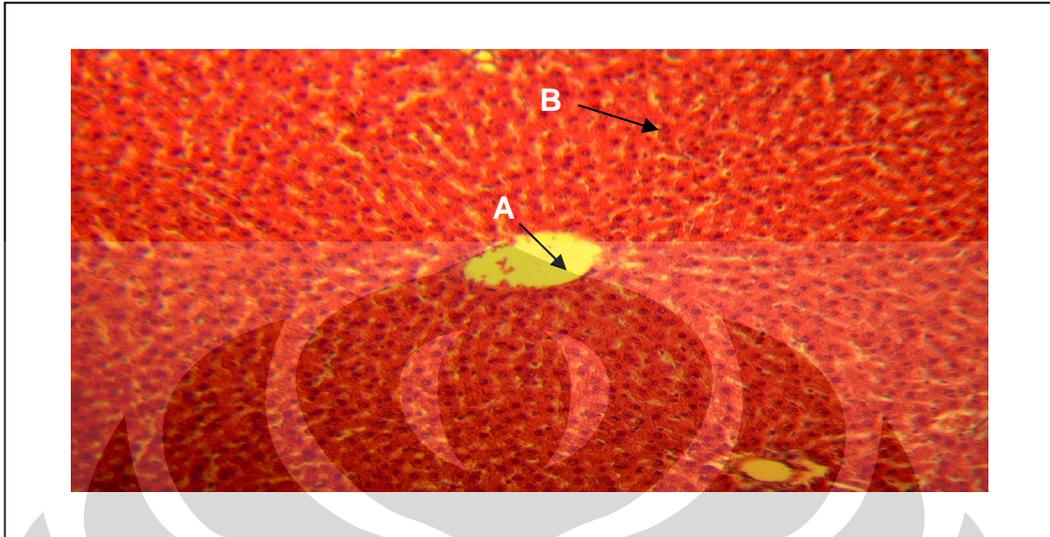
Gambar 12. Histologis vena sentralis kelompok dosis II tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x
Keterangan : A = vena sentralis normal; B = sel hati normal



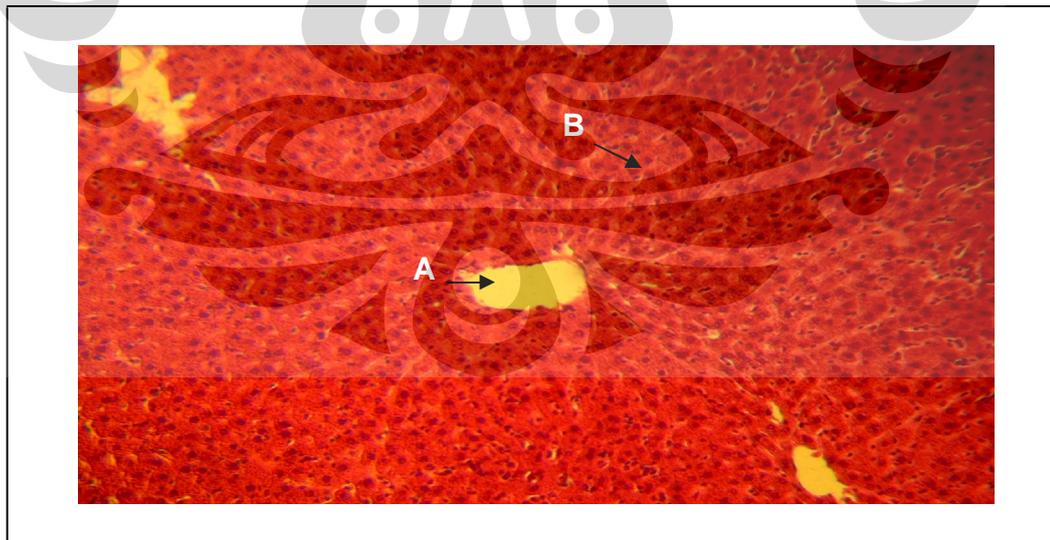
Gambar 13. Histologis vena sentralis kelompok dosis III tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x
Keterangan : A = vena sentralis normal; B = sel hati normal



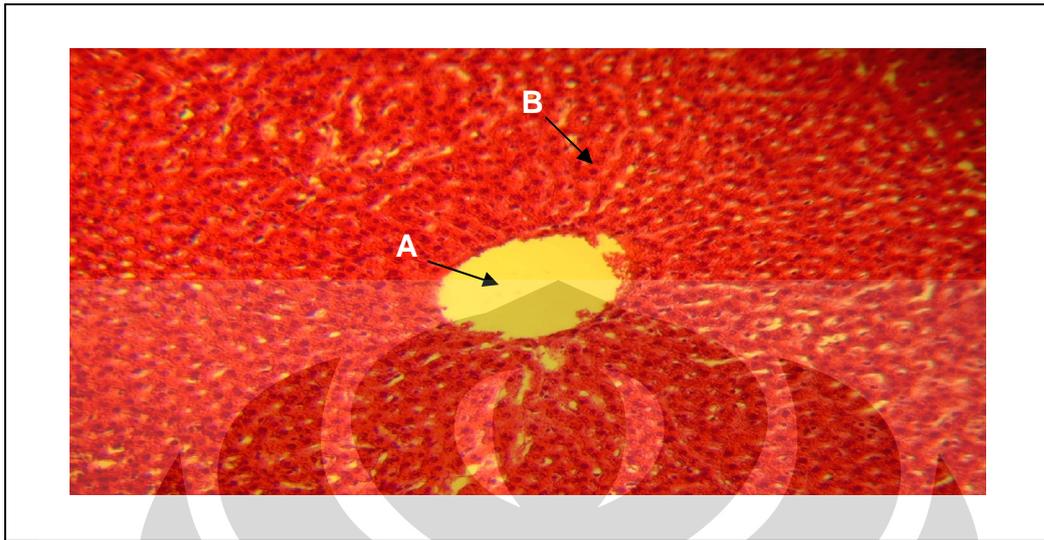
Gambar 14. Histologis vena sentralis kelompok dosis IV tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x
Keterangan : A = vena sentralis normal; B = sel hati normal



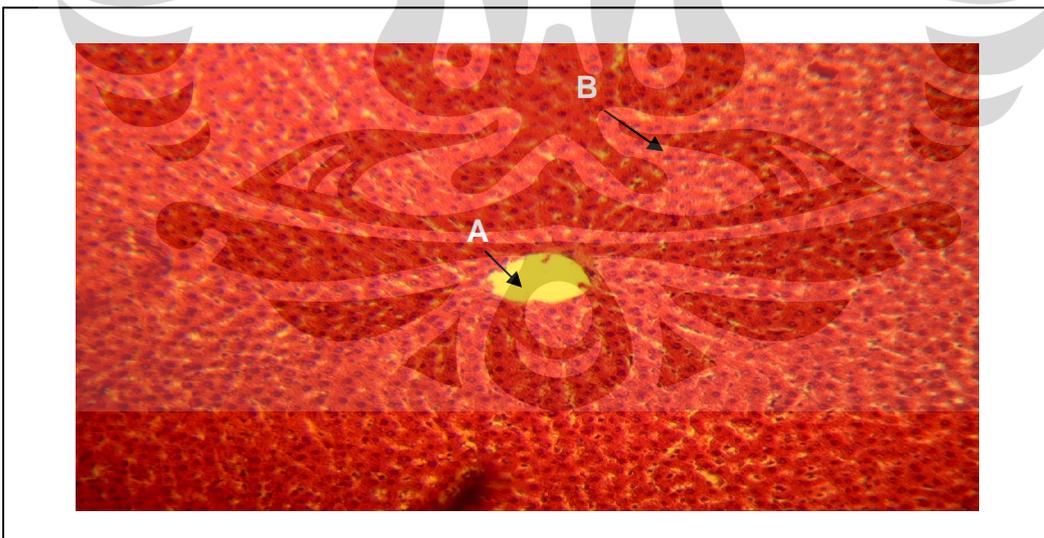
Gambar 15. Histologis vena sentralis kelompok dosis I tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x
Keterangan : A = vena sentralis normal; B = sel hati normal



Gambar 16. Histologis vena sentralis kelompok dosis II tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x
Keterangan : A = vena sentralis normal; B = sel hati normal



Gambar 17. Histologis vena sentralis kelompok dosis III tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x
Keterangan : A = vena sentralis normal; B = sel hati normal



Gambar 18. Histologis vena sentralis kelompok dosis IV tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan dengan perbesaran 100 x
Keterangan : A = vena sentralis normal; B = sel hati normal

Tabel 1

Perlakuan dan jumlah tikus jantan dan betina yang diperlukan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah tikus (ekor)	
		Jantan	Betina
I	Diberi suspensi bahan uji dosis I (1980 mg/ kg bb per hari)	6	6
II	Diberi suspensi bahan uji dosis II (3960 mg/ kg bb per hari)	6	6
III	Diberi suspensi bahan uji dosis III (7920 mg/ kg bb per hari)	6	6
IV	Kontrol, diberi larutan uji CMC 0,5%	6	6

Tabel 2

Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat pada pembuatan kurva kalibrasi aktivitas ALT plasma beserta nilai aktivitas dan serapannya

No Tabung	Larutan Standar Piruvat (ml)	Larutan		Nilai Aktivitas (UI/l)	Serapan (A)
		Dapar Substrat (ml)			
1	0,00	1,00		0	0,000
2	0,10	0,90		14	0,033
3	0,20	0,80		32	0,072
4	0,35	0,70		51	0,103
5	0,40	0,60		69	0,140
6	0,50	0,50		92	0,171

$$y = 6,3518 \cdot 10^{-3} + 1,8639 \cdot 10^{-3} x$$

Tabel 3

Tahapan metode pengukuran aktivitas ALT plasma sampel

Prosedur	Larutan Uji (ml)	Larutan Blanko (ml)
Larutan dapar substrat (inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit)	1,0	1,0
Plasma (kocok lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit)	0,2	-
Reagen warna	1,0	1,0
Plasma (kocok dan diamkan 20 menit pada suhu kamar)	-	0,2
Natrium hidroksida 0,4 N (kocok dan diamkan selama 30 menit pada suhu kamar)	10,0	10,0
Ukur serapan pada 505 nm		

Tabel 4

Tahapan metode pengukuran aktivitas ALP plasma sampel

Bahan yang ditambahkan	Uji	Plasma
Plasma	20 μ l	-
Aquabidest	-	20 μ l
Larutan pereaksi	1000 μ l	1000 μ l
Ukur serapan uji untuk 3 menit pertama pada panjang gelombang 405 nm		

Tabel 5

Aktivitas ALT plasma tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan

Kelompok	Serapan (A)	Aktivitas (U/l)	Aktivitas rata-rata ± SD (U/l)
I (1980 mg/ kg bb per hari)	0,161	82,970	63,924 ± 14,747
	0,144	73,850	
	0,120	60,973	
	0,139	71,167	
	0,090	44,878	
	0,099	49,707	
II (3960 mg/ kg bb per hari)	0,094	47,024	56,770 ± 9,924
	0,099	49,707	
	0,129	65,802	
	0,114	57,754	
	0,139	71,167	
	0,098	49,170	
III (7920 mg/ kg bb per hari)	0,129	65,802	57,911 ± 11,113
	0,123	62,583	
	0,131	66,875	
	0,104	52,389	
	0,183	94,773	
	0,122	62,046	
IV (larutan CMC 0,5%)	0,131	66,875	70,362 ± 14,359
	0,167	86,189	
	0,108	54,535	
	0,163	84,043	
	0,106	53,462	
	0,150	77,069	

Tabel 6

Aktivitas ALT plasma tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan

Kelompok	Serapan (A)	Aktivitas (U/l)	Aktivitas rata-rata \pm SD (U/l)
I (1980 mg/ kg bb per hari)	0,110	55,608	67,769 \pm 17,653
	0,125	63,656	
	0,153	78,678	
	0,189	97,992	
	0,100	50,243	
	0,119	60,437	
II (3960 mg/ kg bb per hari)	0,132	67,411	65,176 \pm 11,737
	0,098	49,170	
	0,162	83,507	
	0,112	56,681	
	0,136	69,558	
	0,127	64,729	
III (7920 mg/ kg bb per hari)	0,182	94,237	74,654 \pm 18,770
	0,159	81,897	
	0,172	88,872	
	0,100	50,243	
	0,156	80,288	
	0,104	52,389	
IV (larutan CMC 0,5%)	0,147	75,459	67,411 \pm 10,392
	0,106	53,462	
	0,131	66,875	
	0,158	81,361	
	0,115	58,291	
	0,135	69,021	

Tabel 7

Aktivitas ALP plasma tikus putih jantan setelah 90 hari perlakuan

Kelompok	Serapan (A)	Aktivitas (U/l)	Aktivitas rata-rata \pm SD (U/l)
I (1980 mg/ kg bb per hari)	0,535	738,3	626,98 \pm 154,335
	0,455	627,9	
	0,552	761,76	
	0,346	477,48	
	0,546	753,48	
	0,292	402,96	
II (3960 mg/ kg bb per hari)	0,238	328,44	571,55 \pm 177,69
	0,302	416,76	
	0,412	568,56	
	0,558	770,04	
	0,550	759	
	0,425	586,50	
III (7920 mg/ kg bb per hari)	0,357	492,66	610,65 \pm 191,000
	0,573	790,74	
	0,521	718,98	
	0,336	463,68	
	0,598	825,24	
	0,270	372,60	
IV (larutan CMC 0,5%)	0,363	500,94	604,90 \pm 172,564
	0,553	763,14	
	0,386	532,68	
	0,638	880,44	
	0,218	300,84	
	0,496	684,48	

Tabel 8

Aktivitas ALP plasma tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan

Kelompok	Serapan (ÅA/min)	Aktivitas (U/l)	Aktivitas rata-rata ± SD (U/l)
I (1980 mg/ kg bb per hari)	0,1135	313,26	528,77 ± 142,161
	0,241	665,16	
	0,150	414	
	0,231	637,56	
	0,229	632,04	
	0,185	510,6	
II (3960 mg/ kg bb per hari)	0,2595	716,22	649,52 ± 194,169
	0,1265	349,14	
	0,3135	865,26	
	0,298	822,48	
	0,1885	520,26	
	0,226	623,76	
III (7920 mg/ kg bb per hari)	0,153	422,28	568,10 ± 156,133
	0,2435	672,06	
	0,2655	732,78	
	0,1305	360,18	
	0,2535	699,66	
	0,189	521,64	
IV (larutan CMC 0,5%)	0,1175	324,3	446,89 ± 103,801
	0,187	516,12	
	0,151	416,76	
	0,138	380,88	
	0,155	427,8	
	0,223	615,48	

Tabel 9

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

Kelompok	Diameter Rata-rata vena sentralis (μm)	Rata-rata \pm SD (μm)
	82,960	
I (1980 mg/ kg bb per hari)	74,439 71,300 82,152 80,269 69,955	76,845 \pm 5,670
II (3960 mg/ kg bb per hari)	73,004 68,251 78,475 69,327 82,960 80,000	75,336 \pm 6,025
III (7920 mg/ kg bb per hari)	76,682 80,090 76,233 71,300 70,852 70,852	74,334 \pm 3,891
IV (larutan CMC 0,5%)	69,507 70,404 73,094 73,543 81,166 81,794	74,918 \pm 5,314

Tabel 10

Diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina setelah 90 hari perlakuan

Kelompok	Diameter Rata-rata vena sentralis (im)	Rata-rata \pm SD (i m)
I (1980 mg/ kg bb per hari)	82,063	77,428 \pm 5,872
	76,233	
	78,475	
	71,300	
	85,650	
	70,852	
II (3960 mg/ kg bb per hari)	79,193	75,934 \pm 5,974
	76,682	
	67,265	
	80,269	
	70,045	
	82,152	
III (7920 mg/ kg bb per hari)	82,780	76,322 \pm 4,932
	75,605	
	80,717	
	72,646	
	69,507	
	76,682	
IV (larutan CMC 0,5%)	79,821	73,901 \pm 5,385
	73,991	
	70,404	
	80,717	
	67,265	
	71,211	



Lampiran 1

Cara Perhitungan Dosis

Sediaan jamu "D" berupa kapsul memiliki berat 550 mg dengan aturan pakai dua kali sehari dua kapsul. Jadi, dosis terapi sehari jamu "D" adalah 2200 mg. Dosis ini kemudian dikonversikan dengan menggunakan faktor konversi manusia ke tikus 200 gram sebesar 0,018 dan 10 sebagai faktor farmakokinetiknya.

Kelompok dosis II dan III dibuat kelipatan 2 dan 4 dari dosis I. Maka dosis yang diperoleh adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\text{Dosis I} &= 2200 \text{ mg/ hari} \times 0,018 \times 10 \\ &= 396 \text{ mg/ 200 g bb per hari} \\ &= 1980 \text{ mg/ kg bb per hari}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis II} &= 4400 \text{ gram/ hari} \times 0,018 \times 10 \\ &= 792 \text{ mg/ 200 g bb per hari} \\ &= 3960 \text{ mg/ kg bb per hari}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis III} &= 8800 \text{ gram/ hari} \times 0,018 \times 10 \\ &= 1584 \text{ mg/ 200 g bb per hari} \\ &= 7920 \text{ mg/ kg bb per hari}\end{aligned}$$

Lampiran 2

Cara Pembuatan Suspensi Bahan Uji

Ekstrak kering jamu "D" yang merupakan kombinasi dari ekstrak herba seledri dan ekstrak herba pegegan tidak dapat larut secara langsung dalam air sehingga bahan uji dibuat dalam bentuk sediaan suspensi agar dapat diberikan per oral pada hewan coba. Suspensi bahan uji dibuat dengan mensuspensikan ekstrak kering jamu "D" dengan CMC 0,5%.

Tiap tikus yang beratnya 200 gram disonde dengan 3 ml suspensi bahan uji per hari. Untuk setiap dosisnya diperlukan suspensi sebanyak:

$$12 \text{ ekor tikus} \times 3 \text{ ml} = 36 \text{ ml per hari}$$

Suspensi bahan uji terdiri dari dosis I dan dosis II diperoleh dengan melakukan pengenceran terhadap dosis III sehingga suspensi bahan uji yang dibutuhkan setiap hari sebanyak 63 ml. Pembuatan suspensi uji setiap harinya dlebihihkan sebanyak 22 ml.

Berat bahan uji yang ditimbang = $7920 \text{ mg}/1000 \text{ gram} \times 200 \text{ gram}$

$$= 1584 \text{ mg} / 3 \text{ ml} \times (63+22) \text{ ml}$$

$$= 44880 \text{ mg bahan uji}$$

Jadi, untuk membuat 85 ml suspensi bahan uji dosis II diperlukan 44880 mg bahan uji yang disuspensikan dengan 0,425 gram CMC, kemudia di-ad kan sampai volume 85 ml.

Cara membuat suspensi uji, yaitu pertama-tama ditimbang ekstrak kering jamu "D" sebanyak 44,880 gram dan CMC sebanyak 0,425 gram.

CMC terlebih dahulu dikembangkan dengan menggunakan air panas ($\pm 80^{\circ}\text{C}$) sebanyak 20 kali bobot CMC pada lumpang selama 30 menit. Kemudian gerus homogen CMC yang telah dikembangkan. Ekstrak kering jamu "D" yang telah ditimbang dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam CMC tersebut dan digerus sampai homogen. Setelah mendapatkan massa yang halus dan homogen, aquadest ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam campuran sambil digerus homogen. Penambahan aquadest dilakukan sampai batas volume, yaitu 85 ml.

Untuk mendapatkan suspensi uji dosis II, 18 ml larutan induk dosis III ditambahkan larutan CMC 0,5% sampai volume 36 ml. Sedangkan dosis I diperoleh dari 9 ml dosis III yang diencerkan sampai volume 36 ml dengan larutan CMC 0,5%.

Kelompok dosis IV, yaitu kontrol, tikus diberi larutan CMC 0,5%. Pembuatan larutan uji CMC 0,5% dilakukan dengan menimbang CMC sebesar 0,5% b/v dari total volume larutan CMC yang dibuat. Larutan yang dibutuhkan untuk kelompok dosis IV yaitu :

$$12 \text{ ekor tikus} \times 3 \text{ ml} = 36 \text{ ml per hari}$$

Pembuatan larutan CMC 0,5% setiap harinya membutuhkan 81 ml yang dilebihkan 9 ml sehingga volume yang dibuat setiap hari sebanyak 90 ml. Jadi, CMC yang ditimbang adalah sebesar 0,5% dari total volume, yaitu 450 mg. CMC yang telah ditimbang dikembangkan terlebih dahulu dengan air panas ($\pm 80^{\circ}\text{C}$) sebanyak 20 kali bobot CMC pada lumpang selama 30 menit. Setelah itu, CMC digerus homogen dan ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit sampai batas volume, yaitu 90 ml.

Lampiran 3

Cara Perhitungan Regresi Linier untuk Mendapatkan Persamaan Garis $y = a + bx$

a dan b adalah bilangan konstanta garis lurus 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 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 $r = 1$ maka koefisien 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 adalah sebagai berikut :

$$y = 6,3518 \cdot 10^{-3} + 1,8639 \cdot 10^{-3} x$$

Contoh :

Serapan yang diperoleh (y) = 0.099

$$\begin{aligned} \text{Jadi, aktivitas ALT plasma (x)} &= \frac{(0,099 + 6,3518 \cdot 10^{-3})}{1,8639 \cdot 10^{-3}} \\ &= 56,522 \text{ U/l} \end{aligned}$$

Lampiran 5

Perhitungan Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma

Penentuan aktivitas alkali fosfatase plasma dihitung berdasarkan rumus :

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas alkali fosfatase} &= \text{ÄA/ min} \times \text{faktor konversi} \\ &= \text{ÄA/ min} \times 2760\end{aligned}$$

Contoh :

$$\text{Serapan pada menit ke-1} = 0,2$$

$$\text{Serapan pada menit ke-2} = 0,35$$

$$\text{Serapan pada menit ke-3} = 0,5$$

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas alkali fosfatase} &= \frac{(0,5 - 0,2)}{3 - 1} \times 2760 \\ &= 414 \text{ U/l}\end{aligned}$$

Lampiran 6

Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal

Ha = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak terdistribusi normal

Signifikansi : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Shapiro-Wilk			
Kelompok	Statistic	dF	Sig.
I	0,952	6	0,754
II	0,887	6	0,304
III	0,822	6	0,910
IV	0,886	6	0,299

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

Seluruh data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal.

Lampiran 7

Uji Homogenitas *Lavene* terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui kesamaan variansi dari data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen

Ha = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak bervariasi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Lavene Statistic	df1	df2	Sig.
0,869	3	20	0,474

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,474) $>$ 0,05; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen.

Lampiran 8

Uji Analisis Variansi Satu Arah terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas ALT plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis

Hipotesis :

Ho = tidak ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Ha = ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	Df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	704,716	3	234,905	1,455	0,257
Dalam kelompok	3228,136	20	161,407		
Total	3932,852	23			

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,257) $>$ 0,05; maka Ho diterima.

Kesimpulan : tidak ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis



Lampiran 9

Uji Normalitas Shapiro-Wilk terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal

Ha = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak terdistribusi normal

Signifikansi : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Shapiro-Wilk			
Kelompok	Statistic	dF	Sig.
I	0,901	6	0,378
II	0,976	6	0,931
III	0,849	6	0,154
IV	0,975	6	0,925

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Seluruh data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal.

Lampiran 10

Uji Homogenitas *Lavene* terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui kesamaan variansi dari data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen

Ha = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak bervariasi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Lavene Statistic	df1	df2	Sig.
1,510	3	20	0,242

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,242) > 0.05; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen.

Lampiran 11

Uji Analisis Variansi Satu Arah terhadap Aktivitas ALT Plasma pada Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas ALT plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis

Hipotesis :

Ho = tidak ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Ha = ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	302,331	3	100,777	0,443	0,725
Dalam kelompok	4548,418	20	227,421		
Total	4850,749	23			

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,725) $>$ 0,05; maka Ho diterima.

Kesimpulan : tidak ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas ALT plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis.



Lampiran 12

Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal

Ha = data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak terdistribusi normal

Signifikansi : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Shapiro-Wilk			
Kelompok	Statistic	dF	Sig.
I	0,849	6	0,154
II	0,923	6	0,524
III	0,890	6	0,316
IV	0,980	6	0,952

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Seluruh data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal.

Lampiran 13

Uji Homogenitas *Lavene* terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui kesamaan variansi dari data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen

Ha = data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak bervariasi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Lavene Statistic	df1	df2	Sig.
0,411	3	20	0,747

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,747) > 0,05; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen.

Lampiran 14

Uji Analisis Variansi Satu Arah terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis

Hipotesis :

Ho = tidak ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Ha = ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig,
Antar kelompok	9979,691	3	3326,564	0,099	0,960
Dalam kelompok	674921,264	20	33746,063		
Total	684900,955	23			

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,960) $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : tidak ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis



Lampiran 15

Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal

Ha = data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak terdistribusi normal

Signifikansi : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Shapiro-Wilk			
Kelompok	Statistic	dF	Sig.
I	0,889	6	0,313
II	0,957	6	0,800
III	0,897	6	0,358
IV	0,949	6	0,735

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Seluruh data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal.

Lampiran 16

Uji Homogenitas *Lavene* terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui kesamaan variansi dari data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen

Ha = data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak bervariasi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Lavene Statistic	df1	df2	Sig.
1,127	3	20	0,352

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,352) $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen.

Lampiran 17

Uji Analisis Variansi Satu Arah terhadap Aktivitas Alkali Fosfatase Plasma pada Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis

Hipotesis :

Ho = tidak ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Ha = ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	127817,615	3	42605,872	1,831	0,174
Dalam kelompok	465317,922	20	23265,896		
Total	593135,537	23			

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,174) > 0,05; maka Ho diterima.

Kesimpulan : tidak ada perbedaan secara bermakna pada data aktivitas alkali fosfatase plasma tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis.



Lampiran 18

Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis pada Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui distribusi data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal

Ha = data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan aktivitas pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak terdistribusi normal

Signifikansi : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Shapiro-Wilk			
Kelompok	Statistic	dF	Sig.
I	0,881	6	0,275
II	0,922	6	0,521
III	0,848	6	0,151
IV	0,851	6	0,160

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Seluruh data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal.

Lampiran 19

Uji Homogenitas *Lavene* terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis pada Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui kesamaan variansi dari data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen

Ha = data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak bervariasi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Lavene Statistic	df1	df2	Sig.
1,090	3	20	0,376

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,376) $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen.

Lampiran 20

Uji Analisis Variansi Satu Arah terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis Tikus Putih Jantan pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis

Hipotesis :

Ho = tidak ada perbedaan secara bermakna pada data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Ha = ada perbedaan secara bermakna pada data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	Df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	20,728	3	6,909	0,247	0,863
Dalam kelompok	559,659	20	27,983		
Total	580,386	23			

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,863) $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : tidak ada perbedaan secara bermakna pada diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis.



Lampiran 21

Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis pada Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui distribusi data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal

Ha = data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina aktivitas pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak terdistribusi normal

Signifikansi : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Shapiro-Wilk			
Kelompok	Statistic	dF	Sig.
I	0,941	6	0,663
II	0,899	6	0,365
III	0,931	6	0,930
IV	0,918	6	0,491

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Seluruh data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan terdistribusi normal.

Lampiran 22

Uji Homogenitas *Lavene* terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis pada Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui kesamaan variansi dari data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan

Hipotesis :

Ho = data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen

Ha = data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan tidak bervariasi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

Lavene Statistic	df1	df2	Sig.
0,185	3	20	0,905

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,905) $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : Data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan bervariasi homogen.

Lampiran 23

Uji Analisis Variansi Satu Arah terhadap Diameter Rata-rata Vena Sentralis Tikus Putih Betina pada hari ke-91 Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis

Hipotesis :

Ho = tidak ada perbedaan secara bermakna pada data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Ha = ada perbedaan secara bermakna pada data diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P > 0,05$; maka Ho diterima dan Ha ditolak

Jika $P < 0,05$; maka Ho ditolak dan Ha diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	39,608	3	13,023	0,422	0,739
Dalam kelompok	617,510	20	30,875		
	656,577	23			

Nilai P (signifikansi) data seluruh kelompok uji (0,739) $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan : tidak ada perbedaan secara bermakna pada diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina pada hari ke-91 setelah perlakuan berdasarkan kelompok dosis.

