



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK HEPATOPROTEKTIF KOMBINASI INFUSA
AKAR TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber* L.) DAN
DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees) PADA
TIKUS YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**

SKRIPSI

**IDA LESTARI JUWITA
0806364605**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI EKSTENSI FARMASI
DEPOK
JULI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK HEPATOPROTEKTIF KOMBINASI INFUSA
AKAR TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber* L.) DAN
DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees) PADA
TIKUS YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**IDA LESTARI JUWITA
0806364605**


**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI EKSTENSI
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
JULI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORSINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Ida Lestari Juwita

NPM : 0806364605

Tanda Tangan : 

Tanggal : Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Ida Lestari Juwita
NPM : 0806364605
Program Studi : Ekstensi Farmasi
Judul Skripsi : Efek hepatoprotektif kombinasi infusa akar tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada tikus yang diinduksi karbontetraklorida

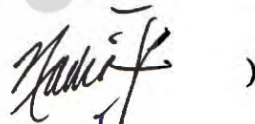
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Azizahwati MS, Apt

()

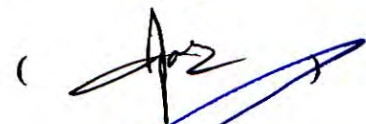
Pembimbing II : Nadia Farhanah Syafhan M.Si, Apt

()

Penguji I : Santi Purnasari, M. Si

()

Penguji II : Dr. Katrin B, M.Si.

()

Penguji III : Dra. Rosmaladewi

()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : Juli 2011

KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Azizahwati., M.S selaku pembimbing pertama dan Ibu Nadia Farhanah Syafhan, S.Farm., MSi., Apt selaku pembimbing kedua yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini;
2. Ibu Dr. Retnosari Andrajati, M. selaku pembimbing akademis dan Kepala Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan bimbingan, saran dan nasehat, serta izin kepada saya untuk melaksanakan penelitian di laboratorium Farmakologi.
3. Bapak Dr. Dadang Kusmana, M.S yang telah memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang berarti bagi penulis.
4. Seluruh staf pengajar dan karyawan di Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Ayah (Nawardin) dan ibunda (K.J Wati), yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan moril dan materiil yang sangat berarti.
6. Suami (Lion Agus Tanoor) dan anakku (Windhi dan Queensyah) (Akbar dan phira) yang senantiasa mendoakan dan memberikan semangat.
7. Kakak dan ayukku (lina;jaya, eka;juli) dimanapun berada, terima kasih atas dukungan dan bantuan simplisia serta pengorbanannya.

8. Pak Arif, wienda, amston, terima kasih atas bantuan dan bimbingan preperatnya.
9. Teman-teman di Laboratorium Farmakologi terima kasih atas kebersamaannya dalam suka maupun duka, serta semangat untuk saling memberikan motivasi.
10. Teman-teman Ekstensi Farmasi UI angkatan 2008 dan 2007, atas persahabatan indah yang telah terjalin selama 3 tahun.
11. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2011

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ida Lestari Juwita
NPM : 0806364605
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Efek Hepatoprotektif Kombinasi Infusa Akar Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) dan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Pada Tikus yang diinduksi Karbontetraklorida

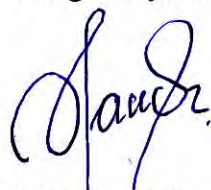
beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal: Juli 2011

Yang menyatakan



(Ida Lestari Juwita)

ABSTRAK

Nama : Ida Lestari Juwita

Program studi : Ekstensi Farmasi

Judul : Efek Hepatoprotektif Kombinasi Infusa Akar Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) dan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada Tikus yang Diinduksi Karbontetraklorida

Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) merupakan tanaman yang secara empiris digunakan untuk penyakit hati. Penelitian bertujuan untuk mengetahui efek hepatoprotektif pemberian kombinasi infusa akar tapak liman dan daun sambiloto. Tiga puluh enam tikus dibagi kedalam 6 kelompok secara acak. Kelompok I (kontrol normal), kelompok II (kontrol induksi), kelompok III (tapak liman 400 mg/200 g bb), kelompok IV (sambiloto 100 mg/200g bb), kelompok V (kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg), dan kelompok VI (kombinasi tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg). Bahan uji diberikan peroral selama 8 hari dan 2 jam setelah pemberian terakhir karbon tetraklorida diberikan melalui rute yang sama. Pada hari ke-9 dilakukan pengambilan darah dan hati. Pengukuran aktivitas ALT dan ALP plasma menggunakan ALT dan ALP kit dan ditunjukkan dengan perbedaan serapan. Analisa histologi didasarkan pada diameter vena sentralis dan persen kerusakan lobulus hati. Hasil menunjukkan kelompok V dan VI berbeda bermakna dengan kelompok induksi untuk aktivitas ALT, ALP plasma serta hasil pengamatan histologi hati. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa kombinasi infusa tapak liman dan sambiloto memiliki efek hepatoprotektif. Dosis kombinasi dengan hasil yang paling mendekati kontrol normal adalah kombinasi akar tapak liman 400 mg/200 g bb dan sambiloto 50 mg/200 g bb.

Kata kunci : ALT, ALP, akar tapak liman, daun sambiloto, hepatoprotektif.

xv + 67 halaman ; 11 gambar ; 17 lampiran; 13 tabel.

Daftar pustaka : 40 (1957 – 2010)

ABSTRACT

Nama : Ida Lestari Juwita

Program studi : Ekstensi Farmasi

Judul : Hepatoprotective Effect of Tapak Liman Roots (*Elephantopus scaber* L.) and Sambiloto Leaves (*Andrographis paniculata* Nees) Combination Infusa on White Rat Induced by Carbon Tetrachloride

Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) and sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) were the plants empirically used in the treatment of liver disease. The aims of the study was to determine the hepatoprotective effect of infusa of tapak liman roots and sambiloto leaves combination. Thirty six male *Sprague-Dawley* rats were randomly divided into 6 groups. Group I (normal control), group II (induction control), group III (400mg/200g tapak liman), IV (100mg/200g sambiloto), V (400mg tapak liman and 50mg sambiloto), and VI (200mg tapak liman and 100mg sambiloto). The infusa were administered for 8 days and carbon tetrachloride was given 2 hours after the last administration. Collection of the blood and liver resection were carried out on 9th day. ALT and ALP plasma activities were analyzed using kit reagen and showed by absorbances differences. Diameter of liver central vein and liver lobules damage percentages were histological analysis parameter. There were significant differences between group V and VI with induction control for ALT, ALP activities supported by the results of liver histological examination. It can be concluded that the combination of tapak liman and sambiloto infusa had hepatoprotective effect and combination of 400mg tapak liman and 50mg sambiloto results were almost equivalent to normal control.

Keywords : ALT, ALP, hepatoprotective, tapak liman root, sambiloto leaf.

xv + 67 pages, 11 figures, 17 appendixes, 13 tables.

References : 40 (1957 - 2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORSINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Tujuan penelitian	3
1.3 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Hati	4
2.1.1 Anatomi dan fisiologi hati	4
2.1.2 Histologi hati	4
2.1.3 Fungsi hati	6
2.1.4 Kerusakan pada hati	7
2.2 Tanaman tapak liman	9
2.2.1 Taksonomi tanaman tapak liman	9
2.2.2 Nama daerah	10
2.2.3 Deskriptif tanaman.....	10

2.2.4	Kandungan zat kimia	10
2.2.5	Khasiat	10
2.3	Tanaman sambiloto	11
2.3.1	Taksonomi tanaman sambiloto	11
2.3.2	Nama daerah	11
2.3.3	Deskriptif tanaman	11
2.3.4	Kandungan zat kimia	12
2.3.5	Khasiat	12
3.4	Alanin amino transferase (ALT)	12
3.5	Alkali fosfatase (ALP)	13
3.6	Karbon tetraklorida (CCL ₄)	13
BAB III BAHAN DAN CARA KERJA		15
3.1	Lokasi dan Waktu	15
3.2	Alat	15
3.3	Bahan	15
3.3.1	Hewan uji	15
3.3.2	Bahan uji	16
3.3.3	Bahan kimia	16
3.4	Cara kerja	16
3.4.1	Penetapan dosis	16
3.4.2	Pembuatan larutan uji dan pereaksi	17
3.4.3	Pelaksanaan penelitian	18
3.4.4	Penentuan aktivitas ALT plasma	21
3.4.5	Penentuan aktivitas ALP plasma	22
3.4.6	Pembuatan sediaan histologi	24
3.4.7	Pengolahan data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		28

4.1	Hasil pengamatan aktivitas alanin aminotransferase	28
4.2	Hasil pengamatan aktivitas alkali fosfatase	30
4.3	Histologi hati tikus setelah perlakuan	32
4.3.1	Hasil pemeriksaan secara kuantitatif.....	32
4.3.2	Hasil pengamatan secara kualitatif	33
BAB V.	PENUTUP.....	39
5.1	Kesimpulan	39
5.2	Saran	39
DAFTAR ACUAN	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1.	Histologis hati tikus kelompok normal setelah perlakuan selama 8 hari	35
Gambar 4.2.	Histologis hati tikus kelompok induksi setelah perlakuan selama 8 hari	36
Gambar 4.3.	Histologis hati tikus kelompok kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg setelah perlakuan selama 8 hari.....	36
Gambar 4.4.	Histologis hati tikus kelompok kombinasi tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg setelah perlakuan selama 8 hari.....	37
Gambar 4.5.	Histologis hati tikus kelompok rebusan akar tapak liman setelah perlakuan selama 8 hari	37
Gambar 4.6.	Histologis hati tikus kelompok rebusan daun sambiloto setelah perlakuan selama 8 hari	38
Gambar 1.	Tanaman tapak liman (<i>Elephantopus scaber</i> L)	44
Gambar 2.	Tanaman sambiloto	44
Gambar 3.	Diagram rata-rata aktivitas ALT plasma tikus putih jantan setelah perlakuan	45
Gambar 4.	Diagram rata-rata aktivitas ALP plasma tikus putih jantan setelah perlakuan.....	45
Gambar 5.	Diagram rata-rata diameter vena sentralis tikus putih jantan setelah perlakuan	46

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Perbandingan dosis tapak liman dan sambiloto untuk pemberian kombinasi	16
Tabel 3.2.	Pembagian kelompok hewan uji	19
Tabel 3.3.	Skema percobaan	20
Tabel 3.4.	Prosedur pengukuran aktivitas ALT plasma	22
Tabel 3.5.	Prosedur pengukuran aktivitas ALP plasma	23
Tabel 4.1.	Aktivitas rata-rata ALT plasma setelah perlakuan	29
Tabel 4.2.	Aktivitas rata-rata ALP plasma setelah perlakuan	30
Tabel 4.3.	Diameter rata-rata vena sentralis tikus jantan setelah perlakuan	32
Tabel 4.4.	Derajat kerusakan hati rata-rata tikus setelah perlakuan	33
Tabel 1.	Aktivitas ALT plasma tikus setelah perlakuan selama 8 hari	47
Tabel 2.	Aktivitas ALP plasma tikus setelah perlakuan selama 8 hari	48
Tabel 3.	Diameter rata-rata vena sentralis tikus setelah perlakuan	49
Tabel 4.	Persentase kerusakan sel hati tikus setelah perlakuan	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil identifikasi/determinasi	51
Lampiran 2.	Perhitungan dosis daun sambiloto	52
Lampiran 3.	Perhitungan pemberian rebusan bahan uji	53
Lampiran 4.	Pengenceran karbon tetraklorida dalam minyak kelapa	54
Lampiran 5.	Cara perhitungan diameter vena sentralis	55
Lampiran 6.	Uji distribusi normal terhadap aktivitas alt plasma	56
Lampiran 7.	Uji kesamaan varians terhadap aktivitas alt plasma tikus 54putih jantan	57
Lampiran 8.	Uji anava terhadap aktivitas alt plasma tikus putih jantan.....	58
Lampiran 9.	Uji beda nyata terkecil (BNT) terhadap aktivitas alt plasma tikus putih jantan.....	59
Lampiran 10.	Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALP plasma	60
Lampiran 11.	Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan	61
Lampiran 12.	Uji anava terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan	62
Lampiran 13.	Uji beda nyata terkecil (BNT) terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan	63
Lampiran 14.	Uji distribusi normal terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan.....	64
Lampiran 15.	Uji kesamaan varians terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan.....	65
Lampiran 16.	Uji anava terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan.....	66
Lampiran 17.	Uji beda nyata terkecil (BNT) terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan	67

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Hati merupakan organ yang sangat penting untuk mempertahankan hidup dan berperan pada hampir setiap fungsi metabolik tubuh (Price and Wilson, 2005). Selain berperan penting dalam metabolisme karbohidrat, protein dan lemak, hati juga berperan pada penyimpanan vitamin, besi, dan tembaga serta detoksifikasi sejumlah besar zat endogen dan eksogen. Fungsi detoksifikasi sangat penting dan dikatalisis oleh enzim-enzim hati melalui reaksi oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konyugasi zat-zat yang berbahaya, dan mengubahnya menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif (Price and Wilson, 2005). Berdasarkan hal tersebut, maka hati perlu dijaga agar dapat berfungsi dengan baik.

Pengobatan tradisional dengan menggunakan tanaman yang berada disekitar kita dianggap sebagai cara terbaik dalam menjaga fungsi hati, selain efektif, efisien, dan aman, juga bersifat ekonomis. Tanaman yang sering digunakan secara empiris oleh masyarakat dalam pengobatan penyakit hati adalah tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) (Sari W, 2008).

Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dikenal sebagai tumbuhan yang mudah tumbuh, termasuk dalam famili Compositae. Bagian yang digunakan adalah akar, batang, daun, maupun seluruh tanaman. Pada penelitian ini digunakan akar tapak liman karena pada penelitian terdahulu menyatakan bahwa akar tapak liman dosis 400 mg/200 g bb memiliki efek hepatoprotektif (Ariani R, 2007) dan anti hepatotoksik yang lebih baik dibandingkan dengan daun tapak liman terhadap tikus yang diberi karbon tetraklorida (Pratiwi DC, 1996 dan Kamba V, 1995).

Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) adalah sejenis tanaman herba dari famili Acanthaceae. Sambiloto mengandung zat pahit bernama andrografolid. Menurut beberapa penelitian, zat ini dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor, anti kanker, dan antiviral (Kadar VR, 2009). Hasil percobaan hewan yang telah diinduksi dengan karbon tetraklorida kemudian diberi ekstrak air daun sambiloto 500 mg/kgBB peroral dapat mencegah kenaikan aktivitas ALT plasma (Hadi S, 2000).

Efek hepatoprotektor dari tanaman akar tapak liman dan daun sambiloto dapat diketahui dengan pemeriksaan laboratorium berupa pemeriksaan darah. Sel hati yang mengandung berbagai enzim, beberapa di antaranya penting untuk diagnostik kerusakan hati karena enzim tersebut dialirkan ke pembuluh darah. Aktivasinya dapat diukur sehingga dapat menunjukkan adanya penyakit hati atau tingkat keparahannya. Enzim hati yang dapat dijadikan pertanda fungsi hati antara lain aminotransferase (transaminase) dan alkali fosfatase (ALP) (Sari W, 2008).

Golongan enzim aminotransferase adalah ALT (alanin aminotransferase) dan AST (aspartat aminotransferase). Enzim-enzim ini merupakan indikator yang sensitif terhadap adanya kerusakan sel hati. Peningkatan kadar enzim-enzim ini mencerminkan adanya kerusakan sel-sel hati. ALT merupakan enzim yang lebih spesifik untuk menentukan kerusakan sel hati dibandingkan AST. Sehingga terjadinya peningkatan aktivitas enzim ALT di darah merupakan parameter adanya kerusakan di hati (Lawrence & Parce, 1996 ; Muray, 2009).

Alkali fosfatase (ALP) adalah kelompok enzim yang bekerja menghidrolisis ester fosfat pada suasana alkali. Kadar ALP tertinggi di dalam tubuh terdapat pada sel-sel yang mengalami pembelahan yang cepat. Sel-sel ini terdapat pada jaringan epitel saluran empedu dan hati, jaringan tulang, sel-sel epitel usus, jaringan sel tubulus proksimal ginjal, dan plasenta. Normalnya ALP yang berada di dalam hati akan disekresikan ke dalam empedu (Ricterich & J.P Colombo, 1981). Hasil pemeriksaan adanya peningkatan ALT dan ALP dapat diperkuat dengan gambaran histologis hati untuk melihat kerusakan di hati secara fisik.

Pada penelitian ini dibuat kombinasi tanaman yang bertujuan agar masing-masing tanaman bekerja saling mendukung atau memperkuat efek farmakologis yang diinginkan sehingga memberikan hasil yang lebih efektif dengan efek samping yang minimal.

1.2 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek hepatoprotektif pemberian kombinasi infusa akar tanaman tapak liman (*Elephantopus Scaber L.*) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata Nees*) ditinjau dari aktivitas ALT, ALP plasma dan gambaran histologis hati tikus putih jantan yang diinduksi karbon tetraklorida.

1.3 Hipotesis

Pemberian kombinasi infusa akar tapak liman dan infusa daun sambiloto memiliki efek hepatoprotektif pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan karbon tetraklorida.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hati

2.1.1 Anatomi dan fisiologi hati

Hati adalah organ terbesar di dalam tubuh, yang terletak dibagian atas rongga abdomen sebelah kanan di bawah diafragma (Evelyn CP, 2008 dan Sloane, 2003). Hati terbagi dalam dua belahan atau lobus utama yaitu kanan dan kiri. Pada permukaan atas berbentuk cembung dan terletak di bawah diafragma, permukaan bawah tidak rata dan memperlihatkan lekukan (*fisura transverses*). Permukaannya dilintasi oleh berbagai pembuluh darah yang keluar dan masuk ke dalam hati. Fisura longitudinal memisahkan belahan kanan dan kiri pada permukaan bawah, sedangkan ligament falsiformis melakukan hal yang sama di permukaan atas hati. Selanjutnya hati dibagi lagi dalam empat belahan (kanan, kiri, kaudata, kwadrata). Setiap belahan terdiri atas lobulus yang berbentuk polyhedral (segibanyak) dan terdiri atas sel hati berbentuk kubus tersusun radial mengelilingi vena sentralis (Evelyn CP, 2008).

2.1.2 Histologi hati

2.1.2.1 Lobulus hati

Unsur struktural utama dalam hepar adalah sel-sel hepar (hepatosit). Sel-sel hepar berkelompok dalam susunan yang saling berhubungan sedemikian rupa sehingga terlihat sebagai unit struktural yang disebut lobulus hepar. Sel hepar merupakan 60% bagian hepar. Lobulus hepar merupakan prisma poligonal dengan ukuran lebih kurang 1 sampai 2 mm, dan biasanya terlihat heksagonal pada potongan melintang vena sentralis di tengah dan di kanal portal di tepian pada sudut-sudutnya. Lobulus hepar mempunyai makna fungsional yaitu merupakan

suatu unit struktural yang mengalirkan darah ke vena lobular (vena sentralis). Suatu lobulus portal mempunyai kanal portal sebagai pusatnya, dan terdiri dari jaringan yang menyalurkan empedu ke dalam duktus biliaris di daerah portal tersebut (Junqueira *et al.*, 1997).

2.1.2.2 Sel hati (hepatosit)

Sel hati (hepatosit) adalah sel-sel yang menyusun hati, berbentuk polihedral dengan enam sisi. hepatosit memiliki satu atau dua inti berbentuk bulat dengan satu atau dua anak inti (Dellmann & Brown, 1992). Setiap hepatosit berkontak langsung dengan darah dari dua sumber. Darah vena porta yang langsung datang dari saluran pencernaan dan darah arteri hepatica yang datang dari aorta. Diantara lempengan sel hati terdapat kapiler-kapiler yang dinamakan sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid dibatasi oleh sel fagositik atau sel kupffer, yang merupakan sistem monosit-makrofag, fungsi utama sel kupffer adalah menelan bakteri dan benda asing lain dalam darah, sehingga hati merupakan salah satu organ utama sebagai pertahanan terhadap invasi bakteri dan agen toksik seperti karbon tetraklorida, alkohol, dan kloroform (Price and Wilson, 2005).

Hepatosit digunakan sebagai parameter kerusakan karena sel hati memiliki peranan penting dalam metabolisme. Vena sentralis digunakan dalam pengukuran karena daerah vena sentralis merupakan pusat dari lobulus hati. Sel-sel di perifer lobulus mendapat perdarahan yang baik, namun daerah di sekitar vena sentralis merupakan daerah yang jauh dari perdarahan (Lu, 1995). Berdasarkan aliran peredaran darah, vena sentralis menyalurkan darah dari semua lobulus hati sehingga apabila terdapat toksin, maka di vena sentralis akan terjadi akumulasi. Apabila terdapat gangguan maka yang terlebih dahulu mengalami kerusakan dan terlihat paling parah serta jelas bentuk kerusakannya adalah vena sentralis, jika terjadi kerusakan maka sel-sel endotel dari vena sentralis akan lisis dan akan mengakibatkan terjadinya perbesaran dari diameter vena sentralis (Lesson, Thomas, & Paparo, 1996).

2.1.3 Fungsi hati

Hati memiliki banyak fungsi untuk mempertahankan hidup. Fungsi utama hati antara lain adalah (Price and Wilson , 2005 ; Husadha Y, 1996):

2.1.3.1 Fungsi metabolisme

Fungsi metabolisme merupakan proses perubahan struktur suatu zat menjadi zat lain yang mempunyai sifat yang sama, menyerupai, atau bahkan berbeda dengan zat tersebut sebelumnya. Perubahan struktur dapat berupa pembentukan atau penguraian. Hati berfungsi dalam metabolisme berbagai zat yang diperlukan tubuh seperti karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral.

a. Metabolisme karbohidrat

Hati mengubah pentosa dan heksosa yang diserap dari usus halus menjadi glikogen, mekanisme ini disebut glikogenesis. Glikogen lalu ditimbun di dalam hati kemudian hati akan memecahkan glikogen menjadi glukosa. Proses pemecahan glikogen menjadi glukosa disebut glikogenolisis. Dari proses-proses ini maka hati merupakan sumber utama glukosa dalam tubuh, selanjutnya hati mengubah glukosa melalui *hexose monophosphat shunt* dan terbentuklah pentosa. Pembentukan pentosa mempunyai beberapa tujuan: Menghasilkan energi, biosintesis dari nukleotida, asam nukleat dan ATP, dan membentuk senyawa 3 karbon yaitu asam piruvat (asam piruvat diperlukan dalam siklus krebs).

b. Metabolisme protein

Beberapa asam amino diubah menjadi glukosa. Asam amino yang tidak dibutuhkan diubah menjadi urea yang dikeluarkan dari dalam sel hati kedalam darah untuk dieksresi oleh ginjal (Gibson J, 2002).

c. Metabolisme lemak

Ketika produk lemak dibutuhkan, lemak di ambil keluar dari deposit lemak dalam tubuh, diangkut dalam darah menuju hati, dan di hati dipecah menjadi asam lemak dan gliserol. Selain itu, asam lemak dibawa menuju hati dalam darah porta dari usus dan diubah menjadi jenis-jenis yang dapat digunakan dalam proses metabolik (Gibson J, 2002).

2.1.3.2 Fungsi sintesis

Sintesis adalah penyusunan atau pembuatan suatu senyawa dari zat atau molekul yang sederhana menjadi senyawa kompleks. Fungsi sintesis hati antara lain pembuatan protein dan lipoprotein plasma.

2.1.3.3 Fungsi pertahanan tubuh

Pertahanan tubuh oleh hati dapat berupa fungsi detoksifikasi dan fungsi perlindungan. Fungsi detoksifikasi atau penetralan dilakukan oleh enzim-enzim hati melalui oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konyugasi zat-zat yang berbahaya, dan mengubahnya menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif. Fungsi perlindungan dilakukan oleh sel kupffer yang terdapat di dinding sinusoid hati, berkemampuan fagositosis yang sangat besar sehingga mampu membersihkan sampai 99% kuman yang ada dalam vena porta sebelum darah menyebar melewati seluruh sinusoid. Sel kupffer juga mengalihkan immunoglobulin dan berbagai macam antibodi yang timbul pada berbagai macam kelainan hati tertentu.

2.1.4 Kerusakan pada hati

Kerusakan hati dapat berupa perlemakan hati, nekrosis, kolestasis dan sirosis hati (Price and Wilson, 2005; Lu CF, 1995).

2.1.4.1 Perlemakan hati (Steatosis)

Perlemakan hati adalah penumpukan lemak lebih dari 5% pada organ hati. Penyebab perlemakan hati terdiri dari dua faktor utama. Pertama berhubungan dengan peningkatan kadar asam lemak bebas dalam plasma yang terjadi akibat mobilisasi lemak dari jaringan adiposa atau dari hidrolisis triasilgliserol lipoprotein oleh lipase sensitif hormone di jaringan ekstrahepatik. Pembentukan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) tidak dapat mengimbangi meningkatnya influx dan esterifikasi asam lemak bebas sehingga terjadi penumpukan triasilgliserol yang menyebabkan perlemakan hati. Kedua, karena adanya penghambat metabolik dalam produksi lipoprotein plasma sehingga terjadi penimbunan triasilgliserol (Muray, 2009).

2.1.4.2 Nekrosis hati

Nekrosis merupakan kematian sel hati yang ditandai dengan rusaknya struktur lobulus hati. Manifestasi dari toksikan yang berbahaya dapat menimbulkan nekrosis. Perubahan biokimia yang terjadi bersifat kompleks dan berbagai hepatotoksikan bekerja melalui berbagai mekanisme. Mekanisme terjadinya nekrosis diantaranya hepatotoksikan secara kovalen mengikat protein dan lipid tidak jenuh dan menyebabkan peroksidasi lipid (Price and Wilson, 2005). Nekrosis biasanya didahului oleh perubahan morfologik sel-sel hati, seperti rusaknya inti sel, homogenisasi sitoplasma, dan pecahnya membran plasma (Lu CF, 1995).

2.1.4.3 Kolestasis

Kolestasis merupakan kerusakan hati yang bersifat akut dan disebabkan karena aktivitas ekskresi empedu pada membran kanalikuli biliaris. Penyakit kolestasis lebih jarang ditemukan dibandingkan dengan perlemakan hati dan nekrosis (Lu CF, 1995).

2.1.4.4 Sirosis hati

Sirosis yaitu suatu keadaan berupa penggantian hepatosit yang rusak secara permanen oleh jaringan ikat. Sirosis ditandai dengan adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian besar hati. Peradangan hati yang berkepanjangan atau berulang, umumnya berkaitan dengan alkoholisme kronik, dapat menyebabkan sirosis. Hepatosit memiliki kemampuan untuk beregenerasi namun hepatosit juga memiliki batas. Jika pajanan terus berulang maka hepatosit yang baru tidak dapat beregenerasi cukup cepat untuk menggantikan sel-sel yang rusak (Price and Wilson, 2005).

Kerusakan-kerusakan hati tersebut dapat diatasi dengan upaya preventif (hepatoprotektif) dan kuratif (antihepatotoksik). Upaya preventif merupakan upaya-upaya yang digunakan untuk mencegah kerusakan sel-sel hati melalui pencegahan komplikasi, pencegah kekambuhan, dan perlindungan hati dari aneka hepatotoksin, sedangkan kuratif merupakan upaya-upaya yang digunakan untuk mengobati kerusakan sel-sel hati dengan cara mengurangi peradangan, mengurangi gejala kerusakan, serta merangsang regenerasi sel hati (Linawati *dkk*, 2003)

2.2 Tanaman tapak liman

2.2.1 Taksonomi tanaman tapak liman (Jones and Luchsinger, 1987).

Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub Kelas: Asteridae
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : *Elephantopus*
Spesies : *Elephantopus scaber* L.

2.2.2 Nama daerah

Tapak liman (Sunda), talpak tana (Madura), tutup bumi (Melayu), balagaduk, jukut cangcang-cangcang, tapak tangan (Jawa) (Dalimartha S, 2003).

2.2.3 Deskriptif tanaman

Tapak liman merupakan tumbuhan liar, kadang ditemukan dalam jumlah banyak di lapangan rumput, tepi jalan, atau pematang. Tanaman teratai tegak berumur panjang ini mempunyai batang pendek dan kaku, tinggi 30-60 cm, dan berambut kasar. Daun tunggal berkumpul pada permukaan tanah membentuk roset kasar, pertulangan menyirip, berwarna hijau tua, panjang 10 – 18 cm, lebar 3–5 cm. Tangkai bunga keluar dari tengah – tengah roset dengan tinggi 60 – 75 cm. Batang tangkai bunga kaku dan liat, berambut panjang dan rapat, bercabang dan beralur. Daun pada tangkai bunga kecil, letaknya jarang, panjang 3 – 9 cm, lebar 1- 3 cm. Bunga majemuk berbentuk bongkol, letaknya diujung batang, berwarna ungu, mekar pada siang hari sekitar pukul satu siang, dan menutup kembali pada sore hari. Buah berupa buah longkang yang keras berambut berwarna hitam. Akarnya tunggang yang besar dan berwarna putih (Dalimartha S, 2003).

2.2.4 Kandungan zat kimia

Daun tapak liman mengandung elefantopin, deoikselefantopin, isodeoksielefantopin, 11, 13 dihidrodeoksi-elefantopin, elefantin, epifridelinol, stigmasterol, triakontan-1-ol, dotriakontan-1-ol, lupeol, lupeol asetat. Bunga mengandung flavonoid luteolin-7-*glukosida*. Akar mengandung epiprielinol, lupeol, dan stigmasterin (Dalimartha S, 2003).

2.2.5. Khasiat

Daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) berkhasiat sebagai obat mencret, obat batuk, obat sariawan (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991), obat

demam, peluruh kencing (diuretik) sedangkan akarnya dapat digunakan untuk mengobati hepatitis dan malaria (Sastroamidjojo, 1988).

2.3 Tanaman sambiloto

2.3.1 Taksonomi tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) (Jones and Luchsinger, 1987).

Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)
 Subkelas : Asteridae
 Ordo : Scrophulariales
 Famili : Acanthaceae
 Genus : *Andrographis*
 Spesies : *Andrographis paniculata* Nees.

2.3.2 Nama daerah

Sambilata (Melayu), sambiloto (Jawa Tengah), ki oray (Sunda), papaitan (Maluku), ampadu tanah (Minang) (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1994).

2.3.3 Deskriptif tanaman

Merupakan tanaman liar yang banyak tersebar di Asia Tenggara, termasuk di Indonesia. Tinggi tanaman dapat mencapai 1 m, dengan batang berbentuk persegi empat. Daun tunggal, letak berhadapan, tangkai daun sangat pendek bahkan sampai hampir tidak bertangkai, bentuk lanset, ukuran kira-kira 12 cm x 13 cm, bertepi rata, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna lebih pucat. Bunga majemuk, bentuk malai, ukuran kecil, berwarna putih, terdapat di ketiak dan ujung tangkai. Buah kecil memanjang ukuran lebih kurang 0,30- 0,40 cm x 1,50-1,90 cm, berlekuk, terdiri dari 2 rongga, berwarna

hijau dan akan pecah bila buah masak, biji kecil, gepeng, berwarna hitam (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1994).

2.3.4 Kandungan zat kimia

Tanaman sambiloto mengandung lakton (deoksi-andrografolid, andrografolid, 14-deoksi-11, neoandrografolid, 12-didehidro- andrografolid, dan moandrografolid dan flavonoid (alkan, keton, aldehyd). Daun mengandung saponin, flavonoid dan tanin. Akar mengandung flavonoid seperti polimetoksisflavon, androgravin, panicolin, mono-o-metil, dan apigenin-7,4-dimetil eter (Muhlisah F, 2007).

2.3.5 Khasiat

Tumbuhan sambiloto bisa menyembuhkan penyakit hepatitis, infeksi saluran empedu, disentri basiler, tifoid, diare, influenza, radang amandel (tonsilitis), abses paru, malaria, radang paru (pneumonia), radang saluran napas (bronkhitis), radang ginjal akut (pielonefritis), radang telinga tengah, radang usus buntu, sakit gigi, demam, kencing nanah (gonore), kencing manis (diabetes melitus), TB paru, batuk rejan (pertusis), sesak napas (asma), darah tinggi (hipertensi), kusta (lepra), keracunan jamur, serta kanker (Dalimartha S, 2005).

2.4 Alanin amino transferase (ALT)

Kelompok enzim transferase yang berperan penting dalam metabolisme asam amino adalah kelompok aminotransferase (transaminase). Enzim ini berperan dalam pembentukan dan pemecahan asam amino dengan cara memindahkan gugus amino dari asam amino ke asam α -keto. Fungsi ini penting untuk pembentukan asam amino yang dibutuhkan dalam menyusun protein (Muray, 2009 dan Guyton, 1992)

Aminotransferase merupakan indikator yang baik untuk kerusakan hati. Parameter yang termasuk golongan enzim ini adalah ALT (alanin

aminotransferase) dan AST (aspartat aminotransferase). ALT merupakan enzim yang lebih spesifik untuk menentukan kerusakan sel hati dibandingkan AST. Sehingga terjadinya peningkatan aktivitas ALT di darah merupakan parameter adanya kerusakan di hati (Lawrence & Parce, 1996; Muray, 2009).

2.5 Alkali fosfatase (ALP)

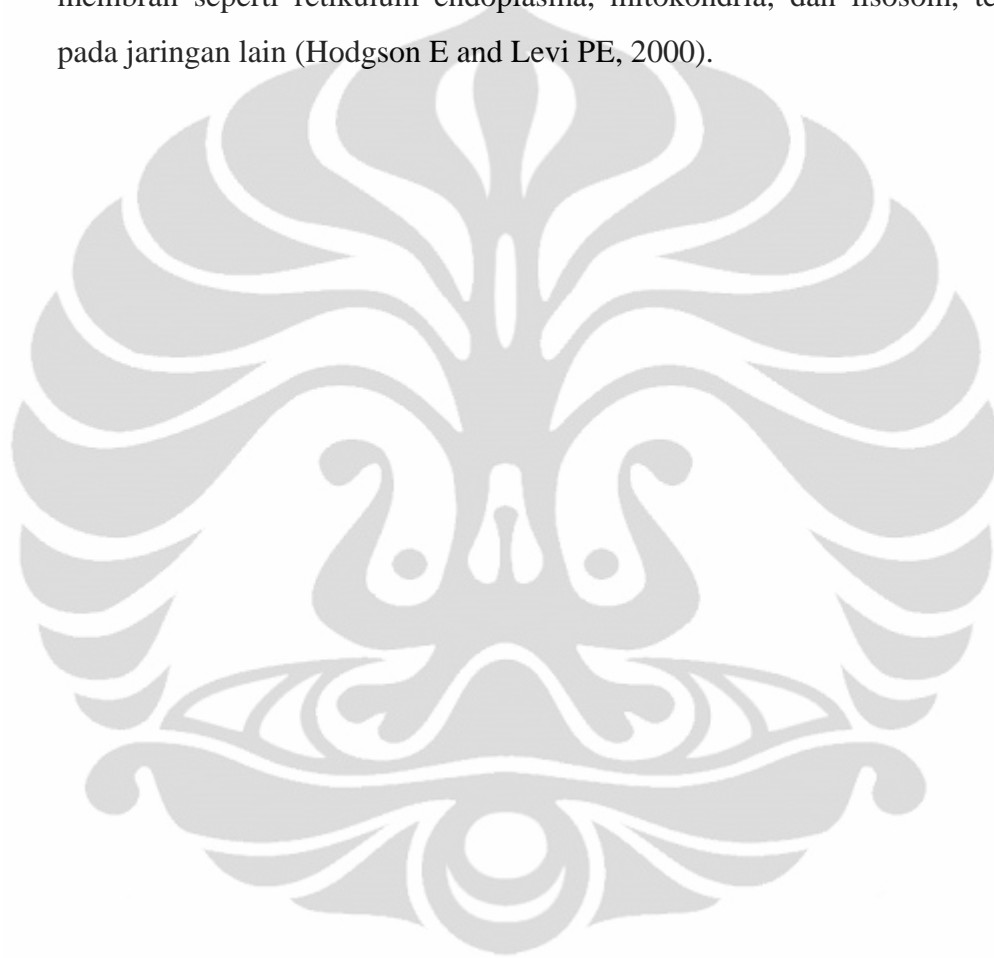
Alkali fosfatase (ALP) adalah kelompok enzim yang bekerja menghidrolisis ester fosfat pada suasana alkali. Aktivitas ALP tertinggi di dalam tubuh terdapat pada sel-sel yang mengalami pembelahan yang cepat. Sel-sel ini terdapat pada jaringan epitel saluran empedu dan hati, serta jaringan tulang, sel-sel epitel usus, jaringan sel tubulus proksimal ginjal, dan plasenta. Normalnya ALP yang berada di dalam hati akan disekresikan ke dalam empedu. Jika terjadi kerusakan atau obstruksi pada hati dan saluran empedu, maka ditandai dengan meningkatnya jumlah ALP dalam darah. Peningkatan ini terjadi akibat ALP tidak mengalir ke dalam empedu, tapi dialirkan ke dalam darah (Ricterich & J.P Colombo, 1981).

2.6 Karbon tetraklorida (CCl₄)

Karbon tetraklorida adalah suatu bahan kimia yang bersifat toksik. Efek toksik pada sel hati telah diketahui dan diteliti selama bertahun-tahun. Karbon tetraklorida digunakan untuk menginduksi kerusakan hati sebagai model untuk mempelajari efek dari bahan atau pengobatan. Efek karbon tetraklorida pada hepatosit tergantung pada dosis dan waktu pemaparan. Kerusakan sel hati akibat pemberian karbon tetraklorida adalah akibat pembentukan radikal bebas, peroksidasi lemak dan penurunan aktivitas enzim-enzim antioksidan (Shahjahan *et al.*, 2004; Halliwell and Gutteridge, 1999).

CCl₄ diaktifkan oleh enzim sitokrom P-450 menjadi radikal bebas yang reaktivitasnya tinggi. Pertama, CCl₄ diubah menjadi bentuk radikal triklorometil (CCl₃^{*}) dan kemudian menjadi radikal triklorometil peroksi (CCl₃O₂^{*}) yang sangat reaktif. Maka dari itu CCl₄ menyebabkan nekrosis yang hebat di dalam

sentrobuler hati yang mengandung isoenzim P-450 dengan konsentrasi tertinggi. Radikal bebas yang dihasilkan akan menyebabkan autooksidasi asam lemak polienoik yang terdapat dalam fosfolipid selaput. Terjadinya dengan cara dekomposisi oksidatif lemak dan terbentuk peroksida lemak setelah bereaksi dengan oksigen. Jadi, pemecahan ini tidak hanya menyebabkan kerusakan pada membran seperti retikulum endoplasma, mitokondria, dan lisosom, tetapi juga pada jaringan lain (Hodgson E and Levi PE, 2000).



BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

3.1 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi dan di Laboratorium Biologi Perkembangan Departemen Biologi FMIPA UI Depok, lebih kurang 3 bulan (Maret sampai Mei 2011)

3.2 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah sonde lambung, spuit (Terumo), pipet Ependorf (Socorex), pH meter (Eutech), sentrifugator (Biofuge 13, Heraeus Sepatech), spektrofotometer single beam (Shimadzu), mikrotom putar (Spencer), *mikroprojector* (Ken-A-Vision), mikroskop medan terang (Nikon SE), timbangan analitik (Ohaus), kuvet semimikro, alat-alat gelas (Pyrex), alat-alat bedah, mikrohematokrit, mikrotube dan penangas air

3.3 Bahan

3.3.1 Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang berumur lebih kurang 2 (dua) bulan dengan berat badan 150 – 200 gram sebanyak 36 ekor. Hewan uji diperoleh dari Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong.

3.3.2 Bahan uji

Akar tapak liman dan daun sambiloto yang dikumpulkan berasal dari BALITTRO (Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik) dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense LIPI, Bogor.

3.3.3 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian antara lain ALT kit/ALAT (Fast), ALP kit (Randox), karbon tetraklorida (Sigma), heparin (Fahrenheit), eter, minyak kelapa (Barco) dan bahan histologis (NaCl 0.9%, asam pikrat jenuh, formalin, asam asetat glasial, alkohol, paraffin cair, albumin telur; gliserin; xilol).

3.4 Cara kerja

3.4.1 Penetapan dosis

Dosis yang digunakan merupakan dosis penelitian terdahulu, dengan dosis akar tapak liman yaitu 0,4g/200gbb (Ariani R, 2007), dan dosis sambiloto yaitu 100 mg/200g bb tikus (Hadi S, 2000). Variasi dosis yang diberikan untuk kombinasi terdapat dalam Tabel 3.1

Tabel 3.1. Perbandingan dosis tapak liman dan sambiloto untuk pemberian kombinasi

Kombinasi	Dosis	
	Tapak Liman	Sambiloto
1	400mg/200gbb	50 mg/200g bb
2	200mg/200gbb	100mg/200g bb

3.4.2 Pembuatan larutan uji dan pereaksi

3.4.2.1 Penyiapan simplisia uji

Akar tanaman tapak liman dan daun sambiloto dipisahkan dari pengotor, kemudian dibersihkan dengan air mengalir, dikeringkan pada udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung selama 7 hari. Pengeringan dilanjutkan dalam oven pada suhu 50°C selama 1 jam, kemudian diserbukkan menggunakan blender (Standard of ASEAN Herbal Medicine, 1993).

3.4.2.2 Pembuatan infusa

Masing-masing serbuk simplisia ditimbang sebanyak 10 g, tambahkan aquadest sebanyak 110 ml. Lalu dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C, kemudian diserka panas-panas menggunakan kain flanel dan dicukupkan volumenya sampai 100 ml dengan mengalirkan air panas ke ampas yang terdapat pada kain flanel. Larutan yang diperoleh adalah infusa akar tapak liman dan infusa daun sambiloto dengan konsentrasi 0.1 g/ml.

3.4.2.3 Pembuatan larutan karbon tetraklorida

Dosis karbon tetraklorida yang digunakan ditetapkan setelah melakukan uji pendahuluan, yaitu 0,40 mg/g bb tikus. Larutan dibuat dengan cara pengenceran menggunakan minyak kelapa untuk meningkatkan absorpsi. Volume pemberian 1 ml per 200 gram berat badan tikus. Pembuatannya dilakukan dengan melarutkan 2,52 ml karbon tetraklorida ke dalam minyak kelapa kemudian dicukupkan volumenya hingga 50 ml. BJ karbon tetraklorida adalah sebesar 1,59 g/ml perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.2.4 Pereaksi ALT plasma (Fast)

Pembuatan reagen ALT plasma :

Pereaksi 1 : Tris buffer, pH 7.50	110 mmol/l
L-alanin	600 mmol/l
LDH	1500 U/l
NADH	240 μ mol/l
Pereaksi 2 : α -ketoglutarat	16 mmol/l

Sebanyak 15 ml pereaksi 2 dicampur dengan 60 ml pereaksi 1. Larutan ini dapat digunakan untuk 3 minggu bila disimpan pada suhu 2⁰-8⁰C.

3.4.2.5 Pereaksi alkali fosfatase (Randox, 2007)

Pereaksi 1 : Larutan dapar dietanolamin 1mol/l, pH 9.8 dan MgCl ₂ 0.5 mmol/l
Pereaksi 2 : substrat (p-Nitrofenilfosfat 10 mmol/l)

Sebanyak 10 ml pereaksi 1 dicampur dengan 1 vial pereaksi 2. Larutan ini dapat digunakan untuk 2 – 3 hari bila disimpan pada suhu 15⁰ – 25⁰ C dan 30 hari bila disimpan pada suhu 2⁰-8⁰C

3.4.3 Pelaksanaan penelitian

Pada penelitian digunakan tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* yang kemudian dibagi secara acak kedalam 6 kelompok perlakuan berdasarkan dengan rumus Federer, yaitu (Federer, 1963) : $(t-1)(n-1) \geq 15$

Dimana t: jumlah kelompok perlakuan
 n: jumlah ulangan tikus

Jumlah kelompok perlakuan yang digunakan adalah 6 ($t=6$), Maka:

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

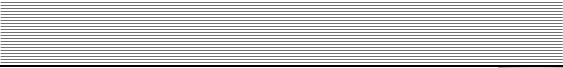
















$$n \geq 4$$

Kelompok I adalah kelompok kontrol normal, kelompok II adalah kelompok kontrol induksi yang diberi karbon tetraklorida (CCl_4), kelompok III adalah kelompok yang diberi infusa akar tapak liman dosis 400 mg/200g bb tikus, kelompok IV adalah kelompok yang diberi infusa daun sambiloto dosis 100 mg/200g bb tikus, kelompok V adalah kelompok yang diberi kombinasi infusa akar tapak liman 400 mg dan daun sambiloto 50 mg, kelompok VI adalah kelompok perlakuan yang diberi kombinasi infusa akar tapak liman 200 mg dan daun sambiloto 100 mg.








Tabel 3.2. Pembagian kelompok hewan uji

No	Kelompok	Perlakuan
I	Kontrol Normal (6 ekor)	Tidak diberi larutan uji.
II	Kontrol induksi (6 ekor)	Diinduksi dengan karbon tetraklorida secara oral.
III	Tapak liman 400 mg/200g bb tikus (6 ekor)	Diberi tapak liman secara oral selama 8 hari, kemudian 2 jam setelah pemberian dosis akhir, diinduksi dengan karbon tetraklorida secara oral.
IV	Sambiloto 100 mg/200g bb tikus (6 ekor)	Diberi sambiloto secara oral selama 8 hari, kemudian 2 jam setelah pemberian dosis akhir, diinduksi dengan karbon tetraklorida secara oral.
V	Tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg (6 ekor)	Diberi kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg secara oral selama 8 hari, kemudian 2 jam setelah pemberian dosis akhir, diinduksi dengan karbon tetraklorida secara oral.
VI	Tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg (6 ekor)	Diberi kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg secara oral selama 8 hari, kemudian 2 jam setelah pemberian dosis akhir, diinduksi dengan karbon tetraklorida secara oral.

Tabel 3.3. Skema percobaan

Kelompok	H a r i									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
I Kontrol normal										
II Kontrol induksi										
III Tapak liman 400 mg										
IV Sambiloto 100 mg										
V Tapak liman 400 mg & sambiloto 50 mg										
VI Tapak liman 200 mg & sambiloto 100 mg										

Keterangan :

-  = Tidak diberi larutan uji
-  = Diberi tapak liman 400 mg/200 g bb tikus secara oral
-  = Diberi daun sambiloto dosis 100 mg/200 g bb tikus secara oral
-  = Diberi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg secara oral
-  = Diberi tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg secara oral
-  = Diberi karbon tetraklorida 0,4 mg / 200 g bb tikus secara oral
-  = Pengambilan darah dan organ hati

3.4.3.1 Pengambilan plasma darah

Pengambilan darah dilakukan melalui mata pada bagian sinus orbital dilakukan pada hari ke - 9 (24 jam setelah pemberian CCl₄). Darah diperlukan untuk pengukuran aktifitas aminotransferase dan alkali fosfatase

Tikus dibius terlebih dahulu dengan eter kemudian ujung tabung mikrohematokrit dimasukkan ke sudut bagian dalam kantung mata, dengan mengarahkan ujungnya pada sudut 45° dari tengah mata. Darah yang keluar ditampung dalam microtube yang telah dioles dengan heparin (Hoff S, 2000).

Darah yang diperoleh, disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama lima menit agar diperoleh plasma. Plasma dimasukkan ke dalam microtube dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu sekitar -4°C.

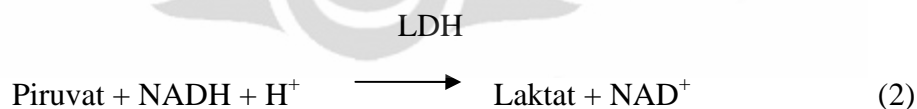
3.4.3.2 Pengambilan organ hati

Pengambilan organ hati tikus dilakukan dengan pembedahan. Sebelum pembedahan tikus dianastesi terlebih dahulu dengan menggunakan eter, lalu diletakan telentang pada papan bedah. Keempat kaki tikus diikat, bagian dada dan perut dibasahi dengan alkohol 70 %, dada dibuka menggunakan gunting bedah. Hati tikus diambil, dimasukkan kedalam gelas kimia berisi NaCl 0,9% untuk menghilangkan darah yang menempel pada jaringan hati, lalu dilakukan prosedur pembuatan sediaan histologis.

3.4.4 Penentuan aktivitas ALT (alanin aminotransferase) plasma

3.4.4.1 Prinsip

Prinsip pada penentuan aktivitas ALT plasma adalah proses pemindahan gugus amino dari alanin ke asam alfa ketoglutarat dengan dikatalisir oleh alanin aminotransferase, sehingga terbentuk senyawa piruvat dan asam glutamat seperti tampak pada persamaan (1). NADH dioksidasi menjadi NAD dengan mereduksi piruvat menjadi laktat oleh *laktat dehidrogenase* (LDH) seperti tampak pada persamaan (2)



Oksidasi NADH ke NAD diukur sebagai penurunan absorbansi yang sebanding dengan aktivitas ALT sampel. Absorbansi yang terbentuk diukur pada panjang gelombang 340 nm.

3.4.4.2 Pengukuran serapan ALT (Aminotransferase)

Ke dalam tiap tabung reaksi, dimasukkan reagen dengan urutan dan volume sebagai berikut:

Tabel 3.4. Prosedur pengukuran aktivitas ALT plasma

Urutan	Penambahan pereaksi	Uji	Blanko
1	Larutan pereaksi Inkubasi pada suhu 25 ⁰ C selama 1 menit	1,0 ml	1,0 ml
2	Aquadest	-	0,2 ml
3	Plasma	0,2 ml	-

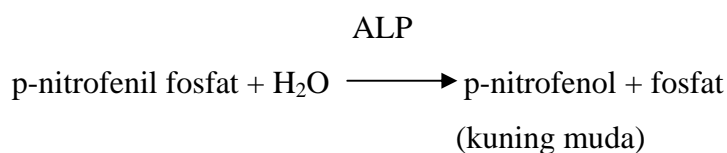
Kemudian sampel diukur serapannya dengan menggunakan kontrol sebagai blankonya. Pengukuran serapan sampel dilakukan pada panjang gelombang 340 nm selama 3 menit dengan mencatat serapan pada menit ke-1 dan ke 3. Penetapan aktivitas alanin aminotransferase dihitung berdasarkan rumus:

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas ALT (U/L) } 25^{\circ}\text{C} &= \Delta A / \text{menit} \times \text{faktor konversi} \\ &= \Delta A / \text{menit} \times 952 \end{aligned}$$

3.4.5 Penentuan aktivitas ALP plasma

3.4.5.1 Prinsip

Prinsip pengukuran ALP adalah berdasarkan pada perubahan p-nitrofenil fosfat menjadi p-nitrofenol dan fosfat yang dikatalisis oleh alkali fosfatase. P-nitrofenol yang terbentuk berwarna kuning dalam larutan alkali kemudian diukur pada panjang gelombang 405 nm selama 3 menit pada suhu 25⁰ C. Perubahan absorbansi persatuan waktu sebanding dengan kecepatan disosiasi substrat yang juga sebanding dengan aktivitas enzim.



3.4.5.2 Pengukuran serapan ALP plasma

Metode pengukuran aktivitas alkali fosfatase adalah sebagai berikut : siapkan dua buah tabung untuk larutan uji dan kontrol, masukkan 20 μ L aquabidest pada tabung kontrol, dan 20 μ L plasma pada tabung larutan uji. Setelah itu pada tabung uji dan tabung kontrol masing-masing dimasukkan 1000 μ L larutan pereaksi.

Tabel 3.5. Prosedur pengukuran aktivitas ALP plasma

Urutan	Penambahan pereaksi	Uji	Blanko
1	Plasma	20 μ l	-
2	Aquadest	-	20 μ l
3	Larutan pereaksi	1000 μ l	1000 μ l

Kemudian sampel diukur serapannya dengan menggunakan kontrol sebagai blankonya. Pengukuran serapan sampel dilakukan pada panjang gelombang 405 nm selama 3 menit dengan mencatat serapan pada menit ke-1 dan menit ke-3. Penetapan aktivitas alkali fosfatase dihasilkan berdasarkan rumus:

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Alkali Fosfatase (U/I)} &= \Delta A / \text{menit} \times \text{faktor konversi} \\ &= \Delta A / \text{menit} \times 2760 \end{aligned}$$

3.4.6 Pembuatan sediaan histologi (Tanzil, 1996; Suntoro, 1983)

3.4.6.1 Fiksasi

Organ hati yang telah dipotong dibersihkan dengan NaCl 0,9% kemudian difiksasi dengan larutan Bouin dan direndam selama 24 jam dalam tempat tertutup rapat. Larutan Bouin terdiri dari:

Asam pikrat jenuh	75 ml
Formalin 4%	25 ml
Asam asetat glasial	5 ml

Kebaikan metode fiksasi ini adalah mempunyai kemampuan untuk penetrasi ke jaringan dengan cepat sehingga jaringan akan terpulas dengan baik. Selain itu, hampir semua macam jaringan dapat terfiksasi dengan baik oleh metode ini. Kemudian dilakukan pencucian dengan menggunakan alkohol 70% yang diganti berkali-kali hingga warna kuning hilang.

3.4.6.2 Dehidrasi dan penjernihan

Dehidrasi dilakukan dengan cara merendam hati dalam alkohol bertingkat, dimulai dengan alkohol persentase rendah. Pertama-tama hati direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam, kemudian dalam alkohol 96% sebanyak dua kali masing-masing selama 1 jam. Selanjutnya, hati direndam dalam alkohol absolut, dua kali masing-masing selama 1 hari direndam dalam benzol sebanyak dua kali masing-masing selama 15 menit. Proses ini dilakukan untuk menarik air dan dehidran lainnya yang terdapat di dalam jaringan agar nantinya seluruh ruang-ruang antar sel dalam jaringan dapat diisi oleh molekul-molekul parafin.

3.4.6.3 Infiltrasi

Jaringan hati yang telah didehidrasi, kemudian direndam dalam parafin cair dalam dua tahap. Pertama, jaringan hati dimasukkan ke dalam parafin I selama 1 jam, kemudian dimasukkan ke dalam parafin II selama 1 jam dalam suatu inkubator atau oven dengan suhu $< 60^{\circ}\text{C}$. Hal ini dimaksudkan agar jaringan

Universitas Indonesia

mendapatkan suatu lingkungan parafin yang betul-betul murni, selain itu untuk mencegah tertahannya sejumlah besar zat penjernih di dalam jaringan, karena akan menyebabkan jaringan menjadi lunak dan sukar diiris. Suhu inkubator ini tidak boleh terlalu tinggi karena kebanyakan enzim menjadi tidak aktif pada suhu 57°C. selain itu waktu yang dibutuhkan untuk memanaskan tidak boleh terlalu lama karena akan menyebabkan jaringan menjadi keras dan sukar diiris.

3.4.6.5 Penanaman (*embedding*)

Jaringan hati yang telah diinfiltrasi dimasukkan ke dalam cetakan berupa kotak-kotak kertas yang berisi parafin cair hingga terendam. Parafin yang digunakan pada penanaman mempunyai titik cair yang sama dengan parafin yang digunakan pada infiltrasi. Kemudian jaringan dibiarkan pada suhu kamar hingga dingin dan membeku. Setelah parafin menjadi keras, maka blok parafin yang berisi jaringan dapat dilepaskan dari kotak kertas. Kelebihan paraffin di sekitar jaringan dipotong dan dirapikan lalu direkatkan pada kayu pemegang dengan pemanasan.

3.4.6.6 Penyayatan (*sectioning*)

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada mikrotom dan pisau mikrotom diatur agar dapat dihasilkan sayatan dengan tebal 6 μm .

3.4.6.7 Penempelan pada gelas objek (*mounting*)

Penempelan dilakukan pada gelas objek bersih yang telah diolesi sedikit albumin Mayer (campuran albumin telur dan gliserin dengan perbandingan 1:1, campuran tersebut ditetesi dengan fenol atau timol agar tidak terjadi penjamuran dan lebih tahan lama) untuk merekatkan jaringan pada gelas objek. Kemudian gelas objek tersebut ditetesi dengan aquades agar sayatan yang akan diletakkan dapat merentang. Sayatan kemudian diletakkan pada gelas objek tersebut dan

dipanaskan di atas parafin stretcher dengan kisaran suhu 45°-50°C sampai jaringan mengembang dengan baik. Proses ini bertujuan untuk merentangkan sayatan jaringan dan merekatkannya pada gelas objek.

3.4.6.8 Melarutkan parafin (*deparaffination*)

Parafin yang melekat disekitar sayatan dapat dihilangkan dengan cara merendam gelas objek didalam larutan xilol selama lebih kurang 15 menit. Jika proses ini tidak sempurna, maka paraffin yang tertinggal di dalam jaringan dapat mengganggu masuknya zat warna ke dalam jaringan, sehingga hasil pewarnaan tidak sesuai yang diharapkan.

3.4.6.9 Hidrasi

Masukkan gelas objek dalam larutan alkohol dengan konsentrasi turun masing-masing selama 3 menit pada alkohol absolut, kemudian alkohol 96%, alkohol 70% dan dicuci dengan air bersih.

3.4.6.10 Pewarnaan (*staining*)

Gelas objek yang telah dihidrasi direndam dalam larutan hematoksilin selama 4 menit. Kemudian gelas objek dicuci dengan air mengalir hingga bagian di luar jaringan bersih dari zat warna. Jika pewarnaan dengan hematosilin telah selesai, jaringan kemudian diwarnai dengan eosin selama 4 menit.

3.4.6.11 Dehidrasi

Gelas objek yang telah melalui proses pewarnaan kemudian direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi menaik yaitu alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, alkohol absolut selama 3 menit, campuran alkohol:xilol (1:1) selama 5 menit.

3.4.6.12 Penjernihan

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

3.4.6.13 Penutupan

Sebelum xilol mengering, tutup dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi dengan canada balsam. Usahakan agar tidak terdapat gelembung udara.

3.4.6.14 Pengamatan mikroskopis preparat histologi hati

Pengamatan dilakukan dengan membandingkan preparat histologis antara hati kelompok kontrol dengan hati kelompok perlakuan. Penilaian kerusakan lobulus hati dilakukan dengan mengukur dua puluh diameter vena sentralis dalam satu preparat menggunakan mikroprojektor dan menghitung persen kerusakan lobulus hati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Derajat kerusakan dibedakan menjadi tiga tingkatan yaitu degenerasi 0% (tanpa kerusakan), degenerasi 20% - 40% (nekrosis sedang) dan degenerasi lebih dari 40% (nekrosis berat).

3.4.7 Pengolahan data

Data diolah secara statistik menggunakan SPSS17.0. Analisis yang digunakan adalah uji distribusi normal (uji *kolmogorov-smirnov*), uji homogenitas (uji *levene*), lalu dilanjutkan dengan analisis varian satu arah, bila terdapat perbedaan secara bermakna, maka uji dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil.

Jika data dinyatakan tidak terdistribusi normal atau homogen, maka dilakukan uji non parametrik dengan uji *Kruskal Wallis*. Bila terdapat perbedaan secara nyata, maka untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Universitas Indonesia

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* sebagai hewan uji. Pemilihan tikus jantan dilakukan dengan pertimbangan bahwa tikus jantan mempunyai sensitivitas yang lebih tinggi terhadap karbon tetraklorida (CCl_4) (Panjaitan *et al.*, 2007) dan tidak dipengaruhi oleh faktor hormonal seperti halnya pada tikus betina. Faktor lain pemilihan hewan ini juga dikarenakan mudah ditangani, mudah dibuat sakit dan di rehabilitasi serta mudah diperoleh dalam jumlah banyak. Sebelum digunakan hewan uji diaklimatisasi selama 2 minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Selama aklimatisasi dilakukan pengamatan terhadap hewan uji meliputi kesehatan dan keadaan umum. Hewan uji yang sehat dapat dilihat melalui perkembangan berat badan yang selalu meningkat, mata jernih, dan bulu tidak berdiri.

Karbon tetraklorida merupakan senyawa kimia yang dapat menimbulkan kerusakan pada hati dengan pemberian dosis rendah. Kerusakan yang ditimbulkan oleh karbon tetraklorida setelah 10-20 jam pemberian adalah terjadinya kerusakan pada mitokondria lalu meningkat menjadi nekrosis sentrilobular pada jangka waktu 24-28 jam berikutnya dan mengakibatkan terjadinya kerusakan pada lobulus hati (Zimmerman, 1999). Kerusakan yang terjadi pada lobulus hati menyebabkan enzim plasma seperti alanin aminotransferase (ALT) meningkat dalam plasma (Lawrence & Parce, 1996; Muray, 2009).

4.1 Hasil pengamatan aktivitas alanin aminotransferase

Hasil rata-rata aktivitas ALT plasma pada tikus setelah perlakuan selama 8 hari dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 3.

Tabel 4.1. Aktivitas rata-rata ALT plasma setelah perlakuan

Kelompok	n	Aktivitas ALT		
		rata-rata	±	SD
I Kontrol normal	6	14.35	±	4.26
II Kontrol induksi	6	53.69	±	10.55
III tapak liman 400 mg/200 g bb	6	28.79	±	10.82
IV Sambiloto 100 mg/200 g bb	6	43.67	±	10.86
V tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg	6	15.29	±	3.47
VI Tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg	6	39.05	±	9.76

Hasil analisis terhadap data aktivitas ALT plasma tikus antar kelompok setelah perlakuan terdistribusi normal dan bervariasi homogen, sehingga analisis dilanjutkan dengan uji anava untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan terhadap data aktivitas ALT plasma pada keenam kelompok perlakuan selama 8 hari, hasil menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($\alpha < 0,05$). Untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil.

Hasil uji beda nyata terkecil menunjukkan bahwa kelompok perlakuan yaitu kelompok IV (Sambiloto 100 mg / 200 g bb tikus) tidak ada perbedaan bermakna dengan kelompok II (Induksi) sehingga dapat dikatakan bahwa kelompok IV memiliki efek hepatoprotektif paling rendah diantara kelompok perlakuan, kelompok V berbeda bermakna dengan kelompok II namun tidak berbeda bermakna terhadap kelompok I (kontrol normal) sehingga kelompok V dapat dikatakan sebagai kelompok yang memiliki efek hepatoprotektif yang paling baik, sedangkan kelompok III dan VI terjadi perbedaan yang bermakna terhadap kelompok II dan

Universitas Indonesia

Kelompok I sehingga dapat dikatakan bahwa kelompok III dan VI masih memiliki efek hepatoprotektif walaupun tidak sebaik pada kelompok V hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 9.

Penurunan aktivitas ALT plasma pada kelompok V (kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg) kemungkinan disebabkan adanya efek sinergis dari masing-masing simplisia yang mengandung senyawa yang dapat menghambat peningkatan aktivitas ALT plasma akibat induksi karbon tetraklorida.

4.2 Hasil pengamatan aktivitas alkali fosfatase

Penentuan aktivitas alkali fosfatase (ALP) dilakukan secara kolorimetri menggunakan pereaksi randox. Alkali fosfatase akan mengkatalisir perubahan p-nitrofenilfosfat menjadi p-nitrofenol dan fosfat selama tiga menit. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 405 nm.

Hasil rata-rata aktivitas ALP plasma pada tikus setelah perlakuan selama 8 hari dapat dilihat pada Tabel 2. dan Gambar 4.

Tabel 4.2. Aktivitas rata-rata ALP plasma setelah perlakuan

Kelompok	n	Aktivitas ALP		
		rata-rata	±	SD
I Kontrol normal	6	194.41	±	38.62
II Kontrol induksi	6	279.29	±	41.12
III tapak liman 400 mg/200 g bb	6	211.89	±	48.79
IV Sambiloto 100 mg/200 g bb	6	213.63	±	46.69
V tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg	6	202.59	±	49.20
VI Tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg	6	206.32	±	52.79

Berdasarkan nilai rata-rata aktivitas ALP plasma dapat diurutkan nilai aktivitas yang terkecil hingga yang terbesar pada setiap kelompok secara berturut-turut adalah kelompok kontrol normal, kelompok kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg, kombinasi tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg, kelompok tapak liman 400 mg/200g bb tikus, dan kelompok sambiloto 100 mg/200 g bb tikus. Nilai aktivitas rata-rata ALP plasma kelompok perlakuan kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg paling mendekati nilai aktivitas rata-rata ALP plasma kelompok kontrol normal dibandingkan dengan nilai aktivitas ALP plasma rata-rata kelompok lainnya, yang kemudian diikuti oleh kelompok kombinasi tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil analisis terhadap data aktivitas ALP plasma tikus antar kelompok setelah perlakuan terdistribusi normal dan bervariasi homogen, sehingga analisis dilanjutkan dengan uji anava untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan terhadap data aktivitas ALP plasma pada keenam kelompok perlakuan selama 8 hari, hasil menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($\alpha < 0,05$). Untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil.

Hasil uji beda nyata terkecil menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan terdapat perbedaan bermakna terhadap kelompok II (induksi). Keempat kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap kelompok I (normal), hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 12.

Hal ini di mungkinkan karena kerusakan hati yang ditandai dengan peningkatan aktivitas ALP plasma tidak terdistribusi terhadap kerusakan empedu.

4.3 Histologi hati tikus setelah perlakuan

4.3.1 Hasil pemeriksaan secara kuantitatif

Pemeriksaan secara kuantitatif dilakukan dengan cara mengukur diameter vena sentralis. Hasil rata-rata diameter vena sentralis hati tikus putih jantan setelah masa perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3. dan Gambar 5.

Tabel 4.3. Diameter rata-rata vena sentralis tikus jantan setelah perlakuan

Kelompok	n	Diameter vena sentralis (μm)		
		rata-rata	\pm	SD
I Kontrol normal	6	54.75	\pm	3.00
II Kontrol induksi	6	82.50	\pm	5.30
III tapak liman 400 mg/200 g bb	6	74.08	\pm	7.65
IV Sambiloto 100 mg/200 g bb	6	77.15	\pm	6.12
V tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg	6	64.97	\pm	5.37
VI Tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg	6	68.08	\pm	7.48

Hasil analisis terhadap data diameter vena sentralis antar kelompok setelah perlakuan terdistribusi normal dan bervariasi homogen, sehingga analisis dilanjutkan dengan uji anava untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan terhadap data diameter vena sentralis pada keenam kelompok perlakuan selama 8 hari, hasil menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($\alpha < 0,05$). Untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil.

Hasil uji beda nyata terkecil menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan berbeda bermakna dengan kelompok I (normal). Pada kelompok perlakuan yaitu kelompok IV tidak berbeda bermakna terhadap kelompok II (induksi) sehingga dapat dikatakan bahwa kelompok IV memiliki efek hepatoprotektif paling rendah dibandingkan kelompok perlakuan lain. Kelompok III, V, dan VI berbeda bermakna terhadap kelompok I dan Kelompok II, sehingga dapat dikatakan kelompok perlakuan ini masih memiliki efek hepatoprotektif yang lebih baik di bandingkan kelompok IV hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 13.

4.3.2 Hasil pengamatan secara kualitatif

Pemeriksaan histologi hati secara kualitatif dilakukan dengan menghitung persen kerusakan lobulus hati. hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4.4. Derajat kerusakan hati rata-rata tikus setelah perlakuan

Kelompok	n	Derajat kerusakan hati (%)		
		0%	20%-40%	> 40 %
I Kontrol normal	6	100.00	0.00	0.00
II Kontrol induksi	6	13.33	49.17	37.50
III tapak liman 400 mg/200 g bb	6	60.83	29.17	10.00
IV Sambiloto 100 mg/200 g bb	6	40.83	45.00	14.17
V tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg	6	67.50	26.67	5.83
VI Tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg	6	59.17	33.33	7.50

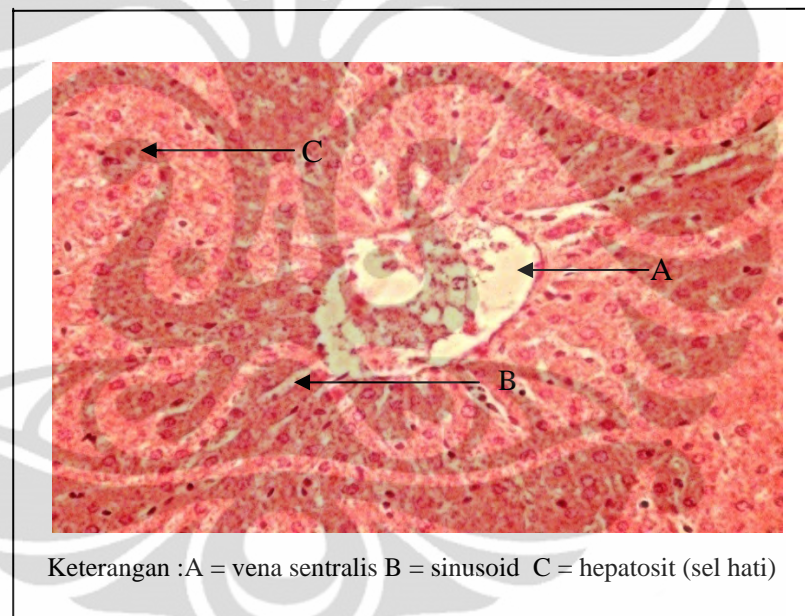
Berdasarkan persentase rata-rata kerusakan ringan (derajat kerusakan 1) pada kelompok kontrol normal diperoleh hasil 100 %, yang berarti tidak adanya kerusakan pada derajat 2 dan 3. Persentase tersebut menunjukkan keadaan lobulus hati yang hampir normal atau dapat dikatakan tanpa kerusakan sesuai pernyataan Lesson, Thomas, & Paparo.(1996) dan Evelyn CP (2008), yaitu sel hati berbentuk polyhedral, memiliki satu atau dua inti berbentuk bulat atau lonjong, dan memiliki batas-batas sel yang terlihat jelas (Gambar 4.5.).

Kelompok kontrol induksi merupakan kelompok yang mendapat induksi karbon tetraklorida sehingga dapat menunjukkan gambaran kerusakan hati (Gambar 4.6.). Kelompok kontrol normal dan induksi dapat dijadikan pembandingan terhadap penilaian ada tidaknya proses perbaikan sel-sel hati (efek hepatoprotektif).

Pada kelompok kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg, memiliki kerusakan derajat 1 (67.50 %) paling besar dan derajat kerusakan 3 (5.83 %) paling kecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Kerusakan derajat 3 pada kelompok ini jauh berkurang dibandingkan dengan kelompok kontrol induksi. Sel hati di daerah sekitar vena sentralis (daerah sentrolobbular) mulai terbentuk setelah mengalami kerusakan (Gambar 4.7.). Kelompok kombinasi tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg memiliki derajat kerusakan 3 sebesar 7.50 % dan derajat kerusakan 1 sebesar 59.17 % jika dibandingkan dengan kelompok induksi, maka kelompok kombinasi tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg sudah mengalami perbaikan. Perbaikan sel-sel hati pada kelompok kombinasi ini ditunjukkan dengan meningkatnya kerusakan derajat 1 dan menurunnya kerusakan derajat 3 dibandingkan dengan kontrol induksi (Gambar 4.8.).

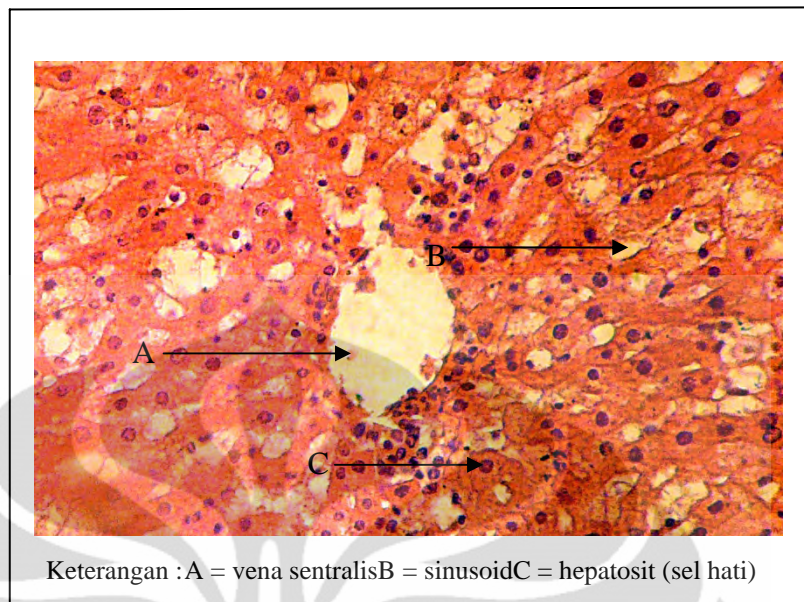
Pada gambaran histologis hati tikus dapat dilihat adanya vena sentralis, sel-sel hati (hepatosit), dan sinusoid yang menyebar dari perifer ke vena sentralis. Gambaran histologis pada kelompok normal dapat dilihat pada Gambar 4.5. kerusakan terbesar adalah pada kelompok induksi yang

terjadi akibat pemberian dosis toksik karbon tetraklorida (0,4 ml/kgbb) seperti yang dapat dilihat pada Gambar 4.6. Gambar tersebut menunjukkan adanya perubahan struktur mikroanatomi hati tikus, dapat dilihat perbedaan yang cukup signifikan antara kelompok normal dengan kelompok induksi. Pada kelompok kombinasi sudah mulai terjadi perbaikan mikroanatomi hati seperti terlihat pada Gambar 4.7 dan Gambar 4.8, sedangkan pada kelompok dosis tunggal tapak liman dan sambiloto masih ada perlemakan atau belum terjadi perbaikan seperti pada kelompok kombinasi seperti terlihat pada Gambar 4.9 dan Gambar 4.10.

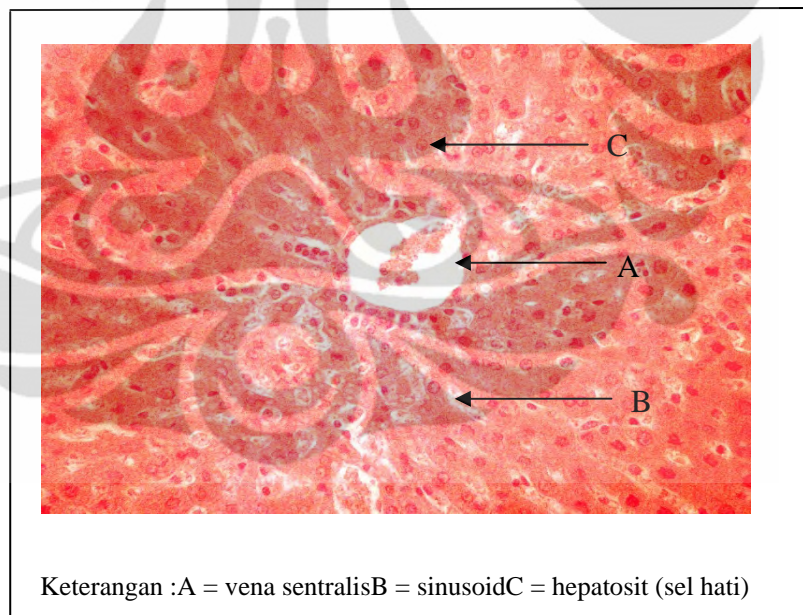


Keterangan :A = vena sentralis B = sinusoid C = hepatosit (sel hati)

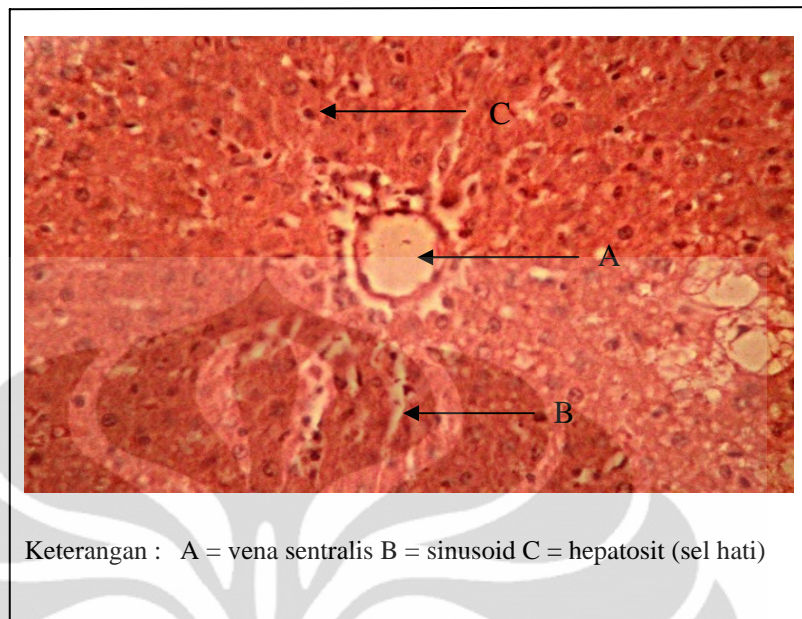
Gambar 4.1. Gambaran histologis hati tikus kelompok normal setelah diberi perlakuan selama 8 hari. Perbesaran 10 x 40



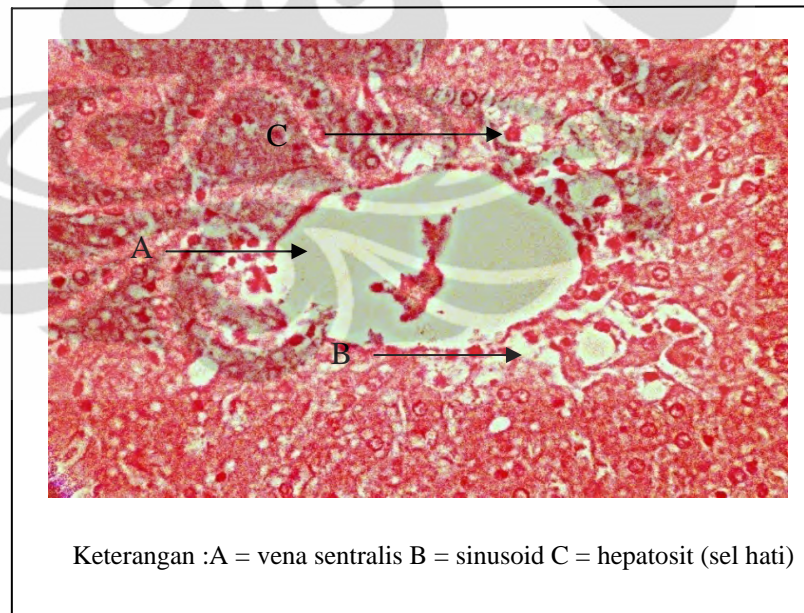
Gambar 4.2. Gambaran histologis hati tikus kelompok induksi setelah diberi perlakuan selama 8 hari. Perbesaran 10 x 40



Gambar 4.3. Gambaran histologis hati tikus kelompok kombinasi tapak liman 400 mg dan sambiloto 50 mg setelah diberi perlakuan selama 8 hari. Perbesaran 10 x 40



Gambar 4.4. Gambaran histologis hati tikus kelompok kombinasi tapak liman 200 mg dan sambiloto 100 mg setelah diberi perlakuan selama 8 hari. Perbesaran 10 x 40



Gambar 4.5. Gambaran histologis hati tikus kelompok infusa akar tapak liman setelah diberi perlakuan selama 8 hari. Perbesaran 10x40



Gambar 4.6. Gambaran histologis hati tikus kelompok infusa daun sambiloto setelah diberi perlakuan selama 8 hari. Perbesaran 10 x 40

Penurunan aktivitas ALT dan ALP plasma pada kelompok kombinasi, terutama kombinasi akar tapak liman 400 mg/200 g bb tikus dan sambiloto 50 mg /200 g bb tikus, disebabkan adanya efek sinergis dari masing masing simplisia yang mengandung senyawa yang dapat menghambat kerusakan jaringan hati akibat induksi karbon tetraklorida. Adapun kemungkinan senyawa yang terdapat dalam akar tapak liman dan daun sambiloto adalah flavonoid. Pada penelitian Yerizal, Oenzil, dan Endrinaldi (1998), didapat hasil pemberian flavonoid 100 mg/kg bb menyebabkan penurunan aktivitas enzim ALT plasma dan menghambat kerusakan hepar tikus akibat pemberian karbon tetraklorida. Aktivitas sebagai antioksidan yang dimiliki oleh sebagian besar flavonoid disebabkan oleh adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya juga melalui daya tangkap terhadap radikal bebas. Gambaran histologi hati pada kelompok perlakuan mendukung hasil pemeriksaan aktivitas ALT dan ALP plasma.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian kombinasi infusa akar tapak liman dan daun sambiloto memiliki efek hepatoprotektif ditinjau dari aktivitas ALT, ALP plasma dan gambaran histologi hati tikus putih jantan yang diinduksi karbon tetraklorida.

Dosis kombinasi dengan hasil yang paling mendekati kontrol normal adalah kombinasi akar tapak liman 400 mg/200 g bb dan sambiloto 50 mg/200 g bb.

5.2 Saran

Penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan menggunakan variasi dosis kombinasi dan lama waktu pemberian infusa akar tapak liman dan daun sambiloto untuk mengetahui dosis dan lama waktu pemberian yang optimal dari infusa akar tapak liman dan daun sambiloto sebagai hepatoprotektor.

Penelitian lanjutan perlu dilakukan terhadap senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam akar tapak liman dan daun sambiloto yang berpotensi sebagai hepatoprotektor.

DAFTAR ACUAN

- Ariani, R. (2003). *Efek Hepatoprotektif Rebusan Akar tapak Liman Ditinjau dari Aktivitas ALT Plasma dan Kadar Peroksida lipid pada hati serta plasma Tikus Putih Jantan yang diinduksi dengan Karbon tetraklorida*. Skripsi Sarjan Jurusan Farmasi UI, Depok, 16, 36.
- Dalimartha, S. (2003). Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3. Trubus Agriwidya. Jakarta, 154-155.
- Dalimartha, S. (2005). *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar*. Jakarta : Niaga swadaya, 40.
- Dellman, H. D. and Brown, E. M. (1992). *Buku Teks Histologi Veteriner II Ed ke-3*. Terj.dari Textbook of Veterinary Histology, oleh Hartono, R. & S.S. Juwono. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta, 399.
- Evelyn, C. P. (2008). *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta : Gramedia, 201-209.
- Federer, W.Y. (1963). *Experimental Design, Theory and Application*. New York, Mac. Millon, p:544. *Dalam: Anraini, Dwi Rita. (2008). Tesis Magister Kesehatan Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Tikus Akibat Pemberian Plumbum Asetat*. Medan: USU e-Repository, 8-13.
- Gibson, J. (2002). *Fisiologi dan anatomi Modern untuk perawat*. Alih bahasa: Bertha sugiaro. edisi 2. Jakarta, 207-215.
- Guyton, C. A. (1992). *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Edisi ke 3. Jakarta: EGC, 1093-1110.
- Hadi, S. (2000). *Hepatologi*. Bandung : Penerbit Mandar Maju, 193.
- Halliwell, B., and Gutteridge J.M.C. (1999) Free radicals,'reactive species' and toxicology. In: *Free radicals in biology and medicine*.3rd ed., Chapter 8. Oxford University Press, 544 – 552.
- Hodgson, E., and Levi, P.E. (2000). *Text Book Of Modern Toxicology 2nd ed*. Mc Graw Hill, North Carolina, 119-123.

- Hoff, S. (2000). Methods of Blood Collection in The Mouse. *Lab Animal*. Vol.29, No.10, 50-51.
- Husadha, Y. (1996). Fisiologi dan Pemeriksaan Hati, Dalam : *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid I Edisi ketiga. Balai Penerbit FKUI. Jakarta, 224-226.
- Jones, S. B., and Luchsinger, A. E. (1987). *Plant Systematics 2nd ed.* Mcgraw-Hill Book Company, Singapore, 477-481.
- Junqueira, L., Carneiro, C.J., and Kelly, R.O. (1997). *Histologi dasar*. Terj.dari Basic histology, oleh Tambajong, J. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 323.
- Kadar, V.R. (2009). Peningkatan Kadar Andrografolid dari Kultur Sel *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wallich ex Nees Melalui Teknik Amobilisasi Sel Dalam Bioreaktor. Bandung : Program Studi Magister Bioteknologi SITH. Tesis, 6-13.
- Kamba, V. (1995). *Anti Hepatotoksik Infus Akar Tapak liman (Elephantopus scaber linn) pada Tikus yang diberi CCl4*. Skripsi Sarjana Jurusan Farmasi UI, Depok, 8.
- Lawrence, A. K., and Amadeon, J. P. (1996). *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. Third edition, Mosby Year Book Inc, Philadelphia, 484, 502, 506-516.
- Lesson, C.R., Thomas, S.L., and Paparo, A.A. (1996). *Buku Ajar Histologi*. Edisi VI. Terj. Dari *Text Book of Histology*, oleh J. Tambayong, Sugito WV. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 383, 391, 264-266.
- Linawati, Y., Apriyanto, A., Susanti, E., Wijayanti, I. dan Donatus, A. (2003). Efek hepatoprotektif Rebusan herba putri-malu (*Mimmosa pigra* L.) pada tikus terangsang parasetamol. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 2007-217.
- Lu CF. (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. Jakarta: UI Press, 210, 212 .

- Murray, K. R., Daryl, K. G., and Victor, W. R. (2009). *Biokimia Harper*. (Ed. ke-27). Terj.dari: *Harpers Biochemistry*. Alih bahasa: Andry Hartono. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 308,349.
- Muchlisah, F. (2007). *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta : Penebar Swadaya, 63.
- Panjaitan, R. GP., Handharyani, ., Chairul., Masriani., Zakiah, Z., Manalu, W. (2007). *Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus*. *Makara, kesehatan*, vol. 11, no. 1,11-16.
- Pratiwi, D.C. (1996). *Efek Hepatoprotektif Infus daun dan Infus Akar Tapak liman (Elephantopus scaber Linn) pada Tikus yang diberi CCl4*. Skripsi Sarjana Jurusan Farmasi UI, Depok, 8.
- Price, S.A. and Wilson, L.M. (2005). *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 472, 475 – 477.
- Randox. *Prosedur Kerja reagen Kit alkaline Phosphatase randox*. (2007). Randox, United kingdom, 1- 2.
- Reitman, S.,and Frankel, S. (1957). A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases.*Am. J. Clin. Volume 28, 56-62*.
- Richterich, R. and Colombo, J.P. (1981). *Clinical Chemistry, Theory, Practice, and Interpretation*, John Wiley & Sons, Chichester, 606-687.
- Syamsuhidayat, S.S., Hutapea, J.R. (1991). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid IV*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI.
- Syamsuhidayat S.S., Hutapea, J.R. (1994). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid V*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI.
- Sari, W. (2008). *Care Your Self : Hepatitis*. Jakarta : penebar plus, 12, 27-28
- Sastroamidjojo, S. (1988). *Obat Asli Indonesia*. Pustaka Universitas No 10 : Dian Rakyat, 460-461, 524-525.

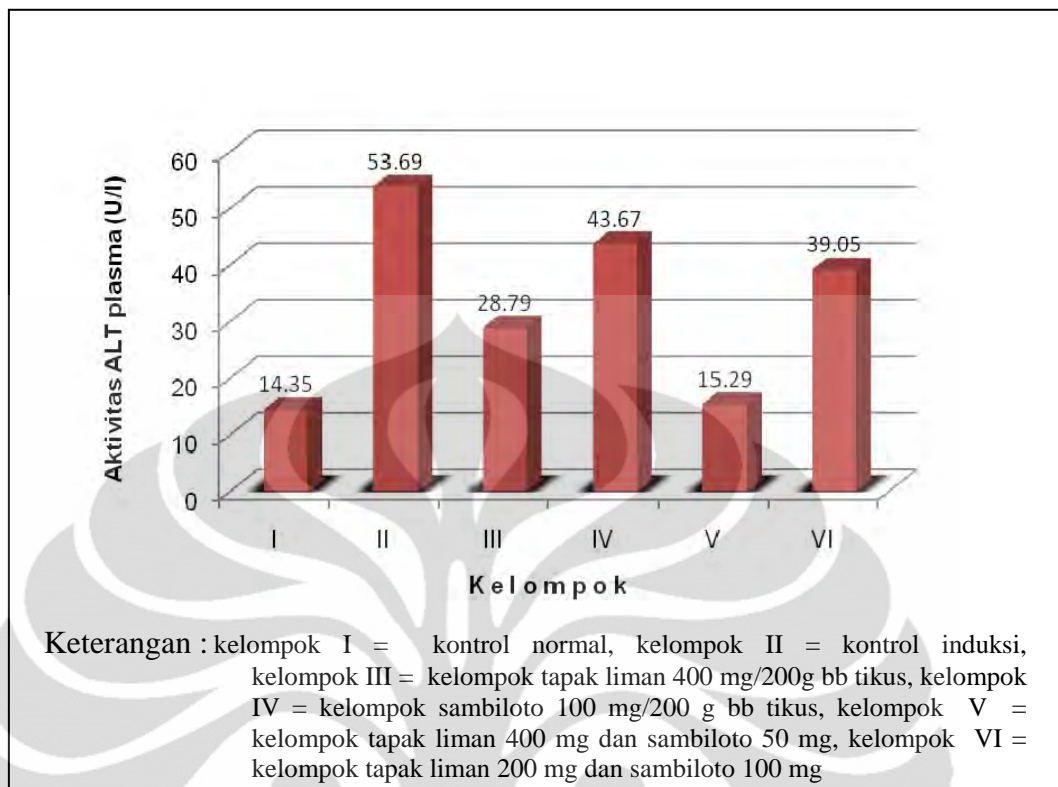
- Shahjahan, M., Sabitha K.E., Jainu M., Devi C.S.S. (2004). *Effect of Solanum trilobatum against carbon tetrachloride induced hepatic damage in albino rats. Ind.J. Pharmacol.* Vol 36, 194 -198.
- Sloane, E. (2003). *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. Alih Bahasa : James Veldmaan. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 291-292
- Standard of ASEAN Herbal Medicine, Volume I.* (1993). Jakarta: ASEAN Countries, 521.
- Suntoro, S. H. (1983). *Metode Pewarnaan (Histologi & Histokimia)*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara, 48-76.
- Tanzil, R. (1996). *Berbagai Masalah Pembuatan Sediaan Histologi*. Jakarta: Bagian Histologi FKUI, 7-8, 16-17, 21-24, 29-30.
- Widyawati, T. (2007). *Aspek Farmakologi Sambiloto (Andrographis paniculata Nees)*. Majalah Kedokteran Nusantara Volume 40. No.3, 216-220.
- Zimmerman, H.J. (1999). *Hepatotoxicity :The Adverse Effects of Drugs and Other Chemicals on The Liver* 2nd ed. Lippincott Williams and wilkins. Philadelphia , 229, 233, &240.



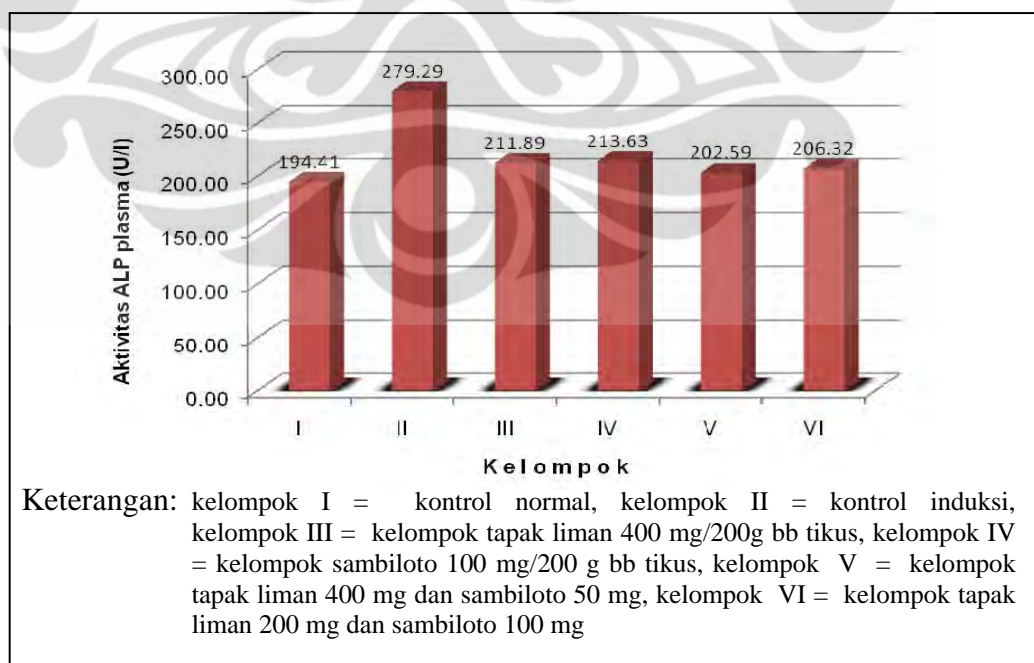
Gambar 1. Tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)



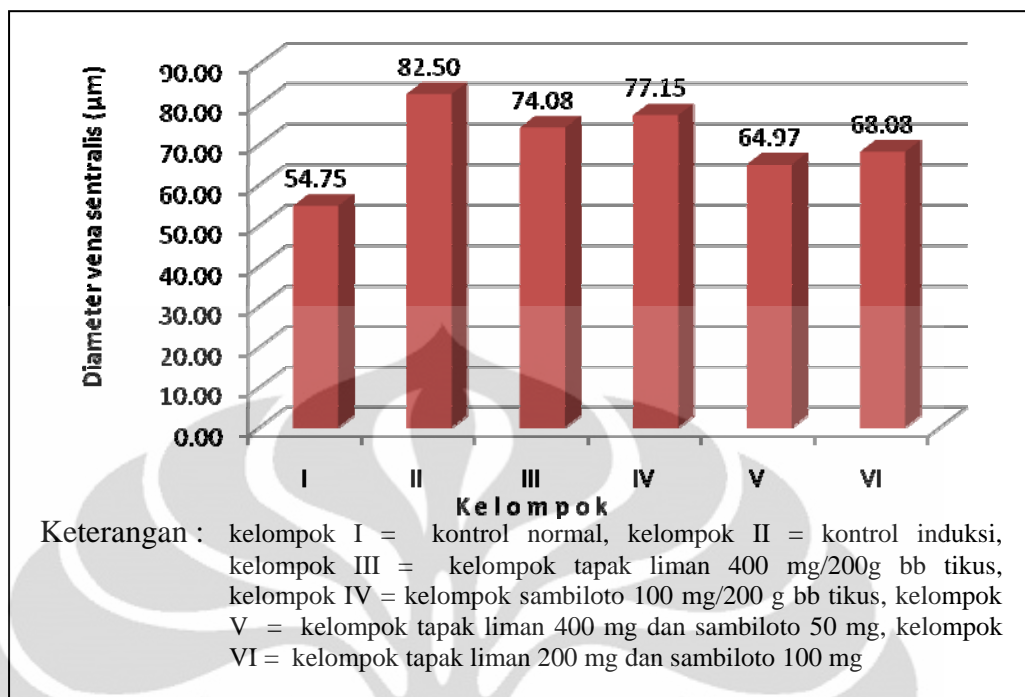
Gambar 2. Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)



Gambar 3. Diagram rata-rata aktivitas ALT plasma tikus putih jantan setelah perlakuan



Gambar 4. Diagram rata-rata aktivitas ALP plasma tikus putih jantan setelah perlakuan



Gambar 5. Diagram rata-rata diameter vena sentralis tikus putih jantan setelah perlakuan

Tabel 1. Aktivitas ALT plasma tikus setelah perlakuan selama 8 hari

Kelompok	Serapan Menit		Aktivitas (U/I)		
	ke-1	ke-3	ALT Plasma	rata-rata \pm SD	
I Kontrol normal	0,064	0,032	10,083	14,35	\pm 4,26
	0,073	0,036	11,536		
	0,090	0,045	14,261		
	0,076	0,038	11,990		
	0,137	0,069	21,737		
	0,104	0,052	16,501		
II Kontrol induksi	0,408	0,204	64,767	53,69	\pm 10,55
	0,238	0,119	37,697		
	0,301	0,150	47,689		
	0,411	0,206	65,221		
	0,323	0,162	51,249		
	0,350	0,175	55,533		
III Tapak liman 400 mg / 200 g bb tikus	0,092	0,046	14,534	28,79	\pm 10,82
	0,105	0,053	16,714		
	0,264	0,132	41,888		
	0,217	0,108	34,395		
	0,215	0,108	34,113		
	0,196	0,098	31,083		
IV Sambiloto 100 mg / 200 g bb tikus	0,294	0,147	46,599	43,67	\pm 10,86
	0,240	0,120	38,151		
	0,311	0,155	49,324		
	0,286	0,143	45,418		
	0,160	0,080	25,387		
	0,360	0,180	57,120		
V Tapak liman 400 dan sambiloto 50	0,084	0,042	13,262	15,29	\pm 3,47
	0,128	0,064	20,257		
	0,080	0,040	12,626		
	0,070	0,035	11,173		
	0,107	0,054	16,977		
	0,110	0,055	17,453		
VI Tapak liman 200 dan sambiloto 100	0,268	0,134	42,512	39,05	\pm 9,76
	0,129	0,065	20,529		
	0,248	0,124	39,423		
	0,312	0,156	49,506		
	0,267	0,134	42,364		
	0,252	0,126	39,984		

Tabel 2. Aktivitas ALP plasma setelah masa perlakuan

Kelompok	Serapan Menit		Aktivitas (U/I)	
	ke-1	ke-3	ALP Plasma	rata-rata \pm SD
I Kontrol normal	0,299	0,498	182,953	194,41 \pm 38,62
	0,219	0,438	201,662	
	0,164	0,329	151,133	
	0,397	0,593	180,859	
	0,185	0,474	265,880	
	0,134	0,334	184,000	
II Kontrol induksi	0,319	0,639	293,844	279,29 \pm 41,12
	0,382	0,765	351,782	
	0,293	0,587	269,883	
	0,287	0,575	264,379	
	0,105	0,395	266,800	
	0,259	0,508	229,080	
III Tapak liman 400 mg / 200 g bb tikus	0,275	0,551	253,392	211,89 \pm 48,79
	0,197	0,394	181,240	
	0,205	0,509	280,370	
	0,186	0,371	170,873	
	0,130	0,304	160,080	
	0,228	0,473	225,400	
IV Sambiloto 100 mg / 200 g bb tikus	0,408	0,592	168,937	213,63 \pm 46,69
	0,176	0,352	162,120	
	0,208	0,416	191,544	
	0,304	0,608	279,836	
	0,198	0,455	236,440	
	0,195	0,459	242,880	
V Tapak liman 400 dan sambiloto 50	0,257	0,514	236,549	202,59 \pm 49,20
	0,163	0,325	149,664	
	0,239	0,478	220,099	
	0,150	0,300	138,159	
	0,390	0,676	263,120	
	0,291	0,517	207,920	
VI Tapak liman 200 dan sambiloto 100	0,132	0,424	268,806	206,32 \pm 52,79
	0,423	0,545	112,923	
	0,143	0,366	205,221	
	0,414	0,627	196,502	
	0,130	0,363	214,360	
	0,242	0,503	240,120	

Tabel 3. Diameter vena sentralis tikus putih jantan setelah perlakuan

Ulangan	I (μm)	II (μm)	III (μm)	IV (μm)	V (μm)	VI (μm)
1	59.82	78.71	83.89	70.98	66.30	81.92
2	56.03	86.07	70.22	83.26	68.71	67.86
3	52.14	77.23	76.47	83.71	68.08	65.85
4	55.18	82.73	81.39	80.13	69.07	68.53
5	53.62	91.12	66.61	75.19	55.18	64.73
6	51.70	79.15	65.90	69.64	62.50	59.60
Σ	328.49	495.00	444.48	462.91	389.84	408.48
\times	54.75	82.50	74.08	77.15	64.97	68.08
SD	3.00	5.30	7.65	6.12	5.37	7.48

Keterangan

Kelompok I = Kontrol normal

Kelompok II = Kontrol induksi

Kelompok III = Tapak liman 400 mg / 200 g bb tikus

Kelompok IV = Sambiloto 100 mg / 200 g bb tikus

Kelompok V = Tapak liman 400 mg/200 g bb dan sambiloto 50 mg/200 g bb

Kelompok VI = Tapak liman 100 mg/200 g bb dan sambiloto 100 mg/200 g bb

Tabel 4. Persentase kerusakan sel hati tikus setelah perlakuan

Ulangan	Degenerasi	I (%)	II (%)	III (%)	IV (%)	V (%)	VI (%)
1	0%	100	10	45	50	50	80
	20-40 %	0	45	40	40	40	20
	> 40 %	0	45	15	10	10	0
2	0%	100	15	50	15	90	100
	20-40 %	0	60	40	50	10	0
	> 40 %	0	25	10	35	0	0
3	0%	100	10	100	40	85	35
	20-40 %	0	40	0	50	15	60
	> 40 %	0	50	0	10	0	5
4	0%	100	15	15	45	65	75
	20-40 %	0	45	60	55	25	20
	> 40 %	0	40	25	0	10	5
5	0%	100	15	100	65	85	45
	20-40 %	0	50	0	35	15	40
	> 40 %	0	35	0	0	0	15
6	0%	100	15	55	30	30	20
	20-40 %	0	55	35	40	55	60
	> 40 %	0	30	10	30	15	20
Rata-rata	0%	100.00	13.33	60.83	40.83	67.50	59.17
	20-40 %	0.00	49.17	29.17	45.00	26.67	33.33
	> 40 %	0.00	37.50	10.00	14.17	5.83	7.50

Keterangan

Kelompok I = Kontrol normal

Kelompok II = Kontrol induksi


Kelompok III = Kelompok tapak liman 400 mg/200g bb tikus

Kelompok IV = Kelompok sambiloto 100 mg/200 g bb tikus

Kelompok V = Kelompok tapak liman 400 mg/200 g bbdan sambiloto 50 mg/200 g bb

Kelompok VI = Kelompok tapak liman 200 mg/200 g bb dan sambiloto 100 mg/200 g bb

Lampiran 1. Hasil identifikasi/determinasi



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 28 Maret 2011

Nomor : 382/IPH.1.02/II.8/III/2011
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Ida Lestari Juwita
Mhs. Univ. Indonesia


Dengan hormat,


Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Akar Tapak Liman	<i>Elephantopus scaber</i> L.	Asteraceae
2	Daun Sambaloto	<i>Andrographis paniculata</i> Nees	Acanthaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


Prof. Dr. Eko Baroto Wahujo
NIP. 195111041975011001



E:\Ident 2011\Ida Lestari Juwita.doc\JJA-SP

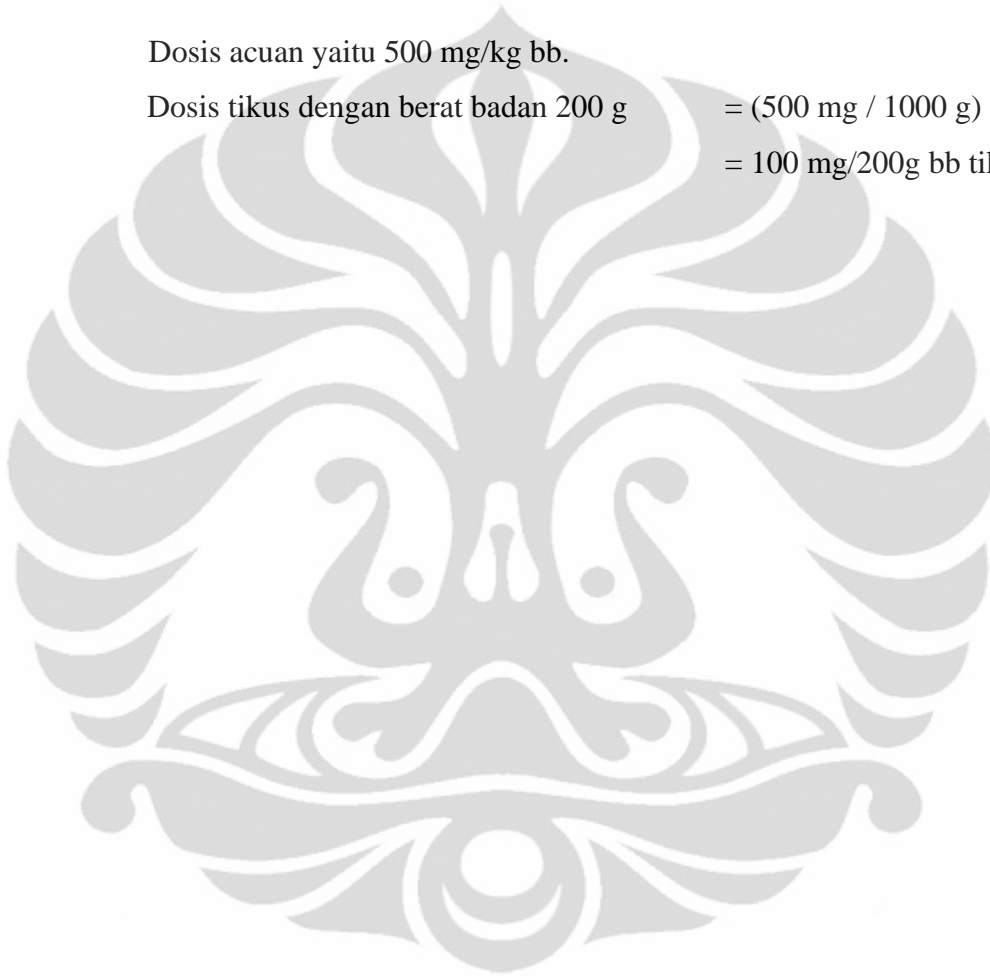
Page 1 of 1

Lampiran 2. Perhitungan dosis daun sambiloto

Dosis sambiloto yang digunakan merupakan dosis dari hasil penelitian terdahulu yang dapat mencegah kenaikan aktivitas ALT plasma yaitu sebesar 500 mg/kg bb (Hadi S, 2000).

Dosis acuan yaitu 500 mg/kg bb.

Dosis tikus dengan berat badan 200 g = (500 mg / 1000 g) x 200 g
= 100 mg/200g bb tikus



Lampiran 3. Perhitungan pemberian infusa bahan uji

Masing-masing serbuk simplisia ditimbang sebanyak 10 g, tambahkan air sebanyak 110 ml pada masing-masing simplisia. Lalu dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit dihitung ketika suhu mencapai 90⁰C, kemudian diserka panas – panas menggunakan kain flannel dan dicukupkan volumenya sampai 100 ml dengan mengalirkan air panas ke ampas yang terdapat pada kain flannel. Larutan yang diperoleh adalah infusa akar tapak liman dan infusa daun sambiloto dengan konsentrasi 0.1 g/ml. Pembuatan infusa dilakuan setiap dua hari sekali selama masa perlakuan.

Untuk dosis infusa akar tapak liman, dengan pemberian 4 ml/200 g bb tikus, jika berat badan tikus 173,2 g berarti infusa akar tapak liman yang diberikan :

$$(173,2 \text{ g} / 200\text{g}) \times 4 \text{ ml} = 3,5 \text{ ml}$$

Untuk dosis infusa daun sambiloto, dengan pemberian 1 ml/ 200 g bb tikus, jika berat badan tikus 173,2 g berarti infusa daun sambiloto yang diberikan :

$$(173,2 \text{ g} / 200 \text{ g}) \times 1 \text{ ml} = 0.9 \text{ ml}$$

Lampiran 4. Pengenceran karbon tetraklorida dalam minyak kelapa

Berat jenis karbon tetraklorida = 1,59 g/ml

Tikus dengan berat badan 200 g akan diberi larutan karbon tetraklorida dosis 0,4 mg/g bb sebanyak 1 ml.

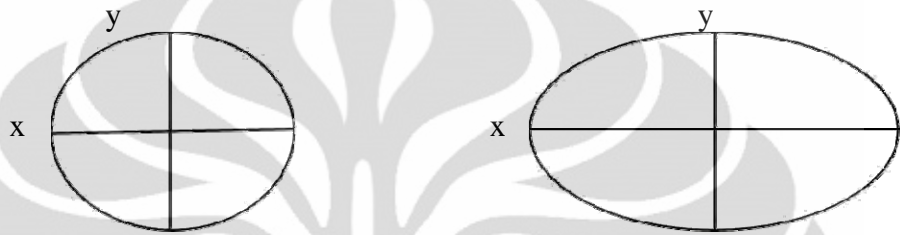
$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk tikus dengan berat badan 200 g} &= 0,4 \text{ mg/g bb} \times 200 \text{ g} \\ &= 80 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Karbon tetraklorida yang di butuhkan dalam membuat 50 ml larutan CCL4} \\ \text{dalam minyak kelapa} &= 50 \text{ ml} \times (80 \text{ mg}/1000 \text{ ml}) \times (1 \text{ ml}/1,59 \text{ mg/ml}) \\ &= 2,52 \text{ ml}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan karbon tetraklorida sebanyak 50 ml dengan dosis 0,4 mg/g bb, dilakukan dengan mengencerkan 2, 52 ml karbon tetraklorida dalam minyak kelapa hingga diperoleh volume 50,0 ml.

Lampiran 5. Cara perhitungan diameter vena sentralis

Dimisalkan penampang vena sentralis berbentuk lingkaran dan oval seperti gambar dibawah ini :



Jika x = garis horizontal yang membagi dua penampang vena sentralis

y = garis vertikal yang membagi dua penampang vena sentralis

Maka, diameter vena sentralis diukur dengan menjumlahkan x dan y kemudian hasilnya dibagi dua.

Lampiran 6. Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALT plasma (SPSS17.0)

Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas plasma tikus

Hipotesa : H_0 = Data aktivitas plasma tikus antar kelompok terdistribusi normal

H_a = Data aktivitas ALT plasma tikus antar kelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : Uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *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 antar kelompok terdistribusi normal

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.	Statistik	df	Sig.
Aktivitas ALT plasma I	.210	6	.200*	.908	6	.427
II	.186	6	.200*	.939	6	.653
III	.251	6	.200*	.889	6	.314
IV	.231	6	.200*	.949	6	.730
KT	.220	6	.200*	.938	6	.642
VI	.348	6	.022	.815	6	.081

Lampiran 7. Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 17.0)

Tujuan : Mengetahui kesamaan varians data aktivitas ALT plasma tikus

Hipotesa : Ho = data aktivitas ALT plasma tikus antar kelompok bervariasi homogen
Ha = data aktivitas ALT plasma tikus antar kelompok tidak bervariasi homogen

Statistik uji : uji *Levene*

α : 0,05

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

Hasil : nilai signifikansi = 0,210 $> \alpha$

Kesimpulan : Ho diterima sehingga aktivitas ALT plasma tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen

Test of Homogeneity of Variances

Aktivitas ALT plasma

Levene Statistik	df1	df2	Sig.
1.532	5	30	.210

Lampiran 8. Uji ANAVA terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 17.0)

- Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALT plasma tikus
- Hipotesa : H_0 = Data aktivitas ALT plasma tikus antar kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Data aktivitas ALT plasma tikus antar kelompok berbeda secara bermakna
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai signifikan $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikan $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 ditolak, sehingga data aktivitas ALT plasma tikus antar kelompok perlakuan berbeda secara bermakna

ANOVA

Aktivitas ALT Plasma	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7536.300	5	1507.260	19.166	.000
Within Groups	2359.256	30	78.642		
Total	9895.556	35			

Lampiran 9. Uji beda nyata terkecil (BNT) terhadap aktivitas ALT plasma tikus putih jantan (SPSS 17.0)

Aktivitas ALT plasma

LSD

(I) Kelom pok	(J) Kelom pok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
I	II	-39.34133*	5.11996	.000	-49.7977	-28.8850
	III	-14.43650*	5.11996	.008	-24.8928	-3.9802
	IV	-29.31517*	5.11996	.000	-39.7715	-18.8588
	V	-.94000	5.11996	.856	-11.3963	9.5163
	VI	-24.70167*	5.11996	.000	-35.1580	-14.2453
	II	I	39.34133*	5.11996	.000	28.8850
III		24.90483*	5.11996	.000	14.4485	35.3612
IV		10.02617	5.11996	.060	-.4302	20.4825
V		38.40133*	5.11996	.000	27.9450	48.8577
VI		14.63967*	5.11996	.008	4.1833	25.0960
III		I	14.43650*	5.11996	.008	3.9802
	II	-24.90483*	5.11996	.000	-35.3612	-14.4485
	IV	-14.87867*	5.11996	.007	-25.3350	-4.4223
	V	13.49650*	5.11996	.013	3.0402	23.9528
	VI	-10.26517	5.11996	.054	-20.7215	.1912
	IV	I	29.31517*	5.11996	.000	18.8588
II		-10.02617	5.11996	.060	-20.4825	.4302
III		14.87867*	5.11996	.007	4.4223	25.3350
V		28.37517*	5.11996	.000	17.9188	38.8315
VI		4.61350	5.11996	.375	-5.8428	15.0698
V		I	.94000	5.11996	.856	-9.5163
	II	-38.40133*	5.11996	.000	-48.8577	-27.9450
	III	-13.49650*	5.11996	.013	-23.9528	-3.0402
	IV	-28.37517*	5.11996	.000	-38.8315	-17.9188
	VI	-23.76167*	5.11996	.000	-34.2180	-13.3053
	VI	I	24.70167*	5.11996	.000	14.2453
II		-14.63967*	5.11996	.008	-25.0960	-4.1833
III		10.26517	5.11996	.054	-.1912	20.7215
IV		-4.61350	5.11996	.375	-15.0698	5.8428
V		23.76167*	5.11996	.000	13.3053	34.2180

**Lampiran 10. Uji distribusi normal terhadap aktivitas ALP plasma
(SPSS 17.0)**

- Tujuan : Mengetahui distribusi data aktivitas ALP plasma tikus
- Hipotesa : H_0 = Data aktivitas ALP plasma tikus antar kelompok terdistribusi normal
 H_a = Data aktivitas ALP plasma tikus antar kelompok tidak terdistribusi normal
- Statistik uji : Uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*
- α : 0,05
- Daerah krisis : H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga data aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok terdistribusi normal

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistik	Df	Sig.	Statistik	Df	Sig.
Aktivitas ALP plasma	I	.273	6	.183	.852	6	.164
	II	.257	6	.200*	.904	6	.400
	III	.235	6	.200*	.916	6	.477
	IV	.187	6	.200*	.925	6	.543
	V	.210	6	.200*	.925	6	.542
	VI	.260	6	.200*	.921	6	.513

a. Lilliefors Significance Correction

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

Lampiran 11. Uji kesamaan varians terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan (SPSS 17.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varians data aktivitas ALP plasma
- Hipotesa : Ho = data aktivitas ALP plasma tikus antar kelompok bervariasi homogen
Ha = data aktivitas ALP plasma tikus antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Levene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : nilai signifikansi = 0,883 $> \alpha$
- Kesimpulan : Ho diterima sehingga aktivitas ALP plasma tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen

Test of Homogeneity of Variances

Aktivitas ALP plasma

Levene Statistik	df1	df2	Sig.
.343	5	30	.883

Lampiran 12. Uji ANAVA terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan (SPSS 17.0)

- Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data aktivitas ALP plasma tikus
- Hipotesa : H_0 = Data aktivitas ALP plasma tikus antar kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Data aktivitas ALP plasma tikus antar kelompok berbeda secara bermakna
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai signifikan $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikan $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 ditolak, sehingga data aktivitas ALP plasma tikus antar kelompok perlakuan berbeda secara bermakna

ANOVA

Aktivitas ALP plasma

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64040.579	5	12808.116	2.638	.043
Within Groups	145678.878	30	4855.963		
Total	209719.457	35			

Lampiran 13. Uji beda nyata terkecil (BNT) terhadap aktivitas ALP plasma tikus putih jantan

Aktivitas ALP plasma

LSD

(I) Kelom pok	(J) Kelom pok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
I	II	-84.88017*	26.82172	.004	-139.6574	-30.1029
	III	-17.47800	26.82172	.520	-72.2553	37.2993
	IV	-19.21167	26.82172	.479	-73.9889	35.5656
	V	-8.17067	26.82172	.763	-62.9479	46.6066
	VI	-11.90750	26.82172	.660	-66.6848	42.8698
	II	I	84.88017*	26.82172	.004	30.1029
III		67.40217*	26.82172	.018	12.6249	122.1794
IV		65.66850*	26.82172	.020	10.8912	120.4458
V		76.70950*	26.82172	.008	21.9322	131.4868
VI		72.97267*	26.82172	.011	18.1954	127.7499
III		I	17.47800	26.82172	.520	-37.2993
	II	-67.40217*	26.82172	.018	-122.1794	-12.6249
	IV	-1.73367	26.82172	.949	-56.5109	53.0436
	V	9.30733	26.82172	.731	-45.4699	64.0846
	VI	5.57050	26.82172	.837	-49.2068	60.3478
	IV	I	19.21167	26.82172	.479	-35.5656
II		-65.66850*	26.82172	.020	-120.4458	-10.8912
III		1.73367	26.82172	.949	-53.0436	56.5109
V		11.04100	26.82172	.684	-43.7363	65.8183
VI		7.30417	26.82172	.787	-47.4731	62.0814
V		I	8.17067	26.82172	.763	-46.6066
	II	-76.70950*	26.82172	.008	-131.4868	-21.9322
	III	-9.30733	26.82172	.731	-64.0846	45.4699
	IV	-11.04100	26.82172	.684	-65.8183	43.7363
	VI	-3.73683	26.82172	.890	-58.5141	51.0404
	VI	I	11.90750	26.82172	.660	-42.8698
II		-72.97267*	26.82172	.011	-127.7499	-18.1954
III		-5.57050	26.82172	.837	-60.3478	49.2068
IV		-7.30417	26.82172	.787	-62.0814	47.4731
V		3.73683	26.82172	.890	-51.0404	58.5141

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 14. Uji distribusi normal terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 17.0)

- Tujuan : Mengetahui distribusi data vena sentralis tikus
- Hipotesa : Ho = Data vena sentralis tikus antar kelompok terdistribusi normal
Ha = Data vena sentralis tikus antar kelompok tidak terdistribusi normal
- Statistik uji : Uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*
- α : 0,05
- Daerah kritis : Ho ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikansi keempat kelompok $> \alpha$
- Kesimpulan : Ho diterima sehingga data vena sentralis tikus putih jantan antar kelompok terdistribusi normal

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Kelompok		Statistik	df	Sig.	Statistik	df	Sig.
Diameter vena sentralis	I	.168	6	.200*	.926	6	.552
	II	.236	6	.200*	.911	6	.444
	III	.193	6	.200*	.903	6	.393
	IV	.187	6	.200*	.891	6	.325
	V	.264	6	.200*	.814	6	.078
	VI	.309	6	.075	.869	6	.222

a. Lilliefors Significance Correction

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

Lampiran 15. Uji kesamaan varians terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 17.0)

- Tujuan : Mengetahui kesamaan varians data vena sentralis tikus
- Hipotesa : H_0 = data diameter vena sentralis hati tikus antar kelompok bervariasi homogen
 H_a = data diameter vena sentralis hati tikus antar kelompok tidak bervariasi homogen
- Statistik uji : uji *Levene*
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai Signifikansi $< \alpha$
- Hasil : nilai signifikansi = 0,344 $> \alpha$
- Kesimpulan : H_0 diterima sehingga diameter vena sentralis tikus putih jantan antar kelompok bervariasi homogen

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Vena Sentralis

Levene Statistik	df1	df2	Sig.
1.176	5	30	.344

Lampiran 16. Uji ANOVA terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 17.0)

- Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data diameter vena sentralis tikus
- Hipotesa : H_0 = Data diameter vena sentralis tikus antar kelompok tidak berbeda secara bermakna
 H_a = Data diameter vena sentralis tikus antar kelompok berbeda secara bermakna
- α : 0,05
- Daerah kritis : H_0 ditolak jika nilai signifikan $< \alpha$
- Hasil : Nilai signifikan $< \alpha$
- Kesimpulan : H_0 ditolak, sehingga data diameter vena sentralis tikus antar kelompok perlakuan berbeda secara bermakna

ANOVA

Diameter vena sentralis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2911.509	5	582.302	16.026	0.000
Within Groups	1090.021	30	36.334		
Total	4001.530	35			

Lampiran 17. Uji beda nyata terkecil (BNT) terhadap diameter vena sentralis hati tikus putih jantan (SPSS 17.0)

LSD

(I) Kelom pok	(J) Kelom pok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
I	II	-27.75333*	3.48014	.000	-34.8607	-20.6459
	III	-19.33167*	3.48014	.000	-26.4391	-12.2243
	IV	-22.40333*	3.48014	.000	-29.5107	-15.2959
	V	-10.22500*	3.48014	.006	-17.3324	-3.1176
	VI	-13.33333*	3.48014	.001	-20.4407	-6.2259
	II	I	27.75333*	3.48014	.000	20.6459
III		8.42167*	3.48014	.022	1.3143	15.5291
IV		5.35000	3.48014	.135	-1.7574	12.4574
V		17.52833*	3.48014	.000	10.4209	24.6357
VI		14.42000*	3.48014	.000	7.3126	21.5274
III		I	19.33167*	3.48014	.000	12.2243
	II	-8.42167*	3.48014	.022	-15.5291	-1.3143
	IV	-3.07167	3.48014	.384	-10.1791	4.0357
	V	9.10667*	3.48014	.014	1.9993	16.2141
	VI	5.99833	3.48014	.095	-1.1091	13.1057
	IV	I	22.40333*	3.48014	.000	15.2959
II		-5.35000	3.48014	.135	-12.4574	1.7574
III		3.07167	3.48014	.384	-4.0357	10.1791
V		12.17833*	3.48014	.001	5.0709	19.2857
VI		9.07000*	3.48014	.014	1.9626	16.1774
V		I	10.22500*	3.48014	.006	3.1176
	II	-17.52833*	3.48014	.000	-24.6357	-10.4209
	III	-9.10667*	3.48014	.014	-16.2141	-1.9993
	IV	-12.17833*	3.48014	.001	-19.2857	-5.0709
	VI	-3.10833	3.48014	.379	-10.2157	3.9991
	VI	I	13.33333*	3.48014	.001	6.2259
II		-14.42000*	3.48014	.000	-21.5274	-7.3126
III		-5.99833	3.48014	.095	-13.1057	1.1091
IV		-9.07000*	3.48014	.014	-16.1774	-1.9626
V		3.10833	3.48014	.379	-3.9991	10.2157

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.