

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

**DINI UTAMI NINGRUM**

**0305050183**



**Universitas Indonesia**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Departemen Farmasi**

**Depok**

**2009**

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

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

**Oleh:**

**DINI UTAMI NINGRUM**

**0305050183**



**DEPOK**

**2009**

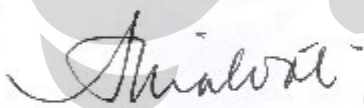
SKRIPSI : PENGARUH PEMBERIAN JAMU "D" TERHADAP ORGAN  
JANTUNG TIKUS PUTIH DITINJAU DARI AKTIVITAS  
ASPARTAT AMINOTRANSFERASE DAN KREATIN KINASE  
PLASMA SERTA GAMBARAN HISTOLOGIS JANTUNG

NAMA : DINI UTAMI NINGRUM

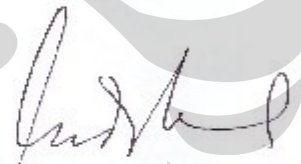
NPM : 0305050183

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

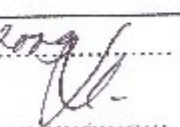

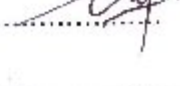
DEPOK, JULI 2009



Dra. AZIZAHWATI, MS, Apt  
PEMBIMBING I



Prof. Dr. ENDANG HANANI, MS  
PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana: .....	10-7-2009
Penguji I : Dr. Hamita, Apt.....	
Penguji II : Dra. Juheini, MSi.....	
Penguji III : Dr. Bema Elya, MS.....	

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahrabbi'l'amin, puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan nikmat dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dra. Azizahwati, MS, Apt, selaku pembimbing I dan Ibu Prof. Dr. Endang Hanani, MS, selaku pembimbing II yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian ini, serta banyak memberikan bimbingan, pendampingan, ilmu, motivasi, dukungan biaya dan bantuan lainnya yang sangat bermanfaat selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Ibu Prof. Dr. Atiek Soemiati, MS selaku pembimbing akademis atas bantuan dan nasehat yang diberikan selama masa perkuliahan.
4. Kepala Laboratorium Farmakologi Ibu Dr. Retnosari Andrajati dan Kepala Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA UI, Drs. Hayun, MS yang telah memberikan fasilitas selama penelitian.

5. Ayah dan mama yang senantiasa memberikan doa, motivasi dan segala kasih sayang kepada penulis selama ini.
6. Seluruh staf pengajar, karyawan, laboran Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu penulis selama masa pendidikan dan penelitian.
7. Teman-teman dari tim Daratin Atika, Okta, Kak Uwi atas tim yang solid dan telah berbagi ilmu selama penelitian. Teman-teman seperjuangan di laboratorium farmakologi Desti, Lisna, Lina, Kak Nana, Anis, Emi, Femmy dan Retno. Terima Kasih atas semangat dan bantuannya.
8. Teman-teman mahasiswa farmasi reguler angkatan 2005, terutama sahabat penulis, tika, anis, eko, desti, dan ventry. Terima kasih atas persahabatan, kekompakan dan dukungan kepada penulis. Kebersamaan kita tidak dapat tergantikan.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan bantuan dan saran hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan semua pihak yang memerlukan.

Penulis

2009

## ABSTRAK

Masyarakat Indonesia secara empiris menggunakan tanaman obat untuk mengobati penyakit atau meningkatkan kesehatan. Jamu “D” adalah obat tradisional yang mengandung ekstrak tanaman obat *Centella asiatica* (L.) Urban dan *Apium graveolens* L. yang digunakan untuk mengobati hipertensi. Kebanyakan orang biasanya menggunakan obat tradisional ini secara berulang dan dalam jangka waktu lama. Oleh karena itu, obat tradisional harus tidak memiliki efek toksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jamu “D” selama 90 hari terhadap organ jantung tikus putih ditinjau dari aktivitas aspartat aminotransferase (AST) dan kreatin kinase (CK) plasma serta gambaran histologis jantung. Jamu “D” diberikan secara oral pada 24 ekor tikus jantan dan 24 ekor tikus betina, yang masing-masing dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok I, II, dan III masing-masing diberikan dosis 1980; 3960; 7920 mg/kg bb tikus, sedangkan kelompok IV merupakan kelompok kontrol yang hanya diberikan larutan CMC 0,5 %. Pada hari ke-91 dilakukan pengambilan darah dan organ jantung untuk mengetahui aktivitas AST dan CK plasma serta gambaran histologis jantung. Hasil pengukuran dianalisis menggunakan uji ANOVA satu arah ( $\alpha = 0,05$ ) dan menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan bermakna aktivitas AST dan CK serta gambaran histologis jantung antara kelompok perlakuan dengan kontrol, sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan jamu “D” selama 90 hari tidak mempengaruhi organ jantung tikus putih.

Kata kunci : jamu “D”, jantung, aspartat aminotransferase, kreatin kinase,  
histologis

xiii+90 hlm; gambar; tabel; lampiran

Bibliografi : 38(1957-2008)



## ABSTRACT

Indonesians still empirically use medicinal plants either to overcome their diseases or to maintain their health. Jamu “D” is one of traditional medicines which contains the extract of medicinal plants *Centella asiatica* (L.) Urban and *Apium graveolens* L. used for treatment of hypertension. Most people commonly use it for long periods of time. Thus, It is important for traditional medicine to have no toxic effect. This research was intended to investigate the effect of jamu “D” for 90 days on rat heart considered from the activity of aspartic aminotransferase (AST) and creatine kinase (CK) plasma and the images of heart histology. Jamu “D” was administered orally to 24 male and 24 female rats, each of them was randomly divided into four groups. Group I, II, and III were given jamu “D” with doses of 1980; 3960; 7920 mg/kg body weight. Whereas group IV as a control group was administered CMC 0,5% solution. At the 91<sup>st</sup> day, the blood and heart were taken to measure the activity of AST and CK in plasma and to observe heart histology. The results were analyzed by ANOVA one-way test ( $\alpha = 0,05$ ) and it showed that there was no significant differences on the activity of AST, CK plasma and histology of the heart between control and treatment group. Therefore, it was concluded that the usage of jamu “D” for 90 days gave no effect to the heart.

Keywords : jamu “D”, heart, aspartic aminotransferase, creatine kinase, histology

xiii+90 pages; images; tables; appendix

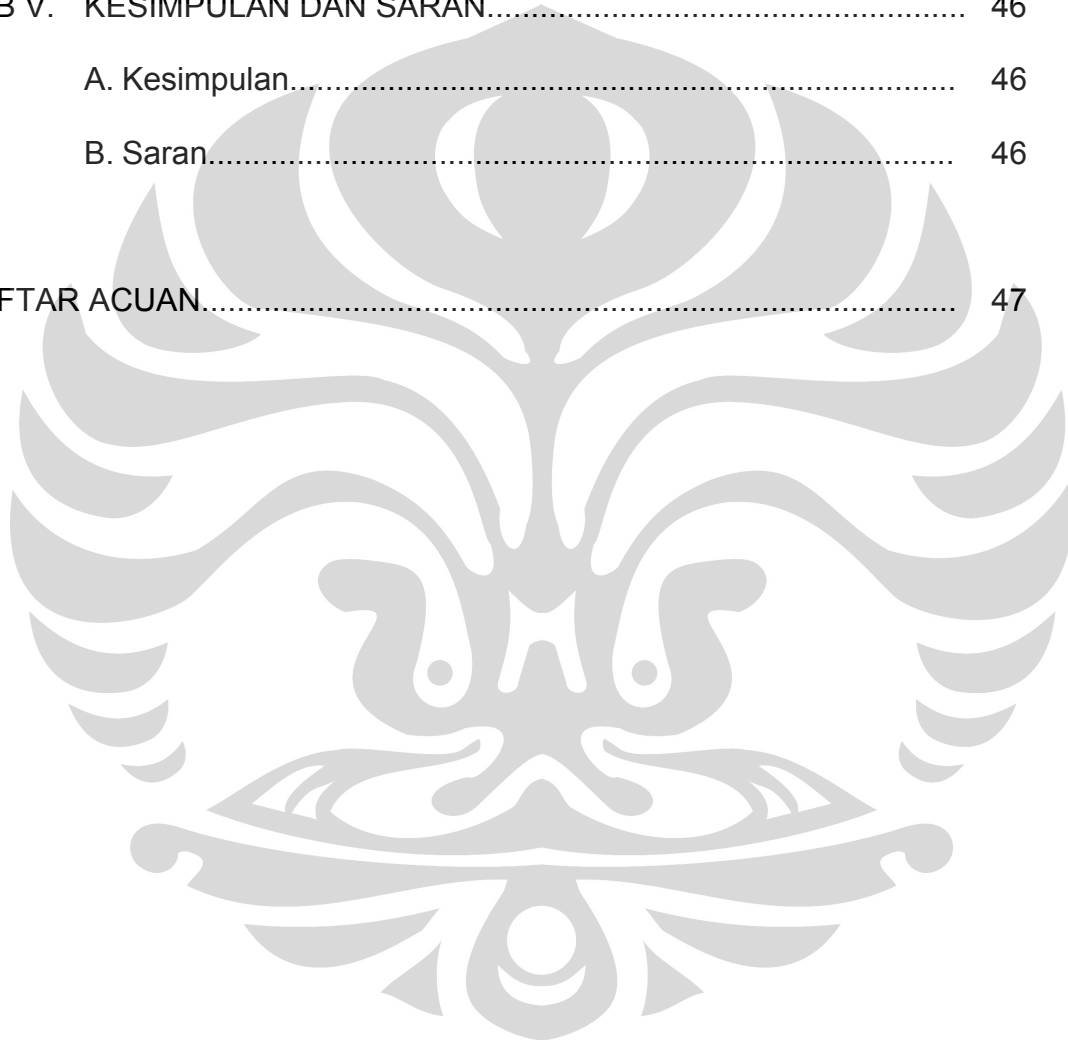
Bibliography : 38 (1957-2008)



## DAFTAR ISI

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 Uji.....	4
B. Jamu “D”.....	7
C. Jantung.....	13
D. Aspartat Aminotransferase.....	17
E. Kreatin Kinase.....	18
BAB III. ALAT, BAHAN DAN CARA KERJA.....	20
A. Lokasi Penelitian.....	20
B. Alat.....	20
C. Bahan.....	20

D. Cara Kerja.....	22
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
A. Hasil Percobaan.....	36
B. Pembahasan.....	39
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
A. Kesimpulan.....	46
B. Saran.....	46
DAFTAR ACUAN.....	47



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun kandungan utama tanaman <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban.....	9
2. Rumus bangun kandungan utama tanaman <i>Apium graveolens</i> L.....	12
3. Sebuk jamu “D”.....	51
4. Reaksi pembentukan asam oksaloasetat dan asam glutamat yang dikatalisis oleh AST.....	52
5. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran AST dengan menggunakan 2,4-dinitrofenilhidrazin secara kolorimetri.....	52
6. Reaksi pembentukan kreatin fosfat dan ADP dari kreatin dan ATP yang dikatalisis oleh kreatin kinase.....	53
7. Reaksi pembentukan NADPH pada pengukuran aktivitas CK secara <i>reverse reaction</i> dengan menggunakan <i>coupled enzymatic glucose assay</i> .....	53
8. Pemberian bahan uji secara oral pada hewan coba <i>Rattus novergicus</i> .....	54
9. Kurva kalibrasi dengan persamaan $y = 0,011 + 2,111.10^{-3}$ dan $r = 0,9931$ .....	54
10. Diagram batang aktivitas AST plasma tikus putih betina dan jantan pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari.....	55
11. Diagram batang aktivitas CK plasma tikus putih betina dan jantan pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari.....	55
12. Miokardium tikus putih betina kelompok kontrol setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali.....	56
13. Miokardium tikus putih betina kelompok perlakuan dosis 1980	

mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali.....	56
14. Miokardium tikus putih betina kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali.....	57
15. Miokardium tikus putih betina kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali.....	57
16. Miokardium tikus putih jantan kelompok kontrol setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali.....	58
17. Miokardium tikus putih jantan kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali.....	58
18. Miokardium tikus putih jantan kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali.....	59
19. Miokardium tikus putih jantan kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali.....	59

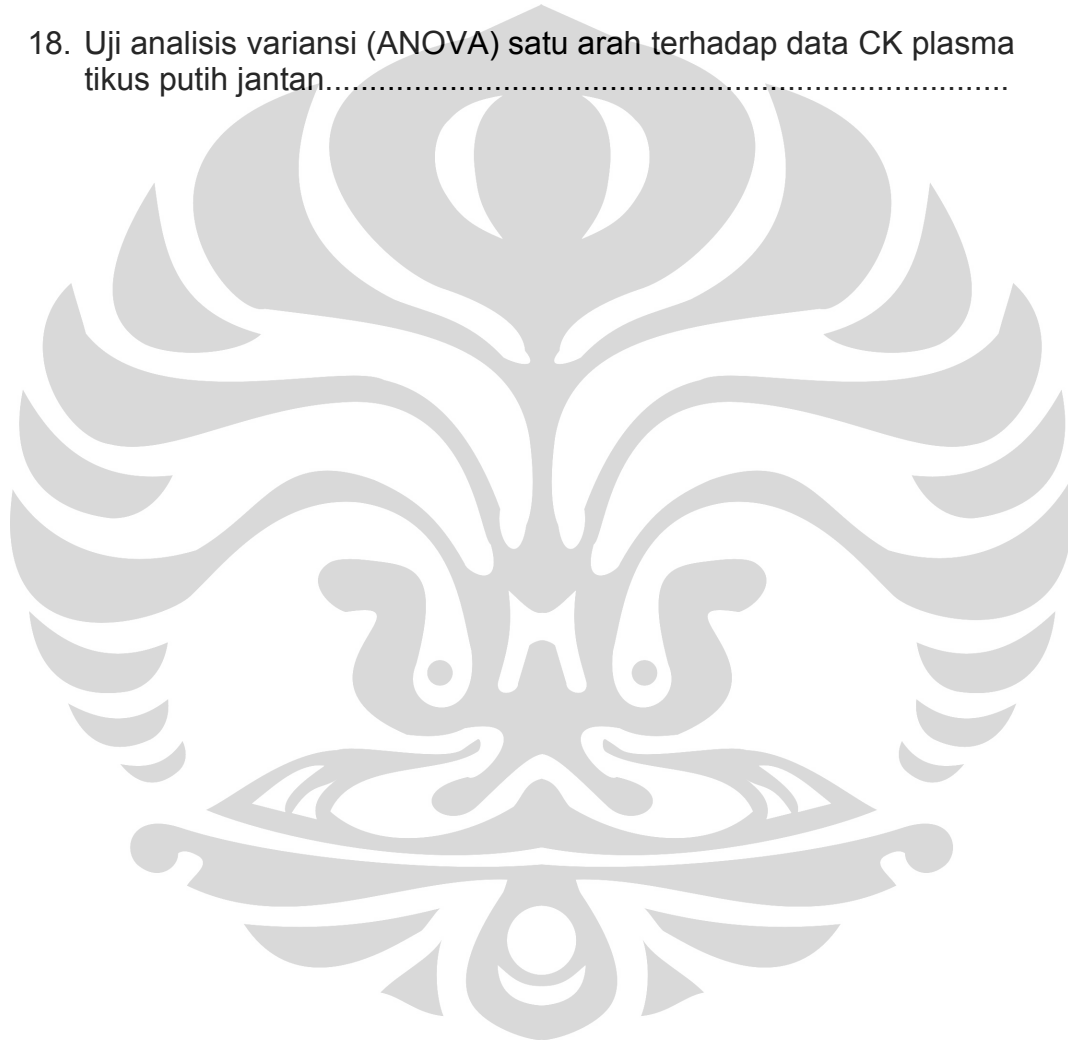
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kelompok perlakuan.....	25
2. Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat dalam berbagai konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi AST.....	28
3. Tahap pengukuran sampel AST plasma.....	29
4. Hasil pengukuran serapan berbagai perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat dalam berbagai konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi AST plasma.....	61
5. Aktivitas AST plasma tikus putih betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari.....	62
6. Aktivitas AST plasma tikus putih jantan pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari.....	63
7. Aktivitas CK plasma tikus putih betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari.....	64
8. Aktivitas CK plasma tikus putih jantan pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari.....	65

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Cara penetapan dosis.....	67
2. Pembuatan suspensi bahan uji.....	68
3. Cara pembuatan dan komposisi larutan pereaksi uji kreatin kinase.....	71
4. Cara memperoleh regresi linier.....	72
5. Cara menghitung aktivitas AST plasma menggunakan kurva kalibrasi.....	73
6. Cara menghitung aktivitas kreatin kinase plasma dengan menggunakan reagen kit.....	74
7. Uji normalitas saphiro-wilk terhadap data AST plasma tikus putih betina.....	75
8. Uji homogenitas lavene terhadap data AST plasma tikus putih betina.....	76
9. Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap data AST plasma tikus putih betina.....	77
10. Uji normalitas saphiro-wilk terhadap data AST plasma tikus putih jantan.....	79
11. Uji homogenitas lavene terhadap data AST plasma tikus putih jantan.....	80
12. Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap data AST plasma tikus putih jantan.....	81
13. Uji normalitas saphiro-wilk terhadap data CK plasma tikus putih betina.....	83
14. Uji homogenitas lavene terhadap data CK plasma tikus putih betina.....	84

15. Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap data CK plasma tikus putih betina.....	85
16. Uji normalitas saphiro-wilk terhadap data CK plasma tikus putih jantan.....	87
17. Uji homogenitas lavene terhadap data CK plasma tikus putih jantan.....	88
18. Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap data CK plasma tikus putih jantan.....	89



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan (1). Karena telah digunakan secara turun temurun, maka obat tradisional atau yang lebih sering dikenal sebagai jamu telah dipercaya aman oleh masyarakat. Badan Kesehatan Dunia (WHO) juga telah merekomendasikan penggunaan obat bahan alam yang telah terbukti aman dan efektif untuk meningkatkan derajat kesehatan, mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit serta memperbaiki kondisi kesehatan (1). Kenyataan ini mendorong penggunaan obat tradisional berkembang dengan pesat.

Jamu "D" adalah salah satu contoh obat tradisional yang mengandung ekstrak 2 jenis tanaman yaitu pegagan dan seledri. Penggunaan tanaman-tanaman tersebut secara empiris di masyarakat untuk mengobati hipertensi dan sebagai diuresis (2, 3). Keamanan masing-masing tanaman telah dibuktikan kebenarannya melalui penelitian uji toksisitas akut yang banyak dilaporkan. Berdasarkan studi toksisitas akut, herba pegagan tidak memiliki efek toksik terhadap tikus pada dosis 7 g/kg bb yang diberikan secara oral



(4). Penelitian lain mendapatkan nilai LD<sub>50</sub> ekstrak seledri yang diberikan secara oral pada tikus adalah 5 g/kg bb (5).

Walaupun sudah banyak penelitian yang dilakukan terhadap keamanan masing-masing tanaman tersebut, tetapi penelitian terhadap uji keamanan kombinasi keduanya belum pernah dilakukan. Aman merupakan persyaratan yang mutlak harus dipenuhi oleh suatu sediaan farmasi, apalagi yang menyangkut obat tradisional. Depkes RI menyatakan bahwa penggunaan obat tradisional pada pelayanan kesehatan harus memenuhi persyaratan aman, bermanfaat dan terstandarisasi (1). Penilaian keamanan dilakukan melalui uji toksisitas terhadap obat tradisional. Uji toksisitas terbagi dalam tiga kelompok, yaitu uji toksisitas akut, toksisitas subkronik maupun toksisitas kronik (6).

Penggunaan jamu "D" yang mengandung ekstrak herba pegagan dan ekstrak herba seledri diindikasikan untuk mengobati hipertensi yang memiliki kemungkinan untuk digunakan secara berulang dan dalam jangka waktu yang cukup lama, sehingga dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan. Dengan demikian, perlu adanya suatu penelitian mengenai uji keamanan jamu "D" terhadap organ-organ vital tubuh. Uji keamanan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji toksisitas subkronik yang waktu pemberian zat uji ke hewan coba yaitu sekitar 90 hari atau 10% dari seluruh umur hewan coba dan diberikan secara terus menerus (6).

Salah satu organ yang diperiksa adalah jantung yang merupakan organ vital dalam tubuh manusia. Pada penggunaan obat dalam jangka

waktu lama, perlu diadakan suatu penelitian untuk melihat pengaruhnya terhadap organ vital tersebut. Meskipun jantung bukan organ sasaran biasa, organ ini dapat dirusak oleh zat kimia toksik. Zat tersebut bekerja secara langsung pada otot jantung atau secara tidak langsung melalui susunan saraf dan pembuluh darah (7). Enzim aspartat aminotransferase dan kreatin kinase memiliki aktivitas spesifik tertinggi di jantung. Melalui pengukuran aktivitas aspartat aminotransferase dan kreatin kinase dapat diketahui kerusakan jaringan otot jantung (8).

## **B. TUJUAN PENELITIAN**

Mengetahui pengaruh pemberian jamu “D” dengan dosis 1980 mg/kg bb; 3960 mg/kg bb; 7920 mg/kg bb terhadap organ jantung tikus putih melalui pengukuran aktivitas aspartat aminotransferase dan kreatin kinase plasma serta pemeriksaan histologis jantung.

## **C. HIPOTESIS**

Pemberian Jamu “D” dengan dosis 1980 mg/kg bb, 3960 mg/kg bb, 7920 mg/kg bb selama 90 hari tidak mempengaruhi organ jantung tikus putih bila ditinjau dari aktivitas aspartat aminotransferase dan kreatin kinase plasma serta pemeriksaan histologis jantung.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. HEWAN UJI

##### 1. Jenis dan Jumlah Hewan Uji

Pada penelitian uji toksisitas biasanya digunakan dua jenis hewan, yaitu hewan pengerat dan bukan hewan pengerat. Biasanya dapat digunakan tikus dan anjing, dari dua jenis kelamin, sehat, dewasa, umur 5-6 minggu untuk tikus dan 4-6 bulan untuk anjing (6). Penggunaan spesies tikus lebih umum dan merupakan hewan yang cocok untuk eksperimen. Sifat yang penting dari spesies ini meliputi ukurannya yang kecil, ketersediaan strain yang murni dan seragam serta kemampuannya bertahan dalam periode lama percobaan dibawah anestesi. Dua macam strain tikus yang sering digunakan adalah (9):

a. *Wistar rat*

Tikus ini memiliki kepala yang lebar, terutama pada jenis jantan, telinga panjang dan ekor lebih panjang daripada tubuhnya. Tikus jenis ini resisten terhadap infeksi.

b. *Sprague Dawley (SD)*

Tikus jenis ini memiliki kepala yang lebih panjang dan lebih sempit, ekor lebih panjang daripada jenis *Wistar*. Panjang ekor dengan tubuhnya sama serta berkembang lebih cepat. Tikus ini jinak dan mudah ditangani.

Regulasi mengenai jumlah hewan percobaan yang digunakan dalam suatu uji toksisitas diatur sebagai berikut:

a. WHO

WHO menetapkan jumlah hewan coba untuk jenis pengerat adalah setiap kelompok terdiri atas 10 jantan dan betina. Sedangkan untuk hewan bukan pengerat, digunakan sedikitnya 3 jantan dan 3 betina pada tiap kelompok (6, 10).

b. Rumus empiris Federer, sebagai berikut:

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

t = jumlah beda kelompok perlakuan terhadap hewan uji

n = jumlah ulangan tikus

Beda kelompok perlakuan, t = 4

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

$$n \geq 6$$

## 2. Metode Pengelompokkan Hewan Uji (11)

Metode pengelompokan hewan percobaan merupakan upaya penelitian untuk mendapat sampel yang representatif. Metodenya dibagi atas 2 kelompok besar, yaitu:

a. *Probability sampling* (Random sample)

b. *Non probability sampling* (Non random sample)

Pada metode *probability sampling*, sampel diambil secara random. Setiap unit populasi mempunyai kesempatan yang sama untuk diambil

sebagai sampel. Terdapat 5 cara pengambilan sampel dengan metode random, yaitu sebagai berikut:

a. Sampel random sederhana (*Simple random sampling*)

Terdapat 2 cara yang dikenal, yaitu:

1. Cara pengundian (*Cointoss*)

Cara ini dilakukan bila jumlah populasi sedikit. Setiap unit penelitian ditulis dalam searik kertas. Kertas-kertas tersebut kemudian digulung dan dimasukkan ke dalam sebuah kotak. Setelah dikocok, sejumlah gulungan kertas diambil sesuai dengan jumlah sampel yang direncanakan. Nomor-nomor yang terambil menjadi unit penelitian yang terpilih sebagai sampel. Penggunaan cara ini tidak praktis bila populasinya besar.

2. Mengundi tabel angka acak

Cara ini dilakukan bila jumlah populasi besar. Proses pengambilan sampel mudah dan sederhana. Beberapa syarat harus dapat dipenuhi seperti harus ada tabel kerangka sampling, jika tabel ini belum tersedia, harus dibuat terlebih dahulu. Syarat lainnya adalah sifat populasi harus homogen, jika tidak kemungkinan akan terjadi bias.

b. Sampel random berstrata (*Stratified Random Sampling*)

Populasi dibagi strata-strata (sub populasi), kemudian pengambilan sampel dilakukan dalam setiap strata secara sampel random sederhana.

c. Sampel random berkelompok (*Cluster Sampling*)

Pengambilan sampel dilakukan terhadap sampling unit, dimana sampling unitnya terdiri dari satu kelompok (cluster). Tiap individu di dalam kelompok yang terpilih akan diambil sebagai sampel.

d. Sampel bertingkat (*Multi Stage Sampling*)

Proses pengambilan sampel dilakukan bertingkat. Kekurangan metode ini adalah prosedur estimasinya sulit dan pengambilan sampel memerlukan perencanaan yang lebih cermat.

**B. JAMU “D”**

Jamu “D” sebagai bahan uji mengandung ekstrak herba pegagan (*Centellae Herba extract*), dan ekstrak herba seledri (*Apii graveolentis Herba extract*). Deskripsi tanaman yang terkandung di dalam jamu tersebut adalah sebagai berikut:

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

a. Taksonomi dan Morfologi

Berdasarkan *Cronquist system*, taksonomi tanaman *Centella asiatica* ialah sebagai berikut (12):

Dunia : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Subkelas: Rosidae

Bangsa : Apiales

Suku : Apiaceae

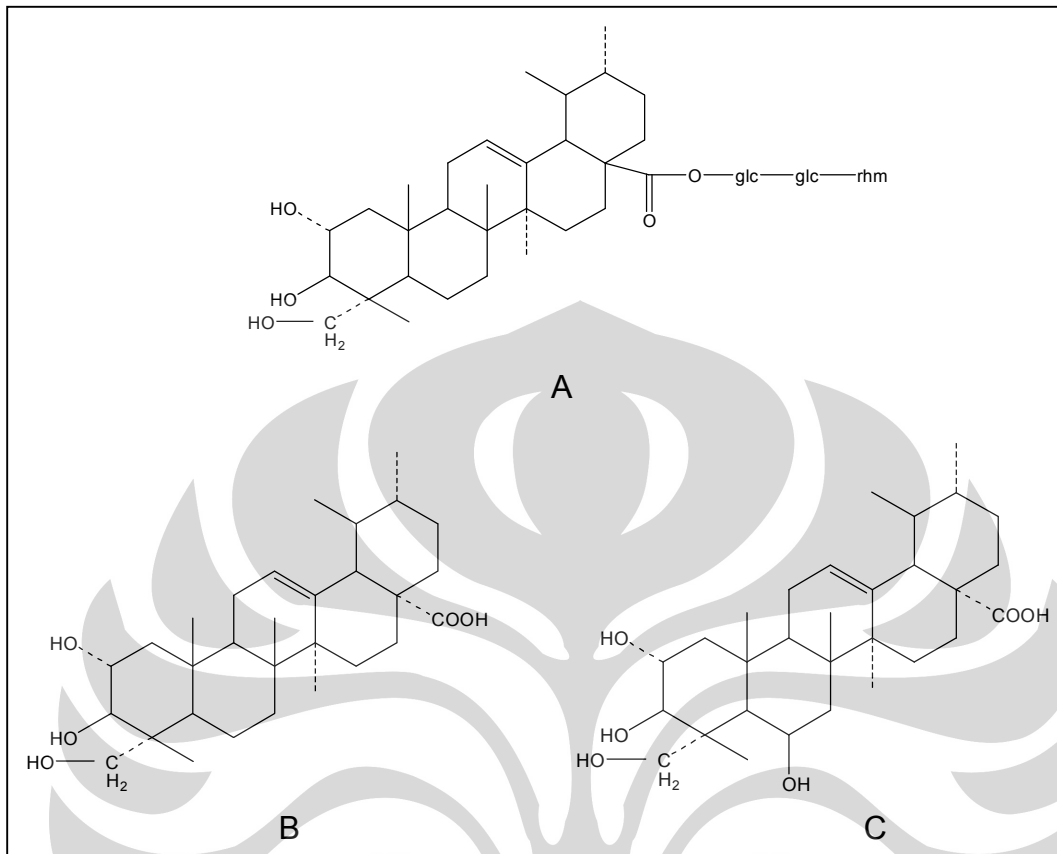
Marga : Centella

Jenis : *Centella asiatica* (L.) Urban

Tanaman pegagan merupakan terna menahun tanpa batang, tetapi dengan rimpang pendek dan stolon-stolon yang merayap. Berdaun tunggal, tersusun dalam roset yang terdiri dari 2 sampai 10 daun, kadang-kadang agak berambut, tangkai daun panjang hingga 50 mm, helai daun berbentuk ginjal, lebar dan bundar, pinggir daun beringgit sampai bergerigi, terutama ke arah pangkal daun. Bunga berwarna putih atau merah muda, tersusun dalam karangan berupa payung yang keluar dari ketiak daun. Buahnya pipih, lebar 7 mm dan tingginya 3 mm, berlekuk 2, memiliki rusuk jelas, berwarna kuning kecoklatan dan berdinding agak tebal (13, 14).

b. Kandungan Kimia

*Centella asiatica* (L.) Urban memiliki kandungan triterpen yang merupakan kandungan utama dan merupakan senyawa penanda pada tanaman ini. Komponen utama triterpennya adalah asiatikosid, asam madekosid dan asam asiatat (15, 16). Selain itu, terdapat pula flavonoid, diantaranya kuersetin dan kaemferol (3).



Gambar 1. Rumus bangun kandungan utama tanaman *Centella asiatica* (L.) Urban (14). Keterangan: (A) Asiatikosid; (B) Asam Asiatat; (C) Asam Madekosid

Selain triterpen dan flavonoid, *Centella asiatica* (L.) Urban juga dikarakterisasi oleh adanya minyak atsiri, seperti kebanyakan anggota suku Apiaceae lainnya. Kandungan minyak atsirinya yang utama adalah karyofilen dan farnesol (3).

### c. Manfaat

Ekstrak tanaman ini digunakan secara topikal sebagai terapi tambahan dalam penyembuhan luka operasi dan luka bakar. Penggunaannya secara



oral diindikasikan untuk mengobati gejala insufisiensi pembuluh darah vena (15, 17). Pemberian oral juga dimaksudkan untuk mengobati stres yang ditimbulkan oleh tukak usus (18).

#### d. Data Keamanan

Uji toksisitas akut herba pegagan yang dilakukan oleh seorang peneliti dari India mendapatkan bahwa ekstrak air herba seledri tidak memiliki efek toksik terhadap tikus pada dosis 7 g/kg bb yang diberikan secara oral. Uji ini dilakukan dengan menggunakan tiga tingkatan dosis pada 3 kelompok mencit galur *Swiss*, yaitu dosis 3, 5 dan 7 g/kg bb. Tiap kelompok terdiri atas satu jantan dan satu betina. Tanaman *Centella asiatica* yang digunakan adalah yang berasal dari Pune dan Ahmednagar. Parameter yang diamati adalah tingkah laku mencit, jumlah makanan dan minuman yang dikonsumsi, peningkatan berat badan perhari dan jumlah kematian perhari. Hasilnya menunjukkan tidak ada perubahan tingkah laku jika dibandingkan hari ke-0, tidak ada perubahan yang signifikan pada jumlah makanan dan minuman yang dikonsumsi, tidak ada penurunan berat badan yang berarti serta tidak ditemukan adanya kematian yang merupakan penilaian utama dari LD<sub>50</sub> pada dosis tertinggi sekalipun (4).

## 2. Tanaman *Apium graveolens* L.

### a. Taksonomi dan Morfologi

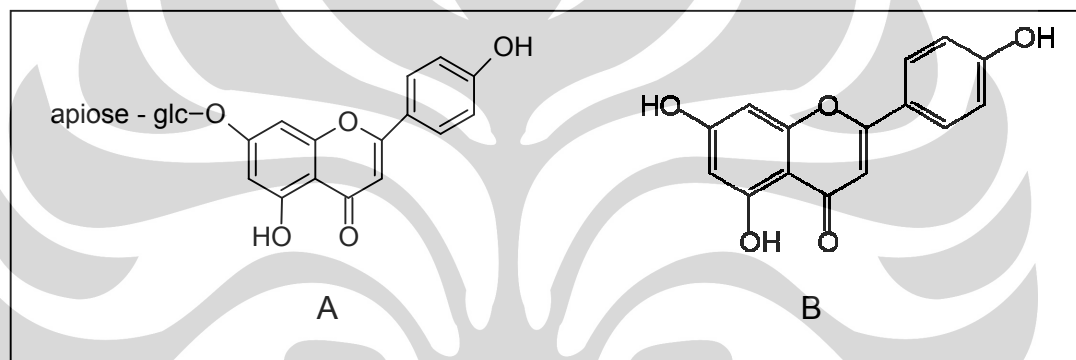
Taksonomi *Apium graveolens* L. berdasarkan *Cronquist system* adalah sebagai berikut (12):

Dunia : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Subkelas: Rosidae  
Bangsa : Apiales  
Suku : Apiaceae  
Marga : *Apium*  
Jenis : *Apium graveolens* L.

Seledri merupakan tanaman menahun yang berbentuk seperti semak atau rumput dengan tinggi 50 cm. Daun seledri bersifat majemuk, menyirip ganjil dengan anak daun antara 3-7 helai. Tepi daun pada umumnya beringgit dengan pangkal maupun ujung runcing. Tulang-tulang daun menyirip. Tangkai daun tumbuh tegak ke atas atau ke pinggir batang sekitar 5 cm, berwarna hijau tua atau hijau keputih-putihan. Batang seledri berukuran pendek dan memiliki sistem perakaran menyebar ke semua arah pada kedalaman 30-40 cm (19).

## b. Kandungan Kimia

Herba seledri mengandung minyak atsiri, diantaranya limonena, mirsena,  $\beta$ -selinena,  $\alpha$ -terineol dan karveol. Selain itu, kandungan utamanya yaitu flavonoid apiin dan apigenin (20). Senyawa lain yang berhasil diisolasi dari tanaman *Apium graveolens* antara lain manitol, senyawa golongan fenol, dan senyawa golongan kumarin (21).



Gambar 2. Rumus bangun kandungan utama tanaman *Apium graveolens* L. (20). Keterangan: (A) Apiin; (B) Apigenin

## c. Manfaat

Tanaman seledri di Asia Tenggara digunakan dalam berbagai macam masakan sebagai penyedap. Tanaman ini juga digunakan dalam pengobatan tradisional terutama sebagai diuretik (2). Sebuah penelitian membuktikan bahwa ekstrak air herba seledri memiliki efek menurunkan kadar kolesterol dan lipid dalam darah (22). Sedangkan ekstrak bijinya memiliki efek gastroprotektif dan memiliki aktivitas antiinflamasi lebih besar dibandingkan obat-obat NSAID pada tikus yang dibuat artritis (23).

#### d. Data Keamanan

Penelitian mengenai toksisitas akut ekstrak herba *Centellae asiatica* mendapatkan nilai LD<sub>50</sub> ekstrak tanaman ini yang diberikan secara oral pada tikus adalah 5 g/kg bb (5).

### C. Jantung

#### 1. Anatomi dan Fisiologi

Jantung terletak di rongga toraks (dada) sekitar garis tengah antara sternum (tulang dada) di sebelah anterior dan vertebra (tulang punggung) di sebelah posterior. Jantung terbungkus di dalam membran berdinding ganda yaitu lapisan dalam (*perikardium viseralis*) dan lapisan luar (*perikardium parietalis*). Keduanya dipisahkan oleh sedikit cairan pelumas yang mengurangi gesekan akibat gerakan pemompaan jantung (24).

Dinding jantung terdiri dari tiga lapisan berbeda yaitu (24):

- a. Endokardium (endo berarti “di dalam”; cardia berarti “jantung”) adalah lapisan tipis endotelium yang melapisi bagian dalam seluruh sistem sirkulasi di sebelah dalam.
- b. Miokardium (myo berarti “otot”), lapisan tengah yang terdiri dari otot jantung, membentuk sebagian besar dinding jantung.
- c. Epikardium (epi berarti “di atas”) adalah suatu membran tipis di bagian luar yang membungkus jantung.

Jantung memiliki empat bilik. Bilik bagian atas (atrium) menerima darah yang kembali ke jantung dan memindahkannya ke bilik bagian bawah (ventrikel) yang memompa darah dari jantung. Darah yang kembali dari sirkulasi sistemik masuk ke atrium kanan melalui vena kava. Darah tersebut mengalir dari atrium kanan ke ventrikel kanan yang memompanya keluar melalui arteri pulmonalis ke paru. Darah yang kaya oksigen dari paru melalui vena pulmonalis mengalir ke atrium kiri kemudian ke ventrikel kiri. Bilik ini mendorong darah ke seluruh tubuh kecuali paru melalui aorta (24).

Darah mengalir melalui bilik-bilik jantung dalam satu arah tetap. Dalam mempertahankan aliran darah yang searah ini, jantung memiliki katup yang membuka dan menutup secara pasif karena perbedaan tekanan. Katup-katup tersebut antara lain (24):

- a. *Katup arterioventrikularis* (AV) kanan dan kiri, masing-masing terletak di antara atrium dan ventrikel kanan dan kiri. Katup AV kanan disebut katup *trikuspidalis* sedangkan yang kiri disebut *bikuspidalis* atau *mitralis*. Daun katup dari kedua katup itu tertambat melalui berkas-berkas tipis jaringan fibrosa yang disebut korda tendinae yang berfungsi menyokong katup pada waktu kontraksi ventrikel untuk mencegah membaliknya daun katup ke dalam atrium.
- b. *Katup semilunaris* terdiri atas tiga daun katup yang masing-masing menyerupai bulan separuh. Katup ini mencegah aliran kembali darah dari aorta atau arteri pulmonalis ke dalam ventrikel, sewaktu ventrikel dalam keadaan istirahat.

Denyut jantung berasal dari sistem penghantar jantung yang khusus dan menyebar melalui sistem ini ke semua bagian miokardium. Struktur yang membentuk sistem penghantar adalah nodus sinoatrium (nodus SA), lintasan antarnodus di atrium, nodus atrioventrikel (nodus AV), berkas His beserta cabangnya dan sistem Purkinje. Impuls yang mengkoordinasikan kontraksi, secara normal berawal pada nodus sinoatrium (SA). Oleh karena itu, nodus ini disebut *pacemaker*. Dari sini impuls menyebar di atas otot atrium sampai nodus atrioventrikel. Dari titik tersebut, serat Purkinje bercabang dua dan cabang yang terpisah berjalan melalui jaringan subendokardial dari ventrikel kanan dan kiri (25).

## **2. Otot Jantung**

Sel otot jantung memperlihatkan pola pita bergaris melintang yang sama dengan pola garis melintang pada otot rangka dan terdiri atas sel-sel yang panjang, berinti satu atau dua yang terletak di tengah, bercabang tunggal yang terletak paralel satu sama lain. Kontraksinya bersifat involunter, kuat dan berirama (24).

Satu ciri yang unik dari otot jantung ialah adanya garis-garis gelap melintang yang melintasi sel-sel jantung dengan interval yang tidak teratur disebut diskus interkalaris (24). Otot jantung berbeda dari otot rangka juga karena otot jantung mengandung sedikit bahan kontraktile tetapi mitokondria lebih banyak. Mitokondria jelas berperan penting dalam kontraktilitas jantung dan sering menjadi sasaran kardiotoksitas subseptal (7).

Otot jantung lebih tahan terhadap trauma bila dibandingkan dengan otot jenis lainnya, tetapi hampir tidak ada tanda-tanda regenerasi setelah terjadinya suatu cedera. Otot jantung yang rusak ditandai dengan adanya suatu jaringan parut (26).

### **3. Kerusakan Jantung**

Terdapat suatu keseimbangan kritis antara suplai oksigen miokardium dengan kebutuhan akan oksigen. Iskemia adalah kondisi dimana suplai darah ke jantung tidak adekuat untuk menjaga fungsi esensialnya. Beberapa hal menjadi penyebab iskemia miokardial, tetapi penyebab yang sangat umum adalah aterosklerosis koroner. Menurunnya aliran darah menyebabkan berbagai akibat yang kompleks diantaranya hipoksia yang serius karena konsentrasi oksigen jaringan menurun drastis (27).

Iskemia yang tadinya reversibel menjadi tidak reversibel sehingga menyebabkan sel tidak lagi dapat menjaga integritas membran. Iskemia yang berlangsung lebih dari 30 menit akan menyebabkan kematian otot atau nekrosis. Nekrosis miokardium dikenal dengan nama infark miokard. Infark miokard merupakan tipe utama dari kerusakan jantung secara degeneratif. Enzim yang digunakan sebagai penanda diantaranya aspartat aminotransferase dan kreatin kinase (27)

Pada pengamatan mikroskopik histologis miokardium, mula-mula batas antara daerah normal dan infark tidak terlalu jelas. Setelah 24 jam, maka bagian yang terkena infark akan tampak lebih pucat. Setelah beberapa

hari, maka bagian yang pucat tersebut akan tampak kuning putih, berbeda tegas dengan sekelilingnya. Timbul sel polimorfonuklear. Sampai dengan beberapa minggu, maka bagian yang terkena infark tersebut akan mengalami fibrosis. Di mulai dari tepi, masuk ke dalam pusat nekrosis sehingga nekrosis digantikan oleh jaringan parut yang pucat (28).

### **C. Aspartat Aminotransferase**

Aspartat aminotransferase atau glutamat oksalosaetat transaminase merupakan enzim intraseluler yang mengkatalisis reaksi pemindahan gugus amino dari aspartat ke asam  $\alpha$ -ketoglutarat sehingga terbentuk oksaloasetat dan glutamat dengan bantuan vitamin B<sub>6</sub> fosfat sebagai koenzim (8). Reaksi dapat dilihat pada gambar 4.

Aspartat aminotransferase (AST) ditemukan terutama pada sitoplasma hati, miokardium, otot rangka dan ginjal (29). Namun aktivitas spesifik tertinggi AST ditemukan di jantung (8). Aktivitas yang lebih rendah terjadi pada organ lain meliputi pankreas, paru-paru dan eritrosit. Dapat pula ditemukan pada plasma, empedu, cairan serebrospinal dan air liur (24).

Meningkatnya aktivitas enzim intrasel dalam darah dapat menunjukkan adanya kerusakan pada jaringan asal enzim tersebut. Aktivitas AST dalam serum meningkat tajam pada penderita infark miokard. Peningkatan ini mencapai puncak satu hari sesudah serangan infark tersebut dan secara progresif turun kembali dan mencapai nilai normal pada hari kelima sesudah serangan (8).



AST memiliki dua isozim, yaitu yang berasal dari sitoplasma dan mitokondria. Enzim yang biasa terdapat dalam plasma dan meningkat aktivitasnya pada kerusakan ringan jaringan otot jantung ialah isozim yang berasal dari sitoplasma. Isozim mitokondria baru akan keluar ketika terjadi kerusakan otot jantung yang lebih mendalam (8).

Terdapat 3 metode pengukuran enzim aspartat aminotransferase yaitu metode pembentukan dinitrofenilhidrazon (*colorimetri*), metode enzimatik (*ultraviolet monitoring*) serta metode enzimatik *leuco dye*. Pada penelitian ini digunakan metode kolorimetri yang menghasilkan piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon, kemudian diukur pada panjang gelombang 505 nm. Metode ini diperkenalkan oleh Reitman dan Frankel pada tahun 1957 dan sering digunakan hingga saat ini karena kelebihanannya yaitu lebih sederhana dan keakuratannya dapat diterima (29, 30). Reaksi dapat dilihat pada gambar 5.

#### **D. KREATIN KINASE**

Kreatin kinase (CK) yang juga disebut kreatin fosfokinase adalah enzim sitoplasmik dan mitokondrial yang mengkatalisis pembentukan ATP dan fosforilasi kreatin dengan ATP sebagai donor gugus fosfat seperti yang tertera dalam persamaan yang terdapat dalam gambar 6 (29).

Aktivitas spesifik kreatin kinase yang tertinggi ialah di dalam otot rangka (2500 U/g protein), otak (550 U/g protein), dan jantung (470 U/g protein). Jaringan lain seperti ginjal dan otot diafragma mengandung kreatin

kinase dalam jumlah yang sedikit (30 U/ g protein) sedangkan hati dan sel darah merah tidak mengandung enzim ini (8).

CK merupakan dimer yang terdiri atas dua subunit yaitu subunit B (brain) dan M (muscle). Ada 3 macam isozim CK, yaitu CK 1 (CK BB), CK 2 (CK BM) dan CK 3 (CK MM). Pemeriksaan isozim dapat membedakan apakah CK berasal dari jantung (CK MB) atau otot rangka (CK MM). Kerusakan otot jantung biasanya menyebabkan kenaikan CK 2 paling sedikit 6% dari aktivitas CK total. Kadar CK mulai meningkat setelah serangan infark (sekitar 4-6 jam) dan mencapai puncak dalam 24-36 jam dan akan kembali normal 2-3 hari setelah infark (8).

Metode untuk menentukan aktivitas total CK berdasarkan pada pengukuran produk yang terbentuk, baik pada *forward reaction* ataupun pada *reverse reaction*. Kebanyakan metode untuk mengukur aktivitas total CK menggunakan dasar *reverse reaction* yang mengubah kreatin fosfat menjadi kreatin. Metode ini berdasarkan pada prinsip yang dikemukakan Oliver dan dimodifikasi oleh Rosalki. ATP yang dihasilkan pada *reverse reaction* kemudian digunakan dalam *coupled enzymatic glucose assay* menggunakan heksokinase (HK) dan glukosa-6-fosfatdehidrogenase (G6PDH) menghasilkan NADPH yang diamati pada 340 nm (27, 31). Reaksi dapat dilihat pada gambar 7.

## **BAB III**

### **ALAT, BAHAN DAN CARA KERJA**

#### **A. LOKASI PENELITIAN**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi dan Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Penelitian dilakukan dari bulan Februari sampai Mei 2009.

#### **B. ALAT**

Peralatan yang digunakan selama penelitian ini antara lain sonde lambung, timbangan hewan (Mettler Toledo), timbangan analitik (Ohaus), pH meter (Eutech), spektrofotometer (Genesys 20 dan Jasco V-530), sentrifugator (Gemmy Industrial Corp), mikroskop cahaya (Nikon SE), mikrotom putar (American Optical), parafin stretcher (Sakura), parafin oven (Sakura), pemanas (Akebono), mikrohematokrit (Superior Marienfield), pipet Eppendorf (Socorex), seperangkat alat bedah dan alat-alat gelas.

#### **C. BAHAN**

##### **1. Hewan Uji**

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dan betina (*Ratus norvegicus* L), galur *Sprague Dawley* (SD), berumur 2

bulan dengan berat badan kurang lebih 200 gram, masing-masing sebanyak 24 ekor. Tikus diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

## **2. Bahan Uji**

Bahan uji yang digunakan yaitu jamu “D” yang diperoleh dari PT Jamu Borobudur. Kandungan jamu tersebut terdiri atas ekstrak *Centellae Herba* dan ekstrak *Apii graveolentis Herba*. Serbuk jamu “D” dapat dilihat pada gambar 1.

## **3. Bahan Kimia**

Bahan-bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah asam klorida (Merck), dinatrium hidrogen fosfat (Merck), kalium dihidrogen fosfat (Merck), natrium hidroksida (Merck), asam  $\alpha$ -ketoglutarat (Sigma), asam aspartat (Merck), natrium piruvat (Merck), 2,4-dinitrofenilhidrazin (Sigma), reagen kit CK-NAC (Elitech), CMC (Daiichi Kogyo Seikaku Jepang), sodium heparin (PT Pratapa Nirmala), dietil eter (Merck), alkohol absolut (Merck), alkohol 96% teknis, alkohol 80% teknis, alkohol 70% teknis, natrium klorida 0,9% (Merck), asam pikrat (Merck), entelan (Merck), xilol (Merck), benzil benzoat (Merck), larutan bouin, larutan eosin, larutan hematoksilin, albumin Mayers, parafin teknis, formalin teknis, benzol.

## D. CARA KERJA

### 1. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji diaklimatisasi selama 2 minggu dalam kandang laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Pada tahap ini, hewan uji diamati keadaan umumnya dengan melakukan penimbangan setiap satu minggu sekali dan diamati keadaan fisiknya. Tikus 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. Sedangkan tikus yang sakit tidak diikutsertakan dalam percobaan.

Hewan uji dibagi dalam empat kelompok perlakuan. Pengelompokan hewan uji dilakukan sehari sebelum melaksanakan percobaan secara *Sample random sampling* menggunakan metode pengundian (11). Setiap kelompok terdiri atas 6 ekor tikus jantan dan 6 ekor tikus betina. Jumlah ulangan tiap kelompok ini berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus empiris Federer.

## **2. Penetapan Dosis**

Dosis yang digunakan pada penelitian didasarkan pada dosis lazim jamu “D” untuk manusia. Setiap kapsul mengandung 550 mg jamu, dosis untuk manusia adalah dua kali sehari dua kapsul. Maka dosis pada manusia adalah 2200 mg/hari.

Dosis untuk hewan uji tikus didapatkan dengan mengalikan dosis manusia dengan faktor konversi untuk tikus dan faktor farmakokinetik. Faktor konversi dari manusia ke tikus 200 gram adalah 0,018. Faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10. Untuk dosis II dan III berturut-turut kelipatan 2 dan 4 dari dosis I.

Sehingga dosis yang akan digunakan adalah 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

Masing-masing tikus dengan berat badan 200 gram diberikan suspensi bahan uji sebanyak 3 mL. Keterangan selengkapnya dapat dilihat dalam lampiran 1.

## **3. Pembuatan Suspensi Bahan Uji**

Bahan uji yang dipakai ialah jamu “D” yang diperoleh dari PT Jamu Borobudur, Semarang. Suspensi bahan uji dibuat dengan menimbang zat uji

sesuai dosis yang akan digunakan, kemudian disuspensikan dalam larutan CMC 0,5% sampai volume yang diinginkan.

Terlebih dahulu dilakukan pembuatan sediaan uji dosis III. Kemudian sediaan uji dosis I dan II diperoleh melalui pengenceran terhadap sediaan uji dosis III. Penjelasan selengkapnya terdapat pada lampiran 2.

#### **4. Pembuatan Larutan dan Perekasi**

a. Pembuatan larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M (32)

Dinatrium hidrogen fosfat sebanyak 5,962 gram dilarutkan di gelas piala dan volumenya dicukupkan sebanyak 420 ml dengan aquadest.

b. Pembuatan larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M (32)

Kalium dihidrogen fosfat sebanyak 1,088 gram dilarutkan di gelas piala dan volumenya dicukupkan sebanyak 80 ml dengan aquadest.

c. Pembuatan dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 (33)

Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M 420 ml ditambahkan 80 ml larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M, kemudian pH disesuaikan sampai 7,4.

d. Pembuatan larutan piruvat 2  $\mu\text{m/l}$  (untuk kurva kalibrasi) (33)

Natrium piruvat sebanyak 22,0 mg dimasukkan ke dalam labu ukur, kemudian ditambahkan dapar fosfat sampai 100,0 ml

e. Pembuatan substrat untuk pemeriksaan aspartat aminotransferase (33)

Asam  $\alpha$ -ketoglutarat sebanyak 29,2 mg dicampur dengan 2,66 g asam aspartat dalam gelas piala kecil, ditambah dengan larutan natrium

hidroksida 1 N sampai larut, pH disesuaikan sampai 7,4 kemudian ditambahkan dapar fosfat sampai 100,0 ml di dalam labu ukur.

f. Pembuatan larutan reagen warna (33)

Sebanyak 19,6 mg 2,4-dinitrofenilhidrazin ditambahkan larutan asam klorida 1N 100,0 ml di dalam labu ukur.

g. Pembuatan larutan pereaksi uji kreatin kinase (reagen kit) (34)

Penjelasan terdapat pada lampiran 3.

## 5. Pelaksanaan Percobaan

Dalam percobaan ini digunakan 24 ekor tikus jantan dan 24 ekor tikus betina yang dibagi secara acak ke dalam empat kelompok perlakuan.

Tabel 1.  
Kelompok perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah tikus jantan (n)	Jumlah tikus betina (n)
1	Diberi dosis 1980 mg/kg bb tikus per hari	6	6
2	Diberi dosis 3960 mg/kg bb tikus per hari	6	6
3	Diberi dosis 7920 mg/kg bb tikus per hari	6	6
4	Kontrol normal, hanya diberi larutan CMC 0,5%	6	6



## **a. Cara perlakuan**

Suspensi bahan uji diberikan secara oral kepada 6 tikus jantan dan 6 tikus betina dari tiap kelompok dosis dengan frekuensi satu kali sehari menggunakan sonde lambung dalam jumlah tertentu sesuai dosis yang akan diberikan (Gambar 8). Pemberian dosis disesuaikan dengan berat badan tikus setiap hari selama 90 hari. Selama pemberian, tikus diberi makan dan minum secara teratur.

Pada hari ke 91 dilakukan pengambilan sampel darah serta pengambilan organ jantung seluruh tikus jantan dan betina dari tiap kelompok dosis. Dari sampel darah diperoleh plasma yang kemudian diukur aktivitas aspartat aminotransferase dan kreatin kinase sedangkan dari organ jantung dibuat sediaan histologisnya.

## **b. Pengambilan sampel**

### **1. Pengambilan plasma darah**

Sampel darah diambil melalui sinus orbital mata dengan tabung hematokrit. Sebelum pengambilan sampel darah, tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan eter, kelopak mata tikus dibuka sampai bola mata tikus sedikit keluar. Setelah itu dengan menggunakan pipa kapiler mata tikus ditusuk pada bagian vena sinus orbitalis yaitu pada sudut dalam bola mata dengan mengarah ke daerah belakang bola mata, digerakkan masuk sambil diputar-putar, sehingga darah akan keluar karena aksi kapilaritas (35).

Kemudian darah ditampung dalam mikrotube yang telah diberi heparin. Selanjutnya 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.

## **2. Pengambilan organ jantung**

Pengambilan organ jantung dilakukan dengan cara pembedahan. Sebelum pembedahan tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan 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 jantung diambil, dimasukkan ke dalam gelas kimia berisi NaCl 0.9% untuk menghilangkan darah yang menempel pada jaringan, lalu dilakukan prosedur pembuatan histologis jantung (36).

## **6. Pengukuran Aktivitas Aspartat Aminotransferase**

Prinsip: Mereaksikan piruvat yang terbentuk dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin, sehingga terbentuk piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon. Senyawa yang terbentuk ini diukur aktivitasnya dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  505 nm (33).

### a. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat dicampur dalam tabung reaksi dengan perbandingan sebagai berikut:

Tabel 2.

Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat dalam berbagai konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi AST (33)

No Tabung	Larutan Standar Piruvat (mL)	Larutan Dapar Substrat (mL)	Nilai Aktivitas (U/L)
1	0,00	1,00	0
2	0,05	0,95	9
3	0,10	0,90	21
4	0,15	0,85	36
5	0,20	0,80	60
6	0,25	0,75	95

Ke dalam setiap tabung ditambahkan 1,0 ml reagen warna lalu dikocok sampai homogen. Kemudian didiamkan selama 20 menit dalam suhu kamar. Ditambahkan 10,0 ml natrium hidroksida 0,4 N. Kocok sampai homogen. Diamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 505 nm (33).

## b. Pengukuran sampel AST plasma

Tabel 3.  
Tahap pengukuran sampel AST plasma (33)

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 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

Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm kemudian serapan yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier sehingga didapat nilai aktivitasnya (33).

## 7. Pengukuran Aktivitas Kreatin Kinase

Prinsip: ATP yang terbentuk pada *reverse reaction* bereaksi dengan glukosa dan enzim heksokinase membentuk ADP dan glukosa-6-fosfat. Glukosa-6-fosfat dengan adanya G-6-PDH dioksidasi menjadi 6-

fosfogluconat yang disertai dengan reduksi  $\text{NADP}^+$  menjadi NADPH. Kecepatan pembentukan NADPH diukur secara spektrofotometri pada  $\lambda$  340 nm (30, 34).

Metode (34):

1. 800  $\mu\text{L}$  pereaksi dan 32  $\mu\text{L}$  plasma dipipet ke dalam sebuah kuvet semimikro.
2. Campuran larutan diinkubasi selama 100 detik pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
3. Pengukuran serapan pertama dilakukan. Kemudian dilakukan pengukuran serapan kembali setelah 1, 2 dan 3 menit. Selanjutnya dihitung serapan/menit ( $\Delta A/\text{menit}$ ).

Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang 340 nm.

$$U/L = \Delta A/\text{menit} \times 4127$$

## **8. Pembuatan Preparat Histologis Jantung (36)**

### **a. Fiksasi**

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan jaringan sehingga susunan jaringan tersebut mendekati keadaan hidup dan untuk mengeraskan jaringan sehingga memudahkan pembuatan irisan tipis. Organ jantung difiksasi dengan larutan Bouin (campuran asam pikrat jenuh 70 bagian, formalin 25 bagian dan asam asetat glasial 5 bagian) selama 48 jam. Sisa-sisa fiksasi setelah fiksasi selesai dapat dihilangkan dengan merendam organ dalam larutan alkohol 70%.

#### b. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan untuk mengeluarkan air agar jaringan dapat diresapi parafin. Organ direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam; kemudian dalam alkohol 96% dua kali masing-masing selama 60 menit; dilanjutkan dengan alkohol absolut, dua kali masing-masing selama 60 menit. Kemudian dilakukan penjernihan dalam benzil benzoat selama 24 jam dan dalam benzol, dua kali masing-masing selama 30 menit.

#### c. Infiltrasi

Infiltrasi oleh parafin dilakukan agar jaringan dapat diiris setipis 5-10  $\mu\text{m}$ . Organ diinfiltrasi dengan cara direndam ke dalam parafin yang telah dicairkan dalam dua tahap, yaitu parafin I dan parafin II, masing-masing selama 1 jam dalam inkubator pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$ .

#### d. Penanaman

Organ yang telah diinfiltrasi dimasukkan ke dalam cetakan berupa kotak-kotak kertas yang telah berisi parafin cair hingga terendam. Kemudian parafin dibiarkan pada suhu kamar sampai 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.

e. Penyayatan

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada pisau mikrotom dan diatur sampai diperoleh sayatan dengan tebal  $7\mu\text{m}$ .

f. Penempelan pada gelas objek

Penempelan dilakukan pada gelas objek yang telah diolesi sedikit albumin Mayer (campuran putih telur dan gliserin dengan perbandingan 1:1) dan ditetesi aquadest. Selanjutnya gelas objek diletakkan di atas parafin stretcher pada suhu  $30-40^{\circ}\text{C}$ . Setelah sayatan pada objek mengembang sempurna, sisa-sisa air pada objek diserap dengan kertas tisu dan dibiarkan hingga mengering.

g. Deparafinasi

Parafin dilarutkan agar dihasilkan jaringan yang bening dan transparan. Parafin yang melekat di seputar sayatan, dihilangkan dengan cara merendam gelas objek pada larutan xilol selama  $\pm 6$  menit.

h. Hidrasi

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

i. Pewarnaan

Pewarnaan dilakukan agar bagian-bagian tertentu dari jaringan tampak lebih menonjol sehingga dapat diamati dengan mikroskop. Gelas objek yang telah dihidrasi direndam dalam larutan hematoksilin selama empat menit, kemudian dicuci dalam bak berisi air mengalir hingga bagian gelas objek diluar jaringan bersih dari zat warna. Bila warna jaringan terlalu ungu, maka gelas objek dicelupkan ke dalam larutan asam klorida 1% selama beberapa detik, selanjutnya direndam ke dalam larutan eosin selama empat menit.

j. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan agar tidak terjadi pembusukan organ. Proses ini dilakukan dengan merendam gelas objek yang telah diwarnai dalam larutan alkohol dengan konsentrasi naik, yaitu alkohol 70% selama tiga menit, alkohol 96% selama tiga menit, alkohol absolut selama tiga menit, dan terakhir dalam campuran alkohol : xilol (1:1) selama lima menit.

k. Penjernihan

Penjernihan dilakukan untuk menghasilkan jaringan yang bening dan transparan. Gelas objek yang telah didehidrasi direndam dalam larutan xilol sebanyak tiga kali, masing-masing selama dua menit.



## I. Penutupan

Sebelum dilakukan penutupan, xilol dan kotoran yang tersisa dibersihkan dengan kertas tisu, kemudian ditetesi entelan 1 tetes dan ditutup perlahan dengan kaca penutup serta dijaga agar tidak terdapat gelembung udara. Lalu dibiarkan mengering dalam suhu kamar.

## m. Pengamatan

Pengamatan dilakukan secara mikroskopik dengan membandingkan preparat histologis antara jantung kelompok kontrol normal dengan jantung kelompok perlakuan dengan menggunakan mikroskop medan terang. Pengamatan histologis pada jantung dengan cara melihat adanya infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, serta adanya fibrosis otot jantung. Pengamatan dilakukan empat kali pada satu buah preparat, kemudian dihitung frekuensi munculnya infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, serta adanya fibrosis otot jantung yang dibandingkan antara kelompok I, II, dan III dengan kelompok IV.

## 9. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 16,0. Pengujian normalitas aspartat aminotransferase dan kreatin kinase menggunakan metode Saphiro-Wilk. Pengujian homogenitas menggunakan metode lavene. Untuk menganalisis data digunakan analisis varian (ANOVA)

satu arah yang bertujuan untuk menguji hipotesis kesamaan rata-rata hitung antara keempat kelompok perlakuan. Bila data yang dihasilkan berbeda secara bermakna, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (37).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. HASIL PERCOBAAN

##### 1. Aktivitas AST Plasma

###### a. Kurva kalibrasi

Persamaan garis :  $y = 0,011 + 2,111 \cdot 10^{-3}x$

Nilai koefisien korelasi:  $r = 0,9931$

$y$  = serapan

$x$  = nilai aktivitas AST plasma (UI/L)

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada gambar 7, tabel 4, dan lampiran 4.

###### b. Nilai aktivitas AST plasma tikus putih betina

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut:

Kelompok I :  $108,01 \pm 11,65$  U/L

Kelompok II :  $109,58 \pm 14,57$  U/L

Kelompok III :  $124,27 \pm 12,73$  U/L

Kelompok IV :  $113,21 \pm 12,23$  U/L

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu "D" tidak mempengaruhi aktivitas AST plasma tikus putih

betina. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 8, Tabel 5, Lampiran 5 dan 9.

c. Nilai aktivitas AST plasma tikus putih jantan

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut:

Kelompok I :  $104,29 \pm 14,47$  U/L

Kelompok II :  $105,48 \pm 13,84$  U/L

Kelompok III :  $114,95 \pm 12,17$  U/L

Kelompok IV :  $95,22 \pm 12,17$  U/L

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu "D" tidak mempengaruhi aktivitas AST plasma tikus jantan. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 8, Tabel 6, Lampiran 5 dan 12.

## 2. Aktivitas Kreatin Kinase Plasma

a. Nilai aktivitas CK plasma tikus putih betina

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut:

Kelompok I :  $221,80 \pm 53,84$  U/L

Kelompok II :  $215,90 \pm 39,81$  U/L

Kelompok III :  $256,09 \pm 69,07$  U/L

Kelompok IV :  $186,51 \pm 47,30$  U/L

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu “D” tidak mempengaruhi aktivitas CK plasma tikus putih betina. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 9, Tabel 7, Lampiran 6 dan 15.

b. Nilai aktivitas CK plasma tikus putih jantan

Hasil pengukuran setelah perlakuan 90 hari, sebagai berikut:

Kelompok I :  $246,37 \pm 68,09$  U/L

Kelompok II :  $248,60 \pm 50,48$  U/L

Kelompok III :  $266,09 \pm 41,76$  U/L

Kelompok IV :  $192,40 \pm 56,68$  U/L

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa pemberian jamu “D” tidak mempengaruhi aktivitas CK plasma tikus putih jantan. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 9, Tabel 8, Lampiran 6 dan 18.

### **3. Pemeriksaan Histologis Jantung**

Dari empat kali pengamatan sediaan histologis jantung secara mikroskopik, tidak ditemukan timbulnya infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung dan fibrosis otot jantung pada keempat kelompok hewan coba. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pemberian jamu “D” tidak mempengaruhi organ jantung baik pada tikus putih

betina maupun jantan. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 10-17.

## **B. PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keamanan dan pengaruh pemberian kombinasi ekstrak herba *Centella asiatica* (L.) Urban dan ekstrak herba *Apium graveolens* L. secara oral pada penggunaan jangka panjang khususnya pada organ jantung yang merupakan organ vital dalam tubuh (7). Penelitian dilakukan selama 90 hari sesuai dengan ketentuan WHO yang menyatakan bahwa untuk obat yang digunakan dalam jangka waktu panjang, pengujian toksisitas dilakukan antara 1-3 bulan (30).

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague Dawley* berumur 2 bulan karena pada usia ini tikus dianggap dewasa serta memiliki aktivitas hormonal yang stabil, sistem organ dan fungsi metabolisme yang baik. Penggunaan tikus putih sebagai hewan coba karena relatif murah, mudah didapat, mudah pemeliharaannya serta sensitivitasnya besar terhadap obat (37, 38).

Sebagai tahap awal dari penelitian ini, hewan uji dikelompokkan secara random melalui metode pengundian. Metode sampling dengan cara random bertujuan agar setiap hewan uji memiliki kesempatan yang sama untuk mendapatkan perlakuan sehingga bias pemilihan dapat diperkecil. Pemilihan metode pengundian dikarenakan metodenya yang merupakan metode sampling sederhana dan dapat digunakan untuk sampel yang

jumlahnya sedikit (29). Selanjutnya hewan uji dibagi menjadi empat kelompok yang terdiri atas tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol yang didasarkan atas ketentuan WHO (6, 30). Sebelum diberikan perlakuan, tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 2 minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Selama masa aklimatisasi dilakukan pengamatan untuk mengetahui kondisi kesehatan tikus secara umum (6). Hal ini dapat dilihat dari tingkah lakunya yang normal, mata yang jernih, serta bertambahnya berat badan setiap hari.

Badan Kesehatan Dunia (WHO) menyebutkan bahwa dosis paling rendah harus tidak memberikan efek toksik, maka dalam penelitian ini kelompok perlakuan dengan dosis paling rendah mendapatkan dosis yang setara dengan dosis lazim pada manusia. Kemudian penentuan tingkatan dosis selanjutnya menggunakan kelipatan dua (6). Sedangkan kelompok kontrol diberikan larutan CMC 0,5%. Pemberian larutan CMC 0,5% berdasarkan pada uji pendahuluan. Suspensi bahan uji diberikan setiap hari secara oral dengan menggunakan sonde lambung kepada hewan uji. Cara pemberian melalui oral ini didasarkan pada aplikasi penggunaannya terhadap manusia (6, 30).

Pada hari ke 91, seluruh tikus dari tiap kelompok perlakuan diambil darahnya melalui vena sinus orbitalis. Pengambilan darah melalui rute ini dikarenakan jumlah darah yang diperoleh lebih banyak, lebih cepat dan lebih mudah dilakukan. Tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan eter untuk mengurangi ketidaknyamanan dalam proses pengambilan darah (34).

Pemilihan eter sebagai anestesi disebabkan mudah dalam penggunaannya, harga relatif murah dan efek pulih yang cepat. Kemudian darah yang telah terkumpul disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 7000 rpm untuk diambil plasmanya.

Pengaruh pemberian jamu "D" yang mengandung ekstrak herba *Centella asiatica* (L.) Urban dan ekstrak herba *Apium graveolens* L. terhadap jantung tikus putih jantan dan betina dilihat berdasarkan hasil pengukuran aktivitas aspartat aminotransferase (AST) dan kreatin kinase (CK) serta gambaran histologis jantung. Pemeriksaan aktivitas aspartat aminotransferase dikarenakan enzim ini memiliki aktivitas terbanyak di jantung. Meningkatnya kadar enzim tersebut dalam serum merupakan penanda terjadinya kerusakan miokardium (26). Sedangkan kreatin kinase merupakan enzim spesifik jantung, peningkatan aktivitasnya dalam serum digunakan sebagai deteksi awal infark miokard (24). Pemeriksaan histologis dilakukan untuk mendukung pemeriksaan enzimatik dan untuk melihat derajat kerusakan jantung. Pemeriksaan histologis pada infark miokard akan terlihat infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan pada ruang antar serabut otot jantung dan fibrosis otot jantung. Ketiganya merupakan proses dari pembentukan jaringan parut akibat kematian sel (25).

Hasil pengukuran diolah secara statistik menggunakan analisis varian (ANOVA) satu arah untuk mengetahui apakah ada perbedaan aktivitas AST dan CK yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Uji ANOVA dapat dilakukan bila data yang diperoleh terdistribusi normal dan



bervariasi sama. Maka, sebelumnya dilakukan uji distribusi normal menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan metode *Lavene* (36)

Pengukuran aktivitas AST pada penelitian ini menggunakan metode kolorimetri yang diperkenalkan oleh Reitman dan Frankel. Metode analisis ini sangat populer dan masih digunakan hingga saat ini karena sederhana dan relatif akurat. Prinsip pengukuran AST didasarkan pada fungsinya yang mengkatalisis perpindahan gugus amino dari asam aspartat ke  $\alpha$ -ketoglutarat untuk membentuk asam oksaloasetat dan asam glutamat. Dalam metode ini, dapar substrat yang berisi asam aspartat dan  $\alpha$ -ketoglutarat diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dalam dapar pH 7,4 agar enzim bekerja seperti kondisi di dalam tubuh. Penambahan plasma yang didalamnya terkandung AST akan mempercepat pembentukan asam oksaloasetat. Inkubasi selama 60 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  setelah penambahan plasma ke dalam dapar substrat akan merubah asam oksaloasetat yang terbentuk menjadi asam piruvat. Gugus  $\alpha$ -keto dari asam piruvat kemudian bereaksi dengan zat warna 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) membentuk piruvat 2,4-dinitrofenilhidrazon bersamaan dengan berhentinya reaksi enzimatik. Penambahan natrium hidroksida membuat suasana menjadi basa sehingga terbentuk warna coklat jernih yang stabil yang dapat memberikan serapan pada daerah cahaya tampak. Larutan ini selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm. Serapan yang diperoleh, diplot ke dalam persamaan kurva kalibrasi  $y = 0,011 + 2,111 \cdot 10^{-3}$  sehingga didapatkan nilai aktivitas AST.

Hasil uji statistik menunjukkan data aktivitas AST plasma tikus putih betina dan jantan terdistribusi normal dan bervariasi homogen (lampiran 7, 8, 10, 11). Selanjutnya untuk menarik kesimpulan dilakukan pengujian hipotesis dengan ANOVA satu arah. Hasilnya menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol baik pada tikus betina maupun jantan. Nilai signifikansi kelompok tikus betina dan jantan masing-masing sebesar 0,153 dan 0,115 ( $\alpha > 0,05$ ).

Pengukuran aktivitas total CK plasma menggunakan metode yang diperkenalkan oleh Oliver dan Rosalki. Penggunaan metode ini dikarenakan prosedurnya yang sederhana dan cukup sensitif. Aktivitas total CK plasma pada penelitian ini diukur dengan menggunakan reagen kit *CK NAC-SL*. Prinsipnya adalah ATP yang terbentuk bereaksi dengan glukosa dan enzim heksokinase membentuk ADP dan glukosa-6-fosfat. Glukosa-6-fosfat dengan adanya G-6-PDH dioksidasi menjadi 6-fosfoglukonat yang disertai dengan reduksi  $\text{NADP}^+$  menjadi NADPH. Kecepatan pembentukan NADPH diukur secara spektrofotometri pada  $\lambda$  340 nm (27, 33). Kecepatan pembentukan NADPH tersebut sebanding dengan kenaikan aktivitas CK. Kenaikan serapan NADPH per menit kemudian dikalikan dengan faktor konversi 4127 sehingga didapatkan nilai aktivitas CK.

Hasil perhitungan data aktivitas CK menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen (lampiran 13, 14, 16, 17). Selanjutnya hasil uji ANOVA satu arah terhadap aktivitas CK plasma tikus betina dan jantan untuk kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol memberikan nilai

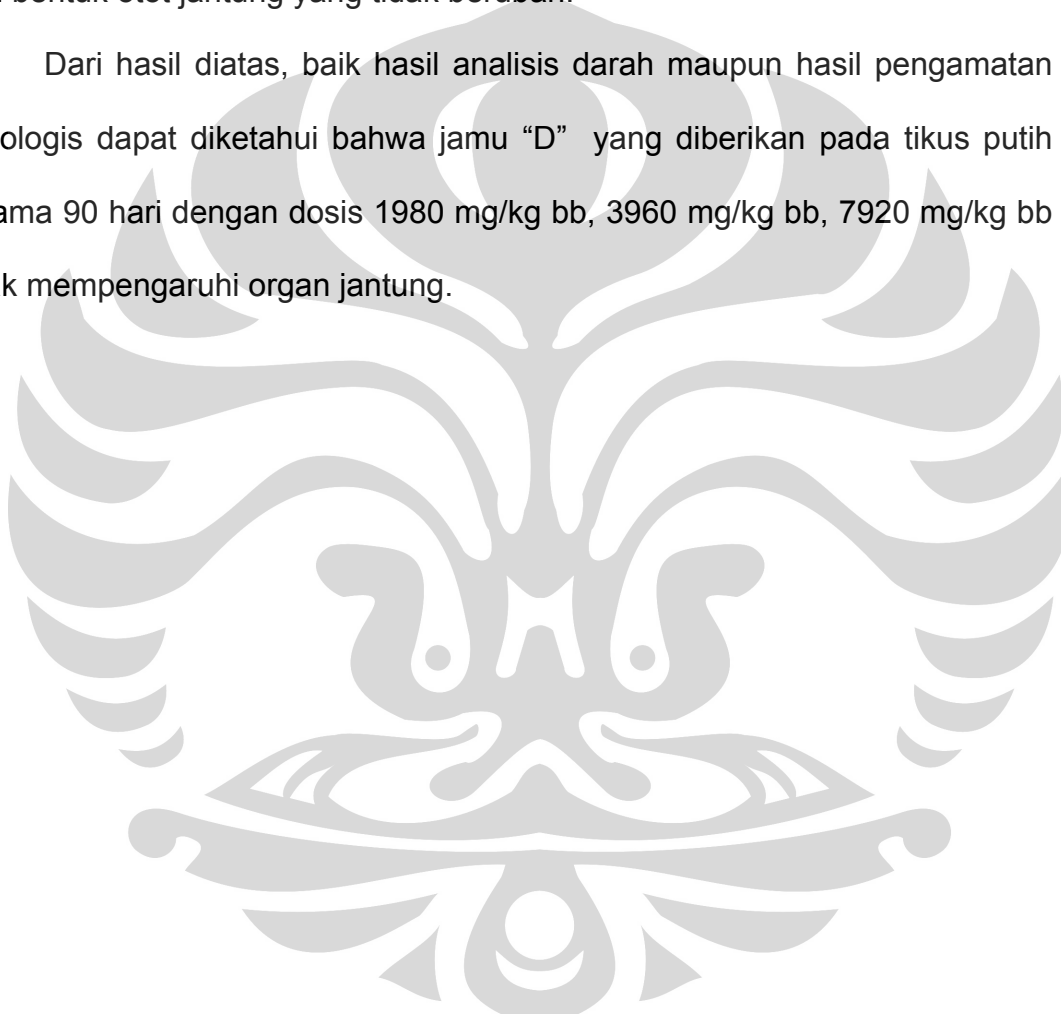
signifikansi 0,199 dan 0,142 ( $\alpha > 0,05$ ) yang artinya tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol baik pada tikus betina maupun jantan.

Pengaruh pemberian jamu "D" dalam jangka panjang terhadap organ jantung selanjutnya diperkuat melalui pengamatan histologis jantung hewan uji. Pengamatan terhadap histologis jantung dilakukan untuk melihat besar derajat kerusakan jantung. Parameter kerusakan jantung yaitu infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar sel dan fibrosis. Pengamatan dilakukan sebanyak empat kali pada tiap preparat agar seluruh bagian preparat teramati.

Pada akhir hari pertama nekrosis, akan terjadi berbagai perubahan miokardium. Keadaan ini menimbulkan reaksi radang yang ditandai dengan eksudasi netrofil atau infiltrasi polimorfonuklear pada daerah nekrosis. Secara mikroskopik akan terlihat sel yang jumlahnya banyak menuju bagian sel yang cedera. Perubahan sel selanjutnya yaitu terjadinya perlemakan antar ruang sel yang ditandai dengan terbentuknya vakuola berupa lingkaran yang berisi lemak diantara sel yang cedera dan hilangnya serat miokardium. Pada hari kesepuluh nekrosis terjadi perbaikan melalui pembentukan jaringan ikat akibat proliferasi fibroblas dari daerah-daerah yang berbatasan dengan jaringan nekrosis yang kemudian meluas ke dalam daerah yang telah dihancurkan oleh reaksi peradangan. Sedangkan pada otot jantung normal akan terlihat serat otot jantung dengan inti sel memanjang di tengah berwarna transparan dan fibroblas berwarna biru.

Hasil pengamatan yang dilakukan terhadap keempat kelompok perlakuan baik tikus jantan maupun tikus betina yang dibandingkan dengan kelompok kontrol, tidak ditemukan kelainan berupa infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut ataupun adanya fibrosis otot. Hal ini terlihat dari bentuk otot jantung yang tidak berubah.

Dari hasil diatas, baik hasil analisis darah maupun hasil pengamatan histologis dapat diketahui bahwa jamu "D" yang diberikan pada tikus putih selama 90 hari dengan dosis 1980 mg/kg bb, 3960 mg/kg bb, 7920 mg/kg bb tidak mempengaruhi organ jantung.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. KESIMPULAN**

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

#### **B. SARAN**

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas kronis untuk mengetahui keamanan dari jamu “D” dalam penggunaan jangka panjang.

## DAFTAR ACUAN

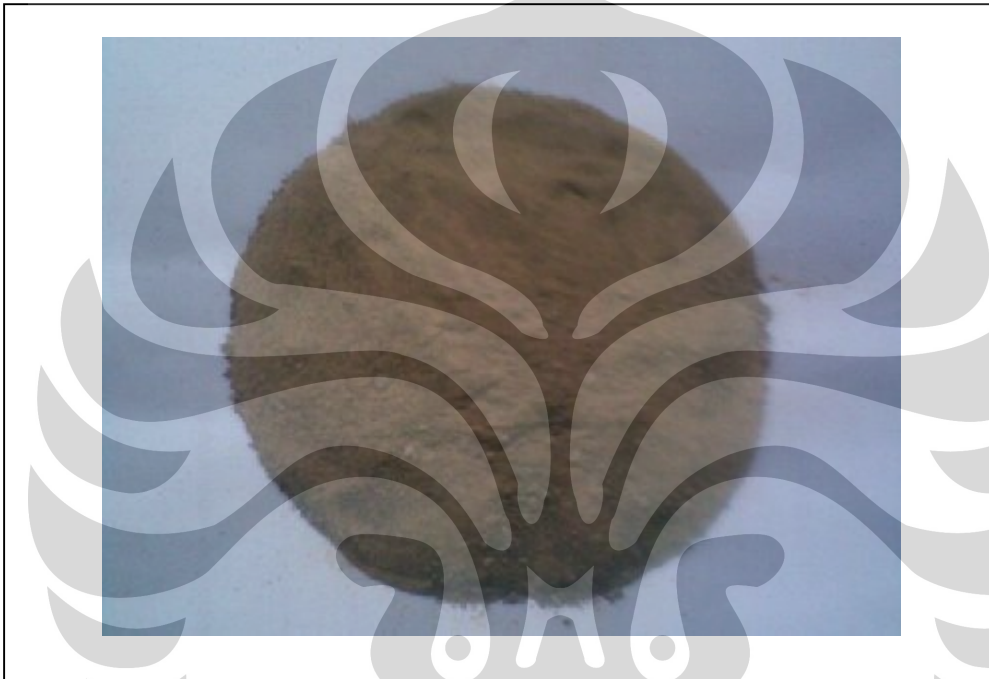
1. Anonim. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000: 1-2
2. De padua LS, Praphatsara B, Lemmens RHMJ. *Plant Resources of South-East Asia 8. Medicinal and Poisonous Plants*. Indonesia, 1994: 86-88.
3. Cheng-jian Zheng & Lu-ping Qin. Chemical Components of *Centella asiatica* and Their Bioactivities. *Journal of Chinese Integrative Medicine* **5**, 2007 :3
4. Pingale SS. Acute Toxicity Study for *Centella asiatica* Whole Plant Powder. *Pharmacologyonline* **3**, 2008: 80-84
5. Chana JS. *Material Safety Data Sheet According to EC Legislation 91/155 E EC*. UK: Phoenix Natural Product Ltd, 2005: 1-3
6. Harmita & Radji M. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 2005: 47-73
7. Lu C Frank. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko edisi 2*, terj. Dari *Basis Toxicology: Fundamentals, Target Organ and Risk Assesment*, Alih Bahasa: Edi Nugroho. Depok: UI Press, 1995: 295
8. Sadikin M. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika, 2002: 307-309, 323-326
9. Parmar NS & Prakash S. *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford. UK. Alpha Science Interbational Ltd. 2006: 46
10. Anonim. *Research Guideline for Evaluating The Safety and Efficay of Herbal Medicine*. Geneva: WHO, 1993: 27-31
11. Nasution R. *Teknik Sampling*. Dikutip dari <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-rozaini.pdf>, 20 Januari 2009, pk. 20.00

12. Jones SB & Luchsinger AE. *Plant Systematics*. Singapore: Mc Graw-Hill Book Co, 1987: 477-452
13. Anonim. *Materia Medika Indonesia Jilid I*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1977: 34-39
14. Anonim. *Standar of ASEAN Herbal Medicines Vol II*. Jakarta: Published Asean Countries, 2004: 141-153
15. Anonim. *Centella Asiatica Selected Triterpenes. A Highly Standardized Natural Remedy for Maintenance of an Healthy Venous System*. Dikutip dari <http://www.indena.com/pdf/centella.pdf>, 12 Januari 2009 pk 15.00 WIB.
16. Anonim. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Vol. I*. Jakarta: BPOM RI, 2004
17. De padua LS, Praphatsara B, Lemmens RHMJ. *Plant Resources of South-East Asia 12. (1) Medicinal and Poisonous Plants 1*. Indonesia, 1999: 190-194.
18. Anonim. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants Volume 1*. Geneva: WHO, 1999: 80-82
19. Anonim. *Hidup Sehat dengan Produk Hortikultura Nusantara*. Jakarta: Departemen Pertanian Ditjen Bina Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian, 2003: 88
20. Anonim. *Standard of ASEAN Herbal Medicine Vol I*. Jakarta: ASEAN Countries, 1993: 65
21. Siswono H. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Etanol 95% dari Apium graveolens Linn. Var Secalinum Alef*. Dikutip dari <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id/detail.php?id=208>, April 2009 pk. 20.30
22. Juheini. Pemanfaatan Herba Seledri (*Apium graveolens L.*) untuk Menurunkan Kolesterol dan Lipid dalam Darah Tikus Putih yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak. *Makara Sains Vol. 6*, 2002: 1-6
23. Whitehouse MW, Butters DE, Clarke ML, Rainsford KD. NSAID Gastropathy : Prevention by Celery Seed Extracts in Disease-Stressed Rats. *Inflammopharmacology 9* (1-2), 2001: 201-209

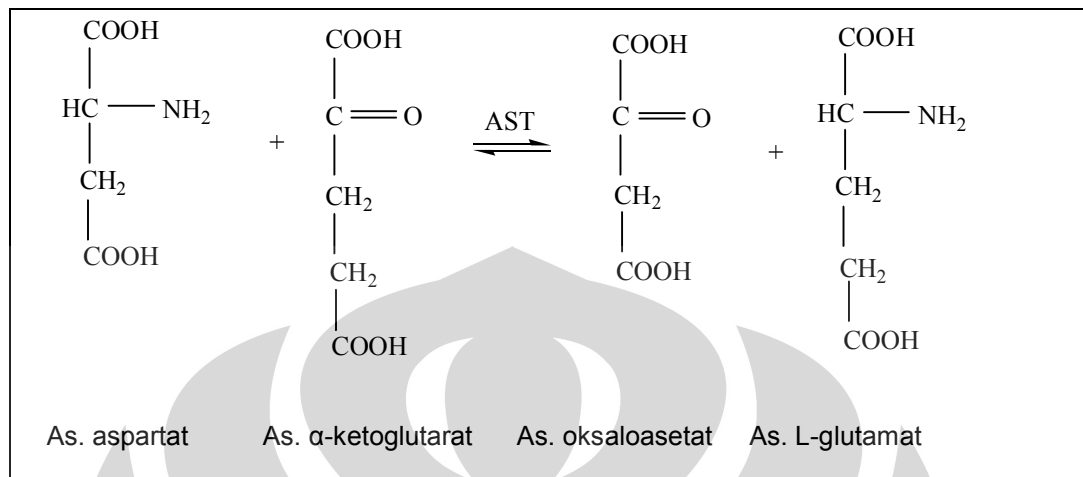
24. Sherwood, Lauralee. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem edisi 2*, Alih Bahasa: Brahm U, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2001: 187, 198-204, 258-265
25. Ganong W.F *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Ed 22*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2005: 566-569
26. Leeson L, Paparo. *Buku Ajar Histologis*. Alih Bahasa: Staf Ahli Histologis Fakultas Kedokteran EGC, 1996: 198-203
27. Pesce AJ, A Lawrence & Kaplan. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Corellation 3<sup>rd</sup> edition*. USA: Mosby Year Book Inc, 1996: 523, 594-605
28. Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomik. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI, 1999: 114-115
29. Anderson SC & Cockayne S. *Clinical Chemistry: Concept & Aplications*. USA: WB Saunders Company, 1993: 248-260
30. Burtis CA & Edward R. *Textbook of Clinical Chemistry 3<sup>rd</sup> edition*. USA: WB Saunders Company, 1995: 657-663
31. Richterich R & Colombo JP. *Clinical Chemistry*. USA: John Wiley & Sons Ltd, 1981: 515-530
32. Anonim. *Farmakope Indonesia ed. IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 1995: 1165, 1182
33. Reitman S & Frankel S. Colorimetric Method for The Determination of Serum Glutamic Oxaloacetat and Glutamic Pyruvic Transaminase. *Am. J. Clin. Pathology*, 1957 **28**: 56-61
34. Anonim. *CK NAC SL Manual*. France: Elitech, 2007: 1-2
35. Hoff, Janet. *Methods of Blood Collection in The Mouse*. Lab Animal Vol. 29 No. 10. Michigan: University of Michigan, 2000: 50-51
36. Tanzil, R. *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologiss*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI, 1996
37. Santoso, S. *Panduan Lengkap Menguasai SPSS 16*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo, 2008: 237-247
38. Loomis, TA. *Toksikologi Dasar edisi 3*. Alih bahasa: Imono AD. Semarang: IKIP Semarang Press: 233-238



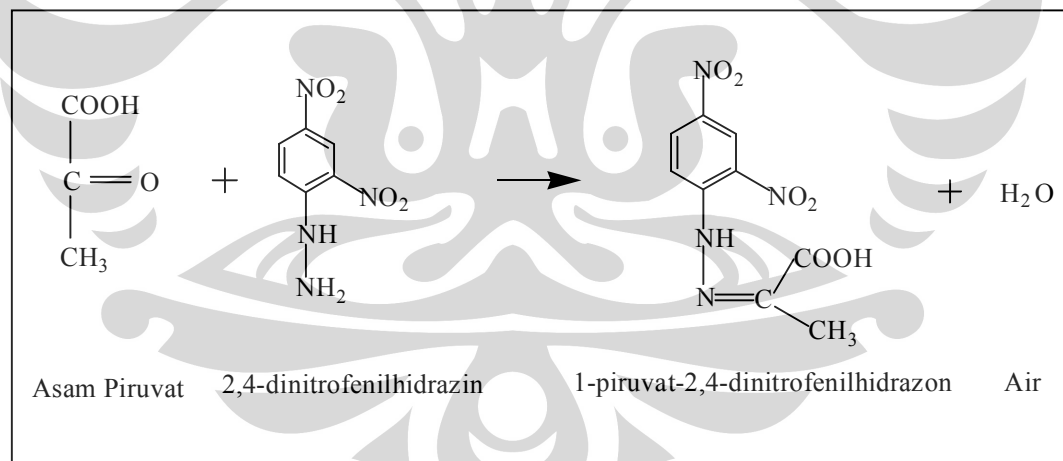




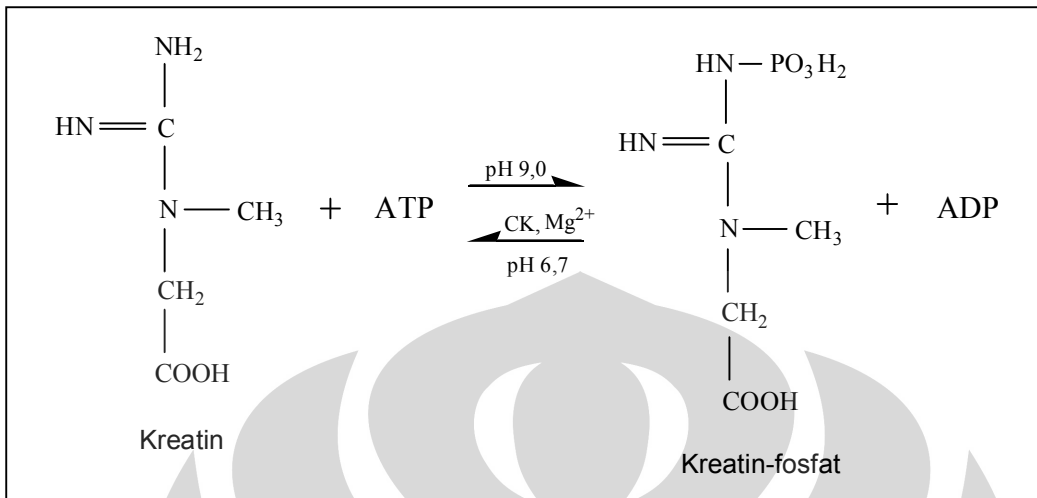
Gambar 3. Serbuk jamu "D"



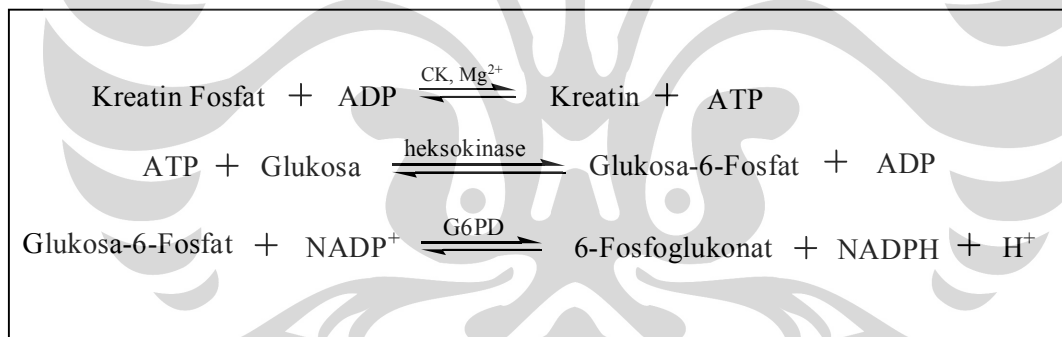
Gambar 4. reaksi pembentukan asam oksaloasetat dan asam glutamat yang dikatalisis oleh AST yang dikatalisis oleh AST (27)



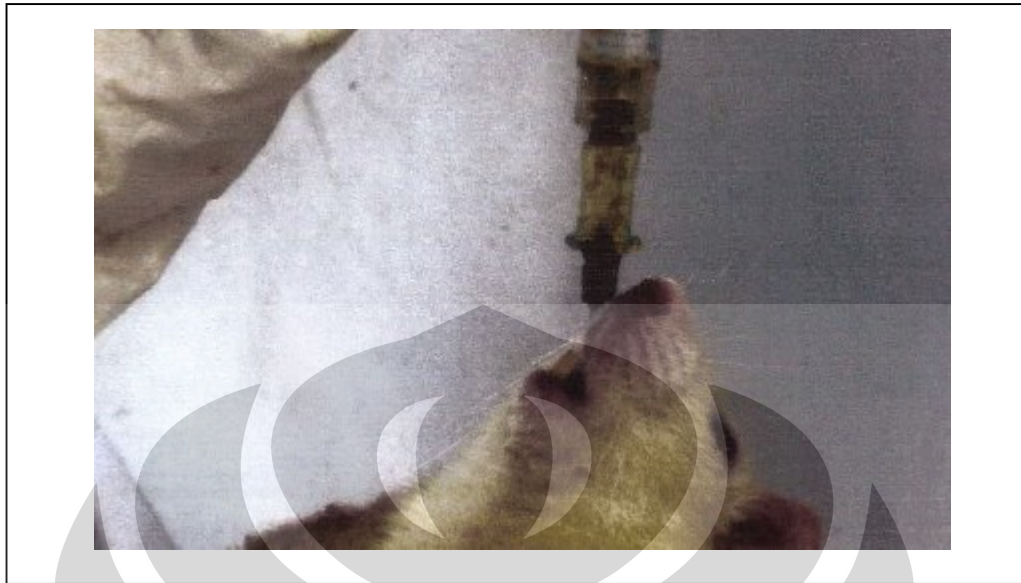
Gambar 5. reaksi pembentukan warna pada pengukuran AST dengan menggunakan 2,4-dinitrofenilhidrazin secara kolorimetri (27)



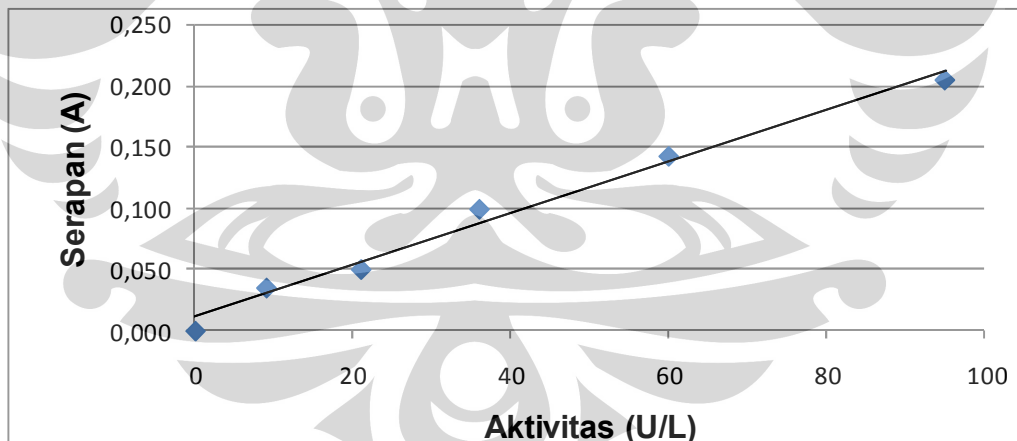
Gambar 6. reaksi pembentukan kreatin fosfat dan ADP dari kreatin dan ATP yang dikatalis oleh kreatin kinase (30)



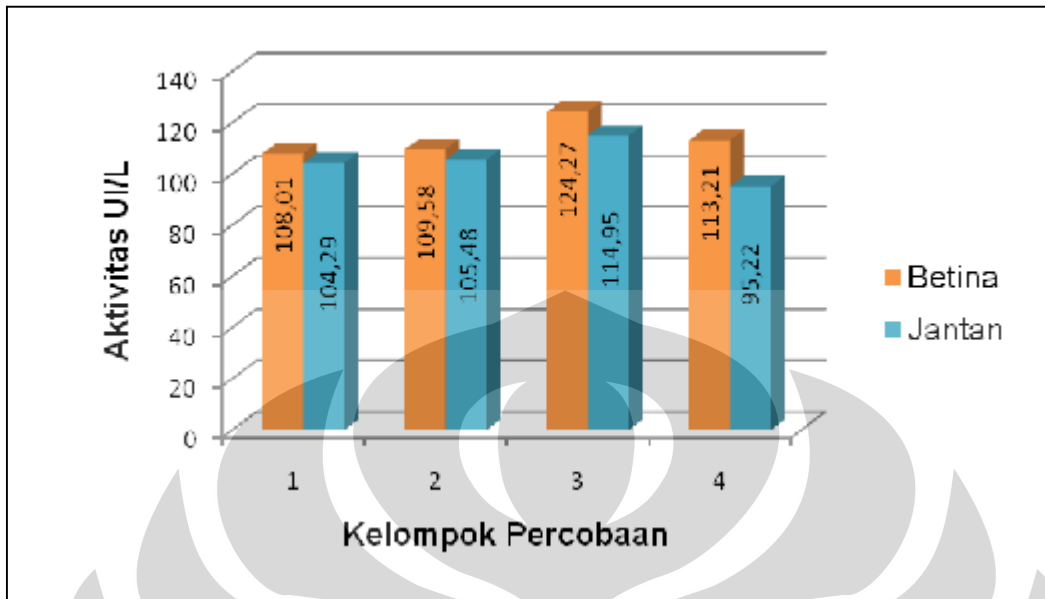
Gambar 7. reaksi pembentukan NADPH pada pengukuran aktivitas CK secara *reverse reaction* dengan menggunakan *coupled enzymatic glucose assay* (34)



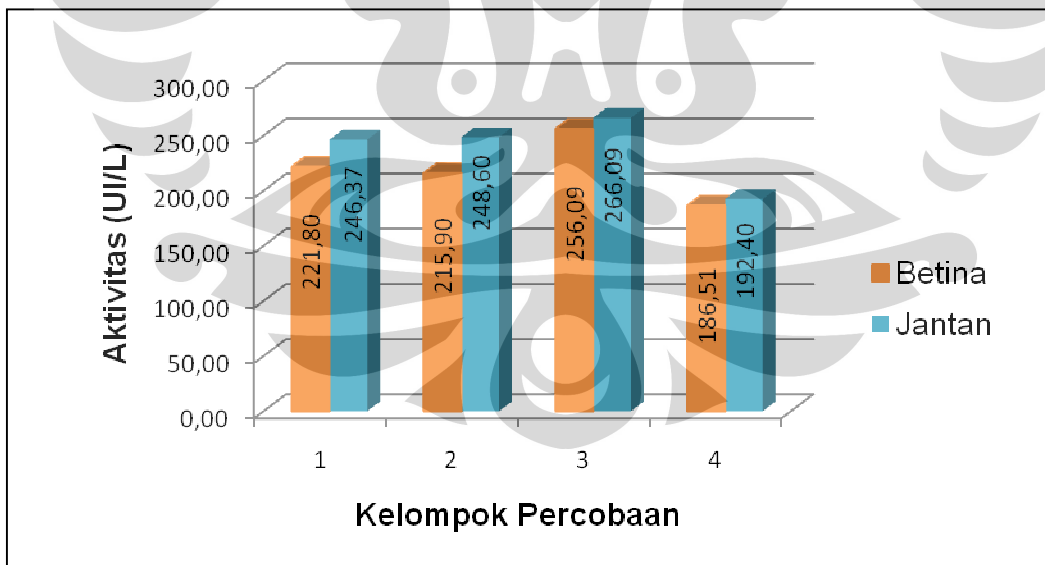
Gambar 8. pemberian bahan uji secara oral pada hewan coba *Rattus norvegicus*



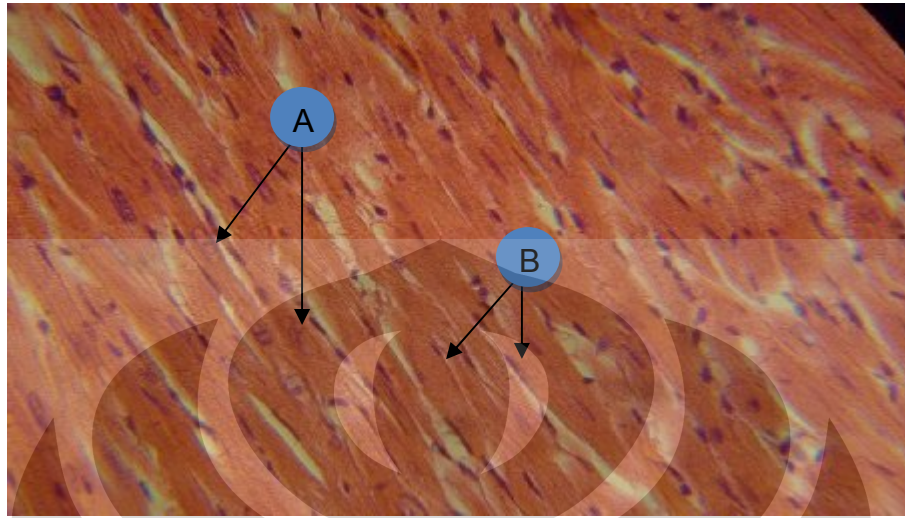
Gambar 9. kurva kalibrasi dengan persamaan  $y = 0,011 + 2,111 \cdot 10^{-3}x$  dan  $r = 0,9931$



Gambar 10. diagram batang aktivitas AST plasma tikus putih betina dan jantan kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari. Keterangan: (1) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb; (2) kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb; (3) kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb; (4) kelompok kontrol

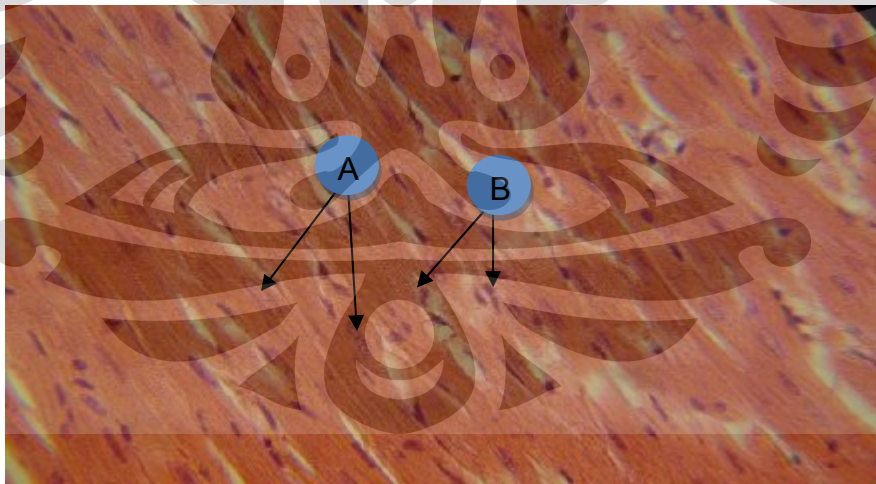


Gambar 11. diagram batang aktivitas AST plasma tikus putih betina dan jantan kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari. Keterangan: (1) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb; (2) kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb; (3) kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb; (4) kelompok kontrol



Keterangan: (A) inti sel, (B) fibroblas

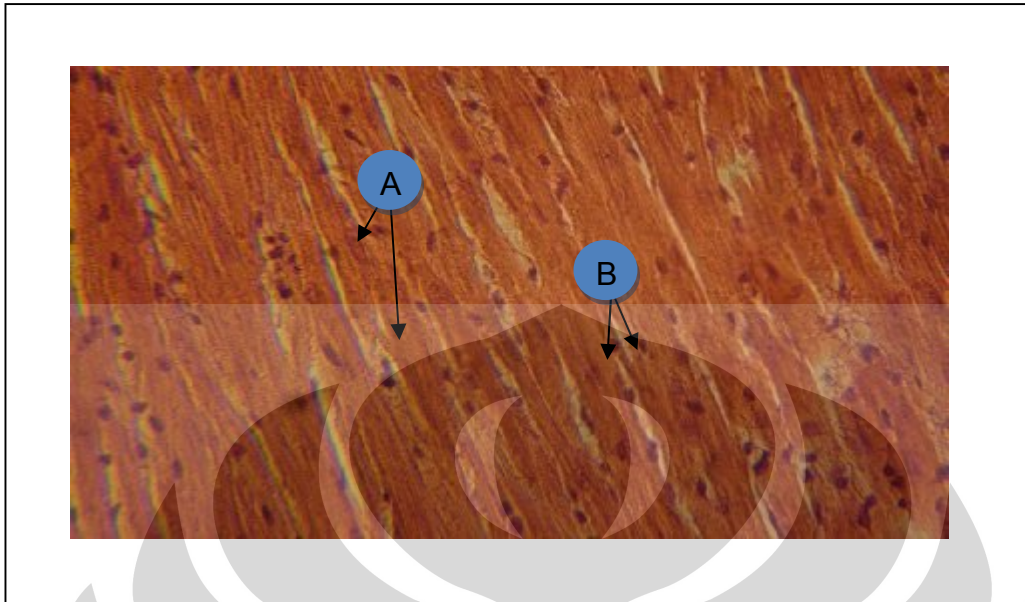
Gambar 12. miokardium tikus putih betina kelompok kontrol setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali



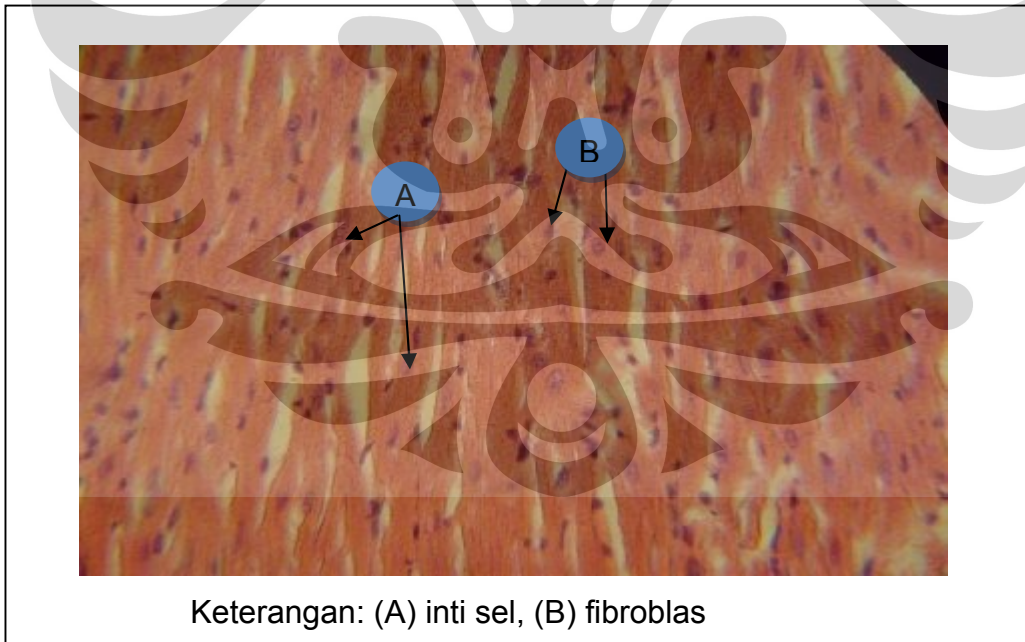
Keterangan: (A) inti sel, (B) fibroblas

Gambar 13. miokardium tikus putih betina kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali





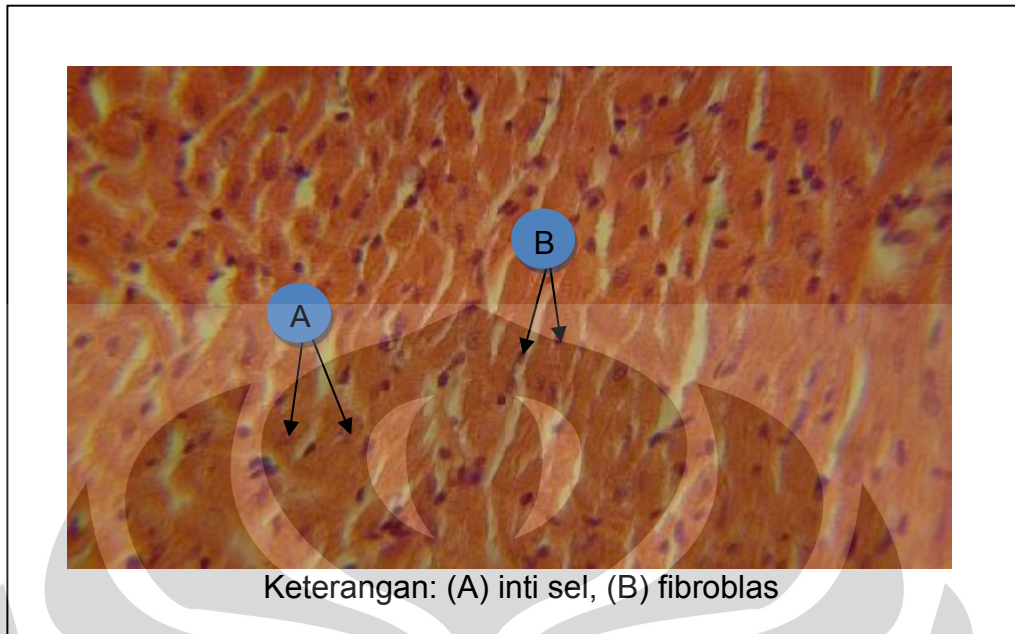
Gambar 14. miokardium tikus putih betina kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali



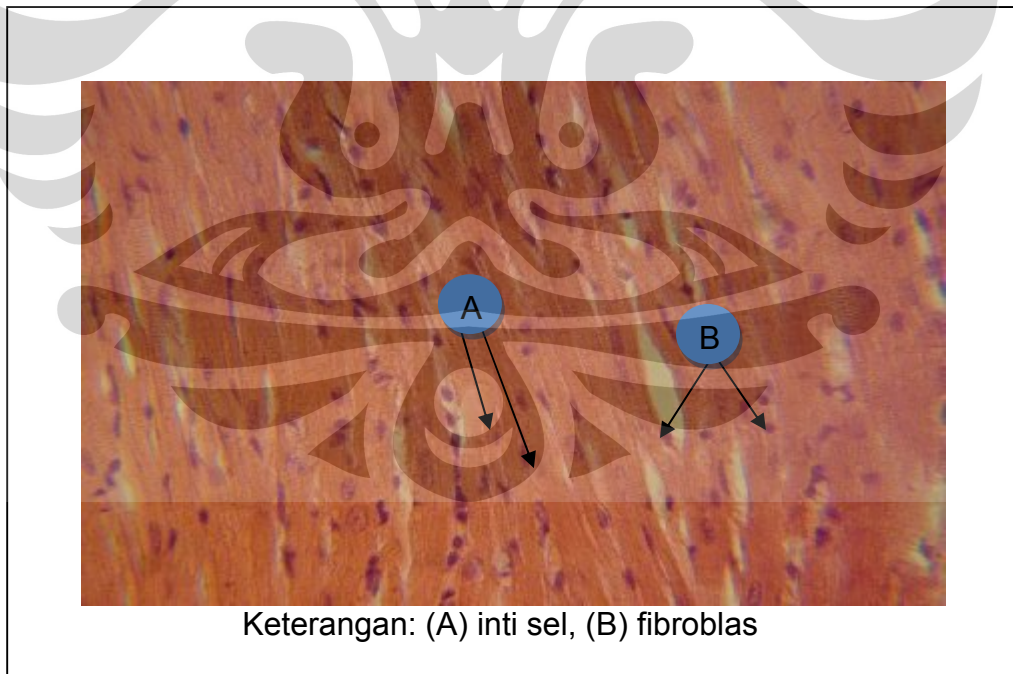
Keterangan: (A) inti sel, (B) fibroblas

Gambar 15. miokardium tikus putih betina kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali

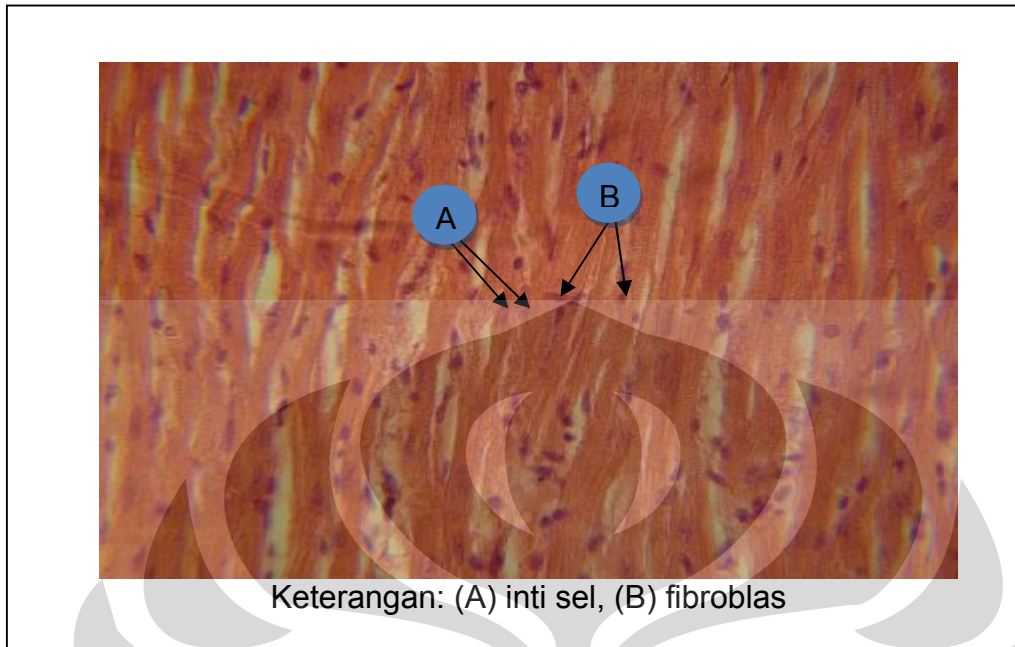




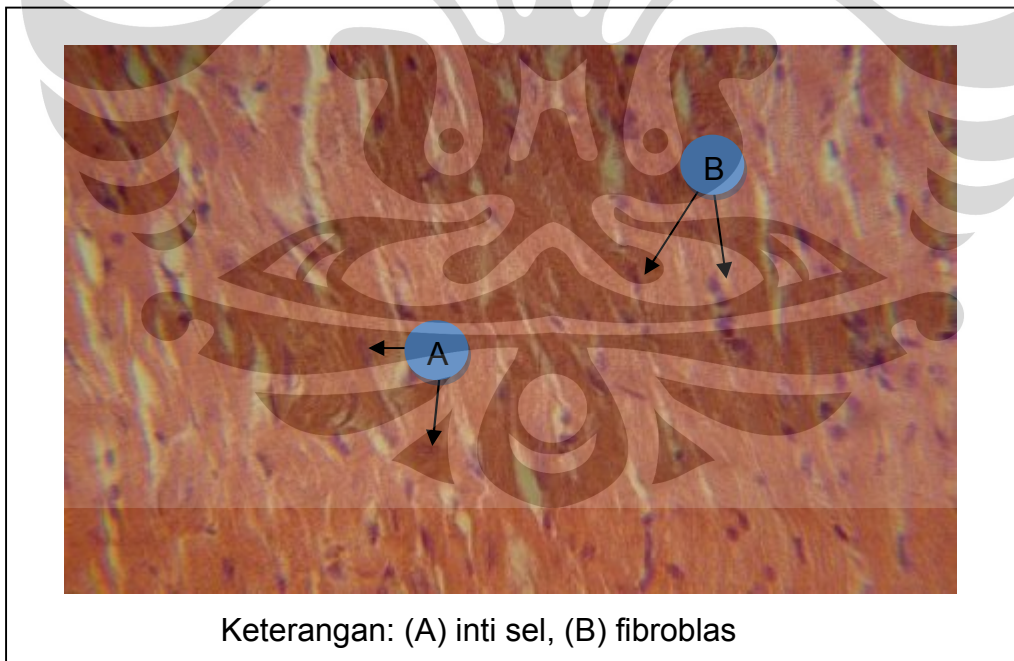
Gambar 16. miokardium tikus putih jantan kelompok kontrol setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali



Gambar 17. miokardium tikus putih jantan kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali



Gambar 18. miokardium tikus putih jantan kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali



Gambar 19. miokardium tikus putih jantan kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb setelah perlakuan selama 90 hari dengan perbesaran 400 kali



Tabel 4

Hasil pengukuran serapan berbagai perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat dalam berbagai konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi AST plasma

No Tabung	Larutan Standar Piruvat (mL)	Larutan Dapar Substrat (mL)	Aktivitas (U/L)*	Serapan (A)
1	0,00	1,00	0	0,000
2	0,05	0,95	9	0,035
3	0,10	0,90	21	0,050
4	0,15	0,85	36	0,099
5	0,20	0,70	60	0,142
6	0,25	0,75	95	0,204

Keterangan: \* nilai aktivitas diperoleh dari literatur (30), sedangkan nilai serapan diperoleh dari hasil percobaan.

Tabel 5

Aktivitas AST plasma tikus putih betina pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari

Kelompok	Ulangan	Serapan (A)	Aktivitas AST Plasma (U/L)	Aktivitas rata-rata $\pm$ SD (U/L)
1	1	0,213	95,69	108,01 $\pm$ 11,65
	2	0,240	108,48	
	3	0,210	94,27	
	4	0,275	125,06	
	5	0,243	109,90	
	6	0,253	114,64	
2	1	0,239	108,01	109,58 $\pm$ 14,57
	2	0,278	126,48	
	3	0,229	103,27	
	4	0,206	92,37	
	5	0,221	99,48	
	6	0,281	127,90	
3	1	0,287	130,74	124,27 $\pm$ 12,73
	2	0,270	122,69	
	3	0,299	136,43	
	4	0,282	128,38	
	5	0,280	127,43	
	6	0,222	99,95	
4	1	0,286	130,27	113,21 $\pm$ 12,23
	2	0,254	115,11	
	3	0,271	123,16	
	4	0,217	97,58	
	5	0,243	109,90	
	6	0,229	103,27	

Keterangan: (1) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb; (2) kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb; (3) kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb; (4) kelompok kontrol

Tabel 6

Aktivitas AST plasma tikus putih jantan pada keempat kelompok percobaan setelah perlakuan selama 90 hari

Kelompok	Ulangan	Serapan (A)	Aktivitas AST Plasma (U/L)	Aktivitas rata-rata $\pm$ SD (U/L)
1	1	0,262	118,90	104,29 $\pm$ 14,47
	2	0,273	124,11	
	3	0,225	101,37	
	4	0,193	86,22	
	5	0,211	94,74	
	6	0,223	100,43	
2	1	0,249	112,74	105,48 $\pm$ 13,84
	2	0,244	110,37	
	3	0,213	95,69	
	4	0,185	82,43	
	5	0,246	111,32	
	6	0,265	120,32	
3	1	0,245	110,85	114,95 $\pm$ 12,17
	2	0,224	100,90	
	3	0,241	108,95	
	4	0,249	112,74	
	5	0,264	119,85	
	6	0,299	136,43	
4	1	0,189	84,32	95,22 $\pm$ 12,17
	2	0,200	89,53	
	3	0,191	85,27	
	4	0,238	107,53	
	5	0,250	113,22	
	6	0,204	91,43	

Keterangan: (1) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb; (2) kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb; (3) kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb; (4) kelompok kontrol

Tabel 7

Aktivitas CK plasma tikus putih betina pada keempat kelompok perlakuan setelah perlakuan selama 90 hari

Kel	Ulangan	Serapan ( $\Delta A/\text{menit}$ )	Aktivitas CK Plasma (U/L)	Aktivitas rata-rata $\pm$ SD (U/L)
1	1	0,056	230,01	221,80 $\pm$ 53,84
	2	0,045	187,12	
	3	0,055	227,84	
	4	0,078	321,59	
	5	0,043	175,66	
	6	0,046	188,60	
2	1	0,039	161,50	215,89 $\pm$ 39,81
	2	0,065	269,00	
	3	0,047	195,98	
	4	0,045	187,92	
	5	0,059	241,00	
	6	0,057	237,00	
3	1	0,066	270,69	256,09 $\pm$ 69,07
	2	0,068	280,95	
	3	0,073	300,50	
	4	0,082	336,85	
	5	0,047	195,98	
	6	0,037	151,60	
4	1	0,065	267,68	186,51 $\pm$ 47,30
	2	0,045	185,32	
	3	0,052	213,85	
	4	0,037	152,70	
	5	0,036	148,96	
	6	0,036	150,53	

Keterangan: (1) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb; (2) kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb; (3) kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb; (4) kelompok kontrol

Tabel 8

Aktivitas CK plasma tikus putih jantan pada keempat kelompok perlakuan setelah perlakuan selama 90 hari

Kel	Ulangan	Serapan ( $\Delta A$ /menit)	Aktivitas CK Plasma (U/L)	Aktivitas rata-rata $\pm$ SD (U/L)
1	1	0,073	300,79	246,37 $\pm$ 68,09
	2	0,048	200,01	
	3	0,078	322,48	
	4	0,043	179,11	
	5	0,043	176,22	
	6	0,073	299,61	
2	1	0,065	268,70	248,60 $\pm$ 50,48
	2	0,064	263,67	
	3	0,072	297,65	
	4	0,040	165,30	
	5	0,051	210,96	
	6	0,069	285,31	
3	1	0,059	245,34	266,09 $\pm$ 41,76
	2	0,066	271,76	
	3	0,068	280,81	
	4	0,075	308,23	
	5	0,072	297,14	
	6	0,049	193,28	
4	1	0,048	200,30	192,40 $\pm$ 56,68
	2	0,038	156,36	
	3	0,029	119,13	
	4	0,046	187,98	
	5	0,050	205,62	
	6	0,069	285,01	

Keterangan: (1) kelompok perlakuan dosis 1980 mg/kg bb; (2) kelompok perlakuan dosis 3960 mg/kg bb; (3) kelompok perlakuan dosis 7920 mg/kg bb; (4) kelompok kontrol.





## Lampiran 1

### Cara penetapan dosis

Penetapan dosis pada penelitian ini dilakukan berdasarkan informasi dosis lazim jamu “D” untuk manusia, yaitu dua kali dua kapsul sehari dengan berat tiap kapsulnya sebesar 550 mg. Faktor konversi dari manusia ke tikus 200 gram adalah 0,018. Faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10. Faktor farmakokinetik digunakan karena adanya perbedaan kecepatan metabolisme antara tikus dan manusia. Sehingga dosis lazim untuk manusia yang dikonversi ke tikus dan dikalikan dengan faktor farmakokinetik adalah

$$= 550 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 \times 4 \text{ kapsul}$$

$$= 396 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus per hari}$$

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

Dosis lazim tersebut kemudian ditetapkan sebagai dosis I atau dosis terendah yang tidak memberikan efek toksik. Selanjutnya dosis II dan III ditetapkan dengan faktor perkalian 2. Sehingga untuk dosis II dan III berturut-turut digunakan dosis sebesar 2 dan 4 kali dosis I.

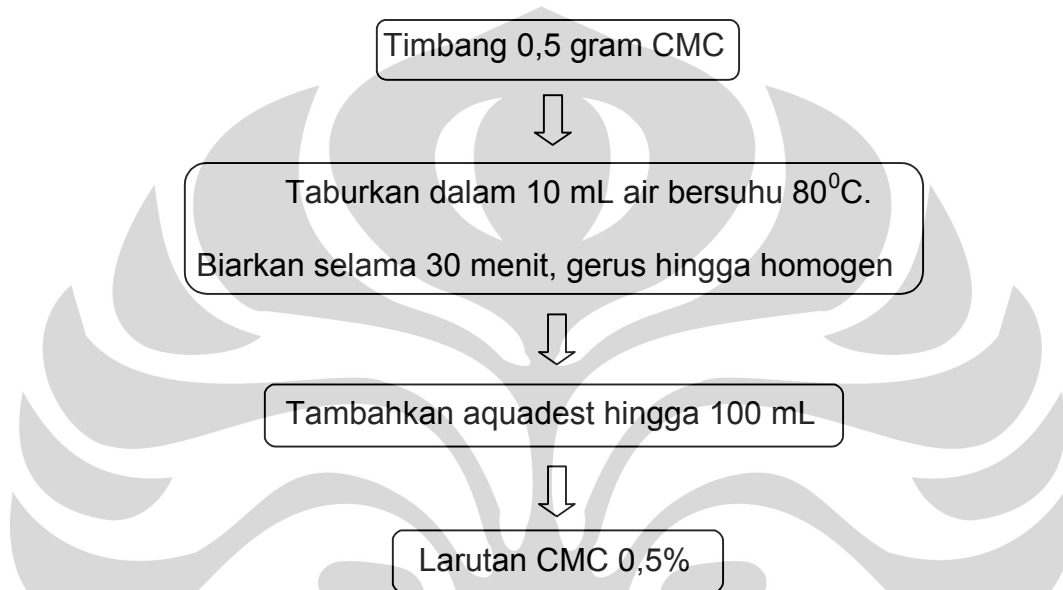
$$\begin{aligned} \text{Dosis II} & : 1100 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 \times 4 \text{ kapsul} = 792 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus per} \\ & \text{hari} = 3960 \text{ mg/kg bb tikus per hari.} \end{aligned}$$

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

## Lampiran 2

### Pembuatan suspensi bahan uji

#### 1. Pembuatan larutan 0,5%



#### 2. Pembuatan suspensi bahan uji

Tiap tikus yang beratnya 200 gram disonde dengan 3 mL suspensi bahan uji per hari. Tikus yang disonde sebanyak 48 ekor yang terdiri dari kelompok dosis I 12 ekor, dosis II 12 ekor, dosis III 12 ekor dan begitu pula dosis IV atau kontrol sebanyak 12 ekor. Suspensi bahan uji dosis I dan dosis II diperoleh dari pengenceran dosis III. Suspensi bahan uji yang dibuat perhari yaitu:

Dosis III : 3 mL x 12 ekor = 36 mL

Dosis II : 3 mL x 12 ekor = 36 mL

$$: \frac{1}{2} \times 36 \text{ mL} = 18 \text{ mL dosis III}$$

Sejumlah 45 mL suspensi uji dosis III ditambahkan larutan CMC 0,5% sampai volume 90 mL untuk membuat dosis II.

$$\text{Dosis I} : 3 \text{ mL} \times 12 \text{ ekor} = 36 \text{ mL}$$

$$: \frac{1}{4} \times 36 \text{ mL} = 9 \text{ mL dosis III}$$

Dosis I diperoleh dari 9 mL suspensi uji dosis III yang ditambah dengan larutan CMC 0,5% sampai volume 36 mL.

Jumlah suspensi bahan uji dosis III yang dibuat perhari adalah:

$36 \text{ mL} + 18 \text{ mL} + 9 \text{ mL} = 63 \text{ mL}$ . Volume ini dlebihkan, sehingga perharinya dibuat dosis III sebanyak 85 mL.

Bahan uji yang dibutuhkan untuk membuat suspensi bahan uji dosis III sebanyak 85 mL yaitu =  $\frac{1584 \text{ mg} \times 85 \text{ mL}}{3 \text{ mL}}$

$$= 44880 \text{ mg} = 44,88 \text{ g}$$

CMC yang dibutuhkan untuk membuat larutan CMC 0,5% sebanyak 85 mL yaitu =  $5 \text{ mg/mL} \times 85 \text{ mL} = 425 \text{ mg}$

$$= 0,42 \text{ g}$$

a. Dosis 1584 mg/200 gram bb tikus (Dosis III)

Timbang 44,88 g bahan uji dan 0,42 g CMC



Kembangkan CMC di dalam lumpang dengan 8,5 mL air bersuhu 80°C selama 30 menit, gerus hingga homogen



Tambahkan bahan uji ke dalam lumpang  
Gerus hingga homogen



Tambahkan aquadest hingga volume 85 mL



Suspensi bahan uji dosis III

b. Dosis 792 mg/200 gram bb tikus (Dosis II)

18 mL suspensi bahan uji dosis III



Tambahkan larutan CMC 0,5% hingga volume 36 mL



Suspensi bahan uji dosis II

c. Dosis 396 mg/200 gram bb tikus (Dosis I)

9 mL suspensi bahan uji dosis III



Tambahkan larutan CMC 0,5% hingga volume 36 mL



Suspensi bahan uji dosis I

### Lampiran 3

#### Cara pembuatan dan komposisi larutan pereaksi uji kreatin kinase (31)

Reagen kit *CK-NAC SL Elitech* terdiri dari pereaksi R1 dan pereaksi R2

Pereaksi R1 berisi:

Dapar Imidazol pH 6,7	125	mmol/L
Glukosa	25	mmol/L
N-asetilsitein	25	mmol/L
Mg-asetat	12,5	mmol/L
NADP	2,4	mmol/L
EDTA	2,0	mmol/L
HK	≥ 6.800	U/L

Pereaksi R2 berisi:

Kreatin fosfat	250	mmol/L
ADP	15,2	mmol/L
AMP	25	mmol/L
Diadenosin pentafosfat	103	μmol/L
G-6-PDH	≥ 8.800	U/L

Campur pereaksi R1 dan R2 dengan perbandingan 4:1. Pereaksi ini stabil selama 2 hari pada suhu 20-25°C dan 2 minggu pada suhu 2-8°C.

## Lampiran 4

### Cara memperoleh regresi linier

Bentuk persamaan garis  $y = a + bx$

Keterangan:

Y = serapan

X = aktivitas (U/L)

a dan b = bilangan garis normal, dengan rumus sebagai berikut:

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

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

r = koefisien korelasi yang mengukur kuat lemahnya hubungan antara variabel x dan y, dengan rumus sebagai berikut:

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

Bila  $r = 1$ , korelasi antara x dan y kuat sehingga semua titik pada diagram antara x dan y terletak pada satu garis lurus.

## Lampiran 5

Cara menghitung aktivitas AST plasma menggunakan kurva kalibrasi

Persamaan garis  $y = a + bx$

$$y = 0,011 + 2,111 \cdot 10^{-3}x$$

$$r = 0,9931$$

nilai x diperoleh dengan rumus:

$$x = \frac{y-a}{b}$$

Misal: serapan (y) sebesar 0,213

$$\begin{aligned} \text{Maka } x &= \frac{0,213 - 0,011}{2,111 \cdot 10^{-3}} \\ &= 95,69 \end{aligned}$$

Jadi, nilai aktivitas yang diperoleh untuk serapan sebesar 0,213 adalah 95,69

UI/L



## Lampiran 6

### Cara menghitung aktivitas kreatin kinase plasma dengan menggunakan reagen kit

Rumus:

$$\Delta A/\text{menit} = \frac{(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)}{3}$$

Keterangan:  $A_0$  = serapan pertama pada waktu ke 0

$A_1$  = serapan kedua setelah 1 menit kemudian

$A_2$  = serapan ketiga setelah 2 menit dari  $A_0$

$A_3$  = serapan keempat setelah tiga menit dari  $A_0$

Hasilnya kemudian dikalikan dengan faktor konversi yang tercantum di reagen kit.

$$\text{Aktivitas CK (UI/L)} = 4127 \times \Delta A/\text{menit}$$

Misal: Serapan waktu ke-0 ( $A_0$ ) = 0,0082

Serapan satu menit kemudian ( $A_1$ ) = 0,0669

Serapan dua menit kemudian ( $A_2$ ) = 0,1200

Serapan tiga menit kemudian ( $A_3$ ) = 0,1754

$$\text{Maka } \Delta A/\text{menit} = \frac{(0,0669 - 0,0082) + (0,1200 - 0,0669) + (0,1754 - 0,1200)}{3}$$

$$= 0,0557$$

$$\text{Aktivitas CK} = 4127 \times 0,0557 = 230,01 \text{ UI/L}$$

## Lampiran 7

### Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data aktivitas AST plasma tikus putih betina

Tujuan:

Mengetahui distribusi data aktivitas AST plasma tikus putih betina.

Hipotesis:

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

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

Taraf nyata:

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

Kriteria pengujian:

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

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

Hasil perhitungan :

		Tests of Normality		
		Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.
Aktivitas AST Tikus Putih Betina	Dosis I	.938	6	.646
	Dosis II	.896	6	.351
	Dosis III	.821	6	.090
	Kontrol	.979	6	.949

Seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima.

Kesimpulan:

Data aktivitas AST plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

## Lampiran 8

### Uji homogenitas Levene terhadap data aktivitas AST plasma tikus putih betina

Tujuan:

Mengetahui variansi data aktivitas AST plasma tikus putih betina

Hipotesis:

Ho: Data AST plasma tikus putih betina bervariasi homogen

Ha: Data AST plasma tikus putih betina tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

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

Kriteria pengujian:

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

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

Hasil perhitungan:

**Test of Homogeneity of Variances**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.249	3	20	.861

Karena nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima.

Kesimpulan:

Data aktivitas AST plasma tikus putih betina bervariasi homogen

## Lampiran 9

### Uji Analisis Variansi (ANOVA) Satu Arah terhadap data aktivitas AST plasma tikus putih betina

#### Tujuan :

Mengetahui ada tidaknya perbedaan 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  $\alpha$  yang digunakan adalah  $\alpha = 0,05$

#### Kriteria pengujian:

Jika signifikansi  $< 0,05$  maka Ho ditolak

Jika signifikansi  $> 0,05$  maka Ho diterima

#### Hasil perhitungan:

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	967.730	3	322.577	1.956	.153
Within Groups	3299.005	20	164.950		
Total	4266.735	23			

Karena nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima

Kesimpulan:

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



## Lampiran 10

### Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data aktivitas AST plasma tikus putih jantan

Tujuan:

Mengetahui distribusi data aktivitas AST plasma tikus putih jantan.

Hipotesis:

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

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

Taraf nyata:

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

Kriteria pengujian:

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

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

Hasil perhitungan:

**Tests of Normality**

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Aktivitas AST Plasma Tikus Putih Jantan	Dosis I	.931	6	.588
	Dosis II	.892	6	.328
	Dosis III	.918	6	.490
	Kontrol	.844	6	.142

Seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi  $> 0,05$  maka Ho diterima

Kesimpulan:

Data aktivitas AST plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.

## Lampiran 11

### Uji homogenitas Levene terhadap data aktivitas AST plasma tikus putih jantan

#### Tujuan:

Mengetahui variansi data aktivitas AST plasma tikus putih jantan

#### Hipotesis:

Ho: Data AST plasma tikus putih jantan bervariasi normal

Ha: Data AST plasma tikus putih jantan tidak bervariasi normal

#### Taraf nyata:

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

#### Kriteria pengujian:

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

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

#### Hasil perhitungan:

**Test of Homogeneity of Variances**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.182	3	20	.907

Karena nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima.

#### Kesimpulan:

Data aktivitas AST plasma tikus putih jantan bervariasi homogen.

## Lampiran 12

### Uji Analisis Variansi (ANOVA) Satu Arah terhadap data aktivitas AST plasma tikus putih jantan

#### Tujuan :

Mengetahui ada tidaknya perbedaan 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  $\alpha$  yang digunakan adalah  $\alpha = 0,05$

#### Kriteria pengujian:

Jika signifikansi  $< 0,05$  maka Ho ditolak

Jika signifikansi  $> 0,05$  maka Ho diterima

#### Hasil perhitungan:

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1173.045	3	391.015	2.243	.115
Within Groups	3486.121	20	174.306		
Total	4659.166	23			

Karena nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima



Kesimpulan:

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



## Lampiran 13

### Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data aktivitas CK plasma tikus putih betina

#### Tujuan:

Mengetahui distribusi data 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 yang  $\alpha$  digunakan adalah  $\alpha = 0,05$

#### Kriteria pengujian:

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

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

#### Hasil perhitungan:

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk		
Kelompok		Statistic	df	Sig.
Aktivitas CK Plasma Tikus Putih Betina	Dosis I	.825	6	.097
	Dosis II	.963	6	.846
	Dosis III	.935	6	.620
	Kontrol	.841	6	.133

Seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi  $> 0,05$  maka Ho diterima

#### Kesimpulan:

Data aktivitas CK plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

## Lampiran 14

### Uji homogenitas Levene terhadap data aktivitas CK plasma tikus putih betina

#### Tujuan:

Mengetahui variansi data aktivitas CK plasma tikus putih betina

#### Hipotesis:

Ho: Data CK plasma tikus putih betina bervariasi normal

Ha: Data CK plasma tikus putih betina tidak bervariasi normal

#### Taraf nyata:

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

#### Kriteria pengujian:

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

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

#### Hasil perhitungan:

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.702	3	20	.562

Karena nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima.

#### Kesimpulan:

Data aktivitas CK plasma tikus putih betina bervariasi homogen.

## Lampiran 15

### Uji Analisis Variansi (ANOVA) Satu Arah terhadap data aktivitas CK plasma tikus putih betina

#### Tujuan :

Mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas AST plasma tikus putihbetina 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  $\alpha$  yang digunakan adalah  $\alpha = 0,05$

#### Kriteria pengujian:

Jika signifikansi  $< 0,05$  maka Ho ditolak

Jika signifikansi  $> 0,05$  maka Ho diterima

#### Hasil perhitungan:

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14668.398	3	4889.466	1.702	.199
Within Groups	57462.261	20	2873.113		
Total	72130.659	23			

Karena nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima

Kesimpulan:

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



## Lampiran 16

### Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data aktivitas CK plasma tikus putih jantan

#### Tujuan:

Mengetahui distribusi data aktivitas CK plasma tikus putih jantan.

#### Hipotesis:

Ho: Data aktivitas CK plasma tikus putih jantan terdistribusi normal

Ha: Data aktivitas CK plasma tikus putih jantan tidak terdistribusi normal

#### Taraf nyata:

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

#### Kriteria pengujian:

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

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

#### Hasil perhitungan:

		Tests of Normality		
		Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.
Aktivitas CK Plasma Tikus Putih Betina	Dosis I	.809	6	.071
	Dosis II	.889	6	.312
	Dosis III	.913	6	.459
	Kontrol	.953	6	.768

Seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi  $> 0,05$  maka Ho diterima

#### Kesimpulan:

Data aktivitas CK plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.

## Lampiran 17

### Uji homogenitas Levene terhadap data aktivitas CK plasma tikus putih jantan

#### Tujuan:

Mengetahui variansi data aktivitas CK plasma tikus putih jantan

#### Hipotesis:

Ho: Data CK plasma tikus putih jantan bervariasi normal

Ha: Data CK plasma tikus putih jantan tidak bervariasi normal

#### Taraf nyata:

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

#### Kriteria pengujian:

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

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

#### Hasil perhitungan:

**Test of Homogeneity of Variances**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.507	3	20	.243

Karena nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima.

#### Kesimpulan:

Data aktivitas CK plasma tikus putih jantan bervariasi homogen.

## Lampiran 18

### Uji Analisis Variansi (ANOVA) Satu Arah terhadap data aktivitas CK plasma tikus putih jantan

#### Tujuan :

Mengetahui ada tidaknya perbedaan 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  $\alpha$  yang digunakan adalah  $\alpha = 0,05$

#### Kriteria pengujian:

Jika signifikansi  $< 0,05$  maka Ho ditolak

Jika signifikansi  $> 0,05$  maka Ho diterima

#### Hasil perhitungan:

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18302.657	3	6100.886	2.029	.142
Within Groups	60144.516	20	3007.226		
Total	78447.173	23			

Karena nilai signifikansi  $> 0,05$ ; maka Ho diterima



Kesimpulan:

Tidak ada perbedaan bermakna data CK plasma tikus putih jantan antar kelompok perlakuan.

