

PENGARUH PEMBERIAN CAMPURAN EKSTRAK HERBA *Acalypha indica* Linn
DAN *Peperomia pellucida* [L] H.B.K TERHADAP JANTUNG TIKUS PUTIH
DITINJAU DARI AKTIVITAS ASPARTAT AMINOTRANSFERASE DAN
KREATININ KINASE PLASMA SERTA HISTOLOGI JANTUNG.

ANITA AGUSTINI

0305250077



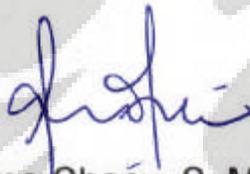
UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
2008

SKRIPSI : PENGARUH PEMBERIAN CAMPURAN EKSTRAK HERBA
Acalypha indica Linn DAN *Peperomia pelucida* [L] H.B.K
TERHADAP JANTUNG TIKUS PUTIH DITINJAU DARI
AKTIVITAS ASPARTAT AMINOTRANSFERASE DAN
KREATININ KINASE PLASMA SERTA HISTOLOGI
JANTUNG.

NAMA : ANITA AGUSTINI

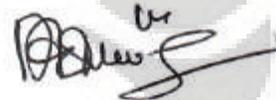
NPM : 0305250077

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI
DEPOK,



Fadlina Chanry .S. Msi. Apt

(PEMBIMBING I)



Dr. Dadang Kusmana

(PEMBIMBING II)

Tanggal Lulus Ujian sarjana	: 23 Juli 2008
Penguji I	: Dr. Berna Elya Ms
Penguji II	: Drs. Umar Mansur Ms
Penguji III	: Dra. Juheni, Msi

Dengan menyebut Nama **الله** Yang Maha Pengasih lagi Maha

Penyayang

Bukankah Kami telah melepaskan dadamu, dan Kami ringankan

beban mu yang berat yang memberatkan punggung mu.

Maka sesungguhnya beserta kesukaran ada kemudahan

Sesungguhnya beserta kesukaran ada kemudahan

Maka apabila engkau telah selesai dari satu urusan, maka kerjakan lah urusan yang lain dengan sungguh — sungguh, dan hanya kepada Tuhan mu lah hendak ya kau berharap.

Qs.94 :1-8

Untuk yang terkasih

Mama, Papa,

Ama, Eni, Isal,....semoga kalian daft lebih baik dari aku....

*Oktovan, Adhriyanda.....semoga **الله** selalu bersama kita .*

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha penyayang. Segala puja dan puji syukur hanya untuk Nya. Rab yang maha pemberi kekuatan dan kemudahan kepada hambanya untuk dapat menjalankan perintahnya dalam menuntut ilmu.

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi. Pada masa perkuliahan maupun pada saat pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi, penulis telah banyak memperoleh bantuan dan dorongan semangat dari orang – orang disekitar penulis. Oleh karena itu penulis ingin sekali mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Fadlina Chany S. Msi. Apt selaku pembimbing I dan Bapak Dr. Dadang Kusmana selaku pembimbing II yang telah dengan sabar memberikan bimbingan dan nasehat serta dorongan semangat dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Endang Hanani selaku pembimbing akademis atas bantuan dan nasehat yang diberikan selama masa perkuliahan.
3. Bapak Dr. Maksun Radji, M.Biomed selaku ketua Departemen Farmasi.
4. Ibu Dra. Azizahwati, atas bantuan, bimbingan serta kesempatan yang di berikan sehingga saya dapat melaksanakan penelitian di bidang farmakologi.

5. Mama dan Bapak serta adik–adikku (Ama, Eni dan Isal) kalian sumber semangat ku, terima kasih atas doa, kasih sayang dan kebersamaan yang selalu kalian berikan.
6. Sahabat – sahabat ku tercinta, Nida, Santi, Ica, Ai, Titi, Muti, Ajeng, Nike, Netty, Voni, Neni, Joe, kita akan terus saling mendukung, friend forever.
7. Teman – teman seperjuangan ku Ekstensi 05, Yuli dan Bu Neneng, Finally, Alhamdulillah it's all over. Lets make the best for the future.
8. Seluruh staf pengajar, laboran dan karyawan Departemen Farmasi yang telah membantu dalam masa perkuliahan, dan penelitian serta penulisan skripsi. Dedi, terimakasih atas segala bantuannya.
9. Oktovan Andriyanda, My Man.....Semoga Allah menggantikan segala keikhlasan dengan keberkahan dan selamanya bisa saling mendukung.
10. Endrika & Ferry pendiri PT. Perindo & Welsh Petroleum (hehehe) Thanks untuk semangat nya ya mudah – mudahan langgeng.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan dan telah banyak membantu penulis, dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini merupakan langkah awal dari perjalanan penulis dalam menerapkan ilmu yang telah diperoleh dan bekal untuk terus menuntut ilmu. Penulis meyakini bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, akan tetapi semoga ada manfaat yang dapat diperoleh dari dalamnya. Wallahu'alam

Penulis

ABSTRAK

Tanaman *Acalypha indica* Linn dan tanaman *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K. secara empiris telah digunakan untuk pengobatan penyakit Gout. Dalam penggunaan obat tradisional perlu dilakukan uji keamanan sebagaimana yang dilakukan pada obat modern atau sintesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian campuran ekstrak akar *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K. terhadap organ vital yaitu jantung, berdasarkan pemeriksaan aktivitas enzim AST dan Kreatinin kinase plasma serta gambaran histologi jantung. Dalam penelitian ini digunakan 36 ekor tikus putih jantan dan 36 ekor tikus putih betina, yang masing-masing dibagi menjadi lima kelompok dosis dan satu kelompok kontrol. Bahan uji diberikan secara oral satu kali sehari, selama 30 hari. Dosis yang digunakan secara berturut dari dosis 1-3 untuk ekstrak akar *Acalypha indica* Linn adalah 2,7 g; 5,4 g; 10,8 g/ 200 g bb tikus dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,1 g; 0,2 g; 0,4 g /200 g bb tikus. Dosis 4, yaitu ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus. Dosis 5, yaitu ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus dan kelompok kontrol diberi larutan CMC 0,5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada aktivitas AST dan Kreatinin kinase plasma serta gambaran hitologi jantung antara kelompok dosis satu sampai dengan dosis lima yang dibandingkan terhadap kelompok kontrol. Maka dapat disimpulkan bahwa pemberian campuran ekstrak akar *Acalypha*

indica Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K. selama 30 hari tidak mempengaruhi organ jantung tikus putih jantan dan betina.

Kata kunci : kreatinin kinase, AST, histologi, jantung, *Acalypha indica* Linn, *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K.

xii + 49 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi : 35 (1957-2007)



ABSTRACT

Acalypha indica Linn and *Peperomia pellucida* [L] H.B.K. is already empirical use for Gout medicinal treatment. Using a traditional medicine is need for safety test in the same manner as modern medicine or synthetic medicine. This research purpose to know an effect of given an extract of *Acalypha indica* Linn and *Peperomia pellucida* [L] H.B.K. herb for a vital organ like hearth, in based on activity of AST enzyme and Creatinin kinase plasma with a histology illustration of hearth. In this examination is used 36 male experimental white rats and 36 female experimental white rats, which each divided become five dosage groups and one control group. The usage dosage in a row from 1 to 3 dosage for *Acalypha indica* Linn extract is 2,7 g; 5,4 g; 10,8 g/200 g weight of white rats and *Peperomia pellucida* [L] H.B.K. herb 0,1 g; 0,2 g; 0,4 g/200 g weight of white rats. 4th dosage is an extract *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g weight of white rats. 5th dosage is an extract *Peperomia pellucida* [L] H.B.K. herb 0,2 g/200 g weight of white rats, and a control group is given 0,5% CMC solution. Result of examination is shown a nothing of different in activity AST and Creatinin kinase plasma with a histology illustration of hearth between a 1st dosage group to 5th dosage group with a control group. And then, we can conclude that given an extract of *Acalypha indica* Linn and *Peperomia pellucida* [L] H.B.K. herb for 30 days is not given an effect for male experimental white rats and female experimental white rats hearths.

Key words : creatinin kinase, AST, histology, hearth, *Acalypha indica* Linn,

Peperomia pellucida [L] H.B.K.

xii + 49 page; pic.; tab.; attach.

Bibliography : 35 (1957-2007)



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	.iii
ABSTRACT.....	.v
DAFTAR ISI.....	.vii
DAFTAR GAMBAR.....	.ix
DAFTAR TABEL.....	.x
DAFTAR LAMPIRAN.....	.xi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan.....	2
C. Hipotesis.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. <i>Acalypha indica</i> Linn.....	4
B. <i>Peperomia pellucida</i> [L] H.B.K.....	6
C. Uji Keamanan.....	8
D. Jantung.....	9
E. Aspartat Aminotransferase (AST).....	15
F. Kreatinin Kinase (CK).....	15
G. Penyakit Gout.....	17

BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA.....	19
A. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	19
B. Alat.....	19
C. Bahan.....	19
D. Cara Kerja.....	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
A. Hasil Percobaan.....	34
B. Pembahasan.....	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
A. Kesimpulan.....	45
B. Saran.....	45
DAFTAR ACUAN.....	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kurva kalibrasi AST pada λ 446 nm.....	49
2. Diagram batang aktivitas AST plasma.....	50
3. Diagram batang aktivitas Kreatinin Kinase plasma.....	51
4. Pengambilan darah hewan uji Ratus novergicus melalui vena sinus orbitalis.....	52
5. Tanaman <i>Acalypha indica</i> Linn.....	53
6. Tanaman Peperomia pellucida [L] H.B.K.....	54
7. Reaksi pembentukan asam oksaloasetat dan asam glutamat yang dikatalis oleh enzim aspartat amino transferase.....	55
8. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran Aspartat aminotransferase secara kolorimetri.....	55
9. Miokardium pada tikus putih jantan setelah diberi perlakuan selama 30 hari.....	56
10. Miokardium pada tikus putih betina setelah diberi perlakuan selama 30 hari.....	57
11. Miokardium pada tikus putih yang mengalami kerusakan berupa adanya infiltrasi polimorf, fibrosis otot dan perlemakan ruang antar serabut jantung.....	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengukuran Serapan Berbagai Perbandingan Larutan Standard Piruvat dan Dapar Fosfat Dalam Berbagai Konsentrasi untuk Pembuatan Kurva Kalibrasi AST.....	59
2. Hasil Pengukuran Aktivitas Kreatinin Kinase Plasma Tikus Putih Betina.....	60
3. Hasil Pengukuran Aktivitas Kreatinin Kinase Plasma Tikus Putih jantan.....	61
4. Hasil Pengukuran Aktivitas AST Plasma Tikus Putih Betina.....	62
5. Hasil Pengukuran Aktivitas AST Plasma Tikus Putih Jantan.....	63
6. Hasil Pengamatan Otot Jantung pada Enam Kelompok Tikus Putih Betina Setelah Perlakuan Selama 30 Hari.....	64
7. Hasil Pengamatan Otot Jantung pada Enam Kelompok Tikus Putih Jantan Setelah Perlakuan Selama 30 Hari.....	65
8. Presentasi Frekuensi Timbulnya Hasil Pengamatan Otot Jantung Tikus Putih betina Pada Keenam Kelompok Setelah Perlakuan Selama 30 Hari.....	66
9. Presentasi Frekuensi Timbulnya Hasil Pengamatan Otot Jantung Tikus Putih Jantan Pada Keenam Kelompok Setelah Perlakuan Selama 30 Hari.....	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Cara Perhitungan Dosis dan Pembuatan Larutan Uji....	68
2.	Cara Menghitung Aktivitas AST Plasma Menggunakan Kurva Kalibrasi	69
3.	Cara Menghitung aktivitas Kreatinin Kinase Plasma dengan Menggunakan Reagen Kit.....	70
4.	Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih betina.....	71
5.	Uji homogenitas Levene terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih betina.....	72
6.	Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih betina.....	73
7.	Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan.....	74
8.	Uji homogenitas Levene terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan.....	75
9.	Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan.....	76
10.	Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data AST plasma tikus putih betina.....	77
11.	Uji homogenitas Levene terhadap data AST plasma tikus putih betina.....	78
12.	Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data AST plasma tikus putih betina.....	79
13.	Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data AST plasma tikus putih jantan.....	80

14.	Uji homogenitas Levene terhadap data AST plasma tikus putih jantan.....	81
15.	Uji analisis variansi (ANAVA) 1-faktor terhadap data AST plasma tikus putih jantan.....	82
16.	Petunjuk Penggunaan Reagen Kit CK-NAC untuk Pengukuran Aktifitas Kreatinin Kinase Plasma.....	83



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Obat tradisional adalah ramuan bahan alami yang belum dimurnikan, berasal dari tumbuhan, hewan dan mineral, yang digunakan untuk pengobatan pada pelayanan kesehatan tradisional. Obat tradisional oleh Departemen Kesehatan, diklasifikasikan sebagai Jamu, Fitofarmaka dan Tanaman Obat Keluarga atau "Apotik Hidup" (1).

Obat tradisional yang digunakan dapat terdiri atas satu macam simplisia, namun untuk meningkatkan efek terapinya seringkali digunakan lebih dari satu macam simplisia dengan maksud untuk mempercepat penyembuhan. Obat yang mengandung lebih dari satu macam simplisia memungkinkan terjadinya interaksi dan dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan, sehingga perlu dilakukan penilaian keamanan melalui uji toksisitas.

Salah satu tanaman yang sudah lama dikenal dan diketahui memiliki khasiat sebagai obat tradisional adalah *Acalypha indica* Linn dan *Peperomia pellucida* [L] H.B.K. Kedua tanaman tersebut secara empiris digunakan sebagai obat penyakit Gout.

Menurut *World Health Organization* (WHO) perlu dilakukan penilaian keamanan melalui uji toksisitas terhadap obat tradisional. Uji toksisitas terbagi dalam tiga kelompok, yaitu uji toksisitas akut, toksisitas subkronik dan toksisitas kronik (2).

Pada penggunaan obat dalam jangka waktu lama, perlu diadakan suatu penelitian untuk melihat pengaruhnya terhadap organ vital dalam tubuh. Salah satu organ vital dalam tubuh adalah jantung. Meskipun jantung bukan organ sasaran biasa, namun organ ini dapat dirusak oleh zat kimia toksik. Tipe utama kerusakan jantung secara degeneratif adalah infark miokard. Pada keadaan infark miokard, enzim-enzim yang terdapat dalam jantung seperti kreatinin kinase dan Aspartat Aminotrasferase akan keluar (3,4,5).

Beberapa penelitian mengenai uji efektifitas dan toksisitas terhadap tanaman *Acalypha indica* Linn dan Herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K dalam bentuk ekstrak tunggal telah dilakukan (6,7,8), akan tetapi belum ada penelitian mengenai uji keamanan untuk kedua tanaman ini dalam bentuk campuran.

Pada penelitian ini, terutama akan dilihat pengaruh pemberian campuran ekstrak akar tanaman *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K secara peroral selama 30 hari terhadap fungsi jantung tikus putih jantan dan betina, ditinjau dari aktivitas AST dan kreatinin kinase, serta gambaran histologi jantung.

B. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian campuran ekstrak akar *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K secara oral selama 30 hari terhadap organ jantung.

C. HIPOTESIS

Pemberian campuran ekstrak akar *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K secara per oral selama 30 hari tidak mempengaruhi organ jantung bila ditinjau dari aktivitas Aktivitas Aspartat Aminotrasferase (AST) dan Kreatinin Kinase Plasma serta gambaran histologi jantung.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Acalypha indica* Linn.

1. Klasifikasi dan Penamaan (9)



Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Acalypha</i>
Jenis	: <i>Acalypha indica</i> Linn
Sinonim	: <i>Acalypha ciliate</i> Wall, <i>acalypha spicata</i> Forsk dan <i>Acalypha canescens</i> Wall

2. Morfologi Tanaman

Acalypha indica Linn dikenal juga dengan nama Kucing-kucingan atau tanaman akar kucing, merupakan gulma yang sangat umum ditemukan tumbuh liar, seperti di lapangan rumput maupun di lereng bukit. Tinggi tanaman 30 – 150 cm, berbatang tegak, bulat, berambut halus dan berwarna hijau. Daun merupakan daun tunggal, letak berseling, berbentuk belah ketupat, pangkal daun membulat dengan ujung runcing, tipis

dengan tepi bergerigi. Pertulangan daun menyirip, panjang 2,5 – 8 cm, lebar 1,5 – 3,5 cm. Bunga merupakan bunga majemuk, berkelamin tunggal dan berumah satu, terletak di ketiak daun dan ujung cabang. Bunganya kecil-kecil berbentuk bulir dalam rangkaian berupa malai. Bulir betina lebih pendek, lebih tegak dan lebih jorong dari pada bulir jantan. Mahkota bunga berbentuk bulat telur, berwarna merah dan berambut. Buahnya kecil, berbentuk kotak, berwarna hitam dengan biji bulat panjang berwarna coklat. Akarnya merupakan akar tunggang berwarna putih kotor (9,10).

Tanaman *Acalypha indica* Linn tersebar luas di Afrika barat, India, Indonesia dan Filipina (10,11). Herba *Acalypha Indica* Linn mengandung akalifin (suatu glikoida sianogenik), sterol (β -sitosterol), kuebrakitol, tanin, tektokuinon, kaemferol, triasetonamin, flavonoid, minyak atsiri, alkalifamid, aurantiamida. Daun mengandung kuebrakitol, asam askorbat, sapmin, tanin, minyak atsiri, kalium oksalat, besi karbohidrat, lemak dan protein. Sedangkan batang mengandung flavonoid, tanin dan saponin. Akarnya mengandung senyawa golongan alkaloid, tanin, sterol, glikosida sianogenik dan flavonoid (9,12).

Pada penelitian sebelumnya rebusan akar tanaman *Acalypha indica* Linn dikombinasi dengan rebusan herba suruhan terbukti dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan kalium oksalat. Dosis yang digunakan adalah 5,4 g/200 g bb

tikus untuk ekstrak herba *Acalypha indica* Linn dan 0,2 g/ 200 g bb tikus untuk ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K (8).

B. *Peperomia pellucida* [L] H.B.K

1. Klasifikasi dan Penamaan (11)



Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Marga	: Peperomia
Jenis	: <i>Peperomia pellucida</i> [L] H.B.K
Nama umum/ dagang	: Suruhan

2. Morfologi Tanaman

Peperomia pellucida [L] H.B.K mempunyai nama daerah yang berbeda-beda. Di Indonesia yaitu Ketumpangan Air (Sumatra), Sasaladaan (Sunda), Suruh-suruhan (Jawa) (11).

Peperomia pellucida [L] H.B.K merupakan tanaman semusim dengan tinggi tanaman 20-40 cm, mengandung banyak air dan bercabang. Batang berbentuk bulat, tebal sekitar 5 mm berwarna hijau pucat. Daun berbentuk bulat telur melebar dengan ujung runcing. Pangkal daun

berbentuk jantung dengan tepi rata, panjang 1 – 3 cm, permukaan atas hijau pucat mengkilap, permukaan bawah berwarna lebih muda. Bunga tersusun dalam rangkaian berbentuk bulir dengan panjang 1 – 6 cm. Buah tanaman ini bulat dengan ujung runcing berwarna kecoklatan tersusun seperti buah lada. Akarnya jenis serabut dan berwarna putih (13).

Pusat penyebaran *Peperomia pellucida* [L] H.B.K adalah Amerika Tengah dan Selatan. Di Asia Tenggara ada 50 sampai 90 spesies. *Peperomia pellucida* [L] H.B.K adalah tumbuhan asli Amerika Selatan tetapi juga merupakan tumbuhan alami yang tersebar luas di hutan tropis dunia (14).

Kandungan kimia *Peperomia pellucida* [L] H.B.K antara lain saponin, polifenol, seskuiterpen alkohol, flavonoid, tanin, alkaloid, akasetin, apigenin, lemak dan minyak atsiri (12). Pada beberapa penelitian, tanin dan flavonoid adalah senyawa yang dapat menurunkan kadar asam urat dengan menghambat xantin oksidase. Disebutkan bahwa apigenin merupakan penghambat xantin oksidase yang cukup poten (15,16,17).

Ekstrak air dari herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K mempunyai efek antiinflamasi (18). Infusa dan dekokta *Peperomia pellucida* [L] H.B.K digunakan untuk mengobati penyakit gout, gangguan ginjal dan rematik. Di Malaysia, rebusan tanaman ini digunakan untuk mengobati nyeri dan kelelahan fisik. Di daerah Jawa, daunnya dibuat jus untuk mengobati nyeri abdominal dan kolik atau air rebusan dan perasannya digunakan untuk penyakit gout (13,18). Sepertihalnya pada tanaman *Acalypha indica* Linn

penelitian sebelumnya menyatakan rebusan herba *Peperomia pellucida* [L].H.B.K dikombinasi dengan rebusan herba tanaman *Acalypha indica* Linn terbukti dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan kalium oksonat (8).

C. UJI KEAMANAN

Suatu senyawa yang baru ditemukan terlebih dahulu diuji dengan serangkaian uji farmakologik pada organ terpisah maupun pada hewan (uji praklinik). Bila ditemukan suatu aktivitas farmakologik yang mungkin bermanfaat, maka senyawa yang lolos penyaringan ini akan diteliti lebih lanjut. Sebelum calon obat baru ini dapat dicobakan pada manusia, dibutuhkan waktu beberapa tahun untuk meneliti sifat farmakodinamik, farmakokinetik, dan efek toksiknya pada hewan coba. Dalam studi farmakokinetik ini tercakup juga pengembangan teknik analisis untuk mengukur kadar senyawa tersebut dan metabolitnya dalam cairan biologik. Semuanya ini diperlukan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil risiko penelitian pada manusia (19).

Uji keamanan obat dilakukan melalui uji toksisitas yang terdiri atas dua jenis, yaitu toksisitas umum (akut, subkronis dan kronis) dan toksisitas khusus (teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik). Uji toksisitas sub kronis biasanya dilakukan dengan memberikan zat uji setiap hari selama 28 sampai 90 hari atau 10 % dari masa hidup hewan uji, dan uji toksisitas kronis dengan jangka

waktu seumur hidup hewan uji, misalnya 18 bulan untuk mencit dan 24 bulan untuk tikus (20).

Uji toksisitas sub kronis pada obat tradisional dilakukan dengan memberikan zat uji setiap hari selama satu sampai tiga bulan dan uji toksisitas kronis dengan jangka waktu sekurang-kurangnya tiga sampai enam bulan (21).

Dosis obat tradisional digunakan tiga tingkat dosis, ditentukan dengan mempertimbangkan aktifitas farmakologik dan hasil uji toksisitas akut. Pemilihan dosis tertinggi perlu diupayakan yang dapat menimbulkan efek toksik, dan dosis terendah haruslah mendekati dosis efektif sesuai dengan spesies yang digunakan dalam pengujian. Upaya pengembangan pemanfaatan obat tradisional untuk pemberian jangka panjang, bermanfaat jika dalam pengujian dapat diungkapkan batas keamanan (21).

D. JANTUNG

1. Struktur

Jantung adalah organ berotot dan berongga, ukuran jantung manusia kurang lebih sebesar kepala tangan. Jantung terletak dalam mediastinum di rongga dada, yaitu di antara kedua paru-paru. Jantung terbungkus dalam kantung perikardium yang terdiri dari dua lapisan. Lapisan dalam disebut perikardium viseralis yang melekat pada jantung dan lapisan luar disebut perikardium parietalis. Kedua lapisan ini

dipisahkan oleh sedikit cairan pelumas yang berfungsi mengurangi gesekan pada gerakan memompa dari jantung itu sendiri. Perikardium parietalis melekat pada tulang dada di sebelah depan, dan pada kolumna vertebralis di belakang, sedangkan bagian bawah melekat pada diafragma (22).

Jantung sendiri terdiri dari tiga lapisan. Lapisan luar disebut epikardium, lapisan tengah merupakan lapisan otot yang disebut miokardium, sedangkan lapisan terdalam yaitu lapisan endotel disebut endokardium. Jantung memiliki empat ruang, yaitu atrium kanan, atrium kiri, ventrikel kanan dan ventrikel kiri. Ruangan jantung bagian atas (atrium) secara anatomi terpisah dari ruangan jantung bagian bawah (ventrikel), oleh suatu anulus fibrosus yang merupakan cincin-cincin jaringan ikat padat yang saling berhubungan, dan merupakan tempat melekatnya empat katup jantung. Atrium kiri dipisahkan dengan atrium kanan oleh septum interatrial, sedangkan ventrikel kiri dan kanan dipisahkan oleh septum interventrikel (4).

Katup jantung memastikan bahwa darah mengalir dengan arah yang sesuai. Katup yang terletak di antara atrium dan ventrikel kanan dan kiri, masing-masing disebut katup trikuspidalis dan katup mitralis. Tepi-tepi daun katup ini diikat oleh tali fibrosa tipis namun kuat yang disebut korda tendine. Tali fibrosa menambatkan tepi daun katup ke otot papilaris. Korda tendine dan otot papilaris mencegah aliran darah berbalik ke atrium setiap kali ventrikel berkontraksi. Dua katup jantung lainnya, yaitu katup

aorta dan katup pulmonalis, mencegah darah mengalir dari aorta dan arteri pulmonalis kembali ke ventrikel (22,23).

2. Sirkulasi Darah

Jantung adalah pompa ganda. Sisi kanan dan kiri jantung berfungsi sebagai dua pompa terpisah yang mengatur sirkulasi darah. Terdapat dua sirkulasi darah dari jantung yaitu sirkulasi pulmonalis dan sirkulasi sistemik. Sisi kanan jantung memompa darah ke dalam sirkulasi pulmonalis. Aliran darah dari ventrikel kanan, melalui arteria pulmonaris, paru-paru, vena pulmonalis, kembali ke atrium kiri disebut sirkulasi pulmonalis. Sirkulasi ini merupakan sistem yang memiliki tekanan dan resistensi yang rendah. Sisi kiri jantung memompa darah ke dalam sirkulasi sistemik. Aliran darah dari ventrikel kiri melalui aorta, arteria, arteriola, kapiler, vena, vena kava, dan kembali ke atrium kanan disebut sirkulasi sistemik. Sirkulasi sistemik merupakan sistem dengan tekanan dan resistensi yang tinggi (22).

3. Otot Jantung

Otot jantung merupakan otot lurik, inti otot berbentuk lonjong dan panjang, terdapat di tengah serat sel otot jantung. Tiap serat sel otot saling berhubungan untuk membentuk serat yang bercabang-cabang. Diantara serat-serat jantung terdapat pembuluh-pembuluh darah yang kecil. Sel-sel yang berdekatan dihubungkan pada struktur khusus yang dikenal sebagai diskus interkalatus. Di dalam diskus interkalatus terdapat

dua jenis pertautan membran, yaitu desmosom dan *gap junction*. Desmosom, merupakan jenis taut lekat yang secara mekanis menyatukan sel-sel. Pada interval-interval tertentu disepanjang diskus interkatalus, kedua membran yang berhadapan saling melekat untuk membentuk *gap junction*, yaitu daerah-daerah dengan resistensi listrik yang rendah dan memungkinkan potensial aksi menyebar dari satu sel jantung ke sel di dekatnya (24).

4. Siklus Jantung

Setiap siklus jantung terdiri dari urutan peristiwa listrik dan mekanik yang saling terkait. Gelombang rangsang listrik tersebar dari nodus Sinus Atrial (SA) melalui sistem penghantar menuju miokardium untuk merangsang kontraksi otot. Rangsangan listrik tersebut dikenal dengan sebutan depolarisasi, yang diikuti pemulihan listrik kembali yang disebut repolarisasi. Respon mekaniknya adalah sistolik yaitu kontraksi otot dan diastolik yaitu relaksasi otot.

Peristiwa-peristiwa mekanis dari siklus jantung, sistol atau kontraksi ventrikel dan diastol atau relaksasi ventrikel, terdiri dari lima fase, yaitu mid-diastol, diastol lanjut, sistol awal, sistol lanjut dan diastol awal.

Mid-diastol merupakan fase pengisian lambat ventrikel atau diastasis, pada fase tersebut baik atrium atau ventrikel berada dalam keadaan istirahat. Darah masuk ke atrium melalui pembuluh vena, mengalir secara

pasif ke ventrikel melalui katup Atrioventrikularis (AV) yang terbuka, disini katup semilunaris dalam keadaan tertutup.

Pada diastol lanjut, otot atrium berkontraksi, memberikan tambahan 20% hingga 30% pada isi ventrikel. Fase sistol awal ditandai dengan penyebaran depolarisasi dari nodus AV ke seluruh miokardium ventrikel, menyebabkan ventrikel berkontraksi, tekanan dalam ventrikel meningkat melebihi tekanan atrium sehingga katup AV menutup. Penutupan inilah yang menyebabkan bunyi jantung pertama. Pada fase ini katup semilunaris tetap dipertahankan menutup yang disebut kontraksi isovolumik, karena volume ventrikel tetap konstan.

Fase sistol lanjut terjadi segera setelah tekanan ventrikel melebihi tekanan di dalam pembuluh darah, peristiwa tersebut menyebabkan katup semilunaris terbuka dan terjadilah ejeksi ventrikular kedalam sirkulasi pulmonaris dan sistemik. Pada fase diastol awal gelombang repolarisasi menyebar melalui miokardium ventrikel, menyebabkan ventrikel kembali ke keadaan istirahat, tekanan ventrikel turun hingga lebih rendah dari tekanan atrium, menyebabkan katup semilunaris tertutup dan terdengarlah bunyi jantung ke dua. Keadaan istirahat ini berlangsung terus hingga tekanan ventrikel lebih rendah dari tekanan dalam atrium sehingga katup AV kembali terbuka. Periode antara penutupan katup semilunaris dan pembukaan katup AV disebut relaksasi isovolumetrik (4).

5. Kerusakan Jantung

Terdapat suatu keseimbangan kritis antara suplai oksigen miokardium dengan kebutuhan akan oksigen. Pengurangan suplai oksigen atau peningkatan kebutuhan oksigen dapat mengganggu keseimbangan tersebut dan membahayakan fungsi miokardium. Iskemia adalah suatu keadaan kekurangan oksigen yang bersifat sementara dan reversibel. Iskemia yang berlangsung lebih dari 30 menit akan menyebabkan kerusakan seluler yang irreversibel dan kematian otot atau nekrosis. Nekrosis miokardium dikenal dengan nama infark miokard. Kelainan tersebut merupakan tipe utama dari kerusakan jantung secara degeneratif. Enzim yang digunakan sebagai penanda adalah kreatinin kinase dan glutamat oksaloasetat transaminase (4).

Pada pengamatan mikroskopik histologis miokardium, mula-mula batas antara daerah normal dan infark tidak terlalu jelas. Setelah 24 jam, maka bagian yang terkena akan tampak lebih pucat. Setelah beberapa hari, maka bagian pucat tersebut akan tampak kuning putih, berbeda tegas dengan sekelilingnya. Timbul sel polimorfonuklear. Sampai dengan beberapa minggu, maka bagian yang terkena infark tersebut akan mengalami fibrosis. Dimulai dari tepi, masuk ke dalam pusat nekrosis sehingga nekrosis digantikan oleh jaringan parut yang pucat. Selain warna yang pucat, infark juga tampak berkerut sehingga terdapat cekungan pada permukaan alat tubuh yang terkena (25).

E. ASPARTAT AMINOTRANSFERASE (AST)

Aspartat Aminotransferase (AST) atau sering disebut juga *Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (GOT). Merupakan enzim yang mengkatalis perpindahan gugus amino dari asam aspartat dan α -ketoglutarat untuk membentuk asam oksaloasetat dan asam glutamat (26).

Pada manusia terdapat dua isoenzim yang memiliki kesamaan yakni GOT1 dan GOT2. GOT1 merupakan *cytosolic* isoenzim yang biasanya ditemukan dalam sel darah merah, otot jantung dan hati. GOT2 merupakan enzim mitokondrial yang banyak ditemukan dalam hati. Kadar GOT meningkat pada keadaan kerusakan hati yang akut dan kelainan pada otot jantung (27).

Pada *Myocardial Infraction* (MCI) aktivitas GOT/AST meningkat 4-10 kali dari nilai normalnya. Enzim GOT/AST lepas karena sel otot jantung mengalami nekrosis. Peningkatan kadar terjadi pada 6 – 12 jam sesudah infark dan biasanya akan kembali normal pada hari ke 3 atau ke 4.

Metode pengukuran GOT yang digunakan adalah dengan *Dinitrophenylhydrazine coupling* (kolorimetri) (28).

F. KREATININ KINASE (CK)

Kreatinin Kinase (CK) juga dikenal sebagai *phosphocreatinin kinase* atau kreatinin fosfokinase (CPK), merupakan enzim yang diperlukan oleh berbagai macam tipe jaringan(27). Enzim ini bertanggung jawab terhadap regenerasi ATP, karena enzim ini berfungsi mengkatalis perpindahan gugus fosfat dari

kreatinin menuju ADP untuk membentuk ATP dan kreatinin kembali(26). Pada jaringan–jaringan yang banyak membutuhkan ATP terutama otot skeletal, otak dan otot polos, phosphocreatine bertindak sebagai suatu reservoir energi untuk regenerasi ATP dengan cepat. Oleh karena itu, kreatine kinase adalah suatu enzim yang penting dalam jaringan–jaringan tersebut (27).

Pada pemeriksaan klinik, penentuan kadar kreatinin kinase dalam tes darah menjadi penanda ada atau tidaknya infark miokard (serangan jantung), *rabdomyolysis* (kerusakan otot) dan gagal ginjal akut. Peningkatan kadar CK merupakan indikasi adanya luka, *rhabdomyolysis*, *myocardial infarction*, *muscular dystrophy*, *myositis*, *myocarditis*, *malignant hyperthermia* dan *neuroleptic malignant syndrome*. Penurunan kadar CK mengindikasikan adanya kerusakan hati akibat alkohol dan *rheumatoid arthritis* (27).

Metode yang umum digunakan untuk menganalisis kreatinin kinase adalah metode Oliver dan Rosaliki yang didasarkan pada reaksi pembentukan kreatinin dari kreatinin fosfat, pada reaksi ini kreatinin kinase mengkatalis perpindahan gugus fosfat dari kreatinin fosfat ke ADP membentuk kreatinin dan ATP. ATP yang dihasilkan selanjutnya diperlukan oleh glukosa untuk membentuk glukosa-6-fosfat dan ADP dengan katalis enzim heksokinase. Glukosa-6-fosfat yang terbentuk dengan adanya enzim glukosa-6-fosfat dehidrogenase kemudian dioksidasi menjadi 6-fosfoglukonat, reaksi ini disertai dengan reduksi NADP^+ menjadi NADPH. Kecepatan pembentukan NADPH sebanding dengan aktivitas kreatinin

kinase, yang diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 340 nm (26,29).

G. PENYAKIT GOUT (30)

Penyakit gout merupakan gangguan metabolisme yang ditandai oleh hiperurisemia yang disebabkan baik oleh produksi asam urat yang berlebihan, atau pun ekskresi yang terganggu. Kristal urat dapat mengendap dalam persendian, jaringan subkutan, dan ginjal. Arthritis gout akut terjadi sebagai serangan rasa nyeri yang menusuk pada satu sendi. Serangan gout akan mereda dengan sendirinya setelah beberapa hari, akan tetapi pertolongan medis yang tepat dapat mengurangi dan mencegah serangan berulang.

Pada pengobatan penyakit gout ada beberapa jenis obat yang dapat digunakan, antara lain obat-obat anti inflamasi non steroid, colchicin, obat-obat glucocortikoid dan inhibitor xantin oksidase. Obat-obat anti inflamasi non steroid memerlukan waktu 12-24 jam untuk memberikan respon klinis. Dosis awal sebaiknya tinggi, diikuti segera dengan penurunan dosis sedikit demi sedikit selama 2-8 hari. Glucocortikoid diberikan pada pasien yang mempunyai kontraindikasi terhadap obat-obat anti inflamasi non steroid dan colchicin.

Salah satu contoh inhibitor xantin oksidase adalah Allopurinol. Obat ini efektif untuk kebanyakan penderita yang disertai hyperuricemia. Dosis initial Allopurinol biasanya adalah 300mg/ hari. Dosis tersebut kemudian dikurangi

sebanyak 100-200 mg setiap 2-4 minggu untuk mendapat dosis pemeliharaan minimum yang akan mempertahankan kadar asam urat pada batas-batas normal.



BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi dan Laboratorium Biologi Perkembangan Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok selama kurun waktu 5 bulan.

B. ALAT

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Sonde lambung, timbangan analitik (Acculab), seperangkat alat bedah, sentrifugator, ependorf, mikroskop cahaya (Nikon SE), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu), mikrotom putar (Spencer), parafin streacher (Sakura), pemanas (Akebono), pH meter (Istec), kuvet, alat – alat gelas.

C. BAHAN

1. Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley, berumur 2 - 3 bulan, berat badan 150-250 g, masing-masing sebanyak 36 ekor. Tikus diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

2. Bahan Uji

Campuran ekstrak akar *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pelucida* [L] H.B.K. Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn, diperoleh dari PT. Phytochemindo Reksa. Ekstrak herba *Peperomia pelucida* [L] H.B.K, diperoleh dari Laboratorium Fitokimia, Departemen Farmasi FMIPA UI.

3. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah Eter (Merck), heparin, etanol, formalin 10% (Merck), asam pikrat (Merck), asam asetat glacial (Merck), benzol (Merck), parafin padat, reagen kit (Randox), dinatrium hidrogen Fosfat dihidrat (Merck), kalium hidrogen fosfat (Merck), kalium dihidrogen fosfat anhidrat (Merck), natrium piruvat (Merck), asam ⇌-ketoglutarat (Merck), asam aspartat (Merck), natrium hidroksida (Merck), 2,4-Dinitrofenilhidrazin (Merck), asam klorida (Merck), aquadest (Merck), alkohol (Merck), xilol (Merck), larutan bouin, natrium klorida 0,9% (Merck), larutan eosin, larutan hematoksilin, albumin mayers (Merck).

D. CARA KERJA

1. Rancangan penelitian

Rancangan kerja yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 kelompok perlakuan. Jumlah ulangan tiap kelompok diketahui berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus empiris Federer berikut ini.

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

t = jumlah beda kelompok perlakuan terhadap hewan uji

n = jumlah ulangan tikus

Beda kelompok perlakuan, t = 6

$$\text{Maka : } (6-1) (n-1) \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Jadi, empat ekor adalah jumlah minimum tikus yang harus digunakan dalam tiap kelompok.

2. Persiapan Hewan Uji

Tikus putih jantan dan betina yang akan digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari di kandang hewan uji Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI, agar dapat menyesuaikan dengan kondisi lingkungan yang baru. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, mata jernih serta mengalami peningkatan berat badan (20).

3. Penetapan Dosis

Dosis yang digunakan pada percobaan ini didasarkan pada hasil uji khasiat yang telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya yaitu untuk ekstrak herba *Acalypha indica* Linn sebanyak 5,4 g/200 g bb tikus dan untuk ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K sebanyak 0,2 g/200 g bb tikus (8). Kemudian dibuat beberapa dosis berdasarkan dosis diatas yaitu dua kali, setengah kali dan dosis dimana masing-masing ekstrak berada dalam bentuk tunggal, serta kontrol berupa larutan CMC 0,5%, sehingga variasi dosis nya menjadi :

- Dosis I : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 2,7 g/200 g bb tikus.
Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,1 g/200 g bb tikus.
- Dosis II : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus.
Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus.
- Dosis III : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 10,8 g/200 g bb tikus.
Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,4 g/200 g bb tikus.
- Dosis IV : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus.
- Dosis V : Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus.
- Kontrol : Larutan CMC 0,5%.

4. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan menimbang masing–masing ekstrak sesuai dosis yang akan digunakan, kemudian disuspensikan dalam CMC 0,5%. (Lampiran 1).

5. Penyiapan Pereaksi

a. Pembuatan larutan Dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M

Dinatrium hidrogen fosfat sebanyak 5,962 g dilarutkan dalam gelas piala dan volumenya dicukupkan hingga 420 ml dengan aquadest (28).

b. Pembuatan larutan Kalium dihidrogen fosfat 0,1 M

Kalium dihidrogen fosfat sebanyak 1,088 g dilarutkan dalam gelas piala dan volumenya dicukupkan hingga 80 ml dengan aquadest (28).

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

Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M sebanyak 420 ml ditambahkan 80 ml larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M, kemudian pH disesuaikan hingga 7,4 (28).

d. Pembuatan larutan piruvat 2 ppm (larutan standard)

Natrium piruvat sebanyak 22,0 mg dimasukkan ke dalam labu ukur, kemudian ditambahkan dapar fosfat hingga 100,0 ml (28).

e. Pembuatan substrat untuk pemeriksaan Aspartat Aminotrasferase (AST)

Asam α -ketoglutarat sebanyak 29,2 mg dicampur dengan 2,66 g asam Aspartat di dalam gelas piala, ditambah dengan larutan Natrium hidroksida 1 N sampai larut, pH disesuaikan hingga 7,4 kemudian ditambahkan dapar fosfat hingga 100,0 ml dalam labu ukur (28).

f. Pembuatan larutan reagen warna

Sebanyak 19,8 mg 2,4-Dinitrofenilhidrazin ditambahkan larutan asam klorida 1 N hingga 100,0 ml dalam labu ukur (28).

g. Pembuatan larutan pereaksi uji kreatinin kinase (reagen kit)

Larutan dapar (85 ml) berisi :

Dapar imidazol pH 6,7	0,10 mol/L
Glukosa	20 mmol/L
Magnesium Asetat	10 mmol/L
EDTA	2,0 mmol/L

Ke dalam satu vial enzim-koenzim-substrat ditambahkan 2,5 ml dapar. Stabil selama 21 hari bila disimpan dalam lemari pendinginan suhu 2-8°C (29).

6. Pelaksanaan Percobaan

Dalam percobaan ini digunakan 72 ekor tikus putih yang dibagi secara acak kedalam enam kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri

dari 6 ekor tikus putih jantan dan 6 ekor tikus putih betina. Kelompok satu adalah kelompok yang diberi dosis satu. Kelompok dua adalah kelompok yang diberi dosis dua. Kelompok tiga adalah kelompok yang diberi dosis tiga. Kelompok empat adalah kelompok yang diberi dosis empat. Kelompok lima adalah kelompok yang diberi dosis lima. Kelompok enam (kelompok kontrol) adalah kelompok yang diberi larutan CMC 0,5%.

a. Cara Perlakuan

Larutan uji di berikan secara peroral sebanyak satu kali setiap hari selama 30 hari. Larutan uji dengan dosis tertentu dimasukan ke dalam lambung tikus menggunakan sonde lambung. Volume larutan uji yang diberikan disesuaikan dengan berat badan tikus yang ditimbang setiap minggu. Selama perlakuan tikus diberi makan dan minum secara teratur. Pada hari ke-31 dilakukan pengambilan darah untuk mendapatkan sampel berupa plasma yang digunakan untuk pengukuran aktivitas kreatinin kinase serta aspartat aminotransferase, dan dilakukan pengambilan organ jantung untuk pengamatan histologi.

b. Pengambilan Sampel

Darah diambil melalui vena sinus orbitalis di daerah mata. Tikus terlebih dahulu dibius dengan eter. Tikus dibaringkan searah

horizontal dengan salah satu sisi kepala menghadap peneliti. Rentangkan kulit di sekitar mata hingga bola mata tikus sedikit keluar. Masukkan pipet mikrohematokrit ke dalam *Medial cathus* lalu putar secara perlan. Darah yang keluar ditampung dalam tabung mikro yang telah dibasahi larutan Heparin kemudian ditutup rapat (31). Cabut perlahan pipet mikrohematokrit, bersihkan darah pada daerah mata tikus dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 70%. Darah yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit. setelah terjadi pemisahan yang sempurna antara plasma dan sel darah, plasma kemudian dipisahkan dan digunakan sesuai prosedur selanjutnya.

c. Pengambilan Organ Jantung

Organ jantung diambil dengan cara pembedahan. Tikus terlebih dahulu dianestesi dengan eter. Tikus kemudian direntangkan pada papan bedah. Bagian dada dan perut terlebih dahulu dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian dilakukan pembedahan. Organ jantung diambil dan dicuci dengan larutan natrium klorida 0,9%.

7. Pengukuran Aktifitas Aspartat Aminotrasferase (AST)

Prinsip pengukuran aktivitas Aspartat Aminotransferase (AST) yaitu perpindahan gugus amino dari asam aspartat ke asam α -ketoglutarat untuk membentuk asam oksaloasetat dan asam glutamat (26).

a. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan standard piruvat dan larutan dapar substrat dicampur dalam tabung reaksi dengan berbagai perbandingan (6 variasi konsentrasi).

Ke dalam setiap tabung ditambahkan 1,0 ml reagen warna, lalu dikocok hingga homogen. Selanjutnya larutan didiamkan selama 20 menit pada suhu kamar, lalu ditambahkan 10,0 ml larutan natrium hidroksida 0,4N, dan dikocok sampai homogen. Larutan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya serapan dari masing masing konsentrasi diukur pada panjang gelombang 446 nm (32).

b. Pengukuran sample AST plasma

Siapkan 2 tabung reaksi sebagai tabung larutan uji dan blanko. Pada kedua tabung dimasukkan dapar substrat sebanyak 1,0 ml, kemudian kedua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Plasma sebanyak 0,2 ml dimasukkan ke dalam tabung uji kemudian dikocok dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Setelah itu pada kedua tabung ditambahkan reagen warna sebanyak 1,0 ml. kemudian pada tabung blanko ditambahkan 0,2 ml plasma. Kedua tabung didiamkan pada suhu kamar selama 20 menit. Kemudian 10,0 ml natrium hidroksida 0,4 N ditambahkan ke dalam tabung uji dan tabung blanko, dikocok, kemudian didiamkan

pada suhu kamar selama 30 menit. Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 446 nm. Serapan yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier yang telah diperoleh sebelumnya (28,32).

8. Pengukuran Aktifitas Kreatinin Kinase Plasma

Prinsip pengukuran aktivitas kreatinin kinase plasma adalah pembentukan kreatinin dan ATP yang dikatalis oleh kreatinin kinase. Pada reaksi ini terjadi perpindahan gugus fosfat dari kreatinin ke adenosine difosfat (ADP) untuk membentuk Adenosin trifosfat (ATP) dan kreatinin kembali (29).

Sebanyak 40 µl plasma dan 1,0 ml pereaksi dipipet kedalam sebuah kuvet semimikro, lalu diinkubasi selama 10 menit. Kemudian dilakukan pengukuran serapan pertama. Pengukuran serapan ke dua dilakukan lima menit kemudian (29). Selanjutnya dihitung serapan per menit dengan rumus:

$$\Delta A / \text{menit} = \frac{A_2 - A_1}{5}$$

Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang 340 nm pada suhu 25°C (29).

9. Pembuatan Preparat Histologi Jantung (33)

a. Fiksasi

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

b. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan untuk mengeluarkan air agar jaringan dapat dimasukii parafin. Organ direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam; kemudian dalam alkohol 96% dua kali masing-masing selama 60 menit; dilanjutkan dengan alkohol absolut, 2 kali masing-masing selama 60 menit; dalam benzil benzoat selama 24 jam; dan dalam benzol, dua kali masing-masing selama 15 menit.

c. Infiltrasi

Infiltrasi oleh parafin dilakukan agar jaringan dapat diiris setipis 5 - 10 μm . Caranya dengan merendam organ kedalam parafin yang telah dicairkan dalam dua tahap, yaitu parafin I selama 1 jam, parafin II selama 1 jam di dalam inkubator pada suhu 60°C.

d. Penanaman

Organ yang telah diinfiltrasi dimasukkan dalam kotak kecil yang berisi cairan parafin hingga terendam. Parafin dibiarkan pada suhu

kamar hingga dingin dan membeku. Setelah parafin menjadi keras, maka blok parafin yang berisi organ dapat dilepaskan dari kotak kertas. Kelebihan parafin di sekitar organ dipotong dan dirapihkan. Kayu pemegang ditanamkan pada parafin dengan bantuan pemanasan.

e. Penyayatan

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada pisau mikrotom dan diatur supaya diperoleh sayatan dengan tebal 7 μm .

f. Penempelan pada gelas objek

Hasil sayatan yang baik diletakan pada gelas objek yang telah diolesi sedikit Albumin Mayers dan dibasahi air suling agar mengembang. Albumin Mayers digunakan untuk menempelkan jaringan ke gelas objek. Selanjutnya gelas objek diletakan di atas parafin streacher pada suhu 30-40°C agar sayatan organ mengembang sempurna dan tidak ada yang terlipat. Sisa-sisa air pada gelas objek diserap dengan tisu.

g. Melarutkan Parafin

Parafin dilarutkan supaya dihasilkan jaringan yang bening dan transparan. Parafin yang melekat diseputar sayatan, dihilangkan dengan cara merendam gelas objek ke dalam larutan xilol selama 6 menit.

h. Hidrasi

Hidrasi dilakukan untuk membasahi jaringan setelah jaringan dibersihkan dari paraffin, agar jaringan dapat diwarnai. Gelas objek yang telah dibersihkan dari paraffin dimasukkan ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi turun, yaitu alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 80%, dan alkohol 70% masing-masing selama 3 menit.

i. Pewarnaan

Pewarnaan dilakukan supaya bagian-bagian tertentu dari jaringan tampak lebih menonjol sehingga dapat diamati dengan mikroskop. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan Hematoksin-Eosin dengan cara merendam gelas objek dalam larutan hematoksin selama 4 menit, kemudian dicuci dalam bak berisi air mengalir sehingga bagian gelas objek di luar jaringan bersih dari zat warna. Bila warna jaringan terlalu ungu, maka gelas objek dicelupkan kedalam larutan asam klorida 1% selama beberapa detik dan kedalam air, dilanjutkan dengan pewarnaan menggunakan larutan eosin selama 4 menit.

j. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan agar tidak terjadi pembusukan organ. Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam gelas objek yang telah diwarnai kedalam larutan alkohol dengan konsentrasi naik, yaitu alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut sebanyak dua kali

masing-masing selama dua menit dan terakhir dalam campuran alkohol-xilol (1:1) selama dua menit.

k. Penjernihan

Penjernihan dilakukan supaya dihasilkan jaringan yang bening dan transparan. Penjernihan preparat dilakukan dengan merendam gelas objek ke dalam larutan xilol sebanyak tiga kali perendaman, masing-masing selama dua menit.

l. Penutupan

Pada proses ini, setetes entelan diteteskan di atas preparat sebelum xilol mengering, kemudian ditutup perlahan-lahan dengan kaca penutup dan dijaga agar tidak terdapat gelembung udara.

m. Pengamatan

Pengamatan dilakukan secara mikroskopik dengan membandingkan preparat histologis antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400 kali. Pengamatan histologis pada jantung dengan cara melihat adanya infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, serta adanya fibrosis otot jantung. Pengamatan dilakukan sebanyak empat kali pada satu buah preparat, kemudian dihitung frekuensi timbulnya infiltrasi polimorfonuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, serta adanya fibrosis otot jantung yang dibandingkan antara kelompok I, II, III, IV, V dengan kelompok VI (kontrol).

10. Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari pengukuran aktivitas kreatinin kinase dan AST plasma diolah secara statistik dengan SPSS. 13 (34).



BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PERCOBAAN

1. Aktivitas Kreatinin Kinase Plasma

a. Tikus Putih Betina

Kelompok Kontrol	:	62,46 ± 27,25 U/L
Kelompok 1	:	70,83 ± 25,07 U/L
Kelompok 2	:	65,87 ± 31,85 U/L
Kelompok 3	:	47,19 ± 12,93 U/L
Kelompok 4	:	71,86 ± 31,04 U/L
Kelompok 5	:	67,92 ± 21,59 U/L

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 3 , Tabel 2 , Lampiran 6.

b. Tikus Putih Jantan

Kelompok Kontrol	:	83,92 ± 49,73 U/L
Kelompok 1	:	66,47 ± 37,57 U/L
Kelompok 2	:	77,92 ± 30,32 U/L
Kelompok 3	:	66,72 ± 14,31 U/L
Kelompok 4	:	60,18 ± 25,24 U/L
Kelompok 5	:	90,66 ± 61,46 U/L

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 3, Tabel 3, Lampiran 9.

2. Aktivitas AST Plasma

a. Kurva Kalibrasi

Persamaan garis, $y = 0,00818 + 0,0041012x$

Nilai Koefisien korelasi, $r = 0,9995$

y = Serapan

x = Nilai aktifitas GOT plasma (U/l)

Keterangan Selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 1, dan Tabel 1.

b. Tikus Putih Betina

Kelompok Kontrol	:	67,77 ± 16,76 U/L
Kelompok 1	:	71,27 ± 4,05 U/L
Kelompok 2	:	82,33 ± 9,26 U/L
Kelompok 3	:	67,7 ± 5,99 U/L
Kelompok 4	:	66,10 ± 17,63 U/L
Kelompok 5	:	73,41 ± 12,92 U/L

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2 , Tabel 4, Lampiran 12.

c. Tikus Putih Jantan

Kelompok Kontrol	:	81,73 ± 16,92 U/L
Kelompok 1	:	76,72 ± 22,13 U/L
Kelompok 2	:	84,31 ± 19,36 U/L
Kelompok 3	:	79,36 ± 11,51 U/L
Kelompok 4	:	67,43 ± 16,09 U/L

Kelompok 5 : 89,60 ± 17,87 U/L

Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2 , Tabel 5, Lampiran 15.

3. Pemeriksaan histologi pada jantung

Pengamatan dilakukan sebanyak empat kali terhadap satu preparat organ, dengan membandingkan antara kelima kelompok dosis dengan kelompok kontrol. Kemudian dicatat frekuensi timbulnya infiltrasi polimorf nuklear, perlemakan ruang antar serabut otot jantung, dan timbulnya fibrosis otot jantung. Hasil pengamatan terhadap preparat organ tersebut menunjukkan bahwa pemberian campuran ekstrak *Acalypha indica* L dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K tidak mempengaruhi organ jantung baik pada tikus putih jantan maupun betina. Keterangan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 9,10 , Tabel 6,7,8, dan 9.

B. PEMBAHASAN

Beberapa tahun ini obat tradisional mulai dikembangkan untuk menjadi terapi alternatif maupun penunjang dalam pengobatan berbagai macam penyakit. Sebagai contoh tanaman *Acalypha indica* Linn dan tanaman *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K. kedua tanaman ini secara empiris telah digunakan untuk pengobatan penyakit Gout. Untuk dapat digunakan sebagai obat pada pengobatan modern suatu bahan obat perlu melalui

beberapa pengujian untuk mengetahui kandungan zat, kasiat dan keamanan. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kandungan zat maupun untuk menjamin khasiat dari campuran kedua bahan tersebut sebagai obat. Kemudian selanjutnya perlu dilakukan penelitian untuk menguji keamanannya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi atau campuran ekstrak herba *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K yang di berikan secara peroral selama 30 terhadap organ jantung tikus putih jantan dan betina dilihat dari aktivitas enzim AST dan Kreatinin kinase plasma serta gambaran histologinya.

Dalam penelitian ini digunakan ekstrak akar *Acalpha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L].H.B.K. Dosis ekstrak herba *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus dan dosis ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L].H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus dalam bentuk campuran ekstrak berdasarkan penelitian sebelumnya telah terbukti memiliki khasiat untuk menurunkan kadar asam urat. Dari dosis tersebut kemudian dibuat setengah dan dua kali lipatnya, kemudian digunakan pula dosis ekstrak herba *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus dan dosis ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L].H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus dalam bentuk tunggal. Hal ini dilakukan karena dosis-dosis tersebut terbukti memberikan efek terhadap penurunan kadar asam urat (8).

Pada penelitian ini bahan atau larutan uji diberikan secara peroral sesuai dengan cara pemakaian pada manusia. Pada uji toksisitas sub kronik biasanya digunakan jangka waktu 28 sampai 90 hari, namun karena keterbatasan bahan uji yang diperoleh sehingga perlakuan hanya dapat dilakukan selama 30 hari. Tikus yang digunakan berumur kurang lebih 2 bulan karena pada usia tersebut tikus sudah memasuki kategori dewasa dan telah memiliki aktivitas hormonal yang stabil. Selain itu alasan digunakannya tikus putih dengan galur, umur, serta kondisi lingkungan yang sama adalah untuk mengurangi faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil percobaan (20).

Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 72 ekor, terdiri dari 36 ekor tikus jantan dan 36 ekor tikus betina. Masing-masing jenis kelamin dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol. Kelompok 1 adalah kelompok yang diberi dosis 1 yaitu ekstrak herba *Acalypha indica* Linn 2,7 g/200 g bb tikus dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,1 g/200 g bb tikus. Kelompok 2 adalah kelompok yang diberi dosis 2, yaitu ekstrak herba *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus. Kelompok 3 adalah kelompok yang diberi dosis 3, yaitu ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 10,8 g/200 g bb tikus dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,4 g/200 g bb tikus. Kelompok 4 diberi dosis 4, yaitu ekstrak herba *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus. Kelompok 5 diberi dosis 5, yaitu

ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus dan kelompok kontrol diberi larutan CMC 0,5%.

Pengaruh pemberian campuran ekstrak herba *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K terhadap jantung tikus putih jantan dan betina dilihat berdasarkan hasil pengukuran aktivitas kreatinin kinase plasma dan aspartat aminotrasferase (AST) plasma, serta gambaran histologi jantung secara mikroskopik. Ketiga parameter diatas dapat dijadikan indikator untuk mengetahui ada tidaknya kerusakan jantung. Pada infark miokard, kreatinin kinase dan AST yang banyak ditemukan pada otot jantung akan terlepas dari selnya sehingga kadarnya dalam serum menjadi tinggi. Ditemukannya kedua enzim tersebut dengan kadar tinggi pada serum merupakan penanda terjadinya kerusakan pada otot jantung (4).

Hasil pengukuran aktivitas kreatinin kinase plasma dan AST plasma kemudian diolah secara statistik. Perhitungan secara statistik diperlukan untuk memberikan penjelasan dan kesimpulan atas data-data yang diperoleh dari hasil pengukuran aktivitas enzim.

Metode analisis yang digunakan adalah metode analisis varian satu arah (ANOVA). Analisis varian adalah prosedur yang digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna diantara rata-rata hitung keenam kelompok data, dikaitkan dengan hubungan antara peningkatan dosis dan pangaruhnya terhadap aktivitas kreatinin kinase dan AST plasma. Uji ANOVA bisa dilakukan bila data yang diperoleh terdistribusi

normal dan bervariasi homogen. Oleh karena itu dilakukan juga uji distribusi normal menggunakan metode *shapiro-wilk* dan uji homogenitas dengan metode *Levene*.

Untuk mendukung pengamatan secara enzimatik terhadap adanya kerusakan pada jantung, dilakukan pula pengamatan secara histologis. Pada kasus infark miokard akan muncul sel polimorf nuklear, lalu terlihat pola adanya fibrosis pada otot jantung dan perlemakan pada ruang antar serabut otot jantung, ketiga kelainan tersebut merupakan rangkaian reaksi untuk mengganti jaringan yang cedera akibat infark dengan jaringan parut (25).

Pada pengukuran aktivitas enzim, sampel yang digunakan berupa plasma. Pengukuran aktivitas kreatinin kinase plasma menggunakan reagen kit (Lampiran 16). Prinsipnya adalah pembentukan kreatinin dan ATP yang dikatalis oleh kreatinin kinase. ATP yang dihasilkan dengan adanya glukosa dan dikatalis oleh enzim heksokinase membentuk glukosa-6-fosfat. Glukosa-6-fosfat ini dengan adanya enzim glukosa-6-fosfat dehidrogenase kemudian dioksidasi menjadi 6-fosfoglukonat, reaksi ini disertai dengan reduksi NADP^+ menjadi NADPH. Kecepatan pembentukan NADPH sebanding dengan aktivitas kreatinin kinase. Serapan NADPH diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 340 nm suhu 30°C. Nilai aktivitas kreatinin kinase diperoleh dengan mengukur kenaikan serapan NADPH per menit, kemudian dikalikan

dengan faktor konversi 4127. Aktifitas kreatinin kinase plasma dinyatakan dalam satuan unit internasional.

Hasil pengamatan data aktivitas kreatinin kinase secara statistik menunjukkan bahwa data aktivitas kreatinin kinase terdistribusi normal dan homogen atau identik. Keterangan selengkapnya dapat di lihat pada Lampiran 4,5,7 dan 8. Karena data tersebut berdistribusi normal, maka untuk menarik kesimpulan dapat dilakukan pengujian hipotesis secara statistik dengan uji analisis varian satu arah.

Hasil dari uji tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan aktivitas kreatinin kinase plasma yang berbeda secara bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, baik pada tikus jantan maupun tikus betina. Hal ini dapat dilihat dari nilai signifikasinya yang lebih besar dari 0,05. Nilai signifikansi pada kelompok tikus betina adalah 0,597 dan untuk tikus jantan adalah 0,921.

Pada pengukuran AST plasma prinsipnya adalah perpindahan gugus amino dari asam aspartat ke asam α -ketoglutarat untuk membentuk asam oksaloasetat dan asam glutamat yang dikatalis oleh enzim aspartat aminotrasferase (gambar 7). Untuk mengukur aktivitas enzim tersebut digunakan metode kolorimetri dimana terjadi reaksi antara gugus α -keto dari asam piruvat dengan zat warna 2,4-Dinitrofenilhidrazin membentuk 1-piruvat-2,4-dinitrofenil hidrazin yang berwarna coklat jernih dalam larutan basa dan memberikan serapan pada daerah cahaya tampak. Asam piruvat

disini merupakan pecahan dari asam oksaloasetat. Larutan yang terbentuk itu kemudian diukur pada panjang gelombang 446 nm.

Nilai serapan yang diperoleh kemudian diplot terhadap aktivitas AST plasma berdasarkan persamaan garis linier $y = 0,00818 + 0,0041012x$ yang diperoleh dengan membuat kurva kalibrasi. Persamaan garis linier ini memiliki koefisien korelasi sebesar 0.9995. Aktivitas AST plasma yang diperoleh dinyatakan dalam satuan unit internasional.

Data aktivitas AST plasma kemudian diolah secara statistik seperti pada pengolahan data kreatinin kinase plasma. Hasil uji statistik menunjukkan data aktivitas AST plasma terdistribusi normal dan bervariansi homogen (Lampiran 10,11, 13,dan 14). Selanjutnya untuk menarik kesimpulan maka dilakukan pengujian hipotesis dengan uji ANAVA satu arah. Hasil dari uji ANAVA ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara aktivitas AST plasma tikus pada kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol baik pada tikus jantan maupun betina. Nilai signifikansi pada kelompok tikus betina adalah 0,115 dan untuk tikus jantan adalah 0,852.

Tidak terjadinya peningkatan aktivitas enzim kreatinin kinase dan AST plasma secara tidak bermakna diduga karena pemberian campuran ekstrak herba *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K selama 30 hari tidak menyebabkan terjadinya kerusakan pada otot jantung. Sehingga tidak terjadi pelepasan enzim-enzim tersebut kedalam darah (4).

Dari hasil pengukuran kedua parameter tersebut, dapat disimpulkan bahwa campuran ekstrak herba *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K tidak berpengaruh pada jantung.

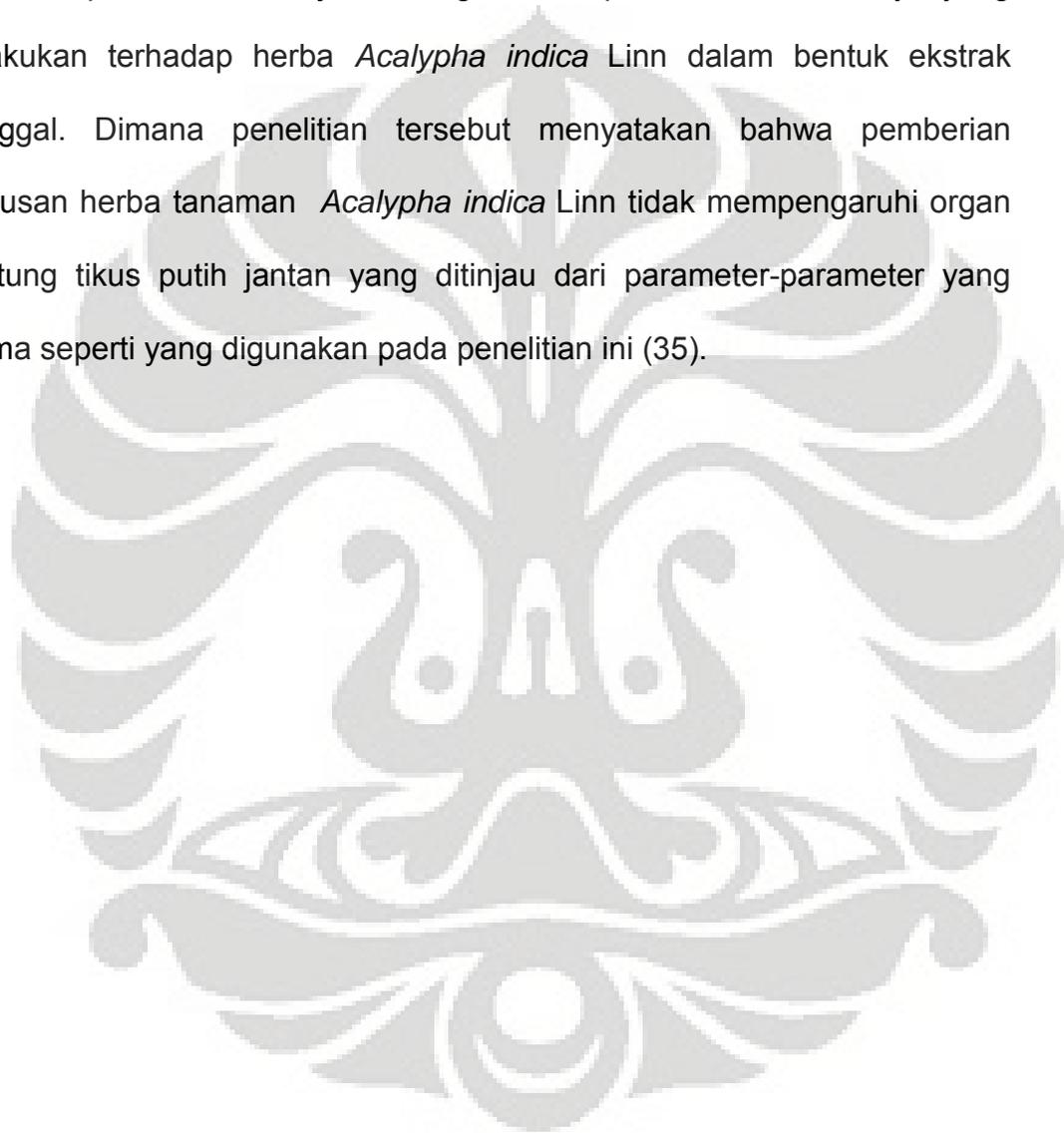
Untuk mendukung kesimpulan dari pemeriksaan secara enzimatik tersebut, maka dilakukan pengamatan histologi terhadap jantung hewan uji. Pada pengamatan ini dilihat apakah terdapat infiltrasi polimorf nuklear, fibrosis pada otot jantung dan perlemakan pada ruang antar serabut otot sebagai indikasi adanya kerusakan pada otot jantung. Kemudian frekuensi timbulnya kelainan-kelainan tersebut dikelompokkan menjadi tiga, yaitu 0x, 1-2x dan 3-4x dan dihitung persentasi timbulnya kelainan-kelainan tersebut.

Dari hasil pengamatan yang dilakukan terhadap lima kelompok perlakuan baik tikus jantan maupun tikus betina yang dibandingkan dengan kelompok kontrol, tidak ditemukan adanya kelainan berupa timbulnya infiltrasi polimorf nuklear yang disebabkan oleh pecahnya pembuluh darah, perlemakan ruang antar serabut, maupun adanya fibrosis otot. Dari hasil tersebut disimpulkan bahwa pemberian campuran ekstrak herba *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K tidak berpengaruh terhadap organ jantung berdasarkan pengamatan histologi secara mikroskopik.

Hasil pengamatan histologi jaringan ini mendukung hasil pemeriksaan enzimatik. Ketiga parameter yaitu aktivitas kreatinin kinase plasma, aspartat aminotransferase dan histologi jaringan, menunjukkan pemberian

campuran ekstrak akar *Acalypha indica* Linn dan ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K selama 30 hari tidak mempengaruhi organ jantung hewan uji.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan terhadap herba *Acalypha indica* Linn dalam bentuk ekstrak tunggal. Dimana penelitian tersebut menyatakan bahwa pemberian rebusan herba tanaman *Acalypha indica* Linn tidak mempengaruhi organ jantung tikus putih jantan yang ditinjau dari parameter-parameter yang sama seperti yang digunakan pada penelitian ini (35).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Pemberian campuran ekstrak herba *Acalypha indica* Linn dan *Peperomia pellucida* [L]. H.B.K selama 30 hari tidak mempengaruhi organ jantung tikus putih jantan dan betina ditinjau dari aktivitas kreatinin kinase plasma, aktivitas Aspartat Aminotransferase plasma dan histologi jantung.

B. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jangka waktu yang lebih lama atau dilanjutkan dengan uji toksisitas kronik dan uji toksisitas khusus meliputi uji karsinogenitas dan teratogenitas.

DAFTAR ACUAN

1. Tjokronegoro Arjatmo, Ali Baziad (eds). 1993. *Semiloka Etik Penelitian Obat Tradisional*. Jakarta: FKUI.
2. World Health Organization. 1993. *Research Guidelines for Evaluating The Safety and Efficacy of Herbal Medicine*. World Health Organization, Manila:1, 35-40.
3. Sukanton Utoyo. 1983. *Proceeding Simposium Penyakit Kardiovaskular dan Kardiologi Pencegahan*. Ikatan kekaryaan kardiovaskular Indonesia. Jakarta.
4. Price SA, Wilson LM. Patofisiologi Konsep Klinis Proses – Proses Penyakit Jilid I Edisi 4 Terj. dari *Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Process*. Alih bahasa: Peter Anugrah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1995: hlm. 468-470, 537-539.
5. Lu CF. Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko Edisi 2 Terj. dari *Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assesment*. Alih bahasa : Edi Nugroho. Jakarta: UI Press, 1995: hlm.1114
6. Syamsurizal, Hidayat D. 2006. *Pengaruh Pemberian Rebusan Akar Tanaman Akar Kucing (Acalypha Indica Linn)*, Skripsi Sarjana S1, Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI.
7. Kuncoro, Desy. 2004. *Pengaruh Ekstrak Etanol Herbasuruhan (Peperomia Pellucida {L} H.B.) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat dan Darah pada Tikus Putih Jantan*. Skripsi Sarjana S1, Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI.
8. Wirda, Nelly . 2006. *Pengaruh Kombinasi Ekstrak Rebusan Herba Akar Kucing (Acalypha Indica Linn) dan Herba Suruhan (Peperomia Pellucida {L} H.B.K.) terhadap Kadar Asam Urat Darah pada Tikus*

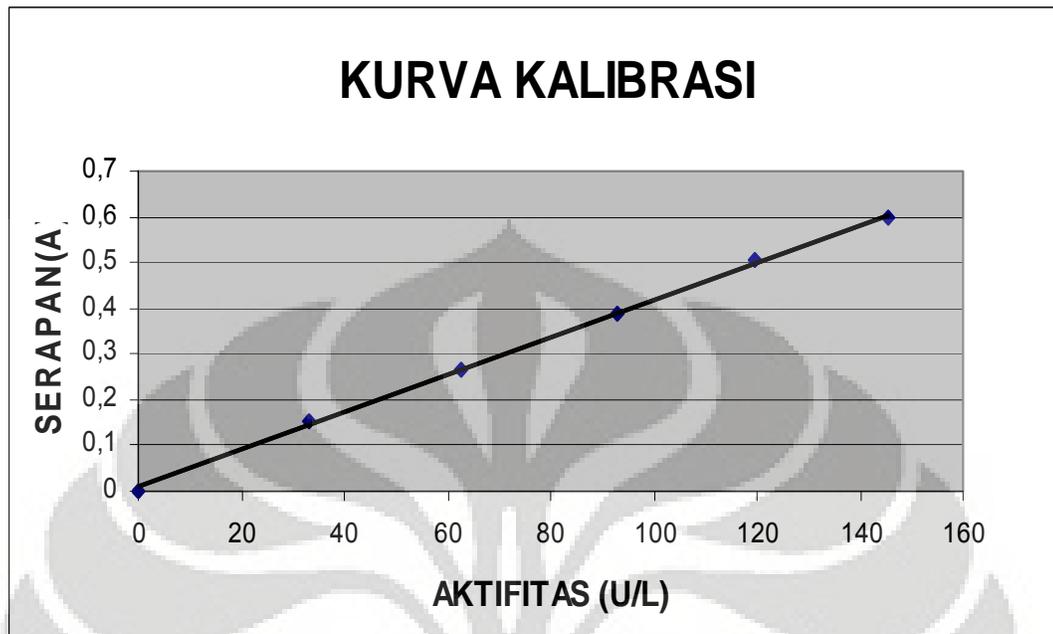
Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksonat. Skripsi Sarjana S1,
Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI.

9. Syamsuhidayat, Suganti S & Hutapea JR. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia II*, Departemen Kesehatan RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta : 5-6
10. Van Nalkenburg JLCH & Bunyaprapkatsara N. 2001. (ed.5) *Plant Resources of South East Asia No.12(2)*. Medical and Poisonous Plants 2. Leiden : backhugs ublisher : 31-35.
11. Hutapea JR. 1997. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan : 137-138
12. Simalango R. 2003. *Analisis Pendahuluan Kandungan Kimia Akar dan Herba Serta Pola Kromatogram Fraksi Etanol Ekstrak N-heksana Herba Acalypha indica, Linn yang Tumbuh di Depok*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, : 40.
13. Wijayakusuma H, Setiawan D, As Wirian. 1993. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia Jilid ke-3*. Jakarta : Pustaka Kartini :131-132
14. De Padua LS, N. Bunyapraphatsara, RHMJ Lemmens. 1999. *Plant Resources of South East Asia No.12(1)*. Medical and Poisonous Plants 1. Leiden: Backhugs Publisher : 379-381
15. Owen PI & Johns T. 1999. *Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Northeastern North American Plant Remedies Used for Gout*. Journal of ethnopharmacology. 64(2) : 149-160
16. Lin CM, Chien SC, Chien TC, Yu CL & Jen KL. 2002. *Molecular Modeling of Flavonoids that Inhibits Xanthine Oxidase*. Biochemical and Biophysical Research Communications. 294(1) :167-172
17. Arrigoni BMF, Ricardo LBO & Sandra SM dkk. *Seed Germination, Phenology, and Anhedematogenic Activity of Peperomia Pellucida (L.) H.B.K.* Dikutip dari <http://www.biomedcentral.com/1471-2210/2/12>

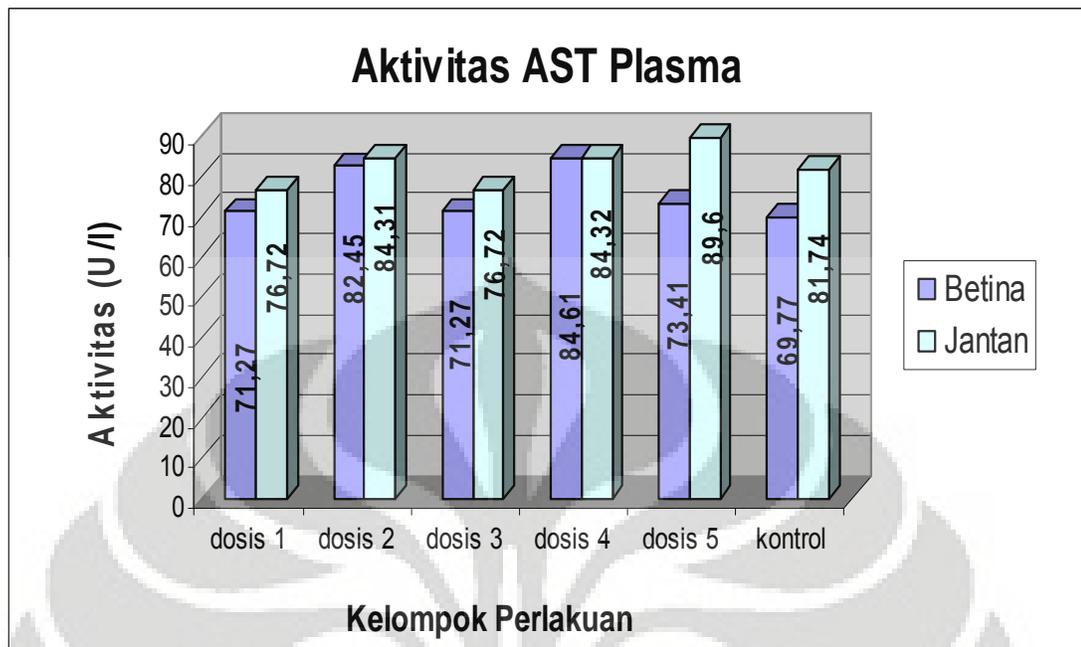
18. Dalimarta S. 2005. *Resep Tumbuhan Obat Untuk Asam Urat*. Jakarta : Penebar Swadaya :1-31
19. Setiawati A, Bustami ZS, Suyatna FD. 1995. *Pengantar Farmakologi Dalam : Farmakologi Dan Terapi Edisi 4*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI. Jakarta : Gaya Baru :21
20. Harmita, Radji M. 2004. *Buku Ajar Analisis Hayati*, Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok.
21. Nahrstedt A, JD Kant & V Wray. 1982. *Acalyphin, A Cyanogenic Glucoside From Acalypha Indica. Phytochemistry*. 21 :101-105
22. Sherwood L. Fisiologi Manusia: Dari Sel Ke System. Terj. dari *Human Physiology: From Cell To System*. Alih bahasa: Brahm U. Pedit Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG. 1996: hlm 256-265,276
23. Grollman, Sigmund. 1978. *The Human Body it's Structure and Physiology 4th Edition*. New York: Macmillan Publishing Co. Inc., 1978: hlm 235, 247-253.
24. Guyton Artur C, Hall John E, 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Terj. dari *Text Book of Medical Physiologi 9th Edition*. Editor bahasa Indonesia Irawati Setiawan. Penerbit buku kedokteran ECG, Jakarta
25. Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomik. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: Fakultas kedokteran UI, 1999: hlm. 110-116.
26. Lawrence ALK & Amendo JP. 1996. *Chemical Chemistry Theory, Analysis, Correlation 3^d Ed*. Philadelphia: Mosby Year Book Inc. h;m. 595-604.
27. Gaze, DC .2007. *The Role Of Existing And Novel Cardiac Biomarkers For Cardioprotection. Curr. Opin. Invest. Drugs* 8 (9): 711-717
28. Reitman, S & Frankel SA. *Colorimetric Methode for The Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic and Glutamic Pyruvic Transaminase* Am. J. Clin. Phatology.1957 (28): hlm. 56-63.
29. Anonim. 2007. *RANDOX: Manual CK NAC-activated*. United Kingdom: RANDOX Laboratories Ltd.

30. Woodley M & Whelan A. 1992. Pedoman Pengobatan Terj. Dari *Manual of Medical Therapeutic*. Departemen of Medicine Washington University. Hlm 677-680
31. Waynforth HB. 1980. *Experimental and Surgical Technique in The Rat*, Academic Press, London : 81-86.
32. Anonim. *Diagnostika MERCK Buku Pedoman Kerja Klinik*. E-Merck. P.O Box 4119, 1987: hlm 43-45, 79-90.
33. Tanzil, R. 1996. *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologis*. Bagian Histologis Fakultas Kedokteran UI
34. Trihandradi, C. 2006. *SPSS 13: Deskriptif, Parametric, Non Parametrik*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
35. Martini, Sri. 2006. *Pengaruh Pemberian Rebusan Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* Linn) terhadap Organ Jantung Tikus Putih Jantan ditinjau dari Aktivitas GOT, Kreatinin Kinase Plasma serta Gambaran Histology Jantung*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.





Gambar.1. Kurva Kalibrasi AST pada λ 446 nm, dengan persamaan garis $y = 0,00818 + 0,0041012x$ dan $r = 0,9995$



Gambar.2. Diagram batang aktivitas AST plasma pada keenam kelompok percobaan setelah perlakuan selama 30 hari.

Keterangan :

Dosis I : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 2,7 g/200 g bb tikus.

Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,1 g/200 g bb tikus.

Dosis II : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus.

Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus.

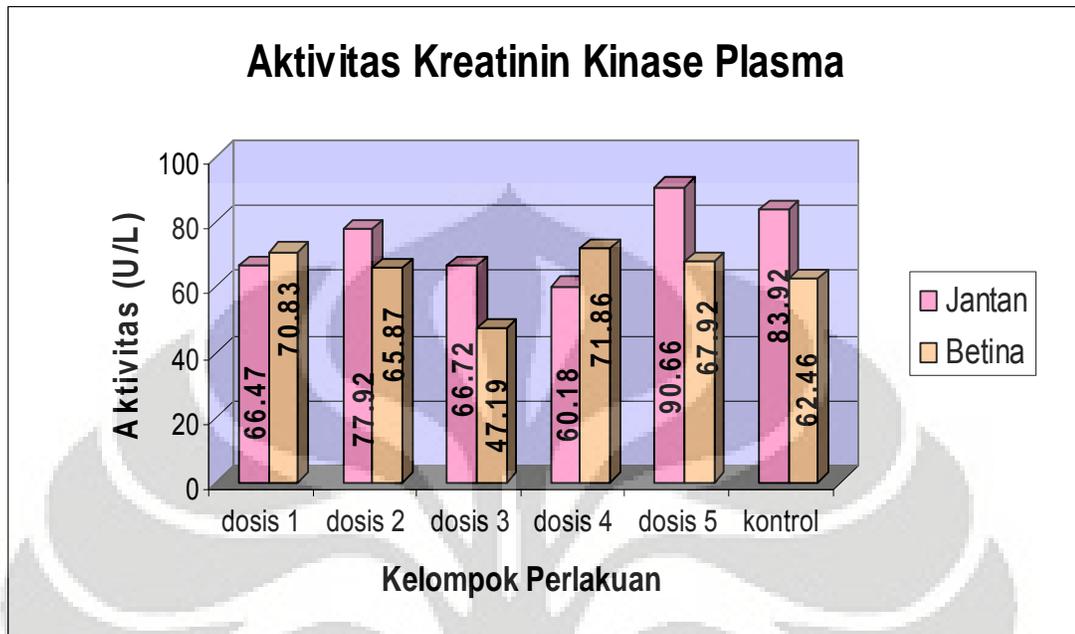
Dosis III : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 10,8 g/200 g bb tikus.

Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,4 g/200 g bb tikus.

Dosis IV : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus.

Dosis V : Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus.

Kontrol : Larutan CMC 0,5%.



Gambar.3. Diagram batang aktivitas Kreatinin kinase plasma pada keenam kelompok percobaan setelah perlakuan selama 30 hari.

Keterangan :

- Dosis I : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 2,7 g/200 g bb tikus.
Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,1 g/200 g bb tikus.
- Dosis II : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus.
Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus.
- Dosis III : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 10,8 g/200 g bb tikus.
Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,4 g/200 g bb tikus.
- Dosis IV : Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn 5,4 g/200 g bb tikus.
- Dosis V : Ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K 0,2 g/200 g bb tikus.
- Kontrol : Larutan CMC 0,5%.



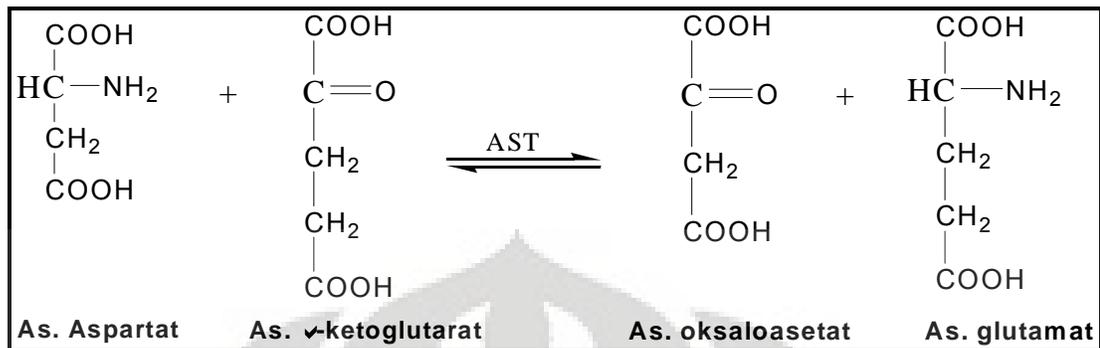
Gambar. 4. Pengambilan darah hewan uji *Rattus novergicus* melalui vena sinus orbitalis



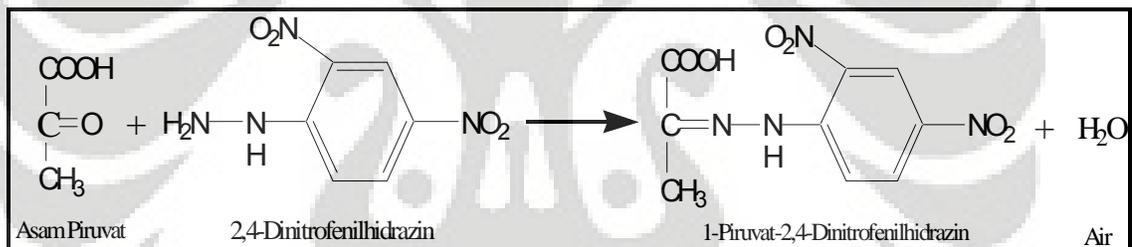
Gambar .5. Tanaman *Acalypha indica* Linn.



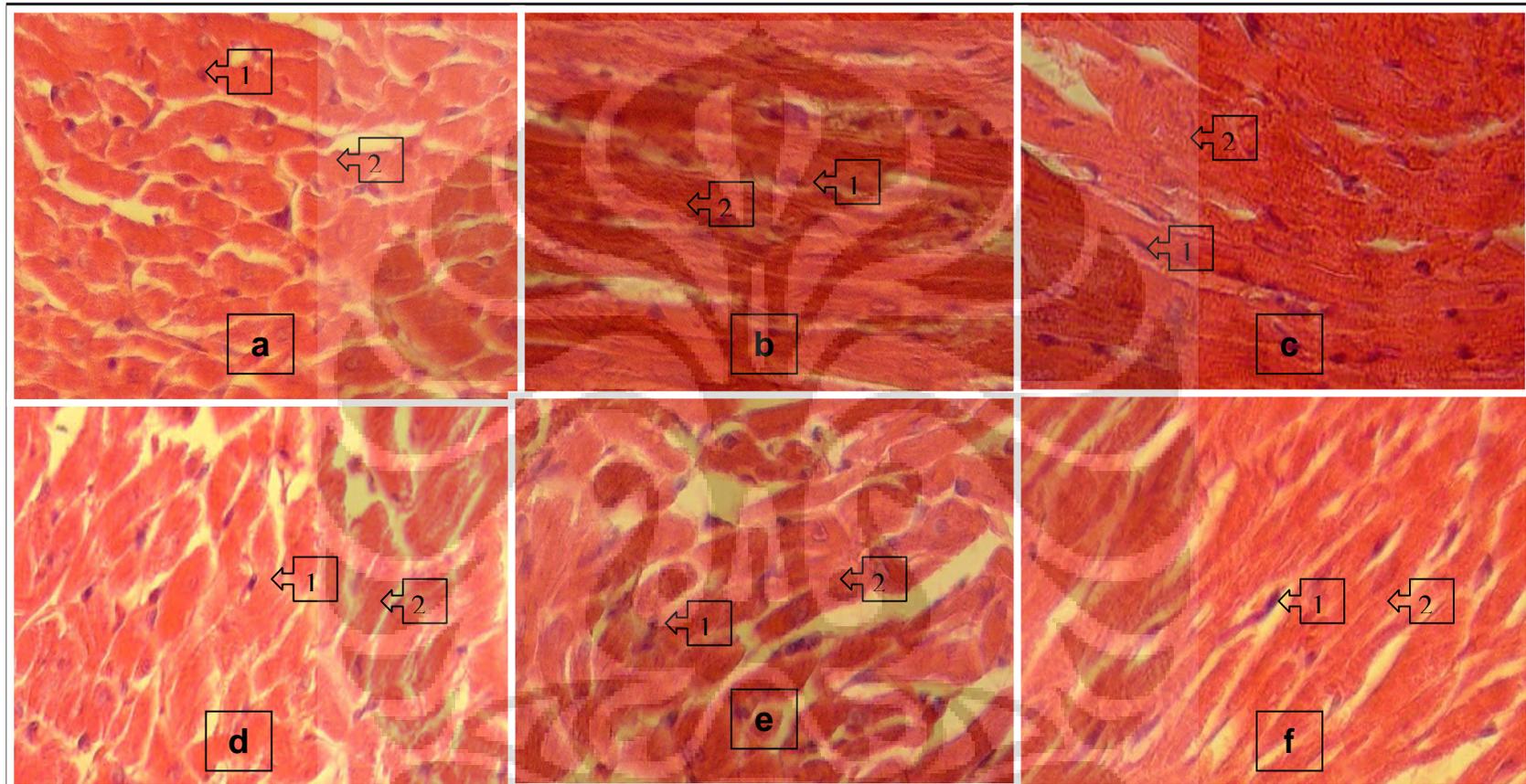
Gambar .6. Tanaman *Peperomia pellucida* [L].H.B.K.



Gambar.7. Reaksi pembentukan asam oksaloasetat dan asam glutamat yang dikatalis oleh enzim Aspartat Aminotrasferase

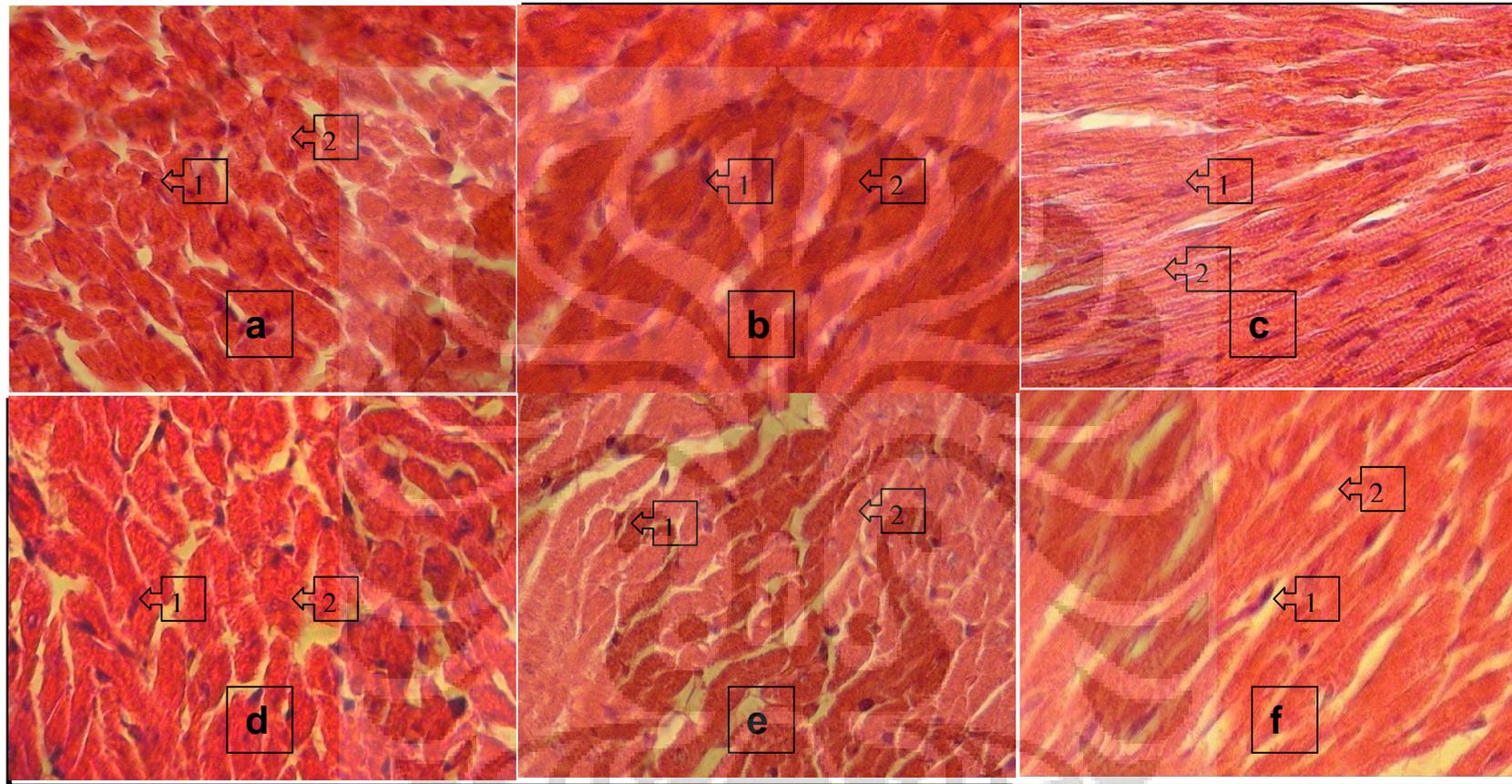


Gambar.8. Reaksi pembentukan warna pada pengukuran AST secara kolorimetri.



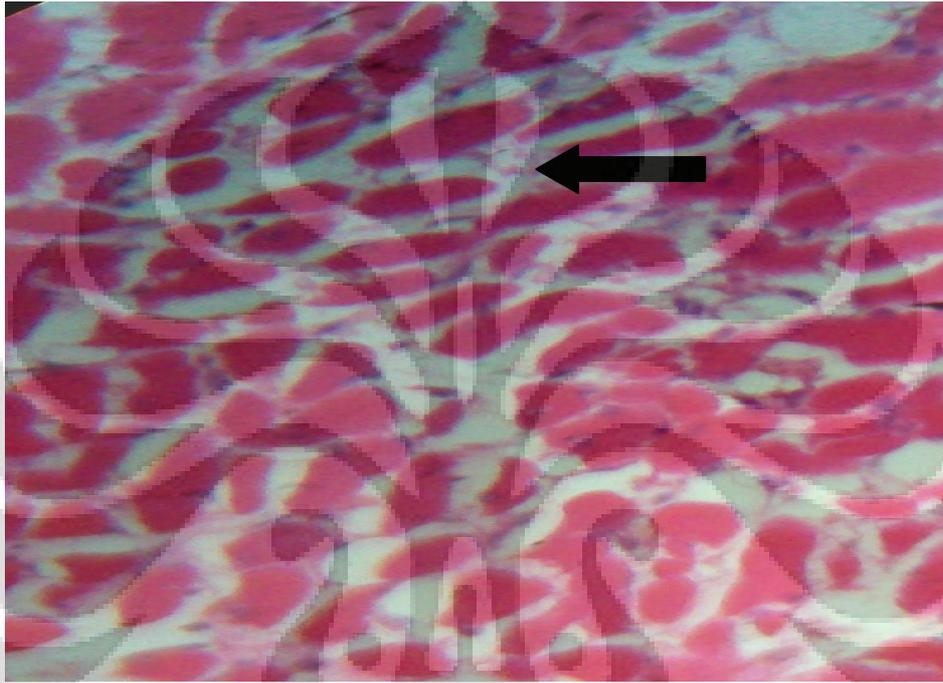
Gambar .9. Berurutan dari a-f merupakan Miokardium pada tikus putih jantan kelompok 1-5 dan kelompok kontrol setelah perlakuan selama 30 hari dengan perbesaran 400 x .

Keterangan : 1. Inti otot jantung
2. Fibroblas



Gambar .10. Berurutan dari a-f merupakan Miokardium pada tikus putih betina kelompok 1-5 dan kelompok kontrol setelah perlakuan selama 30 hari dengan perbesaran 400 x .

Keterangan : 1. Inti otot jantung
2. Fibroblas



Gambar . 11. Miokardium jantung tikus putih yang mengalami kerusakan, terlihat adanya serat-serat seperti benang yang menandakan jaringan telah mati sehingga sulit untuk dibuat preparat histologi.



TABEL

Tabel 1

**Hasil Pengukuran Serapan Berbagai Perbandingan Larutan Standard
Piruvat dan Dapar Fosfat Dalam Berbagai Konsentrasi untuk Pembuatan
Kurva Kalibrasi AST**

No Tabung	Larutan standar piruvat (ml)	Larutan dapar Fosfat (ml)	Nilai Aktifitas (U/l)*	Serapan (A)
1	0,00	1,00	0,0	0,000
2	0,10	0,90	33,0	0,152
3	0,20	0,80	62,5	0,265
4	0,30	0,70	93,0	0,390
5	0,40	0,60	119,5	0,505
6	0,50	0,50	145,5	0,597

Keterangan : * nilai aktivitas diperoleh dari literatur (32), serapan diperoleh dari hasil percobaan.

Tabel 2**Hasil Pengukuran Aktivitas Kreatinin Kinase Plasma Tikus Putih Betina**

Ulangan	Kelompok Perlakuan					
	Kontrol	1	2	3	4	5
1	52,00	68,51	96,54	42,10	104,35	45,40
2	94,92	47,05	108,03	57,78	52,83	54,48
3	70,16	103,81	35,49	37,14	53,11	58,60
4	32,19	99,78	34,67	28,89	91,62	101,30
5	34,67	51,36	46,22	57,78	100,35	60,25
6	90,79	54,47	74,28	59,43	28,89	87,49
Σ	374,73	425,98	397,23	286,12	435,15	412,52
X	70,83	65,87	47,19	71,86	67,92	63,46
SD	27,25	25,07	31,85	12,93	31,04	21,59

Keterangan : kelompok 1 diberi dosis 1; kelompok 2 diberi dosis 2; kelompok 3 diberi dosis 3; kelompok 4 diberi dosis 4; kelompok 5 diberi dosis 5; kelompok kontrol diberi larutan CMC 0,5%

Tabel 3**Hasil Pengukuran Aktivitas Kreatinin Kinase Plasma Tikus Putih Jantan**

Ulangan	Kelompok Perlakuan					
	Kontrol	1	2	3	4	5
1	100,70	33,02	110,41	78,41	104,38	80,06
2	110,13	63,56	60,25	44,57	54,48	51,18
3	37,97	33,02	50,35	79,23	41,27	36,32
4	28,89	111,43	86,67	78,41	33,02	118,38
5	111,43	43,67	45,40	57,78	70,16	41,27
6	64,38	114,13	114,44	61,91	57,78	116,73
Σ	453,5	399,83	469,52	403,31	365,09	448,94
X	83,92	66,47	77,92	66,72	60,18	90,66
SD	49,73	37,57	30,32	14,31	25,24	61,46

Keterangan : kelompok 1 diberi dosis 1; kelompok 2 diberi dosis 2; kelompok 3 diberi dosis 3; kelompok 4 diberi dosis 4; kelompok 5 diberi dosis 5; kelompok kontrol diberi larutan CMC 0,5%

Tabel 4
Hasil Pengukuran Aktivitas AST Plasma Tikus Putih Betina

Ulangan	Kelompok Perlakuan					
	Kontrol	1	2	3	4	5
1	66.28	72.37	90.42	65.06	73.84	68.74
2	78.71	68.72	78.22	71.4	84.56	74.69
3	76.03	75.29	81.15	77.74	116.02	96.51
4	40.43	67.47	84.56	63.84	88.95	65.55
5	89.93	67.25	67.01	61.16	64.33	58.96
6	67.25	76.52	92.61	61.905	79.93	76.03
Σ	418.63	428.62	495.97	404.105	511.63	445.48
X	67,77	71,27	82,33	67,70	66,10	73,41
SD	16,76	4,05	9,26	5,99	17,63	12,92

Keterangan : kelompok 1 diberi dosis 1; kelompok 2 diberi dosis 2; kelompok 3 diberi dosis 3; kelompok 4 diberi dosis 4; kelompok 5 diberi dosis 5; kelompok kontrol diberi larutan CMC 0,5%

Tabel 5
Hasil Pengukuran Aktivitas AST Plasma Tikus Putih Jantan

Ulangan	Kelompok Perlakuan					
	Kontrol	1	2	3	4	5
1	77.35	77.01	71.64	78.41	90.42	55.79
2	100.9	78.73	96.27	44.57	107.24	99.44
3	80.18	104.8	76.23	79.23	79.44	107.73
4	101.88	36.86	83.35	78.41	77.98	88.22
5	58.72	84.81	63.35	57.78	59.45	93.83
6	71.39	78.09	85.3	61.905	91.39	92.61
Σ	490.42	461.3	478.14	403.305	509.92	542.62
X	81,73	76,72	84,31	79,36	67,43	89,60
SD	16,92	22,13	19,36	11,51	16,09	17,87

Keterangan : kelompok 1 diberi dosis 1; kelompok 2 diberi dosis 2; kelompok 3 diberi dosis 3; kelompok 4 diberi dosis 4; kelompok 5 diberi dosis 5; kelompok kontrol diberi larutan CMC 0,5%

Tabel 6

Hasil Pengamatan Otot Jantung pada Enam Kelompok Tikus Putih Betina Setelah Perlakuan Selama 30 Hari

Ulangan	1			2			3			4			5			kontrol		
	IP	PL	F	IP	PL	F												
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : Kelompok 1 diberi dosis 1; kelompok 2 diberi dosis 2; kelompok 3 diberi dosis 3; kelompok 4 diberi dosis 4; kelompok 5 diberi dosis 5; kelompok kontrol diberi larutan CMC 0,5%.

IP : Infiltrasi polimorf nuklear

PL : Perlemakan ruang antar serabut otot

F : Fibrosis otot

- : 0 kali

+ : 1-2 kali

++ : 3-4 kali

Tabel 7

Hasil Pengamatan Otot Jantung pada Enam Kelompok Tikus Putih Jantan Setelah Perlakuan Selama 30 Hari

Ulangan	1			2			3			4			5			kontrol		
	IP	PL	F	IP	PL	F												
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : Kelompok 1 diberi dosis 1; kelompok 2 diberi dosis 2; kelompok 3 diberi dosis 3; kelompok 4 diberi dosis 4; kelompok 5 diberi dosis 5; kelompok kontrol diberi larutan CMC 0,5%.

IP : Infiltrasi polimorf nuklear

PL : Perlemakan ruang antar serabut otot

F : Fibrosis otot

- : 0 kali

+ : 1-2 kali

++ : 3-4 kali

Tabel 8

**Presentasi Frekuensi Timbulnya Hasil Pengamatan Otot Jantung Tikus
Putih Betina Pada Keenam Kelompok
Setelah Perlakuan Selama 30 Hari**

Pengamatan	Frekuensi	Jumlah (%)					
		1	2	3	4	5	6
Infiltrasi polimorf nuklear	0 kali	100	100	100	100	100	100
	1-2 kali	0	0	0	0	0	0
	3-4 kali	0	0	0	0	0	0
Perlmakan ruang antar serabut	0 kali	100	100	100	100	100	100
	1-2 kali	0	0	0	0	0	0
	3-4 kali	0	0	0	0	0	0
Fibrosis otot jantung	0 kali	100	100	100	100	100	100
	1-2 kali	0	0	0	0	0	0
	3-4 kali	0	0	0	0	0	0

Keterangan : kelompok 1 diberi dosis 1; kelompok 2 diberi dosis 2; kelompok 3 diberi dosis 3; kelompok 4 diberi dosis 4; kelompok 5 diberi dosis 5; kelompok 6 merupakan kelompok kontrol. Pada satu ekor tikus pada kelompok 2 ditemukan adanya infiltrasi polimorf nuklear dengan persentase kemunculan sebesar 16,7%.

Tabel 9

Presentasi Frekuensi Timbulnya Hasil Pengamatan Otot Jantung Tikus Putih Jantan Pada Keenam Kelompok Setelah Perlakuan Selama 30 Hari

Pengamatan	Frekuensi	Jumlah (%)					
		1	2	3	4	5	6
Infiltrasi polimorf nuklear	0 kali	100	100	100	100	100	100
	1-2 kali	0	0	0	0	0	0
	3-4 kali	0	0	0	0	0	0
Perlmakan ruang antar serabut	0 kali	100	100	100	100	100	100
	1-2 kali	0	0	0	0	0	0
	3-4 kali	0	0	0	0	0	0
Fibrosis otot jantung	0 kali	100	100	100	100	100	100
	1-2 kali	0	0	0	0	0	0
	3-4 kali	0	0	0	0	0	0

Keterangan : kelompok 1 diberi dosis 1; kelompok 2 diberi dosis 2; kelompok 3 diberi dosis 3; kelompok 4 diberi dosis 4; kelompok 5 diberi dosis 5; kelompok 6 merupakan kelompok kontrol. Pada kelima kelompok perlakuan tidak ditemukan perbedaan dengan kelompok kontrol.



Lampiran 1

Cara Perhitungan Dosis dan Pembuatan Larutan Uji

A. Herba *Acalypha indica* Linn

Rendemen ekstrak = 10 %

Berat dosis yang ditimbang untuk 1 ekor tikus :

$$\begin{aligned}\text{Misal, dosis 2} &= 5,4 \text{ g}/200 \text{ g bb} \\ &= 5,4 \text{ g} \times 10\% = 0,54 \text{ gram}\end{aligned}$$

Volume pemberian 4 ml/200 g bb tikus :

$$0,54 \text{ g}/4 \text{ ml} = 0,135 \text{ g/ml}$$

B. Herba *Peperomia pellucida* [L] H.B.K

Rendemen ekstrak = 24%

Berat dosis yang ditimbang untuk 1 ekor tikus :

$$\begin{aligned}\text{Misal, dosis 2} &= 0,2 \text{ g}/200 \text{ g bb} \\ &= 0,2 \text{ g} \times 24\% = 0,048 \text{ gram}\end{aligned}$$

Volume pemberian 4 ml/200 g bb tikus :

$$0,048 \text{ g}/4 \text{ ml} = 0,012 \text{ g/ml}$$

C. Pembuatan Larutan Uji

Jika akan dibuat larutan uji untuk 12 ekor tikus dengan volume pemberian 4 ml/200 g bb, maka :

$4 \text{ ml} \times 12 = 48 \text{ ml}$ → dilebihkan menjadi 60 ml, maka ekstrak yang ditimbang adalah 8,1 g untuk ekstrak akar *Acalypha indica* Linn dan 0,72 g untuk ekstrak herba *Peperomia pellucida* [L].H.B.K. kemudian suspensikan kedua ekstrak dengan CMC 0,5 % (empat dosis lainnya dibuat dengan cara yang sama).

Lampiran 2

Cara Menghitung Aktivitas AST Plasma Menggunakan Kurva Kalibrasi

Persamaan linier $y = a + bx$

Kurva kalibrasi AST plasma :

$$y = 0,00818 + 0,0041012x$$

$$r = 0,9995$$

y = Serapan

x = Nilai aktifitas GOT plasma (U/l)

cara memperoleh nilai x , dengan rumus :

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

Dimisalkan serapan (y) sebesar 0,379, maka

$$x = \frac{0,379 - 0,00818}{0,0041012}$$

$$= 90,42 \text{ U/l}$$

Lampiran 3

Cara Menghitung aktivitas Kreatinin Kinase Plasma dengan Menggunakan Reagen Kit

Pipet kedalam kuvet semi mikro 0,04 ml sampel plasma dan 0,1 ml pereaksi. Kocok hingga merata lalu diamkan selama 2 menit pada suhu 30 °C . Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 340 nm. Catat serapan awal (A_1), lalu lima menit kemudian catat serapan kedua (A_2). Selanjutnya dihitung serapan per menit ($\Delta A/\text{menit}$).

$$\Delta A/\text{menit} = \frac{A_1 - A_2}{5}$$

Hasilnya lalu dikalikan dengan faktor konfersi 4127 yang tercantum dalam reagen kit.

$$U/I (30^\circ\text{C}) = 4127 \times \Delta A_{340\text{nm}}/\text{menit}$$

Lampiran 4

Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih betina

Tujuan :

Untuk mengetahui distribusi data kreatinin kinase plasma tikus putih betina.

Hipotesis :

Ho : Data kreatinin kinase plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

Ha : Data kreatinin kinase plasma tikus putih betina tidak terdistribusi inormal.

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

	Shapro-Wilk		
	Statistik	db	Signifikasi
Kelompok I	0,838	6	0,126
Kelompok II	0,879	6	0,266
Kelompok III	0,860	6	0,190
Kelompok IV	0,884	6	0,287
Kelompok V	0,883	6	0,281
Kelompok VI	0,896	6	0,352

Pada kesemua kelompok nilai signifikasi $> 0,05$; maka Ho diterima

Kesimpulan :

Data kreatinin kinase plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

Lampiran 5

Uji homogenitas Levene terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih betina

Tujuan :

Untuk mengetahui variansi data kreatinin kinase plasma tikus putih betina.

Hipotesis :

Ho : Data kreatinin kinase plasma tikus putih betina bervariasi normal.

Ha : Data kreatinin kinase plasma tikus putih betina tidak bervariasi normal.

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

Uji Levene	db1	db2	Signifikansi
2,308	5	30	0,069

Nilai signifikansi = 0,069 ; jika signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

Data kreatinin kinase plasma tikus putih betina bervariasi homogen.

Lampiran 6

Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih betina

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data kreatinin kinase plasma tikus putih betina berdasarkan perlakuan dosis.

Hipotesis :

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

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

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	Db	Kuadrat rata-rata	F	Signifikasi
Antar Kelompok	2469,580	5	493,916	0,744	0,597
Dalam Kelompok	19912,689	30	663,756		
Total	22382,269	35			

Nilai signifikansi = 0,597 ; jika signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

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

Lampiran 7

Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan

- Tujuan :
Untuk mengetahui distribusi data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan.
- Hipotesis :
Ho : Data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.
Ha : Data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan tidak terdistribusi normal.
- Taraf nyata :
Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$
- Kriteria pengujian :
Jika signifikansi $< 0,05$; maka Ho ditolak
Jika signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima
- Hasil perhitungan :

	Shapro-Wilk		
	Statistik	db	Signifikasi
Kelompok I	0,816	6	0,082
Kelompok II	0,880	6	0,267
Kelompok III	0,852	6	0,164
Kelompok IV	0,925	6	0,540
Kelompok V	0,855	6	0,172
Kelompok VI	0,858	6	0,181

Pada semua kelompok nilai signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima

Kesimpulan :

Data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.

Lampiran 8

Uji homogenitas Levene terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan

Tujuan :

Untuk mengetahui variasi data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan.

Hipotesis :

Ho : Data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan bervariasi normal.

Ha : Data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan tidak bervariasi normal.

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

Uji Levene	db1	db2	Signifikasi
2,378	5	30	0,062

Nilai signifikansi = 0,062 ; jika signifikansi $< 0,05$; maka Ho ditolak, Ha diterima.

Kesimpulan :

Data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan tidak bervariasi homogen.

Lampiran 9

Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis.

Hipotesis :

Ho : Tidak ada perbedaan data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis.

Ha : Ada perbedaan data kreatinin kinase plasma tikus putih jantan berdasarkan perlakuan dosis.

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat rata-rata	F	Signifikasi
Antar Kelompok	1375,945	5	275,189	0,279	0,921
Dalam Kelompok	29539,501	30	984,650		
Total	30915,446	35			

Nilai signifikansi = 0,921 ; jika signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

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

Lampiran 10

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

Tujuan :

Untuk mengetahui distribusi data AST plasma tikus putih betina.

Hipotesis :

Ho : Data AST plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

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

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

	Shapro-Wilk		
	Statistik	db	Signifikasi
Kelompok I	0,876	6	0,252
Kelompok II	0,950	6	0,737
Kelompok III	0,934	6	0,614
Kelompok IV	0,923	6	0,529
Kelompok V	0,914	6	0,460
Kelompok VI	0,927	6	0,558

Pada semua kelompok nilai signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

Data AST plasma tikus putih betina berdistribusi normal.

Lampiran 11

Uji homogenitas Levene terhadap data AST plasma tikus putih betina

Tujuan :

Untuk mengetahui variasi data AST plasma tikus putih betina.

Hipotesis :

Ho : Data AST plasma tikus putih betina bervariasi normal.

Ha : Data AST plasma tikus putih betina tidak bervariasi normal.

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

Uji Levene	db1	db2	Signifikansi
1,263	5	30	0,306

Nilai signifikansi = 0,306 ; jika signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

Data AST plasma tikus putih betina bervariasi homogen.

Lampiran 12

Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data AST plasma tikus putih betina

Tujuan :

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

Hipotesis :

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

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

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat rata-rata	F	Signifikasi
Antar Kelompok	1457,124	5	291,425	1,949	0,115
Dalam Kelompok	4484,737	30	149,491		
Total	5941,861	35			

Nilai signifikansi = 0,115 ; jika signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

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

Lampiran 13

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

Tujuan :

Untuk mengetahui distribusi data AST plasma tikus putih jantan.

Hipotesis :

Ho : Data AST plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.

Ha : Data AST plasma tikus putih jantan tidak terdistribusi i normal.

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

	Shapro-Wilk		
	Statistik	db	Signifikasi
Kelompok I	0,861	6	0,194
Kelompok II	0,906	6	0,412
Kelompok III	0,991	6	0,991
Kelompok IV	0,971	6	0,899
Kelompok V	0,841	6	0,133
Kelompok VI	0,920	6	0,503

Pada semua kelompok nilai signifikasi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

Data AST plasma tikus putih jantan berdistribusi normal.

Lampiran 14

Uji homogenitas Levene terhadap data AST plasma tikus putih jantan

Tujuan :

Untuk mengetahui variasi data AST plasma tikus putih jantan.

Hipotesis :

Ho : Data AST plasma tikus putih jantan bervariasi normal.

Ha : Data AST plasma tikus putih jantan tidak bervariasi normal.

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

Uji Levene	db1	db2	Signifikasi
0,182	5	30	0,967

Nilai signifikansi = 0,967 ; jika signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

Data AST plasma tikus putih jantan bervariasi homogen.

Lampiran 15

Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data AST plasma tikus putih jantan

Tujuan :

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

Hipotesis :

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

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

Taraf nyata :

Nilai α yang digunakan pada $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian :

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

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

Hasil perhitungan :

	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat rata-rata	F	Signifikasi
Antar Kelompok	604,648	5	120,930	0,390	0,852
Dalam Kelompok	9309,671	30	310,322		
Total	9914,319	35			

Nilai signifikansi = 0,852 ; jika signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima.

Kesimpulan :

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

Lampiran 16

Petunjuk Penggunaan Reagen Kit CK-NAC untuk Pengukuran Aktifitas Kreatinin Kinase Plasma

RANDOX

CK NAC-activated (CK-NAC)

Creatine Kinase EC 2.7.3.2
MANUAL

INTENDED USE

For the quantitative *in vitro* determination of Creatine Kinase in serum or plasma. This product is suitable for Manual use.

Cat. No.	R1a.	Buffer/Glucose	1 x 70 ml
CK 110	R1b.	Enzymes/Coenzymes/ Substrate	20 x 2.5 ml
CK 335	R1a.	Buffer/Glucose	1 x 70 ml
20 x 3.0 ml	R1b.	Enzymes/Coenzymes/ Substrate	20 x 3.0 ml
CK 522	R1a.	Buffer/Glucose	1 x 105 ml
10 x 10 ml	R1b.	Enzymes/Coenzymes/ Substrate	10 x 10 ml
CK 113	R1a.	Buffer/Glucose	2 x 100 ml
6 x 30 ml	R1b.	Enzymes/Coenzymes/ Substrate	6 x 30 ml

CLINICAL SIGNIFICANCE⁽³⁾

Creatine Kinase (CK) is primarily found in striated muscle, brain and heart tissues. The determination of CK activity in plasma or serum, provides a sensitive marker for the detection of skeletal muscle disease. e.g. In Duchenne type muscular dystrophy levels of CK up to 50 times the upper limit of normal may be encountered. In progressive muscular dystrophy enzyme activity in serum is highest in infancy and childhood.

CK activity is also useful in diagnosis of myocardial infarction and cerebrovascular accidents.

The determination of CK using creatine phosphate and adenosine-5'-diphosphate (ADP) as substrates rather than creatine and adenosine-5'-triphosphate (ATP) has several advantages in test performance as it allows for a faster reaction rate resulting in greater sensitivity. Small sample volumes are used and sample blanks are not required.

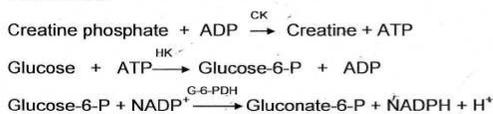
Due to the oxidation of the sulphhydryl groups in the active site of creatine kinase, it is very unstable. The enzyme however, is reactivated by the addition of thiol compounds.

N-acetyl-L-cysteine (NAC), is included in the test for this reason. Also included in the test system are adenosine-5'-monophosphate (AMP) and diadenosine pentaphosphate, these are present to inhibit myokinase activity which interferes. No sulphates are present in the test system as these alter the reaction kinetics.

UV METHOD⁽¹⁾

This is an optimized standard method according to the recommendations of the Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie.

PRINCIPLE



SAMPLE

Serum, heparinized or EDTA plasma.

REAGENT COMPOSITION

Contents	Concentrations in the Test
R1a. Buffer/Glucose	
Imidazole buffer	0.10 mol/l, pH 6.7
Glucose	20 mmol/l
Mg-acetate	10 mmol/l
EDTA	2.0 mmol/l
R1b. Enzymes/Coenzymes/Substrate	
ADP	2.0 mmol/l
AMP	5.0 mmol/l
Diadenosine pentaphosphate	10 µmol/l
NADP	2.0 mmol/l
HK	≥2.5 U/ml
G-6-PDH	≥1.5 U/ml
N-acetylcysteine	20 mmol/l
Creatine phosphate	30 mmol/l

SAFETY PRECAUTIONS AND WARNINGS

For *in vitro* diagnostic use only. Do not pipette by mouth. Exercise the normal precautions required for handling laboratory reagents.

R1a contains Sodium Azide. Avoid ingestion or contact with skin or mucous membranes. In case of skin contact, flush affected area with copious amounts of water. In case of contact with eyes or if ingested, seek immediate medical attention.

Sodium Azide reacts with lead and copper plumbing, to form potentially explosive azides. When disposing of such reagents flush with large volumes of water to prevent azide build up. Exposed metal surfaces should be cleaned with 10% sodium hydroxide.

Health and Safety data sheets are available on request.

The reagents must be used only for the purpose intended by suitably qualified laboratory personnel, under appropriate laboratory conditions.

STABILITY AND PREPARATION OF REAGENTS

R1a. Buffer/Glucose
Contents ready for use. Stable up to the expiry date when stored at +2 to +8°C.

R1b. Enzymes/Coenzymes/Substrate
Reconstitute one vial of Enzymes/Coenzymes/ Substrate R1b with the appropriate volume of Buffer/Glucose R1a:-
2.5 ml for the 20 x 2.5 ml kit (CK 110)
3.0 ml for the 20 x 3.0 ml kit (CK 335)
10 ml for the 10 x 10 ml kit (CK 522)
30 ml for the 6 x 30 ml kit (CK 113)
Stable for 3 weeks at +2 to +8°C or 3 days at +15 to +25°C.

MATERIALS PROVIDED

Buffer/Glucose
Enzymes/Coenzymes/Substrate

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Randox Assayed Multisera Level 2 (Cat. No. HN 1530) and Level 3 (Cat. No. HE 1532)

PROCEDURES

Wavelength: 340 nm, Hg 365 nm or Hg 334 nm
Cuvette: 1cm light path
Temperature: 25°C/30°C/37°C
Measurement: against air

Pipette into cuvette: 25°C/30°C 37°C

	Macro	Semi Micro	Macro	Semi Micro
Enzymes/Coenzymes/ Substrate	2.5 ml	1.0 ml	2.5 ml	1.0 ml
Sample	0.1 ml	0.04 ml	0.05 ml	0.02 ml

Mix, incubate for :-
3 min at 25°C ✓
2 min at 30°C ✓
1 min at 37°C ✓

Read initial absorbance and start timer simultaneously.
Read again after 1, 2 and 3 min.

CALCULATION

To calculate the CK activity use the following formulae:

25°C/30°C		37°C	
U/l = 4127 x Δ A 340 nm/min		U/l = 8095 x Δ A 340 nm/min	
U/l = 4207 x Δ A Hg 334 nm/min		U/l = 8252 x Δ A Hg 334 nm/min	
U/l = 7429 x Δ A Hg 365 nm/min		U/l = 14571 x Δ A Hg 365 nm/min	

QUALITY CONTROL

Randox Assayed Multisera, Level 2 and Level 3 are recommended for daily quality control. Two levels of controls should be assayed at least once a day. Values obtained should fall within a specified range. If these values fall outside the range and repetition excludes error the following steps should be taken:

1. Check instrument settings and light source.
2. Check cleanliness of all equipment in use.
3. Check water, contaminants ie bacterial growth may contribute to inaccurate results.
4. Check reaction temperature.
5. Check expiry date of kit and contents.
6. Contact Randox Laboratories Customer Technical Support, Northern Ireland (028) 94422413.

INTERFERENCE

Avoid haemolysis as it interferes with the assay.

NORMAL VALUES IN SERUM^(2,3)

	25°C	30°C	37°C
Men	10-80 U/l	15-130 U/l	24-195 U/l
Women	10-70 U/l	15-110 U/l	24-170 U/l

It is recommended that each laboratory establish its own reference range to reflect the age, sex, diet and geographical location of the population.

LINEARITY

If the absorbance change per minute exceeds
0.25 at 340 nm/ Hg 334 nm
0.14 at Hg 365 nm

dilute 0.1 ml of sample with 0.9 ml of 0.9% NaCl solution and reassay. Multiply the result by 10.

REFERENCES

1. Rec. GSCC (DGKC); J. Clin. Chem. Clin. Biochem 1977; 15: 255.
2. Stein, W. (1985), Med. Welt 36: 572.
3. Szasz, G., et al. Clin. Chem 1976; 22: 650.

Revised 09 Jan 07 aw

RANDOX Laboratories Ltd., Ardmore, Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, BT29 4QY
Tel: CRUMLIN (028)94422413 Fax.No.INT.44 (028)94452912 UK (028)94452912
Email: applications@randox.com Website: www.randox.com

