

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN GANDARUSA  
(*Justicia gendarussa* Burm.) DENGAN PARAMETER NILAI LD<sub>50</sub>  
SERTA FUNGSI HATI PADA MENCIT PUTIH**

**EMIYANAH**

**030505023X**



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

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN GANDARUSA  
(*Justicia gendarussa* Burm.) DENGAN PARAMETER NILAI LD<sub>50</sub>  
SERTA FUNGSI HATI PADA MENCIT PUTIH**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
sarjana farmasi**

**OLEH:**

**EMIYANAH**

**030505023X**



**DEPOK**

**2009**

SKRIPSI : UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN GANDARUSA  
(*Justicia gendarussa* Burm.) DENGAN PARAMETER NILAI LD<sub>50</sub>  
SERTA FUNGSI HATI PADA MENCIT PUTIH

NAMA : EMIYANAH

NPM : 030505023X

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, 10 JULI 2009

Dra. JUHEINI AMIN, MS

PEMBIMBING I

Dr. BERNA ELYA, MSi

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana : 10 Juli 2009

Penguji I : Santi Purna Sari, MS. ....

Penguji II : Dr. Abdul Mun'im, MS. ....

Penguji III : Dra. Maryati Kurniadi, MSi .....

## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah subhanahuwata'ala yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Ibu Dra. Juheini Amin, MS. selaku pembimbing I dan Ibu Dr. Berna Elya, MSi. selaku pembimbing II yang telah memberikan banyak bimbingan, bantuan, dan masukan yang membangun kepada penulis selama masa penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS. selaku Kepala Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Ibu Prof. Dr. Atiek Soemiyati, MS. selaku pembimbing akademis yang telah memberikan banyak masukan dan senantiasa mendampingi penulis selama masa perkuliahan.
4. Ibu Dr. Katrin, MS. yang telah memberikan banyak bantuan baik secara moril maupun materil selama masa penelitian.
5. Ibu Dra. Azizahwati, MS dan Ibu Santi Purna sari, MSi. yang telah meluangkan waktu untuk berdiskusi dan memberikan masukan kepada penulis mengenai penelitian ini.
6. Ibu Dr. Retnosari Andrajati, MS. selaku kepala laboratorium farmakologi yang telah memberikan izin kepada penulis untuk bekerja di laboratorium farmakologi.

7. Seluruh dosen dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI
8. Ibunda tercinta yang senantiasa menemani dan memberikan do'a, motivasi, semangat yang luar biasa kepada penulis selama ini. Kakak-kakakku (Bang Ojat, Mbak Wiwik, Bang Jiay, Bang Jay, Ka Octy, Ka Mul, Bang Agus, Bang Jali) dan adikku Rudini atas seluruh dukungan yang diberikan. Serta keponakan-keponakanku tercinta (Tia, Faiz, Cha-cha, dan Daffa) yang selalu memberikan keceriaan dalam senyum dan canda tawanya.
9. Rekan-rekan kerja di laboratorium fitokimia dan farmakologi atas seluruh dukungan dan kerjasamanya selama masa penelitian.
10. Sahabat-sahabatku (Joe, Fitri, Lina, Tika, Anne, Erna, Ita, Nezla, Arif, Deny) dan seluruh teman-teman Farmasi UI 2005 atas dukungan dan kerjasamanya selama ini.
11. Pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam masa penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sebagai proses penyempurnaan skripsi ini agar dapat memberikan manfaat khususnya dalam bidang ilmu pengetahuan.

Penulis

2009

## ABSTRAK

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah tikus putih. Penelitian ini bertujuan mengetahui nilai LD<sub>50</sub> dan fungsi hati berdasarkan aktivitas enzim aminotransferase. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50 ekor mencit putih jantan dan 50 ekor mencit putih betina. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol diberikan aquadest. Kelompok 2 sampai 5 diberikan ekstrak etanol daun gandarusa dengan dosis 4, 8, 16, dan 32 g/kg bb. Uji LD<sub>50</sub> ditentukan oleh jumlah kematian dalam kelompok uji selama 24 jam dari perlakuan berupa satu kali pemberian bahan uji. Hasilnya menunjukkan bahwa bahan uji sampai dosis tertinggi, bersifat praktis tidak toksik dengan nilai LD<sub>50</sub> sebesar 31,99 g/kg bb (kelompok jantan) dan 27,85 g/kg bb (kelompok betina). Pengukuran aktivitas enzim aminotransferase menggunakan metode kolorimetri. Hasil ANAVA terhadap fungsi hati menunjukkan bahwa pemberian bahan uji dengan dosis 4 g/kg bb-16 g/kg bb tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok uji dan kelompok kontrol.

Kata kunci: aminotransferase, hati, *Justicia gendarussa*, LD<sub>50</sub>.

xi + 91 hlm. ; gbr. ; tab. ; lamp.

Acuan : 35 (1952-2008)

## ABSTRACT

Previous experiment showed that gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) leaves ethanolic extract could decreased uric acid blood level on rats. This experiment was aimed to determine value of LD<sub>50</sub> and liver function based on activities of aminotransferase. Experimental animals which were used in this experiment were 50 males and 50 females white mice. They were divided into 5 groups. Group 1 as control group was given aquadest. Group 2 until 5 were treated by gandarusa leaves ethanolic extract with dosage 4, 8, 16, and 32 g/kg bw. The LD<sub>50</sub> test was determined by the amount of death in group during 24 hours after giving a single dose of test substance. The result showed that the highest dose was practically non toxic with LD<sub>50</sub> value of 31.99 g/kg bw (male groups) and 27.85 g/kg bw (female groups). Measurement of aminotransferase activity was done by colorimetri method. The result of ANOVA for liver function showed that the giving test substance 4 g/kg bw–16 g/kg bw was not significantly different between treated groups and control group.

Key words: aminotransferase, *Justicia gendarussa*, LD<sub>50</sub>, liver.

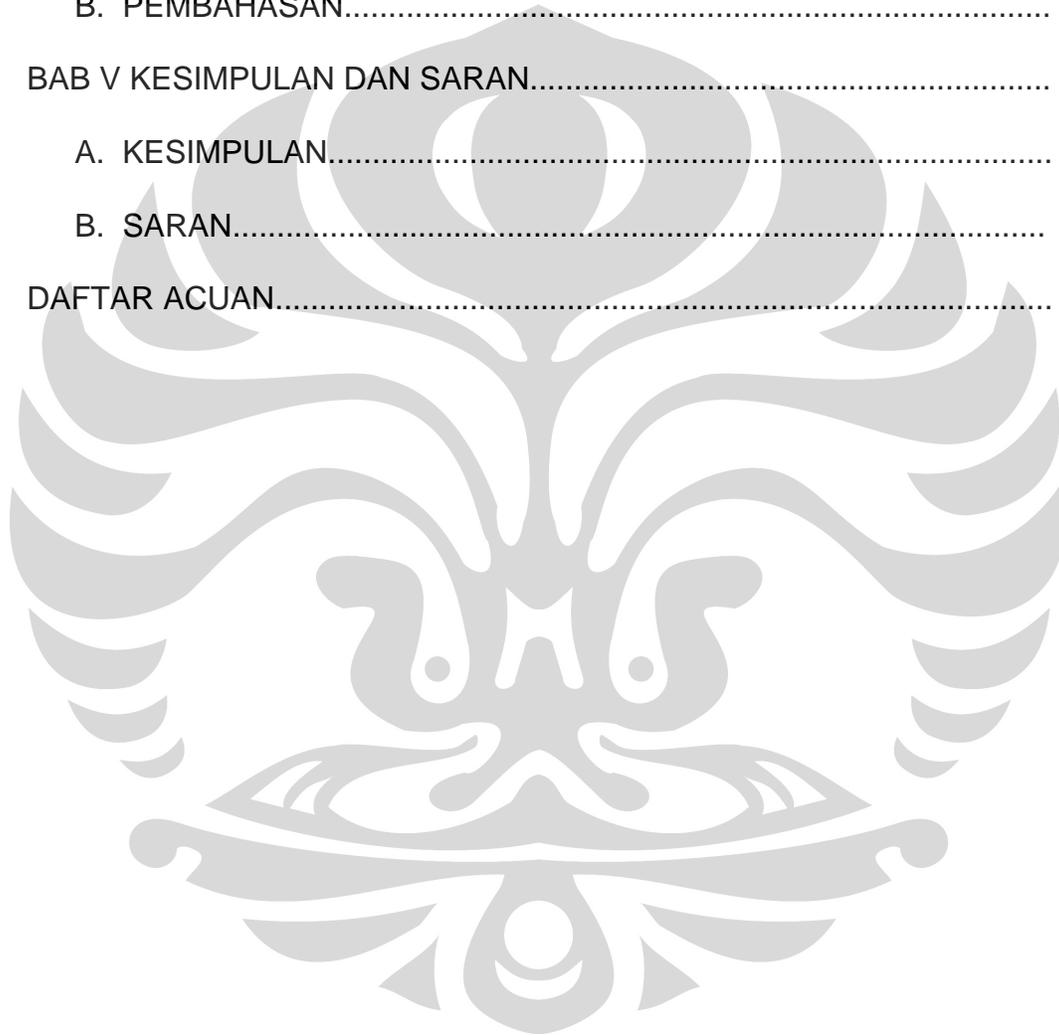
xi + 91 pages ; images ; tables ; appendics

Bibliografi: 35 (1952-2008)

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	3
C. HIPOTESIS.....	3
D. MANFAAT PENELITIAN.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. UJI TOKSISITAS AKUT.....	4
B. TANAMAN GANDARUSA.....	7
C. HATI.....	9
D. ENZIM AMINOTRANSFERASE.....	15
BAB III BAHAN DAN CARA KERJA.....	19
A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN.....	19
B. ALAT-ALAT.....	19

C. BAHAN-BAHAN.....	20
D. CARA KERJA.....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
A. HASIL.....	32
B. PEMBAHASAN.....	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
A. KESIMPULAN.....	47
B. SARAN.....	47
DAFTAR ACUAN.....	48



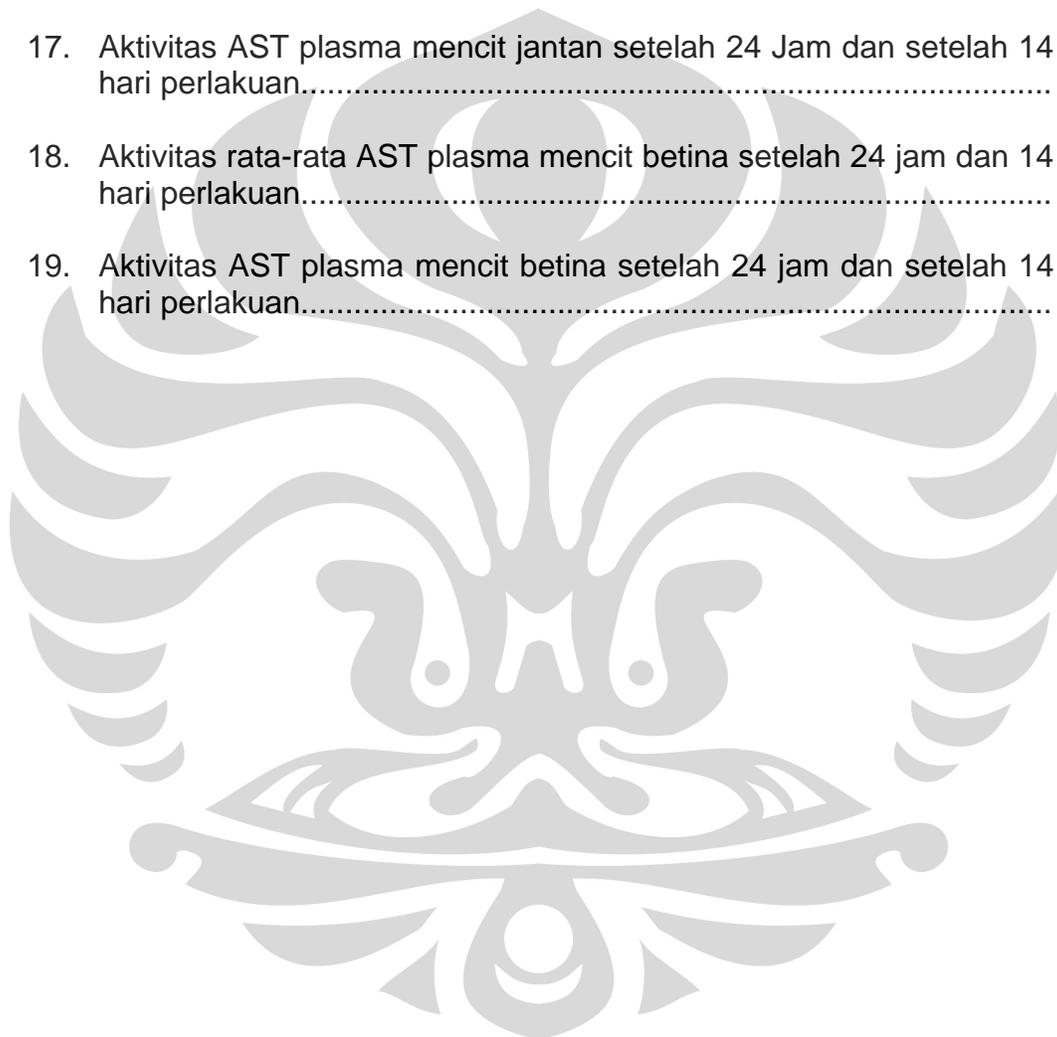
## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman gendarusa ( <i>Justicia gendarussa</i> Burm.).....	52
2. Persamaan reaksi pembentukan oksaloasetat dan glutamat dengan AST sebagai katalisator.....	52
3. Persamaan reaksi pembentukan warna pada pengukuran ALT plasma secara kolorimetri .....	53
4. Persamaan reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat dengan ALT sebagai katalisator.....	53
5. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata.....	54
6. Kurva kalibrasi aktivitas ALT plasma dengan persamaan garis $y = 4,338.10^{-3} + 3,6472.10^{-3} x$ .....	54
7. Diagram batang nilai aktivitas rata-rata ALT plasma mencit jantan setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	55
8. Diagram batang nilai aktivitas rata-rata ALT plasma mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	55
9. Kurva kalibrasi aktivitas AST plasma dengan persamaan garis $y = 1,2115.10^{-3} + 0,2237.10^{-3} x$ .....	56
10. Diagram batang nilai aktivitas rata-rata AST plasma mencit jantan setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	57
11. Diagram batang nilai aktivitas rata-rata AST plasma mencit Betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	57

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi zat kimia/obat berdasarkan toksisitas relatif.....	6
2. Pembagian kelompok hewan uji.....	24
3. Persentase bobot daun gandarusa kering terhadap daun gandarusa segar .....	59
4. Rendemen ekstrak daun gandarusa.....	59
5. Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat berbagai konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi ALT Aktivitas rata-rata ALT plasma mencit jantan setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan.....	59
6. Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat berbagai konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi ALT Aktivitas rata-rata AST plasma mencit betina setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan.....	60
7. Tahapan pengukuran aktivitas aminotransferase.....	60
8. Data susut pengeringan ekstrak etanol daun gandarusa .....	61
9. Data kadar air ekstrak etanol daun gandarusa.....	61
10. Data kadar abu ekstrak etanol daun gandarusa.....	61
11. Data hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun gandarusa.....	33
12. Aktivitas rata-rata ALT plasma mencit jantan setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan.....	34
13. Aktivitas ALT plasma mencit jantan setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan aktivitas rata-rata ALT plasma mencit betina setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan.....	62
14. Aktivitas rata-rata ALT plasma mencit betina setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan.....	35

Tabel	Halaman
15. Aktivitas ALT plasma mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	63
16. Aktivitas rata-rata AST plasma mencit jantan setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan.....	36
17. Aktivitas AST plasma mencit jantan setelah 24 Jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	64
18. Aktivitas rata-rata AST plasma mencit betina setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan.....	36
19. Aktivitas AST plasma mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	65



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan nilai LD <sub>50</sub> menggunakan metode Weil.....	67
2. Analisis variansi (ANAVA 1-Arah) terhadap aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	70
3. Analisis variansi (ANAVA 1-Arah) terhadap aktivitas ALT plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	72
4. Analisis variansi (ANAVA 1-Arah) terhadap aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	74
5. Analisis variansi (ANAVA 1-Arah) terhadap aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	76
6. Cara perhitungan regresi linier untuk mendapatkan persamaan garis $y = a+bx$ .....	78
7. Penentuan aktivitas aminotransferase plasma.....	79
8. Uji normalitas varian terhadap aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	80
9. Uji normalitas varian terhadap aktivitas ALT plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	82
10. Uji normalitas varian terhadap aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	84
11. Uji normalitas varian terhadap aktivitas AST plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	86
12. Uji homogenitas varian terhadap aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	88
13. Uji homogenitas varian terhadap aktivitas ALT plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.....	89

14. Uji homogenitas varian terhadap aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan..... 90
15. Uji homogenitas varian terhadap aktivitas AST plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan..... 91



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, dan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan dalam sistem pelayanan kesehatan. Penggunaan tanaman obat (obat tradisional) sebagai obat alternatif dalam pengobatan oleh masyarakat semakin meningkat, sehingga diperlukan penelitian agar penggunaannya sesuai dengan kaidah pelayanan kesehatan, yaitu secara medis harus dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah tentang khasiat, keamanan, dan standar kualitasnya (1).

Satu diantara tanaman obat di Indonesia yang digunakan oleh masyarakat yaitu tanaman gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.). Daunnya telah digunakan sebagai obat beberapa macam penyakit, antara lain untuk mengatasi memar, bengkak, sakit pinggang, sakit kepala, sembelit, dan rematik sendi (2). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun gandarusa dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* HIV tipe 1 secara *in vitro*, menghambat fertilisasi *in vitro* pada mencit, dan berkhasiat sebagai

analgetik. Selain itu, ekstrak etanol daun gandarusa dapat menurunkan kadar asam urat dalam darah tikus putih (3). Menurut laporan *Food and Drug Administration (FDA)* dalam *Poisonous Database (Plant List)*, tanaman gandarusa termasuk salah satu tanaman yang potensial beracun. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap toksisitas untuk mengetahui keamanan ekstrak etanol daun gandarusa sehingga dapat dihasilkan suatu obat tradisional yang dapat dipertanggungjawabkan penggunaannya secara ilmiah (4,5).

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut, dinilai dari LD<sub>50</sub> yang bertujuan mencari besarnya dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% sekelompok hewan uji. Pada tahap ini juga dilakukan pengamatan terhadap gejala toksik dan perubahan patologik organ hati hewan uji (6). Pemeriksaan kerusakan hati dilakukan karena hati merupakan organ yang sangat berperan dalam proses metabolisme sehingga organ ini sering terpapar zat kimia yang akan mengalami detoksifikasi dan inaktivasi sehingga zat kimia tersebut menjadi tidak berbahaya bagi tubuh. Kerusakan hati karena obat dan zat kimia dapat terjadi akibat hilangnya kemampuan regenerasi sel hati, sehingga hati akan mengalami kerusakan permanen yang dapat menimbulkan kematian. Untuk melihat fungsi hati dilakukan pengukuran aktivitas enzim aminotransferase, yaitu AST (Aspartat aminotransferase) dan ALT (Alanin aminotransferase) yang terdapat dalam plasma darah.

## **B. TUJUAN PENELITIAN**

1. Mengetahui potensi toksisitas ekstrak etanol daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) pada mencit putih.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun gandarusa terhadap fungsi hati pada mencit putih ditinjau dari aktivitas enzim AST (Aspartat aminotransferase) dan ALT (Alanin aminotransferase).

## **C. HIPOTESIS**

1. Pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak memberikan efek toksik pada mencit putih.
2. Pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak mempengaruhi fungsi hati pada mencit putih ditinjau dari aktivitas enzim AST (Aspartat aminotransferase) dan ALT (Alanin aminotransferase).

## **D. MANFAAT PENELITIAN**

Penelitian ini bermanfaat sebagai bukti ilmiah atas keamanan pendahuluan dan memberikan informasi yang dibutuhkan untuk merencanakan penelitian toksisitas subkronik dan kronik dari sediaan ekstrak etanol daun gandarusa.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Uji Toksisitas Akut

Suatu obat baru yang diberikan pada manusia harus melalui penelitian mengenai sifat farmakodinamik, farmakokinetik, dan efek toksiknya pada hewan uji. Penelitian tersebut dimaksudkan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil risiko keamanan pada manusia (6). Uji keamanan obat dilakukan melalui uji toksisitas yang dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu toksisitas umum dan toksisitas khusus. Toksisitas umum meliputi toksisitas akut, subkronis, dan kronis yang dirancang untuk mengevaluasi secara keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan uji. Uji toksisitas khusus meliputi teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik yang dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas spesifik (1,7)

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut yang bertujuan untuk menetapkan potensi ketoksikan ekstrak etanol daun gandarusa. Uji ini perlu dilakukan pada sekurang-kurangnya satu spesies hewan uji, biasanya spesies pengerat yaitu mencit dan tikus, dewasa muda dan mencakup kedua jenis kelamin. Potensi ketoksikan ekstrak tersebut dapat ditentukan dengan nilai LD<sub>50</sub> yang bertujuan untuk mencari besarnya dosis tunggal yang dapat

menyebabkan kematian pada 50% hewan uji (6). Hal ini dapat ditentukan dengan beberapa cara, yaitu grafik Probit, Farmakope Indonesia, dan metode Weil. Dengan menggunakan metode Weil, nilai  $LD_{50}$  dapat ditentukan berdasarkan rumus (8):

$$\text{Log } m = \log D + d (f+1)$$

Dimana :

- m : Nilai  $LD_{50}$
- D : Dosis terkecil yang digunakan
- d : Log dari kelipatan dosis (Log R)
- f : Suatu faktor dalam tabel Weil

Terkait dengan upaya mendapatkan dosis letal pada uji  $LD_{50}$ , pemberian obat dilakukan dengan besar dosis bertingkat dengan kelipatan tetap. Penentuan besarnya dosis uji pada hewan bertolak dengan berpedoman ekuipotensi dosis empirik sebagai dosis terendah, dan ditingkatkan berdasarkan faktor logaritmik atau dengan rasio tertentu sampai batas yang masih dimungkinkan untuk diberikan. Cara pemberian diupayakan disesuaikan dengan cara penggunaannya (1).

Tabel 1  
Klasifikasi zat kimia/obat berdasarkan toksisitas relatif

Kategori	LD <sub>50</sub>
Super toksik	5 mg/kg atau kurang
Amat sangat toksik	5-50 mg/kg
Sangat Toksik	50-500 mg/kg
Toksik sedang	0,5-5 g/kg
Toksik ringan	5-15 g/kg
Praktis Tidak toksik	>15 g/kg

Selain digunakan untuk klasifikasi zat kimia sesuai dengan toksisitas relatifnya, LD<sub>50</sub> juga berguna untuk mengevaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja, perencanaan penelitian toksisitas subkronik dan kronik pada hewan, memberikan informasi tentang mekanisme toksisitas, pengaruh umur, seks, faktor pejamu, dan faktor lingkungan lainnya, variasi respon antarspesies dan antarstrain hewan, memberikan informasi tentang reaktivitas suatu populasi hewan, memberi sumbangan bagi informasi yang dibutuhkan dalam merencanakan pengujian obat pada manusia dan dalam pengendalian mutu zat kimia, serta deteksi pencemaran toksik serta perubahan fisik yang mempengaruhi bioavailabilitas (7).

Setelah mendapatkan perlakuan berupa pemberian obat dosis tunggal, maka dilakukan pengamatan secara intensif, cermat dengan frekuensi dan selama jangka waktu tertentu yaitu 14 hari, bahkan dapat lebih lama antara lain dalam kaitan dengan pemulihan gejala toksik. Disamping terjadinya kematian hewan uji, dalam pengamatan perlu diperhatikan

timbulnya gejala-gejala terutama yang terkait dengan fungsi organ tubuh yang tergolong cukup penting antara lain hati, ginjal, paru, jantung, dan hemopoetik. Hasil penelitian berupa pemeriksaan fungsi hati dengan parameter aktivitas enzim ALT dan AST yang dianalisis secara statistik dengan metode yang sesuai (1).

## **B. TANAMAN GANDARUSA**

### **1. Taksonomi**

Gandarusa memiliki taksonomi sebagai berikut:

Dunia	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Bangsa	: Scrophulariales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: Justicia
Jenis	: <i>Justicia gendarussa</i> Burm .
Sinonim	: <i>Gendarussa vulgaris</i> T. Nees., <i>Justicia gendarussa</i> Linn., dan <i>Gendarussa Rumph</i> (10,11,12).

## 2. Nama lain

Tanaman gandarusa dikenal dengan bermacam nama di berbagai daerah di Indonesia. Di Aceh, gandarusa bernama Besi-besi; di Jawa Barat: Handarusa; di Jawa tengah dan Jawa Timur; Gondarusa, Tetean, Trus; di Bima: Gandarisa; di Ternate : Puli; dan di Seram: Kawo (2,13).

## 3. Morfologi

Gandarusa merupakan tanaman perdu yang tumbuh tegak (Gambar 1). Tinggi rata-rata berkisar 1 hingga 1,5 meter dan maksimum dapat mencapai 2 meter. Pada umumnya ditanam sebagai pagar hidup atau tumbuh liar di hutan, tanggul sungai atau dipelihara sebagai tanaman obat. Di Jawa tumbuh pada ketinggian 1-500 m di atas permukaan laut. Percabangan banyak, dimulai dari dekat pangkal batang. Cabang-cabang yang masih muda berwarna ungu gelap, dan bila sudah tua warnanya menjadi coklat mengkilat (2,10).

Daun tunggal berbentuk lanset, pangkal batang bentuk baji dengan ujung lancip. Tepi daun agak menggulung keluar. Helai daun seperti kulit tipis dengan tekstur mulus, tidak berbulu, dan bertepi rata. Letaknya saling berhadapan. Daun berwarna hijau gelap berukuran: panjang 5-20 cm, lebar 1-3,5 cm ujung daun meruncing, pangkal berbentuk biji bertangkai pendek antara 5-7,5 mm (11).

#### 4. Kandungan Kimia

Tanaman ini mengandung senyawa steroid/triterpenoid, tanin, kalium, flavonoid, justisin, minyak atsiri, saponin dan alkaloid yang sedikit beracun (10,13). Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan tanaman ini memiliki khasiat bagi tubuh, yaitu arhritis, nyeri otot, sakit kepala, antifertilitas (3,7).

#### C. HATI

Hati merupakan organ saluran cerna paling besar dalam tubuh manusia. Beratnya rata-rata 1,2-1,8 kg atau kira-kira 2,5% berat badan orang dewasa (14). Konsistensinya lunak dan menempati hampir seluruh bagian kanan atas rongga abdomen dan terletak di bawah diafragma dalam rongga abdomen atas. Dalam keadaan segar, hati berwarna merah tua atau merah coklat (15).

Hati terdiri dari dua jenis sel utama. Pertama, hepatosit yang berasal dari epitel dan aktif secara metabolis. Kedua, sel Kupffer yang bersifat fagositik dan merupakan bagian dari sistem retikuloendotel. Secara mikroskopis, sel-sel ini tersusun membentuk suatu satuan anatomik hati yang disebut lobulus, terdiri dari genjel-genjel (*cords*) hepatosit yang ditunjang oleh kerangka retikulin di sekitar pembuluh vaskular yang disebut sinusoid. Lobulus hati dibagi menjadi dua lobulus utama, yaitu lobulus kanan dan kiri, lobulus kanan dibagi menjadi segmen anterior dan posterior oleh fisura

segmentalis kanan yang tidak terlihat dari luar. Lobulus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamen falsiform yang dapat dilihat dari luar (15).

Hubungan vaskular di hati tersusun sedemikian rupa sehingga darah masuk ke masing-masing lobulus di bagian periferinya, tersaring ke arah dalam menuju pusat lobulus melalui sinusoid, dan kemudian keluar melalui sebuah vena sentral. Darah sinusoid dan sel hati yang melapisi sinusoid berhubungan erat sehingga terjadi pertukaran zat yang ekstensif antara darah dan hepatosit. Daerah mikroskopik sebenarnya antara sinusoid dan lempeng hepatosit disebut ruang Disse, yang mengandung cairan interstisium (tanpa eritrosit), tempat zat gizi dan produk sisa berdifusi untuk berpindah antara darah sirkulasi dan hati (16).

## **1. Fungsi Hati**

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

### **a. Pembentukan dan sekresi empedu**

Meliputi metabolisme garam empedu dan metabolisme pigmen empedu. Garam empedu penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak serta vitamin larut lemak di dalam usus (17).

b. Metabolisme karbohidrat

Hal ini mencakup glikogenesis, glikogenolisis dan glukoneogenesis. Hati berperan penting dalam mempertahankan kadar glukosa darah normal dan menyediakan energi untuk tubuh. Karbohidrat disimpan dalam hati dalam bentuk glikogen (17,18).

c. Metabolisme lemak

Hal ini mencakup ketogenesis, biosintesis kolesterol, dan penimbunan lemak. Hidrolisis trigliserida, kolesterol, fosfolipid, dan lipoprotein (diabsorpsi melalui usus) menjadi asam lemak dan gliserol (19).

d. Metabolisme protein

Hal ini mencakup sintesis protein, pembentukan urea dan produk khusus, serta penyimpanan protein. Protein serum yang disintesis oleh hati adalah albumin serta globulin  $\alpha$  dan  $\beta$ . Faktor pembentukan darah yang disintesis oleh hati adalah fibrinogen, protrombin, dan faktor V, VII, IX, dan X. Vitamin K merupakan kofaktor yang penting dalam sintesis semua faktor kecuali faktor V (17).

e. Metabolisme steroid

Hati menginaktifkan dan mensekresi aldosteron, glukokortikoid, estrogen, progesteron, dan testosteron (17).

f. Detoksifikasi obat dan racun lainnya

Hati bertanggung jawab terhadap biotransformasi zat-zat berbahaya, misalnya obat, menjadi zat-zat yang tidak berbahaya yang kemudian dieksresikan oleh ginjal (17).

g. Penimbunan vitamin dan mineral

Hati berperan dalam penyimpanan zat-zat seperti vitamin larut air, B12, B3, B5, B6, asam folat, vitamin sukar larut air A, D, E, K juga tembaga dan besi (17).

## 2. Penyakit Hati

Gangguan fungsi hati sering kali dihubungkan dengan beberapa penyakit tertentu. Beberapa pendapat membedakan penyakit hati menjadi penyakit hati akut atau kronis. Dikatakan akut apabila kelainan-kelainan yang terjadi berlangsung sampai dengan 6 bulan, sedangkan penyakit hati kronis berarti gangguan yang terjadi sudah berlangsung lebih dari 6 bulan. Penyakit hati akut yang fatal adalah kegagalan hati fulminan, yang berarti perkembangan mulai dari timbulnya penyakit hati hingga kegagalan hati yang berakibat kematian (fatal) terjadi dalam kurang dari 4 minggu (14).

Beberapa penyebab penyakit hati antara lain (14):

1. Infeksi virus hepatitis, dapat ditularkan melalui selaput mukosa, hubungan seksual atau darah (parenteral).
2. Zat-zat toksik, seperti alkohol atau obat-obat tertentu.
3. Genetik atau keturunan, seperti hemochromatosis.
4. Gangguan imunologis, seperti hepatitis autoimun, yang ditimbulkan karena adanya perlawanan sistem pertahanan tubuh terhadap sel-sel hati yang mengakibatkan peradangan kronis dalam jaringan tubuhnya sendiri.

5. Kanker, seperti Hepatocellular Carcinoma, dapat disebabkan oleh senyawa karsinogenik antara lain aflatoksin, polivinilklorida (bahan pembuat plastik), virus, dan lain-lain. Hepatitis B dan C maupun sirosis hati juga dapat berkembang menjadi kanker hati.

Penyakit hati dibedakan menjadi berbagai jenis, beberapa macam penyakit hati yang sering ditemukan, yaitu (14):

a. Hepatitis

Istilah hepatitis dipakai untuk semua jenis peradangan pada hati. Penyebabnya dapat berbagai macam, mulai dari virus sampai dengan obat-obatan. Virus hepatitis terdiri dari beberapa jenis: hepatitis A, B, C, D, E, F, dan G. Hepatitis A, B, dan C adalah yang paling banyak ditemukan. Manifestasi penyakit hepatitis akibat virus bisa akut (hepatitis A), kronik (hepatitis B dan C) ataupun kemudian menjadi kanker hati (hepatitis B dan C).

b. Sirosis Hati

Setelah terjadi peradangan dan bengkak, hati melakukan regenerasi dengan membentuk bekas luka atau parut kecil. Parut ini disebut fibrosis yang membuat hati lebih sulit melakukan fungsinya. Sewaktu kerusakan berjalan, semakin banyak parut terbentuk dan mulai menyatu, dalam tahap selanjutnya disebut *sirosis*. Pada sirosis, area hati yang rusak dapat menjadi permanen dan menjadi sikatriks, darah tidak dapat mengalir dengan baik dan hati mulai menciut, serta menjadi keras.

#### c. Kanker Hati

Kanker hati yang banyak terjadi adalah Hepatocellular carcinoma (HCC). HCC merupakan komplikasi akhir yang serius dari hepatitis kronis, terutama sirosis yang terjadi karena virus hepatitis B, C, dan hemochromatosis.

#### d. Perlemakan Hati

Bila penimbunan lemak melebihi 5% dari berat hati atau mengenai lebih dari separuh jaringan sel hati disebut perlemakan hati yang sering berpotensi menjadi penyebab kerusakan hati dan sirosis hati. Kelainan ini dapat timbul karena mengonsumsi alkohol berlebih, disebut ASH (*Alcoholic Steatohepatitis*), maupun bukan karena alkohol, disebut NASH (*Non Alcoholic Steatohepatitis*).

#### e. Kolestasis dan Jaundice

Kolestasis merupakan keadaan akibat kegagalan produksi dan/atau pengeluaran empedu. Lamanya menderita kolestasis dapat menyebabkan gagalnya penyerapan lemak dan vitamin A, D, E, K oleh usus, penumpukan asam empedu, bilirubin dan kolesterol di hati. Bilirubin yang berlebih dalam sirkulasi darah dan penumpukan pigmen empedu pada kulit, membran mukosa dan bola mata (pada lapisan sklera) disebut jaundice. Pada keadaan ini kulit penderita terlihat kuning, warna urin menjadi lebih gelap, sedangkan feses lebih terang. Biasanya gejala tersebut timbul bila kadar bilirubin total dalam darah melebihi 3 mg/dl.

f. Hemochromatosis

Hemochromatosis merupakan kelainan metabolisme besi yang ditandai dengan adanya pengendapan besi secara berlebihan di dalam jaringan. Penyakit ini bersifat genetik atau keturunan.

g. Abses Hati

Infeksi bakteri atau amuba dapat menyebabkan abses hati karena bakteri berkembang biak dengan cepat, menimbulkan gejala demam dan menggigil. Abses yang ditimbulkan oleh amuba prosesnya berkembang lebih lambat. Abses hati, khususnya yang disebabkan oleh bakteri, sering kali berakibat fatal.

#### **D. ENZIM AMINOTRANSFERASE**

Enzim aminotransferase adalah enzim yang mengkatalisis pemindahan reversibel satu gugus amino antara sebuah asam amino dan sebuah asam alfa-keto. Fungsi ini penting untuk pembentukan asam-asam amino yang tepat yang diperlukan untuk menyusun protein di hati. Dua aminotransferase yang paling sering diukur adalah Aspartat amino transferase (AST) atau serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT), yang memerantarai reaksi antara asam aspartat dan asam alfa keto-glutamat dan Alanin amino transferase (ALT) atau serum glutamat piruvat transaminase (SGPT) yang memindahkan satu gugus amino antara alanin

dan asam alfa keto-glutamat. Walaupun AST dan ALT sering dianggap sebagai enzim hati karena tingginya konsentrasi keduanya dalam hepatosit, namun hanya ALT yang spesifik, karena terlokalisasi dalam hati, sedangkan AST selain terdapat di hati juga terdapat di miokardium, otot rangka, otak, dan ginjal (16).

Aspartat transaminase (AST) adalah enzim pertama yang membuktikan bahwa peningkatan aktivitas enzim intrasel dalam darah menunjukkan adanya kerusakan pada jaringan asal sumber enzim tersebut. Aktivitas enzim AST dalam serum meningkat tajam pada penderita infark otot jantung, hati, dan otot rangka, namun aktivitas spesifik tertinggi enzim AST ditemukan di jantung (18,20). AST mempunyai dua isoenzim, yaitu isoenzim yang berasal dari sitoplasma serta berasal dari mitokondria. Enzim yang biasa terdapat dalam plasma dan meningkat aktivitasnya pada kerusakan ringan jaringan otot ialah isoenzim yang berasal dari sitoplasma. Isoenzim mitokondria baru akan keluar jika terjadi kerusakan otot jantung yang lebih mendalam (18). AST memerlukan piridoksal fosfat sebagai koenzim. Konsentrasi AST dalam darah orang sehat juga berada dalam rentangan yang cukup lebar, yaitu 5-40 unit/mL (16,18). Sedangkan konsentrasi AST dalam darah mencit berada pada kisaran 55-251 unit/L (21).

Prinsip pengukuran aktivitas AST adalah mengkatalisis pemindahan gugus amino dari asam aspartat kepada asam  $\alpha$ -ketoglutarat yang menghasilkan asam oksaloasetat dan glutamat (Gambar 2). Oksaloasetat merupakan senyawa yang tidak stabil, oksaloasetat akan melepaskan gugus

karboksilat sehingga membentuk senyawa piruvat yang direaksikan dengan 2,4-Dinitrofenilhidrazin membentuk 1-Piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang berwarna coklat kuning dalam larutan alkali (Gambar 3). Warna yang terbentuk serapannya diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 505 nm (22,23).

Alanin transaminase (ALT) ditemukan paling banyak di hati dan ditemukan hanya di sitosol. Peningkatan ALT diduga akibat kebocoran sel yang rusak atau nekrosis sel. ALT menunjukkan perkembangan awal kerusakan hati pada hampir semua penyakit hati dan meningkat 2-6 minggu dengan adanya penyakit. Konsentrasi tertinggi (lebih dari 1000 IU) terdapat pada kondisi akut seperti hepatitis akibat virus, nekrosis hati akibat diinduksi obat, racun, maupun iskemia hepatic (19).

Prinsip pengukuran aktivitas ALT adalah mengkatalisis proses pemindahan gugus amino dari alanin ke asam  $\alpha$ -ketoglutarat, sehingga terbentuk senyawa piruvat dan glutamat (Gambar 4). Piruvat yang terbentuk direaksikan dengan 2,4-Dinitrofenilhidrazin dengan membentuk 1-Piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang berwarna coklat kuning dalam larutan alkali. Warna yang terbentuk serapannya diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 505 nm (19,22).

ALT bekerja dalam proses pemindahan gugus asam amino dari alanin ke asam  $\alpha$ -ketoglutarat membentuk asam piruvat dan asam glutamat. Piruvat yang terbentuk masuk ke dalam siklus asam sitrat untuk pembentukan energi secara biokimia. Sedangkan glutamat akan mengalami deaminasi amonia

(digunakan dalam siklus urea) dan untuk meregenerasi asam  $\alpha$ -ketoglutarat. Konsentrasi ALT dalam darah orang sehat berada dalam rentang 5-35 unit/mL (16). Sedangkan konsentrasi ALT dalam darah mencit berada pada kisaran 28-184 unit/L (21).



## BAB III

### BAHAN DAN CARA KERJA

#### A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia, Farmakologi, dan Kandang hewan Departemen Farmasi FMIPA UI Depok, dari bulan Januari hingga Mei 2009.

#### B. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *blender* (National), *shaker*, *rotary evaporator* (Buchi), *waterbath*, oven (Hotpack), alkoholmeter, kertas saring, cawan penguap (Jangkar), krus silikat, botol timbang, alat-alat gelas, sonde lambung, spuit (Terumo), mikrohematokrit (Marienfield), penangas air, timbangan analitik (Mettler-Toledo), timbangan hewan (Mettler-Toledo), pH meter (Eutech), spektrofotometer (Genesys 20 dan UV-Shimadzu 1601), termometer, sentrifugator (Gemmy Industrial Corp.), pipet Eppendorf (Socorex), vortex, lemari pendingin.

## **C. Bahan-Bahan**

### **1. Hewan uji**

Pada penelitian ini digunakan mencit jantan dan betina galur ddY berumur lebih kurang dua bulan dengan berat badan 20-30 gram masing-masing 50 ekor dari Bagian nonruminansia dan satwa harapan, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

### **2. Bahan uji**

Ekstrak etanol daun gandarusa (*Justicia gendarussa Burm.*) yang diperoleh dengan melakukan ekstraksi daun gandarusa menggunakan pelarut etanol 60%.

### **3. Bahan kimia**

Dinatrium hidrogen fosfat (Merck), kalium dihidrogen fosfat (Merck), natrium piruvat (Merck), asam  $\alpha$ -ketoglutarat (Sigma), asam aspartat (Merck), natrium hidroksida (Merck), 2,4-Dinitrofenilhidrazin (Sigma), asam klorida (Merck), heparin (Inviclot), dietil eter (Merck), DL-alanin.

## **D. CARA KERJA**

### **1. Penyiapan Simplisia Uji**

Daun gandarusa dipisahkan dari cabang dan ranting, kemudian dibersihkan dengan air mengalir, dikeringkan pada udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung hingga cukup regas. Pengeringan dilanjutkan dalam oven pada suhu 40-60°C selama 1 jam, kemudian diserbukkan menggunakan *blender* sehingga berukuran 30 mesh (3).

### **2. Pembuatan Ekstrak**

Berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan peneliti sebelumnya, rendemen paling banyak diberikan oleh etanol 60%, sehingga digunakan pada pembuatan ekstrak. Etanol 60% dibuat dengan cara mengencerkan etanol 96% yang telah didestilasi dengan aquadest. Konsentrasi etanol yang telah dibuat dipastikan menggunakan alkoholmeter (3).

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi sebagai berikut: 200 gram simplisia dimasukkan ke dalam sebuah bejana, kemudian dituangi dengan 1000 ml etanol 60% dan ditutup. Campuran diaduk menggunakan *shaker* selama 1 jam. Pengadukan dilakukan sebanyak 3 kali dengan rentang waktu antar pengadukan adalah setengah jam. Setelah diaduk, campuran didiamkan selama 20 jam. Kemudian, campuran disaring dengan kertas

saring. Maserasi dilakukan kembali terhadap ampas sebanyak 4 kali dengan langkah-langkah yang sama seperti di atas (24).

Jumlah pelarut pada maserasi ulangan berkurang dari maserasi sebelumnya. Jika pada maserasi pertama berjumlah 1000 ml, maka pada maserasi kedua, jumlah pelarutnya 800 ml, pada maserasi ketiga dan keempat 600 ml, dan maserasi kelima 500 ml (3).

Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada kisaran temperatur 40-60°C. Penguapan dilanjutkan menggunakan *waterbath* dengan kisaran temperatur yang sama sampai diperoleh ekstrak yang cukup kental. Penguapan dilanjutkan kembali menggunakan oven dengan kisaran temperatur yang sama pula, yaitu 40-60°C sehingga didapatkan ekstrak kental (3).

### **3. Deskripsi Organoleptik Ekstrak**

Ekstrak etanol daun gandarusa diperiksa bentuk, rasa, warna, dan baunya.

### **4. Penetapan Parameter Ekstrak**

#### **a. Susut Pengerinan**

Pengukuran susut pengerinan dilakukan dengan cara botol timbang bertutup dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit, diamkan dalam desikator selama 10 menit, dan ditimbang. Ulangi tahapan tersebut hingga

botol timbang bertutup tara. Kemudian, 1-2 gram ekstrak ditimbang seksama dalam botol timbang bertutup. Ekstrak dalam botol timbang diratakan dengan menggoyangkan botol. Botol dimasukkan ke dalam oven, tutupnya dibuka, ekstrak dikeringkan pada suhu 105°C hingga berat botol tetap (25).

#### **b. Kadar Air**

Pengukuran kadar air dilakukan dengan cara lebih kurang 10 gram ekstrak dimasukkan dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Ekstrak dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (25).

#### **c. Kadar Abu**

Pengukuran kadar abu dilakukan dengan cara lebih kurang 2-3 gram ekstrak yang telah digerus dan ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan. Zat dipijar di dalam tanur pada temperatur 800°C hingga arang habis, kemudian didinginkan (5 menit di udara, kemudian 10 menit di dalam desikator) dan ditimbang. Proses tersebut diulang hingga bobot tetap (25).

### **5. Rancangan Penelitian**

Pada penelitian ini digunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan 50 ekor mencit jantan

dan 50 ekor mencit betina. Kemudian mencit tersebut masing-masing dibagi secara acak dengan metode pengundian ke dalam lima kelompok perlakuan, sehingga tiap kelompok hewan terdiri dari 10 ekor mencit putih. Kelompok perlakuan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok berdasarkan pembagian dosisnya (pembagian kelompok dapat dilihat pada Tabel 2).

Tabel 2  
Pembagian kelompok hewan uji

No.	Kelompok		Perlakuan hari ke-1
	Jantan	Betina	
I	Kontrol	Kontrol	Diberikan aquadest
II	Perlakuan	Perlakuan	Diberikan larutan uji dosis I
III	Perlakuan	Perlakuan	Diberikan larutan uji dosis II
IV	Perlakuan	Perlakuan	Diberikan larutan uji dosis III
V	Perlakuan	Perlakuan	Diberikan larutan uji dosis IV

## 6. Penetapan Dosis

Dosis daun gandarusa segar untuk rematik sendi adalah 45 gram. Persentase bobot daun kering terhadap daun segar dan besar rendeman ekstrak berturut-turut adalah 26,56% dan 26,00% (Tabel 3,4). Faktor konversi dari manusia ke mencit, yaitu 0,0026 dan faktor farmakokinetika adalah 10, maka dosis sediaan uji untuk mencit adalah  $0,0026 \times 10 \times 45 \times 26,56\% \times 26,00\% = 0,08 \text{ g}/20 \text{ g}$  bb mencit. Dosis ini kemudian akan ditetapkan sebagai dosis terendah yang akan diberikan. Sedangkan penentuan dosis terbesar dilakukan dengan uji pendahuluan untuk mengetahui dosis terbesar yang

dapat disondekan kepada mencit, diperoleh dosis 0,64 g/20 g bb mencit. Untuk mendapatkan hasil yang baik digunakan dosis secara berturut-turut yang akan mengikuti progresi geometris yaitu (6):

$$Y_N = Y_1 \times R^{N-1}$$

$Y_1$  = Dosis pertama

$Y_N$  = Dosis ke-N

R = Faktor geometris  $\neq 0$  atau 1 kelipatan dosis

Dengan memasukkan dosis terendah (dosis ke-1) dan dosis tertinggi (dosis ke-4) ke dalam persamaan, maka diperoleh faktor geometris sebagai berikut:

$$0,64 = 0,08 \times R^{4-1}$$

$$0,64 = 0,08 \times R^3$$

$$R = 2$$

Berdasarkan perhitungan di atas, untuk mendapatkan 4 dosis digunakan kelipatan antar dosis sebesar 2, sehingga perhitungan dosis yang akan diberikan sebagai berikut:

- a. Dosis 1 = 0,08 g/20 g bb atau 4 gram/kg bb
- b. Dosis 2 = 2 x dosis 1 = 0,16 g/20 g bb atau 8 gram/kg bb
- c. Dosis 3 = 2 x dosis 2 = 0,32 g/20 g bb atau 16 gram/kg bb
- d. Dosis 4 = 2 x dosis 3 = 0,64 g/20 g bb atau 32 gram/kg bb

## 7. Pembuatan larutan uji

Volume maksimal yang dapat diberikan kepada mencit dalam satu kali penyondean adalah 1 ml. Larutan uji dibuat dibuat sekaligus untuk 100 ekor mencit dengan menganggap bahwa berat maksimal mencit yang digunakan adalah 30 gram.

### a. Larutan uji dosis IV

Langkah pertama untuk membuat kelompok sediaan uji adalah dengan membuat sediaan uji dosis terbesar (dosis 4). Dosis yang dibutuhkan untuk satu ekor mencit adalah  $0,64 \text{ gram}/20 \text{ gram bb} \times 30 \text{ gram} = 0,96 \text{ gram}$ . Larutan uji dosis 4 yang ingin dibuat sebanyak 40 ml. Sehingga jumlah ekstrak yang ditimbang adalah  $40 \times 0,96 \text{ gram} = 38,4 \text{ gram}$ . Ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam gelas piala 50 ml, kemudian ditambahkan aquadest hingga volumenya mencapai 40 ml dan diaduk hingga homogen. Diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 960 mg/ml.

### b. Larutan uji dosis III

Dosis 3 dibuat dengan mengencerkan dosis IV, yaitu 20 ml dosis IV dipipet, kemudian volumenya dicukupkan hingga 40 ml dengan aquadest dan diaduk hingga homogen. Diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 480 mg/ml.

### c. Larutan uji dosis II

Dosis 2 dibuat dengan mengencerkan dosis III, yaitu 20 ml dosis III dipipet, kemudian volumenya dicukupkan hingga 40 ml dengan aquadest dan diaduk hingga homogen. Diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 240 mg/ml.

d. Larutan uji dosis IV

Dosis 2 dibuat dengan mengencerkan dosis II, yaitu 20 ml dosis II dipipet, kemudian volumenya dicukupkan hingga 40 ml dengan aquadest dan diaduk hingga homogen. Diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 120 mg/ml.

## **8. Persiapan Hewan uji**

Sebelum dilakukan pengujian pemberian ekstrak etanol gendarusa, mencit diaklimatisasi selama dua minggu di kandang hewan FMIPA UI. Setiap mencit akan diberi makan dan ditimbang beratnya setiap hari. Mencit yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, warna putih bersih, mata jernih, tingkah laku normal, serta mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu yang diukur secara rutin.

## **9. Pembuatan Larutan dan Pereaksi**

### **a. Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M (26)**

Sejumlah 7,098 g dinatrium hidrogen fosfat dilarutkan dalam gelas piala dan volumenya dicukupkan hingga 500,0 ml dengan aquadest.

### **b. Pembuatan larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M (26)**

Sejumlah 1,36 g kalium dihidrogen fosfat dilarutkan dalam gelas piala dan volumenya dicukupkan hingga 100,0 ml dengan aquadest.

**c. Pembuatan dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 (27)**

Sejumlah 420 ml larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M ditambah dengan 80 mL larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M, kemudian pH-nya disesuaikan sampai 7,4.

**d. Larutan Uji Aktivitas Enzim Aminotransferase**

1. Pembuatan larutan piruvat 2  $\mu\text{m/L}$  (27)

Sejumlah 22,0 mg natrium piruvat dimasukkan ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan dapar fosfat hingga 100 ml.

2. Larutan substrat untuk pemeriksaan ALT plasma dan kurva kalibrasi (27)

Sejumlah 29,2 mg asam  $\alpha$ -ketoglutarat dicampur dengan 1,78 gram di-alanin di gelas piala ukuran 50 ml, ditambahkan larutan natrium hidroksida 1 N hingga larut, lalu pH disesuaikan sampai 7,4. Kemudian ditambahkan dapar fosfat hingga 100 ml.

3. Larutan substrat untuk pemeriksaan AST dan kurva kalibrasi (27)

Sejumlah 29,2 mg asam  $\alpha$ -ketoglutarat dicampur dengan 2,66 gram asam aspartat di gelas piala ukuran 50 ml, ditambahkan larutan natrium hidroksida 1 N hingga larut, lalu pH disesuaikan sampai 7,4. Kemudian ditambahkan dapar fosfat hingga 100 ml.

4. Pembuatan reagen warna (27)

Sejumlah 19,8 mg 2,4-Dinitrofenilhidrazin ditambahkan larutan asam klorida 1 N hingga 100,0 ml di dalam labu ukur.

## 10. Pelaksanaan penelitian

### a. Penentuan nilai LD<sub>50</sub>

Untuk penentuan nilai LD<sub>50</sub>, digunakan dosis bertingkat yang terdiri dari empat variasi dosis. Pemberian ekstrak dilakukan dalam satu kali pemberian secara oral menggunakan sonde, mencit diamati selama 4 jam untuk melihat apakah ada gejala toksik yang muncul atau tidak. Pengamatan pada mencit kembali dilakukan pada 24 jam setelah pemberian larutan uji dengan menghitung jumlah mencit yang mati dari tiap kelompok. Kemudian nilai LD<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan rumus Weil.

### b. Pengambilan sampel darah melalui mata (28)

Mencit dianastesi terlebih dahulu dengan menggunakan eter. Kemudian kelopak mata mencit dibuka seolah-olah bola mata menonjol keluar. Dengan menggunakan pipa kapiler mata mencit ditusuk pada bagian sinus orbital, yaitu pada sudut dalam bola mata dengan mengarah ke daerah belakang bola mata, digerakkan sambil diputar-putar. Darah yang diperoleh ditampung dalam mikrotube yang telah diberi heparin (Gambar 5). Sampel darah disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit agar diperoleh supernatan jernih. Plasma kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube dan disimpan dalam freezer.

### **c. Pengukuran Fungsi Hati**

#### **1. Pembuatan kurva kalibrasi (29)**

Larutan standar piruvat 2  $\mu\text{mol/L}$  dan larutan dapar substrat dicampur dalam tabung reaksi dengan berbagai perbandingan (Tabel 5,6). Ke dalam tabung ditambahkan 1,0 ml reagen warna kemudian dikocok hingga homogen. Larutan didiamkan selama 20 menit pada suhu kamar, kemudian ditambahkan 10,0 ml natrium hidroksida 0,4 N dan dikocok hingga homogen, larutan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Serapannya diukur pada panjang gelombang 505 nm. Dari hasil yang diperoleh dibuat persamaan regresi liniernya. Sebagai blanko digunakan larutan dapar substrat sebanyak 1,0 ml. Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan masing-masing untuk pengukuran aktivitas ALT dan AST.

#### **2. Pengukuran serapan Sampel (27)**

Disiapkan dua buah tabung reaksi untuk larutan uji dan blanko. Larutan dapar substrat 0,5 ml dimasukkan ke dalam setiap tabung., kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu, 0,1 ml plasma dimasukkan ke dalam tabung uji lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit untuk ALT dan 60 menit untuk AST, kemudian dimasukkan 0,5 ml reagen warna ke dalam tabung uji dan blanko, untuk tabung blanko ditambahkan 0,1 ml plasma, larutan didiamkan pada suhu kamar selama 20 menit. Setelah itu, ditambahkan 5,0 ml natrium hidroksida 0,4 N ke dalam tabung setiap tabung dan diiamkan pada suhu kamar selama 30 menit.

Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm (Tabel 7). Kemudian serapan yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier sehingga didapat nilai aktivitasnya.

### **3. Pengolahan data (30)**

Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji distribusi normal (uji Kolmogorov-Smirnov), uji homogenitas (uji Levene), selanjutnya dilakukan analisis varian satu arah (Anava) untuk melihat hubungan antara kelompok perlakuan. Bila terdapat perbedaan secara bermakna, maka uji dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. HASIL**

##### **1. Nilai Rendemen Ekstrak**

Ekstrak memberikan rendemen sebesar 26,00% (Tabel 4).

##### **2. Deskripsi Organoleptik ekstrak**

Ekstrak berbentuk kental, berasa pahit, berwarna hitam kecoklatan, dan berbau spesifik.

##### **3. Pengukuran Susut Pengerinan**

Hasil pengukuran susut pengerinan ekstrak etanol daun gandarusa, yaitu 22,09% dan 21,78%. Susut pengerinan rata-rata adalah 21,94% (Tabel 8)

##### **4. Pengukuran Kadar Air**

Hasil pengukuran kadar air ekstrak etanol daun gandarusa, yaitu 13,12% dan 15,32%. Kadar air rata-rata adalah 14,22% (Tabel 9).

## 5. Pengukuran Kadar Abu

Hasil pengukuran kadar abu ekstrak etanol daun gandarusa, yaitu 9,94% dan 8,54%. Kadar abu rata-rata adalah 9,24% (Tabel 10).

## 6. Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) terhadap mencit jantan dan betina menunjukkan bahwa pemberian dosis tunggal oral sampai 32 g/kg bb bersifat praktis tidak toksik dan nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol tersebut adalah 31,99 g/kg bb untuk kelompok jantan dan 27,85 g/kg bb untuk kelompok betina (>15 g/kg bb). Untuk perhitungan lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 1. Data hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun gandarusa tertera pada tabel di bawah ini:

Tabel 11  
Data hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun gandarusa

No.	Kelompok Dosis	Jumlah Kematian Hewan Uji		
		N	Jantan	Betina
I	(4 g/kg bb mencit)	10	0	0
II	(8 g/kg bb mencit)	10	0	0
III	(16 g/kg bb mencit)	10	0	0
IV	(32 g/kg bb mencit)	10	5	7

## 7. Penetapan Aktivitas Alanin Aminotransferase (ALT)

### a. Kurva Kalibrasi

Dari hasil percobaan, diperoleh persamaan garis :

$$y = 4,338.10^{-3} + 3,6472.10^{-3} x$$

Dengan nilai koefisien ( $r$ ) = 0,99938. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 6.

### b. Pengukuran Aktivitas ALT Plasma

Aktivitas rata-rata ALT plasma setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan tertera pada tabel-tabel di bawah ini.

Tabel 12  
Aktivitas rata-rata ALT plasma mencit jantan setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan

Kelompok	Aktivitas rata-rata ALT plasma (U/L)	
	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I	69.672 ± 6.813	59.146 ± 7.079
II	63.030 ± 5.965	57.105 ± 6.110
III	61.233 ± 4.715	59.923 ± 5.154
IV	66.777 ± 8.448	60.091 ± 9.339

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 13 dan Gambar 7

Tabel 14  
Aktivitas rata-rata ALT plasma mencit betina setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan

Kelompok	Aktivitas rata-rata ALT plasma (U/L)	
	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I	66.013± 6.432	61.722 ± 6.387
II	62.360± 7.262	57.516 ± 9.115
III	63.298 ± 5.857	57.609 ± 9.095
IV	67.326 ± 8.450	61.629 ± 6.818

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 15 dan Gambar 8

Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi  $\alpha = 0,05$  terhadap aktivitas rata-rata ALT pada mencit jantan menunjukkan bahwa pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan, dengan signifikansi berturut-turut 0,101 dan 0,799. Demikian pula pada mencit betina, hasil uji analisis variansi satu arah menunjukkan bahwa pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan dengan signifikansi berturut-turut 0,403 dan 0,477. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2 dan 3.

## 8. Penetapan Aktivitas Aspartat Aminotransferase (AST)

### a. Kurva Kalibrasi

Dari hasil percobaan, didapat persamaan garis:

$$y = 1,2115 \cdot 10^{-3} + 0,2237 \cdot 10^{-3} x$$

Dengan nilai koefisien ( $r$ ) = 0.99195. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 9.

### b. Pengukuran Aktivitas AST Plasma

Aktivitas rata-rata AST plasma setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan tertera pada tabel-tabel di bawah ini.

Tabel 16  
Aktivitas rata-rata AST plasma mencit jantan setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan

Kelompok	Aktivitas rata-rata AST plasma (U/L)	
	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I	76.379 ± 21.004	89.256 ± 10.466
II	80.346 ± 17.031	87.432 ± 17.806
III	88.981 ± 15.673	85.098 ± 19.788
IV	86.711 ± 20.536	92.099 ± 18.424

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 17 dan Gambar 10

Tabel 18  
Aktivitas rata-rata AST plasma mencit betina setelah 24 jam dan 14 hari perlakuan

Kelompok	Aktivitas rata-rata AST plasma (U/L)	
	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
I	92.482± 25.623	86.566± 27.699
II	80.617± 23.750	86.965± 23.776
III	93.157± 25.015	85.085± 27.828
IV	93.007± 25.367	92.353± 22.876

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 19 dan Gambar 11

Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way ANOVA*) dengan signifikansi  $\alpha = 0,05$  terhadap aktivitas rata-rata AST pada mencit jantan menunjukkan bahwa pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan, dengan signifikansi berturut-turut 0,471 dan 0,845. Demikian pula pada mencit betina, hasil uji analisis variansi satu arah menunjukkan bahwa pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan tidak terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan dengan signifikansi berturut-turut 0,649 dan 0,935. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4 dan 5.

## **B. PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut sebagai uji keamanan pendahuluan terhadap ekstrak etanol daun gandarusa. Melalui uji ini akan diperoleh nilai  $LD_{50}$ , sehingga dapat dilihat sebagai potensi ketoksikan relatif suatu obat dan dipergunakan sebagai acuan dalam penentuan dosis untuk uji toksisitas subkronik (9). Selain diperoleh nilai  $LD_{50}$ , pada penelitian ini juga dilihat gejala toksik yang ditimbulkan dan pengaruh pemberian dosis tunggal oral ekstrak etanol daun gandarusa terhadap fungsi hati mencit putih jantan dan betina dengan parameter aktivitas enzim aminotransferase (AST dan ALT).

Sebagai obat tradisional, daun gandarusa dikonsumsi dalam bentuk rebusan air. Pada penelitian ini, daun gandarusa diujikan dalam bentuk

ekstrak etanol dengan pertimbangan antara lain etanol memiliki sifat kepolaran yang mirip dengan air sehingga diharapkan kandungan kimia yang tertarik oleh etanol tidak berbeda dengan air, selain itu etanol mudah diuapkan dan dapat didestilasi sehingga pada penelitian, penggunaannya hemat dalam segi waktu dan kuantitas (3).

Proses ekstraksi daun gandarusa dilakukan dengan cara maserasi (cara dingin) dengan tujuan mencegah terjadinya penguapan zat-zat yang dapat terjadi pada ekstraksi dengan cara panas (refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok). Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Jumlah pelarut yang digunakan pada maserasi ulangan lebih sedikit dari maserasi sebelumnya berdasarkan pertimbangan, antara lain ada pelarut yang tertahan dalam wadah selama proses penyarian dan jumlah zat yang tertarik pada maserasi ulangan lebih sedikit dari maserasi sebelumnya (3). Cara maserasi seperti ini dikenal dengan istilah remaserasi (25).

Ekstrak yang diperoleh harus dikarakterisasi karena ekstrak etanol daun gandarusa tersebut belum memiliki data karakterisasi. Parameter karakterisasi ekstrak yang dilakukan dalam penelitian ini adalah parameter non spesifik, yaitu susut pengeringan, kadar air, dan kadar abu (25). Hasil penentuan parameter karakterisasi ekstrak tersebut berturut-turut adalah 21,94%, 14,22%, dan 9,24%.

Susut pengeringan adalah pengukuran sisa ekstrak setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai bobot tetap, yang dinyatakan dengan nilai persen. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer/lingkungan udara terbuka. Tujuannya adalah memberikan batasan maksimal (rentang) besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (25). Kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada di dalam ekstrak. Tujuannya adalah memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam ekstrak (25).

Prinsip pengukuran kadar abu adalah ekstrak dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga yang tersisa hanya unsur mineral dan organik. Tujuannya adalah memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (25). Pemijaran sampai bobot tetap berarti pemijaran yang harus dilanjutkan pada suhu  $800^{\circ} \pm 25^{\circ} \text{C}$  hingga hasil dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,50 mg untuk tiap gram zat yang digunakan (31).

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima kelompok perlakuan. Jumlah hewan uji yang digunakan adalah 100 ekor mencit, terdiri dari 50 ekor mencit jantan dan 50 ekor mencit betina. Kemudian mencit tersebut masing-masing dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan. Penetapan jumlah hewan uji ini mengikuti anjuran *World*

*Health Organization* (32). Dalam rancangan acak lengkap (RAL) pengelompokan hewan uji dapat dilakukan dengan cara hewan uji diberi nomor kemudian dilakukan pengundian, menggunakan metode tutup mata, dan menggunakan tabel random. Metode yang dipilih pada penelitian ini adalah metode pengundian. Hewan uji dikelompokkan sehari sebelum pemberian larutan uji. Tujuannya untuk memperoleh satuan percobaan yang seseragam mungkin dalam setiap kelompok, sehingga beda yang teramati sebagian besar disebabkan oleh perlakuan.

Mencit putih dipilih karena hewan ini dapat dikembangbiakkan secara seragam, mudah didapat, relatif murah, sangat mudah ditangani, sensitif terhadap obat dengan dosis kecil, terdapat banyak data toksikologi tentang jenis hewan ini, serta secara luas digunakan untuk uji toksisitas akut (9). Pengujian terhadap kedua jenis kelamin yang berbeda dimaksudkan untuk melihat perbedaan pengaruh efek toksik yang ditimbulkan pada kedua jenis kelamin. Hormon seksual dapat menjadi target ataupun dapat memodifikasi respon toksik tertentu, sehingga respon toksik dapat berbeda antara jantan dan betina (33). Toksisitas akut juga dapat bervariasi karena adanya perbedaan usia, faktor lingkungan, kondisi kesehatan, berat badan, sifat genetik, aliran darah ke hati, perbedaan absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi.

Kelompok I adalah kelompok kontrol yang diberikan aquadest. Kelompok II adalah kelompok perlakuan yang diberikan larutan dosis 1 (4 gram/kg bb), dosis tersebut ditentukan berdasarkan dosis empiris yang

digunakan masyarakat untuk mengobati asam urat yang telah dikonversi ke menciit, kelompok III adalah kelompok perlakuan yang diberi larutan uji dosis 2 (8 gram/kg bb), kelompok IV adalah kelompok perlakuan yang diberi larutan uji dosis 3 (16 gram/kg bb), dan kelompok V adalah kelompok perlakuan yang diberi larutan uji dosis 4 (32 gram/kg bb), dosis tersebut diperoleh dari hasil orientasi yang telah dilakukan sebelumnya. Orientasi dilakukan dengan membuat larutan uji dengan konsentrasi maksimal yang masih dapat diberikan atau masih dapat dikeluarkan dari sonde.

Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital mata dikarenakan darah yang dihasilkan cukup banyak, lebih mudah, lebih sederhana, dan lebih cepat dibandingkan dengan metode yang lain. Sebelum pengambilan darah, menciit dianestesi terlebih dahulu menggunakan dietil eter. Untuk mengurangi adanya intervensi yang berlebihan terhadap hewan uji, pengambilan darah melalui sinus orbital mata dapat dilakukan secara bergantian antara mata sebelah kiri dan kanan. Darah yang diambil kurang lebih 1 mL yang kemudian ditampung dalam mikrotube yang sebelumnya telah diberi heparin untuk mencegah terjadinya proses pembekuan darah. Darah tersebut disentrifugasi pada putaran 7000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan plasma darah yang akan digunakan untuk pemeriksaan aktivitas enzim aminotransferase.

Hasil uji toksisitas akut pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, dosis I, dosis II, dan dosis III baik kelompok menciit jantan maupun menciit betina tidak menimbulkan respon kematian pada hewan,

sedangkan pada kelompok dosis IV (dosis tertinggi) ditemukan respon kematian, yaitu 5 ekor mencit jantan dan 7 ekor mencit betina. Penyebab kematian hewan uji mungkin disebabkan larutan uji masih mengandung alkaloid yang cukup toksik, sehingga pemberian dalam jumlah yang besar dapat menyebabkan kematian. Hasil ini kemudian dicocokkan ke dalam tabel weil untuk ditentukan nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol tersebut. Setelah dicocokkan ke dalam tabel Weil ternyata tidak ditemukan deretan jumlah kematian hewan yang cocok dengan hasil penelitian, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan meningkatkan jumlah dosis yang diberikan. Akan tetapi, dosis maksimal yang diberikan pada penelitian ini merupakan dosis maksimal yang masih bisa diberikan kepada hewan, sehingga tidak bisa dilakukan penelitian lanjutan. Oleh karena itu, penentuan nilai LD<sub>50</sub> dilakukan dengan mengasumsikan bahwa dosis terendah yang digunakan adalah dosis kedua pada penelitian ini (8 gram/KgBB) dan dosis terbesar yang diberikan adalah 64 gram/KgBB. Sehingga diperoleh deretan kematian 0,0,5,10 untuk kelompok mencit jantan, yang di dalam tabel Weil diperoleh nilai f sebesar 1,00. Sedangkan, untuk kelompok mencit betina diperoleh deretan kematian 0,0,7,10 yang dalam tabel Weil diperoleh nilai f sebesar 0,80. Setelah dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus Weil, diperoleh nilai LD<sub>50</sub> sebesar 31,99 gram/kg bb untuk kelompok jantan dan 27,85 g/kg bb untuk kelompok betina. Menurut kriteria Loomis (1978), hasil tersebut mempunyai makna toksikologi bahwa potensi ketoksikan akut sediaan uji ekstrak etanol daun gandarusa termasuk dalam kategori praktis tidak toksik (>15 g per kg

berat badan). Untuk perhitungan lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 2. Perbedaan nilai LD<sub>50</sub> pada kelompok jantan dan betina ini dapat diartikan bahwa terjadi perbedaan respon toksik antara dua jenis kelamin yang berbeda, dimana mencit betina lebih peka terhadap larutan uji.

Selain ditentukan nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol daun gandarusa juga dilakukan pengamatan terhadap gejala klinis yang timbul setelah pemberian larutan uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok I, II, III, dan IV tidak menimbulkan gejala toksik yang berarti, sedangkan pada kelompok V (dosis IV) hewan uji mengalami penurunan respon psikomotorik (pasif) yang cukup jelas.

Pada hewan uji yang mati, dilakukan pembedahan dan pengamatan terhadap organ hati yang menunjukkan terjadinya perubahan warna dari merah tua (kondisi normal) menjadi merah pucat, serta terjadi pembengkakan pada saluran cerna. Sedangkan pada hewan uji yang masih hidup, dilakukan pengukuran aktivitas enzim aminotransferase (AST dan ALT) sebagai parameter untuk melihat apakah pemberian ekstrak etanol daun gandarusa pada mencit menimbulkan efek toksik pada hati mencit. Alasannya adalah peningkatan kadar AST dan ALT dalam darah dapat terjadi apabila ada pelepasan enzim secara intraseluler ke dalam darah yang disebabkan oleh nekrosis sel-sel hati atau adanya kerusakan hati secara akut, misalnya nekrosis hepatoselular atau infark miokard akut.

Pemeriksaan terhadap organ hati dilakukan karena hati merupakan pusat metabolisme seluruh zat asing yang masuk ke dalam tubuh. Jika zat

tersebut bersifat toksik maka ia dapat merusak hati secara langsung ataupun sebagai konsekuensi dari perubahan metabolisme yang terjadi pada hati (34). Oleh karena itu, terjadinya kerusakan pada hati dapat menjadi petunjuk apakah suatu zat bersifat toksik atau tidak.

Metode yang digunakan untuk pengukuran aktivitas aminotransferase adalah metode spektrokolorimetri yang diperkenalkan oleh Reitman dan Frankel. Prinsip reaksinya adalah enzim aminotransferase mengkatalisis pemindahan secara reversibel satu gugus amino antara sebuah asam amino dan sebuah asam alfa-keto (27).

Pada pengukuran aktivitas enzim aminotransferase, inkubasi dengan substrat pada suhu 37°C selama 10 menit bertujuan untuk mendapatkan suhu yang optimal bagi kerja enzim. Asam piruvat yang terbentuk akan bereaksi dengan pereaksi warna 2,4-dinitrofenilhidrazin membentuk 1-Piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon. Sedangkan, pereaksi warna pada tabung blanko bereaksi dengan  $\alpha$ -ketoglutarat. Plasma dimasukkan ke dalam blanko setelah penambahan pereaksi warna bertujuan untuk memasukkan enzim sehingga didapatkan kondisi yang sama antara tabung uji dan blanko. Penambahan larutan NaOH 0,4 N ke dalam tabung uji dan blanko untuk mendapatkan larutan yang alkalis agar terbentuk warna coklat kemerahan yang dapat diukur secara spektrokolorimetri (27).

Untuk menetapkan aktivitas enzim aminotransferase, diperlukan persamaan garis dari kurva kalibrasi yang dibuat dengan membandingkan antara serapan dan aktivitas standar. Nilai aktivitas standar diperoleh dari

*diagnostica merck*. Penjelasan selengkapnya mengenai cara memperoleh persamaan garis dapat dilihat pada Lampiran 6. Dari hasil penelitian diperoleh persamaan garis  $y = 4,338.10^{-3} + 3,6472.10^{-3}x$  untuk kurva kalibrasi ALT dan  $y = 1,2115.10^{-3} + 0,2237.10^{-3}x$  untuk kurva kalibrasi AST. Serapan yang diperoleh dari pengukuran aktivitas enzim aminotransferase dalam plasma sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan garis kurva kalibrasi tersebut sehingga diperoleh aktivitas enzim yang ingin ditetapkan. Contoh perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 7 (27).

Untuk melihat apakah pemberian larutan uji dosis tunggal secara oral memiliki perbedaan yang bermakna secara klinis terhadap fungsi hati, maka data aktivitas enzim AST dan ALT yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS 16 (29). Adapun uji yang digunakan adalah uji analisis variansi satu arah (*one way Anova*). Dalam pengujian hipotesis ada asumsi yang perlu diperhatikan, yaitu setiap populasi menyebar mengikuti distribusi normal dengan ragam populasi yang sama, sehingga untuk membuktikan bahwa populasi terdistribusi normal dilakukan uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov Test*) dan untuk membuktikan bahwa ragam populasi tersebut sama (homogen) dilakukan uji homogenitas (*Levene Test*).

Seluruh data yang terkumpul dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov Test*), dan terbukti bahwa seluruh data terdistribusi normal (Lampiran 8, 9, 10, dan 11). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (*Levene Test*) terhadap seluruh data pada masing-masing variabel, dan terbukti bahwa seluruh data terdistribusi homogen (Lampiran

12,13, 14, dan 15). Setelah diketahui bahwa data terdistribusi normal dan homogen, kemudian dilakukan uji analisis variansi satu arah (*one way Anova*).

Data nilai aktivitas ALT dan AST plasma pada mencit jantan dan betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan memperlihatkan adanya variasi aktivitas ALT dan AST. Hal ini dapat disebabkan oleh variasi biologis mencit itu sendiri ataupun kondisi lingkungan. Aktivitas rata-rata ALT dan AST mencit jantan dan betina pada 24 jam menunjukkan aktivitas yang cukup tinggi dan mengalami penurunan pada 14 hari berikutnya. Hal ini dapat diartikan bahwa fungsi hati mencit putih sempat terganggu pada 24 jam dan kembali normal 14 hari setelah perlakuan.

Hasil uji analisis variansi satu arah (*one way Anova*) terhadap nilai aktivitas ALT dan AST plasma mencit jantan dan betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan menunjukkan bahwa pada keempat kelompok perlakuan (kontrol, dosis I, dosis II, dan dosis III) tidak ada perbedaan aktivitas secara bermakna baik antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok normal. Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian larutan uji tidak mempengaruhi nilai aktivitas ALT dan AST plasma. Kelompok dosis IV tidak diikutsertakan dalam pengujian statistik karena jumlah hewan yang masih hidup pada 14 hari setelah perlakuan sangat sedikit, yaitu 5 ekor untuk kelompok jantan dan 2 ekor untuk kelompok betina. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2,3,4, dan 5.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. KESIMPULAN**

1. Potensi ketoksikan ekstrak etanol daun gandarusa masuk dalam kategori praktis tidak toksik, dengan nilai LD<sub>50</sub> adalah 31,99 g/Kg bb untuk mencit jantan dan 27,85 g/Kg bb untuk mencit betina.
2. Pemberian ekstrak etanol daun gandarusa dengan dosis 4 g/Kg bb -16 g/Kg bb tidak mempengaruhi fungsi hati ditinjau dari aktivitas ALT dan AST plasma pada mencit jantan dan betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

#### **B. SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas ekstrak etanol daun gandarusa dengan jangka waktu yang lebih panjang (toksisitas subkronis) untuk melengkapi data uji praklinik ekstrak tersebut.

## DAFTAR ACUAN

1. Anonim. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2002:1,5,14-17.
2. Heyne, K. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya, 1987: 1750.
3. RPP, M. Iqbal Julian. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Gandarusa (Justicia gendarussa Burm.) Terhadap Tikus Putih Jantan Yang Dibuak Hiperurisemia Dengan Kalium Oksonat*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 2008: 37
4. Febriyanti, Alifia Putri. *Uji Toksisitas Subakut Daun Justicia gendarussa Burm. f. Terhadap Kimia Dara Kelinci*. Surabaya: Departemen Farmasi Universitas Airlangga, 2008:79-82.
5. Ratnasooriya. W. D, *dkk*. Antinociceptive Activity and Toxicological Study of Aqueous Leaf Extract of Justicia gendarussa Burm. F. in Rats. *PHCOG MAG. An Official Publication of Phcog.Net*, 2007:145-149.
6. Setiawati, Arini., F.D. Suyatna, & Sulistia Gan. *Farmakologi dan Terapi edisi 5 (cetak ulang dengan perbaikan, 2008)*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2008: 23-24.
7. Loomis TA. *Toksikologi Dasar Edisi III*. Alih bahasa: Drs. Imono Argo Donatus. Semarang: IKIP Semarang Press, 1978: 225.
8. Harmita & Maksum Radji. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, 2005:78.
9. Lu, Frank C. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko Ed. 2*. Alih bahasa: Edi Nugroho. Jakarta: Universitas Indonesia (UI Press), 1995:85,87,92,93.
10. Sastroamidjojo, A. Seno. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat, 1997: 202-203
11. Anonim. *Vademikum Bahan Obat Alam*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989:69
12. Jones Jr., Samuel B. & Arlene E. Luchsinger. *Plant Systematic Edisi ke-2*. Singapura: McGraw-Hill Book Co., 1987:471-481.

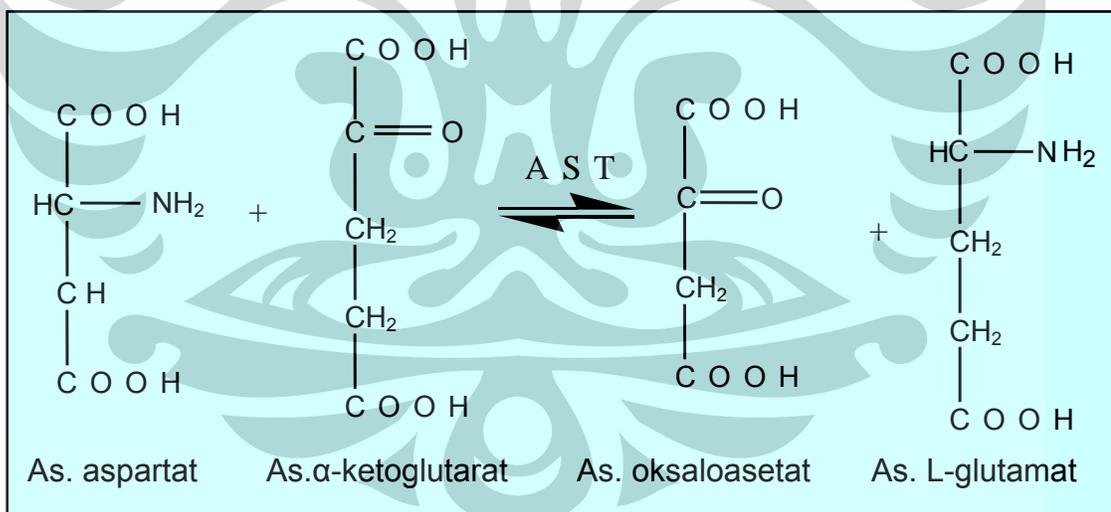
13. Syamsuhidayat, Sri Sugati & Johnny Ria Hutapea. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1991:
14. Anonim. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Hati*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2007: 4-15.
15. Price, Sylvia Anderson & Wilson, Lorraine McCarty. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Ed. 4 Buku I*. Terjemahan dari Pathophysiology. Clinical Concepts Of Disease Processes. Alih bahasa: Peter Anugrah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1994: 426-454.
16. Sacher, Ronald A, Mc Pherson, Richard A. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium Edisi II*. Penerjemah: Brahm U Pendit, Dewi Wulandari. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
17. Sherwood, Lauralee. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem Edisi II*. Terjemahan dari Human Physiology : From Cells To Systems oleh Brahm Pendit. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2001: 565-570.
18. Sadikin, M. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Biomedika, 2002: 292-326.
19. Anderson SC. *Clinical Chemistry: Concept and Applications*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1993: 283, 287, 293, 367-371, 379-381.
20. Richterich, R & Colombo, JP. *Clinical Therapy*. USA: Jhon Wiley & Sons, Ltd, 1981: 515-530.
21. Olfert, Ernest D, Cross, Brenda M, Mc Wilian, Ann A. *Guide to The Care And Use of Experimental Animals. Volume 1*. Canada: Canadian Council on Animal Care, 1993: 261.
22. Calbreath DF. *A Fundamental Text Book Clinical Chemistry*. New York: W. B. Saunders Company, 1992: 191.
23. Hall, W. Dallas. *The History, Physical and Laboratory Examinations, Clinical Methods*. Ed. II. Georgia. Hal. 1070-1072
24. Anonim. *Acuan Sediaan Herbal (1<sup>st</sup> Ed)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2000: 3
25. Anonim. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2000: 14, 16, dan 17.

26. Anonim. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1979: 688, 710, 753
27. Reitman, S & Frankel, S.A. *Colorimetric Method for Determination of Serum Glutamic Oxaloacetate and Glutamic Pyruvic Transaminase*. *Am.J.Clin. Pathology*, (vol 28), 1957: 56-63.
28. Hoff, Janet. *Methods of Blood Collection in the Mouse, Lab Animal Vol. 29 No. 10*. Michigan, 2000: 50-51
29. Anonim. *Diagnostica Merck: Direction for Use Clinical Chemistry*. Jerman: E. Merck Darmstadt, 1976: 46-47.
30. Santoso S. *Panduan Lengkap Menguasai SPSS 16*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo, 2008: 237-247
31. Anonim. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1995: xlviii-xlix
32. WHO. *General Guidelines for Methodologies and Evaluation of Traditional Medicine*. Geneva, 2000: 29-30
33. Wallace, H.A. *Principle and Methods of Toxicology*. New York: Raven Press, 1982: 1-26
34. Lee, Anne. *Adverse Drug Reaction*. London: Pharmaceutical Press, 2006: 193
35. Weil, Carrol S. 1952. *Tables for Convenient Calculation of Median-Effective Dose (LD50 or ED50) and Instructions in Their Use*. <http://www.jstor.org/stable/3001557>, 19 Juni 2009, pukul 15.00 WIB.

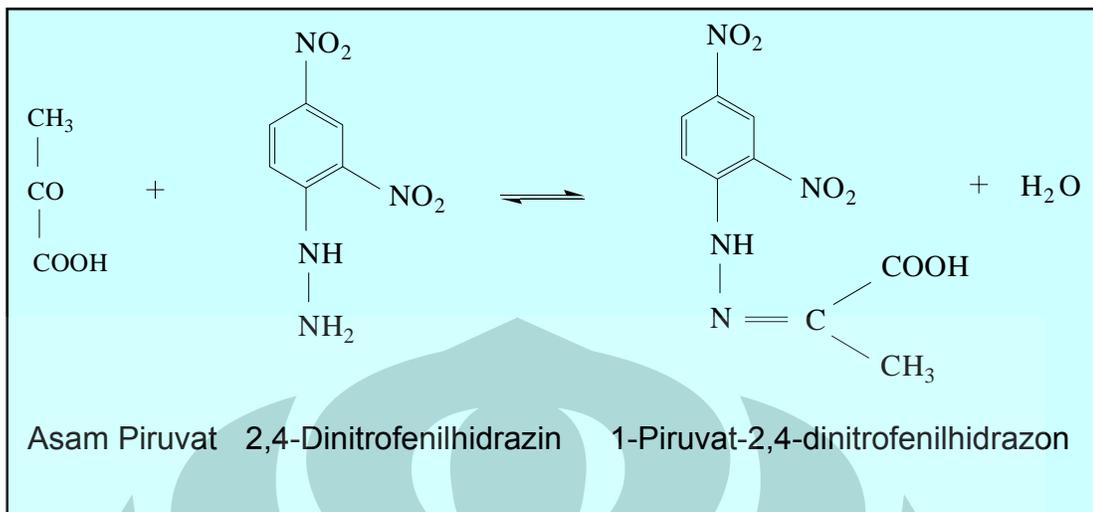




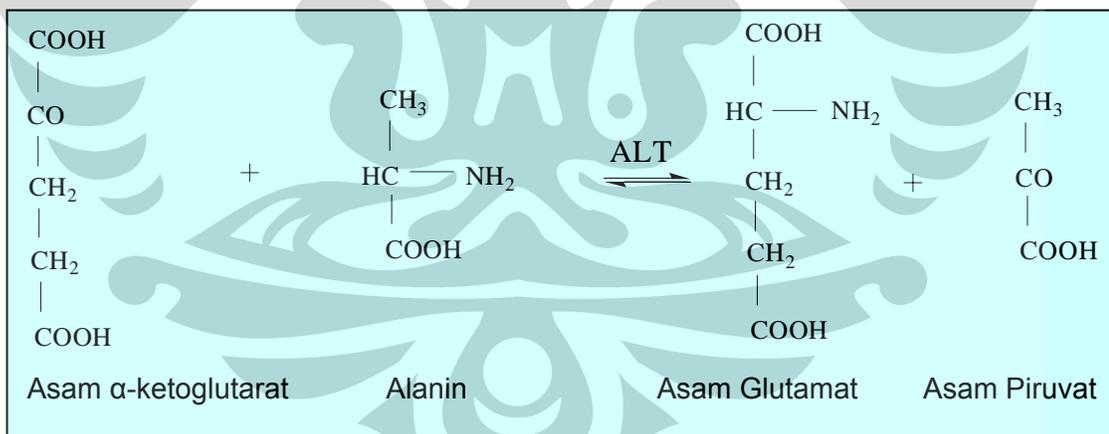
Gambar 1. Tanaman gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.)  
 [Sumber: <http://www.medikaholistik.com>]



Gambar 2. Persamaan reaksi pembentukan oksaloasetat dan glutamat dengan AST sebagai katalisator (22)



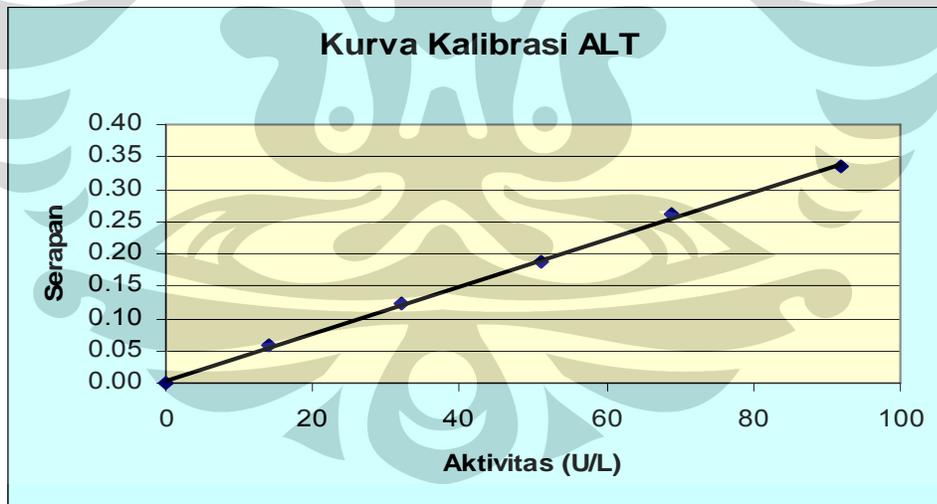
Gambar 3. Persamaan reaksi pembentukan warna pada pengukuran ALT plasma secara kolorimetri (22)



Gambar 4. Persamaan reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat dengan ALT sebagai katalisator (22)

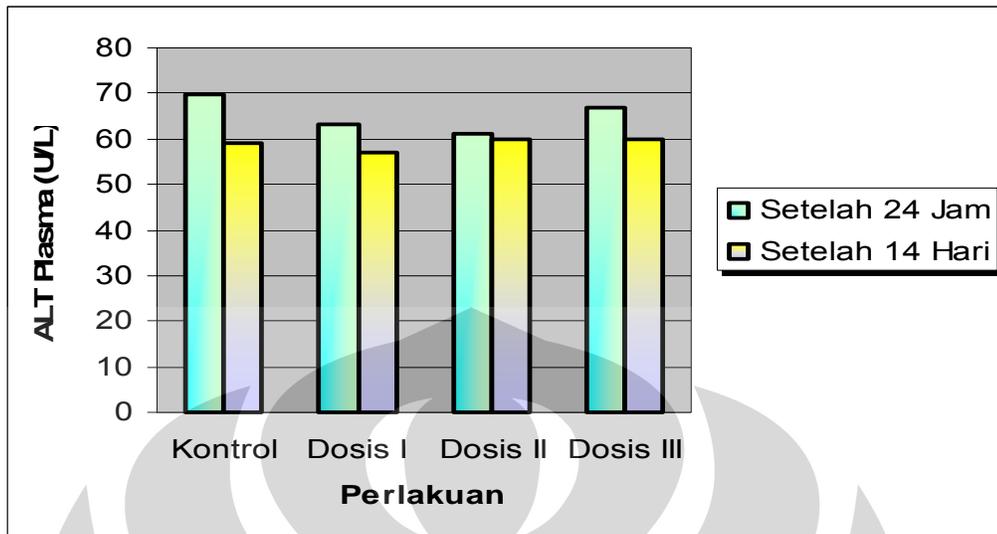


Gambar 5. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata



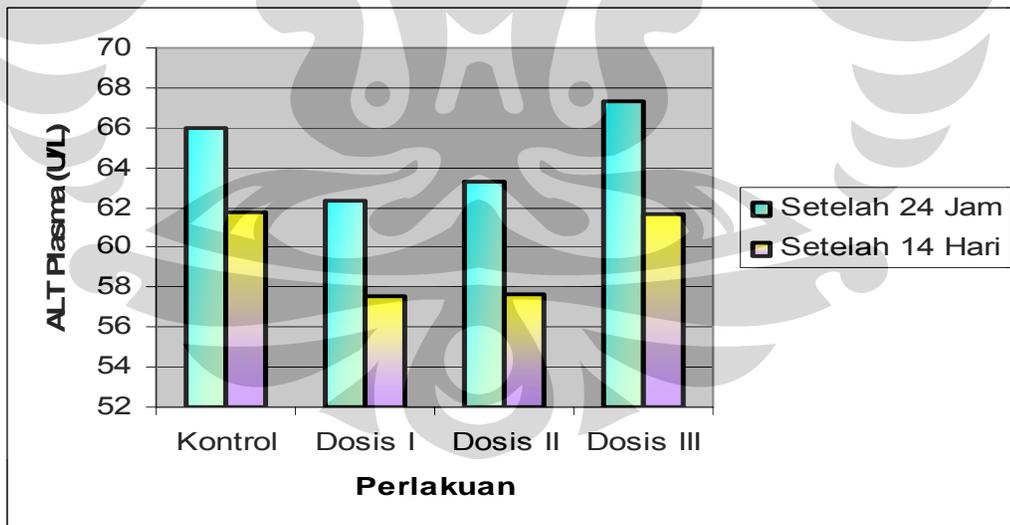
Gambar 6. Kurva kalibrasi aktivitas ALT plasma dengan persamaan garis

$$y = 4,338 \cdot 10^{-3} + 3,6472 \cdot 10^{-3} x$$



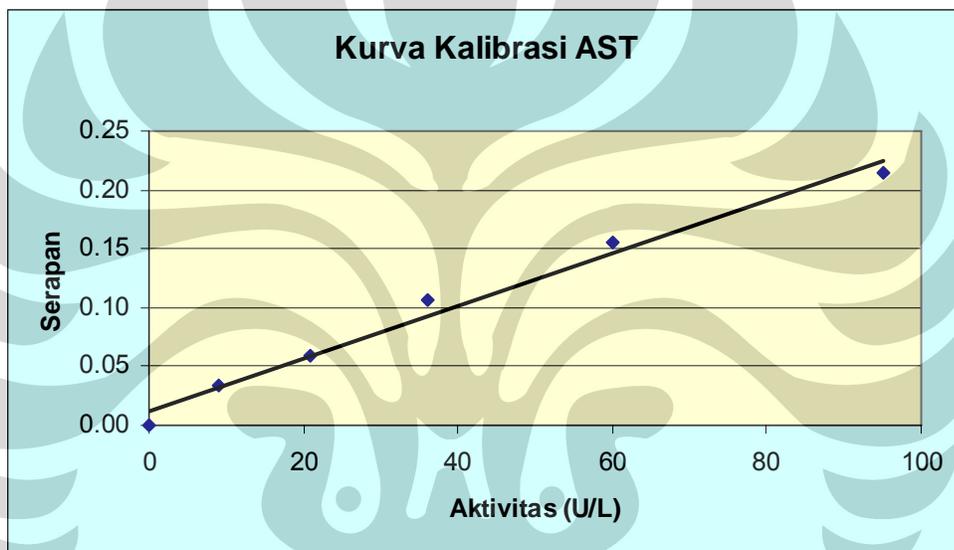
Gambar 7. Diagram Batang Nilai Aktivitas Rata-Rata ALT Plasma Mencit Jantan Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Keterangan: I. Kontrol; II. Dosis I (4 g/kg bb mencit); III. Dosis II (8 g/kg bb mencit); IV. Dosis III (16 g/kg bb mencit)

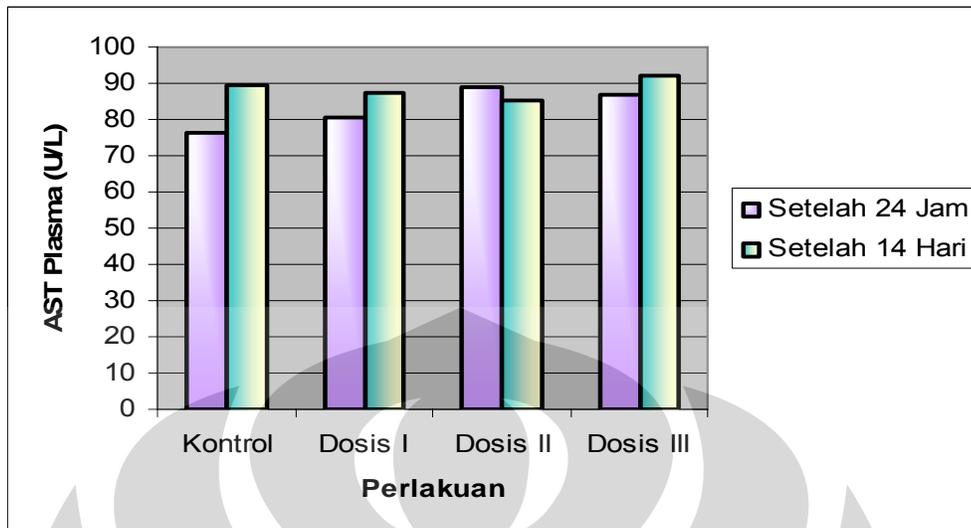


Gambar 8. Diagram Batang Nilai Aktivitas Rata-Rata ALT Plasma Mencit Betina Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Keterangan: I. Kontrol; II. Dosis I (4 g/kg bb mencit); III. Dosis II (8 g/kg bb mencit); IV. Dosis III (16 g/kg bb mencit)

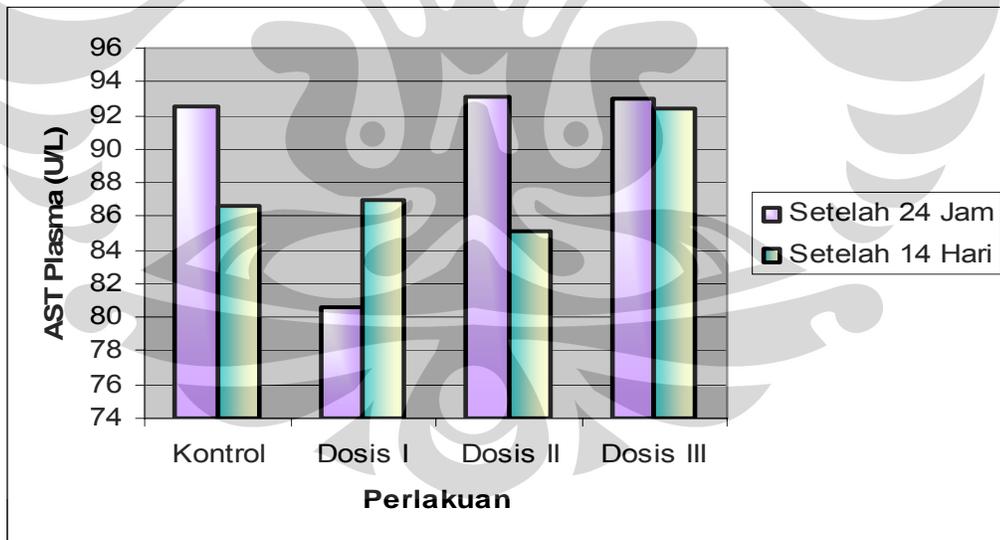


Gambar 9. Kurva kalibrasi aktivitas AST plasma dengan persamaan garis  $y = 1,2115 \cdot 10^{-3} + 0,2237 \cdot 10^{-3} x$



Gambar 10. Diagram Batang Nilai Aktivitas Rata-Rata AST Plasma Mencit Jantan Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Keterangan: I. Kontrol; II. Dosis I (4 g/kg bb mencit); III. Dosis II (8 g/kg bb mencit); IV. Dosis III (16 g/kg bb mencit)



Gambar 11. Diagram Batang Nilai Aktivitas Rata-Rata AST Plasma Mencit Betina Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Keterangan: I. Kontrol; II. Dosis I (4 g/kg bb mencit); III. Dosis II (8 g/kg bb mencit); IV. Dosis III (16 g/kg bb mencit)



Tabel 3

Persentase bobot daun gandarusa kering terhadap daun gandarusa segar

<b>Bobot daun segar (g)</b>	<b>Bobot daun kering (g)</b>	<b>Persentase (%)</b>
625,6	167,0	26,69
817	216	26,43
Rata-rata		26,56

Tabel 4

Rendemen ekstrak daun gandarusa

<b>Bobot simplisia (g)</b>	<b>Bobot ekstrak (g)</b>	<b>Rendemen ekstrak (%)</b>
600	156	26

Tabel 5

Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat berbagai konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi ALT

<b>Tabung</b>	<b>Larutan standar piruvat (mL)</b>	<b>Larutan dapar substrat (mL)</b>	<b>Nilai aktivitas (U/l)</b>	<b>Serapan (A)</b>
1	0,00	1,00	0	0,000
2	0,10	0,90	14	0,059
3	0,20	0,80	32	0,123
4	0,30	0,70	51	0,187
5	0,40	0,60	69	0,262
6	0,50	0,50	92	0,336

Tabel 6

Perbandingan larutan standar piruvat dan larutan dapar substrat berbagai konsentrasi untuk pembuatan kurva kalibrasi AST

Tabung	Larutan standar piruvat (mL)	Larutan dapar substrat (mL)	Nilai aktivitas (U/l)	Serapan (A)
1	0,00	1,00	0	0,000
2	0,05	0,95	9	0,033
3	0,10	0,90	21	0,059
4	0,15	0,85	36	0,106
5	0,20	0,80	60	0,155
6	0,25	0,75	95	0,214

Tabel 7

Tahapan pengukuran aktivitas aminotransferase

	Uji	Blanko
<b>Larutan dapar substrat</b> (inkubasi pada suhu 37°C; 10 menit)	0,5 ml	0,5 ml
<b>Plasma</b> (kocok, inkubasi pada suhu 37°C; 30 menit untuk ALT dan 60 menit untuk AST)	0,1 ml	-
<b>Reagen warna Plasma</b> (kocok, diamkan pada suhu kamar; 20 menit)	0,5 ml	0,5 ml
<b>NaOH 0,4 N</b> (kocok, diamkan pada suhu kamar; 30 menit)	-	0,1 ml
	5,0 ml	5,0 ml

Tabel 8

Data susut pengeringan ekstrak etanol daun gandarusa

<b>Bobot ekstrak (g)</b>	<b>Bobot sisa pengeringan (g)</b>	<b>Susut pengeringan (%)</b>
1,0120	0,7884	22,09
1,0038	0,7852	21,78
Rata-rata		21,94

Tabel 9

Data kadar air ekstrak etanol daun gandarusa

<b>Bobot ekstrak (g)</b>	<b>Bobot sisa pengeringan (g)</b>	<b>Kadar air (%)</b>
10,1513	8,819	13,12
10,0481	8,523	15,32
Rata-rata		14,22

Tabel 10

Data kadar abu ekstrak etanol daun gandarusa

<b>Bobot ekstrak (g)</b>	<b>Bobot abu (g)</b>	<b>Kadar abu (%)</b>
2,3667	0,2353	9,94
2,0319	0,1736	8,54
Rata-rata		9,24

Tabel 13

Aktivitas ALT plasma mencit jantan setelah 24 jam dan setelah 14 hari  
perlakuan

	Kelompok				
	I	II	III	IV	V
Aktivitas ALT Setelah 24 Jam Dari Perlakuan (U/L)	71,195	66,260	58,857	64,614	65,985
	71,743	62,421	64,614	84,356	67,905
	77,775	66,671	61,324	59,405	72,840
	67,905	57,486	60,502	64,614	52,550
	56,115	67,356	67,905	74,485	88,102
	78,872	52,550	51,454	64,614	*
	70,372	78,872	62,969	55,566	*
	64,614	66,260	64,614	68,727	*
	68,453	70,784	58,857	64,614	*
	*	*	*	*	*
rata-rata ± SD	69,672 ± 6,813	63,030± 5,965	61,233 ± 4,715	66.777± 8.448	60,666 ± 11,946
Aktivitas ALT Setelah 14 Hari Dari Perlakuan (U/L)	54,196	64,066	59,679	63,518	69,550
	64,614	55,704	53,647	58,034	51,454
	67,905	62,421	62421	77,775	66,260
	51,454	51,454	59,131	45,422	50,357
	58,857	56,389	53,921	58,445	76,586
	70,098	50,357	54,744	58,857	*
	50,220	48,712	63,518	54,470	*
	59,131	65,163	68,727	69,550	*
55,841	59,679	63,521	54,744	*	
*	*	*	*	*	
rata-rata ± SD	59,146 ± 7,079	57,105 ± 6,110	59,923 ± 5,154	60,091 ± 9,339	55,182 ± 12,763

Keterangan : I. Kontrol (akuades); II. Dosis I (4 g/Kg BB mencit); III. Dosis II (8 g/Kg BB mencit); IV. Dosis III (16 g/Kg BB mencit); \*. Mati.

Tabel 15

Aktivitas ALT plasma mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari  
perlakuan

	Kelompok				
	I	II	III	IV	V
Aktivitas ALT Setelah 24 Jam Dari Perlakuan (U/L)	71,743	62,969	64,614	64,614	59,953
	59,679	52,550	61,324	84,356	56,937
	71,195	56,389	60,502	59,405	75,582
	61,324	56,389	67,905	64,614	*
	60,228	66,260	51,454	74,485	*
	58,582	62,969	62,969	64,614	*
	65,985	62,969	64,614	55,566	*
	71,195	77,775	58,857	68,727	*
	62,969	62,969	72,840	69,550	*
	77,227	*	67,905	*	*
rata-rata ± SD	66,013± 6,432	62,360± 7,262	63,298 ± 5,857	67,326 ± 8,450	64,157 ± 10,008
Aktivitas ALT Setelah 14 Hari Dari Perlakuan (U/L)	65,026	58,034	57,623	62,147	56,389
	54,744	55,566	50,905	70,098	*
	61,324	45,970	49,260	53,647	58,034
	58,857	52,002	64,614	59,679	*
	53,099	60,228	42,680	67,082	*
	56,389	58,034	60,502	56,389	*
	64,614	77,775	53,647	51,454	*
	70,372	60,776	62,969	69,550	*
	60,502	49,260	75,033	64,614	*
	72,292	*	58,857	*	*
rata-rata ± SD	61,722 ± 6,387	57,516 ± 9,115	57,609 ± 9,095	61,629 ± 6,818	57,212± 1.163

Keterangan : I. Kontrol (akuades); II. Dosis I (4 g/Kg BB mencit); III. Dosis II (8 g/Kg BB mencit); IV. Dosis III (16 g/Kg BB mencit); \*. Mati.

Tabel 17

Aktivitas AST plasma mencit jantan setelah 24 jam dan setelah 14 hari  
perlakuan

	Kelompok				
	I	II	III	IV	V
Aktivitas AST Setelah 24 Jam Dari Perlakuan (U/L)	65,030	86,795	107,416	75,340	94,433
	84,504	75,340	104,743	55,865	121,162
	70376	83,359	91,760	103,215	118,108
	53,382	89,850	69,420	108,561	77,631
	114,671	82,977	81,450	115,816	112,380
	55,102	110,470	82,595	70,758	*
	100,924	46,319	104,743	99,779	*
	81,831	73,049	94,433	78,777	*
	61,593	74,958	64,266	72,285	*
	*	*	*	*	*
rata-rata ± SD	76,379 ± 21,004	80,346 ± 17,031	88,981 ± 15,673	86,711 ± 20,536	127,755 ± 25,270
Aktivitas AST Setelah 14 Hari Dari Perlakuan (U/L)	84,504	111,616	111,616	113,907	71,139
	87,559	73,049	92,523	123,453	97,487
	86,414	72,667	73,049	99,397	123,453
	100,542	79,158	79,158	95,96	93,287
	94,051	49,756	72,667	70,376	81,831
	95,578	111,616	108,561	78,013	*
	104,361	73,049	79,158	92,141	*
	71,521	72,667	99,397	85,268	*
78,777	79,158	49,756	70,376	*	
rata-rata ± SD	89,256± 10,466	87,432± 17,806	85,098± 19,788	92,099± 18,424	109,405 ± 26,296

Keterangan : I. Kontrol (akuades); II. Dosis I (4 g/Kg BB mencit); III. Dosis II (8 g/Kg BB mencit); IV. Dosis III (16 g/Kg BB mencit); \*. Mati.

Tabel 19

Aktivitas AST plasma mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari  
perlakuan

	Kelompok				
	I	II	III	IV	V
Aktivitas AST Setelah 24 Jam Dari Perlakuan (U/L)	71,903	44,792	81,068	55,865	87,076
	74,958	74,194	108,561	62,739	113,45
	114,289	90,232	70,376	87,559	94,228
	68,848	106,652	105,506	118,871	*
	118,108	66,060	150,183	69,305	*
	118,871	90,996	90,232	125,363	*
	105,506	121,162	99,779	99,779	*
	57,744	63,380	65,640	108,179	*
	71,139	68,085	70,758	109,4	*
	123,453	*	89,468	*	*
rata-rata ± SD	92,482± 25,623	80,617± 23,750	93,157± 25,015	93,007± 25,367	98,251± 13,639
Aktivitas AST Setelah 14 Hari Dari Perlakuan (U/L)	61,593	73,431	81,450	61,975	67,854
	75,34	103,215	80,304	58,920	*
	121,162	102,07	108,561	128,799	60,701
	94,051	77,631	113,907	97,487	*
	72,285	106,27	122,690	83,741	*
	102,833	78,777	78,777	112,762	*
	121,162	126,508	109,325	82,977	*
	49,756	59,302	43,646	105,124	*
	53,192	55,483	63,58	99,397	*
	114,289	*	48,61	*	*
rata-rata ± SD	86,566± 27,699	86,965± 23,776	85,085± 27,828	92,353± 22,876	64,277± 5,058

Keterangan : I. Kontrol (akuades); II. Dosis I (4 g/Kg BB mencit); III. Dosis II (8 g/Kg BB mencit); IV. Dosis III (16 g/Kg BB mencit); \*. Mati.



## Lampiran 1

### Perhitungan nilai LD<sub>50</sub> menggunakan metode Weil

Dengan menggunakan Metode Weil, nilai LD<sub>50</sub> dapat ditentukan berdasarkan rumus (6):

$$\text{Log } m = \log D + d (f+1)$$

Dimana :

m : Nilai LD<sub>50</sub>

D : Dosis terkecil yang digunakan

d : Log dari kelipatan dosis (Log R)

f : Suatu faktor dalam tabel Weil

Hasil pengamatan:

Kelompok	Dosis (g/kg bb)	Log Dosis	Kematian	
			Jantan	Betina
Dosis I	8	0,903	0	0
Dosis II	16	1,204	0	0
Dosis III	32	1,505	5	7
Dosis IV	64	1,806	10	10

Berdasarkan tabel Weil, diperoleh nilai f pada kelompok jantan adalah 1,00

(34). Sehingga dapat dimasukkan dalam perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Log LD}_{50} = \log 8 + \log 2 (1 + 1)$$

$$\text{Log LD}_{50} = 0,903 + 0,301 (2)$$

$$\text{Log LD}_{50} = 1,505$$

$$\text{LD}_{50} = 31,99 \text{ g/kg bb}$$

Sedangkan perhitungan nilai LD<sub>50</sub> untuk kelompok betina dengan nilai f sebesar 0,8 adalah (34):

$$\text{Log LD}_{50} = \log 8 + \log 2 (0,8 + 1)$$

$$\text{Log LD}_{50} = 0,903 + 0,301 (1,8)$$

$$\text{Log LD}_{50} = 1,4448$$

$$\text{LD}_{50} = 27,85 \text{ g/kg bb}$$

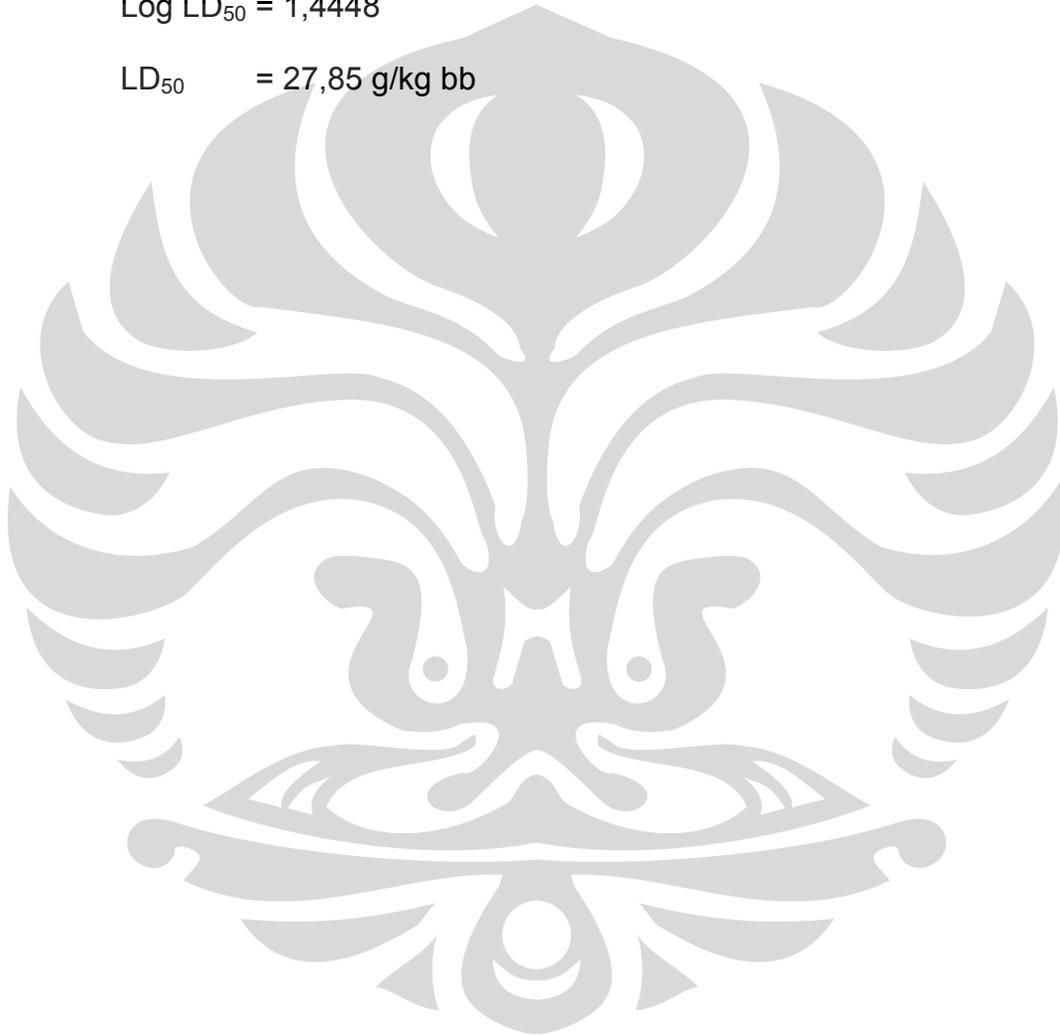


TABLE II.  
TABLE FOR CALCULATION OF MEDIAN-EFFECTIVE DOSE BY MOVING AVERAGE  
INTERPOLATION FOR  $n = 10$  AND  $K = 3$

$r$ -values	$f$	$\sigma_f$	$r$ -values	$f$	$\sigma_f$	$r$ -values	$f$	$\sigma_f$
0,0,5,10	1.0	0.16667	1,1,5,10	0.88889	0.21631	2,2,7,10	0.50000	0.26021
0,0,6,10	0.9	0.16330	1,1,6,10	0.77778	0.21419	2,2,8,10	0.37500	0.24694
0,0,7,10	0.8	0.15275	1,1,7,10	0.66667	0.20621	2,2,9,10	0.25000	0.24296
0,0,8,10	0.7	0.13333	1,1,8,10	0.55556	0.19166	2,2,10,10	0.12500	0.22140
0,0,9,10	0.6	0.10000	1,1,9,10	0.44444	0.16882	2,3,3,10	0.87500	0.27043
0,0,10,10	0.5	0.00000	1,1,10,10	0.33333	0.13354	2,3,4,10	0.75000	0.28106
0,1,4,10	1.0	0.19149	1,2,3,10	1.00000	0.22529	2,3,5,10	0.62500	0.28603
0,1,5,10	0.9	0.19436	1,2,4,10	0.88889	0.23457	2,3,6,10	0.50000	0.28565
0,1,6,10	0.8	0.19149	1,2,5,10	0.77778	0.23843	2,3,7,10	0.37500	0.27990
0,1,7,10	0.7	0.18257	1,2,6,10	0.66667	0.23715	2,3,8,10	0.25000	0.28260
0,1,8,10	0.6	0.16667	1,2,7,10	0.55556	0.23064	2,3,9,10	0.12500	0.27081
0,1,9,10	0.5	0.14142	1,2,8,10	0.44444	0.21842	2,3,10,10	0.00000	0.25345
0,1,10,10	0.4	0.10000	1,2,9,10	0.33333	0.19945	2,4,4,10	0.62500	0.29204
0,2,3,10	1.0	0.20276	1,2,10,10	0.22222	0.17151	2,4,5,10	0.50000	0.29756
0,2,4,10	0.9	0.21082	1,3,3,10	0.88889	0.24034	2,4,6,10	0.37500	0.29789
0,2,5,10	0.8	0.21344	1,3,4,10	0.77778	0.24968	2,4,7,10	0.25000	0.30619
0,2,6,10	0.7	0.21082	1,3,5,10	0.66667	0.25391	2,4,8,10	0.12500	0.30117
0,2,7,10	0.6	0.20276	1,3,6,10	0.55556	0.25331	2,4,9,10	0.00000	0.29166
0,2,8,10	0.5	0.18856	1,3,7,10	0.44444	0.24784	2,5,5,10	0.37500	0.30369
0,2,9,10	0.4	0.16667	1,3,8,10	0.33333	0.23715	2,5,6,10	0.25000	0.31732
0,2,10,10	0.3	0.13333	1,3,9,10	0.22222	0.22050	2,5,7,10	0.12500	0.31799
0,3,3,10	0.9	0.21602	1,3,10,10	0.11111	0.19637	2,5,8,10	0.00000	0.31458
0,3,4,10	0.8	0.22361	1,4,4,10	0.66667	0.25926	2,6,6,10	0.12500	0.32340
0,3,5,10	0.7	0.22608	1,4,5,10	0.55556	0.26392	2,6,7,10	0.00000	0.32543
0,3,6,10	0.6	0.22361	1,4,6,10	0.44444	0.26392	3,0,5,10	1.00000	0.23809
0,3,7,10	0.5	0.21602	1,4,7,10	0.33333	0.25926	3,0,6,10	0.85714	0.23536
0,3,8,10	0.4	0.20276	1,4,8,10	0.22222	0.24968	3,0,7,10	0.71429	0.22695
0,3,9,10	0.3	0.18257	1,4,9,10	0.11111	0.23457	3,0,8,10	0.57143	0.21695
0,3,10,10	0.2	0.15275	1,4,10,10	0.00000	0.21276	3,0,9,10	0.42857	0.18962
0,4,4,10	0.7	0.23094	1,5,5,10	0.44444	0.26907	3,0,10,10	0.28571	0.15587
0,4,5,10	0.6	0.23336	1,5,6,10	0.33333	0.26963	3,1,4,10	1.00000	0.27355
0,4,6,10	0.5	0.23094	1,5,7,10	0.22222	0.26565	3,1,5,10	0.85714	0.27941
0,4,7,10	0.4	0.22361	1,5,8,10	0.11111	0.25690	3,1,6,10	0.71429	0.28057
0,4,8,10	0.3	0.21082	1,5,9,10	0.00000	0.24287	3,1,7,10	0.57143	0.28074
0,4,9,10	0.2	0.19149	1,6,6,10	0.22222	0.27076	3,1,8,10	0.42857	0.26877
0,4,10,10	0.1	0.16330	1,6,7,10	0.11111	0.26736	3,1,9,10	0.28571	0.25517
0,5,5,10	0.5	0.23570	1,6,8,10	0.00000	0.25926	3,1,10,10	0.14286	0.23536
0,5,6,10	0.4	0.23336	1,7,7,10	0.00000	0.26450	3,2,3,10	1.00000	0.28965
0,5,7,10	0.3	0.22608	2,0,5,10	1.00000	0.20833	3,2,4,10	0.85714	0.30278
0,5,8,10	0.2	0.21344	2,0,6,10	0.87500	0.20465	3,2,5,10	0.71429	0.31122
0,5,9,10	0.1	0.19436	2,0,7,10	0.75000	0.19320	3,2,6,10	0.57143	0.31857
0,5,10,10	0.0	0.16667	2,0,8,10	0.62500	0.17237	3,2,7,10	0.42857	0.31536
0,6,6,10	0.3	0.23094	2,0,9,10	0.50000	0.10534	3,2,8,10	0.28571	0.31122
0,6,7,10	0.2	0.22361	2,0,10,10	0.37500	0.07365	3,2,9,10	0.14286	0.30278
0,6,8,10	0.1	0.21082	2,1,4,10	1.00000	0.23936	3,2,10,10	0.00000	0.28965
0,6,9,10	0.0	0.19149	2,1,5,10	0.87500	0.22902	3,3,3,10	0.85714	0.31018
0,7,7,10	0.1	0.21602	2,1,6,10	0.75000	0.24116	3,3,4,10	0.71429	0.32546
0,7,8,10	0.0	0.20276	2,1,7,10	0.62500	0.23246	3,3,5,10	0.57143	0.33926
1,0,5,10	1.0	0.18518	2,1,8,10	0.50000	0.21651	3,3,6,10	0.42857	0.34291
1,0,6,10	0.88889	0.18186	2,1,9,10	0.37500	0.19151	3,3,7,10	0.28571	0.34574
1,0,7,10	0.77778	0.17151	2,1,10,10	0.25000	0.17678	3,3,8,10	0.14286	0.34480
1,0,8,10	0.66667	0.15270	2,2,3,10	1.00000	0.25345	3,3,9,10	0.00000	0.34007
1,0,9,10	0.55556	0.12159	2,2,4,10	0.87500	0.26393	3,4,4,10	0.57143	0.34588
1,0,10,10	0.44444	0.06172	2,2,5,10	0.75000	0.26842	3,4,5,10	0.42857	0.35589
1,1,4,10	1.00000	0.21276	2,2,6,10	0.62500	0.26717	3,4,6,10	0.28571	0.36488

## Lampiran 2

### Analisis Variansi (ANAVA 1-Arah) Terhadap Aktivitas ALT Plasma

#### Mencit Jantan Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Hipotesa:

Ho = Tidak ada perbedaan aktivitas ALT Plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Ha = Ada perbedaan aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika signifikansi < 0,05 maka Ho ditolak

Jika signifikansi > 0,05 maka Ho diterima

Hasil Perhitungan :

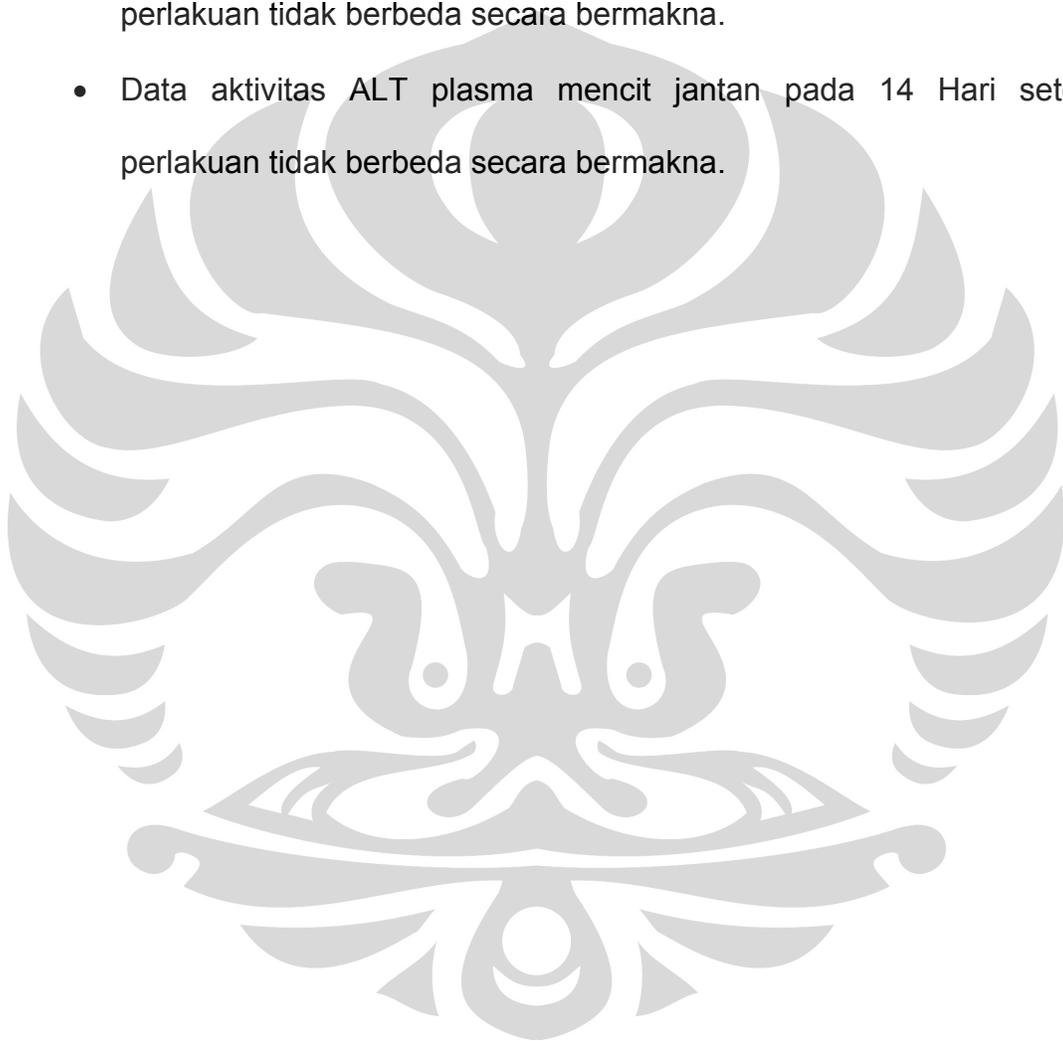
ANOVA					
		Sum of Squares	df	Mean Square	F Sig.
ALT_24jantan	Between Groups	332.586	3	110.862	2.254 .101
	Within Groups	1574.250	32	49.195	
	Total	1906.836	35		
ALT_14Jantan	Between Groups	50.729	3	16.910	.336 .799
	Within Groups	1609.885	32	50.309	
	Total	1660.614	35		

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0.101 ; maka  $H_0$  diterima

Nilai signifikansi pada 14 jam setelah perlakuan = 0.799 ; maka  $H_0$  diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 14 Hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.



### Lampiran 3

#### Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-Arah) Terhadap Aktivitas ALT Plasma Mencit Betina Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas ALT plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Hipotesa:

Ho = Tidak ada perbedaan aktivitas ALT Plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Ha = Ada perbedaan aktivitas ALT plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika signifikansi < 0,05 maka Ho ditolak

Jika signifikansi > 0,05 maka Ho diterima

Hasil Perhitungan :

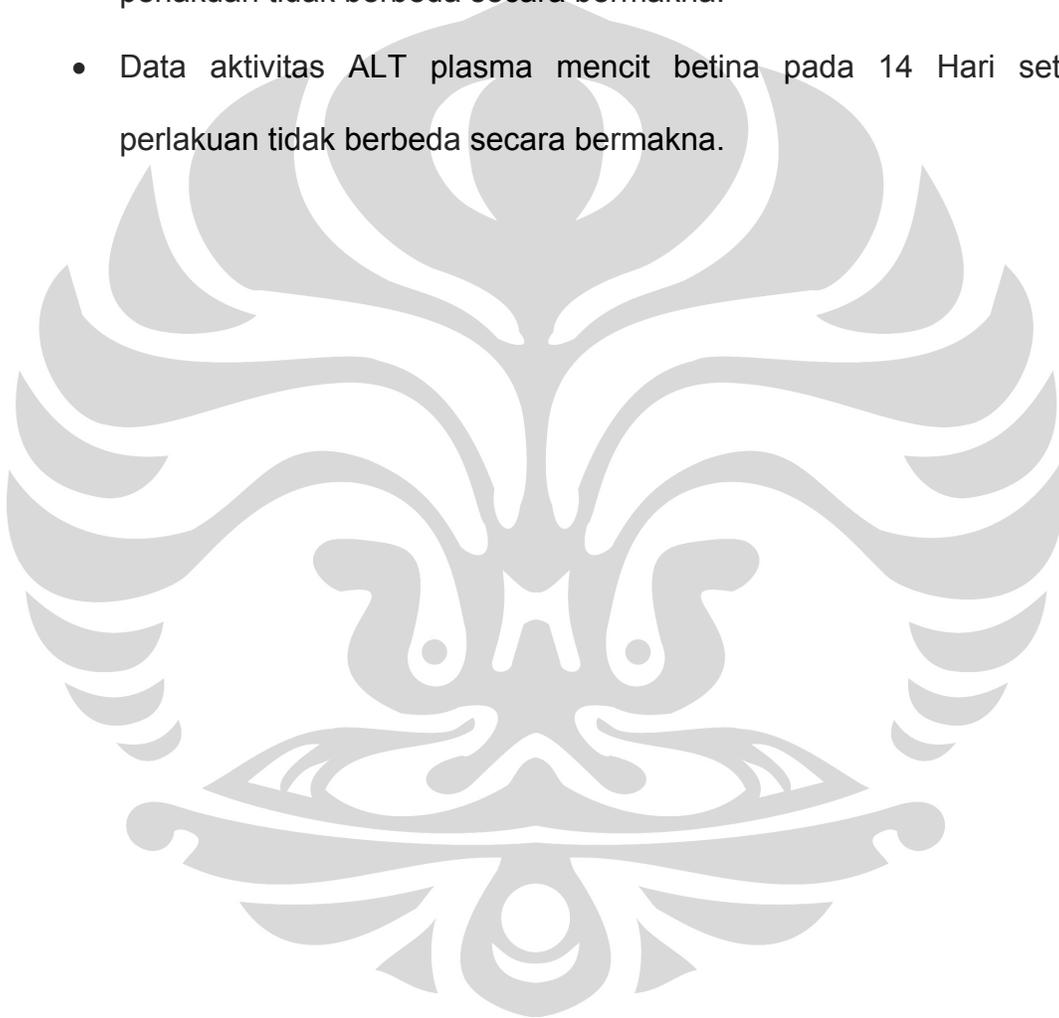
ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ALT_24Betina Between Groups	148.134	3	49.378	1.003	.403
Within Groups	1674.283	34	49.244		
Total	1822.417	37			
ALT_14Betina Between Groups	160.779	3	53.593	.848	.477
Within Groups	2148.224	34	63.183		
Total	2309.003	37			

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0.403 ; maka  $H_0$  diterima

Nilai signifikansi pada 14 jam setelah perlakuan = 0.477 ; maka  $H_0$  diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas ALT plasma mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data aktivitas ALT plasma mencit betina pada 14 Hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.



## Lampiran 4

### Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-Arah) Terhadap Aktivitas AST Plasma

#### Mencit Jantan Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Hipotesa:

Ho = Tidak ada perbedaan aktivitas AST Plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Ha = Ada perbedaan aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika signifikansi < 0,05 maka Ho ditolak

Jika signifikansi > 0,05 maka Ho diterima

Hasil Perhitungan :

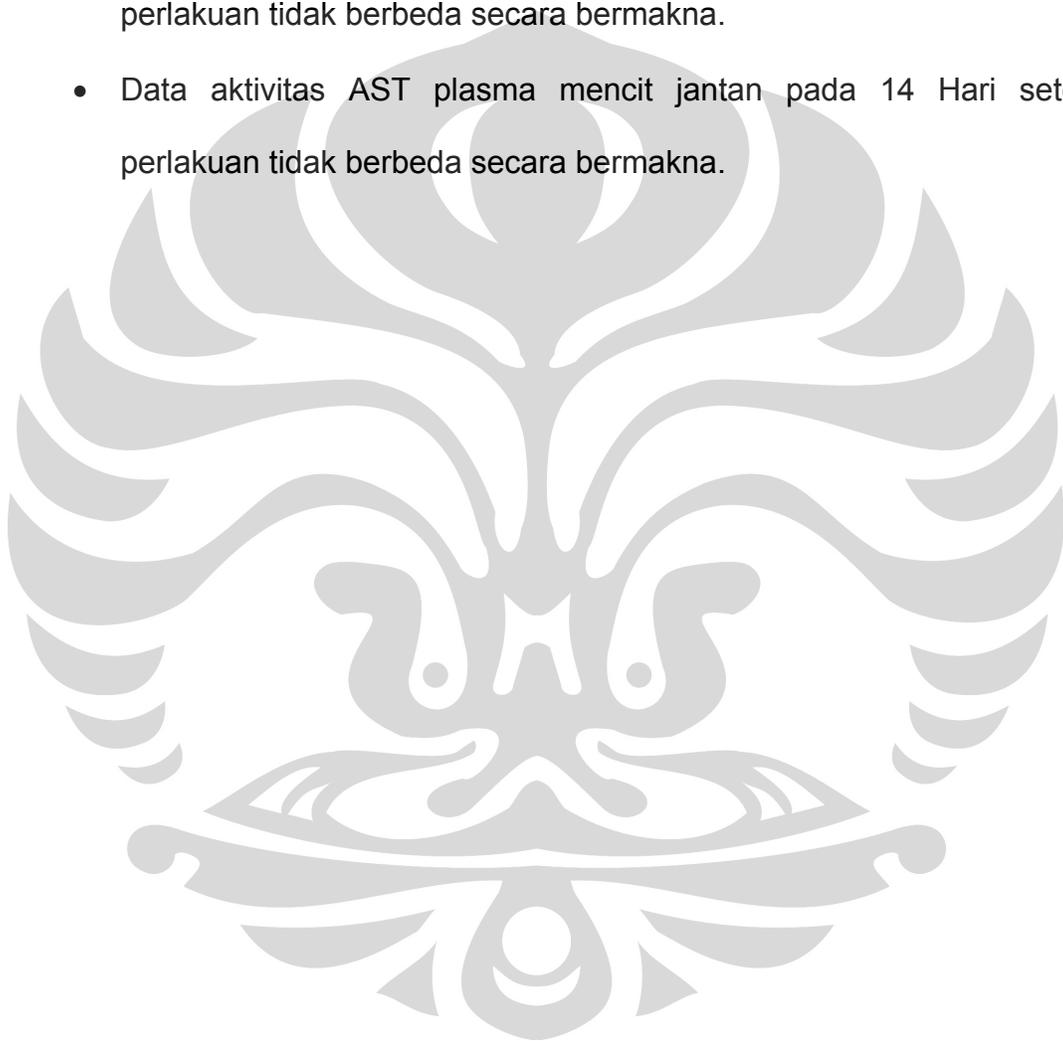
<b>ANOVA</b>					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
AST_24Jantan					
Between Groups	903.333	3	301.111	.861	.471
Within Groups	11189.250	32	349.664		
Total	12092.583	35			
AST_14Jantan					
Between Groups	236.104	3	78.701	.272	.845
Within Groups	9261.291	32	289.415		
Total	9497.395	35			

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0.471 ; maka  $H_0$  diterima

Nilai signifikansi pada 14 jam setelah perlakuan = 0.845 ; maka  $H_0$  diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data aktivitas AST plasma mencit jantan pada 14 Hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.



## Lampiran 5

### Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-Arah) Terhadap Aktivitas AST Plasma

#### Mencit Betina Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas AST plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Hipotesa:

Ho = Tidak ada perbedaan aktivitas AST Plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Ha = Ada perbedaan aktivitas AST plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan.

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria Pengujian : Jika signifikansi < 0,05 maka Ho ditolak

Jika signifikansi > 0,05 maka Ho diterima

Hasil Perhitungan :

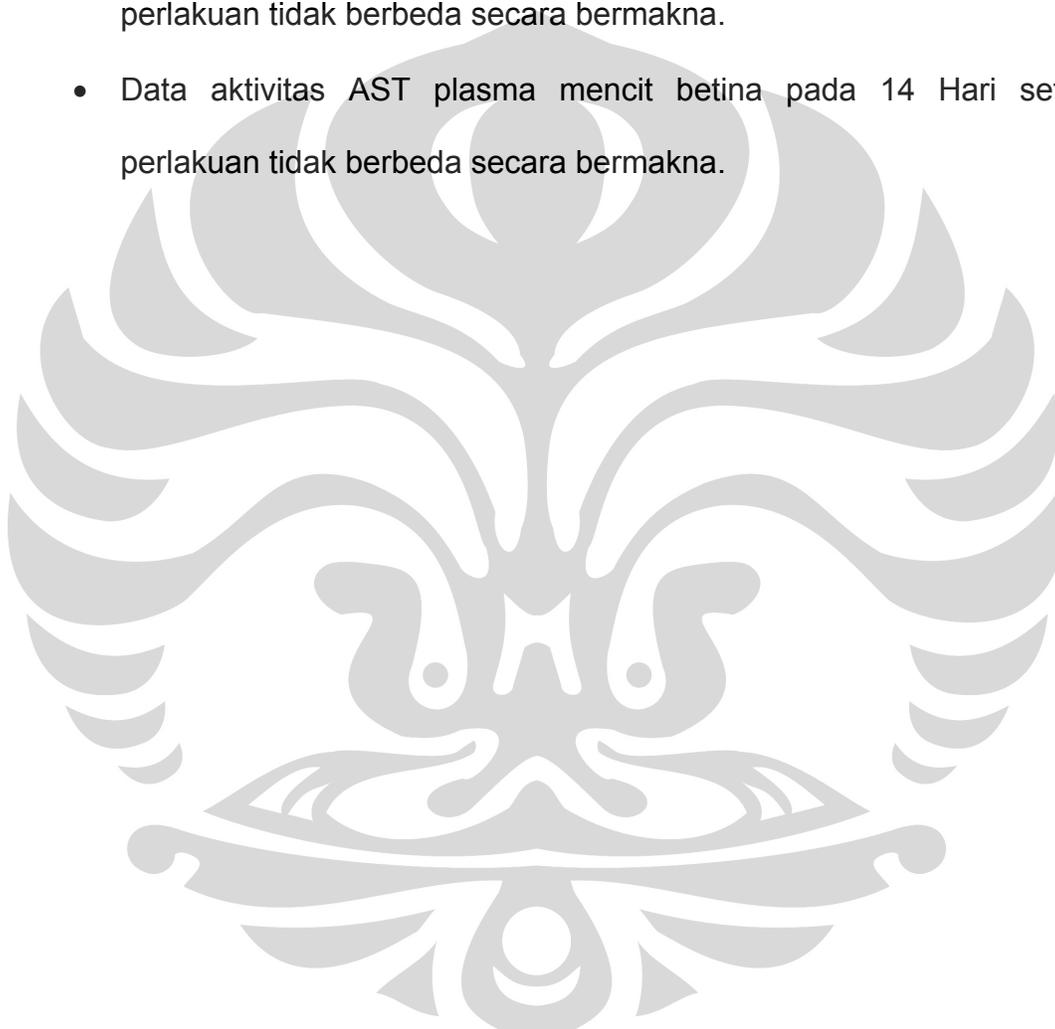
ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
AST_24Betina Between Groups	1034.972	3	344.991	.553	.649
Within Groups	21201.057	34	623.561		
Total	22236.029	37			
AST_14Betina Between Groups	280.865	3	93.622	.141	.935
Within Groups	22583.706	34	664.227		
Total	22864.571	37			

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0.649 ; maka  $H_0$  diterima

Nilai signifikansi pada 14 jam setelah perlakuan = 0.935 ; maka  $H_0$  diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas AST plasma mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- Data aktivitas AST plasma mencit betina pada 14 Hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.



## Lampiran 6

### Cara Perhitungan Regresi Linier Untuk Mendapatkan Persamaan Garis

$$y = a + bx$$

a dan b adalah garis normal yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

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

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

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

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

## Lampiran 7

### Penentuan Aktivitas Aminotransferase Plasma

Untuk ALT Plasma, persamaan garis yang diperoleh dari kurva kalibrasi adalah:

$$y = 4,338.10^{-3} + 3,6472.10^{-3} x$$

dimana y merupakan nilai serapan yang diperoleh dan x merupakan aktivitas ALT plasma.

Contoh perhitungan:

$$\text{Serapan yang diperoleh (y)} = 0,206$$

$$\begin{aligned} \text{Maka aktivitas ALT plasma (x)} &= \frac{\{0,206 - 4,338.10^{-3}\}}{3,6472.10^{-3}} \\ &= 55,29 \text{ U/L} \end{aligned}$$

## Lampiran 8

### Uji Normalitas Varian Terhadap Aktivitas ALT Plasma Mencit Jantan Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui normalitas varian

Hipotesis : Ho = data terdistribusi normal  
Ha = Data tidak terdistribusi normal

Uji Statistik : Uji Kolmogorov-Smirnov

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi < 0,05, maka Ho ditolak

Hasil perhitungan :

Tests of Normality							
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
ALT_24jantan	Kontrol	.175	9	.200*	.940	9	.583
	Dosis I	.212	9	.200*	.955	9	.746
	Dosis II	.196	9	.200*	.939	9	.577
	Dosis III	.268	9	.062	.899	9	.245
ALT_14Jantan	Kontrol	.168	9	.200*	.940	9	.583
	Dosis I	.156	9	.200*	.932	9	.498
	Dosis II	.176	9	.200*	.928	9	.460
	Dosis III	.219	9	.200*	.950	9	.695

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan :

- a. Kontrol = 0,200; signifikansi > 0,05, maka  $H_0$  diterima
- b. Dosis I = 0,200; signifikansi > 0,05, maka  $H_0$  diterima
- c. Dosis II = 0,200; signifikansi > 0,05, maka  $H_0$  diterima
- d. Dosis III = 0,062; signifikansi > 0,05, maka  $H_0$  diterima

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan :

- a. Kontrol = 0,200; signifikansi > 0,05, maka  $H_0$  diterima
- b. Dosis I = 0,200; signifikansi > 0,05, maka  $H_0$  diterima
- c. Dosis II = 0,200; signifikansi > 0,05, maka  $H_0$  diterima
- d. Dosis III = 0,200; signifikansi > 0,05, maka  $H_0$  diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan terdistribusi normal.
- Data aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 14 Hari setelah perlakuan terdistribusi normal.

## Lampiran 9

### Uji Normalitas Varian Terhadap Aktivitas ALT Plasma Mencit Betina

Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui normalitas varian

Hipotesis : Ho = data terdistribusi normal  
Ha = Data tidak terdistribusi normal

Uji Statistik : Uji Kolmogorov-Smirnov

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Pengambilan kesimpulan :

Jika nilai signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi < 0,05, maka Ho diterima

Tests of Normality							
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
ALT_24Betina	Kontrol	.190	10	.200*	.904	10	.244
	Dosis I	.244	9	.129	.888	9	.190
	Dosis II	.124	10	.200*	.970	10	.887
	Dosis III	.181	9	.200*	.943	9	.611
ALT_14Betina	Kontrol	.125	10	.200*	.957	10	.749
	Dosis I	.249	9	.113	.890	9	.200
	Dosis II	.121	10	.200*	.986	10	.988
	Dosis III	.121	9	.200*	.942	9	.607

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan :

- e. Kontrol = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- f. Dosis I = 0,129; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- g. Dosis II = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- h. Dosis III = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan :

- e. Kontrol = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- f. Dosis I = 0,113; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- g. Dosis II = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- h. Dosis III = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas ALT plasma mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan terdistribusi normal.
- Data aktivitas ALT plasma mencit betina pada 14 Hari setelah perlakuan terdistribusi normal.

## Lampiran 10

### Uji Normalitas Varian Terhadap Aktivitas AST Plasma Mencit Jantan Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui normalitas varian

Hipotesis : Ho = data terdistribusi normal  
Ha = Data tidak terdistribusi normal

Uji Statistik : Uji Kolmogorov-Smirnov

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi < 0,05, maka Ho ditolak

Hasil perhitungan :

<b>Tests of Normality</b>							
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
AST_14Jantan	Kontrol	.121	9	.200*	.980	9	.966
	Dosis I	.219	9	.200*	.855	9	.084
	Dosis II	.174	9	.200*	.950	9	.688
	Dosis III	.124	9	.200*	.943	9	.618
AST_24Jantan	Kontrol	.168	9	.200*	.923	9	.418
	Dosis I	.223	9	.200*	.925	9	.432
	Dosis II	.176	9	.200*	.923	9	.421
	Dosis III	.206	9	.200*	.930	9	.477

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan :

- a. Kontrol = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- b. Dosis I = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- c. Dosis II = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- d. Dosis III = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan :

- a. Kontrol = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- b. Dosis I = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- c. Dosis II = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- d. Dosis III = 0,200; signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan terdistribusi normal.
- Data aktivitas AST plasma mencit jantan pada 14 Hari setelah perlakuan terdistribusi normal.

## Lampiran 11

### Uji Normalitas Varian Terhadap Aktivitas AST Plasma Mencit Betina

Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui normalitas varian

Hipotesis : Ho = data terdistribusi normal  
Ha = Data tidak terdistribusi normal

Uji Statistik : Uji Kolmogorov-Smirnov

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Pengambilan kesimpulan :

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

Jika nilai signifikansi  $< 0,05$ , maka Ho diterima

		<b>Tests of Normality</b>					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AST_24Betina	Kontrol	.253	10	.069	.845	10	.050
	Dosis I	.162	9	.200*	.966	9	.862
	Dosis II	.169	10	.200*	.891	10	.175
	Dosis III	.170	9	.200*	.925	9	.439
AST_14Betina	Kontrol	.157	10	.200*	.907	10	.258
	Dosis I	.190	9	.200*	.942	9	.603
	Dosis II	.201	10	.200*	.926	10	.410
	Dosis III	.144	9	.200*	.963	9	.825

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan :

- a. Kontrol = 0,069; signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima
- b. Dosis I = 0,200; signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima
- c. Dosis II = 0,200; signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima
- d. Dosis III = 0,200; signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan :

- a. Kontrol = 0,200; signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima
- b. Dosis I = 0,200; signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima
- c. Dosis II = 0,200; signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima
- d. Dosis III = 0,200; signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas AST plasma mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan terdistribusi normal.
- Data aktivitas AST plasma mencit betina pada 14 Hari setelah perlakuan terdistribusi normal.

## Lampiran 12

### Uji Homogenitas Varian Terhadap Aktivitas ALT Plasma Mencit Jantan Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui homogenitas varian

Hipotesis : Ho = Data bervariasi homogen

Ha = Data tidak bervariasi homogen

Uji Statistik : Uji Levene

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi < 0,05, maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ALT_24jantan	.528	3	32	.666
ALT_14Jantan	.681	3	32	.570

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0,666; maka Ho diterima

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,570; maka Ho diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan terdistribusi homogen.
- Data aktivitas ALT plasma mencit jantan pada 14 Hari setelah perlakuan terdistribusi homogen.

## Lampiran 13

### Uji Homogenitas Varian Terhadap Aktivitas ALT Plasma Mencit Betina Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui homogenitas varian

Hipotesis : Ho = Data bervariasi homogen

Ha = Data tidak bervariasi homogen

Uji Statistik : Uji Levene

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi < 0,05, maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ALT_24Betina	.338	3	34	.798
ALT_14Betina	.215	3	34	.885

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0,666; maka Ho diterima

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,570; maka Ho diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas ALT plasma mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan terdistribusi homogen.
- Data aktivitas ALT plasma mencit betina pada 14 Hari setelah perlakuan terdistribusi homogen.

## Lampiran 14

### Uji Homogenitas Varian Terhadap Aktivitas AST Plasma Mencit Jantan Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui homogenitas varian

Hipotesis :  $H_0$  = Data bervariasi homogen

$H_a$  = Data tidak bervariasi homogen

Uji Statistik : Uji Levene

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima

Jika nilai signifikansi  $< 0,05$ , maka  $H_0$  diterima

Hasil perhitungan :

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
AST_24Jantan	.915	3	32	.445
AST_14Jantan	1.188	3	32	.330

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0,445; maka  $H_0$  diterima

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,330; maka  $H_0$  diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas AST plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan terdistribusi homogen.
- Data aktivitas AST plasma mencit jantan pada 14 Hari setelah perlakuan terdistribusi homogen.

## Lampiran 15

### Uji Homogenitas Varian Terhadap Aktivitas ALT Plasma Mencit Betina Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

Tujuan : Mengetahui homogenitas varian

Hipotesis : Ho = Data bervariasi homogen

Ha = Data tidak bervariasi homogen

Uji Statistik : Uji Levene

Signifikansi ( $\alpha$ ) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi > 0,05, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi < 0,05, maka Ho diterima

Hasil perhitungan :

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
AST_24Betina	.387	3	34	.763
AST_14Betina	.469	3	34	.706

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0,763; maka Ho diterima

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,706; maka Ho diterima

Kesimpulan:

- Data aktivitas AST plasma mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan terdistribusi homogen.
- Data aktivitas AST plasma mencit betina pada 14 Hari setelah perlakuan terdistribusi homogen.