

**PENGARUH PEMBERIAN BAHAN OBAT HERBAL “X” TERHADAP  
FUNGSI HATI DITINJAU DARI AKTIVITAS ALANIN  
AMINOTRANSFERASE PLASMA DAN GAMBARAN HISTOLOGI HATI  
PADA TIKUS PUTIH**

**Juwita Kurniasih Putri**

**0305250301**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**DEPARTEMEN FARMASI**

**PROGRAM SARJANA EKSTENSI**

**DEPOK**

**2008**

**PENGARUH PEMBERIAN BAHAN OBAT HERBAL “X” 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

**Oleh:**

**Juwita Kurniasih Putri**

**0305250301**



**DEPOK**

**2008**

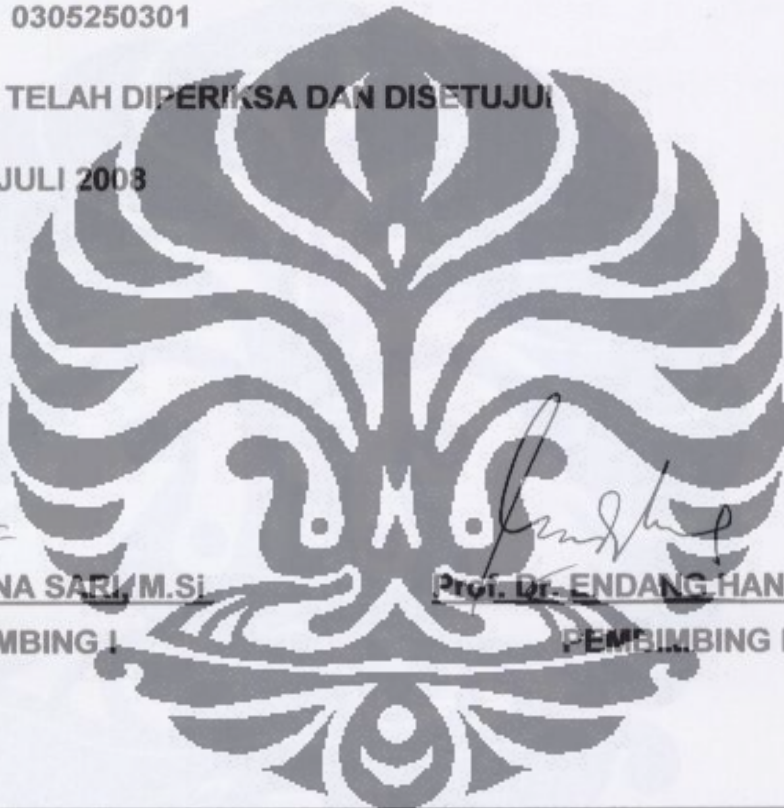
**SKRIPSI : PENGARUH PEMBERIAN BAHAN OBAT HERBAL "X"  
TERHADAP FUNGSI HATI DITINJAU DARI AKTIVITAS  
ALANIN AMINOTRANSFERASE PLASMA DAN GAMBARAN  
HISTOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH**

**NAMA : JUWITA KURNIASIH PUTRI**

**NPM : 0305250301**

**SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI**

**DEPOK, 18 JULI 2008**



**SANTI PURNA SARI, M.Si**

**PEMBIMBING I**

**Profr. Dr. ENDANG HANANI, MS**

**PEMBIMBING II**

**Tanggal lulus sidang sarjana:**

**Penguji I : Dr. Katrin, MS.....**

**Penguji II : Dr. Herman Suryadi, MS.....**

**Penguji III : Sutriyo, M.Si.....**

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis mengucapkan segala puji kepada Allah SWT karena atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan dan penyusunan skripsi yang berjudul Pengaruh Pemberian Bahan Obat Herbal "X" 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 Ibu Prof. Dr. Endang Hanani, MS selaku pembimbing II yang memberikan arahan kepada penulis, memberikan ide-ide terbaik dan banyak ilmu bermanfaat selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Bapak Dr. Abdul Mun'im, MS selaku Ketua Program Sarjana Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Bapak Drs. Hayun M.Si selaku pembimbing akademis, yang memberikan arahan dan mengurus akademis penulis.
5. Ibu Azizahwati, MS dan Bapak Dr. Dadang Kusmana yang memberikan bimbingan dan ilmu yang bermanfaat selama penyusunan skripsi.

6. Seluruh staf pengajar, laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu kelancaran dalam perkuliahan, dan penelitian.
7. Kedua orang tua, atas segala doa dan kasih sayangnya kepada penulis, adik-adikku (Endah dan Agung), dan seluruh keluarga yang senantiasa memberikan dukungan serta cinta yang tiada terbatas.
8. Teman-temanku sesama penelitian di KBI Farmakologi: Ifada, Didiek, Anggita, Tw, Elya, Yuli, Anita, Alef, Muti, Witri, Nining, Tia, Iqbal, Vita, Athin, Sussi, Mia, Mely, Sharon, Sari, Reza atas semua dukungannya.
9. Sahabat-sahabatku Neni dan Voni yang selalu mendukung penelitian ini dan memberikan keceriaan selama mengikuti program ekstensi. Serta untuk sahabatku yang lain anis, vira, tino, anfa, aulia atas dukungannya.
10. Iva yang selalu membantu dan mendukung selama penyusunan skripsi.
11. Ai yang telah banyak membantu selama melaksanakan penelitian ini.
12. Semua pihak yang tak dapat disebutkan satu persatu yang telah turut memberikan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga Allah SWT menggantikannya dengan yang lebih baik.

Penulis menyadari masih ada kekurangan dalam penulisan skripsi.

Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat. Saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan agar dapat menjadi lebih baik dimasa depan.

Penulis

2008

## ABSTRAK

Bahan obat herbal "X" berasal dari tanaman obat yang secara empirik digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit hipertensi, dan diabetes mellitus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bahan obat herbal "X" terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase (ALT) plasma dan gambaran histologi hati tikus. Penelitian menggunakan 40 ekor tikus jantan dan 40 ekor tikus betina, kemudian dibagi menjadi empat kelompok, yaitu Kelompok I, II, dan III adalah kelompok perlakuan yang diberi bahan obat herbal "X" dengan dosis berturut-turut 83,33 mg/kg bb; 166,67 mg/kg bb; dan 333,33 mg/kg bb. Kelompok IV adalah kontrol yang diberi larutan CMC 1%. Pada hari ke-91, dilakukan pengukuran aktivitas ALT plasma dengan metode kolorimetri dan diameter vena sentralis. Hasil analisis varian satu arah (ANOVA) pada  $\alpha = 0,05$  terhadap aktivitas ALT dan diameter vena sentralis tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol normal. Dengan demikian penggunaan bahan obat herbal "X" yang diberikan selama 90 hari tidak berpengaruh terhadap fungsi hati.

Kata kunci: *Artocarpus altilis*; ALT; Hati

ix + 79 hal.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi: 25 (1957-2008)

## ABSTRACT

Herbal medicine "X" material have been used empirically as traditional medicine to cure hypertension, and diabetes mellitus. The aim of this study was to know the effect of herbal medicine "X" material which was conducted toward the activities of ALT plasma and histology of rats liver. Study used forty male rats and forty female rats, which divided into four groups, group I, II, and III were an experiment group which given herbal medicine "X" material with the following doses incessant 83,33 mg/kg bw; 166,67 mg/kg bw; 333,33 mg/kg bw. Group IV was a control group which given CMC 1% solution. At the 91<sup>st</sup> day, the blood and the liver were taken from rats body to measure ALT plasma activities with colorimetric method and liver's hispatology with measure centralis vein diameter. One way analysis of varians (ANOVA) of ALT plasma and centralis vein diameter ( $\alpha = 0,05$ ) showed that there were no significant difference between experiment group and control group. The results indicate that giving herbal medicine "X" material for ninety days was not effect the liver function.

Key words : Artocarpus altilis; ALT; Liver

ix + 79 pages; figure; tables; appendix

Bibliography : 25 (1957-2008)

## DAFTAR ISI

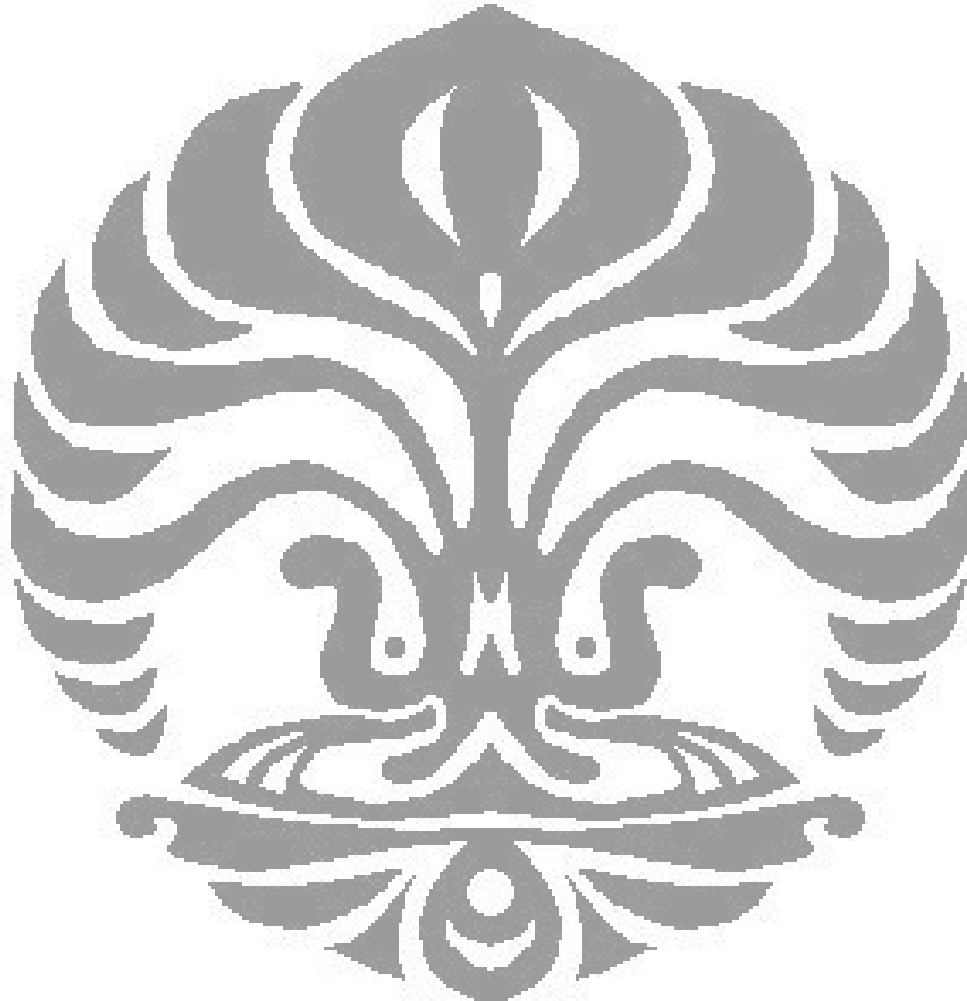
KATA PENGANTAR .....	i
ABSTRAK .....	iii
ABSTRACT .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN .....	ix
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
C. Hipotesis .....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Bahan Obat Herbal "X" .....	5
B. Hati .....	6
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA .....	13
A. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	13
B. Alat dan Bahan .....	13
C. Cara Kerja .....	16
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	27
A. Hasil .....	27
B. Pembahasan .....	31
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	35
A. Kesimpulan .....	35
B. Saran .....	35
DAFTAR ACUAN .....	37



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata.....	43
2. Persamaan reaksi pembentukan asam Piruvat dan asam Glutamat dengan ALT sebagai katalisator dan pembentukkan warna pada pengukuran ALT plasma secara kolorimetri.....	44
3. Kurva kalibrasi aktivitas ALT plasma.....	45
4. Diagram aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih jantan setelah diberi perlakuan selama 90 hari .....	45
5. Diagram aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari .....	46
6. Diagram diameter vena sentralis rata-rata tikus putih jantan setelah diberi perlakuan selama 90 hari .....	46
7. Diagram diameter vena sentralis rata-rata tikus putih betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari .....	47
8. Diagram derajat kerusakan vena sentralis pada hati tikus putih jantan setelah diberi perlakuan selama 90 hari .....	47
9. Diagram derajat kerusakan vena sentralis pada hati tikus putih betina setelah diberi perlakuan selama 90 hari .....	48
10. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 25 mg flavonoid/kg bb setelah perlakuan 90 hari .....	49
11. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 25 mg flavonoid/kg bb setelah perlakuan 90 hari.....	49
12. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 50 mg flavonoid/kg bb setelah perlakuan 90 hari .....	50
13. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 50 mg flavonoid/kg bb setelah perlakuan 90 hari .....	50

14. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 100 mg flavonoid/kg bb setelah perlakuan 90 hari .....	51
15. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 100 mg flavonoid/kg bb setelah perlakuan 90 hari .....	51
16. Gambaran histologi hati kelompok jantan kontrol normal .....	52
17. Gambaran histologi hati kelompok betina kontrol normal .....	52



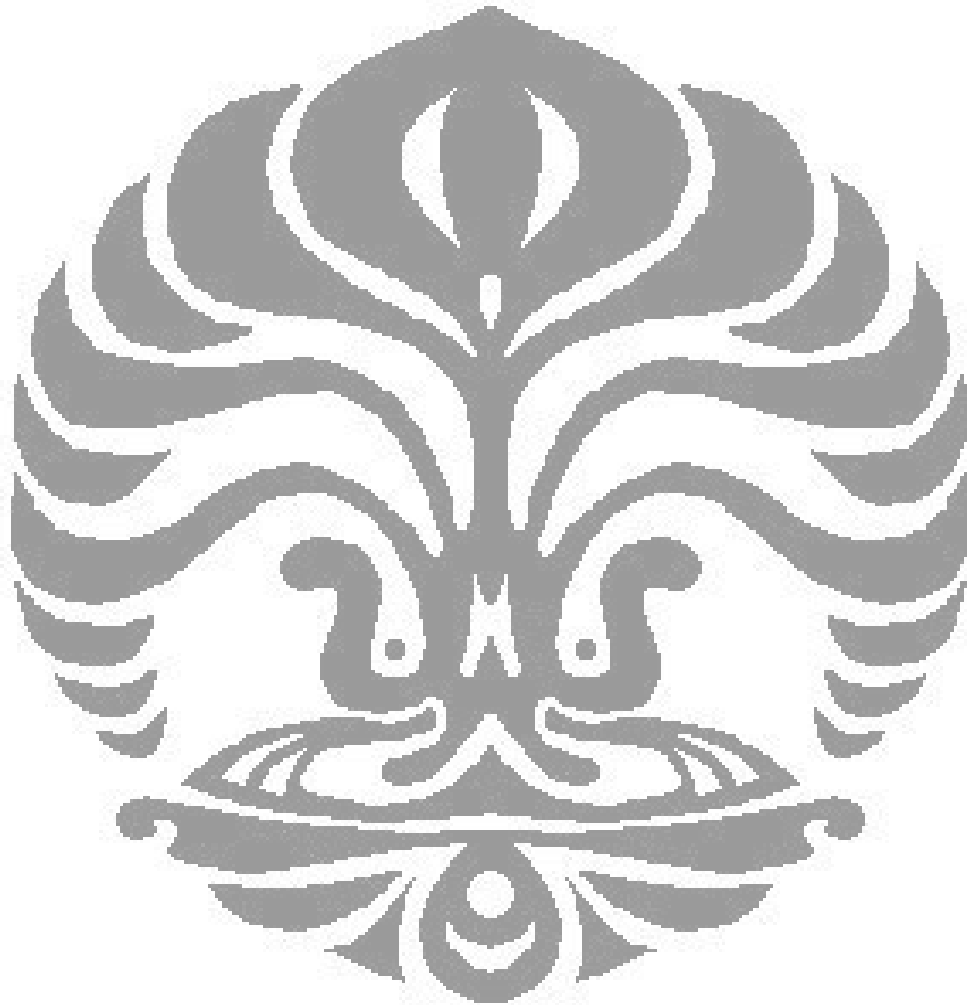
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Serapan larutan standar ALT plasma dalam berbagai aktivitas dalam pembuatan kurva kalibrasi .....	55
2. Aktivitas ALT plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari .....	56
3. Aktivitas ALT plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari .....	57
4. Diameter rata-rata vena sentralis tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari .....	58
5. Diameter rata-rata vena sentralis tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari .....	59
6. Persentase kerusakan sel hati tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari .....	60
7. Persentase kerusakan sel hati tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari .....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Larutan Uji.....	65
2. Perhitungan Aktivitas ALT Plasma .....	67
3. Uji Distribusi Normal Terhadap Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Jantan .....	68
4. Uji Homogenitas Varians Terhadap Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Jantan .....	69
5. Uji ANAVA Terhadap Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Jantan ....	70
6. Uji Distribusi Normal Terhadap Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Betina .....	71
7. Uji Homogenitas Varians Terhadap Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Betina .....	72
8. Uji ANAVA Terhadap Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Betina ....	73
9. Uji Distribusi Normal Terhadap Diameter Vena Sentralis Hati Tikus Putih Jantan .....	74
10. Uji Homogenitas Varians Terhadap Diameter Vena Sentralis Hati Tikus Putih Jantan .....	75
11. Uji ANAVA Terhadap Diameter Vena Sentralis Hati Tikus Putih Jantan .....	76
12. Uji Distribusi Normal Terhadap Diameter Vena Sentralis Hati Tikus Putih Betina .....	77
13. Uji Homogenitas Varians Terhadap Diameter Vena Sentralis Hati Tikus Putih Betina .....	78

14. Uji ANAVA Terhadap Diameter Vena Sentralis Hati Tikus Putih  
Betina ..... 79



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. LATAR BELAKANG

Penelitian di bidang obat tradisional dan tanaman obat saat ini dilakukan oleh banyak pihak baik perguruan tinggi maupun lembaga penelitian lain. Semakin majunya ilmu pengetahuan dan berkembangnya minat terhadap produk bahan alam, perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dibidang tanaman obat semakin meningkat. Penggunaan tanaman obat juga semakin meningkat, baik oleh kalangan masyarakat yang hidup di pedesaan, maupun juga oleh masyarakat kota yang biasa menggunakan obat modern. Hal ini menunjukkan bahwa obat tradisional telah dirasakan manfaatnya dan mempunyai khasiat bagi kesehatan (1).

Seiring dengan kecenderungan masyarakat dalam menggunakan produk yang berasal dari bahan alam untuk peningkatan kesehatan maka keamanan, manfaat, dan kualitas obat bahan alam menjadi pertimbangan penting. Hal tersebut merupakan tantangan bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dibidang pengolahan tumbuhan obat (2). Bahan obat herbal "X" merupakan bahan obat yang harus dilakukan serangkaian pengujian. Uji yang harus ditempuh adalah uji praklinik dan uji klinik. Untuk

penelitian ini dilakukan uji praklinik. Uji praklinik merupakan penelitian secara eksperimental, dapat dikerjakan secara *in vivo* maupun *in vitro* dengan menggunakan berbagai species hewan coba. Uji praklinik meliputi uji toksikologi untuk menilai keamanan dan farmakodinamik atau uji khasiat untuk membuktikan khasiat suatu bahan uji (3).

Obat herbal adalah obat tradisional yang berasal dari ekstrak atau penyarian bahan alam yang dapat berupa tanaman obat, mineral, ataupun hewan. Bahan obat herbal "X" merupakan hasil fraksinasi ekstrak etil asetat dari daun sukun (*Artocarpus altilis*) berupa ekstrak kental yang sebagian besar mengandung flavonoid. Banyak orang memanfaatkan daun sukun untuk mengatasi penyakit hipertensi dan diabetes mellitus (4).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) mengenai uji toksisitas akut bahan obat herbal "X" tidak menunjukkan adanya efek toksik selama penggunaan dan diharapkan bahan obat herbal "X" tidak memberikan efek toksik pada penggunaan rutin setiap hari dalam jangka waktu yang cukup lama. Untuk itu, perlu dilakukan uji keamanan terhadap bahan obat herbal "X" khususnya terhadap fungsi hati.

Hati mempunyai peranan besar dan kompleks yang mencakup fungsi metabolisme, detoksifikasi, ekskresi, sekresi, dan fungsi penyimpanan (5). Penilaian terhadap fungsi hati dilakukan melalui pengamatan terhadap perubahan aktivitas enzim-enzim hati diantaranya dengan mengukur aktivitas alanin aminotransferase plasma secara kolorimetri. Serapan yang diperoleh

dari hasil reaksi enzimatik diukur secara spektrofotometri. Pemeriksaan histologi hati dengan mengukur diameter rata-rata vena sentralis secara kuantitatif dan derajat kerusakan sel hati secara kualitatif (5).

Penelitian terhadap bahan obat herbal "X" adalah uji keamanan bahan obat herbal "X" yang ditinjau dari organ hati terhadap hewan coba. Penelitian dilakukan dengan variasi dosis yaitu 83,33 mg bahan obat herbal "X"/kg bb; 166,67 mg bahan obat herbal "X"/kg bb; dan 333,33 mg bahan obat herbal "X"/kg bb. Penelitian menggunakan tikus putih yang diberi bahan obat herbal "X" secara peroral selama 90 hari (2).

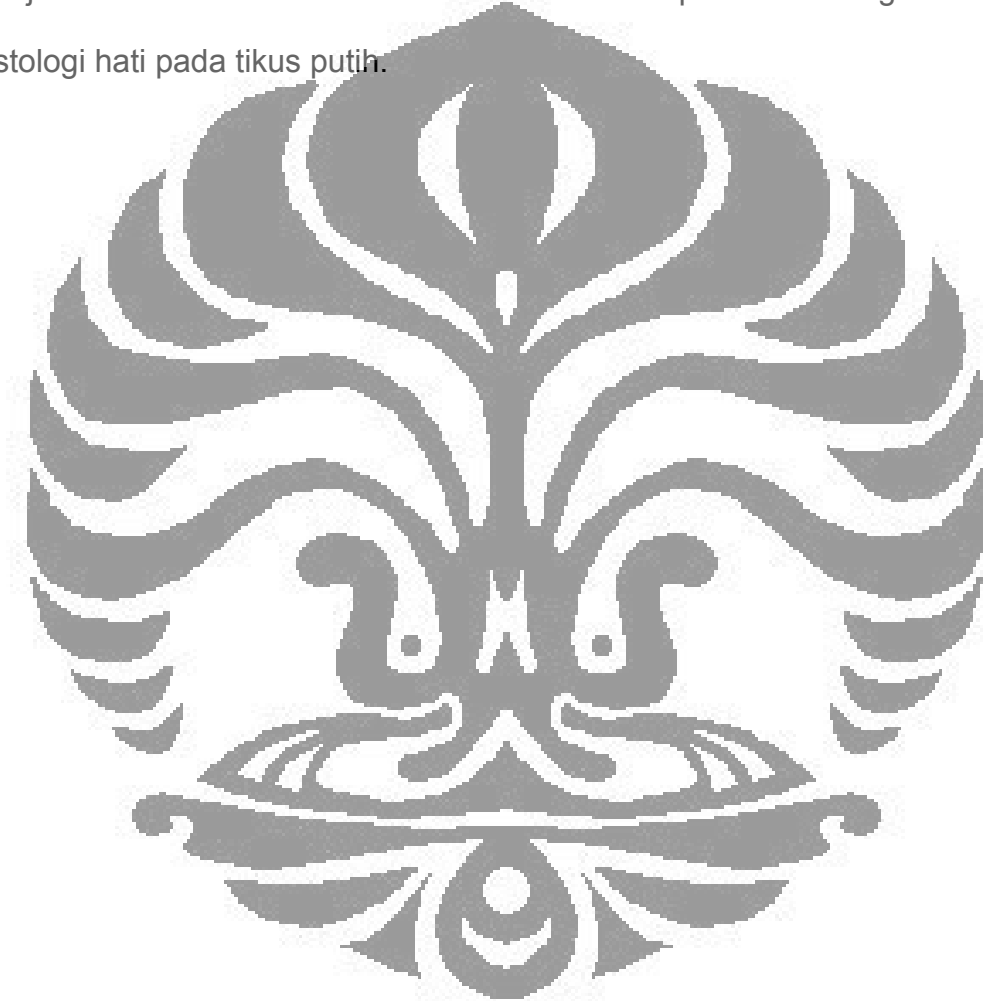
## **B. TUJUAN PENELITIAN**

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian bahan obat herbal "X" dengan dosis 83,33 mg/kg bb; 166,67 mg/kg bb; 333,33 mg/kg bb selama 90 hari terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase plasma dan gambaran histologi hati pada tikus putih.



### C. HIPOTESIS

Pemberian bahan obat herbal "X" dengan dosis 83,33 mg/kg bb; 166,67 mg/kg bb; 333,33 mg/kg bb tidak mempengaruhi fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase plasma dan gambaran histologi hati pada tikus putih.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Bahan Obat Herbal “X”

Bahan obat herbal “X” yang diteliti merupakan hasil fraksinasi ekstrak etil asetat dari daun sukun (*Artocarpus altilis*). Ekstrak etil asetat dari daun *Artocarpus altilis* mengandung  $\beta$ -sitosterol dan flavonoid (6). Daun sukun telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit hipertensi dan diabetes mellitus (4).

Klasifikasi dari tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai berikut (7):

Dunia	: Plantae
Divisi	: Magnoliopsida (Spermatophyta)
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub Kelas	: Hamamelidae
Bangsa	: Urticales
Suku	: Moraceae
Marga	: Artocarpus
Jenis	: <i>Artocarpus altilis</i> Forst
Sinonim	: <i>Artocarpus communis</i> Forst; <i>Artocarpus incise</i> Linn.F

Tanaman sukun dikenal dengan berbagai nama yang berbeda sesuai dengan nama daerah, misalnya sukun (Aceh, Jawa, dan Bali), Hatopul (Batak), Sakon (Madura), dan Karara bima (Flores).

Tanaman sukun merupakan pohon yang tingginya 10 meter sampai 25 meter. Batang tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial, dan berwarna coklat. Daun tunggal, tersebar, panjangnya 40 cm sampai 60 cm, lebar 30 cm sampai 35 cm, tepi bertoreh, ujung meruncing, pangkal membulat, pertulangan menjari, daging daun tebal, permukaan licin, tulang daun menonjol, permukaan atas berbulu, hijau, tangkai membulat, panjang tangkai 3 cm sampai 4 cm, warna tangkai hijau. Bunga tunggal terdapat di ketiak daun, tangkai silindris, panjang 2 cm sampai 3 cm, hijau muda, kelopak lonjong, permukaan bagian dalam licin, bagian luar berambut, kehijauan, mahkota lonjong, kuning kehijauan. Buah buni, lonjong, diameter 6 cm sampai 10 cm, permukaan bergerigi tumpul, teratur, bergetah, hijau. Biji berbentuk lonjong, pipih, dan berwarna coklat. Akar tunggang dan berwarna coklat (8).

## **B. Hati**

### **1. Anatomi Hati**

Hati adalah organ terbesar didalam tubuh, yang terletak di bagian atas dalam rongga abdomen disebelah kanan dibawah diafragma yang secara luas dilindungi oleh tulang iga (9). Hati memiliki berat rata-rata

1.500 gram, konsistensinya lunak, dalam keadaan segar warnanya merah tua atau merah coklat, warna tersebut terutama disebabkan oleh adanya darah yang amat banyak (10).

Hati terbagi dalam dua lobus, kanan dan kiri. Permukaan atas berbentuk cembung dan terletak dibawah diafragma, permukaan bawah tidak rata dan memperlihatkan lekukan (*fisura transversus*). Permukaannya dilintasi oleh berbagai pembuluh darah yang keluar-masuk hati. *Fisura longitudinal* memisahkan belahan kanan dan kiri dipermukaan bawah, sedangkan *ligamen falsiformis* memisahkan belahan kanan dan kiri dipermukaan atas. Setiap belahan atau lobus terdiri atas lobulus. Lobulus berbentuk polihedral (segi banyak) dan terdiri atas sel hati berbentuk kubus, dan cabang-cabang pembuluh darah diikat bersama jaringan hati. Sinusoid merupakan kapiler-kapiler yang berada diantara sel hati, yang merupakan cabang vena porta dan arteria hepatica. Sinusoid dibatasi oleh sel fagositik atau *sel kupffer*. *Sel kupffer* merupakan sistem monosit-makrofag, fungsi utamanya adalah menelan bakteri dan benda-benda asing lain dalam darah (9,10).

Hati mempunyai peran kunci dalam metabolisme nutrien. Organ ini mendapat darah ganda, darah yang mengandung banyak oksigen dan sirkulasi umum melalui arteri hepatica (25%) dan lebih banyak darah yang sedikit mengandung oksigen yang datang dari saluran cerna melalui vena porta (75%). Darah dari kedua sumber ini bercampur dalam sinusoid hati,

dimana bahan terlarutnya dapat langsung berhubungan dengan sel-sel hati. Darah yang keluar dari organ dibawa melalui vena hepatika menuju vena kava inferior, sehingga hati terdapat diantara saluran cerna dan sirkulasi umum, menampung nutrien yang diserap dan disimpan atau dipecahkan menjadi molekul-molekul yang lebih kecil yang dilepaskan kedalam sirkulasi umum agar dapat disebarakan ke jaringan dan organ lain di tubuh (10).

## 2. Fungsi hati (11, 12)

Kontribusi utama hati terhadap proses pencernaan adalah empedu, sebuah cairan kompleks terdiri atas kolesterol, lesitin, asam lemak, dan garam empedu. Empedu memiliki kerja pengemulsi terhadap lemak makanan, yang memudahkan absorpsi asam lemak dan monogliserida. Sel hati secara berkesinambungan membentuk sejumlah kecil sekresi empedu yang berhubungan dengan pembuangan bilirubin dari darah. Pigmen kekuningan yang toksik ini berasal dari degradasi hemoglobin dari eritrosit tua yang dikeluarkan dari sirkulasi oleh sel-sel kupffer hati dan fagosit lain dalam limpa.

Hati berfungsi untuk mengolah nutrien yang diserap oleh usus. Salah satu fungsi paling utamanya adalah untuk mempertahankan konsentrasi normal glukosa darah. Glukosa yang diserap diambil dari darah portal dan dipolimerisasi oleh sederetan reaksi enzimatik menjadi glikogen. Senyawa lain seperti asam laktat, gliserol, dan asam piruvat dapat dikonversi sel-sel

hati menjadi glukosa dan kemudian menjadi glikogen. Jika diperlukan, glikogen dipecah menjadi glukosa dalam proses yang dikatalisis oleh enzim fosforilase. Enzim ini, yang biasanya terdapat dalam bentuk tidak aktif, khusus diaktifkan oleh hormon epinefrin dan glukagon, yang menginduksi pembebasan glukosa ke dalam darah.

Hati juga berperan penting dalam metabolisme lipid dan mempertahankan kadar lipid normal dalam darah. Lipid darah berasal dari makanan, atau mobilisasi lemak cadangan dari jaringan lemak. Lipid dibawa oleh darah dalam bentuk lipoprotein dan hati yang mengubah lipid menjadi lipoprotein serum. Selain itu juga berperan dalam pembentukan kolesterol dan fosfolipid dalam jumlah yang sangat besar, serta berfungsi dalam oksidasi beta asam lemak dan pembentukan asam asetoasetat.

Hati adalah tempat sintesis protein plasma. Organel yang terutama terlibat dalam hal ini adalah retikulum endoplasma. Protein lain yang dihasilkan dalam hati adalah fibrinogen, thrombin, dan faktor-III, yaitu substansi-substansi yang esensial untuk pembekuan darah. Selain itu berperan dalam deaminasi asam amino dan pembentukan ureum untuk mengeluarkan asam amino dari cairan tubuh.

Organ ini setiap menitnya menerima sekitar 1000 ml darah dari vena porta dan 350 ml dari arteri hepatica. Kerja fagositik *sel kupffer* membuang bakteri dan debris dari darah. Selain itu hati mempunyai fungsi sebagai depot

penyimpanan seperti  $\text{Fe}^{3+}$ , glikogen, asam amino, dan beberapa macam lipid dan vitamin.

### 3. Kerusakan hati (10, 12, 13)

Zat-zat toksik atau toksikan dapat menyebabkan berbagai efek toksik pada sel hati sehingga terjadi kerusakan-kerusakan seperti :

a. Perlemakan hati (Steatosis)

Perlemakan hati adalah hati yang mengandung lemak lebih dari 5%. Adanya kelebihan lemak dalam hati dapat dibuktikan secara histokimia. Penimbunan lemak hati dapat terjadi melalui mekanisme penghambatan sintesis fosfolipid, yang merupakan bagian penting dari VLDL.

b. Kematian hepatosit (Nekrosis)

Nekrosis hati adalah kematian hepatosit. Biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Nekrosis merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis karena hati mempunyai kapasitas pertumbuhan kembali yang luar biasa.

c. Kolestasis

Jenis kerusakan hati yang biasanya bersifat akut ini, lebih jarang ditemukan dibandingkan dengan perlemakan hati dan nekrosis. Kolestasis disebabkan oleh sel parenkim hati yang mengalami

kerusakan akibat virus hepatitis sehingga metabolisme bilirubin terganggu.

d. Sirosis

Sirosis yaitu suatu keadaan berupa penggantian hepatosit yang rusak secara permanen oleh jaringan ikat. Peradangan hati yang berkepanjangan atau berulang, biasa berkaitan dengan alkoholisme kronik, dapat menyebabkan sirosis. Hepatosit memiliki kemampuan untuk beregenerasi namun hepatosit juga memiliki batas. Jika pajanan berulang-ulang maka hepatosit yang baru tidak dapat beregenerasi cukup cepat untuk menggantikan sel-sel yang rusak.

e. Karsinogenesis

Kanker hati primer berasal dari sel parenkim hati (karsinoma hepatoseluler) dan epitel sel empedu (kolangiokarsinoma). Kanker hati sekunder merupakan metastasis kanker ganas dari organ lain.

#### 4. Alanin Aminotranferase (ALT)

Alanin aminotranferase (ALT) atau glutamat piruvat transaminase (GPT) merupakan salah satu enzim golongan aminotransferase yang dihubungkan dengan kerusakan sel hati. ALT terutama banyak terdapat dalam sel hati, dengan jumlah yang lebih sedikit di jantung dan otot skelet. ALT hanya ditemukan dalam sitosol. ALT merupakan enzim yang mengkatalis pemindahan gugus amino secara reversibel antara asam amino



dan asam alfa-keto, dari alanin menjadi piruvat melalui proses transaminasi dan asam alfa- ketoglutarat menjadi asam glutamat (13).

Pada keadaan normal untuk orang dewasa kadar ALT kurang dari 55 IU/L (14). Adanya peningkatan ALT dalam darah menunjukkan terjadinya suatu penyakit hati dan diduga sebagai akibat dari sel hati yang rusak atau nekrosis sel (5). Kerusakan sel hati yang disebabkan oleh berbagai hal, termasuk virus hepatitis, kadar ALT plasma akan meningkat mendahului gejala lainnya. Pada keadaan alkoholisme, juga terjadi peningkatan aktivitas ALT plasma, walaupun dalam tingkat yang lebih rendah (15). Pada kebanyakan penyakit hati lain, termasuk penyakit hati kronik, kolestasis, dan neoplasma, peningkatan ALT plasma biasanya hanya sedikit atau sedang (14).

## **BAB III**

### **BAHAN DAN CARA KERJA**

#### **A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI Depok dan Laboratorium Perkembangan Biologi Departemen Biologi FMIPA UI Depok selama lebih kurang empat bulan, yaitu bulan Februari sampai bulan Mei.

#### **B. ALAT DAN BAHAN**

##### **1. Alat**

Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah pipet eppendorf, pipet Pasteur, pH meter (Eutech), paraffin stretcher (sakura), sonde lambung, alat-alat bedah, sentrifugator (Gemmy Industrial Corp.), Spektrofotometer Uv-Vis (Genesys), Mikroton putar (Spencer), mikroprojektor (Ken-A-Vision), mikroskop medan terang (Nikon SE), dan timbangan analitik (Mettler Toledo).

##### **2. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah:

**a. Hewan uji**

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan dan betina (*Rattus novergicus*) galur *Sprangue Dawley* berat badan antara 200-300 gram, berumur 3-4 bulan.

Tikus diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Tikus diaklimatisasi selama dua minggu dalam kandang karantina Laboratorium Farmakologi FMIPA UI. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri dan berwarna putih bersih, mata jernih bersinar, tingkah laku normal serta mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu yang diukur secara rutin. Tikus yang tidak sehat atau menunjukkan kelainan tidak diikutsertakan dalam percobaan.

**b. Bahan uji**

Bahan uji yang dipergunakan dalam penelitian adalah bahan obat herbal "X" yang mengandung hasil fraksinasi ekstrak etil asetat dari daun sukun yang diperoleh dari LIPI Jakarta. Bahan uji diberikan ke hewan uji berupa suspensi dalam larutan CMC 1%.

### c. Bahan kimia

#### 1. Bahan kimia

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

#### 2. Bahan uji aktivitas ALT

Larutan dapar fosfat 0,1 M pH 7,4; Larutan piruvat 2 mM/L (larutan standar); Larutan substrat untuk pemeriksaan ALT plasma dan kurva kalibrasi; Pereaksi warna (2,4-dinitrofenilhidrazin).

#### 3. Bahan pembuatan sediaan histologi

NaCl 0,9%; Larutan Bouin (terbuat dari asam pikrat jenuh 275 ml, formalin 100 ml, dan 5 ml asam asetat glasial); alkohol absolut; alkohol 70%; larutan xilol; parafin; benzil benzoat, haematoksilin dan eosin.

## C. CARA KERJA

### 1. Penetapan Dosis

Percobaan menggunakan dosis berturut-turut 83,33; 166,67; dan 333,33 mg bahan obat herbal "X"/kg bb perhari. Dosis berdasarkan kandungan flavonoid dalam ekstrak daun sukun sebesar 30%.

### 2. Pembuatan Bahan Uji

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan menimbang bahan obat herbal "X" kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 1% (Lampiran 1).

### 3. Pembuatan larutan uji aktivitas ALT

#### a. Larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,1 M

Sejumlah 5,962 g dinatrium hidrogen fosfat dilarutkan dalam gelas piala dan volumenya dicukupkan hingga 420 ml dengan aqua dest.

#### b. Larutan kalium dihidrogen fosfat 0,1 M

Sejumlah 1,088 g kalium dihidrogen fosfat dilarutkan dalam gelas piala dan volumenya dicukupkan hingga 80 ml dengan aqua dest.

c. Dapar fosfat (16)

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

d. 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.

e. Larutan substrat untuk pemeriksaan ALT plasma dan kurva kalibrasi

Sebanyak 29,2 mg asam alfa-ketoglutarat dicampur dengan 1,78 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 didalam labu ukur.

f. Pereaksi warna

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

#### 4. Perlakuan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian menggunakan 80 ekor tikus yang terdiri dari 40 ekor tikus putih jantan dan 40 ekor tikus putih betina, kemudian

dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dalam tiap kelompok perlakuan yang terdiri dari 10 ekor tikus putih jantan dan 10 ekor tikus betina. Kelompok I adalah kelompok dosis 83,33 mg bahan obat herbal "X"/kg bb, kelompok II adalah kelompok dosis 166,67 mg bahan obat herbal "X"/kg bb, kelompok III adalah kelompok dosis 333,33 mg bahan obat herbal "X"/kg bb, dan kelompok IV adalah kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 1%.

Larutan uji diberikan secara oral satu kali sehari 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 darah melalui sinus orbital mata. Plasma yang diperoleh dari darah yang diambil digunakan untuk pengukuran aktivitas alanin aminotransferase. Pembedahan untuk mengambil organ hati yang kemudian diamati secara kuantitatif dan kualitatif ada tidaknya kerusakan sel hati.

## **5. Pengambilan sampel darah**

Sebelum pengambilan sampel darah, tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan eter, setelah itu dilakukan pengambilan darah

dengan menggunakan mikrohematokrit pada bagian sinus orbital yakni pada sudut bola mata dengan mengarah ke daerah belakang bola mata, digerakkan masuk dengan diputar-putar, sehingga darah akan keluar karena aksi kapilaritas. Kemudian darah sebanyak 1 ml ditampung dalam sebuah *microtube* yang telah dioleskan heparin (Gambar 1). Selanjutnya disentrifugasi selama 5 menit dengan putaran 7000 rpm (17,18).

## 6. Penentuan aktivitas ALT plasma

Alanin aminotransferase (ALT) mengkatalisis proses pemindahan gugus amino dari di-alanin ke asam  $\alpha$ -ketoglutarat, sehingga terbentuk senyawa piruvat dan glutamat (16,19). Piruvat yang terbentuk direaksikan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin membentuk 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazon yang berwarna coklat kemerahan dalam larutan alkali (Gambar 2). Warna yang terbentuk dapat diukur serapannya secara spektrofotometri dengan panjang gelombang 505 nm (16).

### a. Pembuatan kurva kalibrasi larutan standar piruvat

Larutan standar dan larutan substrat untuk kurva kalibrasi dicampur dalam tabung reaksi dengan berbagai perbandingan. Sebagai blanko digunakan substrat sebanyak 1,0 ml (20). Setiap tabung uji dan blanko ditambahkan 1,0 ml pereaksi warna, lalu dikocok sampai homogen,



diamkan pada suhu kamar selama 20 menit lalu ditambahkan 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 (16).

Tabel 1  
Pembuatan Kurva Kalibrasi ALT

Dipipet dalam tabung reaksi						
Tabung	1	2	3	4	5	6
Nilai Aktivitas ALT (U/L)	0	14	32	51	69	92
Larutan standar piruvat (ml)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Larutan dapar substrat (ml)	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
Dicampur homogen						
Pereaksi warna (ml)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Dicampur dan didiamkan selama 20 menit						
Larutan NaOH 0,4N (ml)	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Dicampur dan didiamkan selama 30 menit						
Serapan diukur pada panjang gelombang 505 nm						

#### b. Pengukuran aktivitas ALT plasma

Siapkan dua buah tabung untuk larutan uji dan blanko. Setiap tabung dimasukkan 1,0 ml larutan dapar substrat, lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 10 menit; masukkan 0,2 ml plasma ke dalam tabung uji lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Setelah

itu, tambahkan 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. Selanjutnya, masukkan 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 (16).

Tabel 2  
Pengukuran Sampel ALT Plasma

Dipipet kedalam tabung reaksi		
	Blanko	Uji
Dapar substrat	1,0 ml	1,0 ml
Diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit		
Plasma	-	0,2 ml
Diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit		
Pereaksi warna	1,0 ml	1,0 ml
Plasma	0,2 ml	
Didiamkan pada suhu kamar selama 20 menit		
Larutan NaOH 0,4N	10,0 ml	10,0 ml
Didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit, warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 505 nm.		

## 7. Pengambilan organ hati

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 dibedah menggunakan gunting bedah. Hati tikus diambil, kemudian dimasukkan kedalam gelas kimia berisi natrium klorida 0,9% untuk menghilangkan darah yang menempel pada jaringan hati, lalu dilakukan prosedur pembuatan sediaan histologi.

### **8. Pembuatan sediaan histologi (21)**

Pembuatan sediaan histologi melalui beberapa tahapan berikut:

a. Pengambilan jaringan segar

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

b. Fiksasi

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

c. Dehidrasi

Jaringan hati direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat: alkohol 70% selama 24 jam, alkohol 96% sebanyak dua kali masing-masing selama 60 menit, alkohol absolut sebanyak dua kali masing-masing selama 60 menit, benzil benzoat

selama 24 jam, dan dalam benzol sebanyak dua kali masing-masing selama 30 menit.

d. 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 60°C.

e. Penanaman

Jaringan hati yang telah diinfiltrasi dimasukkan kedalam 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 disekitar jaringan dipotong dan dirapikan lalu dilekatkan pada kayu pemegang dengan pemanasan.

f. Penyayatan

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

g. 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 pada pemanas dengan suhu 30°C - 40°C. Setelah

sayatan pada obyek mengembang sempurna, sisa-sisa air pada obyek diserap dengan kertas tissue.

h. Melarutkan paraffin

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

i. Hidrasi

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

j. Pewarnaan

Gelas objek yang telah dihidrasi direndam dalam larutan hematoksilin selama empat 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 kedalam larutan HCl 1% selama beberapa detik, selanjutnya direndam kedalam larutan eosin selama empat menit.

k. Dehidrasi

Gelas objek yang telah diwarnai direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat: alkohol 70%, alkohol 96%, dan

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

#### l. Penjernihan

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

#### m. Penutupan

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

#### n. Pengamatan

Pengamatan histologi hati dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Pengamatan kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan preparat histologi hati antara kelompok kontrol normal dengan kelompok perlakuan menggunakan mikroskop medan terang. Penilaian derajat kerusakan lobulus hati yang merupakan penilaian histologi hati secara kuantitatif dilakukan dengan mengukur diameter vena sentralis. Penilaian diameter vena sentralis dengan cara mengukur rata-rata diameter horizontal dan vertikal terpanjang, jumlah yang diukur sebanyak 20 vena sentralis dari setiap preparat menggunakan mikroprojektor. Derajat kerusakan dibedakan dalam 3 tingkatan yaitu degenerasi 0%

(tanpa kerusakan), degenerasi 20%-40% (degenerasi sedang), dan lebih dari 40% (nekrosis berat).

## 9. Analisis Data

Data-data aktivitas ALT dan data diameter vena sentralis tikus putih yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 15.0. Analisis yang digunakan adalah uji normalitas dengan metode *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan metode *Levene* untuk aktivitas ALT plasma dan diameter vena sentralis. Kemudian, dilanjutkan dengan analisis varian satu arah (ANOVA) bertujuan untuk menguji hipotesis kesamaan rata-rata antara kelompok perlakuan maupun dengan kelompok kontrol normal. Asumsi yang digunakan pada pengujian ANOVA adalah setiap kelompok yang diuji terdistribusi normal serta varians dari setiap kelompok tersebut sama (22).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. HASIL PERCOBAAN

##### 1. Penetapan aktivitas ALT Plasma

###### a. Kurva Kalibrasi

Berdasarkan data serapan dan nilai aktivitas pada pembuatan kurva kalibrasi, diperoleh persamaan garis  $y = 0,00490 + 0,00270x$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9987 data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.

###### b. Pengukuran Aktivitas ALT Plasma

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

Kelompok I :  $49,15 \pm 9,15$  U/L

Kelompok II :  $50,04 \pm 9,23$  U/L

Kelompok III :  $55,67 \pm 15,10$  U/L

Kelompok IV :  $54,00 \pm 12,31$  U/L

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 4.

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

Kelompok I :  $41,18 \pm 12,60$  U/L

Kelompok II :  $47,70 \pm 13,13$  U/L



Kelompok III :  $47,93 \pm 12,46$  U/L

Kelompok IV :  $46,55 \pm 8,13$  U/L

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 5.

Berdasarkan analisis varians satu arah menunjukkan bahwa aktivitas ALT plasma tikus putih jantan dan betina pada kelompok I, II, dan III tidak berbeda secara bermakna baik antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok IV sebagai kontrol normal (Lampiran 3,4,5,6,7, dan 8).

## 2. Pemeriksaan histologi hati

### a. Diameter Vena Sentralis

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

Kelompok I :  $62,86 \pm 1,29$   $\mu$ m

Kelompok II :  $63,39 \pm 1,05$   $\mu$ m

Kelompok III :  $64,32 \pm 1,25$   $\mu$ m

Kelompok IV :  $63,21 \pm 1,56$   $\mu$ m

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 6.

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

Kelompok I :  $63,50 \pm 2,64$   $\mu$ m

Kelompok II :  $63,73 \pm 2,51$   $\mu$ m

Kelompok III :  $64,32 \pm 1,93 \mu\text{m}$

Kelompok IV :  $63,05 \pm 2,29 \mu\text{m}$

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 7 dan Gambar 7.

Berdasarkan analisis varians satu arah menunjukkan bahwa diameter vena sentralis hati rata-rata pada kelompok I,II, dan III tidak berbeda secara bermakna baik antar kelompok perlakuan maupun dengan kelompok IV sebagai kontrol normal (Lampiran 9,10,11,12,13, dan 14).

b. Jumlah kerusakan sel hati

Jumlah 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% (nekrosis sedang):

Kelompok I : 0%

Kelompok II : 0%

Kelompok III : 0%

Kelompok IV : 0%

Pada tingkat kerusakan lebih dari 40% (nekrosis berat):

Kelompok I : 0%

Kelompok II : 0%

Kelompok III : 0%

Kelompok IV : 0%

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 8 dan Gambar 8.

Jumlah kerusakan sel hati rata-rata pada 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% (nekrosis sedang):

Kelompok I : 0%

Kelompok II : 0%

Kelompok III : 0%

Kelompok IV : 0%

Pada tingkat kerusakan lebih dari 40% (nekrosis berat):

Kelompok I : 0%

Kelompok II : 0%

Kelompok III : 0%

Kelompok IV : 0%

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 9 dan Gambar 9. Hasil pemeriksaan histologi hati terhadap derajat kerusakan sel hati pada tikus putih jantan maupun tikus putih betina tidak menunjukkan adanya kerusakan pada sel hati.

## B. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pengujian terhadap penggunaan bahan obat herbal "X" dalam waktu 90 hari. Hal ini berdasarkan buku "Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional" yang menyatakan bahwa uji keamanan untuk bahan obat tradisional yang digunakan dalam jangka waktu lama dilakukan sekurang-kurangnya satu sampai tiga bulan. Penelitian tentang pengaruh pemberian bahan obat herbal "X" dalam jangka waktu lama dapat dilihat pengaruhnya terhadap fungsi hati melalui pengukuran aktivitas alanin aminotransferase (ALT) plasma dan pengamatan histologi hati secara mikroskopik (3).

Untuk mengurangi variasi biologik pada hewan coba dan faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi penelitian maka digunakan hewan coba dengan galur, umur, berat badan, lingkungan, dan makanan yang sama. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan dan betina (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley*. Tikus adalah hewan yang banyak digunakan dalam penelitian, antara lain untuk mempelajari pengaruh

obat-obatan, toksisitas, metabolisme, embriologi, maupun dalam mempelajari tingkah laku (23). Tikus putih digunakan dalam percobaan karena terbiasa dengan penanganan oleh manusia dan tidak fotofobik.

Sebelum perlakuan tikus diaklimatisasi terlebih dahulu agar dapat menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan yang baru. Tikus yang dipilih untuk penelitian adalah tikus yang sehat dengan ciri-ciri mata jernih bersinar, bulu tidak berdiri, tingkah laku normal, serta mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu yang ditimbang secara rutin. Tikus yang memperlihatkan tanda-tanda sakit tidak diikutsertakan dalam percobaan. Selama pemeliharaan tikus diberi makanan dan minuman yang cukup.

Bahan biologis yang digunakan dalam penelitian ini berupa plasma darah tikus. Darah tikus diambil melalui sinus orbital mata. Metode ini lebih disukai karena waktu pengambilan darah cepat, dan volume darah yang dapat ditampung cukup banyak. Darah yang diperoleh kemudian di sentrifugasi selama 5 menit dengan putaran 7000 rpm untuk memisahkan plasma dengan komponen darah yang lain.

Metode statistik yang digunakan adalah analisis varians satu arah (ANAVA) yang bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna secara signifikan rata-rata hitung keempat kelompok perlakuan. Namun sebelum melakukan metode ini terlebih dahulu dilakukan uji distribusi normal dan homogenitas semua data. Alasan pemilihan metode ini yaitu agar dapat diketahui perbedaan signifikan setiap perlakuan antar kelompok.

Dengan demikian dapat diketahui apakah perlakuan yang diberikan memperoleh perbedaan yang bermakna atau tidak dengan kelompok kontrol normal.

Pada pengukuran aktivitas ALT plasma secara kolorimetri, serapan yang diukur adalah serapan yang sebanding dengan intensitas warna yang terbentuk dari reaksi antara asam piruvat dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin (Gambar 2). Warna yang terbentuk dibaca pada panjang gelombang 505 nm. Hal ini disebabkan karena serapan tertinggi dari senyawa yang terbentuk terbaca pada panjang gelombang 505 nm (24).

Hasil pengukuran ALT plasma pada keempat kelompok tikus baik jantan maupun betina setelah perlakuan selama 90 hari, menunjukkan bahwa aktivitas ALT plasma kelompok I; II; dan III tidak berbeda secara bermakna ( $\alpha = 0,05$ ) dengan kelompok kontrol normal. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada bagian Tabel 4 dan 5; Gambar 4 dan 5; Lampiran 3,4,5,6,7, dan 8. Tidak adanya peningkatan aktivitas ALT plasma secara bermakna pada keempat kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol normal, karena pemberian bahan obat herbal "X" selama 90 hari tidak menyebabkan pelepasan enzim tersebut dalam darah sehingga tidak menyebabkan terjadinya kerusakan hati.

Untuk mendukung pengamatan fungsi hati, maka dilakukan pengamatan histologi hati. Dalam hal ini dilakukan pengukuran diameter vena sentralis. Vena sentralis menerima paling sedikit oksigen sehingga apabila

terjadi kerusakan pada organ hati maka akan mengalami kerusakan paling awal, dan paling jelas terlihat (10). Oleh karena itu, vena sentralis dipilih untuk pemeriksaan histologi hati.

Hasil pemeriksaan histologi hati pada pemberian bahan obat herbal "X" selama 90 hari baik pada tikus putih jantan maupun betina, dilihat dari ukuran diameter vena sentralis rata-rata antara kelompok I; II; dan III tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol normal. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada bagian Gambar 6 dan 7; Tabel 6 dan 7; Lampiran 9, 10, 11, 12, 13, dan 14.

Hasil studi mengenai bioavailabilitas, efek metabolik, dan keamanan flavonoid menunjukkan bahwa flavonoid aman untuk digunakan sebagai bahan obat (25). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil studi tersebut, dimana bahan obat herbal "X" yang mengandung flavonoid tidak menyebabkan perubahan fungsi hati. Hal ini dikarenakan kandungan bahan obat herbal "X" tidak mengandung zat-zat toksik terhadap hati.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

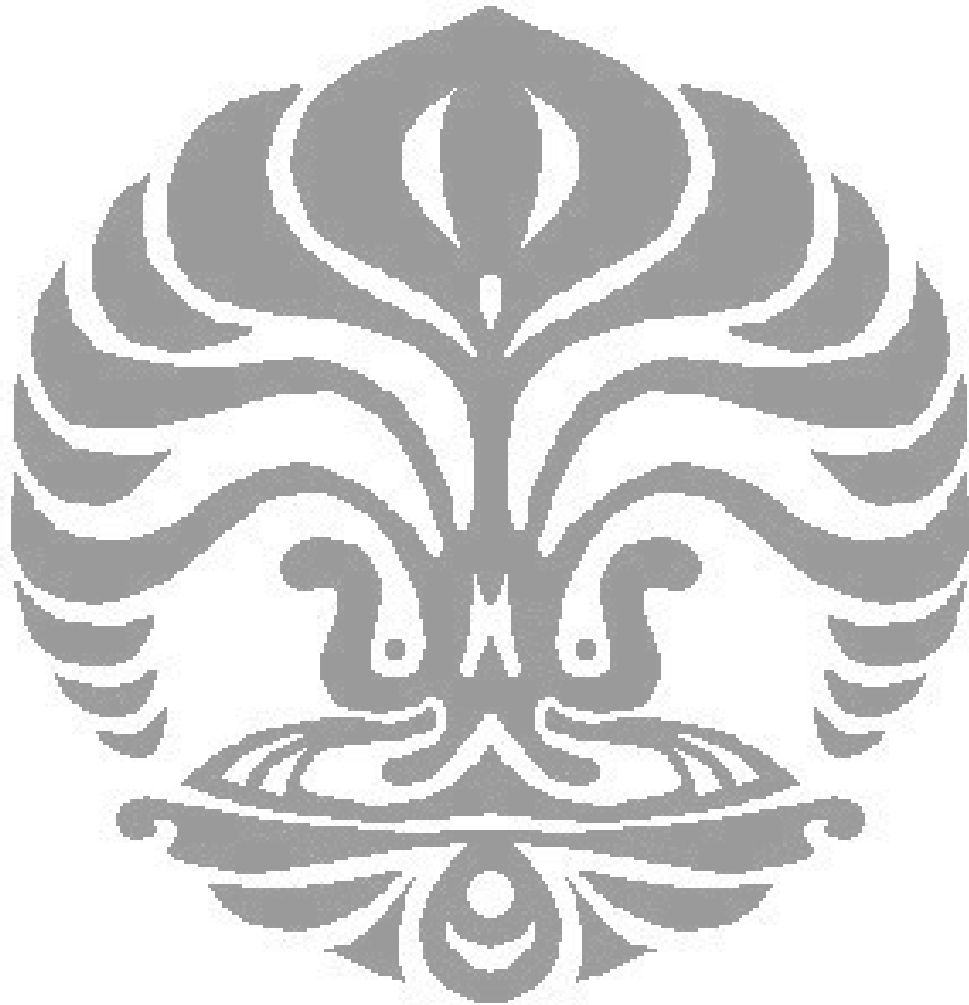
#### A. KESIMPULAN

Pemberian bahan obat herbal "X" dengan dosis 83,33 mg/kg bb; 166,67 mg/kg bb; 333,33 mg/kg bb tidak menimbulkan pengaruh terhadap fungsi hati tikus putih ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase plasma dan gambaran histologi hati.

#### B. SARAN

1. Perlu dilakukan penilaian terhadap fungsi hati ditinjau dari parameter lain yaitu Aspartat aminotransferase dan Gama Glutamil Transferase.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas kronis untuk mengetahui tingkat keamanan bahan obat herbal "X" dalam waktu yang lebih lama.





## DAFTAR ACUAN

1. Anonim. 2004. *Pedoman Uji Praklinik Obat Bahan Alam*. Pusat Riset Obat dan Makanan Badan POM RI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia: 1.
2. Anonim. 2004. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Vol.I*. Badan POM RI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
3. Anonim. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. DEPKES RI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia: 2-5, 15.
4. Wang, Y.Deng, dkk. 2006. *Bioassay-Guided Isolation of Anthiatherosclerotic phytochemicals from Artocarpus altilis*. *Phytotherapy Research*, Vol: 20, No.12: 1.
5. Anderson SC. 1993. *Clinical Chemistry: Concepts and Applications*. Philadelphia: W.B.Saunders Company: 283, 287, 293.
6. Ronald E. Young, dkk. 1993. *An Extract of Leaves of the Breadfruit Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg Exerts a Negative Inotropic Effect on Rat Myocardium*. *Phytotherapy Research*, Vol: 7, No. 190-193.

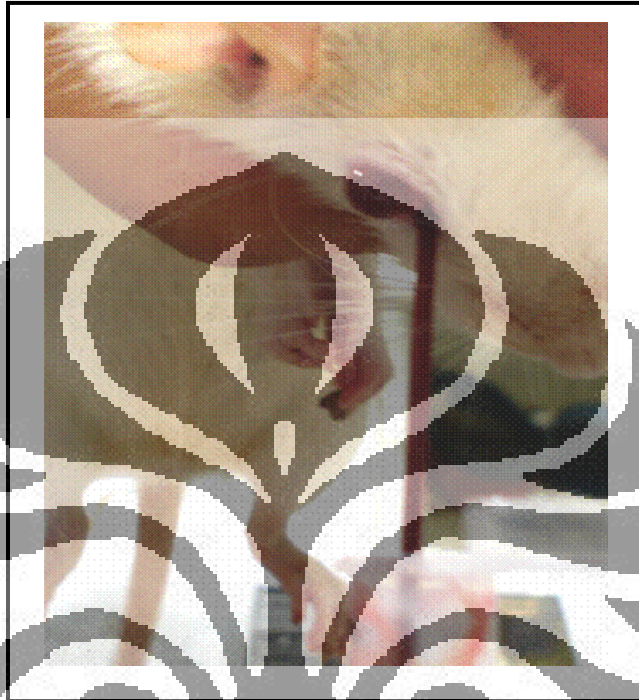
7. Jones S.B & Arlene E Luchsinger. 1987. *Plant Systematics*. Edisi II. Mcgraw-Hill Book.Co. Singapore: 315-317.
8. Hutapea, Johny Ria. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (IV)*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI. Jakarta: 15-16.
9. Pearce E. 2006. *Anatomi Dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta: 201-206.
10. Lesson CR, Thomas SL. 1998. *Buku Ajar Histologi*. Edisi V. Terj. Dari *Text Book of Hystology*, oleh J. Tambayong, Sugito WV. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC: 383,391.
11. Kaplan L.A & Pesce A.J. 1989. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*. 2<sup>nd</sup> Ed. Toronto: The CV. Mosby Company: 359-365.
12. Price SA. & Wilson LM. 2005. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Ed 6. Terjemahan dari *Pathofisiology Clinical Concepts of Disease Processes*. Ahli bahasa: Brahm U. Pendit et al. Editor. Huriawati Hartanto. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC: 426-430.
13. Lu CF. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Edisi 2. Terj.-dari *Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk assessment*. Ahli bahasa: Edi Nugroho. Jakarta: UI Press: 208-213.

14. Richterich R. & Colombo J.P. 1978. *Clinical Chemistry: Theory, Practice, and Interpretation*. Toronto: John Wiley & Sons. Toronto: 591, 606-610.
15. Sadikin M. 2002. *Biokimia Enzim: Seri biokimia*. Widya Medika. Jakarta: 300-313.
16. Reitman S, Frankel SA. 1957. *Colorimetric Methods for The Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic and Glutamic Pyruvic Transaminase*. *Am. J. Clin. Pathology*, 28: 56-63.
17. Hoff J. 2000. *Methods of Blood Collection in the Mouse*. *Laboratory Animals*; 29 (10): 47-53.
18. Panar NS, Shiv P. 2006. *Screening Methods In pharmacology*. Alpha Science International. Oxford UK.
19. Burtis CA & Ashwood ER. 1994. *Textbook of Clinical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> Ed. Philadelphia: W.B Saunders Company: 834, 837-838.
20. Merck. 1976. *Diagnostica Merck, Directions for Use Clinical Chemistry*. Jerman: E Merck Darmstadt: 46-47.
21. Tanzil R. 1996. *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologis*. Jakarta: Bagian Histologis Fakultas Kedokteran UI: 7-8, 16-17, 21-24, 29-30.
22. Uyanto SS. 2006. *Pedoman Analisis Data dengan SPSS*. Jakarta: Graha Ilmu: 33-50, 163-170.

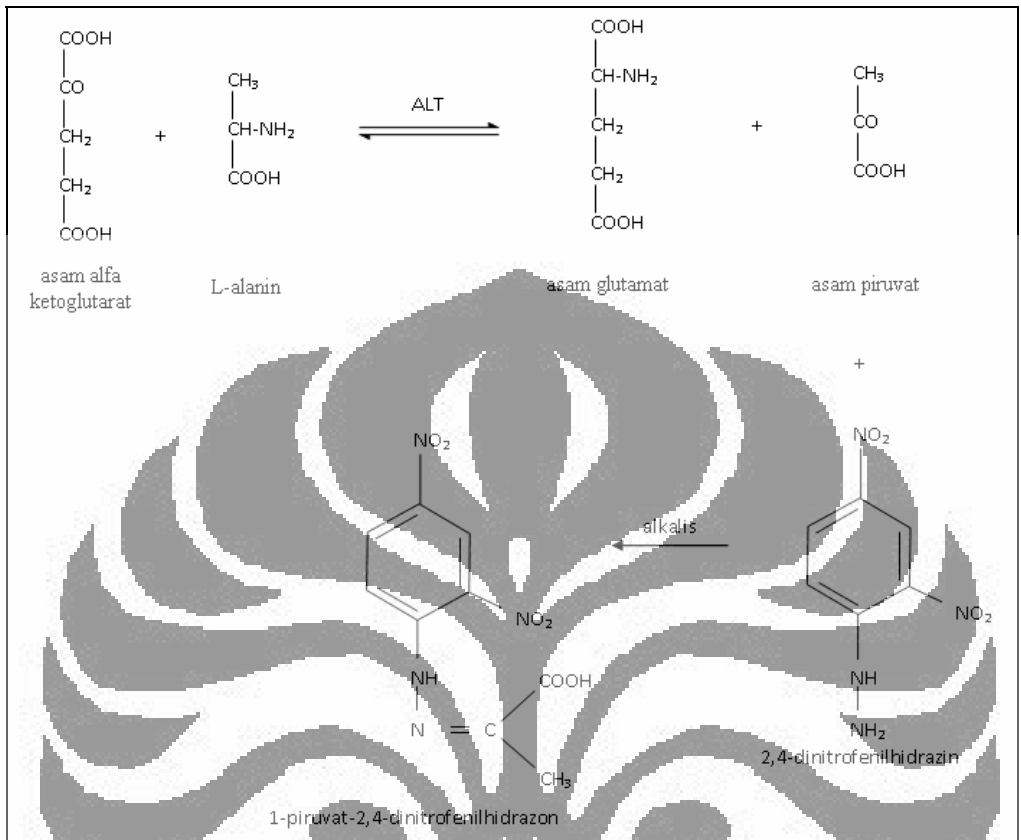
23. Harkness J, Wagner EJ. 1989. *The Biology and Medicine of Rabbit and Rodents*. Lea and Febiger. Philadelphia: 47-54.
24. Tangendjaja A. 1984. *Patologi Klinik*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanegara: 224-230.
25. Anonim. 2002. *Dietary Flavonoid: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety*. Annual Review Nutrition. Jakarta: Universitas Indonesia; 22: 19-34.





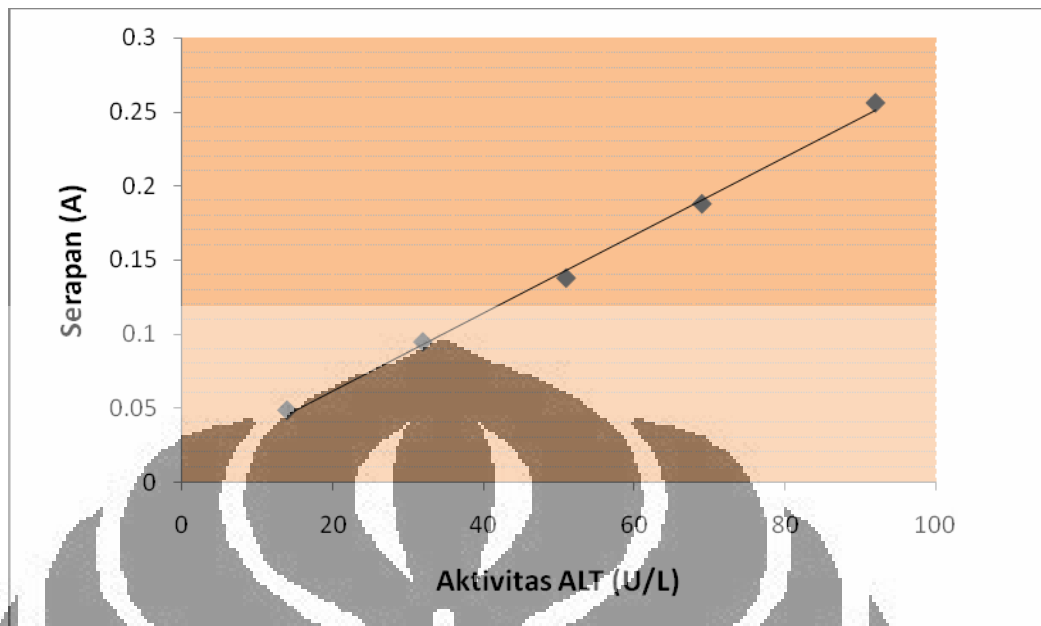


Gambar 1. Pengambilan darah melalui sinus orbital mata



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





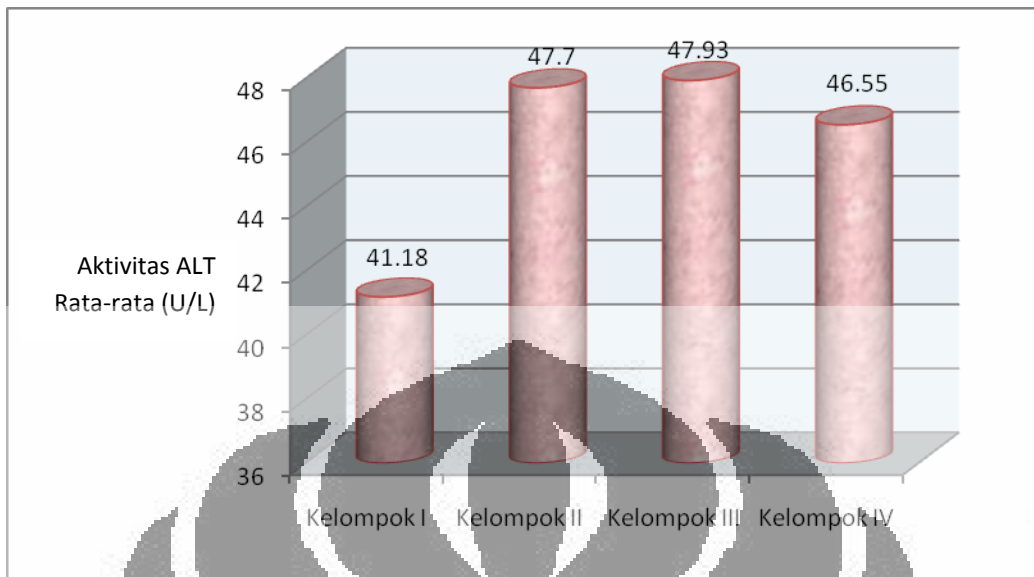
Gambar 3. Kurva kalibrasi aktivitas ALT plasma

Keterangan : persamaan yang didapatkan adalah  $y = 0,004903 + 0,00270x$ . Dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,9987



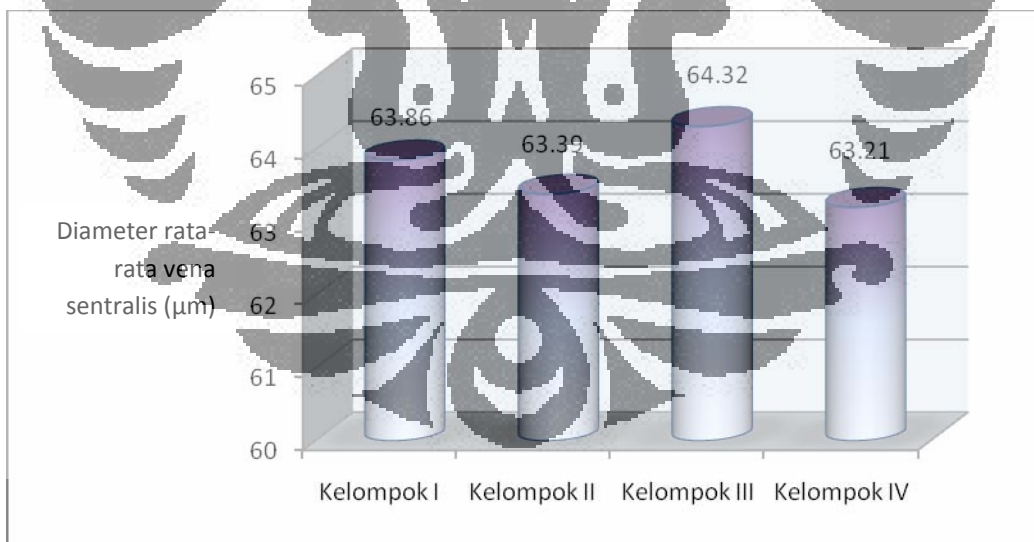
Gambar 4. Diagram aktivitas ALT plasma rata-rata tikus putih jantan setelah diberi perlakuan selama 90 hari.

Keterangan: kelompok I= kelompok dosis 83,33 mg/kg bb; kelompok II= kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; kelompok IV= kelompok kontrol normal.



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

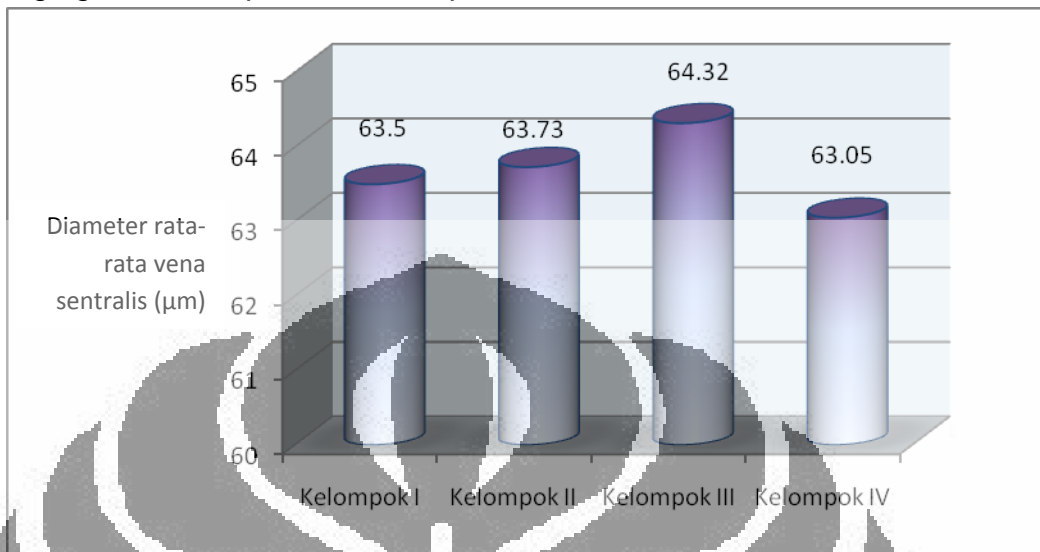
Keterangan: kelompok I= kelompok dosis 83,33 mg/kg bb; kelompok II= kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; kelompok IV= kelompok kontrol normal.



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

Keterangan: Kelompok I= kelompok dosis 83,33 mg/kg bb; Kelompok II=

kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; Kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; Kelompok IV= kelompok kontrol normal.



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

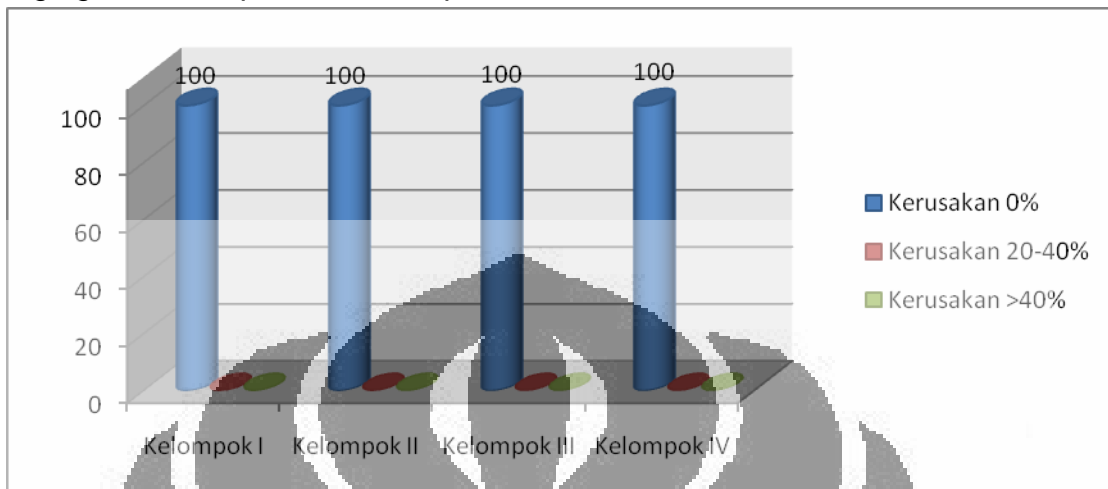
Keterangan: Kelompok I= kelompok dosis 83,33 mg/kg bb; Kelompok II= kelompok dosis 166,67mg/kg bb; Kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; Kelompok IV= kelompok kontrol normal.



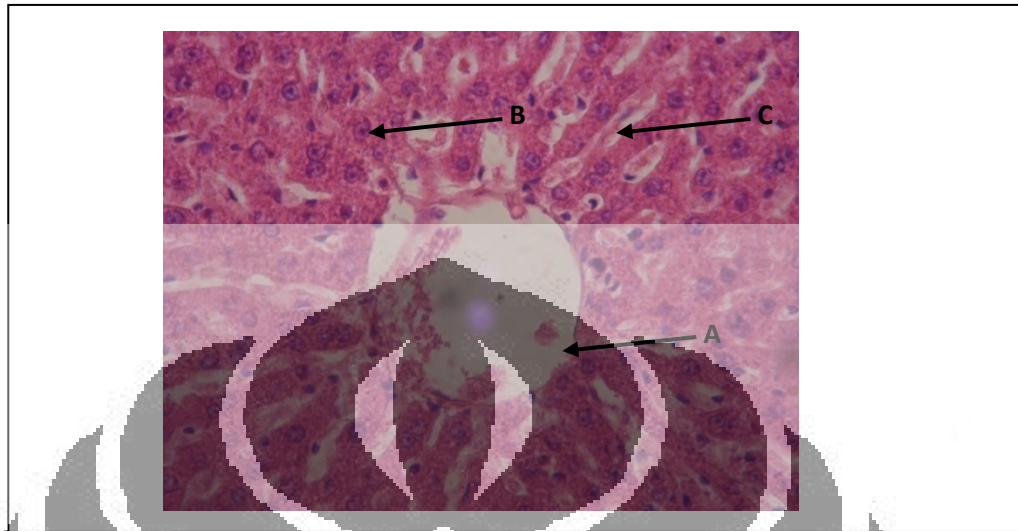
Gambar 8. Diagram derajat kerusakan vena sentralis pada hati tikus putih jantan setelah diberikan perlakuan selama 90 hari

Keterangan: kelompok I= kelompok dosis 83,33mg/kg bb; kelompok II=

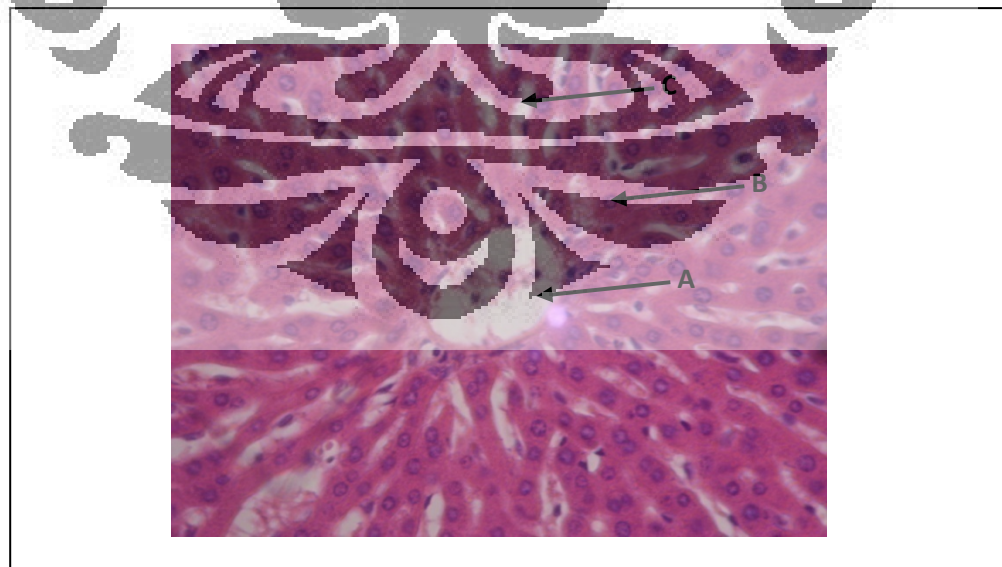
kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; kelompok IV= kelompok kontrol normal.



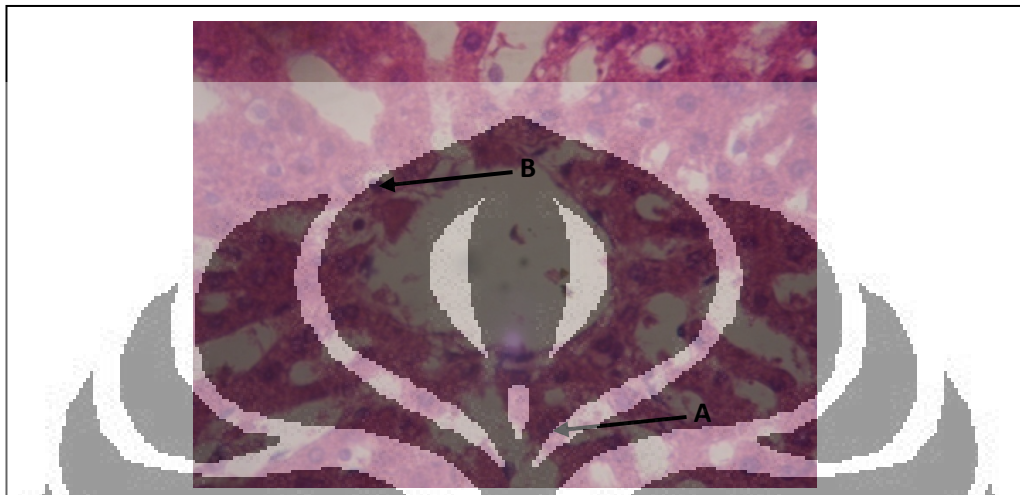
Gambar 9. Diagram derajat kerusakan vena sentralis pada hati tikus putih betina setelah diberikan perlakuan selama 90 hari. Keterangan: kelompok I= kelompok dosis 83,33 mg/kg bb; kelompok II= kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; kelompok IV= kelompok kontrol normal



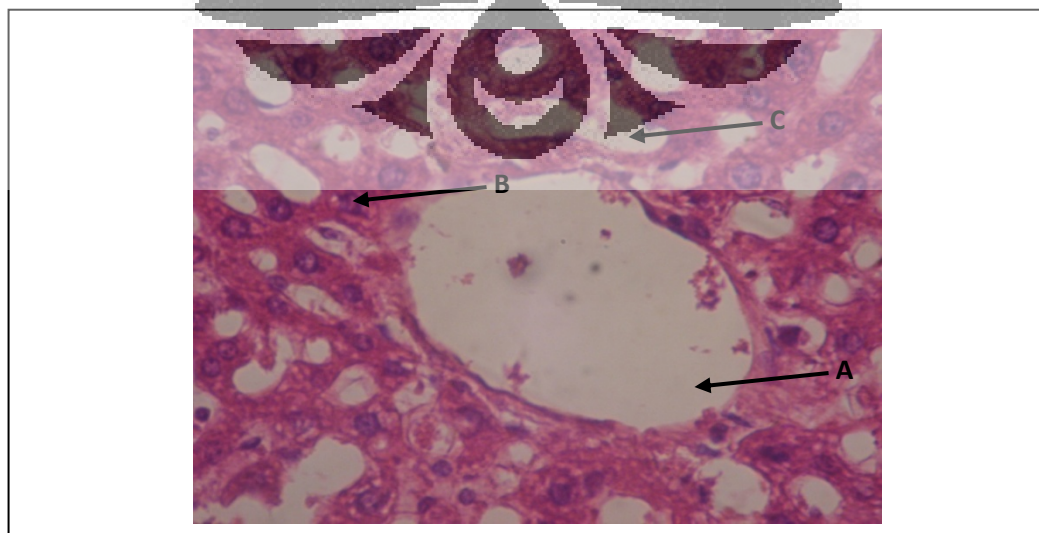
Gambar 10. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 83,33 mg/kg bb setelah perlakuan 90 hari. Perbesaran 400X  
 Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B= hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = sinusoid.



Gambar 11. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 83,33 mg/kg bb setelah perlakuan 90 hari. Perbesaran 400X  
 Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B= hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = sinusoid.



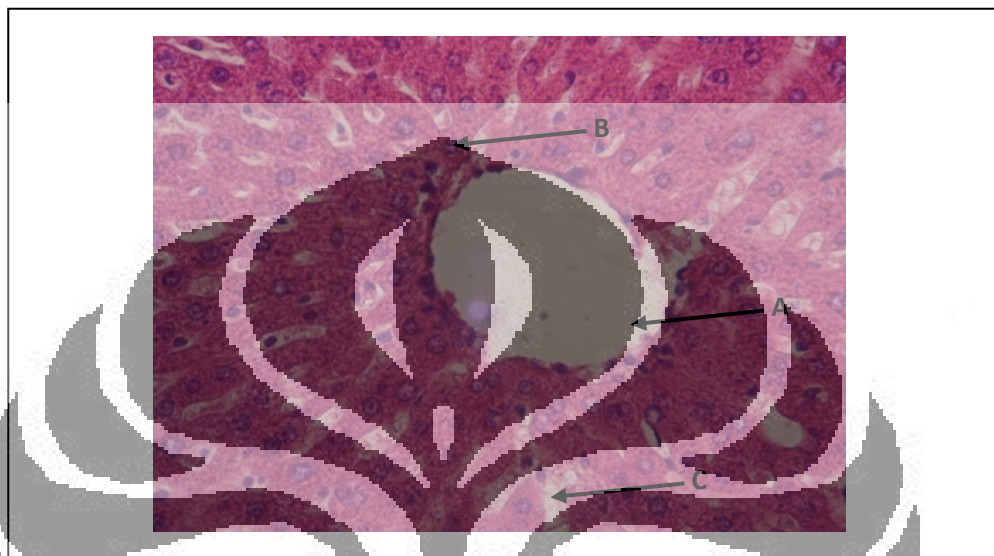
Gambar 12. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 166,67mg/kg bb setelah perlakuan 90 hari. Perbesaran 400X.  
 Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B= hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = sinusoid.





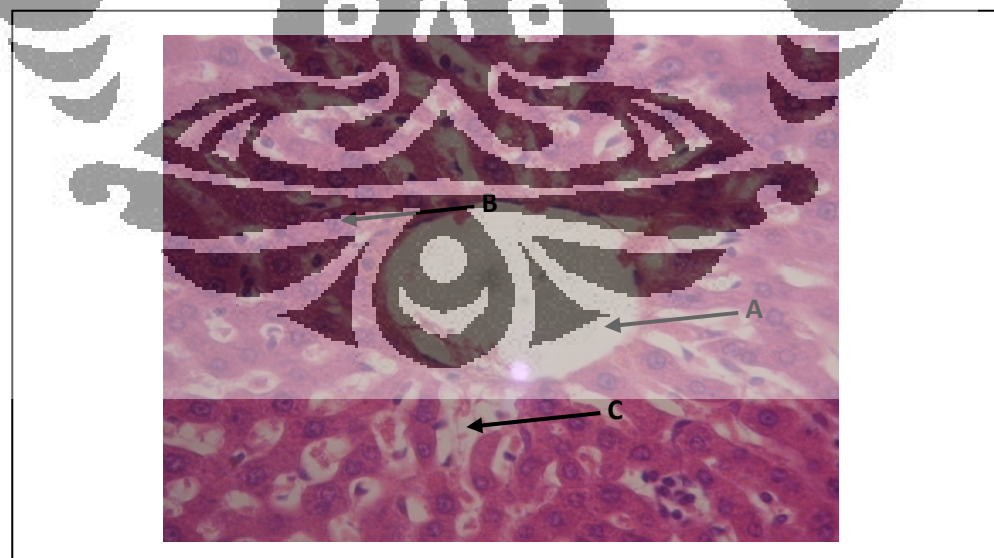
Gambar 13. Gambaran histologi hati kelompok betina dosis 166,67mg/kg bb setelah perlakuan 90 hari. Perbesaran 400X.

Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B= hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = sinusoid.



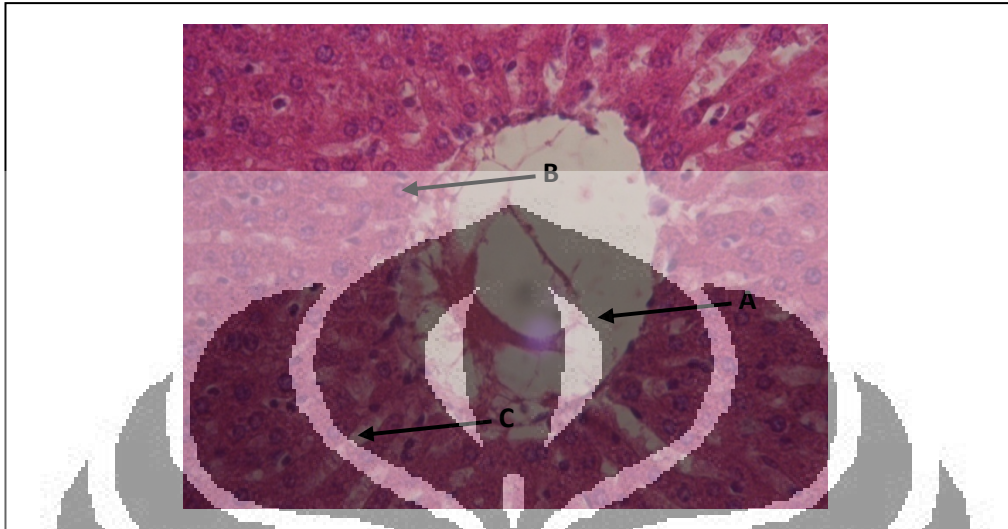
Gambar 14. Gambaran histologi hati kelompok jantan dosis 333,33 mg/kg bb setelah perlakuan 90 hari. Perbesaran 400X.

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 333,33 mg/kg bb setelah perlakuan 90 hari. Perbesaran 400X.

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. Perbesaran 400X.

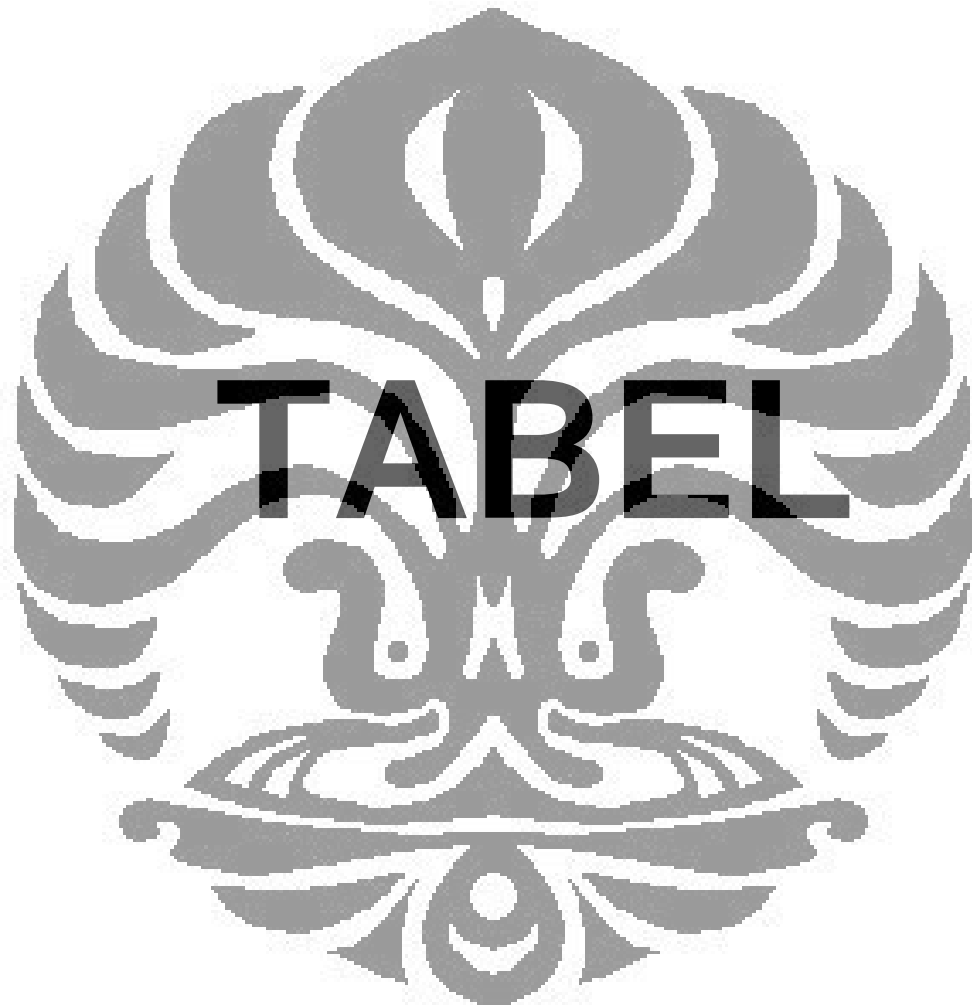
Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B= hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = sinusoid.



Gambar 17. Gambaran histologi hati kelompok betina kontrol normal. Perbesaran 400X.

Keterangan: A = vena sentralis dengan sel endotel normal, B= hepatosit (sel hati) dengan inti sel normal, C = sinusoid.





Tabel 3

Berbagai perbandingan larutan standar dan larutan dapar substrat untuk kurva kalibrasi

No Tabung	Larutan Standar Piruvat (ml)	Larutan Dapar Substrat (ml)	Nilai Aktivitas (U/L)	Serapan (A)
1	0.00	1.00	-	0,000
2	0.10	0.90	14	0,049
3	0.20	0.80	32	0,095
4	0.30	0.70	51	0,138
5	0.40	0.60	69	0,188
6	0.50	0.50	92	0,256

Tabel 4

Aktivitas ALT plasma tikus putih jantan setelah perlakuan selama 90 hari

Kelompok	Serapan	Aktivitas (U/L)	Aktivitas rata-rata $\pm$ SD
I dosis 83,33mg bahan obat herbal "X"/kg bb	0,138	49,30	49,15 $\pm$ 9,15
	0,143	51,15	
	0,108	38,18	
	0,123	43,74	
	0,113	40,04	
	0,137	48,93	
	0,170	61,15	
	0,109	38,55	
	0,175	63,00	
II dosis 166,67mg bahan obat herbal "X"/kg bb	0,160	57,44	50,04 $\pm$ 9,23
	0,120	42,63	
	0,140	50,41	
	0,129	45,96	
	0,108	38,18	
	0,196	70,78	
	0,138	49,30	
	0,141	50,41	
	0,141	50,41	
III dosis 333,33mg bahan obat herbal "X"/kg bb	0,164	58,93	55,67 $\pm$ 15,10
	0,122	43,37	
	0,179	64,48	
	0,134	47,81	
	0,145	51,89	
	0,189	68,18	
	0,209	75,59	
	0,135	48,18	
	0,199	71,89	
IV kontrol normal	0,132	47,07	54,00 $\pm$ 12,31
	0,158	56,70	
	0,072	24,85	
	0,186	67,07	
	0,159	57,07	
	0,161	57,81	
	0,191	68,93	
	0,144	51,52	
	0,179	64,48	
0,123	43,74		
0,087	30,41		
0,160	57,44		
0,117	41,52		

Tabel 5

Aktivitas ALT plasma tikus putih betina setelah perlakuan selama 90 hari

Kelompok	Serapan	Aktivitas (U/L)	Aktivitas rata-rata $\pm$ SD
I dosis 83,33mg bahan obat herbal "X"/kg bb	0,065	22,26	41,18 $\pm$ 12,60
	0,086	30,04	
	0,123	43,74	
	0,126	44,85	
	0,122	43,37	
	0,101	35,59	
	0,164	58,93	
	0,116	41,15	
	0,173	62,26	
II dosis 166,67mg bahan obat herbal "X" /kg bb	0,085	29,67	47,70 $\pm$ 13,13
	0,126	44,85	
	0,181	65,22	
	0,157	56,33	
	0,195	70,41	
	0,100	35,22	
	0,152	54,48	
	0,121	43,00	
	0,102	35,96	
III dosis 333,33mg bahan obat herbal "X"/kg bb	0,103	36,33	47,93 $\pm$ 12,46
	0,100	35,22	
	0,149	53,37	
	0,143	51,15	
	0,086	30,04	
	0,180	64,85	
	0,182	65,59	
	0,131	46,70	
	0,107	37,81	
IV kontrol normal	0,130	46,33	46,55 $\pm$ 8,13
	0,148	53,00	
	0,087	30,41	
	0,141	50,41	
	0,139	49,67	
	0,116	41,15	
	0,122	43,37	
	0,106	37,44	
	0,131	46,70	
0,147	52,63		
0,179	64,48		
0,112	39,67		
0,113	40,04		

Tabel 6

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

Diameter rata-rata vena sentralis ( $\mu\text{m}$ )				
Ulangan	I	II	III	IV
1	62,72	62,02	63,62	62,95
2	65,18	63,39	63,39	61,61
3	62,72	62,95	66,29	64,29
4	62,05	64,73	64,51	63,62
5	63,12	62,72	62,95	65,40
6	61,38	64,51	65,18	61,38
Rata-rata $\pm$ SD	62,86 $\pm$ 1,29	63,39 $\pm$ 1,05	64,32 $\pm$ 1,25	63,21 $\pm$ 1,56

Keterangan: kelompok I= kelompok dosis 83,33mg/kg bb; kelompok II= kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; kelompok IV= kelompok kontrol normal.

Tabel 7

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

Diameter rata-rata vena sentralis ( $\mu\text{m}$ )				
Ulangan	I	II	III	IV
1	66,52	60,49	61,16	61,38
2	60,27	63,84	65,85	66,29
3	66,29	62,95	63,84	61,38
4	61,38	66,52	63,84	64,51
5	64,51	66,74	64,51	60,49
6	62,05	61,83	66,74	64,28
Rata-rata $\pm$ SD	63,50 $\pm$ 2,64	63,73 $\pm$ 2,51	64,32 $\pm$ 1,93	63,05 $\pm$ 2,29

Keterangan: kelompok I= kelompok dosis 83,33 mg/kg bb; kelompok II= kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; kelompok IV= kelompok kontrol normal.

Tabel 8

Persentase Kerusakan Sel Hati Tikus Putih Jantan Setelah Perlakuan 90 hari

Ulangan	Degenerasi	I	II	III	IV
1	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
2	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
3	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
4	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
5	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
6	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
Rata-rata	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0

Keterangan: Kelompok I= kelompok dosis 83,33 mg/kg bb; kelompok II= kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; kelompok IV= kelompok kontrol normal.

Tabel 9

Persentase Kerusakan Sel Hati Tikus Putih Betina Setelah Perlakuan 90 hari

Ulangan	Degenerasi	I	II	III	IV
1	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
2	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
3	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
4	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
5	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
6	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0
Rata-rata	0%	100	100	100	100
	20-40%	0	0	0	0
	>40%	0	0	0	0

Keterangan: Kelompok I= kelompok dosis 83,33 mg/kg bb; kelompok II= kelompok dosis 166,67 mg/kg bb; kelompok III= kelompok dosis 333,33 mg/kg bb; kelompok IV= kelompok kontrol normal.





## Lampiran 1

### Pembuatan Larutan Bahan Uji

Larutan CMC 1% dibuat dengan menimbang 5 g CMC lalu ditaburkan dalam air panas 20 kalinya yaitu 100 ml, biarkan selama 15 menit. Kemudian diaduk perlahan-lahan sampai larut. Setelah itu cukupkan volumenya dengan air sampai 500 ml.

Dosis bahan obat herbal "X" kandungan total flavonoid adalah 30% dari ekstrak etil asetat, maka dosis yang digunakan adalah sebagai berikut:

Dosis I : 25 mg flavonoid/kg bb ~ 83,33 mg ekstrak/kg bb tikus.

Dosis II : 50 mg flavonoid/kg bb ~ 166,67 mg ekstrak/kg bb tikus.

Dosis III : 100 mg flavonoid/kg bb ~ 333,33 mg ekstrak/kg bb tikus.

Tiap tikus seberat 300 gram disonde dengan 2 ml suspensi bahan uji perhari. Suspensi bahan uji dosis I dan II diperoleh dengan melakukan pengenceran terhadap dosis III.

Dosis I :  $83,33 \text{ mg} \times 300 \text{ gram bb tikus perhari dalam } 2 \text{ ml} = 1,25\%$

Dosis II :  $166,67 \text{ mg} \times 300 \text{ gram bb tikus perhari dalam } 2 \text{ ml} = 2,5\%$

Dosis III :  $333,33 \text{ mg} \times 300 \text{ gram bb tikus perhari dalam } 2 \text{ ml} = 5 \%$

Banyaknya suspensi bahan uji dosis III yang dibuat perhari (untuk 20 ekor tikus/dosis) adalah:

Dosis III : 40 ml

Dosis II :  $\frac{1}{2} \times 40 \text{ ml} = 20 \text{ ml}$  dosis III

Dosis I :  $\frac{1}{2} \times 40 \text{ ml} = 10 \text{ ml}$  dosis III

Untuk suspensi bahan uji dosis I dan dosis II, dibuat dengan pengenceran dosis III, yakni dengan cara mensuspensikan larutan uji dosis III dalam larutan CMC 1 % sampai volumenya 40 ml untuk masing-masing dosis I dan dosis II.

Jumlah total suspensi bahan uji dosis III yang dibutuhkan perhari adalah :  $40+20+10 \text{ ml} = 70 \text{ ml}$ .

Banyaknya ekstrak yang harus ditimbang untuk membuat suspensi bahan uji dosis III sebanyak 70 ml adalah  $5 \text{ gram}/100 \text{ ml} \times 70 \text{ ml} = 3,5 \text{ gram}$ . Jumlah ini disuspensikan dalam larutan CMC 1% sampai volumenya 70 ml. Untuk kelompok kontrol diberikan hanya larutan CMC 1% sebanyak 2 ml tiap tikus dengan berat badan 300 gram perhari.

## Lampiran 2

### Perhitungan Aktivitas ALT Plasma

Persamaan garis yang diperoleh dari kurva kalibrasi:

$$y = 0,004903 + 0,00270x$$

Contoh:

Serapan yang diperoleh = y

$$= 140$$

Maka aktivitas ALT = x

$$= \frac{0,140 - 0,004903}{0,00270}$$

$$= 50,0370 \text{ U/L}$$

$$= 50,0370 \text{ U/L}$$

### Lampiran 3

#### 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 antar kelompok terdistribusi normal

$H_a$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Saphiro-Wilk*

$\alpha$  : 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 antar kelompok terdistribusi normal

#### Uji Normalitas

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Aktivitas ALT	I	,920	10	,355
Tikus Putih	II	,893	10	,182
Jantan	III	,937	10	,519
	Kontrol	,937	10	,520

## Lampiran 4

### Uji Homogenitas Varians terhadap Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Jantan (SPSS 15.0)

- Tujuan : Mengetahui homogenitas varians dari data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan
- Hipotesa :  $H_0$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen  
 $H_a$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *levene*
- $\alpha$  : 0,05
- Daerah kritis :  $H_0$  ditolak jika nilai Signifikansi  $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,284  $> \alpha$
- Kesimpulan :  $H_0$  diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen

#### Uji Homogenitas Varians

Aktivitas ALT Jantan			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,318	3	36	,284

## Lampiran 5

### Uji ANAVA terhadap Aktivitas ALT Plasma Tikus Putih Jantan

(SPSS 15.0)

- Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan
- Hipotesa :  $H_0$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok tidak berbeda secara bermakna  
 $H_a$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok berbeda secara bermakna
- Statistik uji : Uji F
- $\alpha$  : 0,05
- Daerah kritis :  $H_0$  ditolak jika nilai signifikansi  $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,552  $> \alpha$
- Kesimpulan :  $H_0$  diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

ANAVA

#### Aktivitas ALT Jantan

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	292,508	3	97,503		
Dalam Kelompok	4934,426	36	137,067	,711	,552
Total	5226,934	39			

## Lampiran 6

### 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 antar kelompok terdistribusi normal

$H_a$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Saphiro-Wilk*

$\alpha$  : 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 antar kelompok terdistribusi normal

#### Uji Normalitas

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Aktivitas ALT	I	,949	10	,657
Tikus Putih	II	,869	10	,098
Betina	III	,930	10	,453
	Kontrol	,903	10	,235



## Lampiran 7

### Uji Homogenitas Varians terhadap Aktivitas ALT Plasma tikus putih Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Mengetahui homogenitas varians dari data aktivitas ALT plasma tikus putih betina

Hipotesa :  $H_0$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen

$H_a$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok tidak bervariasi homogen

Statistik uji : uji *levene*

$\alpha$  : 0,05

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

Hasil : Nilai signifikansi = 0,399  $> \alpha$

Kesimpulan :  $H_0$  diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen

#### Uji Homogenitas Varians

---

##### Aktivitas ALT Betina

---

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,011	3	36	,399

## Lampiran 8

### Uji ANAVA 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 antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

$H_a$  = data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok berbeda secara bermakna

Statistik uji : Uji F

$\alpha$  : 0,05

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

Hasil : Nilai signifikansi = 0,544  $> \alpha$

Kesimpulan :  $H_0$  diterima sehingga data aktivitas ALT plasma tikus putih betina antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

#### ANAVA

#### Aktivitas ALT Betina

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	300,053	3	100,018		
Dalam Kelompok	4974,675	36	138,185	,724	,544
Total	5274,728	39			

## Lampiran 9

### 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 antar kelompok terdistribusi normal

$H_a$  = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Saphiro-Wilk*

$\alpha$  : 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 antar kelompok terdistribusi normal

#### Uji Normalitas

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diameter Vena Sentralis Jantan	I	,903	6	,392
	II	,936	6	,631
	III	,944	6	,690
	Kontrol	,953	6	,762

## Lampiran 10

### Uji Homogenitas Varians terhadap Diameter Vena Sentralis Hati

#### Tikus Putih Jantan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Mengetahui homogenitas varians data vena sentralis tikus putih jantan

Hipotesa :  $H_0$  = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen

$H_a$  = data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok tidak bervariasi homogen

Statistik uji : uji *Levene*

$\alpha$  : 0,05

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

Hasil : Nilai signifikansi = 0,759  $> \alpha$

Kesimpulan :  $H_0$  diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen

#### Uji Homogenitas Varians

Diameter Vena Sentralis Jantan			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,393	3	20	,759

## Lampiran 11

### Uji ANAVA terhadap Diameter Vena Sentralis Hati Tikus Putih Jantan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data diameter vena sentralis tikus putih jantan

Hipotesa :  $H_0$  = Data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok tidak berbeda secara bermakna

$H_a$  = Data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok berbeda secara bermakna

Statistik uji : Uji F

$\alpha$  : 0,05

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

Hasil : Nilai signifikansi = 0,277  $> \alpha$

Kesimpulan :  $H_0$  diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih jantan antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

#### ANOVA

##### Diameter Vena Sentralis Jantan

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	7,027	3	2,342	1,382	,277
Dalam Kelompok	33,900	20	1,695		
Total	4,927	23			

## Lampiran 12

### 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 :  $H_0$  = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok terdistribusi normal

$H_a$  = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : uji *Saphiro-Wilk*

$\alpha$  : 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 betina antar kelompok terdistribusi normal

#### Uji Normalitas

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diameter Vena	I	,209	6	,384
Sentralis	II	,200	6	,567
Betina	III	,235	6	,735
	kontrol	,268	6	,376

### Lampiran 13

#### Uji Homogenitas Varians terhadap Diameter Vena Sentralis Hati

#### Tikus Putih Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Mengetahui homogenitas varians data vena sentralis tikus putih betina

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

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

Statistik uji : uji *Levene*

$\alpha$  : 0,05

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

Hasil : Nilai signifikansi = 0,537  $> \alpha$

Kesimpulan :  $H_0$  diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok bervariasi homogen

#### Uji Homogenitas Varians

Diameter Vena Sentralis Betina			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,747	3	20	,537

## Lampiran 14

### Uji ANAVA terhadap Diameter Vena Sentralis Hati Tikus Putih Betina

(SPSS 15.0)

- Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data diameter vena sentralis tikus putih betina
- Hipotesa :  $H_0$  = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok tidak berbeda secara bermakna  
 $H_a$  = data diameter vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok berbeda secara bermakna
- Statistik uji : Uji F
- $\alpha$  : 0,05
- Daerah kritis :  $H_0$  ditolak jika nilai sinifikansi  $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi = 0,825  $> \alpha$
- Kesimpulan :  $H_0$  diterima sehingga data diameter vena sentralis hati tikus putih betina antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

#### ANAVA

Diameter Vena Sentralis Betina					
	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	5,010	3	1,670		
Dalam Kelompok	111,480	20	5,574	,300	,825
Total	116,490	23			