

**PENGARUH PEMBERIAN OBAT LS TERHADAP FUNGSI HATI DITINJAU
DARI AKTIVITAS ALANIN AMINOTRANSFERASE PLASMA DAN
GAMBARAN HISTOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH**

**ALEF FESTIAWATI
030525005Y**



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

**PENGARUH PEMBERIAN OBAT LS TERHADAP FUNGSI HATI DITINJAU
DARI AKTIVITAS ALANIN AMINOTRANSFERASE PLASMA DAN
GAMBARAN HISTOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH**

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

ALEF FESTIAWATI

030525005Y



DEPOK

2008

**SKRIPSI : PENGARUH PEMBERIAN OBAT LS TERHADAP FUNGSI HATI
DITINJAU DARI AKTIVITAS ALANIN AMINOTRANSFERASE
PLASMA DAN GAMBARAN HISTOLOGI HATI PADA TIKUS
PUTIH**

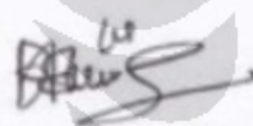
NAMA : ALEF FESTIAWATI

NPM : 030525005Y

**SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI
DEPOK, JUNI 2008**



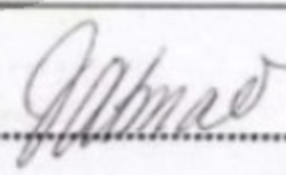
**Santi Purna Sari, M.Si
Pembimbing I**



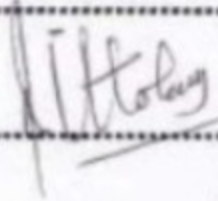
**Dr. Dadang Kusmana
Pembimbing II**

Tanggal lulus sidang sarjana: 22-7-2008

Penguji I : (Dr. Jahjo Atmadja)

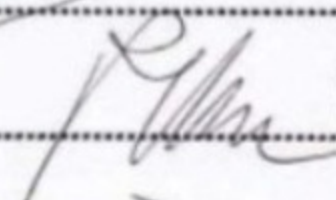


Penguji II :



(Dr. Sabariyah WittoEng, SKM)

Penguji III :



(Dr. Retnosari Andrayati, MS)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil 'alamin, penulis memanjatkan puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya. Shalawat dan salam senantiasa tercurah untuk Khalifah seluruh umat, nabi Muhammad SAW sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan dan penyusunan skripsi yang berjudul Pengaruh Pemberian Obat LS Terhadap Fungsi Hati Ditinjau dari Aktivitas Alanin Aminotransferase Plasma dan Gambaran Histologi Hati pada Tikus Putih sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi.

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Santi Purna Sari, M.Si selaku pembimbing I dan Bapak Dr. Dadang Kusmana selaku pembimbing II yang memberikan arahan kepada penulis, memberikan ide-ide terbaik dan banyak ilmu bermanfaat selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Bapak Dr. Maksum Radji, M.Biomed selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Ibu Dra. Azizahwati, MS yang telah memberikan kepercayaan, dukungan, dan bantuan selama penelitian berlangsung.
4. Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.Si, selaku ketua Program Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Ibu Prof. Dr. Endang Hanani, M.Si selaku pembimbing akademis yang memberikan bimbingan akademis selama penulis menempuh studi.

6. Seluruh staf pengajar, laboran, dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu kelancaran dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
7. Kedua orang tua tercinta, mama dan ayah yang dengan penuh kesabaran dan kasih sayang senantiasa memberikan doa serta dukungan, baik moril maupun materi.
8. Barra, Fikri, Vika tersayang selalu memberi inspirasi, pengertian dan semangat yang tak kenal lelah.
9. Teman-teman seperjuangan dalam penelitian ini: Muti, Nining, Tya, Witri, Reza, Lifa, dan Sari untuk semua kerjasama dan waktu yang telah terlewati baik susah maupun senang.
10. Teman-teman ekstensi angkatan 2005, khususnya untuk bidadari Al-Firdaus untuk semua dukungan, semangat, serta untuk hari-hari yang telah terisi dengan berbagai kisah.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu dan telah memberikan bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan, namun penulis berharap karya ini dapat menjadi sesuatu yang bermanfaat.

Penulis

2008

ABSTRAK

Obat LS merupakan obat sintesis golongan statin yang digunakan sebagai antihiperlipidemia. Obat LS digunakan berulang dan dalam jangka panjang sehingga perlu diketahui pengaruhnya terhadap fungsi hati, dengan menilai aktivitas Alanin aminotransferase (ALT) plasma dan gambaran histologi hati. Penelitian menggunakan tikus putih jantan dan betina galur *Sprague Dawley* yang dibagi ke dalam empat kelompok masing-masing 10 ekor. Kelompok I, II, III adalah kelompok perlakuan yang diberi larutan uji dengan dosis berturut-turut 1,8; 3,6; dan 7,2mg/ 200g bb perhari. Kelompok IV adalah kelompok kontrol yang diberikan larutan CMC 0,5%. Penelitian dilakukan selama 90 hari dan pada hari ke-91 sampel darah tikus diambil melalui sinus orbital mata kemudian dibedah untuk diambil hatinya. Pengukuran aktivitas ALT plasma menggunakan metode kolorimetri (Reitman-Frankel) serta histologi hati dengan metode parafin dan pewarnaan hematoksilin-eosin kemudian dilakukan pengukuran terhadap diameter vena sentralis. Hasil ANAVA ($\alpha=0,05$) terhadap ALT plasma dan pengukuran diameter vena sentralis tidak menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Hasil menunjukkan bahwa pemberian obat LS selama 90 hari tidak mempengaruhi fungsi hati.

Kata kunci: ALT; histologi; hati; obat LS

xi + 77 hal.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi: 26 (1957-2007)

ABSTRACT

LS drug is a synthetic of statin group that has been used as an antihyperlipidemia. The LS drug has been used long-term repeated administration must be assessing especially for liver function of rat through alanine aminotransferase (ALT) activity plasma and histological structure. This study used *Sprague Dawley* rats that is divided into 4 groups, each one consist of 10 male and female rats. Group I, II, III were given statin with 1,8; 3,6; 7,2mg/ 200g bw dosage as a study groups, while group IV was given CMC 0,5% orally as a control group. The studies have been finished for 90 days and 91st day, the blood samples were taken from orbital sinus of eye, and the liver was taken to observe its histology. The ALT plasma activities were measured with colorimetric method (Reitman-Frankel) and histological structure were colored by paraffin method and Haematoxylin-Eosin stain by further central vein diameters was measured. One way varian analysis of ALT plasma activities and central vein diameter ($\alpha = 0,05$) showed that there was no significant differences between studies groups and control group. The result was indicated that given LS drug for 90 days did not have sigificant effect on the liver function.

Key word: ALT; histological structure; liver; LS drug

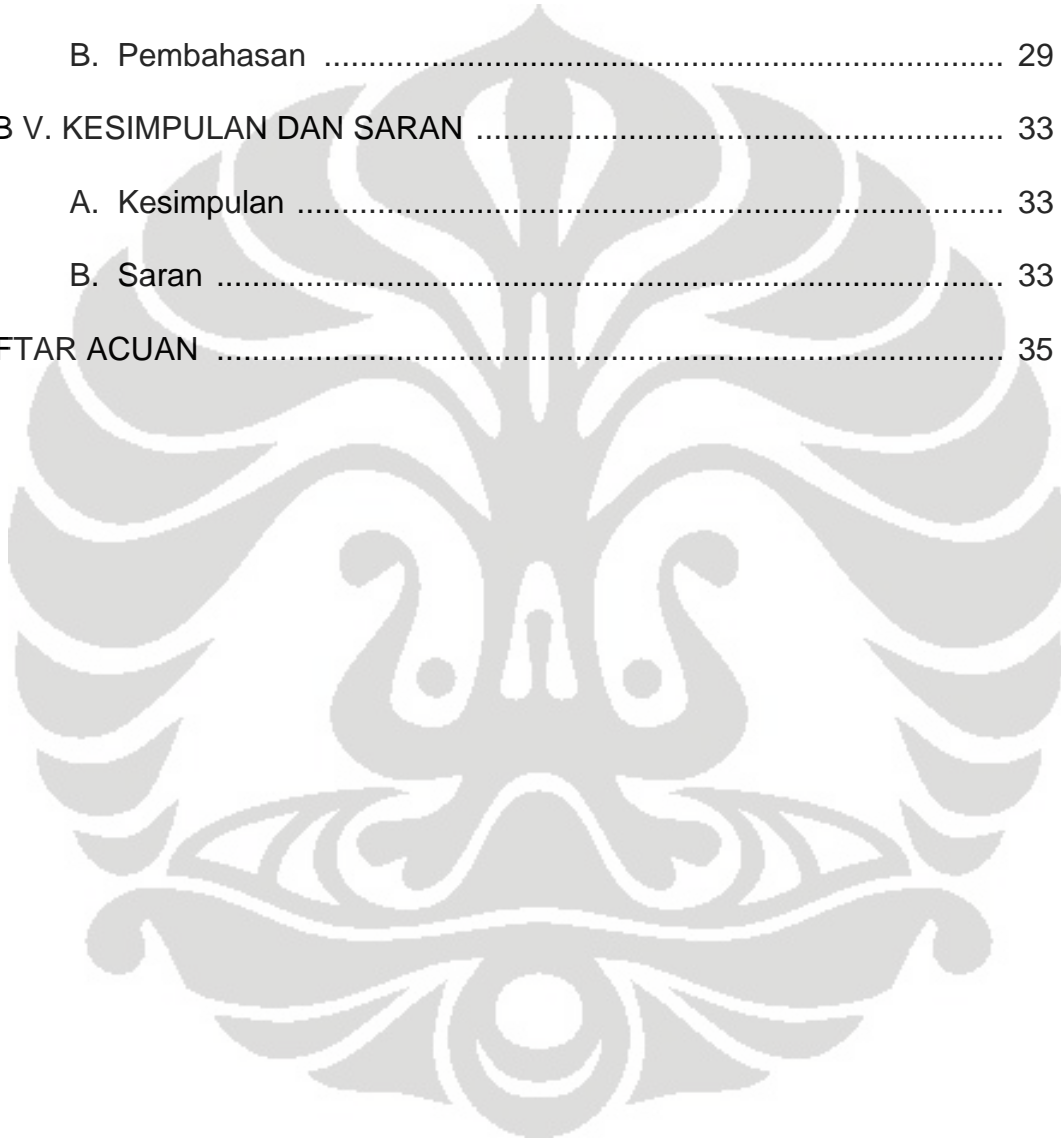
xi + 77 pages.; figures.; tables.; appendixes.

Bibliography: 26 (1957-2007)

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	2
C. Hipotesis	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Hiperlipidemia	5
B. Obat-Obat Penurun Kadar Lipid Plasma	6
C. Hati	8
D. Alanin aminotrasferase	12
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	13
A. Lokasi dan Waktu Penelitian	13
B. Alat	13

C. Bahan	13
D. Cara Kerja	14
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
A. Hasil	25
B. Pembahasan	29
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	33
A. Kesimpulan	33
B. Saran	33
DAFTAR ACUAN	35



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pengambilan darah lewat sinus orbital mata	41
2. Persamaan reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat dengan ALT sebagai katalisator dan pembentukan warna pada pengukuran ALT plasma secara kolorimetri	42
3. Kurva kalibrasi larutan standar natrium piruvat	43
4. Diagram aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	44
5. Diagram aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	44
6. Diagram diameter vena sentralis rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	45
7. Diagram diameter vena sentralis rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	45
8. Diagram derajat kerusakan vena sentralis pada hati tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	46
9. Diagram derajat kerusakan vena sentralis pada hati tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	46
10. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 1,8mg/ 200g bb setelah perlakuan 90 hari	47

11. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 1,8mg/ 200g bb setelah perlakuan 90 hari	47
12. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 3,6mg/ 200g bb setelah perlakuan 90 hari	48
13. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 3,6mg/ 200g bb setelah perlakuan 90 hari	48
14. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 7,2mg/ 200g bb setelah perlakuan 90 hari	49
15. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 7,2mg/ 200g bb setelah perlakuan 90 hari	49
16. Gambaran histologi hati kelompok jantan kontrol normal	50
17. Gambaran histologi hati kelompok betina kontrol normal.....	50
18. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 10%	51
19. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 20-40%	51
20. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan >40%	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Serapan larutan standar natrium piruvat dalam berbagai konsentrasi dalam pembuatan kurva kalibrasi.....	55
2. Aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari	56
3. Aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari	57
4. Diameter vena sentralis rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan 90 hari	58
5. Diameter vena sentralis rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan 90 hari	58
6. Persentase kerusakan sel hati tikus putih jantan setelah perlakuan 90 hari	59
7. Persentase kerusakan sel hati tikus putih jantan setelah perlakuan 90 hari	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Penetapan dosis	63
2. Pembuatan suspensi obat LS	64
3. Perhitungan aktivitas ALT plasma	65
4. Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan	66
5. Uji kesamaan varian terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan	67
6. Uji ANAVA terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan	68
7. Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina	69
8. Uji kesamaan varian terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina	70
9. Uji ANAVA terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina	71
10. Uji distribusi normal terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan	72
11. Uji kesamaan varian terhadap diameter vena sentralis Hati tikus putih jantan	73
12. Uji ANAVA terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan	74
13. Uji distribusi normal terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih betina	75

14. Uji kesamaan varian terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih betina	76
15. Uji ANAVA terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih betina	77



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Penyakit kardiovaskular terutama Penyakit Jantung Koroner (PJK) merupakan penyebab kematian utama di negara maju bahkan di negara berkembang. Penyakit ini menempati urutan pertama di Indonesia berdasarkan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 1992, 1995, dan Survei Kesehatan Nasional (Surkesnas) 2001 (1). PJK berhubungan erat dengan meningkatnya kadar kolesterol total dan kolesterol *low-density lipoproteins cholesterol* (LDL) serta menurunnya kadar kolesterol *high-density lipoproteins cholesterol* (HDL). Usaha yang dapat dilakukan untuk menurunkan kadar kolesterol diantaranya dengan pemberian obat (2).

Statin merupakan obat penurun kolesterol yang sangat efektif terutama terhadap kadar kolesterol LDL. Selain menurunkan kadar kolesterol LDL, statin juga meningkatkan kadar kolesterol HDL. Hasil penelitian statin terbesar menunjukkan bahwa penggunaan statin dapat menurunkan resiko penyakit jantung koroner (3). Sintesis obat baru golongan statin perlu dilakukan agar diperoleh efek terapi yang diinginkan. Obat LS menurut hasil uji khasiat merupakan golongan statin yang berkhasiat sebagai penurun kadar lipid plasma (4). Obat LS dengan dosis 1,8mg/ 200g bb per hari dapat meningkatkan kadar HDL-C, sedangkan dosis 3,6mg/ 200g bb dapat

menurunkan kadar trigliserida, menurunkan LDL-C, serta meningkatkan kadar HDL-C (4). Obat LS digunakan berulang dan dalam jangka panjang atau seumur hidup sehingga perlu diuji keamanannya terutama terhadap fungsi hati. Pengujian ini sangat penting karena hati berperan dalam hampir semua fungsi metabolik tubuh (5).

Sel hati yang mengalami kerusakan mengakibatkan enzim-enzim yang dalam keadaan normal terdapat di dalam sel dapat masuk ke peredaran darah (6). Penilaian yang digunakan terhadap fungsi hati ialah pengukuran aktivitas Alanin aminotransferase (ALT) plasma dan untuk melihat adanya kerusakan sel hati maka dilakukan pemeriksaan histologi (7). MacDonald (1988, *lihat* Tolman K.G. 2002: 1374) menyatakan bahwa dari hasil penelitian toksikologi kronik golongan statin terhadap hewan uji menunjukkan terjadi sedikit peningkatan aktivitas ALT namun tidak terjadi kerusakan pada sel-sel hati (8).

B. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian obat LS secara oral dengan dosis 1,8; 3,6; 7,2mg/ 200g bb selama 90 hari terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase plasma dan gambaran histologi hati.

C. HIPOTESIS

Pemberian obat LS secara oral dengan dosis 1,8; 3,6; 7,2mg/ 200g bb selama 90 hari tidak mempengaruhi fungsi hati tikus putih ditinjau dari pengukuran aktivitas alanin aminotransferase plasma dan gambaran histologi hati.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. HIPERLIPIDEMIA

Hiperlipidemia menyatakan peningkatan kadar kolesterol darah (hiperkolesterolemia), trigliserida (hipertrigliseridemia) atau keduanya. Lipid plasma yang utama yaitu kolesterol, trigliserida, fosfolipid, dan asam lemak bebas yang semuanya tidak dapat larut dalam cairan plasma. Lipid plasma agar dapat dibawa ke dalam sirkulasi maka susunan molekul lipid perlu dimodifikasi dalam bentuk lipoprotein yang bersifat larut dalam cairan plasma. Lipoprotein membawa lipid dari tempat sintesis menuju tempat penggunaan (2,9).

Lipoprotein dibedakan menjadi 5 golongan besar, yaitu:

1. Kilomikron

Lipoprotein dengan berat molekul terbesar, lebih dari 80% komponennya terdiri dari trigliserida. Kilomikron membawa trigliserida yang berasal dari makanan ke jaringan lemak dan otot, serta membawa kolesterol makanan ke hati (9).

2. Lipoprotein densitas sangat rendah (*Very Low Density Lipoprotein*, VLDL)

VLDL terdiri dari 60% trigliserida dan 10-15 % kolesterol (9). Lipoprotein ini dibentuk dari asam lemak bebas di hati. VLDL berasal dari hati dan merupakan pembawa trigliserida yang disintesis di dalam hati (10).

3. Lipoprotein densitas sedang (*Intermediate Density Lipoprotein*, IDL)

IDL mengandung 30% trigliserida dan 20% kolesterol. IDL adalah perantara yang terjadi sewaktu VLDL dikatabolisme menjadi LDL. IDL tidak terdapat dalam kadar yang besar kecuali bila terjadi hambatan pada konversi VLDL (9).

4. Lipoprotein densitas rendah (*Low Density Lipoprotein*, LDL)

LDL merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar pada manusia, mengandung trigliserida sebanyak 10% dan kolesterol 50%. LDL membawa kolesterol ke jaringan perifer untuk sintesis membran sel (9).

5. Lipoprotein densitas tinggi (*High Density Lipoprotein*, HDL)

Komponen HDL ialah 13% kolesterol, kurang dari 5% trigliserida, dan 50% protein. HDL disekresi oleh hati dan usus halus. HDL berfungsi membawa kolesterol dari jaringan perifer ke hati (9). HDL juga memerlukan kolesterol dari jaringan perifer untuk melindungi homeostasis kolesterol dalam sel (10).

B. OBAT-OBAT PENURUN KADAR LIPID PLASMA

Penanganan awal dalam menurunkan kadar lipid plasma dapat dilakukan dengan memperbaiki gaya hidup, seperti pengaturan pola makan, olah raga rutin, dan penurunan berat badan. Pemberian obat dapat dilakukan apabila pada penanganan awal hasil yang diperoleh belum optimal (2).

Empat kelompok obat utama yang digunakan untuk menurunkan kadar lipid plasma, yaitu (11) :

1. Penghambat 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG Co-A reduktase)

Statin merupakan golongan obat yang menghambat secara kompetitif HMG Co-A reduktase, suatu enzim yang mengontrol biosintesis kolesterol. Enzim ini bertanggung jawab pada konversi HMG Co-A menjadi mevalonat. Penghambatan enzim HMG Co-A reduktase akan menurunkan sintesis kolesterol endogen dan pada akhirnya mengurangi kadar kolesterol serum. Penurunan kolesterol endogen bisa memacu peningkatan jumlah reseptor LDL yang aktif di sel hati sehingga pengikatan LDL-C meningkat, akibatnya kadar LDL-C dalam darah turun (11).

2. Niasin (asam nikotinat)

Niasin merupakan salah satu komponen vitamin B kompleks. Niasin pada dosis 1,5-6 gram menghambat sekresi VLDL-C sehingga dapat menurunkan produksi LDL-C. Selain itu, niasin juga meningkatkan kadar HDL-C (11).

3. Turunan asam fibrat (Fibrat)

Gemfibrozil dan Fenofibrat merupakan obat turunan asam fibrat. Obat ini bekerja dengan meningkatkan lipolisis trigliserida plasma dengan bantuan lipoprotein lipase sehingga kadar VLDL-C menjadi turun (11).

4. Resin pengikat asam empedu

Kolestipol dan Kolestiramin merupakan resin pengikat asam empedu yang biasa digunakan. Kedua obat ini dapat menurunkan kadar kolesterol total. Kolestiramin dan Kolestipol berikatan dengan asam empedu di usus

halus, mencegah terjadinya reabsorpsi dan produksi suatu kompleks yang tidak larut kemudian dieksresikan melalui feses (11).

C. HATI

1. Anatomi Hati

Hati merupakan organ terbesar dan terpenting di dalam tubuh, beratnya 1,5 kg atau lebih, terletak di bawah diafragma dalam rongga abdomen atas (12). Bobot hati yang hanya 2% dari berat badan menerima 1500 mL darah per menit. Hati dalam keadaan segar warnanya merah tua atau merah coklat. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan dan sebagian besar obat serta toksikan (13).

Sirkulasi darah pada hati sangat penting dalam penyelenggaraan fungsi hati. Darah yang mengalir ke dalam hati melalui dua sumber yaitu darah vena yang langsung berasal dari saluran pencernaan melalui vena porta hepatica dan darah arteri yang berasal dari aorta melalui arteri hepatica. Suplai darah dari vena porta hepatica mengalirkan darah yang kaya akan nutrisi, sedangkan arteri hepatica mengalirkan darah yang banyak mengandung oksigen (12).

Hati tersusun menjadi unit-unit fungsional yang dikenal sebagai lobulus, yaitu suatu ruangan heksagonal jaringan yang mengelilingi sebuah vena sentral. Tepi luar lobulus terdapat tiga pembuluh yaitu cabang arteri hepatica, cabang vena porta, dan duktus biliaris. Darah dari cabang arteri

hepatika dan vena porta mengalir dari lobulus perifer ke dalam ruang kapiler yang melebar yang disebut sinusoid (12).

Sel Kupffer melapisi bagian dalam sinusoid dan menghancurkan sel darah merah yang usang serta bakteri yang lewat bersama darah. Sel hati (hepatosit) tersusun di antara sinusoid-sinusoid dalam lempeng yang tebalnya dua lapis sel. Vena sentral dari semua lobulus hati menyatu untuk membentuk vena hepatika yang menyalurkan darah keluar dari hati (12).

Daerah vena sentralis merupakan pusat dari lobulus hati dan tiap lobulus memperoleh aliran darah yang kaya akan nutrien dan oksigen. Aliran darah melewati sel-sel di tepi lobulus kemudian mengalir ke daerah pusat yaitu vena sentralis, daerah yang jauh dari aliran darah (13).

Vena sentralis hati menerima paling sedikit oksigen, selain itu vena sentralis juga menyalurkan darah dari semua lobulus hati sehingga apabila terdapat toksin, maka akan terjadi akumulasi di vena sentralis. Apabila terdapat gangguan maka yang terlihat lebih dahulu mengalami kerusakan adalah vena sentralis (14).

2. Fungsi Hati

Hati adalah organ metabolik terbesar dan terpenting di tubuh. Fungsi utama hati adalah membentuk dan mengeksresi empedu. Saluran empedu hanya mengangkut empedu sedangkan kandung empedu menyimpan dan mengeluarkan empedu ke usus halus sesuai kebutuhan. Garam empedu penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak dalam usus halus (5).

Hati berperan penting dalam metabolisme tiga makronutrien, yaitu karbohidrat, protein, dan lemak. Hati mempertahankan kadar glukosa darah normal dan menyediakan energi untuk tubuh. Karbohidrat disimpan dalam hati sebagai glikogen. Hati juga mensintesis berbagai protein plasma, mengangkut hormon tiroid, dan steroid dalam darah (5).

Fungsi metabolisme lemak yang utama pada hati yaitu sintesis kolesterol, sebagian besar akan dieksresi ke dalam empedu sebagai kolesterol atau garam empedu. Hati menghidrolisis trigliserida, kolesterol, fosfolipid, dan lipoprotein (diabsorpsi dari usus halus) menjadi asam lemak dan gliserol. Detoksifikasi obat atau zat asing oleh hati sangat penting dengan mengubahnya menjadi tidak berbahaya melalui peristiwa oksidasi, reduksi, atau hidrolisis. Hati juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan vitamin larut lemak dan mineral (5).

3. Kerusakan Hati

Hati mempunyai kapasitas cadangan yang besar sekali, karena itu kerusakan pada sel hati secara klinis baru dapat diketahui bila sudah lanjut. Kerusakan hati dapat berupa perlemakan hati, nekrosis hati, kolestasis, dan sirosis hati (15).

a. Perlemakan hati

Perlemakan hati adalah hati yang mengandung berat lipid lebih dari 5%. Mekanisme mendasar yang paling umum adalah rusaknya pelepasan trigliserida hati ke plasma, karena trigliserida hati hanya dieksresi bila dalam

keadaan bergabung dengan lipoprotein (membentuk lipoprotein berdensitas sangat rendah (*Very Low Density Lipoprotein* = VLDL) (15).

b. Nekrosis hati

Nekrosis hati adalah kematian hepatosit. Nekrosis dapat bersifat lokal atau menyebar. Biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma (15).

c. Kolestasis

Jenis kerusakan hati yang biasanya bersifat akut dan lebih jarang ditemukan dibandingkan dengan perlemakan hati dan nekrosis (15). Penyebabnya ialah sel hati yang mengalami kerusakan akibat virus hepatitis sehingga metabolisme bilirubin terganggu (5).

d. Sirosis hati

Suatu keadaan berupa penggantian hepatosit (sel hati) yang rusak secara permanen oleh jaringan ikat, penggantian hepatosit ini memiliki batasan. Hati yang berulang-ulang terpajan bahan toksik dengan sering mengakibatkan hepatosit baru tidak dapat beregenerasi cukup cepat untuk mengganti sel-sel hati yang rusak. Tambahan jaringan ikat ini menyebabkan ruang untuk pertumbuhan kembali hepatosit berkurang (12).

D. ALANIN AMINOTRANSFERASE (ALT)

Alanin aminotransferase merupakan salah satu enzim transaminase yang mengkatalisis reaksi pemindahan gugus $-NH_2$ dari asam amino alanin ke asam α -ketoglutarat. Hasilnya terbentuklah asam keto yang lain, berasal dari alanin, yaitu asam piruvat dan asam amino yang lain yaitu asam glutamat. Reaksi yang terjadi bersifat reversibel. ALT merupakan enzim intrasel yang berada dan bekerja di dalam sel. Laju pertukaran antara sel yang mati dalam keadaan sehat mempunyai nilai yang tetap. Enzim ini ditemukan paling banyak di dalam hati dan ditemukan hanya di sitosol. Pada kerusakan sel hati, aktivitas ALT akan meningkat. Kenaikan ini dapat mencapai 100 kali nilai normal tertinggi, meskipun yang terbanyak ditemukan adalah antara 20 sampai 50 kali (16).

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi dan Laboratorium Biologi Perkembangan Departemen Biologi FMIPA UI Depok selama tiga bulan.

B. ALAT

Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah pipet eppendorf (Socorex), pipet Pasteur, pH meter (Eutech), parafin stretcher (Sakura), sonde lambung, alat-alat bedah, sentrifugator (Gemmy Industrial Corp.), spektrofotometer UV-Vis (Genesys), mikrotom putar (Spencer), mikroprojector (Ken-A-Vision), mikroskop medan terang (Nikon SE), dan timbangan analitik (Mettler Toledo), kamera digital (Samsung).

C. BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah:

1. Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan dan betina (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* berat badan lebih kurang 200

gram dan berumur lebih kurang 3 bulan. Tikus diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan IPB, Bogor.

2. Bahan Uji

Bahan uji yang dipergunakan dalam penelitian adalah Obat LS yang diperoleh dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Jakarta. Obat LS yang digunakan berupa serbuk berwarna putih, memiliki bau yang khas (seperti salak) dan rasa agak pahit. Bahan uji diberikan ke hewan uji berupa suspensi dalam CMC 0,5%.

3. Bahan Kimia

Zat kimia murni yang digunakan adalah asam alpha-ketoglutarat (Sigma), asam korida (Merck), dl-alanin (Merck), etanol (Merck), eter (Merck), heparin (Fahrenheit), natrium klorida (Merck), natrium piruvat (Merck), natrium hidroksida (Merck), larutan xilol (Merck), etanol absolut (Merck), benzil benzoat, hematoksilin (Merck).

D. CARA KERJA

1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat kelompok perlakuan. Penelitian menggunakan 40 ekor tikus putih jantan dan 40 ekor tikus putih betina yang dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari

10 ekor tikus putih jantan dan 10 ekor tikus putih betina (17). Kelompok I, II, dan III adalah kelompok perlakuan yang diberi suspensi obat LS dengan dosis berturut-turut 1,8; 3,6 dan 7,2mg/ 200g bb perhari. Kelompok IV merupakan kelompok kontrol yang diberi larutan *carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,5%.

2. Persiapan Hewan Uji

Tikus diaklimatisasi selama 14 hari dalam kandang karantina laboratorium Farmakologi FMIPA UI. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat dengan tanda-tanda rambut tidak berdiri, tingkah laku normal serta berat badan bertambah dalam batas tertentu yang diukur secara rutin. Tikus yang tidak sehat atau menunjukkan kelainan tidak diikutsertakan dalam percobaan.

3. Penetapan Dosis

Dosis obat LS yang digunakan berdasarkan dosis uji khasiat yang telah dilakukan sebelumnya pada hewan uji, yaitu 3,6mg/ 200g bb per hari (3). Dosis yang digunakan adalah :

Dosis I : $\frac{1}{2} \times 3,6\text{mg} / 200\text{g bb} / \text{hari} = 1,8 \text{ mg} / 200 \text{ gram bb tikus} / \text{hari}$

Dosis II : $1 \times 3,6\text{mg} / 200\text{g bb} / \text{hari} = 3,6 \text{ mg} / 200 \text{ gram bb tikus} / \text{hari}$

Dosis III : $2 \times 3,6\text{mg} / 200\text{g bb} / \text{hari} = 7,2\text{mg} / 200 \text{ gram bb tikus} / \text{hari}$

Keterangan lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 1.

4. Pembuatan Suspensi Obat LS

Suspensi obat LS dibuat setiap hari dengan cara menimbang obat LS sesuai dengan jumlah yang telah ditentukan kemudian disuspensikan ke dalam larutan CMC 0,5%. Larutan CMC 0,5% dibuat dengan cara menimbang 0,5 gram CMC kemudian CMC dikembangkan dalam air hangat sebanyak 20 kali berat CMC yang ditimbang. Setelah CMC mengembang dalam air hangat, kemudian digerus kuat lalu ditambahkan air sampai volume 100 mL.

Suspensi obat LS dibuat dari dosis III (7,2 mg/200g bb), yaitu dengan menimbang obat LS sebanyak 720 mg dan disuspensikan ke dalam CMC 0,5% sampai volume 200 mL. Dosis I dan II dibuat dengan mengencerkan dari dosis III. Kelompok kontrol diberikan larutan CMC 0,5%.

Keterangan lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 2.

5. Pembuatan Larutan Pereaksi (18)

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

Larutan dinatrium fosfat 0,1 M sebanyak 420 mL dicampur dengan larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M sebanyak 80 mL.

b. Larutan piruvat 2 mM/L (larutan standar)

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

- c. Larutan dapar substrat untuk pemeriksaan ALT plasma dan kurva kalibrasi

Sebanyak 29,2 mg asam alfa-ketoglutarat dicampur dengan 1,8 gram dl-alanin di gelas piala ukuran 50 mL, ditambahkan larutan natrium hidroksida 1 N sampai larut, pH disesuaikan sampai 7,4 lalu ditambahkan dapar fosfat sampai 100 mL di dalam labu ukur.

- d. Pereaksi warna

Sebanyak 19,8 mg 2,4-dinitrofenilhidrazin ditambahkan larutan asam klorida 1 N sampai 100 mL di dalam labu ukur.

6. Perlakuan

Larutan uji diberikan secara oral setiap hari satu kali selama 90 hari dengan menggunakan sonde lambung dalam jumlah tertentu sesuai dengan dosis. Pemberian dosis disesuaikan dengan berat badan tikus. Selama perlakuan, tikus diberikan makanan dan minuman secara teratur serta dilakukan pencatatan terhadap berat badan tikus.

Setelah perlakuan selama 90 hari, pada hari ke-91 dilakukan pengambilan sampel darah dan pembedahan untuk mengambil organ hati. Plasma diperoleh dari sampel darah yang kemudian diukur aktivitas alanin aminotransferase.

7. Pengambilan Sampel Darah

Sebelum pengambilan sampel darah, tikus dianastesi terlebih dahulu menggunakan eter, setelah itu dengan menggunakan pipet mikrohematokrit, mata tikus ditusuk pada bagian sinus orbital yakni pada sudut dalam bola mata, digerakkan masuk sambil diputar-putar, sehingga darah akan keluar karena aksi kapilaritas, kemudian darah ditampung dalam *microtube* yang telah diberi heparin. Selanjutnya darah disentrifugasi selama 5 menit dengan putaran 7000 rpm (19).

Hemolisis harus dihindari dalam pengambilan plasma untuk pemeriksaan ALT. Hal ini dikarenakan eritrosit memiliki 5 sampai 8 kali aktivitas ALT plasma untuk mengurangi kemungkinan peningkatan palsu aktivitas ALT (20).

8. Penentuan Aktivitas ALT Plasma

Alanin aminotransferase (ALT) mengkatalisis proses pemindahan gugus amino dari dl-alanin ke asam α -ketoglutarat, sehingga terbentuk senyawa piruvat dan glutamat (21). Piruvat yang terbentuk direaksikan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin membentuk 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang berwarna coklat kemerahan dalam larutan alkali. Warna yang terbentuk dapat diukur serapannya secara spektrokolorimetri pada panjang gelombang 505 nm (18).

a. Pembuatan kurva kalibrasi larutan standar Natrium Piruvat

Larutan standar dan larutan dapar substrat untuk kurva kalibrasi dicampur dalam tabung reaksi dengan berbagai perbandingan. Sebagai blanko digunakan larutan dapar substrat sebanyak 1,0 mL (22). Setiap tabung uji dan blanko ditambahkan 1,0 mL pereaksi warna, lalu dikocok sampai homogen, diamkan pada suhu kamar selama 20 menit lalu tambahkan 10,0 mL natrium hidroksida 0,4 N. Setelah itu dikocok sampai homogen dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 505 nm (18).

b. Pengukuran sampel ALT plasma

Disiapkan dua buah tabung untuk larutan uji dan blanko; 1,0 mL larutan dapar substrat dimasukkan ke dalam setiap tabung lalu diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 10 menit; dimasukkan 0,2 mL plasma ke dalam tabung uji lalu diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 30 menit; dimasukkan 1,0 mL pereaksi warna ke dalam tabung uji dan blanko, untuk tabung blanko ditambahkan 0,2 mL plasma, kemudian didiamkan pada suhu kamar selama 20 menit; dimasukkan 10,0 mL natrium hidroksida 0,4 N ke dalam setiap tabung lalu didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit; warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm (18).

9. Pengambilan Organ Hati dan Pembuatan Preparat Histologi

Pengambilan organ hati dilakukan dengan cara pembedahan. Sebelum pembedahan, tikus dianastesi terlebih dahulu dengan

menggunakan eter lalu diletakkan telentang pada papan bedah. Keempat kaki tikus diikat, bagian dada dan perut dibasahi dengan alkohol 70%, perut tikus dibuka menggunakan gunting bedah lalu dilakukan prosedur pembuatan preparat histologi melalui beberapa tahapan berikut (23):

1. Pengambilan jaringan segar

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

2. Fiksasi

Jaringan hati difiksasi dengan larutan Bouin selama 24 jam. Setelah fiksasi selesai, sisa-sisa fiksasi dapat dihilangkan dengan perendaman dalam larutan alkohol 70%.

3. Dehidrasi

Jaringan hati direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat: alkohol 70% selama 48 jam, alkohol 96% sebanyak dua kali masing-masing selama 60 menit, alkohol absolut sebanyak dua kali masing-masing selama 1 jam, benzil benzoat selama lebih dari 24 jam, dan dalam benzol sebanyak dua kali masing-masing selama 15 menit.

4. Infiltrasi

Jaringan hati yang telah didehidrasi direndam dalam parafin cair dalam dua tahap: parafin I selama 1 jam, parafin II selama 1 jam di dalam inkubator pada suhu 60⁰ C.

5. Penanaman

Jaringan hati yang telah diinfiltrasi dimasukkan ke dalam cetakan berupa kotak-kotak kertas yang berisi parafin cair hingga terendam, kemudian dibiarkan pada suhu kamar hingga dingin dan membeku. Setelah parafin menjadi keras, maka blok parafin yang berisi jaringan dapat dilepaskan dari kotak kertas. Kelebihan parafin di sekitar jaringan dipotong dan dirapikan lalu dilekatkan pada kayu pemegang dengan pemanasan.

6. Penyayatan

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada mikrotom dan pisau mikrotom diatur agar mendapat sayatan berbentuk pita. Tebal sayatan adalah 7 μm .

7. Penempelan pada gelas obyek

Hasil sayatan yang baik diletakkan pada gelas obyek yang telah diolesi sedikit albumin Mayer's dan ditetesi air. Selanjutnya gelas obyek diletakkan di atas Parafin Stretcher dengan suhu 30-40⁰ C. Setelah sayatan pada obyek mengembang sempurna, sisa-sisa air pada obyek diserap dengan kertas tisu.

8. Melarutkan parafin

Parafin yang melekat di dalam jaringan dan seputar sayatan dihilangkan dengan cara merendam gelas objek pada larutan xilol selama lebih kurang 6 menit.

9. Hidrasi

Gelas objek yang sudah dibersihkan dari parafin dimasukkan dalam larutan alkohol dengan konsentrasi menurun: alkohol absolut, alkohol 96%, dan alkohol 70% masing-masing selama 1 menit.

10. Pewarnaan

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

11. Dehidrasi

Gelas objek yang telah diwarnai direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat: alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 96% sebanyak 2 kali selama 3 menit, alkohol absolut selama 3 menit, campuran alkohol : xilol (1:1) selama 5 menit.

12. Penjernihan

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

13. Penutupan

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

14. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan cara membandingkan preparat histologi antara hati kelompok kontrol normal dengan kelompok perlakuan. Pengamatan dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif terhadap vena sentralis hati.

15. Pengukuran preparat histologi hati

Pengukuran secara kuantitatif yaitu mengukur diameter vena sentralis hati dengan menggunakan mikroproyektor yang sebelumnya telah dikalibrasi. Vena sentralis yang diukur sebanyak 40 lobulus, dipilih secara acak dari 16 irisan hati tiap dua preparat. Vena sentralis yang berbentuk elips diukur bagian terpanjang dan terlebar kemudian dibagi dua. Setelah itu, dari 40 diameter vena sentralis yang telah diukur dihitung nilai rata-ratanya.

Pengukuran secara kualitatif menggunakan mikroskop medan terang dengan perbesaran 40 kali. Penilaian dilakukan dengan melihat kerusakan yang terjadi pada tiap lobulus. Persentase kerusakan dibedakan dalam tiga tingkatan yaitu 0% (tanpa kerusakan), 20-40% (degenerasi sedang), dan lebih dari 40% (nekrosis berat).

11. Analisis Data

Data aktivitas ALT plasma dan diameter vena sentralis hati tikus putih yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 15.0. Analisis yang digunakan yaitu analisis varians satu arah (ANOVA) (24).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PERCOBAAN

1. Penetapan Aktivitas ALT Plasma

1.1. Kurva kalibrasi

Dari data serapan dan nilai aktivitas pada pembuatan kurva kalibrasi, diperoleh persamaan garis $y = 0,0230 + 0,0041438x$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9986. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 3.

1.2. Pengukuran aktivitas ALT plasma

1.2.1. Aktivitas ALT plasma tikus putih jantan

Aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari adalah:

Kelompok I: $22,15 \pm 4,09$ U/L

Kelompok II: $22,90 \pm 5,45$ U/L

Kelompok III: $26,57 \pm 7,03$ U/L

Kelompok IV: $20,30 \pm 4,97$ U/L

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 4.

1.2.2. Aktivitas ALT plasma tikus putih betina

Aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari adalah:

Kelompok I: $21,43 \pm 4,28$ U/L

Kelompok II: $20,92 \pm 4,75$ U/L

Kelompok III: $21,96 \pm 5,44$ U/L

Kelompok IV: $20,49 \pm 4,59$ U/L

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 5.

Berdasarkan analisis varian satu arah menunjukkan bahwa aktivitas ALT plasma tikus putih jantan dan betina pada kelompok I, II, dan III tidak berbeda bermakna baik antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok IV sebagai kontrol normal (Lampiran 4, 5, 6, 7, 8, dan 9).

2. Pemeriksaan Histologi Hati

2.1. Pengukuran diameter vena sentralis hati (kuantitatif)

2.1.1. Diameter vena sentralis tikus putih jantan

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

Kelompok I: $60,39 \pm 8,48$ μm

Kelompok II: $61,67 \pm 5,75$ μm

Kelompok III: $62,77 \pm 2,33$ μm

Kelompok IV: $59,53 \pm 5,91$ μm

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 6.

2.1.2. Diameter vena sentralis tikus putih betina

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

Kelompok I: $64,08 \pm 1,16 \mu\text{m}$

Kelompok II: $64,82 \pm 3,97 \mu\text{m}$

Kelompok III: $61,94 \pm 2,91 \mu\text{m}$

Kelompok IV: $56,16 \pm 9,30 \mu\text{m}$

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 7.

Berdasarkan analisis varian satu arah menunjukkan bahwa diameter vena sentralis hati tikus putih jantan dan betina pada kelompok I, II, dan III tidak berbeda bermakna baik antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok IV sebagai kontrol normal (Lampiran 10, 11, 12, 13, 14, dan 15).

2. Persentase kerusakan sel hati (kualitatif)

2.1. Persentase kerusakan sel hati tikus putih jantan

Persentase kerusakan sel hati rata-rata pada tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari adalah:

Pada tingkat kerusakan 0% (tanpa kerusakan):

Kelompok I: 100%

Kelompok II: 100%

Kelompok III: 100%

Kelompok IV: 100%

Pada tingkat kerusakan 20% sampai 40%:

Kelompok I: 0%

Kelompok II: 0%

Kelompok III: 0%

Kelompok IV: 0%

Pada tingkat kerusakan 40% (nekrosis berat):

Kelompok I: 0%

Kelompok II: 0%

Kelompok III: 0%

Kelompok IV: 0%

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 8.

2.2. Persentase kerusakan sel hati tikus putih betina

Persentase kerusakan sel hati rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari adalah:

Pada tingkat kerusakan 0% (tanpa kerusakan):

Kelompok I: 100%

Kelompok II: 100%

Kelompok III: 100%

Kelompok IV: 100%

Pada tingkat kerusakan 20% sampai 40%:

Kelompok I: 0%

Kelompok II: 0%

Kelompok III: 0%

Kelompok IV: 0%

Pada tingkat kerusakan 40% (nekrosis berat):

Kelompok I: 0%

Kelompok II: 0%

Kelompok III: 0%

Kelompok IV: 0%

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 7 dan Gambar 9.

Hasil pemeriksaan histologi hati terhadap persentase kerusakan sel hati pada tikus putih jantan dan betina tidak menunjukkan adanya kerusakan pada sel hati.

B. PEMBAHASAN

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) karena termasuk mamalia sehingga memiliki metabolisme yang hampir sama dengan manusia dan dapat diperoleh dalam galur murni (25). Pengambilan darah tikus dilakukan melalui sinus orbital mata karena cara ini lebih mudah dan darah yang diperoleh lebih banyak.

Aktivitas ALT diukur dengan menggunakan metode Reitman-Frankel karena banyak digunakan serta memberikan hasil yang akurat. Pada pengukuran aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih jantan kelompok III memperlihatkan adanya peningkatan aktivitas jika dibandingkan terhadap

kelompok IV sebagai kontrol normal. Hasil tersebut dapat terjadi karena dipengaruhi oleh waktu inkubasi. Apabila saat menambahkan pereaksi dan mengukur serapan waktunya tidak tepat maka hasil yang diperoleh akan berbeda. Selain waktu, suhu turut mempengaruhi hasil yang diperoleh. Suhu yang tinggi mengakibatkan serapan yang diukur dan aktivitas yang diperoleh menjadi turun atau lebih kecil. Walaupun terjadi peningkatan aktivitas ALT namun secara statistik menggunakan ANAVA dengan $\alpha = 0,05$ pada tikus putih jantan dan betina menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan secara bermakna antara kelompok perlakuan dengan kontrol normal.

Hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan penelitian Vuppalanchi *et al* (2005) bahwa pemberian obat golongan statin dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan aktivitas ALT plasma namun frekuensinya tidak lebih tinggi bila dibandingkan terhadap batas normal aktivitas ALT yaitu 10-35 U/L (26).

Pemeriksaan histologi hati dilakukan untuk melihat adanya kerusakan pada sel hati. Pemeriksaan secara kuantitatif dilakukan dengan mengukur diameter vena sentralis hati. Pada pengukuran diameter vena sentralis rata-rata tikus putih betina kelompok kontrol lebih kecil. Hal ini kemungkinan dapat terjadi karena adanya variasi biologi antar individu serta pemilihan irisan yang digunakan dalam pembuatan preparat histologi. Namun secara statistik menggunakan ANAVA dengan $\alpha = 0,05$ pada tikus putih jantan dan betina menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan secara bermakna antara kelompok perlakuan dengan kontrol normal.

Pemeriksaan secara kualitatif dilakukan dengan melihat kerusakan sel hati di sekitar vena sentralis. Semakin jauh dari daerah vena sentralis persentase kerusakan yang terjadi semakin besar. Sel-sel hati di daerah tepi lobulus berdekatan dengan pembuluh darah sehingga mendapatkan oksigen, nutrisi, dan dapat memperbaiki kerusakan yang terjadi lebih dulu dibandingkan dengan daerah vena sentralis.

Hasil pemeriksaan histologi secara kualitatif menunjukkan tidak terdapat kerusakan sel hati pada kelompok I, II, dan III, dan IV baik jantan maupun betina, sehingga perlakuan selama 90 hari tidak mempengaruhi fungsi hati. Hal ini kemungkinan terjadi karena obat LS yang diberikan tidak memberikan pengaruh terhadap sel hati, selain itu sel hati juga memiliki daya regenerasi yang tinggi sehingga persentase kerusakan 0-20% sangat jarang terjadi, dan baru terlihat pada kerusakan lebih dari 20%. Walaupun terjadi sedikit peningkatan aktivitas ALT namun tidak mengakibatkan kerusakan pada sel-sel hati (8).

Penelitian ini memiliki keterbatasan dalam pengukuran fungsi hati namun alanin aminotransferase merupakan enzim yang spesifik terhadap kerusakan pada sel hati. Apabila terjadi kerusakan pada sel hati maka Alanin aminotransferase akan keluar dari sel hati dan masuk ke dalam darah sehingga aktivitasnya akan meningkat.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Pemberian obat LS dengan dosis 1,8; 3,6; dan 7,2mg/200g bb selama 90 hari tidak menimbulkan pengaruh terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase plasma dan gambaran histologi hati pada tikus putih.

B. SARAN

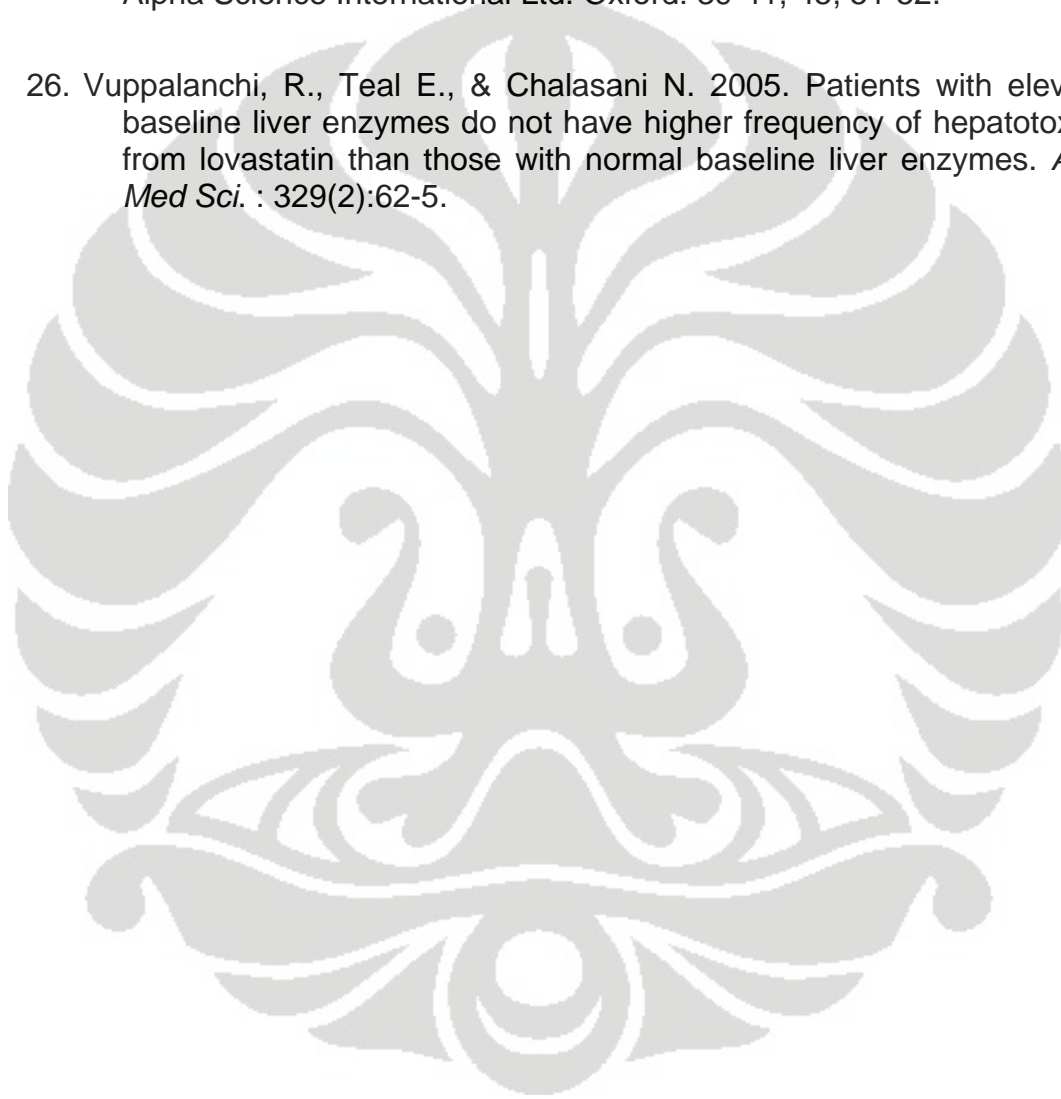
Perlu dilakukan uji toksisitas kronik untuk mengetahui keamanan obat LS dalam waktu yang lebih panjang.

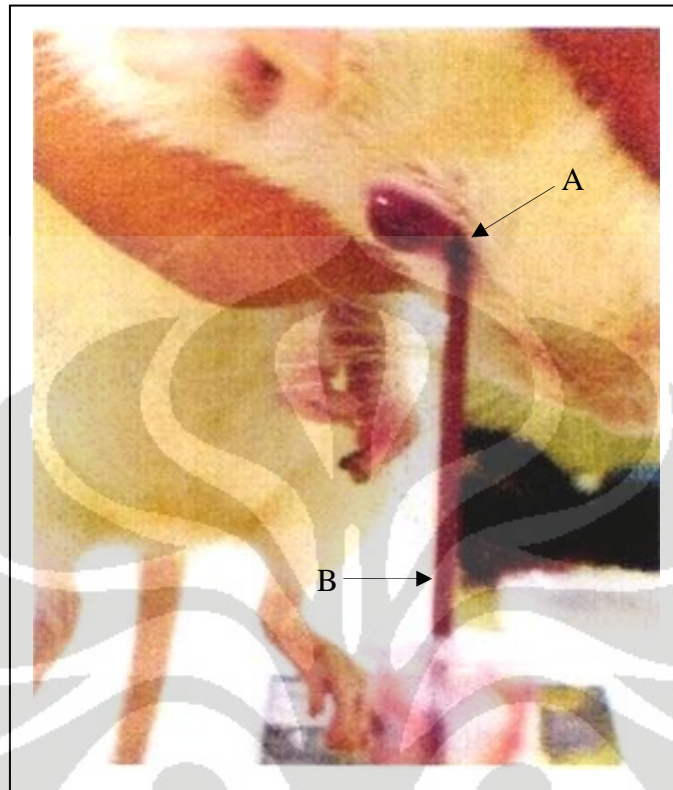
DAFTAR ACUAN

1. Depkes. 2007. *Profil Kesehatan Indonesia 2005*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: 51.
2. Wells, B.G., DiPiro, J., Schwinghammer, T. & Hamolton, C. 2006. *Pharmacotherapy Handbook 6th ed.* McGraw-Hill, Mississippi: 88-98.
3. Gurm, H.S. & Hoogwerf, B. 2003. The Heart Protection Study: High Risk Patients Benefit from Statins, Regardless of LDL-C Level. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. **70**(11): 991-997.
4. Muliastari, Y. 2006. Pengaruh Pemberian Obat X Terhadap Tikus Putih Jantan Yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol. Skripsi Sarjana. Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok.
5. Price S.A. & Wilson L.M. 2005. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Ed.6. Terj. dari *Pathofisiology Clinical Concept of Disease Processes*. Alih Bahasa: Brahm U. Pendit. et al. Editor: Huriawati Hartanto. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 473-477.
6. Widman, F.K. 1992. *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, edisi 9. Terj. dari *clinical interpretation of Laboratory Test*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 329-319.
7. Weingand, et al. 1996. Harmonization of Animal Clinical Pathology Testing in Toxicity and Safety Studies. *Fundamental and Applied Toxicology*. **29**: 198-201.
8. Tolman, K.G. 2002. The Liver and Lovastatin. *Am J Cardiol*. **89**: 1374-1380.
9. Suyatna, F.D. & Toni H. 1995. *Farmakologi dan Terapi edisi 4: Hipolipidemik*. Bagian Farmakologi FKUI, Jakarta: 364-377.
10. Murray, K.R., et al. 2003. *Biokimia Harper edisi 25*. Alih bahasa: Andry Hartono. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 73-74.

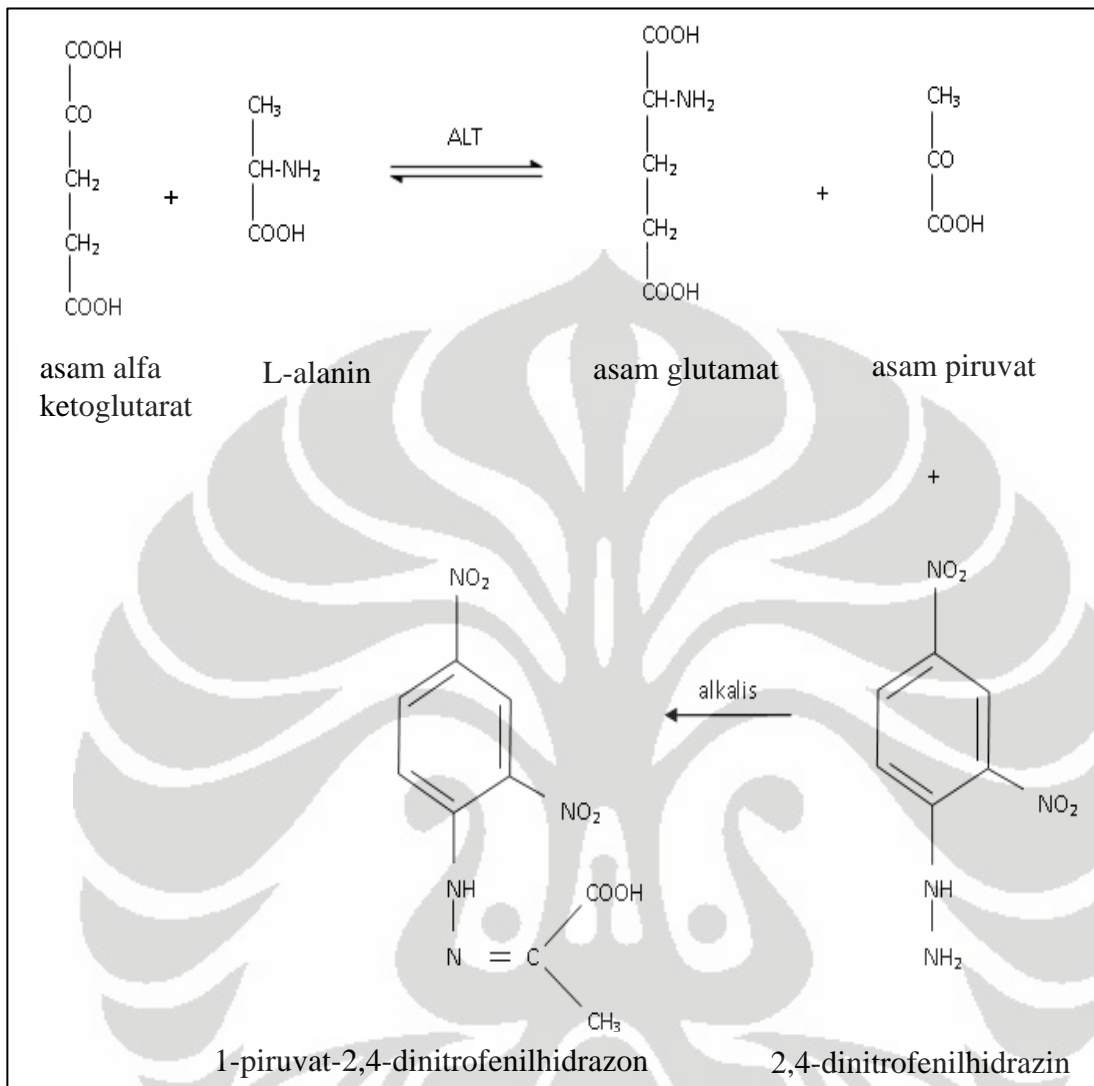
11. Walker, R. 2003. *Clinical Pharmacy and Therapeutics 3rd ed.* Churchill Livingstone, Eidenburg: 353-369.
12. Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia: Dari Sel Ke Sistem.* Terj. dari *Human Physiology: from Cells to Systems.* Alih Bahasa: Brahm U. Pedit. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 565-570.
13. Lesson, C.R. & Thomas S.L. 1998. *Buku Ajar Histologi.* Edisi V. Terj. dari *Text Book Of Histology,* oleh J. Tambayong, Sugito WV. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 383, 385.
14. Greaves, P. 2000. *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies 2nd Ed.* Elsevier, Netherland: 437, 453.
15. Lu, C.F. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko.* Edisi 2. Terj. dari *Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assesment.* Alih bahasa: Edi Nugroho. UI Press, Jakarta: 208-212.
16. Sadikin, M. 2002. *Biokimia Enzim: Seri Biokimia.* Widya Medika, Jakarta: 300-301.
17. WHO. 2000. *General Guidelines for Methodologies and Evaluation of Traditional Medicine.* WHO, Geneva: 29-31.
18. Reitman, S. & Frankel S.A. 1957. Colorimetric Method for The Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic and Glutamic Pyruvic Transaminase. *Am. J. Clin. Pathology.* **28**: Hal: 56-63.
19. Hoff J. 2000. Methods of Blood Collection in the Mouse. *Laboratory Animals.* **29**(10): 47-53.
20. Calbreath D.F. 1992. *A Fundamental Text Book Clinical Chemistry.* W.B. Saunders Company, New York: 190-192.
21. Burtis, C.A .& Ashwood E.R. 1994. *Textbook of Clinical Chemistry. 2nd Ed.* WB Saunders Company, Philadelphia: 837-838.
22. Merck. 1976. *Diagnostica Merck, Directions for use Clinical Chemistry.* E. Merck Darmstadt, Jerman: 46-47.

23. Tanzil, R. 1996. *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologi*. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran UI, Jakarta: 7-8, 16-17, 21-24, 29-30.
24. Uyanto, S.S. 2006. *Pedoman Analisis Data dengan SPSS*. Graha Ilmu, Jakarta: 35-50, 163-174.
25. Parmar, N.S., Prakash, S. 2006. *Screening Methods in Pharmacology*. Alpha Science International Ltd. Oxford: 39-41, 45, 51-52.
26. Vuppalanchi, R., Teal E., & Chalasani N. 2005. Patients with elevated baseline liver enzymes do not have higher frequency of hepatotoxicity from lovastatin than those with normal baseline liver enzymes. *Am J Med Sci.* : 329(2):62-5.

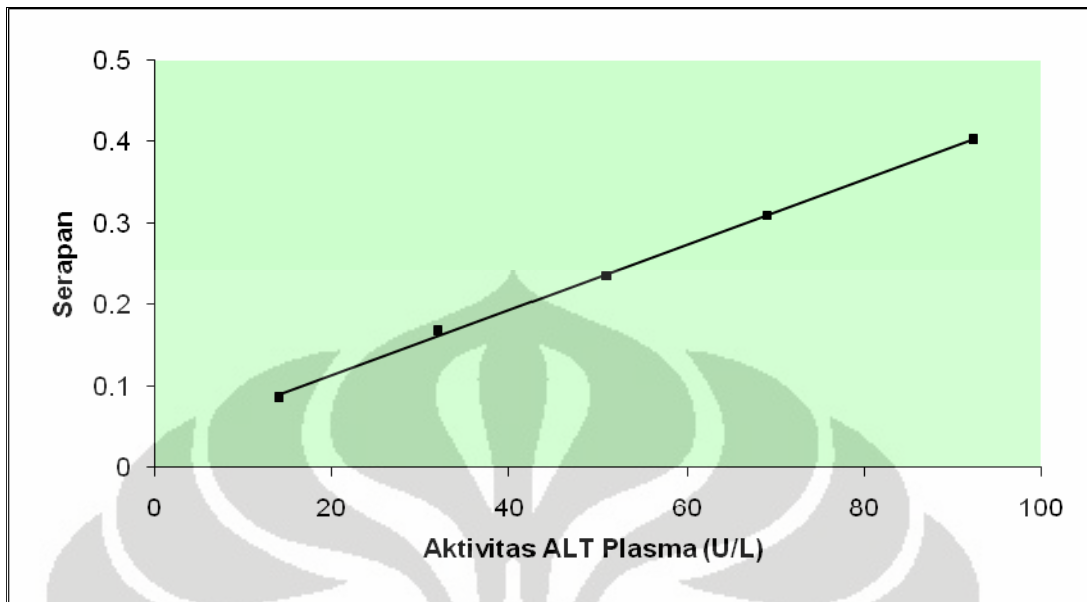




Gambar 1. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata tikus
Keterangan: A= sinus orbital mata tikus, B= pipet mikrohematokrit

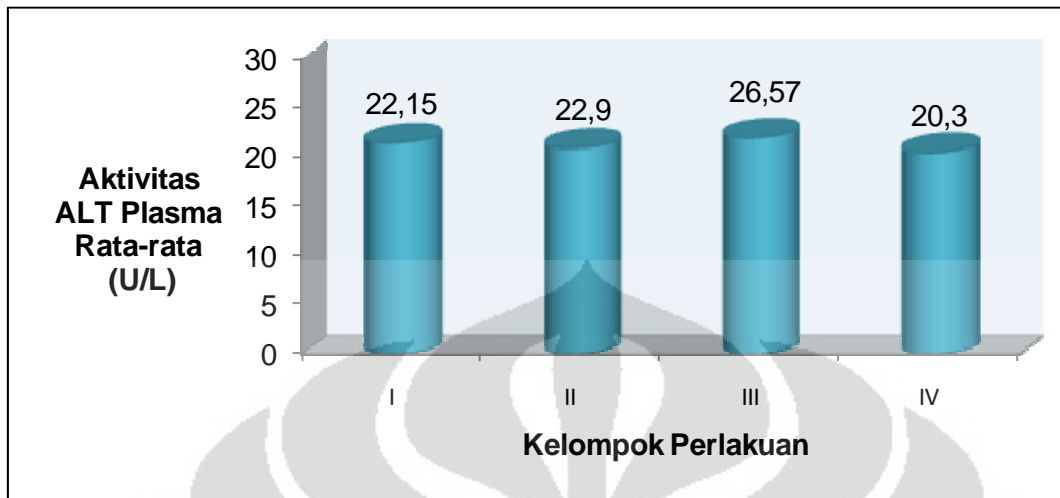


Gambar 2. Persamaan reaksi pembentukan asam piruvat dan asam glutamat dengan ALT sebagai katalisator dan pembentukan warna pada pengukuran ALT plasma secara kolorimetri (20,21)



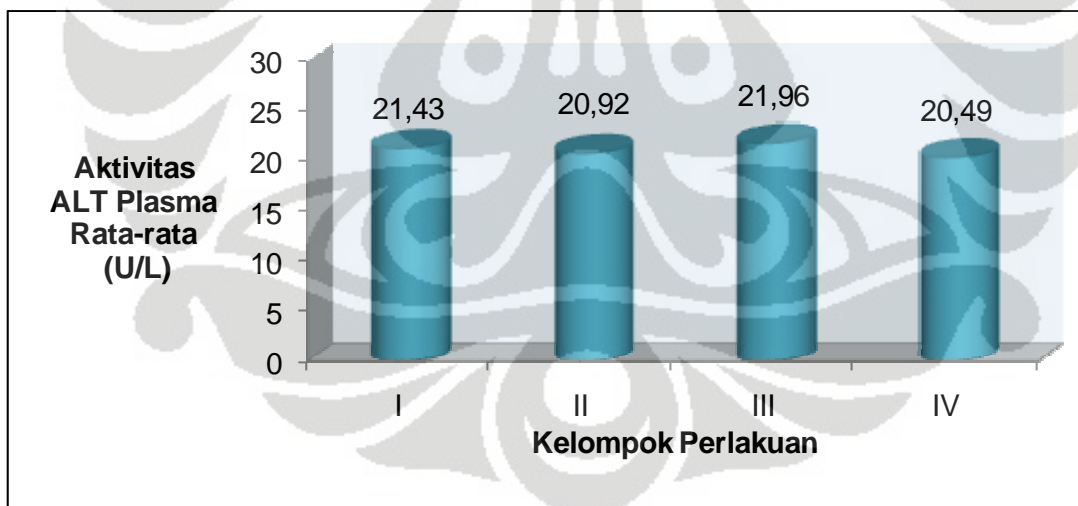
Gambar 3. Kurva kalibrasi larutan standar natrium piruvat

Keterangan: persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 0,0230 + 0,0041438x$. Dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9986.



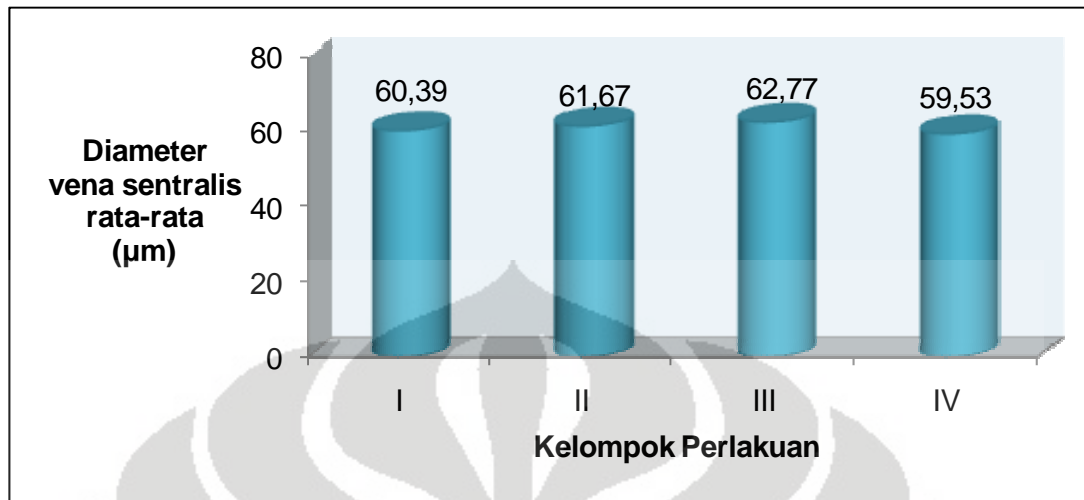
Gambar 4. Diagram aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari.

Keterangan: Kelompok I = kelompok dosis 1,8mg/ 200 g bb; kelompok II = kelompok dosis 3,6mg/ 200g bb; kelompok III = kelompok dosis 7,2mg/ 200g bb; kelompok IV = kontrol normal.



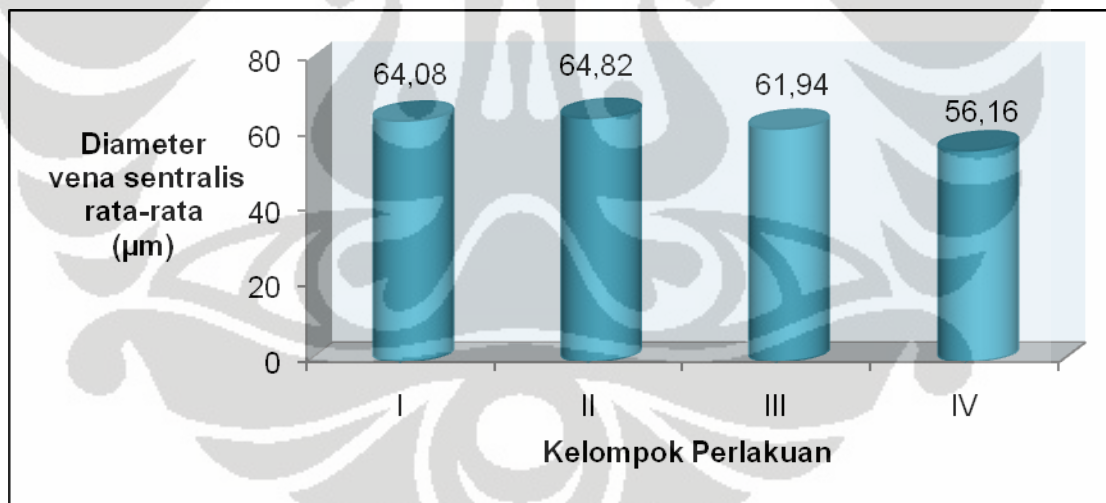
Gambar 5. Diagram aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari.

Keterangan: Kelompok I = kelompok dosis 1,8mg/ 200 g bb; kelompok II = kelompok dosis 3,6mg/ 200g bb; kelompok III = kelompok dosis 7,2mg/ 200g bb; kelompok IV = kontrol normal.



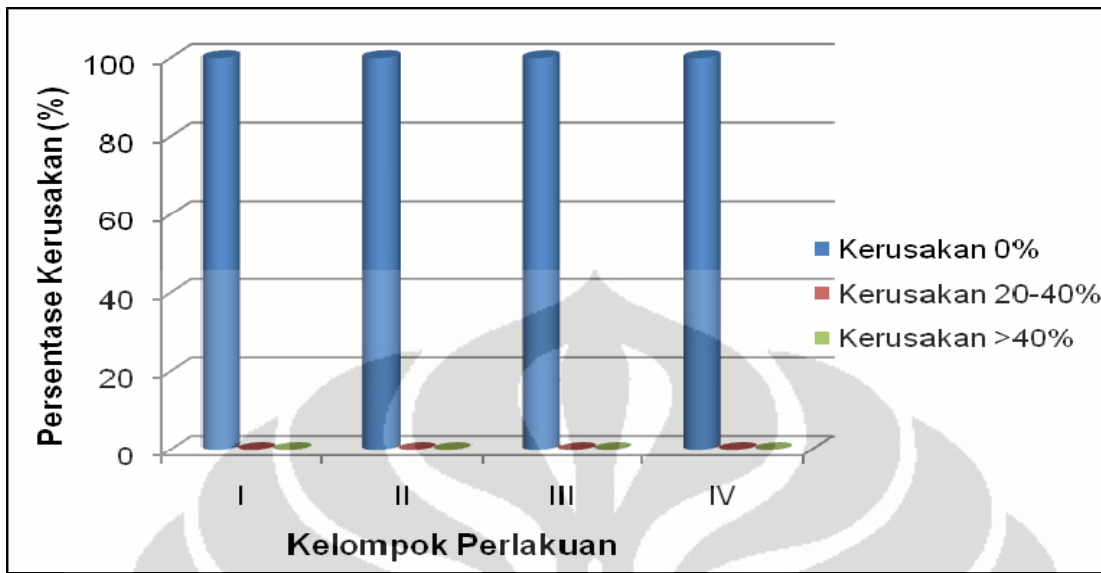
Gambar 6. Diagram diameter vena sentralis rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari.

Keterangan: Kelompok I = kelompok dosis 1,8mg/ 200g bb; kelompok II = kelompok dosis 3,6mg/ 200g bb; kelompok III = kelompok dosis 7,2mg/ 200g bb; kelompok IV = kontrol normal.



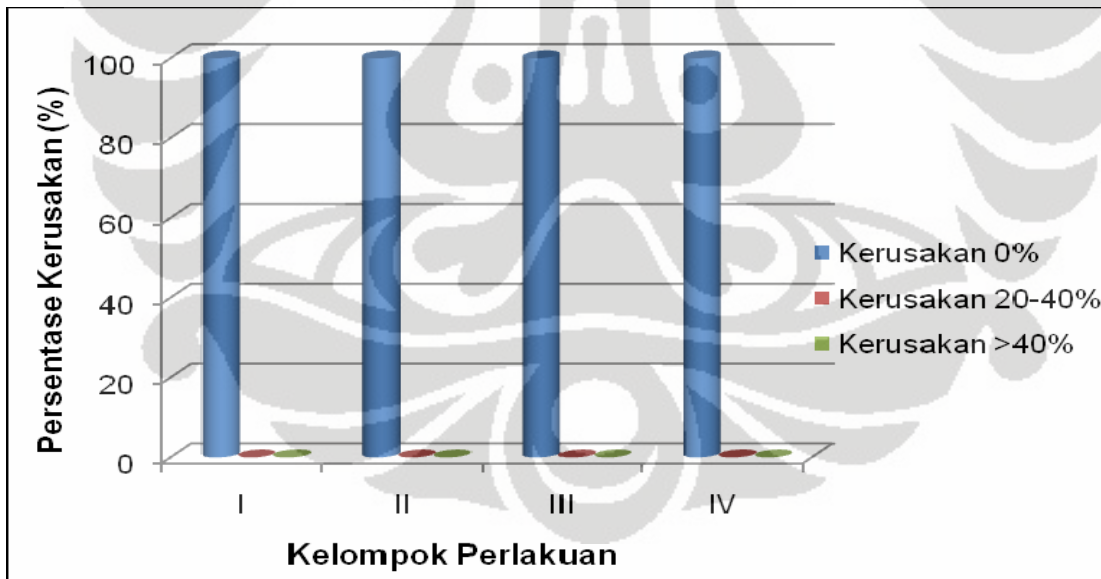
Gambar 7. Diagram diameter vena sentralis rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari.

Keterangan: Kelompok I = kelompok dosis 1,8mg/ 200g bb; kelompok II = kelompok dosis 3,6mg/ 200g bb; kelompok III = kelompok dosis 7,2mg/ 200g bb; kelompok IV = kontrol normal.



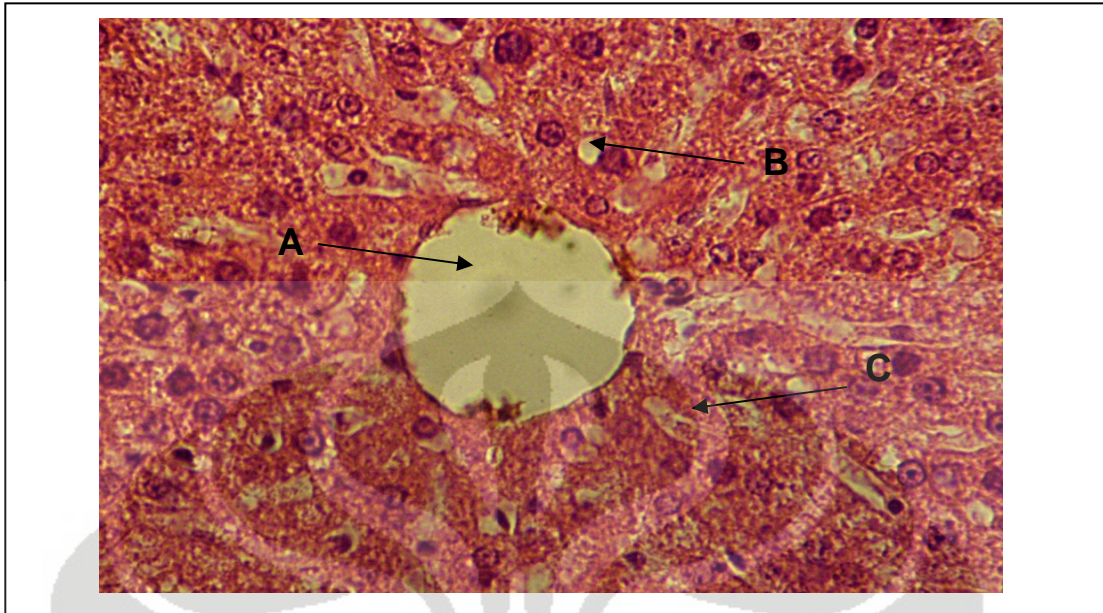
Gambar 8. Diagram persentase kerusakan vena sentralis hati tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari.

Keterangan: Kelompok I = kelompok dosis 1,8mg/ 200g bb; kelompok II = kelompok dosis 3,6mg/ 200g bb; kelompok III = kelompok dosis 7,2mg/ 200g bb; kelompok IV = kontrol normal.

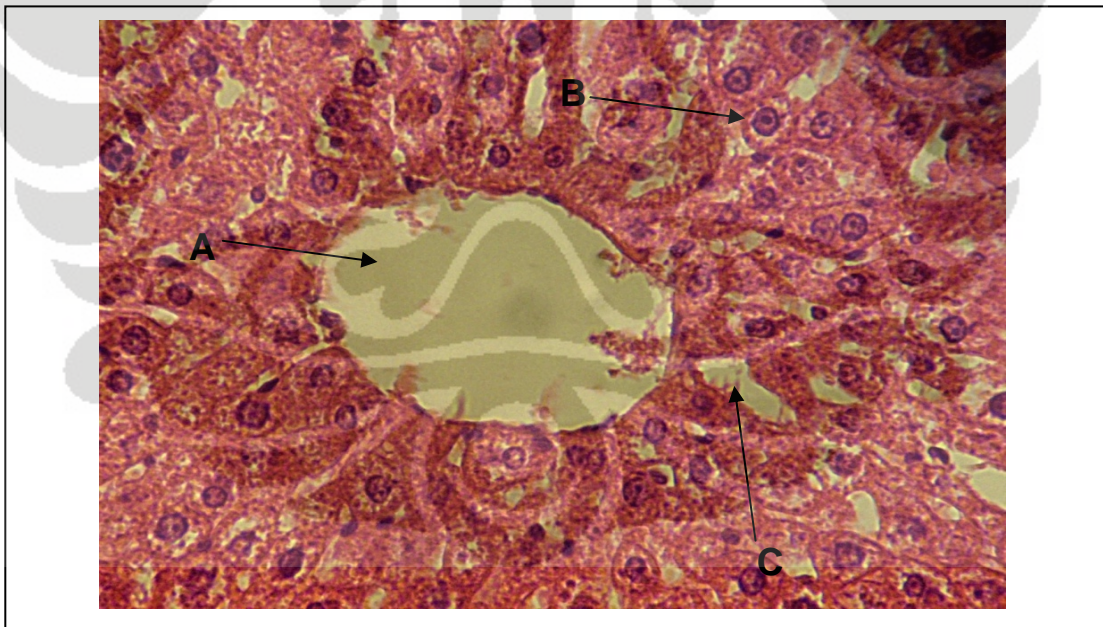


Gambar 9. Diagram persentase kerusakan vena sentralis hati tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari.

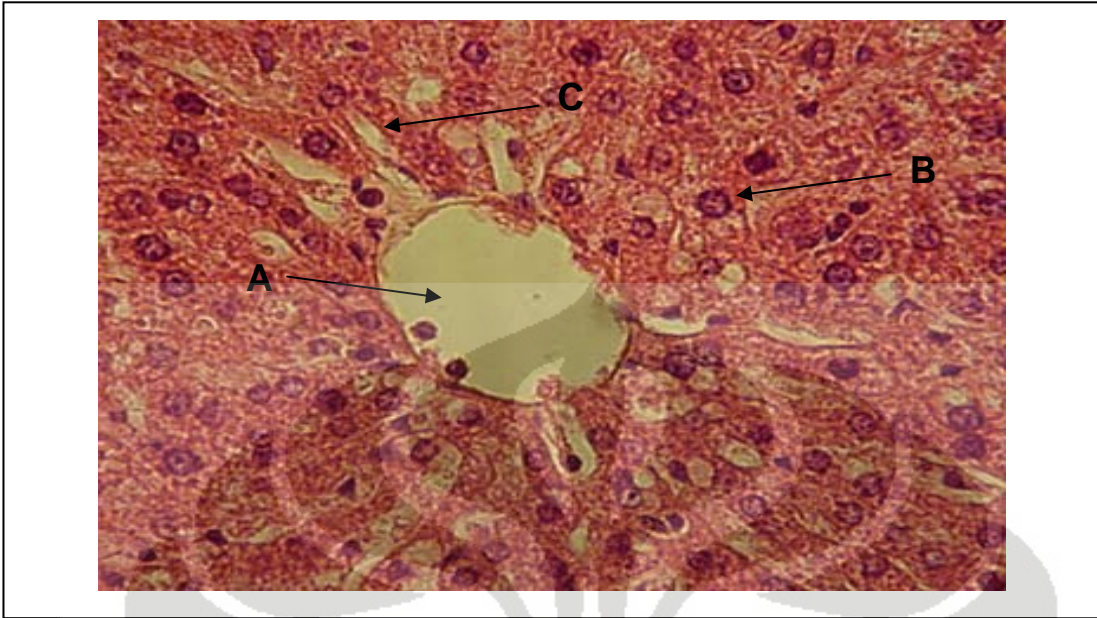
Keterangan: Kelompok I = kelompok dosis 1,8mg/ 200g bb; kelompok II = kelompok dosis 3,6mg/ 200g bb; kelompok III = kelompok dosis 7,2mg/ 200g bb; kelompok IV = kontrol normal.



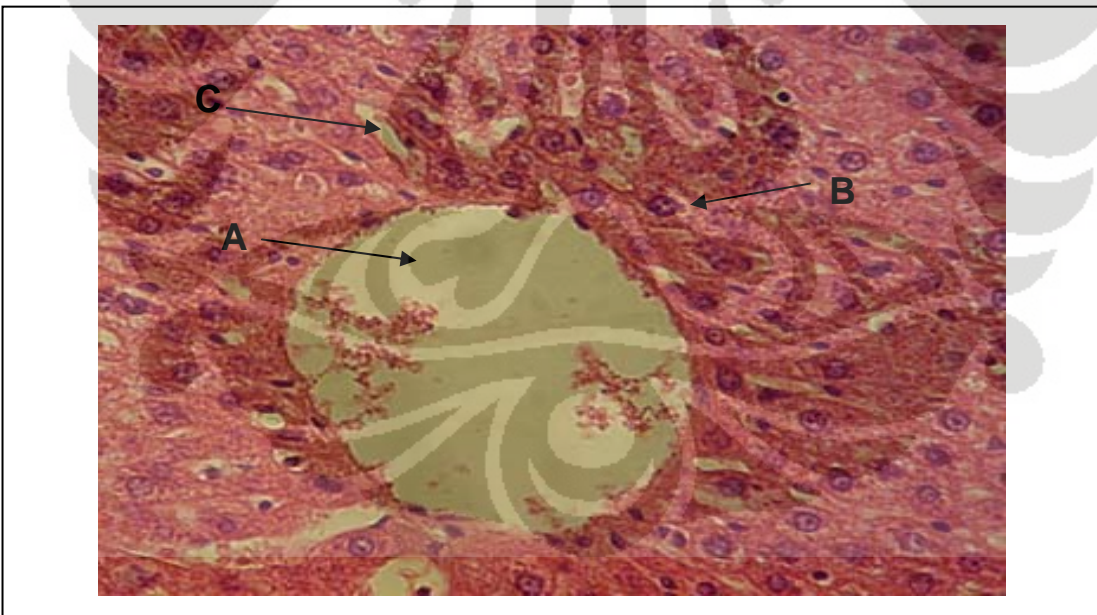
Gambar 10. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 1,8mg/200g bb setelah perlakuan 90 hari, perbesaran 40x
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



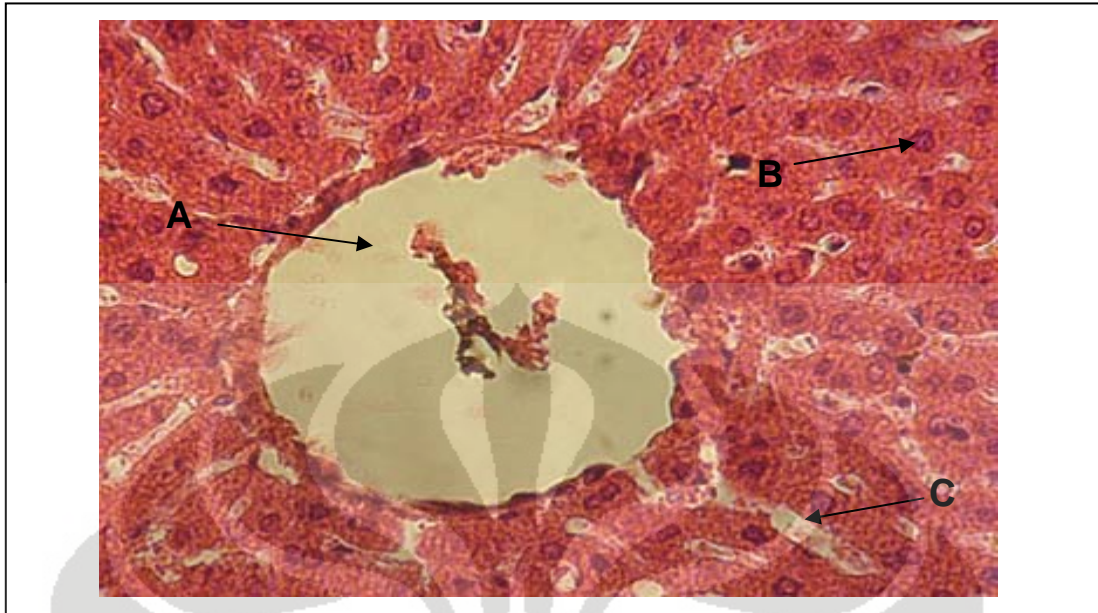
Gambar 11. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 1,8mg/200g bb setelah perlakuan 90 hari, perbesaran 40x
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



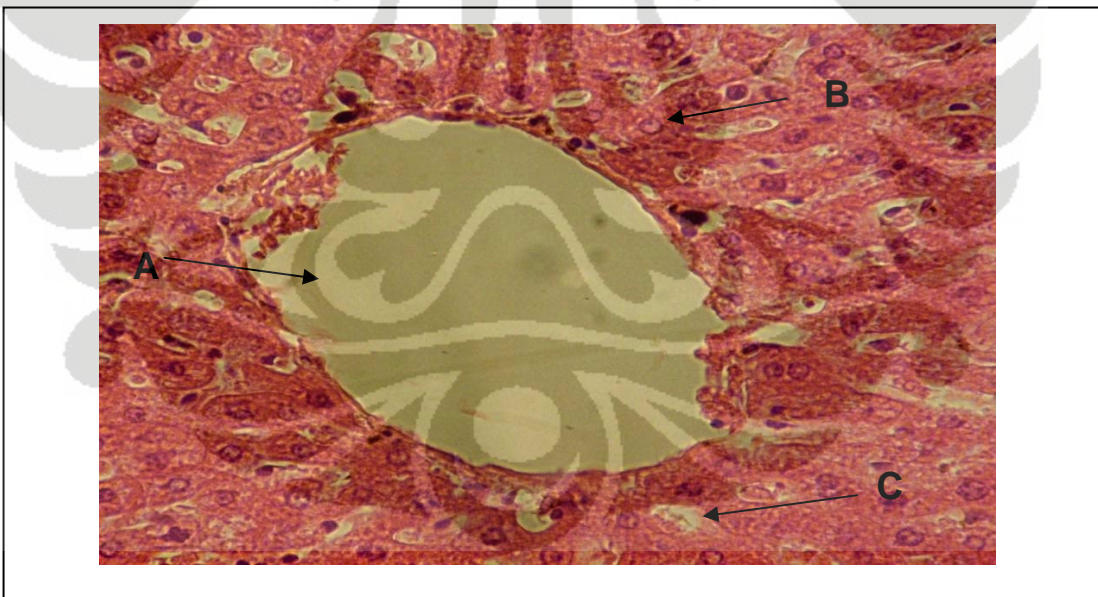
Gambar 12. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 3,6mg/200g bb setelah perlakuan 90 hari, perbesaran 40x
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



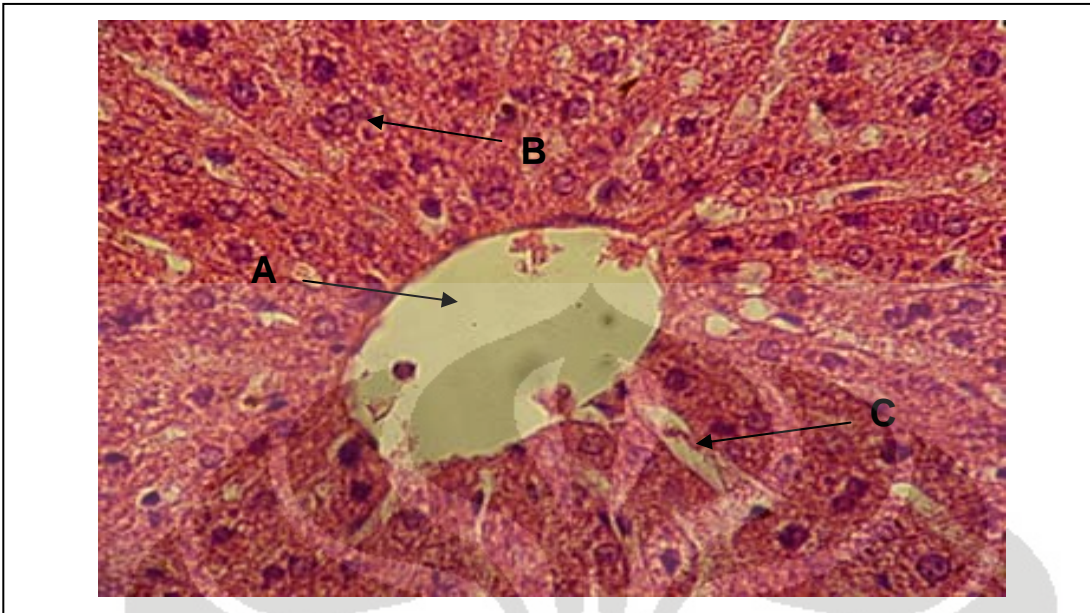
Gambar 13. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 3,6mg/200g bb setelah perlakuan 90 hari, perbesaran 40x
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



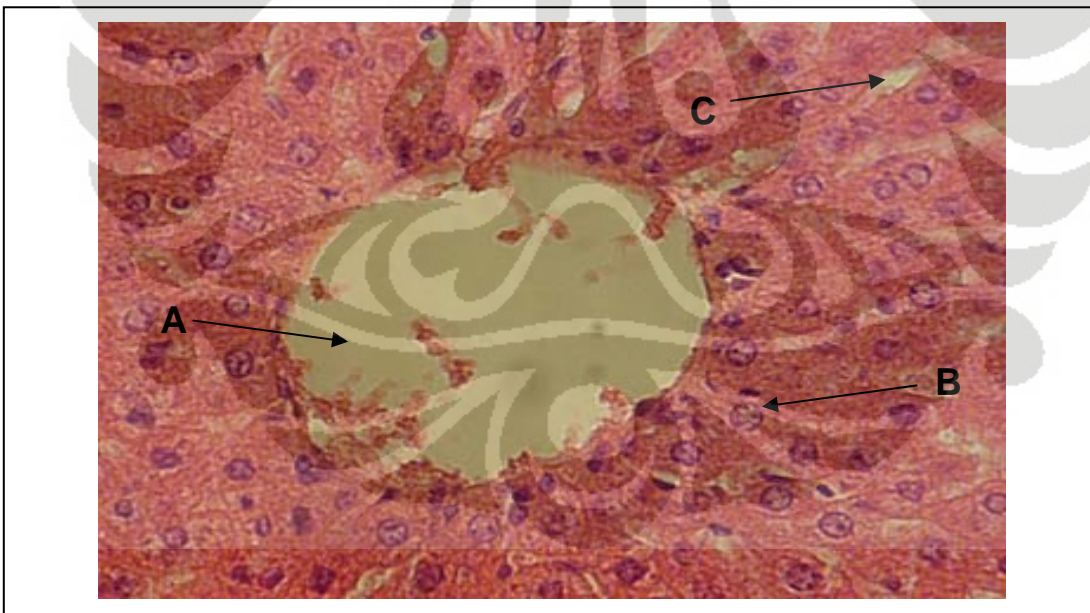
Gambar 14. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 7,2mg/200g bb setelah perlakuan 90 hari, perbesaran 40x
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



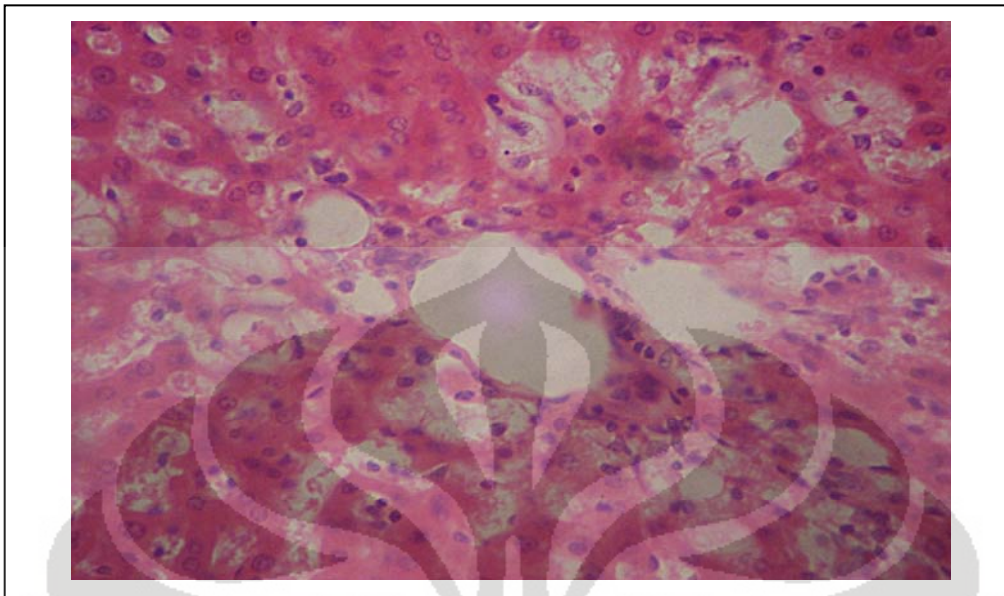
Gambar 15. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 7,2mg/200g bb setelah perlakuan 90 hari, perbesaran 40x
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



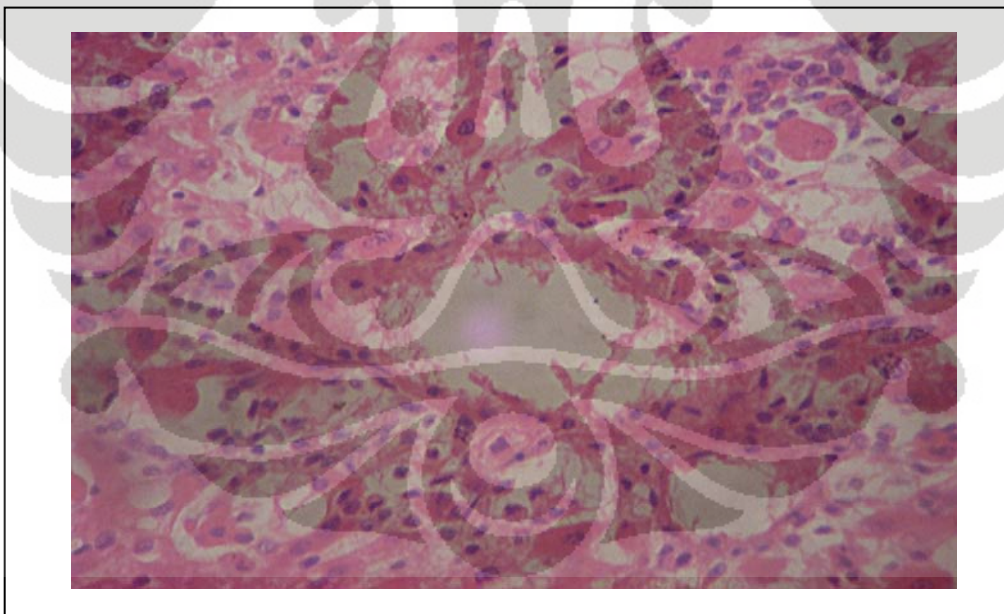
Gambar 16. Gambaran histologi hati kelompok jantan kontrol normal, setelah perlakuan 90 hari, perbesaran 40x
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



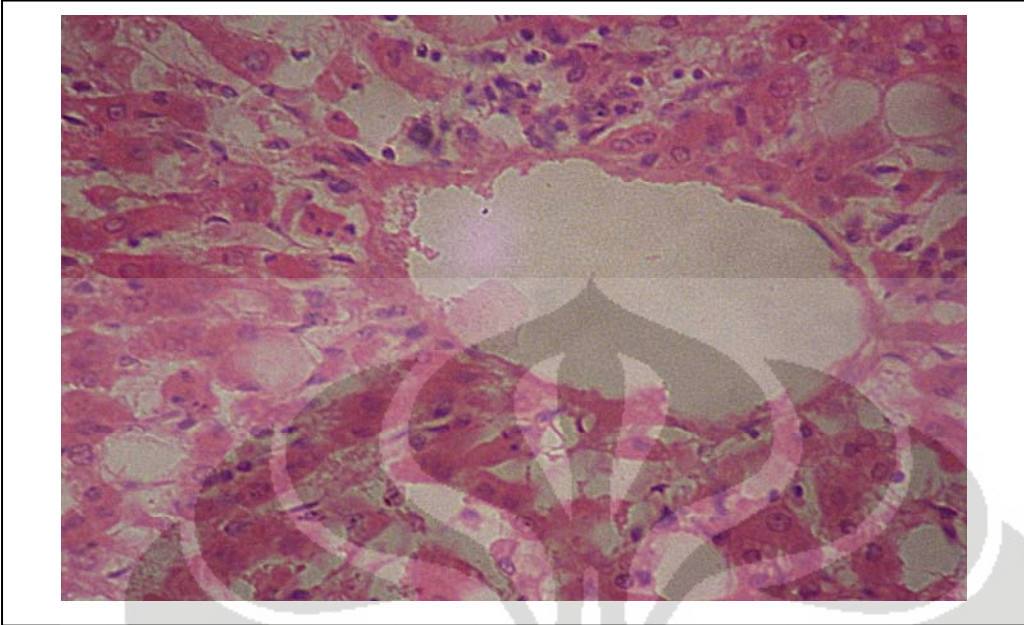
Gambar 17. Gambaran histologi hati kelompok betina kontrol normal, setelah perlakuan 90 hari, perbesaran 40x
Keterangan: A= vena sentralis dengan sel endotel normal, B= Hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C= sinusoid.



Gambar 18. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 10%



Gambar 19. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan 20%



Gambar 20. Gambaran histologi hati dengan derajat kerusakan >40%

Tabel 1

Serapan larutan standar natrium piruvat dalam berbagai aktivitas

No. Tabung	Larutan Standar Piruvat (mL)	Larutan Dapar Substrat (mL)	Nilai Aktivitas (U/L)	Serapan (A)
1	0,00	1,00	0	0
2	0,10	0,90	14	0,085
3	0,20	0,80	32	0,145
4	0,30	0,70	51	0,241
5	0,40	0,60	69	0,311
6	0,50	0,50	92	0,402

Pengukuran serapan larutan standar natrium piruvat dengan pereaksi 2,4-dinitrofenilhidrazin pada panjang gelombang 505 nm. Persamaan regresi linier yang diperoleh $y = 0,0230 + 0,0041438x$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9986.

Tabel 3

Aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari

Kelompok	Serapan	Aktivitas ALT Plasma (U/L)	Aktivitas ALT Plasma rata-rata \pm SD (U/L)
Dosis 1,8mg/ 200g bb	0,096	17,62	21,43 \pm 4,28
	0,105	19,79	
	0,129	25,58	
	0,140	28,23	
	0,117	22,68	
	0,089	15,93	
	0,100	18,58	
	0,131	26,06	
	0,093	16,89	
	0,118	22,93	
Dosis 3,6mg/ 200g bb	0,098	18,10	20,92 \pm 4,75
	0,147	29,92	
	0,109	20,75	
	0,113	21,72	
	0,094	17,13	
	0,086	15,20	
	0,115	22,20	
	0,104	19,55	
	0,093	16,89	
	0,138	27,75	
Dosis 7,2mg/ 200g bb	0,151	30,89	21,96 \pm 5,44
	0,112	21,48	
	0,120	23,41	
	0,094	17,13	
	0,137	27,51	
	0,098	18,10	
	0,142	28,72	
	0,103	19,31	
	0,097	17,86	
	0,086	15,20	
Kontrol normal	0,097	17,86	20,49 \pm 4,59
	0,115	22,20	
	0,094	17,13	
	0,121	23,65	
	0,106	20,03	
	0,091	16,41	
	0,110	21,00	
	0,084	14,72	
	0,151	30,89	
	0,110	21,00	

Tabel 2

Aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari

Kelompok	Serapan	Aktivitas ALT Plasma (U/L)	Aktivitas ALT Plasma rata-rata \pm SD (U/L)
Dosis 1,8mg/ 200g bb	0,092	16,65	22,15 \pm 4,09
	0,117	22,68	
	0,119	23,17	
	0,109	20,75	
	0,140	28,23	
	0,144	29,20	
	0,111	21,24	
	0,095	17,38	
	0,104	19,55	
	0,117	22,68	
Dosis 3,6mg/ 200g bb	0,132	26,30	22,90 \pm 5,45
	0,096	17,62	
	0,131	26,06	
	0,110	21,00	
	0,096	17,62	
	0,171	35,72	
	0,120	23,41	
	1,106	20,03	
	0,103	19,31	
	0,114	21,96	
Dosis 7,2mg/ 200g bb	0,102	19,06	26,57 \pm 7,03
	0,117	22,68	
	0,096	17,62	
	0,137	27,51	
	0,155	31,85	
	0,148	30,17	
	0,167	34,75	
	0,098	18,10	
	0,177	37,16	
	0,134	26,79	
Kontrol normal	0,113	21,72	20,30 \pm 4,97
	0,082	14,24	
	0,132	26,30	
	0,091	16,41	
	0,090	16,17	
	0,143	28,96	
	0,088	15,69	
	0,097	17,86	
	0,115	22,20	
	0,120	23,41	

Tabel 4

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

Kelompok	Diameter vena sentralis rata-rata (μm)			Rata-rata \pm SD
	Ulangan ke-			
	1	2	3	
Dosis 1,8mg/ 200g bb	69,91	53,66	57,59	60,39 \pm 8,48
Dosis 3,6mg/ 200g bb	66,61	63,04	55,36	61,67 \pm 5,75
Dosis 7,2mg/ 200g bb	62,59	65,18	60,54	62,77 \pm 2,33
Kontrol normal	52,95	64,38	61,25	59,53 \pm 5,91

Tabel 5

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

Kelompok	Diameter vena sentralis rata-rata (μm)			Rata-rata \pm SD
	Ulangan ke-			
	1	2	3	
Dosis 1,8mg/ 200g bb	65,18	64,20	62,86	64,08 \pm 1,16
Dosis 3,6mg/ 200g bb	69,29	61,70	63,48	64,82 \pm 3,97
Dosis 7,2mg/ 200g bb	59,91	65,27	60,63	61,94 \pm 2,91
Kontrol normal	47,14	55,63	65,71	56,16 \pm 9,30

Tabel 6

Persentase kerusakan sel hati tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari

Kelompok	Degenerasi	Ulangan ke-			Rata-rata
		1	2	3	
Dosis 1,8mg/ 200g bb	0 %	100	100	100	100
	20-40 %	0	0	0	0
	> 40 %	0	0	0	0
Dosis 3,6mg/ 200g bb	0 %	100	100	100	100
	20-40 %	0	0	0	0
	> 40 %	0	0	0	0
Dosis 7,2mg/ 200g bb	0 %	100	100	100	100
	20-40 %	0	0	0	0
	> 40 %	0	0	0	0
Kontrol normal	0 %	100	100	100	100
	20-40 %	0	0	0	0
	> 40 %	0	0	0	0

Tabel 7

Persentase kerusakan sel hati tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari

Kelompok	Degenerasi	Ulangan ke-			Rata-rata
		1	2	3	
Dosis 1,8mg/ 200g bb	0 %	100	100	100	100
	20-40 %	0	0	0	0
	> 40 %	0	0	0	0
Dosis 3,6mg/ 200g bb	0 %	100	100	100	100
	20-40 %	0	0	0	0
	> 40 %	0	0	0	0
Dosis 7,2mg/ 200g bb	0 %	100	100	100	100
	20-40 %	0	0	0	0
	> 40 %	0	0	0	0
Kontrol normal	0 %	100	100	100	100
	20-40 %	0	0	0	0
	> 40 %	0	0	0	0

Lampiran 1

Cara penetapan dosis

Dosis yang digunakan berdasarkan uji khasiat yang telah dilakukan sebelumnya. Dosis yang digunakan adalah 20mg/hari. Faktor konversi dari manusia ke tikus adalah 0,018 untuk berat badan tikus 200 gram dan faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10.

Dosis untuk tikus 200 gram setelah dikonversi

$$= 20\text{mg/hari} \times 0,018 \times 10$$

$$= 3,6\text{mg}/200\text{g bb tikus/hari.}$$

Dosis I dan dosis III merupakan dosis dengan kelipatan $\frac{1}{2}$ dan 2 dari dosis II, sehingga dosis yang digunakan adalah: 1,8mg/200g bb/hari; 3,6mg/200g bb/hari; dan 7,2mg/200g bb/hari

Lampiran 2

Cara pembuatan suspensi obat LS

Volume suspensi obat LS yang diberikan adalah 2mL/ 200g bb tikus. Konsentrasi dosis III (7,2 mg) dalam volume pemberian 2 mL adalah 3,6 mg/mL. Dosis III dibuat sebanyak 200 mL dengan menimbang 720 mg serbuk obat LS yang disuspensikan dalam larutan CMC 0,5%. Dosis I dan dosis II dibuat dengan pengenceran dari dosis III. Konsentrasi dosis I dan dosis II adalah 0,90 mg/mL dan 1,8 mg/mL.

Banyaknya suspensi bahan uji yang dibuat per hari adalah

Dosis I : 100 ml

$$\frac{0,90 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL}}{3,6 \text{ mg/mL}} = 25 \text{ mL (dosis III)}$$

Dosis II : 100 ml

$$\frac{1,8 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL}}{3,6 \text{ mg/mL}} = 50 \text{ mL (dosis III)}$$

Dosis III : 200 mL

Kelompok kontrol hanya mendapat larutan CMC 0,5 % sebanyak 2mL/ 200 g bb.

Lampiran 3

Perhitungan aktivitas ALT plasma

Persamaan kurva kalibrasi larutan standar natrium piruvat :

$$y = 0,0230 + 0,0041438x$$

Contoh:

Serapan yang diperoleh = y

$$= 0,109$$

Maka aktivitas ALT = x

$$= \frac{0,109 - 0,023}{0,0041438}$$

$$= 20,75 \text{ U/L}$$

Lampiran 4

Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan
(SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan
- Hipotesa : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan terdistribusi normal
 H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan tidak terdistribusi normal
- Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan terdistribusi normal.

<i>Shapiro-Wilk</i>				
	Kelompok	Statistik	df	Sig.
Aktivitas ALT Plasma	1	0,929	10	0,443
	2	0,857	10	0,070
	3	0,935	10	0,497
	4	0,926	10	0,412

Lampiran 5

Uji kesamaan varian terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan
(SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varian dari data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan
- Hipotesa : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan bervariasi homogen
 H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Levene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,253 $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan bervariasi homogen.

Aktivitas ALT Plasma			
<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.
1,419	3	36	0,253

Lampiran 6

Uji Analisis Varian Satu Arah terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan
- Hipotesa : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan tidak berbeda secara bermakna
 H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan berbeda secara bermakna
- Statistik uji : uji F
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,094 $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan tidak berbeda secara bermakna.

	Aktivitas ALT Plasma				
	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	207,746	3	69,249	2,298	0,094
Dalam Kelompok	1084,974	36	30,138		
Total	1292,720	39			

Lampiran 7

Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina
(SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALT plasma tikus putih betina
- Hipotesa : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina terdistribusi normal
 H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina tidak terdistribusi normal
- Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih betina terdistribusi normal.

<i>Shapiro-Wilk</i>				
	Kelompok	Statistik	df	Sig.
Aktivitas ALT Plasma	1	0,937	10	0,519
	2	0,910	10	0,283
	3	0,916	10	0,327
	4	0,913	10	0,303

Lampiran 8

Uji kesamaan varian terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina
(SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varian dari data aktivitas ALT plasma tikus putih betina
- Hipotesa : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina bervariasi homogen
 H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Levene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,732 $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih betina bervariasi homogen.

Aktivitas ALT Plasma			
<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.
0,431	3	36	0,732

Lampiran 9

Uji Analisis Varian Satu Arah terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih betina (SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALT plasma tikus putih betina
- Hipotesa : H_0 = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina tidak berbeda secara bermakna
 H_a = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina berbeda secara bermakna
- Statistik uji : uji F
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,911 $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih betina tidak berbeda secara bermakna.

	Aktivitas ALT Plasma				
	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	12,149	3	4,050	0,177	0,911
Dalam Kelompok	824,294	36	22,897		
Total	836,444	39			

Lampiran 10

Uji distribusi normal terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan
(SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui distribusi data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan
- Hipotesa : H_0 = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan terdistribusi normal
 H_a = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan tidak terdistribusi normal
- Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan terdistribusi normal

	<i>Shapiro-Wilk</i>			
	Kelompok	Statistik	df	Sig.
Diameter Vena Sentralis	1	0,918	3	0,447
	2	0,957	3	0,603
	3	0,996	3	0,872
	4	0,936	3	0,512

Lampiran 11

Uji kesamaan varian terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varian dari data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan
- Hipotesa : H_0 = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan bervariasi homogen
 H_a = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Levene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,228 $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan bervariasi homogen

Diameter Vena Sentralis			
<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.
1,781	3	8	0,228

Lampiran 12

Uji Analisis Varian Satu Arah terhadap diameter vena sentralis hati
tikus putih jantan
(SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan
- Hipotesa : Ho = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan tidak berbeda secara bermakna
Ha = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan berbeda secara bermakna
- Statistik uji : uji F
- α : 0,05
- Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,915 $> \alpha$
- Kesimpulan : Ho diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan tidak berbeda secara bermakna.

	Diameter Vena Sentralis				
	Jumlah Kuadrat	Df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	18,292	3	6,097	0,168	0,915
Dalam Kelompok	290,451	8	36,306		
Total	308,743	11			

Lampiran 13

Uji distribusi normal terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih betina (SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui distribusi data diameter vena sentralis hati tikus putih betina
- Hipotesa : Ho = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina terdistribusi normal
Ha = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina tidak terdistribusi normal
- Statistik uji : uji *Shapiro-Wilk*
- α : 0,05
- Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai Signifikansi < α
- Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok > α
- Kesimpulan : Ho diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih betina terdistribusi normal.

<i>Shapiro-Wilk</i>				
	Kelompok	Statistik	df	Sig.
Diameter Vena Sentralis	1	0,992	3	0,829
	2	0,914	3	0,432
	3	0,849	3	0,237
	4	0,998	3	0,906

Lampiran 14

Uji kesamaan varian terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih betina
(SPSS 15.0)

Tujuan : Mengetahui kesamaan varian dari data diameter vena sentralis hati tikus putih betina

Hipotesa : H_0 = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina bervariasi homogen

H_a = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina tidak bervariasi homogen

Statistik uji : uji *Levene*

α : 0,05

Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$

Hasil : Nilai signifikansi = 0,158 $> \alpha$

Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih betina bervariasi homogen.

Diameter Vena Sentralis			
<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.
2,263	3	8	0,158

Lampiran 15

Uji Analisis Varian Satu Arah terhadap diameter vena sentralis hati
tikus putih betina
(SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui ada tidaknya perbedaan data diameter vena sentralis hati tikus putih betina
- Hipotesa : H_0 = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina tidak berbeda secara bermakna
 H_a = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina berbeda secara bermakna
- Statistik uji : uji F
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,254 $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih betina tidak berbeda secara bermakna.

	Diameter Vena Sentralis				
	Jumlah Kuadrat	Df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	138,472	3	46,157	1,649	0,254
Dalam Kelompok	223,993	8	27,999		
Total	362,465	11			