

**PENGARUH PEMBERIAN JAMU "K" TERHADAP ORGAN JANTUNG TIKUS
PUTIH DITINJAU DARI AKTIVITAS ASPARTAT AMINOTRANSFERASE DAN
KREATIN KINASE PLASMA SERTA GAMBARAN HISTOLOGIS JANTUNG**

LINA NADHILAH

0305050388



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

DEPOK

2009

**PENGARUH PEMBERIAN JAMU "K" TERHADAP ORGAN JANTUNG TIKUS
PUTIH DITINJAU DARI AKTIVITAS ASPARTAT AMINOTRANSFERASE DAN
KREATIN KINASE PLASMA SERTA GAMBARAN HISTOLOGIS JANTUNG**

Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Farmasi

Oleh:

LINA NADHILAH

0305050388



DEPOK

2009

SKRIPSI : PENGARUH PEMBERIAN JAMU "K" TERHADAP ORGAN
JANTUNG TIKUS PUTIH DITINJAU DARI AKTIVITAS ASPARTAT
AMINOTRANSFERASE DAN KREATIN KINASE PLASMA SERTA
GAMBARAN HISTOLOGIS JANTUNG

NAMA : LINA NADHILAH

NPM : 0305050388

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009



Dra. AZIZAHWATI, MS., Apt.

PEMBIMBING I




SANTI PURNA SARI, S.Si., M.Si.

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana: 10-7-2009

Penguji I : Dr. Harmita, Apt. ()

Penguji II : Dra. Juheini, M.Si. ()

Penguji III : Dr. Berna Elya, M.Si. ()

"Hendaklah kamu selalu mengingat Allah, pasti kamu mendapati-Nya di hadapanmu. Hendaklah kamu mengingat Allah di waktu lapang (senang), niscaya Allah akan mengingat kamu di waktu sempit (susah). Ketahuilah bahwa apa yang semestinya tidak menimpa kamu, tidak akan menimpamu, dan apa yang semestinya menimpamu tidak akan terhindar darimu.

Ketahuilah sesungguhnya kemenangan menyertai kesabaran dan sesungguhnya kesenangan menyertai kesusahan dan kesulitan"

(My Second Love)

Seringkali kita bertanya kenapa Tuhan membiarkan kita melalui masa-masa yang sulit dan tidak menyenangkan. Tapi Tuhan tahu, jika Dia membiarkan semuanya terjadi satu per satu sesuai dengan rancangan-Nya, segala sesuatunya akan menjadi sempurna tepat pada waktunya.

Kita hanya perlu percaya bahwa proses ini diperlukan untuk menyempurnakan hidup kita.

Kepada kalian yang aku sayang dan menyayangiku:

Tersenyumlah dan terus berjuang,

karena dunia memang tak seindah surga.. J

KATA PENGANTAR

Segala puji serta syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang senantiasa mencurahkan nikmat dan karunia-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Shalawat serta salam semoga selalu tercurah kepada manusia paling agung sepanjang sejarah, Muhammad SAW, yang menjadi sumber inspirasi penulis dalam kehidupan ini.

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dra. Azizahwati, MS., Apt. selaku pembimbing akademik sekaligus pembimbing I dan Ibu Santi Purna Sari, S.Si., M.Si. selaku pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam proses penelitian tugas akhir dan penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS. selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Ibu Dr. Retnosari Andrajati selaku kepala Laboratorium Farmakologi dan Bapak Drs. Hayun, MS. selaku kepala Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan izin penggunaan fasilitas laboratorium terkait. Terimakasih juga kepada Bapak Dr. Dadang Kusmana yang telah membantu mengarahkan penulis dalam pembuatan dan pengamatan preparat jantung.
4. Orang tua tercinta yang selalu mendoakan dan memberikan inspirasi untuk tetap teguh dan sabar dalam menjalani hidup. Terima kasih atas

doa, cinta, perhatian, keikhlasan, dan dukungan materi kalian. Aku sangat sayang kalian. Terima kasih pula untuk kakak-kakak dan adik-adikku yang telah mendukung aku selama penelitian dan penyusunan tugas akhir ini. Aku sayang kalian semua.

5. Teman-teman Farmasi UI angkatan 2005 yang telah mendukung dan mendoakanku terutama selama masa penelitian dan penyusunan tugas akhir ini. Perjuangan kita masih panjang.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Tersenyumlah dan terus berjuang!

Penulis

2009

ABSTRAK

Jamu "K" yang mengandung ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) dan daun mimba (*Azadirachta indica*) secara empiris digunakan untuk terapi kanker. Oleh karena obat antikanker umumnya digunakan dalam jangka waktu panjang, maka penelitian tentang keamanannya terhadap organ vital tubuh perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian jamu "K" peroral selama 90 hari terhadap organ jantung tikus putih dilihat dari aktivitas aspartat aminotransferase (AST) dan kreatin kinase (CK) plasma serta gambaran histologis jantung. Hewan uji yang digunakan adalah 48 ekor tikus putih (*Ratus norvegicus* L) galur *Sprague Dawley* yang dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan. Kelompok I sampai III diberi bahan uji dengan dosis sebesar 1980 mg/kg bb, 3960 mg/kg bb, dan 7920 mg/kg bb. Kelompok IV, sebagai kontrol, diberi larutan CMC 0,5%. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada aktivitas AST dan CK plasma serta gambaran histologis jantung antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol.

Kata kunci:

Aspartat aminotransferase; jantung; kreatin kinase; mimba; temu putih.

x + 95 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi: 34 (1957-2008)

ABSTRACT

Jamu "K" which contains *Curcuma zedoaria* Rhizomae extract and *Azadirachta indica* Leaf extract has been used for cancer therapy empirically. Anticancer drug is usually used for long time, so examination of its safety on vital organ is have to be done. This experiment was aimed to determine the effect of giving *jamu* "K" per oral for 90 days on heart of white rats based on activities of aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase (CK) plasma and heart histology. This experiment used 48 *Sprague Dawley* strain white rats (*Ratus norvegicus* L) which were divided into four groups. Group I until group III were given with *jamu* "K" solution with dosage for each group was 1980 mg/kg body weight (bw), 3960 mg/kg bw, and 7920 mg/kg bw. Group IV was control group which was given with 0,5% CMC solution. The ANAVA test result showed that there was not significantly difference in activities of AST and CK plasma and the heart histology between the dosage groups and control group.

Key words:

Aspartate aminotransferase; *Azadirachta indica*; creatine kinase; *Curcuma zedoaria*; heart.

x + 95 pages; pictures; tables; appendixes.

Bibliography: 34 (1957-2008)

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	3
C. Hipotesis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Uji Keamanan Obat Tradisional	5
B. Temu Putih	7
C. Mimba	10
D. Jantung	13
E. Aspartat Aminotransferase	16
F. Kreatin Kinase	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Lokasi dan Waktu Penelitian	20
B. Alat	20

C. Bahan	21
D. Cara Kerja	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
A. Hasil	37
B. Pembahasan	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	47
A. Kesimpulan	47
B. Saran	47
DAFTAR ACUAN	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun zat aktif dalam rimpang temu putih	8
2. Rumus bangun Nimbolid	11
3. Kurva kalibrasi aspartat aminotransferase pada λ 505 nm dengan persamaan garis $y = 0,01903 + 0,002755x$ dan $r = 0,9928$	52
4. Diagram aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih setelah perlakuan selama 90 hari	53
5. Diagram aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih setelah perlakuan selama 90 hari	54
6. Reaksi pembentukan asam oksaloasetat dan asam glutamat yang dikatalisis oleh enzim aspartat aminotransferase	55
7. Reaksi pembentukan 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon pada pengukuran AST secara kolorimetri	55
8. Reaksi pembentukan kreatin fosfat dan ADP dari kreatin dan ATP yang dikatalis oleh kreatin kinase	56
9. Reaksi penentuan aktivitas kreatin kinase	56
10. Gambar mikroskopik miokardium tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 x.....	57
11. Gambar mikroskopik miokardium tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 x	58
12. Serbuk jamu "K"	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil pengukuran serapan larutan standar piruvat dan dapar fosfat dalam berbagai perbandingan konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi aspartat aminotransferase.....	61
2. Tahap pengukuran aspartat aminotransferase plasma	62
3. Nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	63
4. Nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	64
5. Nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	65
6. Nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan bahan uji dan cara pembuatan larutan uji jamu “K”	68
2. Cara perhitungan nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma	70
3. Cara perhitungan aktivitas kreatin kinase plasma	71
4. Uji normalitas <i>shapiro-wilk</i> terhadap nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	72
5. Uji homogenitas <i>levene</i> terhadap data nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	74
6. Uji analisis variansi satu arah terhadap data nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	76
7. Uji normalitas <i>shapiro-wilk</i> terhadap nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	78
8. Uji homogenitas <i>levene</i> terhadap data nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	80
9. Uji analisis variansi satu arah terhadap data nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	82

10. Uji normalitas <i>shapiro-wilk</i> terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	84
11. Uji homogenitas <i>levene</i> terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	86
12. Uji analisis variansi satu arah terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	88
13. Uji normalitas <i>shapiro-wilk</i> terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	90
14. Uji homogenitas <i>levene</i> terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	92
15. Uji analisis variansi satu arah terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	94

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, dan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan. Pada dasarnya pemakaian obat tradisional mempunyai beberapa tujuan yaitu untuk pemeliharaan kesehatan, pencegahan penyakit, pengobatan penyakit dan untuk pemulihan kesehatan (1).

Jamu "K" adalah salah satu obat tradisional yang secara empiris telah digunakan sebagai obat antikanker. Jamu "K" mengandung ekstrak rimpang temu putih dan ekstrak daun mimba.

Temu putih telah terbukti efektif menghambat pertumbuhan sel kanker. Ekstrak etanol rimpang temu putih menunjukkan aktivitas menghambat sel *line* kanker ovarium manusia. Kurkumin, salah satu kandungan temu putih, telah diteliti mampu menekan proliferasi sel kanker. Minyak atsirinya menunjukkan efek antiinflamasi pada udem kaki tikus betina galur Wistar yang diinduksi Karagenan, mampu menghambat aktivitas enzim siklooksigenase, dan mempunyai aktivitas hepatoprotektor. Selain itu, ekstrak etanol rimpang temu putih mampu menghambat proses

karsinogenesis pada mencit betina yang diinduksi Benzo(a)Piren secara signifikan pada dosis 750 mg/kg bb (2).

Ekstrak daun mimba dilaporkan memiliki aktivitas immunostimulan, hepatoprotektif, antioksidan, dan antikanker (3). Daun mimba mengandung senyawa aktif nimboldid yang menunjukkan efek sitotoksik terhadap berbagai sel line kanker *in vitro* (4). Senyawa flavonoid yang terdapat di dalam daun mimba dilaporkan memiliki aktivitas antiulcer, antiinflamasi, dan antioksidan (5). Mimba juga memiliki efek kemopreventif terhadap tumor perut diinduksi Benzo(a)Piren (3).

Setiap obat yang digunakan pada fasilitas kesehatan harus memenuhi persyaratan aman, bermanfaat, dan sudah terstandarisasi yang secara medis harus dapat dipertanggungjawabkan. Untuk mencapai hal itu perlu dilakukan pengujian ilmiah tentang khasiat, kemanan, dan standar kualitasnya (1).

Penelitian yang dilakukan terhadap khasiat dan toksisitas akut masing-masing komponen dalam jamu "K" telah dilakukan, namun penelitian terhadap uji keamanan subkronisnya belum dilakukan. Oleh karena obat antikanker umumnya digunakan dalam jangka waktu panjang, maka uji keamanan subkronis jamu "K" perlu dilakukan. Obat antikanker diharapkan memiliki toksisitas selektif, yaitu menghancurkan sel kanker tanpa merusak jaringan normal. Salah satu uji keamanan yang perlu diteliti adalah uji keamanan terhadap organ jantung karena jantung merupakan salah satu organ vital dalam tubuh. Jantung dapat dirusak oleh zat kimia toksik dengan

tipe utama kerusakan berupa infark miokard. Enzim-enzim yang terdapat dalam jantung akan keluar pada keadaan infark miokard (6,7).

Penelitian sebelumnya menyatakan pemberian larutan ekstrak etanol rimpang temu putih sampai dengan peringkat dosis 21,26 g tidak mempengaruhi sistem kardiovaskular. Pada hasil pemeriksaan patologi terhadap organ-organ penting tikus jantan (paru-paru, jantung, hati, limpa, ginjal, lambung, dan usus) tidak ditemukan adanya perubahan yang berarti (8). Pada penelitian lain disebutkan bahwa dosis ekstrak mimba hingga 2,5 g/kg (pemberian tunggal) atau 1 g/kg (pemberian selama 28 hari) tidak menyebabkan mortalitas atau perubahan histologis pada ginjal, hati, testis atau kelenjar adrenal walaupun ia cenderung meningkatkan berat dari organ-organ tersebut (5). Pada penelitian ini akan dilihat pengaruh pemberian jamu "K" (yang mengandung temu putih dan mimba) per oral selama 90 hari terhadap organ jantung tikus putih ditinjau dari aktivitas aspartat aminotransferase dan kreatin kinase plasma serta gambaran histologis jantung.

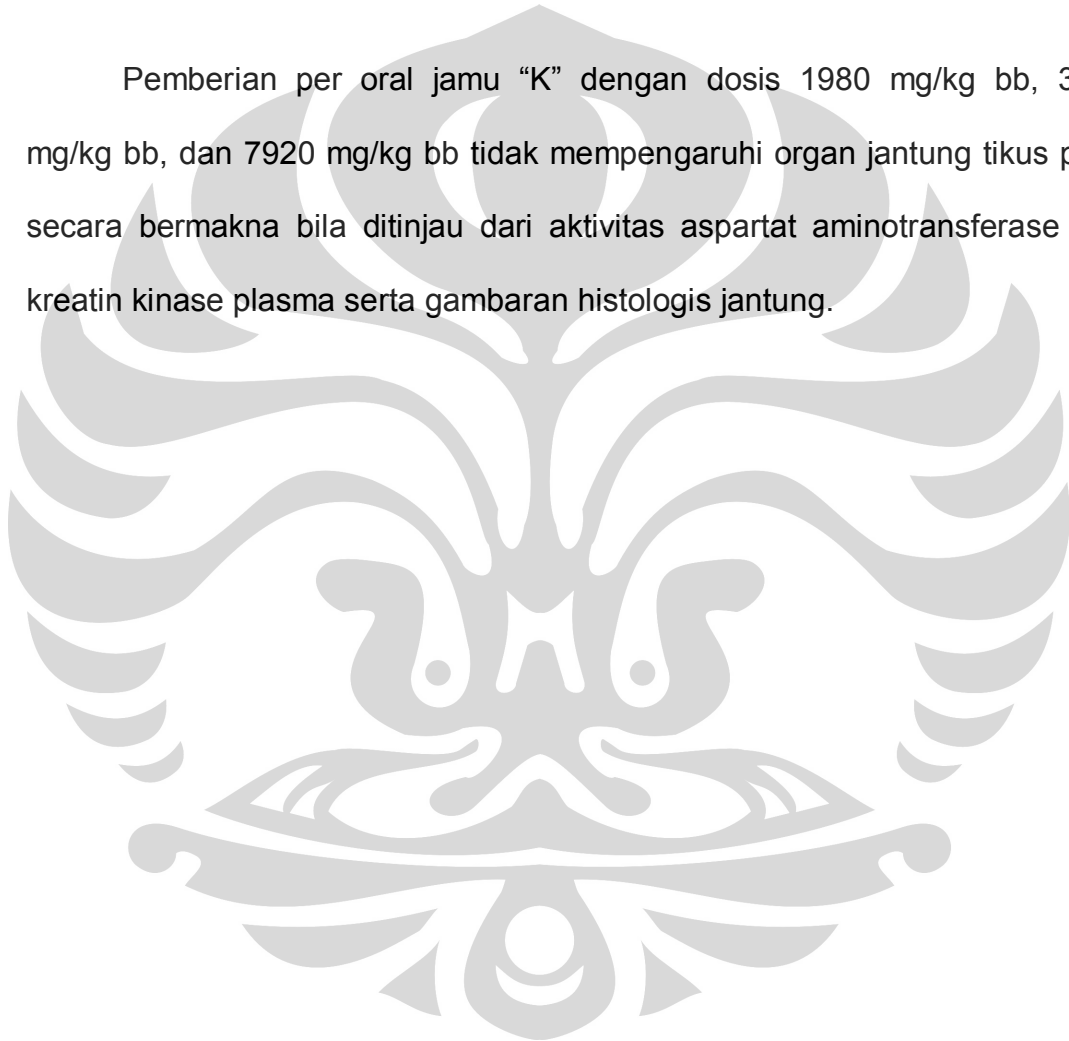
B. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jamu "K" per oral dengan dosis 1980 mg/kg bb, 3960 mg/kg bb, dan 7920 mg/kg bb terhadap organ jantung tikus putih ditinjau dari aktivitas aspartat

aminotransferase dan kreatin kinase plasma serta pengamatan gambaran histologis jantung.

C. HIPOTESIS

Pemberian per oral jamu “K” dengan dosis 1980 mg/kg bb, 3960 mg/kg bb, dan 7920 mg/kg bb tidak mempengaruhi organ jantung tikus putih secara bermakna bila ditinjau dari aktivitas aspartat aminotransferase dan kreatin kinase plasma serta gambaran histologis jantung.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. UJI KEAMANAN OBAT TRADISIONAL

Pada hakikatnya obat tradisional diteliti dan dikembangkan untuk dimanfaatkan sebagai obat untuk manusia sehingga uji toksisitas obat tradisional harus mampu mengungkapkan keamanannya terkait dengan maksud penggunaannya (1). Pengujian toksisitas umum dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis, dan uji toksisitas kronis (9).

Uji toksisitas akut dilakukan dengan memberikan bahan uji sebanyak satu atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam (9). Tujuan uji toksisitas akut suatu obat tradisional adalah untuk menetapkan potensi toksisitas akut (LD_{50}), menilai berbagai gejala klinis, spektrum efek toksik, dan mekanisme kematian (1).

Uji toksisitas jangka panjang (mencakup subkronis dan kronis) bertujuan untuk menguji keamanan obat dan mengetahui hubungan dosis dan toksisitas pada pemberian berulang dalam jangka waktu lama dengan mengamati perubahan dan kelainan khusus di organ atau sistem organ tertentu. Uji toksisitas subkronis dilakukan selama jangka waktu sekitar 10% dari usia hidup hewan atau sekurang-kurangnya satu sampai tiga bulan,

sedangkan uji toksisitas kronis dilakukan sekurang-kurangnya tiga sampai enam bulan (1, 9).

Hewan coba yang digunakan pada uji toksisitas jangka panjang dapat berupa tikus atau anjing (9). Uji toksisitas obat tradisional umumnya menggunakan tikus dewasa muda dan mencakup kedua jenis kelamin yang terbagi ke dalam beberapa kelompok perlakuan, biasanya digunakan 4-6 kelompok tikus (1). Jumlah hewan dalam tiap kelompok perlakuan minimal terdiri atas 10 ekor tikus jantan dan 10 ekor tikus betina atau ditentukan dari rumus empiris Federer berikut (1, 10).

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


dimana t adalah jumlah beda kelompok perlakuan, dan n adalah jumlah ulangan tikus (10). Pengelompokan hewan coba dapat dengan menggunakan metode Sampel Acak Sederhana, yaitu penarikan sampel dimana pemilihan sampel dilakukan sedemikian rupa sehingga setiap elemen memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih. Cara pengundian umum dilakukan bila jumlah populasi sedikit, sedangkan pada populasi yang besar digunakan tabel bilangan acak (11).

Pada pengujian toksisitas obat tradisional umumnya digunakan tiga tingkatan dosis dimana dosis terendah ditentukan berdasarkan dosis empirik yang sesuai dengan spesies yang digunakan dalam pengujian. Dosis ditingkatkan berdasarkan faktor logaritmik atau dengan rasio tertentu sampai batas yang masih dimungkinkan untuk diberikan (1).

B. TEMU PUTIH

1. Taksonomi

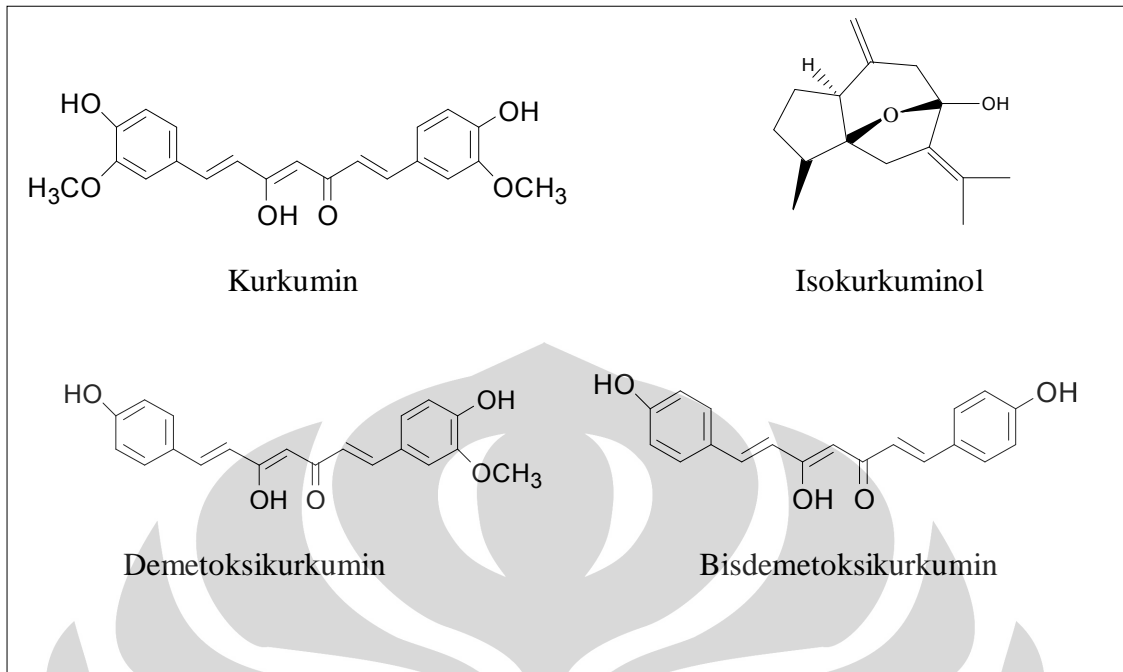
Jamu "K" mengandung temu putih yang memiliki klasifikasi sebagai berikut (12):



Dunia	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Zingiberaceae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma zedoaria</i> (Berg.) Roscoe
Nama umum	: Temu putih

2. Kandungan

Rimpang *Curcuma zedoaria* mengandung minyak atsiri, kurkuminoid, dan polisakarida. Kurkuminoid yang telah diketahui meliputi: kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin (2). Ekstrak eter petroleum rimpang temu putih memiliki kandungan terbesar berupa isokurkuminol (13).



Gambar 1. Rumus bangun zat aktif dalam rimpang temu putih

3. Khasiat

Ekstrak etanol rimpang temu putih mampu menghambat pertumbuhan tumor paru pada mencit betina berusia 30 hari pada dosis 250 mg/kgBB (49,63%), dosis 500 mg/kgBB (73,33%), dan dosis 750 mg/kgBB (77,78%). Minyak atsiri sebagai komponen terbesar dalam rimpang temu putih mempunyai efek antiinflamasi dan efek antioksidan. Minyak atsirinya menunjukkan efek antiinflamasi pada udem kaki tikus betina galur Wistar yang diinduksi karagenan, mampu menghambat enzim siklooksigenase, dan mempunyai aktivitas hepatoprotektor (2). Ekstrak petroleum eter dari rimpang temu putih menunjukkan aktivitas sitotoksis terhadap sel kanker serviks manusia, dimana kandungan tertingginya berupa isokurkuminol (13).

Selain itu, kurkumin mampu menghambat produksi prostaglandin yang berperan dalam peningkatan proliferasi sehingga dapat menghambat proliferasi sel kanker (2).

4. Data Keamanan

Penelitian mengenai ketoksikan akut temu putih dilakukan terhadap 25 ekor tikus jantan galur Sprague Dawley yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol yang diberi larutan CMC Na 0,5%. Kelompok 2 sampai 5 diberi ekstrak etanol rimpang temu putih dengan dosis masing-masing sebesar 6,3; 94,5; 1417,5; dan 21262,5 mg/kg bb. Sebagian tikus dibunuh setelah 24 jam untuk pemeriksaan histologis, sebagian lainnya tetap disondekan bahan uji hingga 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan pemberian larutan ekstrak etanol rimpang temu putih sampai dengan peringkat dosis 21,26 g tidak mempengaruhi sistem kardiovaskular dan tidak terjadi kematian pada tikus yang disonde hingga hari ke-14. Pada hasil pemeriksaan patologi terhadap organ-organ penting tikus jantan (paru-paru, jantung, hati, limpa, ginjal, lambung, dan usus) tidak ditemukan adanya perubahan yang berarti (8).

C. MIMBA

1. Taksonomi

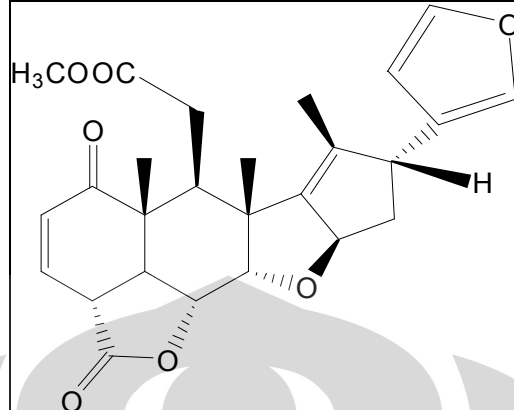
Selain temu putih, jamu "K" juga mengandung mimba yang memiliki klasifikasi sebagai berikut (12):



Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Sapindales
Suku : Meliaceae
Marga : Azadirachta
Jenis : *Azadirachta indica* A. Juss
Nama umum : Mimba

2. Kandungan

Daun mimba mengandung senyawa aktif nimbold yang menunjukkan efek sitotoksik terhadap berbagai sel line kanker *in vitro* (4). Daun mimba juga mengandung flavonoid, azadirachtin, dan β -sitosterol (5).



Gambar 2. Rumus bangun Nimboldin

3. Khasiat

Ekstrak daun mimba dilaporkan bersifat nontoksik dan nonmutagenik serta memiliki aktivitas immunostimulan, hepatoprotektif, antioksidan, dan antikanker (3). Senyawa nimboldin menunjukkan efek sitotoksik terhadap berbagai sel line kanker *in vitro*. Pemberian nimboldin menghambat perkembangan kanker kantung *buccal* hamster yang diinduksi 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) pada dosis 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bb (4). Senyawa flavonoid yang terdapat di dalam daun mimba dilaporkan memiliki aktivitas *antiulcer*, antiinflamasi, dan antioksidan (5). Mimba juga memiliki efek kemopreventif terhadap tumor perut diinduksi Benzo(a)Piren berdasarkan penelitian menggunakan mencit betina yang dibagi ke dalam kelompok perlakuan dimana tiap kelompok terdiri dari 10-12 ekor mencit. Kejadian tumor ditemukan 100% pada kelompok mencit yang hanya menerima B(a)P.

Pemberian ekstrak air daun mimba mengurangi kejadian tumor menjadi 58,4% (3).

4. Data Keamanan

Data Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol 50% daun mimba per intra peritoneal pada mencit menunjukkan nilai LD₅₀ sebesar 681 mg/kg berat badan (14). Pada bulan Juli tahun 2001 dilakukan penelitian mengenai toksisitas ekstrak daun mimba pada anakan siput murbei. Daun mimba dicampur dan dilarutkan dalam aquades kemudian disaring hingga dicapai konsentrasi perlakuan sebesar 0% (b/v), 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, dan 27,5%. Tiap konsentrasi dimasukkan ke dalam media kultur yang mengandung anakan siput murbei. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan, masing-masing dengan 20 anakan. Tolok ukur yang digunakan adalah kematian anakan setelah 24 jam perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba bersifat toksik pada anakan siput murbei dengan nilai LC₅₀ sebesar 25,64873% (15).

Penelitian lainnya dilakukan terhadap mencit putih galur Charles-Foster (10 ekor untuk tiap jenis kelamin) menggunakan dosis 200, 500, 1000 and 2500 mg/kg. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap perubahan perilaku hewan atau mortalitas. Penelitian toksisitas subakut dilakukan terhadap tikus yang diberikan ekstrak mimba per oral dengan dosis 1000 mg/kg per hari selama 4 minggu. Asupan makanan dan minuman,

perubahan berat badan, serta mortalitas diamati seminggu sekali selama 4 minggu. Setelah 4 minggu, tikus dikorbankan dengan cara dekapitasi (pemenggalan leher). Darah diambil untuk pengamatan hematologi dan serum digunakan untuk pengukuran enzim serta analisis lainnya dengan prosedur standar menggunakan kit komersil. Organ-organ tubuh tikus diambil, ditimbang, dan diawetkan untuk pengamatan histopatologis. Analisis statistik menggunakan Analisis Varians (ANOVA) Satu Arah menyatakan bahwa dosis ekstrak mimba hingga 2,5 g/kg (pemberian tunggal) atau 1 g/kg (pemberian selama 28 hari) tidak menyebabkan mortalitas atau perubahan histologis pada ginjal, hati, testis atau kelenjar adrenal; walaupun ia cenderung meningkatkan berat dari organ-organ tersebut (5).

D. JANTUNG

1. Anatomi Umum

Jantung adalah organ berotot berongga yang terletak di rongga toraks (dada) sekitar garis tengah antara sternum (tulang dada) di sebelah anterior dan vertebra (tulang punggung) di sebelah posterior. Jantung dibagi menjadi separuh kanan dan kiri serta memiliki empat ruang (bagian atas dan bawah di masing-masing belahan kanan dan kiri). Ruang bagian atas disebut atrium, sedangkan bagian bawah disebut ventrikel. Antara atrium dan ventrikel terdapat katup atrioventrikel (AV). Katup AV sebelah kanan disebut katup

trikuspid karena terdiri dari tiga daun katup, sedangkan katup AV sebelah kiri disebut katup bikuspid karena terdiri dari dua daun katup (16).

Dinding jantung terdiri dari 3 lapisan berbeda, yaitu endokardium, miokardium, dan epikardium. Endokardium merupakan lapisan tipis endotelium, yaitu suatu jaringan epitel unik yang melapisi bagian dalam seluruh sistem sirkulasi. Miokardium merupakan lapisan tengah yang terdiri dari otot jantung yang membentuk sebagian besar dinding jantung. Epikardium merupakan membran tipis di bagian luar yang membungkus jantung (16).

2. Miokardium

Miokardium (otot jantung) terdiri dari berkas-berkas serat otot jantung yang saling menjalin dan tersusun secara spiral melingkari jantung (17). Serat lintang otot jantung serupa dengan otot rangka dan terdapat garis-garis yang berupa garis potong fibril yang menghubungkan filamen-filamen tipis (17).

Sel-sel otot jantung memiliki banyak mitokondria, organel energi yang bergantung oksigen, sehingga jantung sangat bergantung pada metabolisme aerobik untuk menghasilkan energi yang diperlukan untuk berinteraksi. Otot jantung juga memiliki banyak mioglobin yang menyimpan oksigen dalam jumlah terbatas di dalam jantung. Setelah lahir tidak ada sel otot jantung baru yang dibuat. Setiap pembesaran jantung yang terjadi disebabkan oleh

hipertrofi jantung yang terjadi sebagai respon terhadap peningkatan kerja yang dibebankan pada jantung (16).

Jantung memiliki suatu sistem penghantar khusus untuk mempermudah dan mengkoordinasikan transmisi eksitasi listrik dari atrium ke ventrikel. Adanya sistem hantaran antara atrium dan ventrikel menyebabkan sebuah impuls yang secara spontan timbul di salah satu bagian jantung akan menyebar ke seluruh jantung. Dengan demikian, serat-serat otot jantung akan seluruhnya berkontraksi atau tidak sama sekali (16).

3. Infark Miokard

Infark miokard merupakan tipe utama dari kerusakan jantung secara degeneratif (6). Infark miokard adalah kematian sel-sel miokardium yang terjadi akibat kekurangan oksigen berkepanjangan. Sel-sel miokardium mulai mati setelah sekitar 20 menit mengalami kekurangan oksigen. Setelah periode ini, kemampuan sel untuk menghasilkan ATP secara aerob lenyap sehingga sel tidak dapat memenuhi kebutuhannya. Tanpa ATP, pompa natrium-kalium berhenti dan sel akan terisi ion natrium serta air yang akhirnya menyebabkan sel pecah. Dengan lisis, sel akan melepaskan simpanan kalium intrasel dan enzim-enzim intrasel (18). Enzim-enzim yang dilepaskan terdiri dari kreatin kinase, aspartat aminotransferase, dan laktat dehidrogenase. Enzim yang paling spesifik dalam mengidentifikasi infark miokard adalah kreatin kinase karena memiliki berat molekul yang lebih kecil

dan tidak terdapat di hati. Aspartat aminotransferase dapat dipengaruhi oleh keadaan organ hati, dan laktat dehidrogenase memiliki peningkatan aktivitas yang relatif lambat (6, 17, 19). Protein-protein intrasel mulai mendapat akses ke sirkulasi sistemik dan ruang interstisium ketika terjadi lisis sehingga ikut menyebabkan edema dan pembengkakan interstisium di sekitar sel miokardium (18).

Pada pengamatan mikroskopik histologis miokardium, mula-mula batas antara daerah normal dan infark tidak terlalu jelas. Setelah 24 jam, bagian yang terkena infark akan tampak lebih pucat. Setelah beberapa hari, bagian pucat tersebut akan tampak kuning putih dan timbul sel polimorfonuklear. Bagian yang terkena infark akan mengalami fibrosis hingga beberapa minggu. Fibrosis dimulai dari tepi dan kemudian masuk ke dalam pusat nekrosis sehingga nekrosis digantikan oleh jaringan parut yang pucat. Miokard yang mengalami infark juga tampak berkerut, selain berwarna pucat, sehingga terdapat cekungan pada permukaan alat tubuh yang terkena (20).

E. ASPARTAT AMINOTRANSFERASE

Aspartat aminotransferase (AST) atau glutamat oksaloasetat transaminase (GOT) adalah enzim intrasel pertama yang membuktikan bahwa peningkatan aktivitas enzim intrasel dalam darah menunjukkan adanya kerusakan pada jaringan asal sumber enzim tersebut. AST terdapat

di dalam semua organ, terutama di otot jantung, hati, dan otot rangka, namun aktivitas spesifik tertinggi enzim AST ditemukan di jantung. Aktivitas AST dalam serum meningkat tajam pada penderita infark otot jantung (21, 22).

AST memiliki 2 isoenzim, yaitu isoenzim yang berasal dari sitoplasma dan berasal dari mitokondria. Enzim yang biasa terdapat dalam plasma dan meningkat aktivitasnya pada kerusakan ringan jaringan otot jantung adalah isoenzim yang berasal dari sitoplasma. Isoenzim dari mitokondria baru akan keluar ketika terjadi kerusakan otot jantung yang lebih mendalam (22).

AST mengkatalisis perpindahan gugus amino dari asam aspartat ke asam keto sehingga terbentuk asam glutamat dan asam oksaloasetat. AST memerlukan piridoksal fosfat sebagai koenzim (22).

Konsentrasi AST plasma orang sehat adalah sebesar 23 sampai 50 UI/l. Pada keadaan infark otot jantung, konsentrasi AST plasma dapat meningkat antara 4 sampai 10 kali batas tertinggi nilai normal. Aktivitas AST meningkat 4 jam setelah serangan infark miokard, mencapai puncaknya setelah 12-72 jam, dan kembali normal setelah 6-12 hari (21, 22). Metode yang digunakan dalam pengukuran AST pada penelitian ini adalah metode kolorimetri melalui reaksi pemasangan asam piruvat dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin untuk menghasilkan kompleks 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang akan diukur pada panjang gelombang 505 nm. Kelebihan metode ini adalah lebih sederhana dan relatif akurat (21, 23, 24).

F. KREATIN KINASE

Kreatin kinase (*Creatine Kinase / CK*) merupakan enzim spesifik otot yang mengkatalisis fosforilasi kreatin sehingga dapat menghasilkan ATP dari ADP (25). Pada otot, kreatin fosfat sangat penting untuk menyimpan energi yang siap pakai. Jika terjadi kontraksi otot, asam laktat akan terbentuk sebagai hasil metabolisme di dalam otot sehingga menurunkan pH otot. Akibatnya, kreatin fosfat akan menyerahkan gugus fosfat kembali ke ADP untuk membentuk ATP yang selanjutnya akan dipakai untuk kontraksi otot, seperti terlihat pada Gambar 8 (22, 24). Dalam klinik, kreatin kinase digunakan untuk mendeteksi penyakit otot akut atau kronis (25).

Jumlah kreatin kinase dalam darah pada keadaan normal adalah 10-50 IU/l pada suhu 30°C (21). Aktivitas tertinggi CK di dalam otot jantung adalah 470 U/g protein dan mempunyai berat molekul sebesar 85.000 dalton. Kreatin kinase adalah suatu protein dengan dua subunit yang masing-masing memiliki berat molekul sebesar 40.000 dalton. Ada dua jenis subunit, yaitu subunit B (*brain*, karena otak hanya mengandung subunit ini) dan subunit M (*muscle*, karena otot rangka hanya mengandung subunit ini). Ada tiga macam isoenzim CK yang terdapat dalam sitosol atau terikat ke bangunan miofibriler, yaitu CK 1 (CK BB), CK 2 (CK BM), dan CK 3 (CK MM) (24, 26).

Kerusakan otot jantung akan meningkatkan aktivitas CK, baik CK total maupun CK-2 di dalam serum, sehingga CK dapat menjadi parameter terjadinya kerusakan jantung. Aktivitas CK meningkat 3-15 jam setelah

serangan infark miokard, mencapai puncaknya setelah 24 jam, dan kembali normal dalam 3 hari kemudian (22, 27).

Prosedur yang paling sering dipilih dalam menentukan aktivitas CK adalah metode Oliver dan Rosalki yang menggunakan reaksi bolak-balik seperti terlihat pada Gambar 9. Prinsip dalam pengukuran aktivitas CK plasma adalah pembentukan kreatin dan ATP yang dikatalisis oleh kreatin kinase. ATP yang dihasilkan dengan glukosa membentuk glukosa-6-fosfat dengan dikatalisis oleh enzim heksokinase. Glukosa-6-fosfat ini dengan adanya enzim glukosa-6-fosfat dehidrogenase kemudian dioksidasi menjadi 6-fosfoglukonat disertai dengan reduksi NADP^+ menjadi NADPH. Kecepatan pembentukan NADPH sebanding dengan aktivitas kreatin kinase (21).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi dan Laboratorium Biologi Perkembangan Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia selama kurun waktu Februari-Mei 2009.

B. ALAT

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sonde lambung, penangas air, timbangan analitik (Mettler-Toledo dan Ohaus), pH-meter (Eutech), spektrofotometer (Genesys 20 dan Jasco V-530), sentrifugator (Biofuge 13, Heraeus Sepatech), pipet Eppendorf (Soccorex), alat-alat bedah, mikrohematokrit, mikroskop cahaya (Nikon SE), mikrotom putar (Spencer), parafin stretcher (Sakura), kuvet semimikro, mikrotube, dan alat-alat gelas.

C. BAHAN

1. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Ratus norvergicus* L) galur *Sprague Dawley* (SD) yang berumur lebih kurang 2 bulan dengan berat badan lebih kurang 200 gram. Tikus putih tersebut diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Jumlah tikus putih yang digunakan sebanyak 48 ekor, yaitu 24 ekor tikus putih jantan dan 24 ekor tikus putih betina.

2. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah sediaan jamu "K" yang diperoleh dari PT Industri Jamu Borobudur dalam bentuk serbuk kapsul. Serbuk jamu "K" mengandung ekstrak rimpang temu putih dan ekstrak daun mimba. Bahan uji diberikan per oral berupa suspensi serbuk jamu "K" dalam CMC 0,5%.

3. Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah CMC (Daiichi Kyogo Seikaku), asam klorida (Merck), kalium dihidrogen fosfat (Merck), dinatrium hidrogen fosfat (Merck), natrium hidroksida (Merck), asam α -ketoglutarat

(Sigma), asam L-aspartat (Merck), natrium piruvat (Merck), 2,4-dinitrofenilhidrazin (Sigma), reagen kit CK-NAC-SL (Elitech), heparin sodium (Pratapa Nirmala), dietil eter teknis, natrium klorida 0,9%.

Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan sediaan histologis jantung diperoleh dari Laboratorium Biologi Perkembangan Departemen Biologi FMIPA UI. Bahan-bahan tersebut terdiri dari etanol 70%, etanol 80%, etanol 96%, etanol absolut (Merck), formalin teknis, asam pikrat (Merck), asam asetat glasial (Merck), benzil benzoat (Merck), benzol, entelan, parafin, xilol (Merck), larutan Bouin (campuran dari 75 ml asam pikrat jenuh, 20 ml formalin, dan 5 ml asam asetat glasial), larutan eosin, larutan hematoksilin, albumin Mayers.

D. CARA KERJA

1. Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan empat kelompok perlakuan. Jumlah ulangan setiap kelompok terdiri atas 6 ekor tikus putih jantan dan 6 ekor tikus putih betina. Hal ini berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus empiris Federer, dimana jumlah kelompok perlakuan yang digunakan adalah empat ($t = 4$), maka:

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

$$(4-1)(n-1) \quad 15$$

$$n \quad 6$$

sehingga jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok (n) adalah 6 ekor.

Hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu selama 2 minggu di dalam kandang Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI sebelum diuji agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Hewan dikelompokkan di dalam kandang berdasarkan jenis kelamin. Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum hewan uji dengan melakukan penimbangan setiap satu minggu sekali. Tikus putih yang diikutsertakan dalam penelitian adalah tikus yang sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri dan bersih, mata jernih bersinar, tingkah laku normal, serta mengalami peningkatan berat badan dalam batas normal. Pengelompokkan hewan uji ke dalam kelompok perlakuan menggunakan metode Sampel Acak Sederhana dengan cara pengundian.

2. Penetapan Dosis Uji

Dosis yang digunakan berdasarkan dosis lazim untuk manusia yang tertera pada etiket sediaan jamu "K". Dosis lazim untuk manusia adalah sehari dua kali dua kapsul, dimana tiap kapsul mengandung 550 mg jamu, sehingga dosis yang digunakan manusia adalah 2200 mg/hari. Dosis uji untuk tikus diperoleh dengan mengalikan dosis manusia dengan faktor konversi untuk tikus dan faktor farmakokinetik. Faktor konversi dari manusia ke tikus 200 gram berat badan (bb) adalah 0,018; sedangkan faktor

farmakokinetiknya adalah 10. Adapun dosis II dan III dibuat dengan kelipatan 2 dan 4 dari dosis I. Berikut perhitungan lengkapnya.

$$\begin{aligned} \text{Dosis I} & : 1 \times 0,018/200 \text{ g bb tikus} \times 10 \times 2200 \text{ mg/hari} \\ & = 396 \text{ mg}/200 \text{ g bb tikus per hari} \\ & = 1980 \text{ mg/kg bb tikus per hari.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis II} & : 2 \times 0,018/200 \text{ g bb tikus} \times 10 \times 2200 \text{ mg/hari} \\ & = 792 \text{ mg}/200 \text{ g bb tikus per hari} \\ & = 3960 \text{ mg/kg bb tikus per hari.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis III} & : 4 \times 0,018/200 \text{ g bb tikus} \times 10 \times 2200 \text{ mg/hari} \\ & = 1584 \text{ mg}/200 \text{ g bb tikus per hari} \\ & = 7920 \text{ mg/kg bb tikus per hari.} \end{aligned}$$

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

3. Pembuatan Suspensi Bahan Uji

Suspensi bahan uji dibuat dengan menimbang sediaan jamu sesuai dosis yang akan digunakan lalu disuspensikan dalam larutan CMC 0,5 %. Cara dan volume pembuatan dapat dilihat pada Lampiran 1.

4. Pembuatan Larutan dan Perekasi

a. Pembuatan larutan asam klorida 1 N

Sebanyak 36,46 g asam klorida dilarutkan dalam aquades di dalam gelas piala, lalu volumenya dicukupkan hingga 1000 ml (28).

b. Pembuatan larutan natrium hidroksida 1 N

Sebanyak 40,00 g natrium hidroksida dilarutkan dalam aquades di dalam gelas piala, lalu volume dicukupkan hingga 1000 ml (28).

c. Pembuatan larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M

Dinatrium hidrogen fosfat sebanyak 5,962 gram dilarutkan dalam aquades di dalam gelas piala dan volumenya dicukupkan hingga 420 ml (28).

d. Pembuatan larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M

Kalium dihidrogen fosfat sebanyak 1,088 gram dilarutkan dalam aquades di dalam gelas piala dan volumenya dicukupkan hingga 80 ml (28).

e. Pembuatan dapar fosfat 0,1 M pH 7,4

Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M sebanyak 420 ml ditambahkan dengan 80 ml larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M. pH larutan disesuaikan sampai 7,4 (29).

f. Pembuatan larutan standar piruvat 2 ppm

Natrium piruvat sebanyak 22,0 mg dimasukkan ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan dengan dapar fosfat pH 7,4 hingga 100,0 ml (29).

g. Pembuatan substrat untuk pemeriksaan aspartat aminotransferase

Asam α -ketoglutarat sebanyak 29,2 mg dicampur dengan 2,66 g asam aspartat di dalam gelas piala kecil, lalu ditambah dengan larutan natrium hidroksida 1 N hingga larut. pH larutan disesuaikan hingga 7,4 lalu ditambahkan dapar fosfat hingga 100,0 ml di dalam labu ukur (29).

h. Pembuatan larutan reagen warna

Sebanyak 19,8 mg 2,4-dinitrofenilhidrazin ditambahkan dengan 100,0 ml larutan asam klorida 1 N di dalam labu ukur (29).

i. Pembuatan larutan pereaksi uji kreatin kinase (reagen kit)

Reagen kit *CK-NAC-SC Elitech* terdiri dari pereaksi R1 dan pereaksi R2. Pereaksi R1 mengandung:

Dapar Imidazol	125 mmol/l
Glukosa	25 mmol/l
Mg-Asetat	12,5 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
NADP	2,4 mmol/l
HK	6800 U/l

Adapun pereaksi R2 mengandung:

ADP	15,2 mmol/l
AMP	25 mmol/l
Diadenosine pentafosfat	103 μ mol/l
G-6-PDH	8800 U/l
N-asetilsistein	20 mmol/l
Kreatin fosfat	250 mmol/l

Sebanyak 4 bagian volume pereaksi R1 dicampurkan dengan 1 bagian volume pereaksi R2. Sediaan ini stabil selama dua minggu bila disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 2-8°C (30).

5. Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor tikus putih jantan dan 24 ekor tikus putih betina yang dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus putih jantan dan 6 ekor tikus putih betina. Kelompok satu merupakan kelompok yang diberi dosis satu. Kelompok dua adalah kelompok yang diberi dosis dua. Kelompok tiga diberi dosis tiga. Kelompok empat merupakan kelompok kontrol yang hanya diberi larutan CMC 0,5 %.

Suspensi bahan uji diberikan sebanyak satu kali setiap hari selama 90 hari. Suspensi bahan uji diberikan per oral menggunakan sonde lambung

dalam jumlah tertentu sesuai dengan dosis yang akan diberikan dan dengan berat badan tikus. Selama perlakuan, tikus diberi makan dan minum secara teratur. Pada hari ke-91 dilakukan pengambilan sampel darah dan organ jantung dari seluruh kelompok perlakuan.

6. Persiapan Sampel Uji

a. Pengambilan sampel darah dan pembuatan plasma

Tikus dianastesi terlebih dahulu dengan menggunakan dietil eter sebelum diambil sampel darahnya. Kemudian tikus dibaringkan searah horizontal dengan salah satu sisi kepala menghadap peneliti. Kulit di sekitar mata tikus direntangkan hingga bola mata tikus sedikit keluar. Setelah itu, mata tikus ditusuk pada bagian vena sinus orbitalis, yaitu pada sudut dalam bola mata dengan mengarah ke daerah belakang bola mata dengan menggunakan mikrohematokrit. Mikrohematokrit digerakkan masuk sambil diputar-putar sehingga darah akan keluar akibat aksi kapilaritas. Kemudian darah ditampung dalam mikrotube yang telah diberi heparin. Selanjutnya, sampel darah disentrifugasi selama 5 menit dengan putaran 7000 rpm. Setelah terjadi pemisahan yang sempurna antara plasma dan sel darah, plasma kemudian dipisahkan dan digunakan sesuai prosedur selanjutnya (10, 31).

b. Pengambilan organ dan pembuatan sediaan histologis jantung

Pengambilan organ jantung dilakukan dengan cara pembedahan. Sebelum pembedahan, tikus dianastesi terlebih dahulu dengan menggunakan dietil eter lalu diletakkan telentang pada papan bedah. Bagian dada dan perut dibasahi dengan alkohol 70%, lalu dada dibuka menggunakan gunting bedah. Organ jantung diambil lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia berisi natrium klorida 0,9% untuk menghilangkan darah yang menempel pada jaringan.

Tahapan pembuatan sediaan histologis jantung adalah sebagai berikut.

1). Fiksasi

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan jaringan sedemikian rupa sehingga susunan jaringan tersebut mendekati keadaan hidup, serta untuk mengeraskan jaringan sehingga memudahkan pembuatan irisan tipis. Organ jantung difiksasi dengan larutan Bouin selama 48 jam. Sisa-sisa fiksatif setelah fiksasi selesai dapat dihilangkan dengan merendam organ jantung dalam larutan etanol 70 % (33).

2). Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan untuk mengeluarkan air agar jaringan dapat diresapi parafin. Organ direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam lalu dalam alkohol 96% dua kali masing-masing selama 60 menit. Proses

dilanjutkan dengan perendaman dalam alkohol absolut sebanyak dua kali masing-masing selama 60 menit, dalam benzil benzoat selama 24 jam, dan dalam benzol sebanyak dua kali masing-masing selama 30 menit (33).

3). Infiltrasi

Infiltrasi oleh parafin dilakukan agar jaringan dapat diiris setipis 5-10 μm . Organ diinfiltrasi dengan cara direndam ke dalam parafin yang telah dicairkan dalam dua tahap, yaitu parafin I selama 1 jam dan parafin II selama 1 jam, di dalam inkubator pada suhu 60°C (33).

4). Penanaman

Organ yang telah diinfiltrasi dimasukkan ke dalam kotak kecil yang berisi cairan parafin sampai terendam. Parafin dibiarkan pada suhu kamar hingga dingin dan membeku. Setelah parafin menjadi keras, maka blok parafin yang berisi organ dapat dilepaskan dari kotak kertas. Kelebihan parafin di sekitar organ dipotong dan dirapikan. Kayu pemegang ditanamkan pada parafin dengan bantuan pemanasan (33).

5). Penyayatan

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada pisau mikrotom dan diatur supaya diperoleh sayatan dengan tebal 7 μm . Penyayatan harus dilakukan dengan hati-hati (33).

6). Penempelan pada gelas objek

Hasil sayatan yang baik diletakkan pada gelas objek yang telah diolesi sedikit albumin Mayers dan ditetesi air suling. Albumin Mayers digunakan untuk menempelkan jaringan ke objek gelas. Selanjutnya gelas objek diletakkan di atas *paraffin streacher* pada suhu 30-40° C agar sayatan organ mengembang sempurna dan tidak ada yang terlipat. Sisa-sisa air pada objek diserap dengan kertas tisu (33).

7). Pelarutan parafin

Parafin dilarutkan agar dihasilkan jaringan yang bening dan transparan. Parafin yang melekat di seputar sayatan dihilangkan dengan cara merendam gelas objek dalam larutan xilol selama 6 menit (33).

8). Hidrasi

Hidrasi dilakukan agar jaringan dapat diwarnai. Gelas objek yang sudah dibersihkan dari parafin dimasukkan ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi turun, yaitu alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 80%, dan alkohol 70% masing-masing selama 3 menit (33).

9). Pewarnaan

Pewarnaan dilakukan agar bagian-bagian tertentu dari jaringan tampak lebih menonjol sehingga dapat diamati dengan mikroskop.

Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan hematoksin-eosin dengan cara merendam gelas objek dalam larutan hematoksin selama 4 menit, lalu dicuci dalam bak berisi air mengalir hingga bagian gelas objek di luar jaringan bersih dari zat warna. Bila warna jaringan terlalu ungu, maka gelas objek dicelupkan ke dalam larutan asam klorida 1% selama beberapa detik lalu ke dalam air, dan dilanjutkan dengan pewarnaan menggunakan larutan eosin selama 4 menit (33).

10). Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan agar tidak terjadi pembusukan organ. Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam gelas objek yang telah diwarnai ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi naik, yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol absolut sebanyak dua kali masing-masing dua menit, dan terakhir dalam campuran alkohol absolut-xilol (1:1) selama dua menit (33).

11). Penjernihan

Penjernihan dilakukan agar dihasilkan jaringan yang bening dan transparan. Penjernihan preparat organ dilakukan dengan merendam gelas objek ke dalam larutan xilol sebanyak tiga kali masing-masing selama dua menit (33).

12). Penutupan

Setetes entelan ditetaskan di atas preparat sebelum xilol mengering. Setelah itu, preparat ditutup perlahan-lahan dengan kaca penutup dan dijaga agar tidak terdapat gelembung udara (33).

7. Pelaksanaan Percobaan

a. Pengukuran aktivitas aspartat aminotransferase

Prinsip pengukuran AST dimulai dari aktivitas AST mengkatalisis transfer gugus amino dari asam amino (L-aspartat) kepada asam keto (α -ketoglutarat) untuk membentuk asam oksaloasetat dan asam glutamat (21, 23, 24). Asam oksaloasetat yang terbentuk tidak stabil dan dikonversi menjadi piruvat. Piruvat yang terbentuk akan bereaksi dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin yang ditambahkan kemudian menghasilkan kompleks piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon. Alkalisasi campuran reagen tersebut akan membuat kompleks menjadi berwarna coklat kemerahan. Warna yang terbentuk dapat diukur serapannya secara spektrofotometri pada panjang gelombang 505 nm (24, 29).

1). Pembuatan kurva kalibrasi aspartat aminotransferase

Larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat dicampur dalam tabung reaksi dengan berbagai perbandingan (Tabel 1) (32). Setiap tabung yang telah terisi larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat

ditambahkan dengan 1,0 ml reagen warna, lalu dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 20 menit dalam suhu kamar. Setelah itu, ditambahkan 10,0 ml natrium hidroksida 0,4 N ke dalam tiap tabung. Masing-masing tabung lalu dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 505 nm (29, 32).

2). Pengukuran sampel AST plasma

Tahapan dalam mengukur aktivitas aspartat aminotransferase (AST) sampel plasma dapat dilihat pada Tabel 2. Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm. Serapan yang diperoleh lalu dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear yang telah diperoleh sebelumnya (29, 32).

b. Pengukuran aktivitas kreatin kinase

Prinsip dalam pengukuran aktivitas kreatin kinase (CK) plasma adalah pembentukan kreatin dan ATP yang dikatalis oleh kreatin kinase. ATP tersebut akan bereaksi dengan glukosa dan enzim heksokinase membentuk ADP dan glukosa-6-fosfat. Reaksi pengukuran aktivitas CK plasma selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 9. Kecepatan pembentukan NADPH sebanding dengan aktivitas CK plasma (21).

Prosedur pengukuran aktivitas CK sampel plasma adalah sebagai berikut (30).

1. Sebanyak 0,2 ml pereaksi dan 8 ìl sampel plasma dipipet ke dalam sebuah kuvet semimmikro.
2. Campuran larutan diinkubasi selama 100 detik pada suhu 37°C.
3. Pengukuran serapan pertama dilakukan, kemudian dilakukan pengukuran serapan per menit selama 200 detik. Selanjutnya dihitung serapan per menit (ÄA/menit). Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang 340 nm. Nilai aktivitas CK diperoleh dari rumus berikut.

$$U/I = \text{ÄA/menit} \times 4127$$

c. Pengamatan sediaan histologis jantung

Pengamatan dilakukan secara mikroskopik dengan membandingkan preparat histologis antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 X. Pengamatan histologis pada jantung dilakukan dengan cara melihat adanya infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, serta adanya fibrosis otot jantung. Jika terjadi infark miokard, mula-mula batas antara daerah normal dan infark tidak terlalu jelas. Setelah 24 jam, bagian yang terkena infark akan tampak lebih pucat. Setelah beberapa hari, bagian pucat tersebut akan tampak kuning putih dan timbul sel polimorfonuklear. Bagian yang terkena infark akan mengalami fibrosis hingga beberapa minggu. Fibrosis dimulai dari tepi dan kemudian masuk ke dalam pusat nekrosis

sehingga nekrosis digantikan oleh jaringan parut yang pucat. Miokard yang mengalami infark juga tampak berkerut, selain berwarna pucat, sehingga terdapat cekungan pada permukaan alat tubuh yang terkena (20).

Pengamatan dilakukan sebanyak empat kali pada satu buah preparat, lalu dihitung frekuensi timbulnya infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, serta fibrosis otot jantung yang dibandingkan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol.

8. Pengolahan Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 16,0. Pengujian normalitas AST dan CK menggunakan metode Saphiro-Wilk. Pengujian homogenitas menggunakan metode Levene. Untuk menganalisis data yang terdistribusi normal dan homogen digunakan Analisis Varian (ANAVA) satu arah yang bertujuan untuk menguji hipotesis kesamaan rata-rata hitung antara keempat kelompok perlakuan (34).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PERCOBAAN

1. Aktivitas Aspartat Aminotransferase (AST) Plasma

a. Kurva Kalibrasi

Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = 0,01903 + 0,002755x$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9928; dimana y adalah serapan dan x adalah nilai aktifitas AST plasma (U/l). Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 3 dan Tabel 1.

b. Aktivitas AST Plasma Tikus Putih Betina

Kelompok dosis 1 : $93,28 \pm 11,55$ U/l

Kelompok dosis 2 : $103,01 \pm 12,30$ U/l

Kelompok dosis 3 : $93,88 \pm 14,00$ U/l

Kelompok kontrol : $87,59 \pm 14,98$ U/l

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4, Tabel 3, dan Lampiran 4, 5, 6.

c. **Aktivitas AST Plasma Tikus Putih Jantan**

Kelompok dosis 1 : $108,52 \pm 11,07$ U/l

Kelompok dosis 2 : $108,09 \pm 11,52$ U/l

Kelompok dosis 3 : $97,63 \pm 20,74$ U/l

Kelompok kontrol : $90,79 \pm 11,55$ U/l

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4, Tabel 4, dan Lampiran 7, 8, 9.

2. Aktivitas Kreatin Kinase (CK) Plasma

a. **Aktivitas CK Plasma Tikus Putih Betina**

Kelompok dosis 1 : $71,83 \pm 25,07$ U/l

Kelompok dosis 2 : $65,87 \pm 31,85$ U/l

Kelompok dosis 3 : $47,19 \pm 12,93$ U/l

Kelompok kontrol : $62,46 \pm 27,25$ U/l

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 5, Tabel 5, dan Lampiran 10, 11, 12.

b. **Aktivitas CK Plasma Tikus Putih Jantan**

Kelompok dosis 1 : $66,47 \pm 35,57$ U/l

Kelompok dosis 2 : $77,92 \pm 30,32$ U/l

Kelompok dosis 3 : $66,72 \pm 14,31$ U/l

Kelompok kontrol : $83,92 \pm 49,73$ U/l

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 5, Tabel 6, dan Lampiran 13, 14, 15.

3. Hasil Pengamatan Histologis Jantung

Pengamatan dilakukan sebanyak empat kali terhadap satu preparat organ dengan membandingkan antara ketiga kelompok dosis dengan kelompok kontrol. Kemudian dicatat frekuensi timbulnya infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, dan timbulnya fibrosis otot jantung. Hasil pengamatan terhadap preparat jantung tersebut menunjukkan bahwa tidak terjadi infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, dan fibrosis otot jantung pada semua kelompok perlakuan. Sampel foto preparat jantung dapat dilihat pada Gambar 10 dan 11.

B. PEMBAHASAN

Temu putih dan mimba merupakan tanaman yang diketahui memiliki khasiat antikanker berdasarkan beberapa uji khasiat masing-masing tanaman yang dilakukan di dalam dan luar negeri, sehingga jamu "K" yang terdiri dari kombinasi keduanya menjadi potensi besar dalam terapi alternatif kanker.

Oleh karena obat antikanker umumnya digunakan dalam jangka waktu yang cukup lama, maka penelitian mengenai keamanan subkronis jamu "K" menjadi hal yang perlu dilakukan.

Salah satu organ yang perlu diteliti dalam uji keamanan adalah jantung karena jantung merupakan organ yang memegang peranan penting dalam tubuh. Jantung dapat dirusak oleh zat kimia toksik dengan tipe utama kerusakan berupa infark miokard. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian jamu K peroral selama 90 hari terhadap organ jantung tikus putih dilihat dari aktivitas enzim aspartat aminotransferase (AST) dan kreatin kinase (CK) plasma serta gambaran histologis jantung. AST terdapat di dalam semua organ, terutama di otot jantung, hati, dan otot rangka, namun aktivitas spesifik tertinggi enzim AST ditemukan di jantung. Aktivitas AST dalam serum meningkat tajam pada penderita infark otot jantung. Kreatin kinase merupakan enzim yang paling spesifik dalam mengidentifikasi infark miokard (22, 23). Pengamatan gambaran histologis jantung diperlukan untuk melihat adanya infiltrasi polinuklear, fibrosis, atau perlemakan jantung yang merupakan salah satu parameter kerusakan jantung.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Ratus norvegicus* L) galur *Sprague Dawley* (SD). Tikus yang digunakan berumur kurang lebih 2 bulan karena pada usia tersebut tikus telah memasuki kategori dewasa dan telah memiliki aktivitas hormonal yang stabil. Jumlah tikus putih yang digunakan sebanyak 48 ekor, yaitu 24 ekor tikus putih jantan dan 24 ekor tikus putih betina.

Hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu selama 2 minggu di dalam kandang Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI sebelum diuji agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Hewan uji dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok I, II, III, dan IV. Oleh karena jumlah hewan uji tidak terlalu besar, maka pengelompokan hewan uji menggunakan teknik Sampel Acak Sederhana dengan metode pengundian. Kelompok I diberikan suspensi jamu "K" dengan dosis 1980 mg/kg bb tikus per hari (dosis I). Kelompok II diberikan suspensi jamu "K" dengan dosis 3960 mg/kg bb tikus per hari (dosis II). Kelompok III diberikan suspensi jamu "K" dengan dosis 7920 mg/kg bb tikus per hari (dosis III). Kelompok IV merupakan kelompok kontrol yang diberikan larutan CMC 0,5%. Dosis I ditetapkan berdasarkan dosis lazim jamu "K" pada manusia yang dikonversi ke dalam dosis pada tikus. Dosis II dan III merupakan kelipatan dua dan kelipatan empat dari dosis I. Dosis III adalah dosis maksimal yang dapat disondekan dengan baik kepada tikus dan merupakan dosis lazim terbesar pada manusia, sesuai yang tertera pada etiket jamu "K", yang dikonversi ke dalam dosis pada tikus. Volume larutan atau suspensi uji yang diberikan kepada tikus putih adalah 3 ml agar suspensi uji tidak terlalu pekat sehingga dapat disonde ke dalam lambung tikus.

Sampel darah diambil setelah perlakuan selama 90 hari. Darah diambil melalui sinus orbital tikus dengan menggunakan mikrohematokrit. Darah yang telah diperoleh kemudian disentrifugasi untuk memisahkan plasma dengan sel-sel darah. Plasma yang dihasilkan kemudian digunakan

sebagai sampel uji untuk pengukuran aktivitas enzim aspartat aminotransferase (AST) dan kreatin kinase (CK). Pengambilan organ jantung untuk pengamatan histologi dilakukan ketika sampel darah tikus sudah diperoleh.

Parameter pertama yang diperiksa adalah aktivitas aspartat aminotransferase plasma. Kurva kalibrasi AST dibuat terlebih dulu dengan menggunakan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat (berisi campuran asam L-aspartat dan asam α -ketoglutarat) yang dicampur di dalam tabung reaksi dalam berbagai perbandingan (Tabel 1). Standar asam piruvat akan membentuk 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon dengan penambahan reagen warna yang mengandung 2,4-dinitrofenilhidrazin. Senyawa 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazin ini akan berwarna merah coklat yang stabil dalam suasana alkali. Larutan ini kemudian diukur serapannya pada λ 505 nm. Hasil serapan yang terbaca dan nilai aktivitas dari literatur kemudian dimasukkan ke dalam perhitungan regresi linear sehingga dihasilkan sebuah persamaan garis: $y = 0,01903 + 0,002755x$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9928.

Pada pengukuran AST plasma, enzim AST yang terdapat dalam sampel plasma akan mengkatalisis transfer gugus amino dari asam L-aspartat kepada asam α -ketoglutarat dalam dapar substrat untuk membentuk asam oksaloasetat dan asam glutamat (24). Suhu lingkungan pengujian diatur pada $\pm 37^{\circ}\text{C}$ dengan pH 7,4 agar sesuai dengan kondisi tubuh. Asam

oksaloasetat tidak stabil dan dikonversi menjadi piruvat. Reaksi dihentikan dengan penambahan reagen warna 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH). DNPH akan bereaksi dengan piruvat yang dihasilkan membentuk kompleks 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang kemudian menjadi kompleks berwarna merah kecoklatan yang dapat diukur pada λ 505 nm setelah penambahan larutan alkali. Penambahan sampel plasma pada tabung blanko yang dilakukan setelah penambahan reagen warna dimaksudkan sebagai faktor koreksi karena secara normal asam oksaloasetat dan asam piruvat terdapat dalam plasma darah.

Hasil pengukuran serapan 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon kemudian dimasukkan ke dalam persamaan kurva kalibrasi AST yang telah diperoleh sebelumnya sehingga dihasilkan nilai aktivitas AST plasma tikus putih (Tabel 3 dan 4, Gambar 4). Data nilai aktivitas AST plasma yang diperoleh kemudian diolah dengan menggunakan SPSS 16,0 dengan metode analisis yang digunakan adalah metode analisis varian satu arah (ANOVA). Hasil pengujian ANOVA untuk data aktivitas AST plasma tikus putih menunjukkan nilai signifikansi 0,276 untuk tikus putih betina dan 0,109 untuk tikus putih jantan sehingga kesimpulannya adalah tidak ada perbedaan bermakna pada data aktivitas AST plasma tikus putih berdasarkan perlakuan dosis untuk masing-masing jenis kelamin (Lampiran 6 dan 9).

Parameter kedua yang diperiksa adalah aktivitas enzim kreatin kinase (CK) plasma. Prinsip dalam pengukuran aktivitas CK plasma adalah pembentukan kreatin dan ATP yang dikatalisis oleh kreatin kinase. ATP yang

dihasilkan membentuk glukosa-6-fosfat dengan adanya glukosa dan dikatalisis oleh enzim heksokinase. Glukosa-6-fosfat ini dengan adanya enzim glukosa-6-fosfat dehidrogenase kemudian dioksidasi menjadi 6-fosfoglukonat disertai dengan reduksi NADP^+ menjadi NADPH. Kecepatan pembentukan NADPH sebanding dengan aktivitas kreatin kinase (21). Serapan NADPH diukur dengan spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 340 nm setelah inkubasi sampel yang telah ditambah dengan reagen pada suhu 37°C selama 100 detik. Nilai aktivitas kreatin kinase diperoleh dengan mengukur kenaikan serapan NADPH per menit selama 200 detik, kemudian dikalikan dengan faktor konversi 4127 (30). Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5, 6, dan Gambar 5.

Data aktivitas CK plasma yang diperoleh kemudian diolah dengan menggunakan SPSS 16,0 metode ANAVA. Hasil pengujian ANAVA untuk data aktivitas CK plasma tikus putih menunjukkan nilai signifikansi 0,114 untuk tikus putih betina dan 0,057 untuk tikus putih jantan sehingga kesimpulannya adalah tidak ada perbedaan bermakna pada data aktivitas CK plasma tikus putih berdasarkan perlakuan dosis untuk masing-masing jenis kelamin (Lampiran 12 dan 15).

Parameter terakhir yang diamati adalah gambaran histologis jantung untuk melihat apakah pada organ jantung hewan uji terjadi infiltrasi polimorfnuklear, fibrosis, dan perlemakan jantung. Pengamatan histologi jantung dilakukan terhadap tiga kelompok dosis uji dan membandingkannya dengan kelompok kontrol, masing-masing sebanyak empat kali pengamatan

terhadap satu preparat organ. Frekuensi timbulnya infiltrasi polimorf nuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, dan timbulnya fibrosis otot jantung dicatat dan dikelompokkan menjadi tiga, yaitu 0x, 1-2 dan 3-4x.

Hasil pengamatan histologi jantung terhadap tiga kelompok dosis uji yang dibandingkan dengan kelompok kontrol tidak menunjukkan adanya kelainan berupa timbulnya infiltrasi polimorf nuklear yang disebabkan oleh pecahnya pembuluh darah, perlemakan ruang antar serabut, ataupun fibrosis otot (Gambar 10 dan 11).

Hasil pemeriksaan terhadap aktivitas aminotransferase dan kreatin kinase plasma serta gambaran histologis jantung tikus putih yang diberikan jamu "K" selama 90 hari menunjukkan tidak adanya kerusakan atau kelainan jantung. Hal ini mungkin disebabkan oleh mekanisme aksi temu putih tidak berhubungan langsung dengan jantung. Komponen terbesar dari rimpang temu putih, yaitu minyak atsiri (antara lain berupa isokurkuminol), dan kurkumin mampu menghambat pertumbuhan sel kanker dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase-2 (COX-2) sehingga menghambat produksi prostaglandin yang berperan dalam peningkatan proliferasi sel (2). Pada literatur lain dinyatakan bahwa setelah manusia lahir tidak ada sel otot jantung baru yang dibuat. Setiap pembesaran jantung yang terjadi disebabkan oleh hipertrofi jantung yang terjadi sebagai respon terhadap peningkatan kerja yang dibebankan pada jantung (15). Keterangan tersebut menjelaskan alasan tidak berpengaruhnya pemberian jamu "K" terhadap sel otot jantung, walaupun diberikan selama 90 hari, yaitu karena

memang sel-sel otot jantung tidak mengalami pembentukan sel-sel baru atau tidak terjadi proliferasi sel sehingga tidak ada sel otot jantung yang dapat dipengaruhi oleh mekanisme aksi temu putih. Selain itu, minyak atsiri (kandungan utama rimpang temu putih) dan flavonoid (kandungan daun mimba) juga memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat melindungi organ jantung dari radikal bebas dan kerusakan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Pemberian Jamu “K” per oral dengan dosis 1980 mg/kg bb, 3960 mg/kg bb, dan 7920 mg/kg bb selama 90 hari tidak mempengaruhi organ jantung tikus putih jantan dan betina ditinjau dari aktivitas aspartat aminotransferase dan kreatin kinase plasma serta gambaran histologis jantung.

B. SARAN

Penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas kronik dan uji toksisitas khusus meliputi uji karsinogenitas dan teratogenitas sebaiknya dilakukan untuk melengkapi data keamanan penggunaan temu putih dan mimba yang terkandung di dalam jamu “K”.

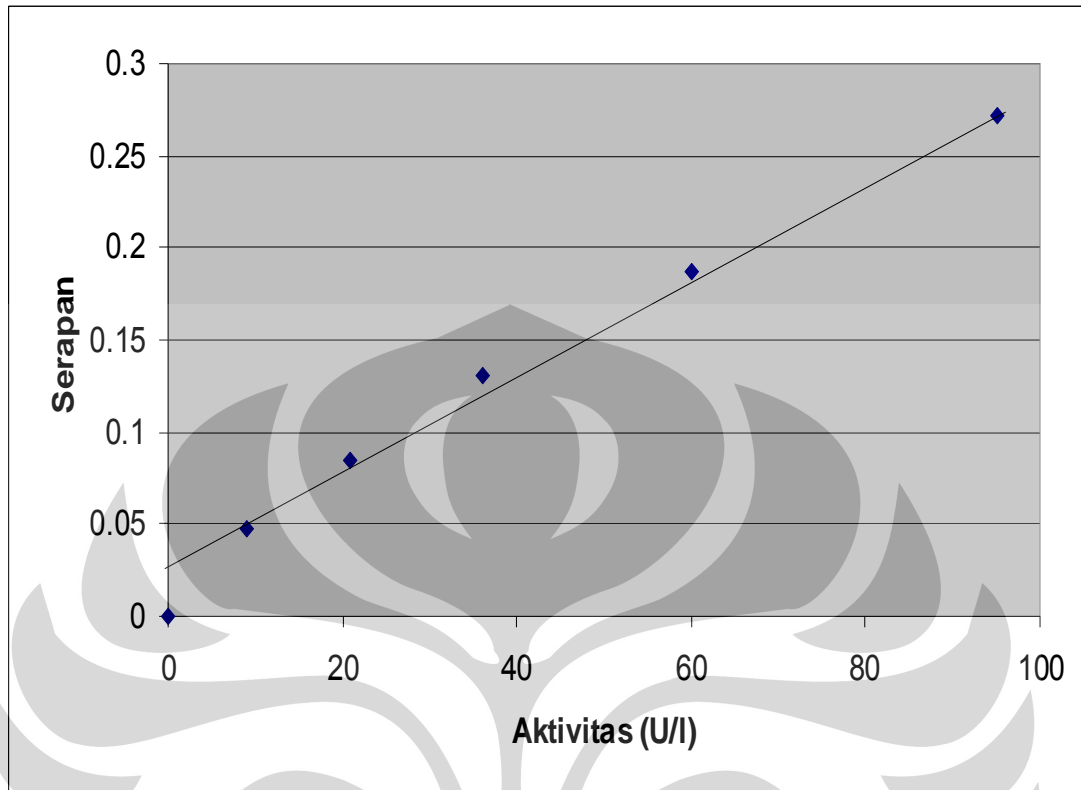
DAFTAR ACUAN

1. Anonim. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional ; Tata Laksana Uji Praklinik ; Tata Laksana Teknologi Farmasi ; Tata Laksana Uji Klinik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2000: 1, 2, 13-19.
2. Murwanti, Retno, Edy M, Arief N, Susi AK. Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) terhadap Pertumbuhan Tumor Paru Fase Post Inisiasi pada Mencit Betina Diinduksi Benzo[a]piren. *Majalah Farmasi Indonesia* **15**(1), 2004: 7-12.
3. Gangar, Subhash Chander, Rajat Sandhir, Durg Vijay Rai, Ashwani Koul. Modulatory Effects of Azadirachta indica on Benzo(a)pyrene-induced Forestomach Tumorigenesis in Mice. *World Journal of Gastroenterology* **12**(17), 2006: 2749-2755.
4. Kumar, GH, R Vidya P, G Vinothini, P Vidjaya L, S Nagini. The Neem Limonoids Azadirachtin and Nimbolid Inhibit Cell Proliferation and Induce Apoptosis in an Animal Model of Oral Oncogenesis. *Springer Science + Business Media, LLC*, 2009.
5. Dorababu, M, MC Joshi, Bhawani G, M Mohan Kumar, Aditi Chaturvedi, dan RK Goel. Effect of Aqueous Extract of Neem (*Azadirachta indica*) Leaves on Offensive and Diffensive Gastric Mucosal Factors in Rats. *Indian J Physiol Pharmacol* **50**(3), 2006: 241–249.
6. Price SA., Wilson LM. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit Jilid I Edisi 4*. Terj. dari *Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Process*, oleh Peter Anugrah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1995: 536.
7. Lu CF. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko Edisi 2*. Terj. dari *Basic Toxicology : Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment*, oleh Edi Nugroho. Jakarta: UI Press, 1995: 1114.
8. Murwanti, Retno, Arief Nurrochmad, Agung EN, Imono AD. Ketoksikan Akut Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc) pada tikus putih jantan galur *Sprague Dawley*. *Temu ilmiah bidang farmasi klinik*, 9 Oktober 2004. Yogyakarta: Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi UGM, 2004: 125-131.

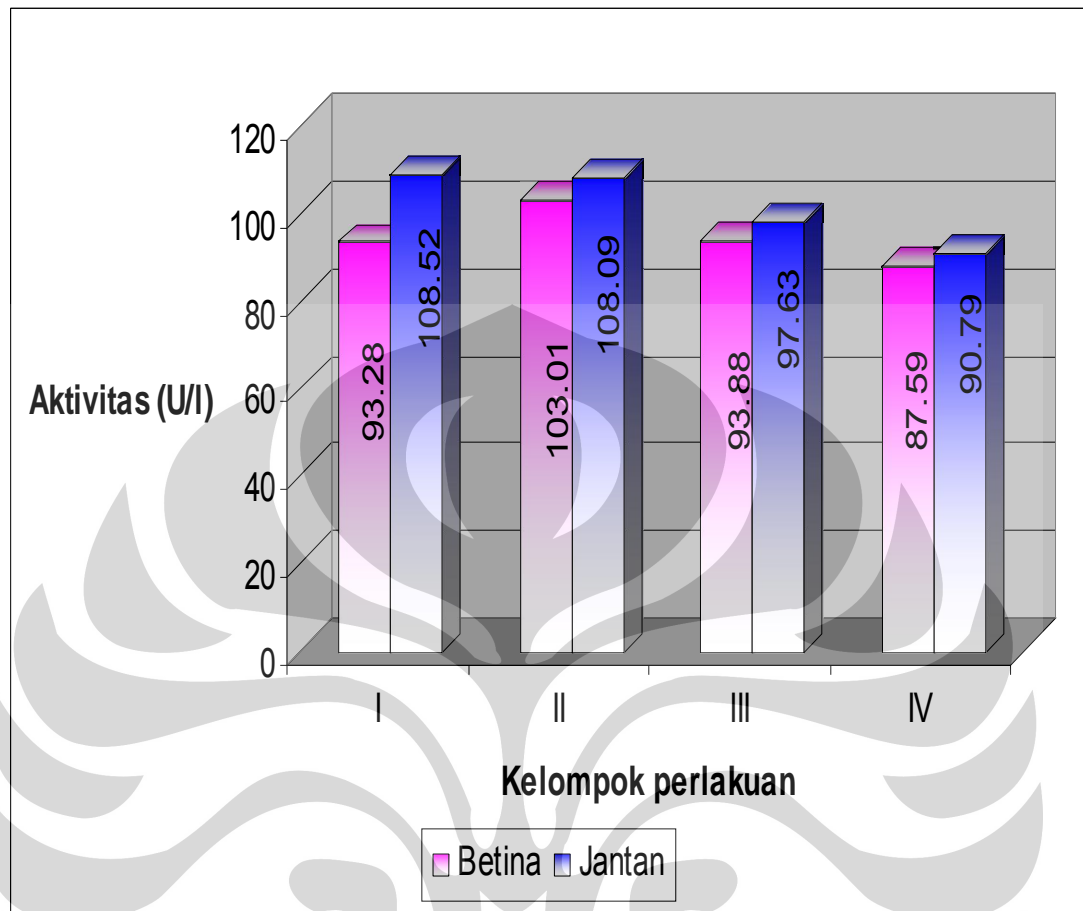
9. Harmita, Maksum Radji. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 3*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2008: 42-63.
10. Sulistyowati, Dewi. *Pengaruh Pemberian Jamu Pelangsing "SF" Terhadap Organ Jantung Tikus Putih Ditinjau dari Aktivitas Aspartat Aminotransferase dan Kreatin Kinase Plasma serta Histologi Jantung*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 2003.
11. Supranto, J. *Statistik; Teori dan Aplikasi, Edisi Kelima*. Jakarta: Penerbit Erlangga, 1994: 130-132.
12. Johns, Samuel B Jr, Arlenet Luchsinger. *Plant Systematics 2nd edition*. Singapore: Mc Graw-Hill Book Company. 1987: 477-482.
13. Lakshmi, S, GS Dhanya, Beena Joy, G Padmaja, P Remani. Inhibitory Effect of an Extract of *Curcuma zedoariae* on Human Cervical Carcinoma Cells. *Medicinal Chemistry Research* **17**, 2008: 335-344.
14. WHO. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants vol 3*. Geneva: WHO Press, 2007: 94.
15. Ardiansyah, Wiryanto, Edwi Mahajoeno. Toksisitas Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) pada Anakan Siput Murbei (*Pomacea canaliculata* L.). *BioSMART* **4**(1), 2002: 29-34.
16. Sherwood, Lauralee. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem Edisi 2*. Terj. dari *Human Physiology: From Cells to Systems*, oleh Bram U. Pendit. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1996.
17. Ganong, WF. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran edisi 17*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1999: 72-76.
18. Corwin, Elisabeth J. *Buku Saku Patofisiologi*. Terj. dari *Handbook of Pathophysiology*, oleh Bram U. Pendit. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1997.
19. Hurst, JW. *The Heart 6th edition*, vol. 1. USA: McGraw-Hill, Inc, 1986: 897-899.
20. Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. *Patologi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1998.
21. Richterich, R & JP Colombo. *Clinical Chemistry*. USA: John Wiley & Sons, Ltd, 1981: 515-530.

22. Sadikin, M. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika, 2002: 292-326.
23. Calbreath, DF. *Clinical Chemistry : A Fundamental Textbook*. USA: WB Saunders Company, 1992: 190-193.
24. Kaplan, Lawrence A & Amadeo J. Pesce. *Clinical Chemistry : Theory, Analysis Correlation, 3rd Ed*. USA: Mosby-Yearbook Inc, 1996: 595.
25. Murray, Robert K, Daryl KG., Peter AM., Victor WR.. *Biokimia Harper Edisi 25*. Terj. dari *Harper Biochemistry*, oleh Andry Hartono. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2001.
26. Bloom & Fawcet. *Buku Ajar Histologi*. Terj. dari *A Textbook of Histology*, oleh Tambayang J. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2002: 358-360.
27. Anderson, SC. & Susan Cockayne. *Clinical Chemistry : Concepts and Applications*. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1993: 248-260.
28. Anonim. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995.
29. S, Reitman & Frankel S. *Colorimetric Method for The Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic and Glutamic Pyruvic Transaminase*. *Am J Clin Pathology*, 1957: 56-63.
30. Anonim. *CK NAC SL Manual*. France: Elitech, 2007: 1-2.
31. Holf, Janet. Methods of Blood Collection in The Mouse. *Lab. Animal* **29**(10) November, 2000: 50-51.
32. Anonim. *Diagnostika MERCK, Buku Pedoman Kerja Klinik*. PO Box 41119 : E. Merck Darmstadt, 1987: 43-45, 79-90.
33. Tanzil, R. *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologis*. Jakarta: Bagian Histologis Fakultas Kedokteran UI, 1996.
34. Santoso, S. *Panduan Lengkap Menguasai SPSS 16,0*. Jakarta: Elex Media Komputindo, 2008: 237-247.





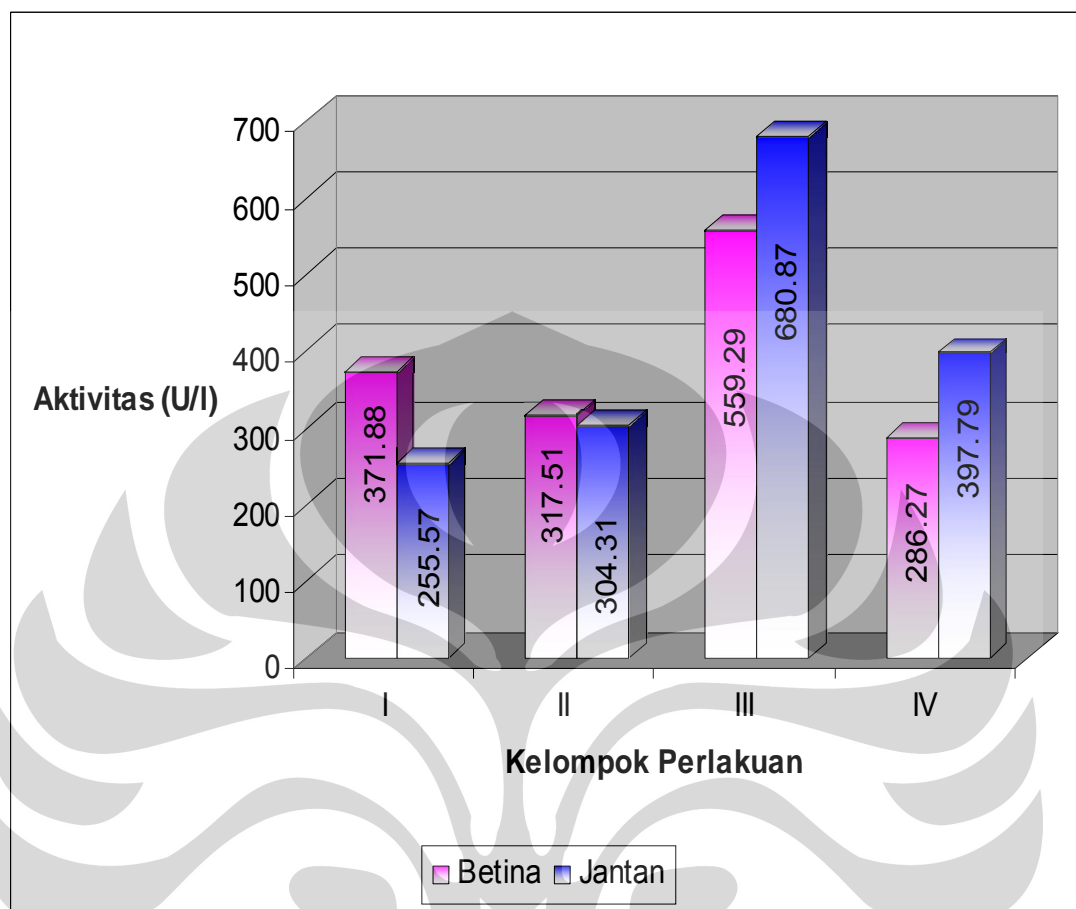
Gambar 3. Kurva kalibrasi aspartat aminotransferase pada λ 505 nm dengan persamaan garis $y = 0,01903 + 0,002755x$ dan $r = 0,9928$



Gambar 4. Diagram aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih setelah perlakuan selama 90 hari

Keterangan :

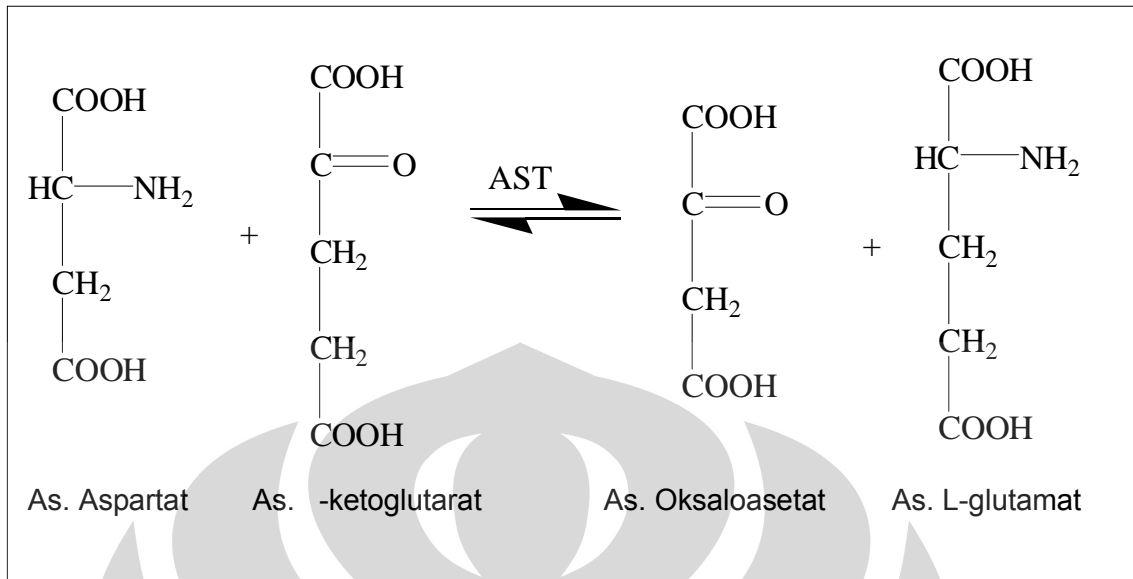
- | | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| I = Kelompok dosis 1980 mg/kg bb | III = Kelompok dosis 7920 mg/kg bb |
| II = Kelompok dosis 3960 mg/kg bb | IV = Kelompok kontrol |



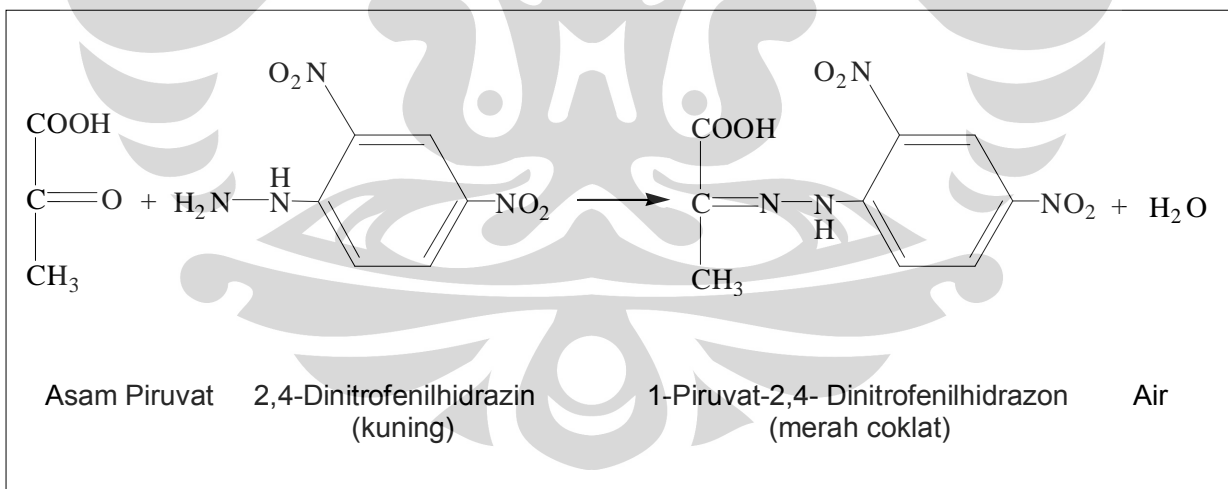
Gambar 5. Diagram aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih setelah perlakuan selama 90 hari

Keterangan :

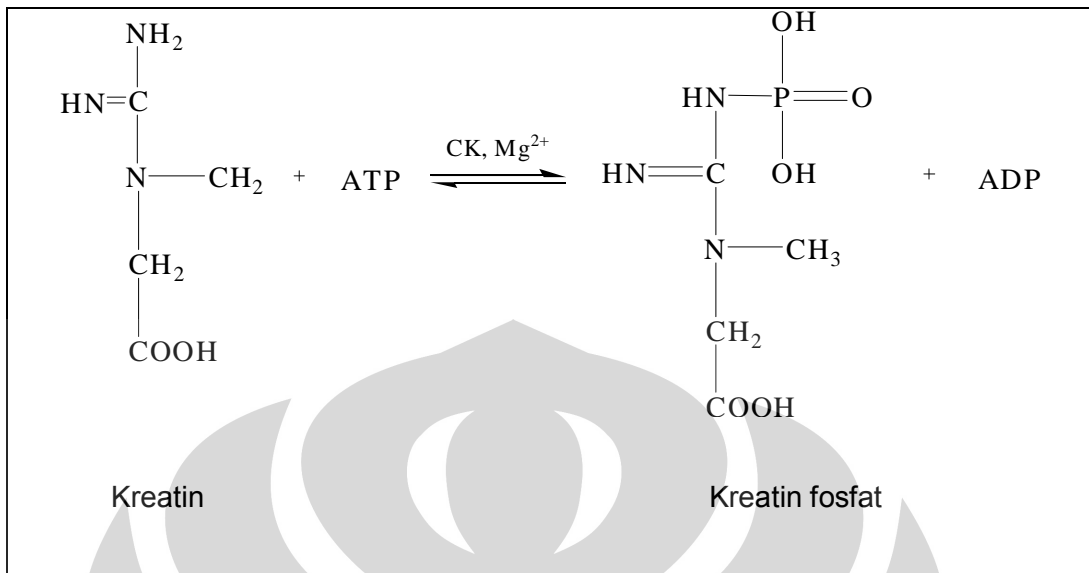
- | | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| I = Kelompok dosis 1980 mg/kg bb | III = Kelompok dosis 7920 mg/kg bb |
| II = Kelompok dosis 3960 mg/kg bb | IV = Kelompok kontrol |



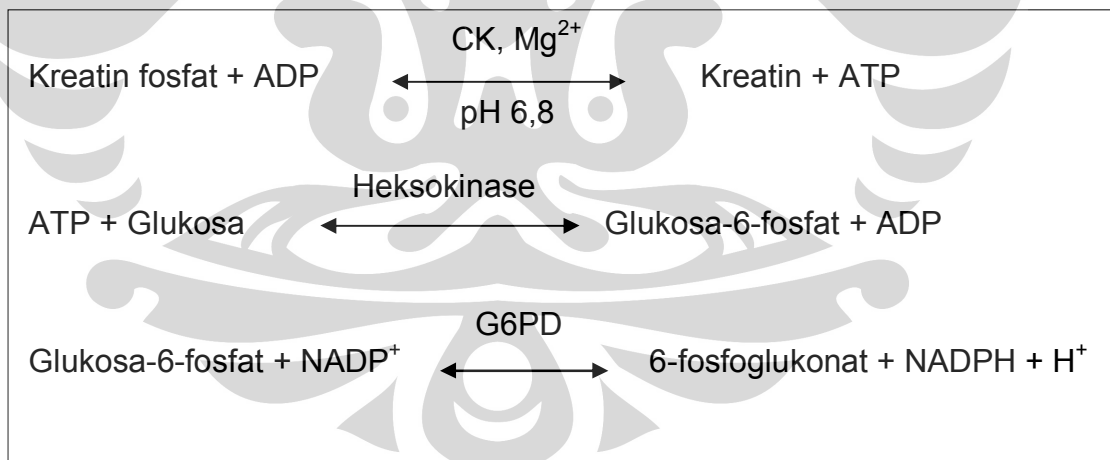
Gambar 6. Reaksi pembentukan asam oksaloasetat dan asam glutamat yang dikatalisis oleh enzim aspartat aminotransferase



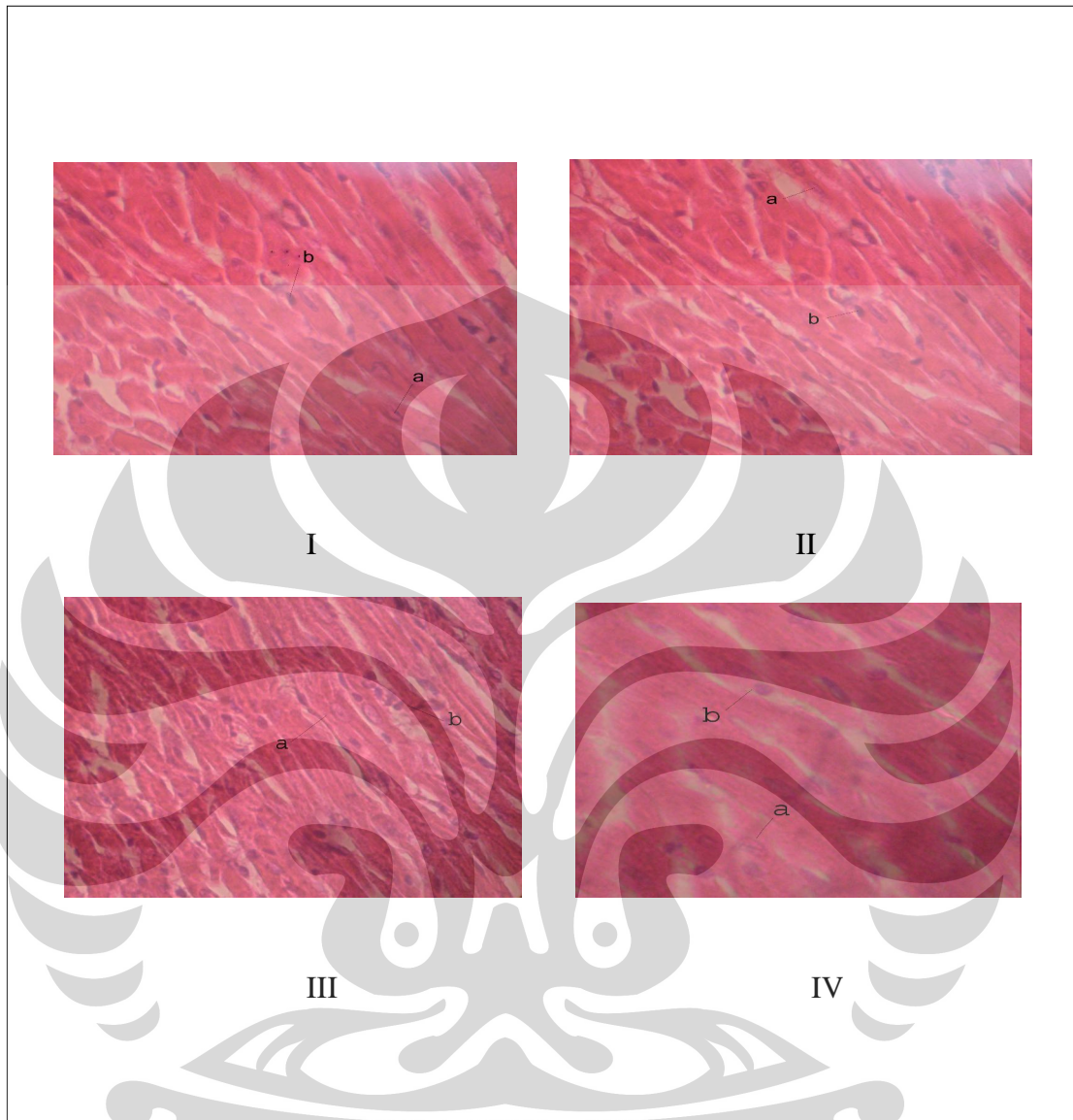
Gambar 7. Reaksi pembentukan 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon pada pengukuran AST secara kolorimetri



Gambar 8. Reaksi pembentukan kreatin fosfat dan ADP dari kreatin dan ATP yang dikatalis oleh kreatin kinase



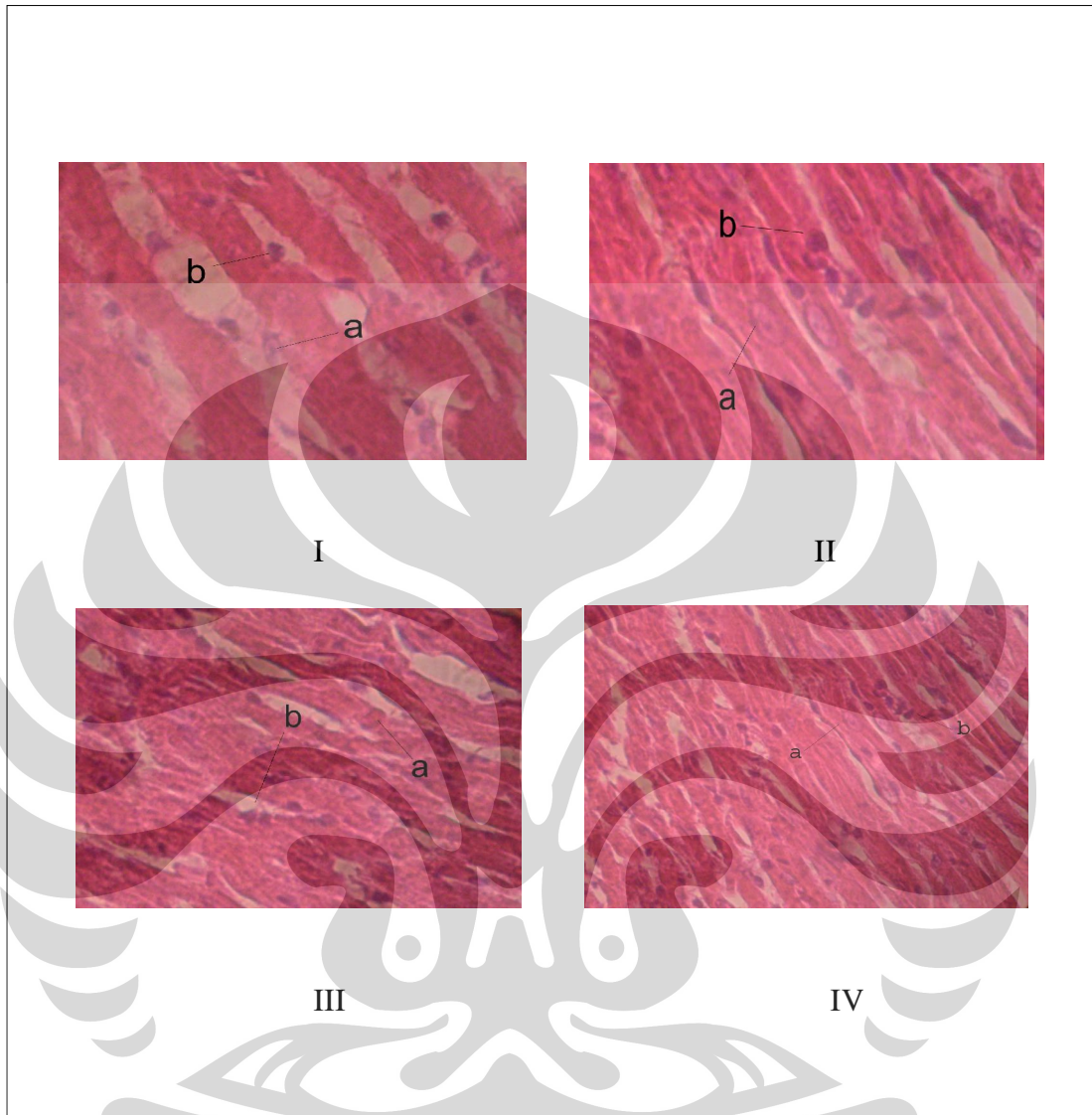
Gambar 9. Reaksi penentuan aktivitas kreatin kinase [24, 27]



Gambar 10. Gambar mikroskopik miokardium tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 x

Keterangan:

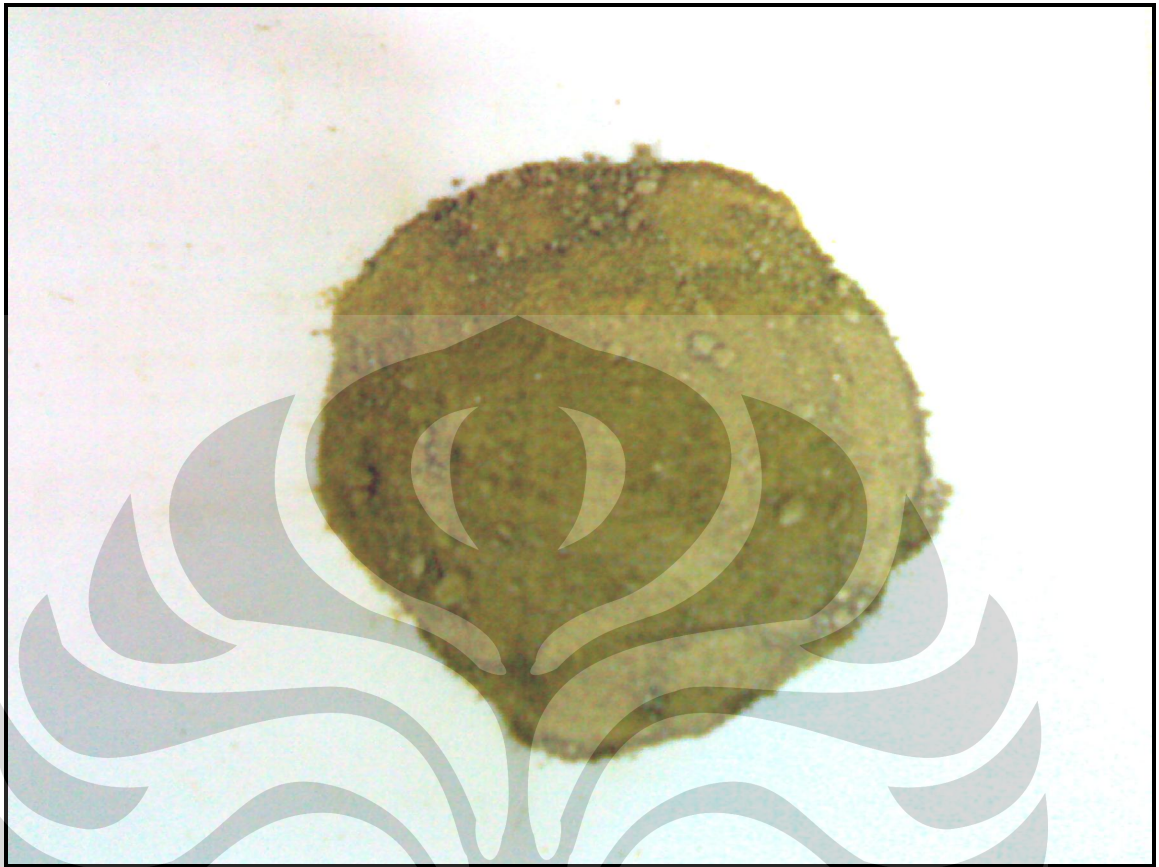
- a : Inti sel miokard
- b : Fibroblast
- I : Kelompok dosis 1980 mg/kgbb
- II : Kelompok dosis 3960 mg/kg bb
- III : Kelompok dosis 7920 mg/kg bb
- IV : Kelompok kontrol



Gambar 11. Gambar mikroskopik miokardium tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 x

Keterangan:

- a : Inti sel miokard
- b : Fibroblast
- I : Kelompok dosis 1980 mg/kgbb
- II : Kelompok dosis 3960 mg/kg bb
- III : Kelompok dosis 7920 mg/kg bb
- IV : Kelompok kontrol



Gambar 12. Serbuk jamu "K"



Tabel 1

Hasil pengukuran serapan larutan standar piruvat dan dapar fosfat dalam berbagai perbandingan konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi aspartat aminotransferase

No Tabung	Larutan standar piruvat (ml)	Larutan dapar fosfat (ml)	Nilai Aktivitas (U/l)	Serapan (A)
1	0,00	1,00	0	0,000
2	0,05	0,95	9	0,048
3	0,10	0,90	21	0,085
4	0,15	0,85	36	0,131
5	0,20	0,70	60	0,187
6	0,25	0,75	95	0,272

Keterangan : Nilai aktivitas diperoleh dari literatur [32], sedangkan nilai serapan diperoleh dari hasil percobaan

Tabel 2

Tahap pengukuran aspartat aminotransferase plasma

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 diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 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 λ 505 nm lalu masukkan nilai serapan yang diperoleh ke dalam persamaan kurva kalibrasi

Tabel 3

Nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih betina
setelah perlakuan selama 90 hari

Ulangan	Kelompok Perlakuan			
	I	II	III	IV
1	99.08	103.07	98.36	100.90
2	100.90	102.35	80.93	84.20
3	90.01	95.82	105.61	67.14
4	76.94	99.81	83.11	78.03
5	84.56	90.73	81.66	87.10
6	108.16	126.30	113.60	108.16
Σ	559,65	618,08	563,27	525,53
X	93,28	103,01	93,88	87,59
SD	11,55	12,30	14,00	14,98

Keterangan :

I = Kelompok dosis 1980 mg/kg bb III = Kelompok dosis 7920 mg/kg bb
 II = Kelompok dosis 3960 mg/kg bb IV = Kelompok kontrol

Tabel 4

Nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih jantan
setelah perlakuan selama 90 hari

Ulangan	Kelompok Perlakuan			
	I	II	III	IV
1	88,55	88,55	125,58	94,00
2	111,79	121,95	100,17	94,36
3	116,14	107,79	78,03	94,36
4	110,33	107,43	86,74	104,16
5	119,77	105,61	-	88,19
6	104,53	117,23	-	69,68
Σ	651,11	648,56	390,52	544,75
X	108,52	108,09	97,63	90,79
SD	11,07	11,52	20,74	11,55

Keterangan :

- I = Kelompok dosis 1980 mg/kg bb III = Kelompok dosis 7920 mg/kg bb
 II = Kelompok dosis 3960 mg/kg bb IV = Kelompok kontrol

Tabel 5

Nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih betina
setelah perlakuan selama 90 hari

Ulangan	Kelompok Perlakuan			
	I	II	III	IV
1	231,28	116,57	550,84	193,29
2	469,49	293,54	787,89	262,52
3	356,06	195,89	264,62	206,53
4	204,80	477,91	968,98	493,40
5	722,43	288,23	550,56	253,88
6	247,21	532,91	232,84	308,02
Σ	2.231,27	1.905,05	3.355,73	1.717,64
X	371,88	317,51	559,29	286,27
SD	197,94	160,45	287,63	109,54

Keterangan :

I = Kelompok dosis 1980 mg/kg bb III = Kelompok dosis 7920 mg/kg bb
II = Kelompok dosis 3960 mg/kg bb IV = Kelompok kontrol

Tabel 6

Nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih jantan
setelah perlakuan selama 90 hari

Ulangan	Kelompok Perlakuan			
	I	II	III	IV
1	264,75	234,19	340,89	298,34
2	412,00	343,75	365,43	248,54
3	222,25	216,90	623,56	697,43
4	215,97	269,01	770,03	232,68
5	269,52	457,71	-	395,65
6	148,92	-	-	514,11
Σ	1.533,41	1.521,56	2.723,47	2.386,75
X	255,57	304,31	680,87	397,79
SD	88,09	98,60	207,45	180,42

Keterangan :

- I = Kelompok dosis 1980 mg/kg bb III = Kelompok dosis 7920 mg/kg bb
 II = Kelompok dosis 3960 mg/kg bb IV = Kelompok kontrol



Lampiran 1

Perhitungan bahan uji dan cara pembuatan larutan uji jamu "K"

Masing-masing tikus dengan berat badan 200 gram diberikan suspensi bahan uji sebanyak 3 ml per oral. Dosis uji untuk kelompok perlakuan I-IV telah diketahui sebagai berikut.

Dosis I : 1980 mg/kg bb tikus per hari

Dosis II : 3960 mg/kg bb tikus per hari

Dosis III : 7920 mg/kg bb tikus per hari

Kontrol : larutan CMC 0,5%

Suspensi bahan uji dibuat dengan menimbang jamu "K" sesuai dosis yang akan digunakan lalu disuspensikan dalam larutan CMC 0,5%. Suspensi bahan uji dosis I dan II diperoleh dengan melakukan pengenceran terhadap dosis III.

Dosis I : $0,396 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus per hari dalam } 3 \text{ ml} = 13,2 \%$

Dosis II : $0,792 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus per hari dalam } 3 \text{ ml} = 26,4 \%$

Dosis III : $1,584 \text{ g}/200 \text{ g bb tikus per hari dalam } 3 \text{ ml} = 52,8 \%$

Jumlah suspensi bahan uji yang diperlukan oleh setiap kelompok perlakuan per harinya adalah sekitar 36 ml (yaitu $12 \times 3 \text{ ml} = 36 \text{ ml}$). Oleh karena dosis I dan II diperoleh dari pengenceran dosis III, maka jumlah suspensi bahan uji dosis III yang dibutuhkan untuk masing-masing dosis adalah:

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

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

$$\text{Dosis III} : 1 \times 36 \text{ ml} = 36 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis III yang dibuat per hari} = 63 \text{ ml} + 7 \text{ ml} = 70 \text{ ml}$$

Total volume suspensi dosis III yang dibuat setiap harinya adalah sekitar 70 ml, sehingga banyaknya ekstrak yang harus ditimbang untuk membuat 70 ml suspensi uji dosis III adalah : $52,8 \text{ \% g/ml} \times 70 \text{ ml} = 36,96 \text{ g}$. Pada pembuatan larutan uji dosis I dan II, sejumlah suspensi uji dosis III yang diambil dicukupkan volumenya dengan larutan CMC 0,5% hingga masing-masing 36 ml.

Untuk kelompok kontrol, bahan uji yang diberi hanya larutan CMC 0,5% sebanyak 3 ml per hari per tikus dengan berat badan 200 g. Volume larutan CMC 0,5% yang dibutuhkan adalah:

$$\text{Kontrol} = 12 \times 3 \text{ ml} = 36 \text{ ml}$$

$$\text{Pengenceran Dosis I} = 36 \text{ ml} - 9 \text{ ml} = 27 \text{ ml}$$

$$\text{Pengenceran Dosis II} = 36 \text{ ml} - 18 \text{ ml} = 18 \text{ ml}$$

$$\text{Larutan CMC 0,5\% yang dibuat per hari} = 81 \text{ ml} + 9 \text{ ml} = 90 \text{ ml}$$

Larutan CMC 0,5% dibuat dengan menimbang 0,45 gram CMC yang kemudian ditaburkan pada air hangat (suhu lebih kurang 60°C) sebanyak lebih kurang 10 ml dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah 30 menit, CMC dalam air tersebut diaduk perlahan-lahan sampai larut, lalu dicukupkan volumenya dengan air hingga 90 ml.

Lampiran 2

Cara perhitungan aktivitas aspartat aminotransferase plasma

Hasil serapan yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan kurva kalibrasi

$$y = 0,01903 + 0,002755x,$$

dimana y adalah serapan dan x adalah aktivitas aspartat aminotransferase plasma dalam satuan U/l. Dengan demikian, nilai aktivitas AST diperoleh dengan rumus:

$$\text{Aktivitas (U/l)} = \frac{\text{serapan} - 0,019033}{0,002755}$$

Lampiran 3

Cara perhitungan aktivitas kreatin kinase plasma

Reagen dan sampel plasma yang telah diinkubasi selama 100 detik diukur serapannya (menit ke-0), kemudian diukur kembali serapan per menit selama 200 detik. Hasil serapan yang diperoleh terdiri dari A_0 (serapan menit ke-0), A_1 (serapan menit ke-1), A_2 (serapan menit ke-2), dan A_3 (serapan menit ke-3). Kemudian dihitung selisih serapan per menit dengan rumus:

$$\Delta A \text{ per menit} = \frac{A_3 - A_0}{3}$$

Nilai aktivitas kreatin kinase plasma diperoleh dari rumus:

$$\text{Aktivitas (U/l)} = A \times 4127$$

Lampiran 4

Uji normalitas *shapiro-wilk* terhadap nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui distribusi data nilai aktivitas AST plasma tikus putih betina.

Hipotesis :

Ho : Data nilai aktivitas AST plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

Ha : Data nilai aktivitas AST plasma tikus putih betina tidak terdistribusi normal

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$: maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$: maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

Shapiro-Wilk			
Kelompok	Statistik	df	Signifikasi
I	0,972	6	0,906
II	0,836	6	0,120
III	0,863	6	0,199
IV	0,974	6	0,918

Seluruh kelompok memiliki nilai signifikan $> 0,05$ sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Data nilai aktivitas AST plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

Lampiran 5

Uji homogenitas *Levene* terhadap data nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui adanya perbedaan data nilai aktivitas AST plasma tikus putih betina secara bermakna.

Hipotesis :

Ho : Data AST plasma tikus putih betina tidak berbeda secara bermakna.

Ha : Data AST plasma tikus putih betina berbeda secara bermakna.

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$: maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$: maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

Uji Levene	df1	df2	Signifikasi
0,430	3	20	0,734

Nilai signifikasi yang dihasilkan adalah 0,734 ($> 0,05$) sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Data nilai aktivitas AST plasma tikus putih betina tidak berbeda secara bermakna.



Lampiran 6

Uji analisis variansi satu arah terhadap data nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data nilai aktivitas AST plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis.

Hipotesis :

Ho : Tidak ada perbedaan data AST plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis

Ha : Ada perbedaan data AST plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	Df	Kuadrat rata-rata	F	Signifikan
Antar Kelompok	732,758	3	244,253	1,386	0,276
Dalam Kelompok	3523,659	20	176,183		
Total	4256,417	23			

Nilai signifikansi yang dihasilkan sebesar 0,276 ($> 0,05$) sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan bermakna data AST plasma tikus putih betina antar kelompok perlakuan.

Lampiran 7

Uji normalitas *shapiro-wilk* terhadap nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui distribusi data nilai aktivitas AST plasma tikus putih jantan.

Hipotesis :

Ho : Data nilai aktivitas AST plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.

Ha : Data nilai aktivitas AST plasma tikus putih jantan tidak terdistribusi normal

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$: maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$: maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

Shapiro-Wilk			
Kelompok	Statistik	df	Signifikasi
I	0,898	6	0,360
II	0,924	6	0,533
III	0,945	4	0,683
IV	0,879	6	0,265

Seluruh kelompok memiliki nilai signifikan $> 0,05$ sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Data nilai aktivitas AST plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.

Lampiran 8

Uji homogenitas *levene* terhadap data nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui adanya perbedaan data nilai aktivitas AST plasma tikus putih jantan secara bermakna.

Hipotesis :

Ho : Data AST plasma tikus putih jantan tidak berbeda secara bermakna.

Ha : Data AST plasma tikus putih jantan berbeda secara bermakna.

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$: maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$: maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

Uji Levene	df1	df2	Signifikasi
1.051	3	18	0,394

Nilai signifikasi yang dihasilkan adalah 0,394 ($> 0,05$) sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Data aktivitas AST plasma tikus putih jantan tidak berbeda secara bermakna



Lampiran 9

Uji analisis variansi satu arah terhadap data nilai aktivitas aspartat aminotransferase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data nilai aktivitas AST plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis.

Hipotesis :

Ho : Tidak ada perbedaan data AST plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis

Ha : Ada perbedaan data AST plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	Df	Kuadrat rata-rata	F	Signifikan
Antar Kelompok	1197,509	3	399,170	2,327	0,109
Dalam Kelompok	3088,308	18	171,573		
Total	4285,817	21			

Nilai signifikansi yang dihasilkan adalah 0,109 ($> 0,05$) sehingga H_0 diterima

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan bermakna data nilai aktivitas AST plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis.

Lampiran 10

Uji normalitas *shapiro-wilk* terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui distribusi data nilai aktivitas CK plasma tikus putih betina.

Hipotesis :

Ho : Data aktivitas CK plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

Ha : Data aktivitas CK plasma tikus putih betina tidak terdistribusi normal.

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$: maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$: maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

Shapro-Wilk			
Kelompok	Statistik	df	Signifikasi
I	0,855	6	0,173
II	0,937	6	0,637
III	0,930	6	0,580
IV	0,823	6	0,094

Seluruh kelompok memiliki nilai signifikasi $> 0,05$ sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Data aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

Lampiran 11

Uji homogenitas *levene* terhadap data nilai aktivitas keratin kinase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui adanya perbedaan data nilai aktivitas CK plasma tikus putih betina secara bermakna.

Hipotesis :

Ho : Data CK plasma tikus putih betina tidak berbeda secara bermakna.

Ha : Data CK plasma tikus putih betina berbeda secara bermakna.

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$: maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$: maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

Uji Levene	df1	df2	Signifikasi
1,465	3	20	0,254

Nilai signifikansi yang dihasilkan adalah 0,254 ($> 0,05$) sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Data nilai aktivitas CK plasma tikus putih betina tidak berbeda secara bermakna.



Lampiran 12

Uji analisis variansi satu arah terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data nilai aktivitas CK plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis.

Hipotesis :

Ho : Tidak ada perbedaan data CK plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis.

Ha : Ada perbedaan data CK plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis.

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	df	Kuadrat rata-rata	F	Signifikan
Antar Kelompok	269.064,229	3	89.688,076	2,247	0,114
Dalam Kelompok	798.252,804	20	39.912,640		
Total	1.067.317,033	23			

Nilai signifikansi yang dihasilkan sebesar 0,114 ($> 0,05$) sehingga H_0 diterima .

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan bermakna data CK plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis.

Lampiran 13

Uji normalitas *shapiro-wilk* terhadap data nilai aktivitas kreatin kinase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui distribusi data nilai aktivitas CK plasma tikus putih betina.

Hipotesis :

Ho : Data aktivitas CK plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

Ha : Data aktivitas CK plasma tikus putih betina tidak terdistribusi normal.

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$: maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$: maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

Shapro-Wilk			
Kelompok	Statistik	df	Signifikasi
I	0,910	6	0,438
II	0,894	5	0,379
III	0,884	4	0,357
IV	0,896	6	0,353

Seluruh kelompok memiliki nilai signifikasi $> 0,05$ sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Data kreatin kinase plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.

Lampiran 14

Uji homogenitas *Levene* terhadap data nilai aktivitas keratin kinase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui adanya perbedaan data nilai aktivitas CK plasma tikus putih jantan secara bermakna.

Hipotesis :

Ho : Data CK plasma tikus putih jantan tidak berbeda secara bermakna.

Ha : Data CK plasma tikus putih jantan berbeda secara bermakna.

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$: maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$: maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

Uji Levene	df1	df2	Signifikasi
2,711	3	17	0,078

Nilai signifikasi yang dihasilkan adalah 0,078 ($> 0,05$) sehingga H_0 diterima.

Kesimpulan :

Data aktivitas CK plasma tikus putih jantan tidak berbeda secara bermakna.



Lampiran 15

Uji analisis variansi satu arah terhadap data nilai aktivitas keratin kinase plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari
(SPSS 16,0)

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data nilai aktivitas CK plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis.

Hipotesis :

Ho : Tidak ada perbedaan data CK plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis

Ha : Ada perbedaan data CK plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis

Taraf nyata :

Nilai level signifikansi yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

Jika signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	df	Kuadrat rata-rata	F	Signifikan
Antar Kelompok	198.368,639	3	66.122,880	3,042	0,057
Dalam Kelompok	369.554,584	17	21.738,505		
Total	567.923,222	20			

Nilai signifikansi yang dihasilkan adalah 0,057 ($> 0,05$) sehingga H_0 diterima

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan bermakna data CK plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis.