

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK 28 HARI EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU
PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Rosc) TERHADAP KADAR SGOT DAN
SGPT SERTA HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH WISTAR**



Oleh:

**Desi Armayanti
20144181A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK 28 HARI EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU
PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Rosc) TERHADAP KADAR SGOT DAN
SGPT SERTA HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH WISTAR**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat sarjana farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi Pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Desi Armayanti
20144181A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK 28 HARI EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU
PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Rosc) TERHADAP KADAR SGOT DAN
SGPT SERTA HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH WISTAR**

Oleh :

**Desi Armayanti
20144181A**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 29 Juni 2018



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Prof. Dr. R. Setiawan, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,

Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Fitri Kurniasari, M.Farm., Apt

Penguji:

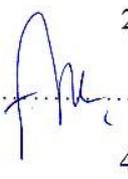
1. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt

1. 

2. Iswandi, M.Farm., Apt

2. 

3. Ghani Nurfiiana FS., S.Farm., M.Farm., Apt

3. 

4. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt

4. 

HALAMAN PERSEMBAHAN

وَلَا تَقُولَنَّ لِشَيْءٍ إِنِّي فَاعِلٌ ذَٰلِكَ غَدًا . إِلَّا أَنْ يَشَاءَ اللَّهُ.....

And never say of anything, “indeed, I will do that tomorrow.” except [when adding]. “if Allah wills”. – (Q.S Al-Kahfi: 23-24)

Dan jangan sekali-kali kamu mengatakan tentang sesuatu: "Sesungguhnya aku akan mengerjakan ini besok pagi. kecuali (dengan menyebut): "Insya Allah". – (Q.S Al-Kahfi: 23-24)

And Say: My lord, Increase me in knowledge.

– (Q.S Thaha: 114)

Memilih dijalur zona aman, sama saja memutuskan untuk tidak berkembang.

-Shirley Hufstaedler-

Dengan segala kerendahan hati saya persembahkan karya ini kepada :

1. Allah SWT atas segala berkah dan karunia-Nya.
2. Mamak, bapak, dan ketiga adik saya, serta keluarga besar yang selalu mendukung baik dari segi moral dan finansial serta rangkaian doa yang telah merangkul saya, agar dapat meraih segala yang saya inginkan dan bermanfaat bagi orang lain.
3. Bapak Dr. Gunawan Pamuji W, M.Si., Apt, dan Ibu Fitri Kurniasari, M.Farm., Apt yang telah dengan besar hati bersedia untuk membimbing saya dalam penyusunan skripsi ini.
4. Semua sahabat khususnya Nasrulloh, Ayu, Siti, Diah, Lia, Ika, serta teman-teman yang lain di S1 Farmasi, terima kasih atas semua bantuan dan semangat kalian.
5. Almamater Universitas Setia Budi, Bangsa, dan Negara.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 28 Mei 2018

Penulis,



Desi Armayanti

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr.wb

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini dengan baik dan lancar. Sholawat dan salam tak lupa dipanjatkan kepada junjungan kita nabi besar Muhammad SAW yang telah membawa kita ke dunia yang berilmu dan beriman.

Skripsi dengan judul **“Uji Toksisitas Subkronik 28 Hari Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Rose) Terhadap Kadar SGPT dan SGOT serta Histopatologi Hati Tikus Putih Wistar”** diajukan sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) di Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Proses penyusunan skripsi ini telah banyak pihak yang memberikan bantuan dan masukan. Penulis menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Gunawan Pamuji W, M.Si., Apt, selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk, bimbingan, nasehat dan motivasi kepada penulis selama penelitian sehingga dapat terlaksana dengan baik.
4. Fitri Kurniasari, M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga skripsi ini selesai.
5. Seluruh dosen penguji yang telah banyak menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan saran dan kritik demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Dosen pembimbing akademik, ibu Sunarti, S.Farm, M.Sc., Apt yang selalu membimbing dan mengarahkan sejak pertama kuliah hingga selesai.
7. Segenap Dosen pengajar, karyawan, dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

8. Para sahabat khususnya Nasrulloh, Ayu, Siti, Diah, Lia, Ika, serta seluruh teman-teman S1 Farmasi Universitas Setia Budi angkatan 2014 atas dukungan dan semangatnya.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga ALLAH SWT membalas semua bantuan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan almamater tercinta.

Surakarta, 28 Mei 2018

Penulis,

Desi Armayanti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Rimpang Temu Putih	4
1. Tanaman rimpang temu putih	4
2. Sistematika tanaman temu putih	4
3. Nama Daerah	4
4. Morfologi tanaman	5
5. Kandungan kimia	6
6. Kegunaan rimpang temu putih	7
B. Simplisia	7
1. Pengertian Simplisa	7
2. Perajangan	7
3. Pengeringan	8
4. Penyimpanan	8
C. Penyarian	8
1. Cairan penyari	9
1.1 Air	9
1.2 Etanol	9

2.	Metode penyarian.....	10
2.1	Infundasi.....	10
2.2	Maserasi.....	10
2.3	Perkolasi.....	10
2.4	Soxhlet.....	11
3.	Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	11
D.	Toksisitas.....	12
1.	Uji toksisitas akut.....	12
2.	Uji toksisitas subkronis.....	13
3.	Uji toksisitas kronis.....	14
E.	Histopatologi.....	15
1.	Pengertian.....	15
2.	Prosedur uji histopatologi.....	15
2.1	Fiksasi jaringan.....	15
2.2	<i>Trimming</i>	15
2.3	Dehidrasi.....	15
2.4	<i>Embedding</i>	16
2.5	<i>Cutting</i>	16
2.6	<i>Staining</i> /pewarnaan.....	16
2.7	<i>Mounting</i>	16
2.8	Pembacaan <i>slide</i> dengan mikroskop.....	16
F.	Organ Hati.....	17
1.	Struktur hati.....	17
2.	Fungsi hati.....	17
3.	Histologi hati.....	18
4.	Hubungan hati dengan senyawa toksik.....	19
4.1	Perlemakan hati (Steatosis).....	20
4.2	Radang.....	20
4.3	Fibrosis.....	20
4.4	Degenerasi.....	20
4.5	Nekrosis.....	20
4.6	Sirosis.....	21
4.7	Kolestasis dan Jaundice.....	21
G.	Pemeriksaan Fungsi Hati.....	21
1.	Albumin.....	21
2.	Globulin.....	22
3.	Elektroforesis protein.....	22
4.	Masa protrombin (PT).....	23
5.	Cholinesterase (CHE).....	24
6.	Bilirubin.....	24
7.	Asam empedu.....	25
8.	Fungsi detoksifikasi amonia.....	26
9.	Pengukuran aktivitas enzim.....	26
H.	SGOT dan SGPT.....	26
I.	Hewan Uji.....	27
1.	Sistematika tikus.....	27

2.	Spesies dan jumlah hewan uji	28
3.	Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji	28
4.	Dosis uji	28
5.	Cara pemberian dan lama pemberian zat uji.....	29
6.	Prosedur	29
7.	Parameter pengujian	30
8.	Cara penggunaan hewan uji.....	31
9.	Mengorbankan hewan	31
10.	Pemberian tanda pada hewan.....	31
J.	Landasan Teori.....	31
K.	Hipotesis	33
L.	Kerangka Pikir Penelitian	34
BAB III METODE PENELITIAN		35
A.	Populasi dan Sampel	35
B.	Variabel Penelitian	35
1.	Identifikasi variabel utama	35
2.	Klasifikasi variabel utama	35
3.	Definisi operasional variabel utama	36
C.	Bahan dan Alat.....	37
1.	Alat	37
2.	Bahan.....	37
D.	Jalannya Penelitian.....	37
1.	Determinasi tanaman	37
2.	Pengambilan bahan	37
3.	Pembuatan Serbuk.....	38
4.	Penetapan kadar air serbuk	38
5.	Pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih	38
6.	Identifikasi senyawa ekstrak etanolik rimpang temu putih	38
6.1	Identifikasi flavonoid	38
6.2	Identifikasi saponin	39
6.3	Identifikasi alkaloid.....	39
6.4	Identifikasi tanin	39
7.	Uji toksisitas subkronis singkat.....	39
7.1	Persiapan hewan uji	39
7.2	Perhitungan besar sampel	40
7.3	Perhitungan dosis dan penyesuaian dosis uji.	40
7.4	Pengamatan berat badan	40
7.5	Pengamatan gejala toksik.	41
7.7	Pengamatan makropatologi.	41
8.	Pemeriksaan aktifitas SGOT dan SGPT	41
9.	Pembuatan preparat histopatologi	42
E.	Skema Alur Penelitian.....	43
F.	Analisis Data.....	44
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		46

A.	Tumbuhan Temu Putih.....	46
1.	Determinasi Tumbuhan Temu Putih (<i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe).....	46
2.	Pengambilan Bahan dan Pembuatan Serbuk Rimpang Temu Putih (<i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe).....	46
2.1	Persentase bobot kering terhadap bobot basah rimpang temu putih.....	47
2.2	Penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih.....	47
3.	Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih.....	47
4.	Identifikasi pemeriksaan organoleptis ekstrak.....	48
5.	Identifikasi kandungan kimia.....	48
B.	Uji Toksisitas Subkronik.....	51
1.	Penyiapan hewan uji dan perhitungan dosis.....	51
2.	Hasil pengamatan berat badan hewan uji.....	51
3.	Hasil pengamatan makropatologi.....	53
4.	Hasil penimbangan organ.....	54
5.	Hasil pengukuran SGOT dan SGPT.....	54
5.1	Hasil Pengukuran Kadar SGOT.....	55
5.2	Hasil pengukuran kadar SGPT.....	58
6.	Hasil pemeriksaan histopatologi organ hati.....	61
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	66
A.	Kesimpulan.....	66
B.	Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	70

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Gambaran mikroskopik dengan perbesaran 30x hati manusia (Eroschenko 2010).....	19
Gambar 2. Kerangka pikir penelitian.....	34
Gambar 3. Skema jalannya penelitian	43
Gambar 4. Skema pembuatan preparat histopatologi hati	44
Gambar 5. Grafik rata-rata berat badan tikus jantan.....	52
Gambar 6. Grafik rata-rata berat badan tikus betina.....	52
Gambar 7. Diagram rata-rata kadar SGOT tikus jantan.....	56
Gambar 8. Diagram rata-rata kadar SGOT tikus betina.....	56
Gambar 9. Diagram rata-rata SGPT tikus Jantan	59
Gambar 10. Diagram rata-rata SGPT tikus betina.....	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penetapan Kadar SGOT/SGPT.....	41
Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah rimpang temu putih	47
Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih.....	47
Tabel 4. Hasil pembuatan ekstrak rimpang temu putih.....	48
Tabel 5. Hasil identifikasi organoleptis	48
Tabel 6. Hasil identifikasi ekstrak etanol rimpang temu putih	49
Tabel 7. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak etanol rimpang temu putih	50
Tabel 8. Hasil analisa rata-rata berat badan tikus jantan dan betina	51
Tabel 9. Hasil rata-rata indeks organ hati hewan uji	54
Tabel 10. Hasil rata-rata pengukuran SGOT tiap kelompok	55
Tabel 11. Hasil rata-rata pengukuran SGPT tiap kelompok.....	58
Tabel 12. Nila rerata skor perubahan hepar	62

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi Tanaman Rimpang Temu Putih	72
Lampiran 2. Surat <i>Ethical Clearance</i>	73
Lampiran 3. Surat Keterangan Kesehatan Hewan	74
Lampiran 4. Gambar Hasil Ekstrak Rimpang Temu Putih	75
Lampiran 5. Alat – Alat yang digunakan	76
Lampiran 6. Gambar Adaptasi tikus, Oral tikus, Pengambilan darah, Reagen dan Serum	77
Lampiran 7. Gambar Pembedahan dan Preparat Histopatologi	78
Lampiran 8. Gambar Hasil Identifikasi Ekstrak Rimpang Temu Putih.....	79
Lampiran 9. Hasil identifikasi kimia ekstrak rimpang temu putih dengan KLT	80
Lampiran 10. Hasil Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Rimpang Temu putih.....	81
Lampiran 11. Perhitungan Penetapan Kadar Air Serbuk Rimpang Temu Putih	82
Lampiran 12. Perhitungan Hasil Pembuatan Ekstrak Rimpang Temu Putih	83
Lampiran 13. Perhitungan Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih	84
Lampiran 14. Perhitungan Dosis Stok Na CMC 0,5%	85
Lampiran 15. Data Berat Badan Hewan Uji	90
Lampiran 16. Uji Statistik Berat Badan Hewan Uji	92
Lampiran 17. Hasil pengamatan makropatologi organ hati	94
Lampiran 18. Berat Organ dan Indeks Organ Hati.....	95
Lampiran 19. Hasil Pengukuran kadar SGOT.....	96
Lampiran 20. Uji Statistik ANOVA Terhadap Kadar SGOT	97
Lampiran 21. Hasil Pengukuran Kadar SGPT	100

Lampiran 22. Hasil Uji ANOVA Terhadap Kadar SGPT	101
Lampiran 23. Hasil Histopatologi Hewan Uji.....	105

INTISARI

ARMAYANTI, D., UJI TOKSISITAS SUBKRONIK 28 HARI EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Rosc) TERHADAP KADAR SGPT DAN SGOT SERTA HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA

Tanaman rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Rosc) mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat dalam beberapa pengobatan diantaranya flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik pada pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) selama 28 hari dengan parameter SGOT, SGPT, dan histopatologi hati tikus putih, serta dosis yang tidak menimbulkan efek toksik.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Penelitian menggunakan hewan uji tikus putih sebanyak 50 ekor dalam 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina. Kelompok kontrol diberikan CMC Na, sedangkan kelompok dosis diberikan ekstrak etanol rimpang temu putih secara oral pada dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB selama 28 hari dan dilanjutkan 14 hari (satelit). Parameter biokimia yaitu aktivitas enzim SGOT, SGPT serta histopatologi hati. Data hasil pemeriksaan SGOT dan SGPT dianalisis menggunakan *One Way ANOVA*, dan perhitungan persentase histopatologi sel normal dan sel yang mengalami kerusakan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih selama 28 hari pada dosis 250 mg/kgBB tidak memberikan efek toksik dengan parameter SGOT, SGPT, dan histopatologi hati tikus putih.

Kata kunci : toksisitas, temu putih, SGOT/SGPT, Histopatologi

ABSTRACT

ARMAYANTI, D., SUBCHRONIC TOXICITY TEST 28 DAYS OF ETHANOL EXTRACT OF CURCUMA ZEDORIA RHIZOMES (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Rosc) ON SGPT/SGOT LEVEL AND HEPAR HISTOPATHOLOGY OF WISTAR WHITE RATS, UNDERGRADUATE THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Curcuma zedoaria rhizomes contains several efficacious compounds in the treatments including flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids. This study aims to determine the subchronic toxicity of ethanolic extract curcuma zedoaria rhizomes for 28 days with the parameters of SGOT, SGPT and histopathology of wistar white rat heart levels, and dose did not toxic effects.

The extraction method used was maceration with 70% ethanol solvent. The study used animal-testing, white rats as many as 50 rats in 5 groups, each consisting of 5 males and 5 females. The control group was given CMC Na, while the dose group was given ethanolic extract of *Curcuma zedoaria* rhizomes orally at dose of 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB for 28 days and continued 14 days (satellite). The biochemical parameters consisted of SGOT, SGPT and liver histopathology enzyme activities. The SGOT and SGPT examination data were analyzed using *One Way ANOVA*, and histopathology percentage calculation of normal cells and damaged cells.

The results that the ethanol extract of *Curcuma zedoaria rhizomes* for 28 days at dose 250 mg/kgBB did not toxic effects with parameters of SGOT, SGPT, dan hepar histopathology.

Keywords: toxicity, Curcuma zedoaria, SGOT/SGPT, Histopathology

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diare didefinisikan sebagai buang air besar dengan feses tidak terbentuk atau cair dengan frekuensi lebih dari 3 kali dalam 24 jam. Diare akut adalah diare yang berlangsung kurang dari 2 minggu. Apabila diare berlangsung selama dua minggu atau lebih, digolongkan pada diare kronik. Feses dapat disertai dengan lendir, darah, atau pus. Gejala dapat berupa mual, muntah, nyeri abdominal, mulas, tenesmus, demam, dan tanda-tanda dehidrasi (Amin 2015). Diare dapat disebabkan oleh bakteri yang mengkontaminasi makanan dan minuman atau oleh racun yang dihasilkan oleh bakteri-bakteri, juga dapat disebabkan oleh kelainan pada sistem endokrin dan metabolisme, serta kekurangan vitamin. Diare yang hebat dapat menyebabkan dehidrasi karena tubuh kekurangan cairan, kekurangan kalium, dan elektrolit dalam jumlah yang banyak. Dehidrasi berat akan menimbulkan kelemahan, shock bahkan kematian terutama pada anak-anak dan bayi (Nurhalimah *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, dilaporkan bahwa ekstrak etanol dari rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) dengan dosis 250, 500, dan 750 mg/kgBB mampu memberikan efek antidiare. Kandungan senyawa rimpang temu putih terdiri dari flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dimana senyawa efektif yang memiliki efek sebagai antidiare adalah tanin dan flavonoid (Golam *et al.*, 2017). Beberapa kandungan yang terdapat dalam rimpang temu putih tersebut dikhawatirkan ketika dikonsumsi dalam jangka panjang, pemberian secara berulang, dan dosis yang belum dianjurkan dapat menimbulkan efek toksik pada organ tubuh. Pengujian yang dapat dilakukan untuk melihat efek toksik dari suatu senyawa yaitu dengan cara uji toksisitas. Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji (BPOM 2014).

Hasil uji toksisitas akut menunjukkan bahwa dosis terkecil sampai terbesar yaitu 5, 50, 300, 2000, dan 5000 mg/kgBB pada mencit menimbulkan gerakan-

gerakan yang tidak terkontrol seperti tremor/gemetaran, dan *grooming*, tidak ada perubahan berat badan. Ekstrak etanol rimpang temu putih memiliki LD_{50} sebesar 5000 mg/kgBB tidak menimbulkan kematian pada hewan uji (Harun 2016). Informasi ini tentu belum cukup untuk menjamin ekstrak tersebut tidak berbahaya dan tidak memiliki efek yang merugikan bagi tubuh, sehingga perlu dilakukan uji toksisitas subkronik. Tujuan uji toksisitas subkronik adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOEL*), dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut (BPOM 2014).

Hati merupakan organ penting dalam proses metabolisme, detoksifikasi maupun inaktivasi obat atau senyawa beracun lainnya, sehingga dapat dikatakan hati mempunyai fungsi pertahanan dan pelindung bagi tubuh (Linawati *et al.*, 2008). Peningkatan paparan berbagai polutan maupun senyawa beracun pada tubuh dapat menyebabkan meningkatnya risiko kerusakan hati. Manifestasi kerusakan jaringan pada hati dapat diamati dari peningkatan kadar SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transferase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Peptidil Transferase*). Enzim SGOT terdapat dalam sel jantung, hati, otot rangka, ginjal, otak, pankreas, limpa dan paru. Kadar tertinggi SGOT terdapat di dalam sel jantung. Kadar enzim SGOT akan meningkat apabila terjadi kerusakan sel yang akut seperti nekrosis hepatoseluler seperti gangguan fungsi hati dan saluran empedu, penyakit jantung dan pembuluh darah, serta gangguan fungsi ginjal dan pankreas. Parameter yang lebih spesifik untuk mengindikasikan terjadinya kerusakan pada sel-sel hati adalah dengan melihat aktivitas enzim SGPT, karena enzim ini paling banyak ditemukan dalam hati sehingga digunakan sebagai penanda gangguan integritas sel hati (hepatoseluler) (Rosida 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan uji toksisitas subkronik singkat ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap organ hati dengan melihat parameter kadar SGOT, SGPT, serta pengamatan secara histopatologi menggunakan tikus putih wistar.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah dikemukakan dapat diambil suatu perumusan masalah sebagai berikut :

Pertama, apakah pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) selama 28 hari menimbulkan efek toksik dengan parameter SGOT, SGPT, dan histopatologi hati tikus putih?

Kedua, berapakah dosis pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) selama 28 hari yang tidak memberikan efek toksik dengan parameter SGOT, SGPT, dan histopatologi hati tikus putih?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas tujuan penelitian ini adalah :

Pertama, untuk mengetahui efek toksik pada pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) selama 28 hari dengan parameter SGOT, SGPT, dan histopatologi hati tikus putih.

Kedua, untuk mengetahui dosis yang tidak menimbulkan efek toksik pada pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) dengan parameter SGOT, SGPT, dan histopatologi hati tikus putih.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi serta pengetahuan bagi masyarakat bahwa rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) dapat digunakan sebagai obat tradisional secara aman. Penelitian ini dapat berguna dalam meningkatkan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi, khususnya obat tradisional serta dapat digunakan sebagai acuan info ketoksikan penelitian selanjutnya bila diperlukan pada dosis besar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Rimpang Temu Putih

1. Tanaman rimpang temu putih

Temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) merupakan tanaman semak. Ketinggian tumbuhnya mencapai 100 cm, dan mampu tumbuh di daerah sampai ketinggian 1.000 mdpl. Herba setahun, dapat lebih dari 2 m. Batang sesungguhnya berupa rimpang yang bercabang di bawah tanah, berwarna coklat muda, coklat tua, di dalamnya putih atau putih kebiruan, memiliki umbi bulat dan aromatik (Herbie 2015).

2. Sistematika tanaman temu putih

Kedudukan dalam sistematika tumbuhan (taksonomi), tanaman temu putih mempunyai klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Kelas : Monocotyledonae

Bangsa : Zingiberales

Suku : Zingiberaceae

Marga : *Curcuma*

Jenis : *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe (Indrayani, 2012)

3. Nama Daerah

Sinonim dari tanaman temu putih adalah *Zerumbet Roxb.*, *Costus nigricans.*, *Co. luteus* Blanco., *Amomum zedoaria* Berg., *Roscoea lutea* Hassk., *R. nigro-cillita* Hask (Dalimartha 2013). Tanaman temu putih memiliki nama lain yaitu kunyit putih, koneng bodas (Jawa), temu putih (Melayu), kunir putih (Sunda), temu putri (Jakarta) konyek pote pet atau konce pete (Madura), temu rapet (Pantai Sumatra Timur), *fang ngo su* (Cina) (Hariana 2013).

4. Morfologi tanaman

Tumbuhan ini berupa herba setahun, tinggi mencapai 2 m, tumbuh tidak berkelompok. Daun berbentuk lanset memanjang berwarna merah lembayung di sepanjang tulang tengahnya. Bunga keluar dari rimpang samping, menjulang ke atas membentuk bongkol bunga yang besar. Mahkota bunga berwarna putih, dengan tepi bergaris merah tipis atau kuning, rasa sangat pahit (Windono *et al.*, 2002).

Temu putih dapat ditemukan tumbuh liar pada tempat terbuka yang tanahnya lembab dengan ketinggian 0-1.000 m dpl. Tanaman banyak ditemukan di daerah Jawa Barat, Jawa Tengah, Sumatera, Ambon, Irian, dan dibudidayakan di India, Cina, Madagaskar, Filipina, dan Malaysia (Dalimartha 2013). Tinggi tanaman ini dapat lebih dari 2 m. Batang sesungguhnya berupa rimpang yang bercabang di bawah tanah, berwarna coklat muda, coklat tua, di dalamnya putih atau putih kebiruan, memiliki umbi bulat dan aromatik. Daun tunggal, pelepah daun membentuk batang semu, berwarna hijau coklat tua, helaian 2-9 buah, bentuk memanjang lanset 2,5 kali lebar, ujung runcing, ungu di tulang daun pangkal, 43-80 cm atau lebih. Bunga majemuk susunan bulir, di ketiak rimpang primer, tangkai berambut. Daun pelindung berjumlah banyak, spatha dan brachtea; rata-rata 3-8 x 1,5-3,5 cm. Kelopak 3 daun, putih atau kekuningan, bagian tengah merah atau coklat kemerahan, 3-4 cm. Mahkota 3 daun, putih kemerahan, tinggi rata-rata 4,5 cm. Bibir membulat atau bulat telur terbalik, ujung 2 lobe, kuning atau putih, tengah kuning atau kuning jeruk 1,4-18 x 14-20 mm. Benang sari 1 buah, tidak sempurna, bulat telur terbalik, sari putih 6 mm. Buah berambut rata-rata 2 cm (Herbie 2015).

Rimpang induk pada temu putih berbentuk jorong membulat dan mengeluarkan rimpang cabang yang cukup banyak dan tumbuh ke arah samping, ukurannya kecil, bentuknya memanjang, dan mudah dipatahkan. Warna rimpang adalah putih dengan hati yang berwarna kuning muda. Bentuk buah bundar, berserat, segitiga, kulit lunak dan tipis (Dalimartha 2003).

5. Kandungan kimia

Rimpang mengandung zat warna kuning kurkumin (diarilheptanoid). Komponen minyak atsiri dari rimpangnya terdiri dari turunan guaian (kurkumol, kurkumenol, isokurkumenol, prokurkumenol, kurkurnadioa), turunan germakran (kurdion, dehidrokurdion), seskuiterpena furanoid dengan kerangka eudesman (kurkolon), kerangka germakran (furanodienon, isofuranodienon, zederon, edoaron, epikurserenon, isofurano germakren); asam-4-metoksi sinamat (bersifat fungistatik). Hasil penelitian lainnya ditemukan kurkumanolid A, kurleumanolid B, dan kurkumenon (Herbie 2015).

Pada penelitian Parapion & Gritsanapan (2009) menunjukkan bahwa dengan metode HPLC menggunakan ekstrak rimpang temu putih dengan pelarut etanol 70% mengandung kurkumin, demethoxycurcumin, dan bisdemethoxycurcumin, akan tetapi dilihat dengan metode TLC dan HPLC menunjukkan komponen utama dari rimpang temu putih adalah demethoxycurcumin, dan unsur utama kedua adalah kurkumin. Pengukuran dengan menggunakan GC-MS minyak atsiri temu putih mengandung beberapa senyawa diantaranya *camphene*; *1-beta-pinene*; *mycrene*; *1,8-cineole*; *camphor*; *beta elemene*; *bicyclo [2.2.1] heptan-2-ol,1,7,7-trimethyl-,exo*; *borneol*; *eremophilene* ; (+) *calarene*; *valencene*; *beta-elemenone*; *germacrone* dan *2-ethoxy-6-ethyl-4,4,5-trimethyl-1,3-dioxo-4-sila-2-boracyclohex-5-ene* (Maiyani *et al.*, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Wiwik (2010) menunjukkan bahwa salah satu komponen dari empat komponen yang terkandung dalam ekstrak kental kloroform rimpang temu putih adalah senyawa golongan triterpenoid asam karboksilat dengan karakteristik gugus fungsi : -OH terikat, -CH, C=O asam karboksilat, -C=C, -CH₂, -CH₃, dan C-O alkohol. Kandungan kimia temu putih antara lain *cineol*, *camphane*, *zingiberene*, *borneol*, *camphor*, *curcumin*, *resin*, *curcumol*, dan *curdione* (Hariana 2013).

6. Kegunaan rimpang temu putih

Rimpang temu putih bermanfaat sebagai peluruh haid, peluruh dahak (ekspektoran), peluruh kentut (karminatif), penghilang rasa sakit (analgesik), perangsang muntah bila keracunan, melancarkan peredaran darah. Khasiatnya untuk mengatasi memar, luka, keseleo, bisul (*furuncullosis*), bengkak, rematik, pegal linu, dan sengatan kalajengking atau ular (penawar racun atau bisa). Temu putih juga bermanfaat untuk memulihkan tenaga sehabis melahirkan, menguatkan pencernaan, nafsu makan, lemah syahwat, cacangan,ambeien (*hemorrhoides*), demam, sakit gigi, radang selaput lendir, jantung koroner, TBC, asma, bronkitis, mencegah tumor, mencegah kanker servik dan vulva, epilepsi, dan pembengkakan limpa (Hariana 2013). Menurut penelitian Golam *et al.*, (2017) senyawa tanin dan flavonoid dalam temu putih memberikan efek antidiare dengan dosis 250, 500, dan 750 mg/kgBB.

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Perajangan

Perajangan pada simplisia dilakukan untuk mempermudah proses simplisia menjadi kering, selain itu mempermudah dalam proses penggilingan dan pengepakan. Alat bantu yang digunakan untuk perajangan simplisia yaitu pisau,

alat perajang khusus. Alat perajang khusus digunakan untuk mendapatkan potongan dengan irisan tipis dan ukuran yang dibutuhkan (Depkes 1986). Tujuan dari perajangan adalah untuk memperluas permukaan bahan baku karena semakin luas permukaan maka bahan baku akan cepat kering (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Pengeringan

Pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak karena terurai oleh enzim yang terdapat pada bahan baku. Enzim yang masih terkandung di dalam simplisia dengan adanya air akan menguraikan bahan berkhasiat yang ada, sehingga bahan kimia tersebut akan rusak dan untuk mencegah timbulnya jamur serta mikroorganisme lainnya. Cara pengeringan ditempat teduh adalah dengan cara dimasukkan ke dalam oven dengan suhu yang telah ditentukan atau dengan cara meletakkan dibawah atap rumah agar terlindung dari cahaya matahari langsung. Bahan berupa rimpang sebelum dijemur di bawah matahari harus dirajang terlebih dahulu untuk memperluas luas permukaan (Gunawan & Mulyani 2004).

4. Penyimpanan

Penyimpanan merupakan kegiatan untuk mengamankan dan memperpanjang masa penggunaan produk. Penyimpanan dilakukan pada ruang dengan suhu, cahaya dan kelembaban udara sesuai sifat dan karakteristik produk. Hal perlu diperhatikan dalam penyimpanan simplisia adalah yang dapat menyebabkan kerusakan pada simplisia, yaitu cara pengepakan, pembungkusan, dan pewardahan, persyaratan gudang simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu serta cara pengawetannya. Cara menyimpan simplisia dalam wadah yang kurang sesuai memungkinkan terjadinya kerusakan pada simplisia karena dimakan kutu atau ngengat yang termasuk golongan hewan serangga atau insekta. Kerusakan pada penyimpanan simplisia yang perlu mendapatkan perhatian ialah kerusakan yang ditimbulkan oleh hewan pengerat seperti tikus (Suswono 2013).

C. Penyarian

Penyarian merupakan peristiwa pemindahan masa. Zat aktif yang berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam

cairan penyari tersebut. Proses penyarian pada sel yang dindingnya masih utuh, zat aktif yang terlarut pada cairan penyari untuk keluar dari sel, harus melewati dinding sel. Penyarian dipengaruhi oleh derajat kehalusan serbuk dan perbedaan konsentrasi (Depkes 1986).

1. Cairan penyari

Cairan penyari yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah penyari yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Penyari tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya. Faktor selektifitas, ekonomis, kemudahan bekerja, ramah lingkungan dan aman (Depkes 2000).

1.1 Air. Air disamping melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin dan gula, juga melarutkan gom, pati, protein, lendir, enzim, lilin, lemak, pektin, zat warna dan asam organik. Air digunakan sebagai cairan penyari kurang menguntungkan. Air merupakan tempat tumbuh bagi kuman, kapang, dan khamir, karena itu pada pembuatan dengan air harus ditambah zat pengawet. Air dipertimbangkan sebagai penyari karena murah, stabil, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Kerugian menggunakan air yaitu tidak selektif, sari dapat ditumbuhi kapang dan kuman serta cepat rusak dan pengeringan diperlukan waktu lama (Depkes 1986).

1.2 Etanol. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Campuran antara etanol dan air biasanya digunakan untuk meningkatkan penyarian. Perbandingan jumlah etanol dan air tergantung pada bahan yang akan disari. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena, lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes 1986).

2. Metode penyarian

Cara penyarian dapat dibedakan menjadi : Infundasi, maserasi, perkolasi, dan penyarian berkesinambungan. Metode penyarian yang dipilih pada penelitian ini adalah maserasi (Depkes 1986).

2.1 Infundasi. Sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infundasi merupakan proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang, sehingga sari yang diperoleh tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Depkes 1986).

2.2 Maserasi. Cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15°C - 20°C selama 33 hari sampai bahan-bahan melarut dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes 1986).

2.3 Perkolasi. Proses dimana simplisia yang sudah halus, diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewatkan perlahan-lahan melalui simplisia yang berada di dalam suatu kolom. Simplisia dimampatkan dalam alat ekstraksi khusus disebut *perkolator*, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut *perkolat* (Ansel 1985). Prinsip perkolasi yaitu, serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan

penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Cara perkolasi lebih baik dari maserasi karena adanya aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi. Penyarian berkesinambungan merupakan proses untuk menghasilkan ekstrak cair, yang akan dilanjutkan dengan proses penguapan (Depkes 1986).

2.4 Soxhlet. Ekstraksi soxhlet hanya diperlukan dimana senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut, dan pengotor tidak larut dalam pelarut tersebut. Jika senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan tinggi dalam pelarut maka filtrasi sederhana dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dari zat yang tidak larut. Keuntungan dari sistem ini adalah bahwa banyak bagian pelarut hangat yang dilewatkan melalui sampel, hanya satu batch pelarut yang didaur ulang. Metode ini tidak dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan pada pemanasan karena pemanasan yang berkepanjangan dapat menyebabkan degradasi senyawa (Tiwari *et al.*, 2011).

3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fasa (fase gerak/eluen dan fase diam/adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya. Kromatografi lapis tipis tergolong kromatografi planar yang digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo 1991).

Prinsip dari pemisahan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (Hendayana 2006). Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapisan tipis dapat menggunakan harga RF (*Retardation factor*) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan, yaitu :

$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

Harga R_f berkisar antara 0-1,00. Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis sehingga mempengaruhi harga R_f antara lain struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap, tebal dan kerapatan lapisan penyerap, pelarut (fasa gerak), derajat kejenuhan, teknik pemisahan, jumlah cuplikan, dan suhu (Sastrohamidjojo 1991).

D. Toksisitas

Toksisitas merupakan kemampuan zat tersebut untuk memberikan efek yang tidak diinginkan dari bahan kimia yang bersifat racun serta dosis yang berbahaya terhadap tubuh manusia (Arum *et al.*, 2016). Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia (BPOM 2014). Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* dapat dipercaya adalah : pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan, cara pemberian sediaan uji, pemilihan dosis uji, efek samping sediaan uji, teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan. Uji toksisitas terdiri atas dua jenis, yaitu uji toksisitas spesifik, dan uji toksisitas non spesifik.

Uji toksisitas spesifik dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas secara khusus melalui uji teratogenik, uji mutagenik, dan uji karsinogenik. Uji toksisitas non spesifik dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu obat pada hewan uji melalui uji toksisitas akut, sub kronis, dan kronis (Loomis 1978).

1. Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan

secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut yaitu sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas.

Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD₅₀ suatu bahan/ sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/ sediaan dan pelabelan (BPOM 2014).

2. Uji toksisitas subkronis

Uji toksisitas jangka pendek yang dilaksanakan dengan cara memberikan bahan uji secara berulang-ulang, biasanya setiap hari atau lima kali seminggu, selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan. Beberapa peneliti menggunakan jangka waktu lebih pendek, misalnya pemberian zat selama 14 dan 28 hari (Lu 2010). Prinsip dari uji toksisitas subkronik adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat reversibel. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan, dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis serta histopatologi (BPOM 2014).

Tujuan uji toksisitas subkronis adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOEL*), dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut (BPOM 2014).

Persyaratan dalam uji toksisitas subkronik antara lain hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain *Sprague Dawley* atau *Wistar*) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lain). Syarat hewan uji adalah sehat, umur 6-8 minggu, masing-masing kelompok dosis terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk setiap kelompok dosis, serta kelompok tambahan (group satelit). Pengamatan reversibilitas pada kelompok satelit dilakukan selama 14 hari setelah akhir pemberian sediaan uji. Dosis yang digunakan adalah sekurang-kurangnya digunakan 3 kelompok dosis yang berbeda antara lain dosis sediaan uji yang paling tinggi menimbulkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat, dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik (NOAEL) (BPOM 2014).

2.1.1 Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari. Uji toksisitas ini digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis apakah dalam bentuk sekali pakai atau berulang dalam waktu kurang dari satu minggu.

2.1.2 Uji toksisitas subkronis oral 90 hari. Uji toksisitas ini digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis berulang dalam waktu 1-4 minggu.

3. Uji toksisitas kronis

Uji toksisitas kronik atau jangka panjang dilakukan dengan memberikan bahan uji berulang-ulang selama masa hidupnya misalnya 18 bulan untuk mencit 24 bulan untuk tikus, dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet (Lu 2010). Tujuan uji toksisitas kronik adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas subkronik, karakterisasi toksisitas dari suatu sediaan uji yang dipaparkan dalam waktu lama dan berulang, serta untuk menentukan NOAEL atau dosis yang tidak menimbulkan efek (BPOM 2014).

Prinsip uji toksisitas kronis adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji selama tidak kurang dari 12 bulan. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera

diotopsi, organ dan jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Hewan yang masih hidup pada akhir periode pemberian sediaan uji diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ maupun jaringan, serta dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis, histopatologi (BPOM 2014).

E. Histopatologi

1. Pengertian

Histopatologi merupakan studi tentang manifestasi struktur penyakit di bawah cahaya mikroskop. Pada histopatologi, dapat dibedakan histopatologi jaringan normal, variasi proses penyakit, dan perubahan-perubahan yang timbul sebagai hasil dari penelitian yang dilakukan. Histopatologi memberikan peranan penting dalam pengujian toksikologi dan efek merugikan dari makanan, obat-obatan, bahan kimia, biologi dan perawatan medis sebagai evaluasi sensitif dan efisien pengamatan sementara pada jaringan tubuh dengan menggunakan mikroskop (Charissman *et al.*, 2004).

2. Prosedur uji histopatologi

2.1 Fiksasi jaringan. Jaringan akan mengalami autolisis ketika terlepas dari tubuh, untuk dapat mengamati jaringan dengan struktur yang mendekati struktur ketika masih hidup maka diperlukan fiksasi. Fiksasi ada dua macam yaitu fiksasi kimiawi dan fiksasi dengan suhu. Formalin dalam *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7,4 adalah fiksasi kimia yang rutin digunakan untuk memfiksasi jaringan, agar integritas sel dalam jaringan tetap dapat digunakan.

2.2 Trimming. *Trimming* adalah tahapan yang dilakukan setelah proses fiksasi dengan melakukan pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm dengan orientasi sesuai dengan organ yang akan dipotong. Pisau yang digunakan untuk trimming adalah pisau skapel no 22-24. Jumlah potongan jaringan yang dapat dimuat dalam *embedding cassette* berkisar antara 1-5 buah disesuaikan dengan ukuran organ.

2.3 Dehidrasi. Dehidrasi jaringan yang dilakukan setelah *trimming* menggunakan *tissue processor* dimaksudkan untuk mengeluarkan air yang berada

dalam jaringan, dengan menggunakan cairan dehidran seperti etanol atau *iso propyl alkohol*. Cairan dehidran ini kemudian dibersihkan dari dalam jaringan dengan menggunakan reagen pembersih (*clearing agent*) seperti *xylene* atau toluen. Reagen pembersih ini akan diganti dengan paraffin dengan cara penetrasi ke dalam jaringan, proses ini disebut impregnasi. Paraffin yang digunakan adalah diganti tiap 1-2 minggu sekali tergantung banyak sedikitnya jaringan yang telah didehidrasi. Lamanya waktu proses dehidrasi yaitu 17 jam.

2.4 Embedding. Jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian diisi dengan paraffin cair, kemudian dilekatkan pada blok kayu ukuran 3x3 cm atau pada *embedding cassette*. Jaringan yang sudah dilekatkan pada blok kayu atau *embedding cassette* yaitu blok. Fungsi dari blok kayu atau *embedding cassette* adalah untuk pemegang pada saat blok dipotong pada mikrotom.

2.5 Cutting. Pemotongan jaringan yang sudah didehidrasi dengan menggunakan mikrotom. Kualitas hasil *cutting* tergantung pada keterampilan dan pengalaman petugas serta pengetahuan yang mendalam tentang peralatan yang akan dipakai dan karakteristik jaringan yang akan dipotong. Pisau yang tajam akan menghasilkan preparat histologis yang baik, yang secara mikroskopis ditandai dengan tidak adanya berupa goresan vertikal maupun horizontal.

2.6 Staining/pewarnaan. Pemeriksaan rutin, dipergunakan teknik pewarnaan HE (*harris hematoxyline-cosin*). Pewarnaan khusus jamur digunakan teknik PAS, kuman tahan asam digunakan teknik *Ziehl-Neelsen*, badan inklusi digunakan teknik *Page Green*, *Chlamydia* digunakan teknik Pinkerton dan untuk deteksi virus digunakan teknik immunoperoksidase.

2.7 Mounting. Setelah jaringan pada slide diwarnai, dilakukan *mounting* dengan cara meneteskan bahan *mounting* (DPX, Entelan, Canada balsam) sesuai kebutuhan dan ditutup dengan *coverglass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung.

2.8 Pembacaan slide dengan mikroskop. Slide diperiksa di bawah mikroskop sinar. Semua lesi pada berbagai organ tubuh dicatat dan selanjutnya diinterpretasikan.

F. Organ Hati

Hepar atau hati adalah organ terbesar yang terletak di sebelah kanan atas rongga abdomen. Kondisi hidup hati berwarna merah tua karena kaya akan persediaan darah (Sloane 2004). Beratnya 1200-1800 gram, dengan permukaan atas terletak bersentuhan di bawah diafragma, permukaan bawah terletak bersentuhan di atas organ-organ abdomen. Batas atas hepar sejajar dengan ruang interkosta V kanan dan batas bawah menyerong ke atas dari iga IX kanan ke iga VIII kiri. Permukaan posterior hati berbentuk cekung dan terdapat celah transversal sepanjang 5 cm dari sistem porta hepatis (Amirudin 2009).

1. Struktur hati

Hati terbungkus oleh sebuah kapsul fibroelastik yang disebut kapsul Glisson dan secara makroskopik dipisahkan menjadi lobus kanan dan lobus kiri. Kapsul Glisson berisi pembuluh darah, pembuluh limfe, dan saraf. Kedua lobus hati tersusun oleh unit-unit yang lebih kecil disebut lobus. Lobus terdiri atas sel-sel hati (hepatosit), yang menyatu dalam suatu lempeng. Hepatosit dianggap sebagai unit fungsional hati. Sel-sel dapat melakukan pembelahan sel dan mudah diproduksi kembali saat dibutuhkan untuk mengganti jaringan yang rusak (Corwin 2009).

2. Fungsi hati

Hati adalah organ metabolik terbesar dan terpenting di tubuh. Organ ini penting bagi sistem pencernaan untuk sekresi empedu. Hati menghasilkan empedu sekitar satu liter per hari, yang diekskresi melalui duktus hepatikus kanan dan kiri yang kemudian bergabung membentuk duktus hepatikus komunis. Berbagai fungsi hati lainnya mencakup hal-hal berikut : Pengolahan metabolik kategori nutrisi utama (karbohidrat, lemak, protein) setelah penyerapan mereka dari saluran cerna. Detoksifikasi atau degradasi zat-zat sisa dan hormon serta obat dan senyawa asing lainnya. Sintesis berbagai protein plasma, mencakup protein-protein yang penting untuk pembekuan darah serta untuk mengangkut hormon tiroid, steroid dan kolesterol dalam darah. Penyimpanan glikogen, lemak, besi, tembaga dan banyak vitamin. Pengaktifan vitamin D, yang dilaksanakan oleh hati bersama dengan ginjal. Pengeluaran bakteri dan sel darah merah yang usang.

Ekskresi kolesterol dan bilirubin, yang merupakan produk penguraian yang berasal dari pemecahan sel darah merah yang sudah usang.

Hati merupakan komponen sentral sistem imun. Tiap-tiap sel hati atau hepatosit mampu melaksanakan berbagai tugas metabolik diatas, kecuali aktivitas fagositik yang dilaksanakan oleh makrofag residen atau yang lebih dikenal sebagai sel *kupffer* (Sherwood 2001). Sel *kupffer*, yang meliputi 15% dari massa hati serta 80% dari total populasi fagosit tubuh, merupakan sel yang sangat penting dalam menanggulangi antigen yang berasal dari luar tubuh dan mempresentasikan antigen tersebut kepada limfosit (Amiruddin 2009).

3. Histologi hati

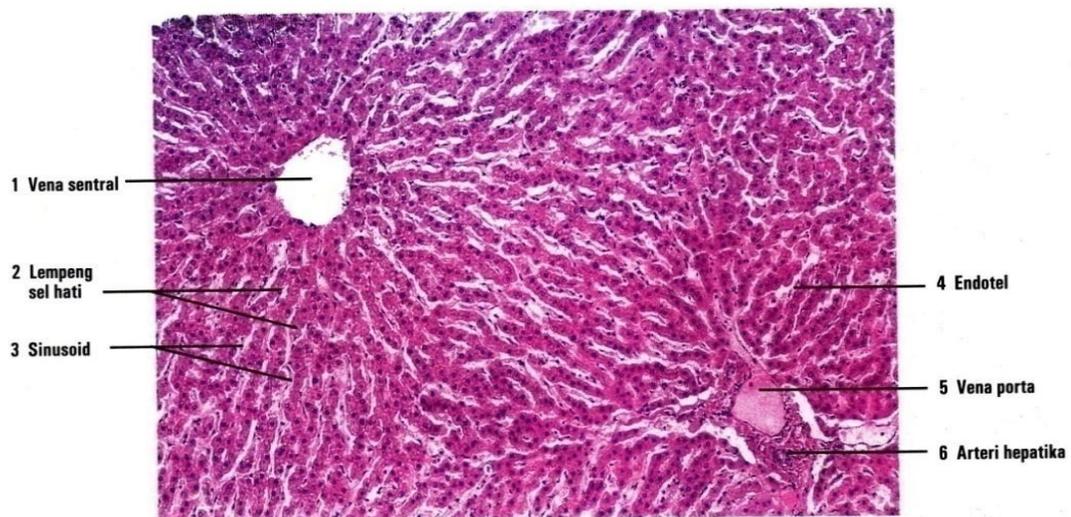
Histologi adalah ilmu yang mempelajari tentang struktur jaringan secara detail menggunakan mikroskop pada sediaan jaringan yang dipotong tipis, salah satu dari cabang-cabang biologi. Histologi amat berguna dalam mempelajari fungsi sel-sel dalam tubuh, baik manusia, hewan serta tumbuhan dalam bentuk histopatologi dan berguna dalam penegakan diagnosis penyakit yang melibatkan perubahan fungsi fisiologi dan deformasi organ.

Sel-sel yang terdapat di hati antara lain: hepatosit, sel endotel, dan sel makrofag yang disebut sebagai sel *kupffer*, dan sel *Ito* (sel penimbun lemak). Sel hepatosit berderet secara radier dalam lobus hati dan membentuk lapisan sebesar 1-2 sel serupa dengan susunan bata. Lempeng sel ini mengarah dari tepian lobulus ke pusatnya dan beranastomosis secara bebas membentuk struktur seperti labirin dan busa. Celah diantara lempeng-lempeng ini mengandung kapiler yang disebut sinusoid hati (Junquiera *et al.*, 2007).

Sinusoid hati adalah saluran yang berliku-liku dan melebar, diameternya secara tidak teratur, dilapisi sel endotel bertingkat yang tidak utuh. Sinusoid dibatasi oleh 3 macam sel, yaitu sel endotel (mayoritas) dengan inti pipih gelap, sel *kupffer* yang fagositik dengan inti ovoid, dan sel *stelat* atau sel *Ito* atau liposit hepatic yang berfungsi untuk menyimpan vitamin A dan memproduksi matriks ekstraseluler serta kolagen. Aliran darah di sinusoid berasal dari cabang terminal vena portal dan arteri hepatic, membawa darah kaya nutrisi dari saluran pencernaan dan juga kaya oksigen dari jantung (Junqueira *et al.*, 2007). Traktus

portal terletak di sudut-sudut heksagonal. Traktus portal, darah yang berasal dari vena portal dan arteri hepatic dialirkan ke vena sentralis.

Traktus portal terdiri dari 3 struktur utama yang disebut trias portal. Struktur yang paling besar adalah venula portal terminal yang dibatasi oleh sel endotel pipih. Kemudian terdapat arteriola dengan dinding yang tebal yang merupakan cabang terminal dari arteri hepatic, ductus biliaris yang mengalirkan empedu. (Junqueira *et al.*, 2007). Gambaran mikroskopis organ hati selengkapnya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Gambaran mikroskopik dengan perbesaran 30x hati manusia (Eroschenko 2010)

4. Hubungan hati dengan senyawa toksik

Hati merupakan organ tubuh yang penting untuk mendetoksifikasi zat kimia yang tidak berguna atau merugikan tubuh. Hati merupakan organ yang mempunyai kemampuan tinggi untuk mengikat zat-zat kimia atau melebihi organ-organ lain (Hernawati 2012). Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, setelah diserap, toksikan dibawa vena porta ke hati. Hati mempunyai banyak tempat pengikatan. Kadar enzim yang memetabolisme senyawa toksik dalam hati tinggi. Beberapa kasus toksikan diaktifkan sehingga dapat menginduksi lesi. Lesi hati bersifat sentrilobuler banyak dihubungkan dengan kadar sitokrom P450 yang lebih tinggi. Kadar glutathion yang relatif

rendah, dibandingkan dengan kadar glutathion di bagian lain dari hati, dapat juga berperan mengaktifkan toksikan (Hernawati 2012).

Kerusakan hati akibat bahan kimia (obat) ditandai dengan lesi awal yaitu lesi biokimiawi, yang memberikan rangkaian perubahan fungsi dan struktur (Bhara 2001). Perubahan struktur hepar akibat obat yang dapat tampak pada pemeriksaan mikroskopis antara lain :

4.1 Perlemakan hati (Steatosis). Perlemakan hati adalah hati yang mengandung berat lipid lebih dari 5%. Mekanisme yang paling umum adalah rusaknya pelepasan trigliserid hati ke plasma. Trigliserid hati hanya disekresi bila dalam keadaan tergabung dengan lipoprotein membentuk lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL) (Lu 2010). Perlemakan hati ini sering berpotensi menjadi penyebab kerusakan hati dan sirosis hati. Kelainan ini dapat timbul karena mengkonsumsi alkohol berlebih disebut ASH (Alcoholic Steatohepatitis), maupun bukan karena alkohol, disebut NASH (Non Alcoholic Steatohepatitis). Pemeriksaan yang dilakukan pada kasus perlemakan hati adalah terhadap enzim SGOT, SGPT dan Alkali Fosfatase (Depkes 2007).

4.2 Radang. Radang bukan suatu penyakit namun reaksi pertahanan tubuh melawan berbagai jejas. Pada mikroskop tampak kumpulan sel-sel fagosit berupa monosit dan polimorfonuklear (Sarjadi 2003).

4.3 Fibrosis. Fibrosis terjadi apabila kerusakan sel tanpa disertai regenerasi sel yang cukup. Kerusakan hati secara mikroskopis kemungkinan dapat berupa atrofi atau hipertrofi tergantung kerusakan mikroskopis (Sarjadi 2003).

4.4 Degenerasi. Degenerasi adalah perubahan morfologik akibat jejas yang non fatal dan perubahan tersebut masih dapat pulih (*reversibel*), tetapi apabila berlangsung lama dan derajatnya berlebih akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (nekrosis). Degenerasi terjadi akibat jejas sel dan kemudian baru timbul perubahan metabolisme. Pada pemeriksaan, luas degenerasi lebih penting daripada jenis degenerasi (Boya 2011).

4.5 Nekrosis. Nekrosis hati adalah kematian hepatosit. Nekrosis dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) atau masif. Biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut (Lu 2010). Ciri nekrosis adalah tampaknya fragmen

atau sel hepar nekrotik tanpa pulasan inti atau tidak tampaknya sel disertai rekasi radang. Kolaps atau bendungan angka hepar dengan eritrosit adalah tingkat lanjut dari degenerasi dan sifatnya tidak *reversibel*. Tampak atau tidaknya sisa sel hepar tergantung pada lama dan jenis nekrosis (Boya 2011).

4.6 Sirosis. Sirosis ditandai dengan adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian besar hati. Kumpulan hepatosit muncul sebagai nodul yang dipisahkan oleh lapisan berserat. Sirosis berasal dari nekrosis sel tunggal karena kurangnya mekanisme perbaikan. Kemudian keadaan ini menyebabkan aktivitas fibroblastik dan pembentukan jaringan perut. Tidak cukupnya aliran darah dalam hati menjadi faktor pendukung (Lu 2010).

4.7 Kolestasis dan Jaundice. Kolestasis merupakan keadaan akibat kegagalan produksi dan/atau pengeluaran empedu. Lamanya menderita kolestasis dapat menyebabkan gagalnya penyerapan lemak dan vitamin A, D, E, K oleh usus, juga adanya penumpukan asam empedu, bilirubin dan kolesterol di hati. Adanya kelebihan bilirubin dalam sirkulasi darah dan penumpukan pigmen empedu pada kulit, membran mukosa dan bola mata (pada lapisan sklera) disebut jaundice. Pada keadaan ini kulit penderita terlihat kuning, warna urin menjadi lebih gelap, sedangkan feses lebih terang. Biasanya gejala tersebut timbul bila kadar bilirubin total dalam darah melebihi 3 mg/dl. Pemeriksaan yang dilakukan untuk kolestasis dan jaundice yaitu terhadap Alkali Fosfatase, Gamma GT, Bilirubin Total dan Bilirubin Direk (Depkes 2007).

G. Pemeriksaan Fungsi Hati

1. Albumin

Albumin merupakan substansi terbesar dari protein yang dihasilkan oleh hati. Fungsi albumin adalah mengatur tekanan onkotik, mengangkut nutrisi, hormon, asam lemak, dan zat sampah dari tubuh. Apabila terdapat gangguan fungsi sintesis sel hati maka kadar albumin serum akan menurun (hipoalbumin) terutama apabila terjadi lesi sel hati yang lurus dan kronik. Penyebab lain hipoalbumin diantaranya terdapat kebocoran albumin di tempat lain seperti ginjal pada kasus gagal ginjal, usus akibat malabsorpsi protein, dan kebocoran melalui

kulit pada kasus luka bakar yang luas. Hipoalbumin juga dapat disebabkan intake kurang, peradangan, atau infeksi. Peningkatan kadar albumin sangat jarang ditemukan kecuali pada dehidrasi (Rosida 2016).

2. Globulin

Globulin merupakan unsur dari protein tubuh yang terdiri dari globulin alpha, beta, dan gama. Globulin berfungsi sebagai pengangkut beberapa hormon, lipid, logam, dan antibodi. Pada sirosis, sel hati mengalami kerusakan arsitektur hati, penimbunan jaringan ikat, dan terdapat nodul pada jaringan hati, dapat dijumpai rasio albumin : globulin terbalik. Peningkatan globulin terutama gama dapat disebabkan peningkatan sintesis antibodi, sedangkan penurunan kadar globulin dapat dijumpai pada penurunan imunitas tubuh, malnutrisi, malabsorpsi, penyakit hati atau penyakit ginjal (Rosida 2016).

3. Elektroforesis protein

Pemeriksaan elektroforesis protein adalah uji untuk mengukur kadar protein serum dengan cara memisahkan fraksi-fraksi protein menjadi 5 fraksi yang berbeda, yaitu alpha 1, alpha 2, beta dan gamma dalam bentuk kurva. Albumin merupakan fraksi protein serum yang paling banyak sekitar 2/3 dari total protein. Perubahan pola kurva albumin tersering adalah penurunan kadar albumin atau hipoalbuminemia, karena albumin memiliki rentang nilai rujukan yang besar maka penurunan ringan tidak akan terlihat. Fraksi alpha 1 globulin hampir 90% terdiri dari alpha 1 antitrypsin sisanya tersusun atas alpha 1 acid glycoprotein, alpha 1 acid antichymotrypsin, alpha fetoprotein, dan protein pengangkut seperti *cortisol binding protein* dan *thyroxine-binding globulin*. Alpha 1 globulin merupakan protein reaksi fase akut sehingga kadarnya akan meningkat pada penyakit inflamasi, penyakit degenerative, dan kehamilan. Alpha 2 globulin terdiri dari haptoglobulin, seruloplasmin, alpha 2 makroglobulin, dan alpha lipoprotein.

Peningkatan kadar haptoglobulin terjadi sebagai protein fase akut pada peradangan. Penurunan kadar haptoglobulin dapat dijumpai pada penyakit hati berat, anemia hemolitik intravaskular. Beta globulin terdiri dari beta 1 dan beta 2. Beta 1 terutama tersusun oleh transferrin, beta 2 tersusun oleh beta lipoprotein serta beberapa komponen komplemen. Penurunan pita beta dapat diakibatkan

penyimpanan serum terlalu lama, karena hilangnya beta 2, sedangkan peningkatan pita beta dapat disebabkan hiperkolestrolema LDL dan hipertransferinemia pada anemia. Peningkatan pada pita beta yang menyeluruh dihubungkan dengan kejadian sirosis hati alkoholik. Pada pita gamma globulin tersusun atas IgA, IgM, (85%), IgG, hemopexin, dan komplemen C3. Hipogamaglobulinemia fisiologis dapat dijumpai pada neoates.

Penurunan pita gamma globulin dapat disebabkan imunodefisiensi, pengobatan immunosupresif, kortikosteroid, dan kemoterapi. Pada myeloma tipe *light chain* dapat dijumpai hipogamaglobulinemia yang harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan protein Bence Jones di urin. Hipergamaglobulinemia dapat berupa penebalan pita yang difus atau poliklonal atau penebalan setempat (monoclonal) (Rosida 2016).

4. Masa protrombin (PT)

Pemeriksaan PT yang termasuk pemeriksaan hemostasis masuk ke dalam pemeriksaan fungsi sintesis hati karena hampir semua faktor koagulasi disintesis di hati kecuali faktor VII. PT menilai faktor I, II, V, VII, IX, dan X yang memiliki waktu paruh lebih singkat daripada albumin sehingga pemeriksaan PT untuk melihat fungsi sintesis hati lebih sensitif. Pada kerusakan hati berat maka sintesis faktor koagulasi oleh hati berkurang sehingga PT akan memanjang. Hal yang perlu diperhatikan ada beberapa faktor koagulasi yang tergantung vitamin K yaitu faktor II, VII, IX, dan X. Obstruksi bilier terjadi hambatan cairan empedu tidak sampai ke usus sehingga terjadi malabsorpsi lemak, akibatnya kadar vitamin yang larut dalam lemak vitamin A, D, E, K akan berkurang.

Kekurangan vitamin K menyebabkan sintesis faktor koagulasi yang tergantung vitamin K berkurang sehingga PT memanjang, untuk membedakan penyebab pemanjangan PT karena fungsi sintesis menurun atau karena kekurangan vitamin K dapat dilakukan penyuntikan vitamin K parenteral, apabila 1-3 hari setelah penyuntikan vitamin K parenteral PT menjadi normal berarti penyebab pemanjangan PT adalah kekurangan vitamin K, apabila PT tetap memanjang artinya kemungkinan terdapat obstruksi bilier (Rosida 2016).

5. Cholinesterase (CHE)

Pengukuran aktivitas enzim cholinesterase serum membantu menilai fungsi sintesis hati. Aktivitas cholinesterase serum menurun pada gangguan fungsi sintesis hati, penyakit hati kronik, dan hipoalbumin karena albumin berperan sebagai protein pengangkut cholinesterase. Penurunan cholinesterase lebih spesifik dibandingkan albumin untuk menilai fungsi sintesis hati karena kurang dipengaruhi faktor-faktor di luar hati. Hepatitis akut dan kronik cholinesterase menurun sekitar 30%-50%. Penurunan cholinesterase 50%-70% dapat dijumpai pada sirosis dan karsinoma yang metastasis ke hati. Pengukuran cholinesterase serial dapat membantu untuk menilai prognosis pasien penyakit hati dan monitoring fungsi hati setelah transplantasi hati (Rosida 2016).

6. Bilirubin

Bilirubin berasal dari pemecahan heme akibat penghancuran sel darah merah oleh sel retikuloendotel. Akumulasi bilirubin berlebihan di kulit, sklera, dan membran mukosa menyebabkan warna kuning yang disebut ikterus. Kadar bilirubin lebih dari 3 mg/dL biasanya baru dapat menyebabkan ikterus. Ikterus mengindikasikan gangguan fungsi hati, penyakit bilier, atau gabungan lainnya. Metabolisme bilirubin dimulai oleh penghancuran eritrosit setelah usia 120 hari oleh sistem retikuloendotel menjadi heme dan globin, globin akan mengalami degradasi menjadi asam amino dan digunakan sebagai pembentukan protein lain.

Heme akan mengalami oksidasi dengan melepaskan karbonmonoksida dan besi menjadi biliverdin. Biliverdin reduktase akan mereduksi bilirubin. Bilirubin tidak terkonjugasi dalam sel hati, akan dikonjugasi oleh asam glukuronat membentuk bilirubin terkonjugasi (bilirubin direk), kemudian dilepaskan ke saluran empedu dan saluran cerna, bilirubin terkonjugasi dihidrolisis oleh bakteri usus β -glucuronidas, sebagian menjadi urobilinogen yang keluar dalam tinja (sterkobilin) atau diserap kembali oleh darah lalu dibawa ke hati (siklus enterohepatik). Urobilinogen dapat larut dalam air, sehingga sebagian dikeluarkan melalui ginjal. Pemeriksaan bilirubin untuk menilai fungsi ekskresi hati di laboratorium terdiri dari pemeriksaan bilirubin serum total, bilirubin serum direk,

dan bilirubin serum indirek, bilirubin urin dan produk turunannya seperti urobilinogen dan urobilin di urin, serta sterkobilin dan sterkobilinogen di tinja.

Apabila terdapat gangguan fungsi eksresi bilirubin maka kadar bilirubin serum total meningkat. Kadar bilirubin serum yang meningkat dapat menyebabkan ikterik. Penyebab ikterus berdasarkan tempat dapat diklasifikasikan menjadi tiga yaitu prehepatik, hepatic, dan pasca hepatic (kolestatik). Peningkatan bilirubin prehepatik sering disebabkan karena penghancuran sel darah merah berlebihan. Bilirubin tidak terkonjugasi di darah tinggi sedangkan serum transaminase dan alkalin fosfatase normal, di urin tidak ditemukan bilirubin.

Peningkatan bilirubin akibat kelainan hepatic berkaitan dengan penurunan kecepatan penyerapan bilirubin oleh sel hati misalnya pada sindrom Gilbert, gangguan konjugasi bilirubin karena kekurangan atau tidak ada enzim glukoronil transferase misalnya karena obat-obatan atau sindrom Crigler-Najjar. Enzim hati akan meningkat sesuai penyakit yang mendasarinya, ikterus biasanya berlangsung cepat. Peningkatan bilirubin pasca hepatic akibat kegagalan sel hati mengeluarkan bilirubin terkonjugasi ke dalam saluran empedu karena rusaknya sel hati atau terdapat obstruksi saluran empedu di dalam hati atau di luar hati (Rosida 2016).

7. Asam empedu

Asam empedu disintesis di hati dan jaringan lain seperti asam empedu yang dihasilkan oleh bakteri usus, sebanyak 250-500 mg per hari asam empedu dihasilkan dan dikeluarkan melalui feses, 95 % asam empedu akan direabsorpsi kembali oleh usus dan kembali ke dalam siklus enterohepatik. Fungsi asam empedu membantu sistem pencernaan, absorbs lemak, dan absorbs vitamin yang larut dalam lemak. Pada kerusakan sel hati maka hati akan gagal mengambil asam empedu sehingga jumlah asam empedu meningkat. Pemeriksaan asam empedu sangat dipengaruhi oleh makanan sehingga sebelum melakukan pemeriksaan asam empedu sebaiknya puasa selama 8-12 jam. Terdapat 2 jenis asam empedu yaitu primer dan sekunder. Asam empedu primer disintesis di dalam sel hati sedangkan asam empedu sekunder merupakan hasil metabolisme oleh bakteri usus. Pada sirosis dijumpai penurunan sintesis asam empedu primer sehingga terjadi penurunan rasio antara asam empedu primer terhadap asam

amino sekunder, sedangkan pada kolestasis asam empedu sekunder tidak terbentuk sehingga terjadi peningkatan rasio asam empedu primer terhadap asam amino sekunder (Rosida 2016).

8. Fungsi detoksifikasi amonia

Pada keadaan normal di dalam tubuh ammonia berasal dari metabolisme protein dan produksi bakteri usus. Hati berperan dalam detoksifikasi ammonia menjadi urea yang akan dikeluarkan oleh ginjal. Gangguan fungsi detoksifikasi oleh sel hati akan meningkatkan kadar ammonia menyebabkan gangguan kesadaran yang disebut ensefalopati atau koma heptikum (Rosida 2016).

9. Pengukuran aktivitas enzim

Aktivitas enzim ALP digunakan untuk menilai fungsi kolestasis. Enzim ini terdapat di tulang, hati, dan plasenta. ALP di sel hati terdapat di sinusoid dan membran saluran empedu yang pelepasannya difasilitasi garam empedu, selain itu ALP banyak dijumpai pada osteoblast. Kadar ALP tergantung umur dan jenis kelamin. Aktivitas ALP lebih dari 4 kali batas atas nilai rujukan mengarah kelainan ke arah hepatobilier dibandingkan hepatoseluler. Enzim gamma GT terdapat di sel hati, ginjal, dan pankreas. Pada sel hati gamma GT terdapat di retikulum endoplasmik sedangkan di empedu terdapat di sel epitel. Peningkatan aktivitas GGT dapat dijumpai pada ikterus obstruktif, kolangitis, dan kolestasis. Kolestasis adalah kegagalan aliran empedu mencapai duodenum (Rosida 2016).

H. SGOT dan SGPT

Enzim transaminase meliputi enzim alanine transaminase (ALT) atau serum glutamate piruvattransferase (SGPT) dan aspartate transaminase (AST) atau serum glutamate oxaloacetate transferase (SGOT). Pengukuran aktivitas SGPT dan SGOT serum dapat menunjukkan adanya kelainan sel hati tertentu. Enzim ALT/SGPT terdapat pada sel hati, jantung, otot dan ginjal. Porsi terbesar ditemukan pada sel hati yang terletak di sitoplasma sel hati. AST/SGOT terdapat di dalam sel jantung, hati, otot rangka, ginjal, otak, pankreas, limpa dan paru. Kadar tertinggi terdapat di dalam sel jantung. AST 30% terdapat di dalam sitoplasma sel hati dan 70% terdapat di dalam mitokondria sel hati. Tingginya

kadar AST/SGOT berhubungan langsung dengan jumlah kerusakan sel. Kerusakan sel akan diikuti peningkatan kadar AST/SGOT dalam waktu 12 jam dan tetap bertahan dalam darah selama 5 hari. Peningkatan SGPT atau SGOT disebabkan perubahan permeabilitas atau kerusakan dinding sel hati sehingga digunakan sebagai penanda gangguan integritas sel hati (hepatoseluler).

Peningkatan enzim SGPT dan SGOT sampai 300 U/L tidak spesifik untuk kelainan hati saja, tetapi jika didapatkan peningkatan lebih dari 1000 U/L dapat dijumpai pada penyakit hati akibat virus, iskemik hati yang disebabkan hipotensi lama atau gagal jantung akut, dan kerusakan hati akibat obat atau zat toksin. Rasio De Ritis SGPT/ SGOT dapat digunakan untuk membantu melihat beratnya kerusakan sel hati.

Pada peradangan dan kerusakan awal (akut) hepatoseluler akan terjadi kebocoran membran sel sehingga isi sitoplasma keluar menyebabkan SGOT meningkat lebih tinggi dibandingkan SGPT dengan rasio SGPT/SGOT <0,8 yang menandakan kerusakan ringan. Pada peradangan dan kerusakan kronis atau berat maka kerusakan sel hati mencapai mitokondria menyebabkan peningkatan kadar SGOT lebih tinggi dibandingkan SGPT sehingga rasio SGPT/SGOT > 0,8 yang menandakan kerusakan hati berat atau kronis (Rosida 2016).

I. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus karena tikus memiliki kemiripan yang dekat dengan manusia. Tikus yang digunakan adalah tikus jantan putih galur Wistar berumur 6-8 minggu dengan berat 150-200 g.

1. Sistematika tikus

Sistematika tikus putih menurut Akbar (2010) sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Sub kelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha

Marga : Muridae
Sub family : Murinae
Genus : Ratus
Jenis : *Ratus norvegicus*

2. Spesies dan jumlah hewan uji

Sekurang-kurangnya digunakan dua jenis hewan, hewan pengerat dan bukan hewan pengerat. Biasanya dapat digunakan tikus dan anjing, dari dua jenis kelamin, sehat, dewasa, umur 5 sampai 6 minggu untuk tikus dan 4-6 bulan untuk anjing. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor hewan pengerat atau empat ekor anjing untuk setiap jenis kelamin. Bila pada percobaan akan dilakukan pengorbanan, maka jumlah hewan uji harus sudah dipertimbangkan sebelumnya (Harmita dan Radji 2005). Untuk uji tosisitas subkronis masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 10 ekor yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk setiap kelompok. Jika perlu dapat disediakan 2 kelompok tambahan (grup satelit) minimal 10 hewan per kelompok yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tinggi (BPOM 2014).

3. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji

Hewan pengerat digunakan ruangan dengan suhu 22°C ($\pm 30^{\circ}\text{C}$), kelembaban relatif 30% -70% dan penerangan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Untuk hewan bukan pengerat kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan disesuaikan dengan jenis hewan. Hewan dikelompokkan dalam kandang berdasarkan jenis kelamin. Ukuran kandang yang digunakan sesuai dengan jumlah hewan per kandang. Hewan diberi makanan hewan laboratorium yang sesuai, makanan dan minuman diberikan tanpa batas (Harmita dan Radji 2005).

4. Dosis uji

Sekurang-kurangnya digunakan tiga kelompok dosis dan satu kelompok kontrol untuk setiap jenis kelamin. Dosis dan jumlah kelompok dosis harus cukup, hingga dapat diperoleh dosis toksik dan dosis tidak berefek. Dosis toksik harus menyebabkan gejala toksik yang nyata pada beberapa hewan uji dan terjadinya kematian tidak boleh lebih dari 10%, sedang dosis tidak berefek tidak boleh

menyebabkan gejala toksik. Sebagai dosis toksik biasanya digunakan 10-20% dari harga LD50 dengan mempertimbangkan hasil yang diperoleh pada uji pendahuluan, tingkat dosis lain ditetapkan dengan faktor perkalian tetap 2 sampai 10 (Harmita & Radji 2005).

Bila pada dosis 1000 mg/kg berat badan tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi, meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai (BPOM 2014).

5. Cara pemberian dan lama pemberian zat uji

Pada dasarnya zat uji harus diberikan sesuai dengan cara pemberian atau pemaparan yang diharapkan pada manusia. Bila diberikan secara oral, dapat diberikan dengan menggunakan sonde atau secara *ad libitum* di dalam makanan atau minuman hewan. Bila zat uji akan dicampur dengan makanan atau minuman hewan, jumlah zat uji yang ditambahkan harus diperhitungkan berdasarkan jumlah makanan atau minuman yang dikonsumsi setiap hari. Pemberian zat uji dilakukan selama 28 sampai 90 hari atau 10% dari seluruh umur hewan. Diberikan tujuh hari dalam satu minggu (Harmita & Radji 2005).

6. Prosedur

Hewan diaklimatisasi di dalam ruangan percobaan selama kurang lebih tujuh hari. Hewan dikelompokkan sedemikian rupa sehingga penyebaran bobot tubuh merata untuk semua kelompok. Masing-masing hewan uji pada setiap kelompok, setiap hari harus diamati terhadap adanya gejala-gejala toksik, bobot tubuh ditimbang paling sedikit dua kali dalam seminggu. Makanan yang dikonsumsi oleh masing-masing hewan atau per kelompok ditimbang paling sedikit dua kali dalam satu minggu.

Hewan yang mati selama periode pemberian zat uji harus segera diotopsi, setiap organ dan jaringan diamati secara makropatologi, bila perlu dilakukan pemeriksaan histopatologi dan penimbangan organ tertentu. Hewan yang jelas-jelas sudah sekarat selama periode pemberian zat uji harus segera dikorbankan, diotopsi, setiap organ dan jaringan diamati secara makropatologi. Organ tertentu ditimbang, serta harus dilakukan pemeriksaan parameter hematologi, biokimia klinis, dan histopatologi.

Hewan yang hidup pada akhir periode pemberian hewan uji dikorbankan, diotopsi, dilakukan pengamatan makropatologi, penimbangan organ-organ tertentu dan pemeriksaan histopatologi pada setiap organ dan jaringan. Pemeriksaan parameter hematologi dan biokimia klinis harus dilakukan pada darah yang dikumpulkan pada saat pengorbanan hewan terhadap sebanyak mungkin parameter (Harmita & Radji 2005).

7. Parameter pengujian

Parameter hematologi yang diuji antara lain : jumlah eritrosit , jumlah leukosit, angka hematokrit, kadar hemoglobin, hitung jenis leukosit, tetapan darah MCV, MCH, MCHC. Parameter biokimia klinis yang diuji meliputi : protein total, albumin, nitrogen urea, kreatinin, bilirubin total, glukosa, kolesterol, fosfatase, alkalin, glutamat oksaloasetat transaminase, glutamat piruvat transaminase, laktat dehidrogenase, kolinesterase, kalsium, fosfor anorganik. Organ dan jaringan yang diperiksa secara histopatologi antara lain : kulit, kelenjar getah bening, kelenjar sumaksila, tulang dada, tulang paha, timus, trakea, paru-paru, dan bronki, jantung, pankreas, limpa, ginjal, kelenjar anak ginjal, kandung kemih, epididimis, testis/ovarium, uterus, otak, kelenjar tiroid dan paratiroid, lidah esofagus, lambung, duodenum, usus kecil/besar, hati, kelenjar pituitari, sumsum tulang belakang, organ atau jaringan lain yang menunjukkan perubahan secara makropatologi. Organ ditimbang dan organ yang berupa pasangan ditimbang bersamaan. Berdasarkan hasil pengamatan secara makropatologi, gejala-gejala klinis atau pertimbangan lain beberapa organ atau jaringan tidak perlu diuji (Harmita & Radji 2005).

Pengamatan terjadinya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekskresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misalnya berjalan mundur), kejang, salivasi, diare, lemas, tidur, dan koma dilakukan setiap hari selama 28 hari. Sedangkan untuk kelompok satelit pengamatan dilanjutkan selama 14 hari kemudian untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali dari pengaruh toksik (BPOM 2014).

8. Cara penggunaan hewan uji

Percobaan dengan menggunakan hewan tidak selalu diperoleh hasil yang tepat. Pelaksanaan yang tidak wajar terhadap hewan percobaan dapat memperbesar penyimpangan hasil percobaan. Penanganan hewan percobaan adalah dengan cara memperlakukan hewan percobaan secara baik dan sopan selama masa pemeliharaan maupun selama masa percobaan (Harmita & Radji 2005).

9. Mengorbankan hewan

Prinsipnya hewan uji dikorbankan sesuai dengan kaidah-kaidah cara dan teknik pengorbanan hewan sesuai dengan *ethical clearence* deklarasi Helsinki serta tidak mempengaruhi hasil uji toksisitas. *Eutanasi* adalah salah satu cara pengorbanan hewan uji dimana sebelum hewan uji dikorbankan, dilakukan anestesi terlebih dahulu. Hewan dipegang secara hati-hati tanpa menimbulkan rasa takut, lalu hewan dikorbankan dengan salah satu teknik mengorbankan hewan di suatu tempat terpisah dan dijaga agar tidak ada hewan hidup di sekitarnya. Teknik mengorbankan hewan uji ada beberapa antara lain dislokasi leher untuk hewan kecil seperti mencit, tikus, anestesi secara inhalasi atau penyuntikan dan pengeluaran darah melalui vena jugularis atau arteri karotis.

10. Pemberian tanda pada hewan

Hewan percobaan perlu diberi tanda untuk dapat dibedakan dengan yang lain. Dapat digunakan larutan 10% pikrat atau tinta atau pewarna lain. Tanda dapat diberikan berupa titik dan garis pada punggung atau ekor (Harmita & Radji 2005).

J. Landasan Teori

Rimpang temu putih dilaporkan bahwa dengan dosis 250, 500, dan 750 mg/kgBB mampu memberikan efek antidiare. Kandungan senyawa rimpang temu putih terdiri dari flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dimana senyawa efektif yang memiliki efek sebagai antidiare adalah tanin dan flavonoid (Golam *et al.*, 2017). Rimpang temu putih juga memiliki efek antiradang, antikanker, hepatoprotektif, dan insektisida (Windono *et al.*, 2002).

Beberapa kandungan yang terdapat dalam rimpang temu putih dikhawatirkan ketika dikonsumsi dalam jangka panjang, pemberian secara berulang, dan dosis yang belum dianjurkan dapat menimbulkan efek toksik pada organ tubuh. Pengujian yang dapat dilakukan untuk melihat efek toksik dari suatu senyawa yaitu dengan cara uji toksisitas. Penelitian Harun (2016) menunjukkan bahwa pemberian secara oral pada uji toksisitas akut ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap mencit putih dengan dosis 5000mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik.

Ekstrak kasar etanol memiliki nilai konsentrasi letal 50% (LC_{50}) sebesar 588ppm terhadap larva udang dan 215 ppm terhadap embrio ikan zebra. Pada embrio ikan zebra, pajanan ekstrak kasar etanol menyebabkan malformasi mayor pada perkembangan daerah kepala, yaitu organ otak dan mata. Senyawa aktif yang diduga berperan dalam ketoksikan ekstrak tersebut adalah epikurzerenon kurzerena, dan kurzerenon dengan senyawa yang dominan ialah 2,4,6-trimetilasetofenon (Kurnia 2015).

Penelitian Sumarny Ros *et al.*, (2014) mengatakan bahwa pada serbuk simplisia dan semua ekstrak rimpang temu putih mengandung senyawa golongan flavonoid dan saponin. Daya toksikan tertinggi terhadap larva *Artemia salina* diperoleh pada ekstrak n-heksana dengan nilai LC_{50} sebesar 66 bpj. Nilai IC_{50} tertinggi diperoleh pada perlakuan ekstrak n-heksana dengan nilai IC_{50} terhadap sel MDCK sebesar 81,6 bpj dan terhadap sel MCA-B1 sebesar 77,4 bpj.

Pemberian ekstrak cair rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) dengan dosis maksimum 10.000mg/lempeng dan dosis minimum 625mg/lempeng tidak menimbulkan efek metagenitas pada bakteri *Salmonella typhimurium* TA 100 (Lusia 2002).

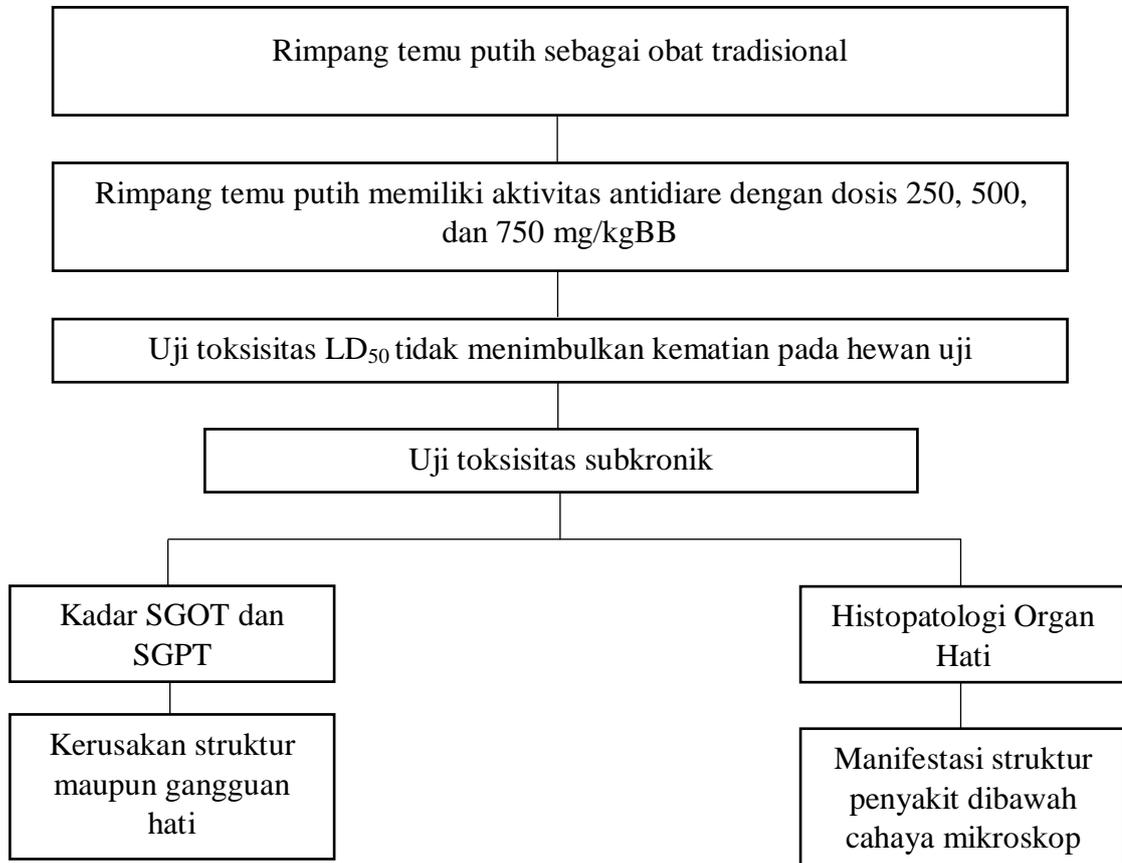
K. Hipotesis

Pertama, pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) selama 28 hari tidak menimbulkan efek toksik dengan parameter SGOT, SGPT, dan histopatologi hati tikus putih.

Kedua, dosis pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) selama 28 hari yang tidak dapat menimbulkan efek toksik dengan parameter SGOT, SGPT, dan histopatologi hati tikus putih.

L. Kerangka Pikir Penelitian

Bagan kerangka pikir penelitian dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kerangka pikir penelitian

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih yang diperoleh dari Desa Slahung, Kecamatan Slahung, Kabupaten Ponorogo, Jawa Timur.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang dilakukan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih yang diambil secara acak, dipilih yang bersih, dan segar diperoleh dari Desa Slahung, Kecamatan Slahung, Kabupaten Ponorogo, Jawa Timur pada bulan November 2017

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik dari rimpang temu putih dalam berbagai variasi dosis. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kadar SGOT dan SGPT serta gambaran histopatologi pada organ hati tikus putih galur wistar. Variabel ketiga dalam penelitian ini adalah hewan uji dan kondisi percobaan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik rimpang temu putih dalam berbagai varian dosis yang diberikan kepada tikus putih galur wistar yang diperoleh dengan cara maserasi ekstrak etanol 70% rimpang temu putih.

Variabel tergantung adalah variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek toksisitas subkronik ekstrak etanolik

rimpang temu putih terhadap organ hati melalui pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT, serta gambaran histopatologi hati.

Variabel terkontrol adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel terikat selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian adalah berat badan, usia, lingkungan tempat hidup dan perlakuan peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, rimpang temu putih merupakan tanaman segar yang diperoleh dari Desa Slahung, Kecamatan Slahung, Kabupaten Ponorogo, Jawa Timur.

Kedua, serbuk rimpang temu putih merupakan rimpang temu putih yang diambil, dan dicuci dengan air mengalir dilanjutkan pengeringan dengan cara dioven pada suhu 40-50 °C setelah kering dibuat serbuk dengan cara diblender kemudian diayak menggunakan ayakan no. 40.

Ketiga, ekstrak etanolik rimpang temu putih merupakan hasil maserasi ekstrak etanolik rimpang temu putih menggunakan pelarut etanol 70% dan diuapkan hingga didapat ekstrak kental.

Keempat, hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar. Tikus putih galur wistar yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kelima, dosis uji toksisitas subkronik yang digunakan adalah 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, kontrol negatif dan kelompok satelit.

Keenam, histopatologi adalah metode yang dipakai untuk mengamati efek toksik yang terjadi pada organ hepar setelah pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih secara oral 28 hari.

Ketujuh, efek toksisitas subkronik yang diamati merupakan peningkatan kadar SGOT dan SGPT darah tikus setelah pemberian kombinasi ekstrak etanol rimpang temu putih selama 28 hari.

Kedelapan, SGOT dan SGPT adalah parameter uji biokimia hepar yang digunakan untuk mengamati efek toksik yang terjadi setelah pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih selama 28 hari.

C. Bahan dan Alat

1. Alat

Alat yang digunakan untuk ekstraksi maserasi, dan partisi yaitu gelas piala, batang pengaduk, kain flannel, penangas air, botol coklat, blender, neraca analitik, timbangan, mesin serbuk, oven, ayakan, mortir, stamper. Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji adalah kandang tikus, spuit injeksi, dan jarum oral.

Alat yang digunakan untuk pengambilan darah, pengumpulan serum, pemeriksaan SGOT dan SGPT yaitu gunting, tabung sentrifuse, tabung reaksi, mikropipet, fotometer. Pemeriksaan histopatologi menggunakan mikrotom, *objekglass* mikroskop, *degglass*, dan seperangkat alat bedah, yang terdiri atas *scalpel*, pinset, gunting, jarum, dan meja bedah.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak rimpang temu putih sebagai zat aktifnya. Zat aktif diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina galur wistar usia 2-4 bulan dengan berat badan antara 120-200 gram.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dalam penelitian menetapkan kebenaran rimpang temu putih yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis yang dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Rimpang temu putih diperoleh dari Desa Slahung, Kecamatan Slahung, Kabupaten Ponorogo, Jawa Timur dalam keadaan segar. Pengambilan rimpang temu putih dilakukan saat rimpang masih segar. Rimpang yang telah dipanen kemudian dilakukan pencucian menggunakan air bersih dan ditiriskan. Rimpang dirajang halus, dikeringkan dengan oven pada suhu 40-50°C.

3. Pembuatan Serbuk

Rimpang temu putih yang telah dikeringkan, selanjutnya dibuat serbuk dengan cara digiling. Serbuk diayak menggunakan ayakan no. 40. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian.

4. Penetapan kadar air serbuk

Penetapan kadar air pada serbuk menggunakan alat *Steriling-Bidwell*. Cara kerja dari alat tersebut adalah serbuk ditimbang sebanyak 20 gram kemudian dimasukkan kedalam labu alas bulat pada alat *Steriling-Bidwell*, kemudian ditambahkan *xylene* sebanyak 100 ml dan dipanaskan sampai tidak ada tetesan air lagi. Selanjutnya dilihat volume tetesan dan dihitung kadarnya dalam satuan persen (Sudarmadji *et al.*, 2003). Penetapan kadar air digunakan untuk menjaga mutu dan khasiat serbuk tetap terjaga, serta untuk mengetahui kelayakan sampel dalam pengujian. Kadar air yang ditentukan kurang dari 10%.

5. Pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih

Ekstraksi pada penelitian ini adalah menggunakan metode maserasi, yaitu dengan cara serbuk rimpang temu putih sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam bejana kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 5000 ml. Maserasi dilakukan selama \pm 5 hari dengan penggojokkan 3-5 kali sehari. Campuran tersebut lalu disaring dengan menggunakan kain flanel sehingga didapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.

6. Identifikasi senyawa ekstrak etanolik rimpang temu putih

Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan dalam ekstrak rimpang temu putih. Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk menetapkan keberadaan senyawa kimia dalam ekstrak rimpang temu putih. Identifikasi kandungan senyawa kimia dalam ekstrak etanolik meliputi senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.

6.1 Identifikasi flavonoid. Ekstrak kental 0,5 g dilarutkan dalam etanol kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Serbuk Mg dan HCl pekat ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Hasil tersebut ditambah amil alkohol

dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Bila terdapat flavonoid maka akan terbentuk warna merah atau coklat pada lapisan amil alkohol (Depkes 1995)

Senyawa flavonoid dapat diidentifikasi melalui kromatografi lapis tipis dengan menggunakan fase gerak eluen heksan : etil asetat : asam formiat dengan perbandingan (6 : 4 : 0,2). Pengamatan dilakukan dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm (Depkes 1995).

6.2 Identifikasi saponin. Ekstrak kental 0,5 g dicampur dengan 10 ml air panas kemudian didinginkan dan dikocok hingga muncul buih. Larutan didiamkan selama 2 menit kemudian ditetaskan HCl 2N, bila terdapat saponin dalam ekstrak maka akan terbentuk buih mantap selama 10 menit (Depkes 1995).

6.3 Identifikasi alkaloid. Sampel sebanyak 3 mL diletakkan dalam cawan porselen kemudian ditambahkan 5 mL HCl 2 M dan 5 mL aquades, lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit. Dinginkan sampel pada temperatur kamar dan disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi 3 bagian A, B, dan C. Filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambah pereaksi Mayer, reaksi positif jika terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning (Agustina 2016).

6.4 Identifikasi tanin. Ekstrak sampel ditambah metanol sampai sampel terendam semuanya, kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman atau hijau kehitaman (Minarno 2015). Eluen yang digunakan dalam identifikasi adalah n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5), bercak diamati dengan sinar ultraviolet pada panjang 254 nm dan 366 nm (Hayati *et al.*, 2010).

7. Uji toksisitas subkronis singkat

7.1 Persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih galur wistar dengan berat 120-200 gram, berumur 2-4 bulan sebanyak 50 ekor tikus putih. Tikus ditimbang dan diberi tanda pengenal untuk membedakan dengan yang lain, dilakukan pengambilan darah untuk analisa SGOT dan SGPT sebelum diberi perlakuan. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing 10 ekor. Kelompok kedua, ketiga, dan keempat sebagai kelompok uji. Kelompok kelima sebagai kelompok satelit. Hewan uji tikus didapat dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi. Hewan yang digunakan

sebelumnya diadaptasi dengan lingkungan Universitas Setia Budi selama 1 minggu. Hewan uji tersebut dipuasakan terlebih dahulu selama 8-24 jam dengan diberi air minum. Suhu dan kelembaban relatif kandang harus diperhatikan. Setelah semua dipersiapkan, dilanjutkan dengan pemberian zat uji.

7.2 Perhitungan besar sampel. Besar sampel keseluruhan yang digunakan dalam peneltilian ini adalah 50 ekor. Masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan 10 ekor yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk setiap kelompok dosis, dan 1 kelompok tambahan (grup satelit) 10 hewan per kelompok yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tinggi (BPOM 2014).

7.3 Perhitungan dosis dan penyesuaian dosis uji. Dosis etanol rimpang temu putih yang digunakan adalah dosis yang diambil dari ekstrak rimpang temu putih sebagai antidiare pada penelitian sebelumnya 250 mg/kgBB (Golam *et al.*, 2017). Dosis yang diberikan pada hewan uji pada penelitian ini adalah 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB. Bila pada dosis 1000 mg/kgBB tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi, meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai (BPOM 2014). Tikus putih galur wistar yang telah dipuasakan dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdapat 5 ekor hewan uji yang terdiri dari tikus putih jantan. Kelompok I diberikan Na CMC 0,5% secara oral sebagai kontrol negatif, dosis ekstrak etanol rimpang temu putih digunakan pada, kelompok II diberikan ekstrak rimpang temu putih 250 mg/kg BB secara oral, kelompok III diberikan ekstrak rimpang temu putih 500 mg/kg BB secara oral, kelompok IV diberikan ekstrak rimpang temu putih dosis tinggi yaitu 1000 mg/kg BB secara oral. Kelompok V sebagai kelompok satelit diberi ekstrak rimpang temu putih dengan dosis tinggi yaitu 1000 mg/kg BB.

7.4 Pengamatan berat badan. Selama penelitian dilakukan pengamatan berat badan hewan uji. Penimbangan tikus dilakukan seminggu dua kali. Hewan ditimbang setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan. Jumlah makanan yang dikonsumsi ditimbang dua hari sekali (BPOM 2014).

7.5 Pengamatan gejala toksik. Pengamatan terjadinya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekskresi perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misalnya berjalan mundur), kejang, dan sebagainya dilakukan setiap hari selama 28 hari. Kelompok satelit pengamatan dilanjutkan selama 14 hari kemudian untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali dari pengaruh toksik (BPOM 2014).

7.7 Pengamatan makropatologi. Hewan yang telah dikorbankan harus segera diotopsi dan dilakukan pengamatan secara makropatologi secara seksama untuk setiap organ. Organ yang diamati yaitu hati, ginjal, paru-paru, jantung, limfa, dan lambung.

7.8 Penimbangan Organ. Organ yang akan ditimbang harus dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan bobot organ absolut. Bobot organ relatif dapat diperoleh dengan rumus berikut :

$$\text{Bobot organ relatif} = \frac{\text{bobot organ absolut}}{\text{bobot badan}}$$

8. Pemeriksaan aktifitas SGOT dan SGPT

Pada awal dan akhir percobaan darah diambil untuk pemeriksaan biokimia klinik SGOT dan SGPT. Pemeriksaan dilakukan sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji untuk mengetahui ada atau tidak pengaruh ekstrak etanolik rimpang temu putih terhadap fungsi hati. Darah diambil menggunakan alat suntik steril sebanyak 3-5 ml, satu alat suntik digunakan untuk satu hewan dan dijaga agar tidak terkena air untuk menghindari terjadinya hemolisa. Darah dimasukkan kedalam tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar selama 1 menit, kemudian segera disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 300 rpm. Pengujian aktivitas SGOT dan SGPT pada hewan uji dilakukan secara fotomerik dan panjang gelombang 340 nm, tebal kuvet 1 cm pada temperatur 37°C. Penetapan kadar SGOT/SGPT dapat dilihat pada **tabel 1**.

Tabel 1. Penetapan Kadar SGOT/SGPT

Prosedur	Pada suhu 37°C
Sampel/Serum	100 μ l
Reagen kerja	1000 μ l
Dicampur lalu didiamkan selama 1 menit kemudian dibaca pada panjang	

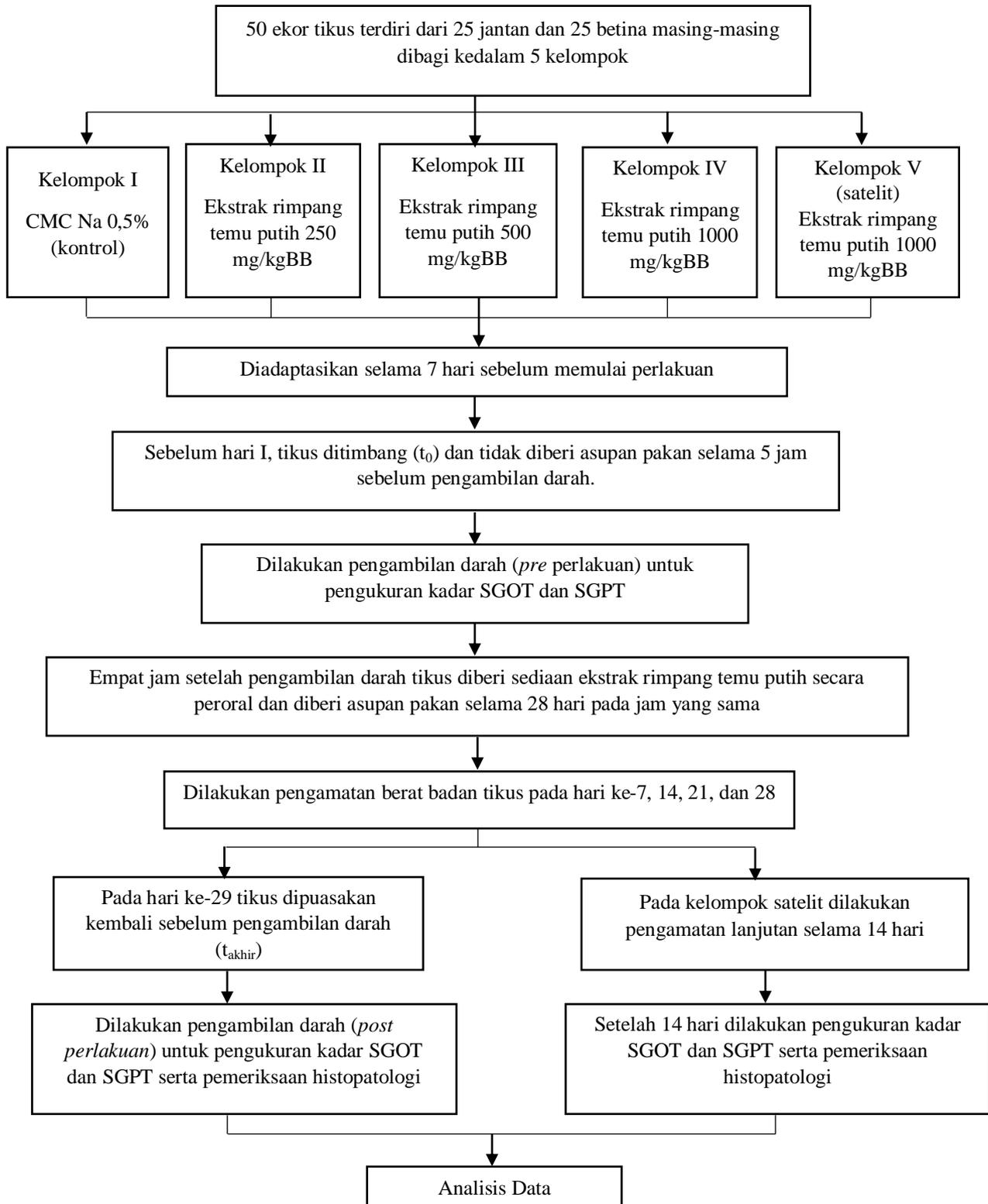
Aktivitas SGOT dan SGPT yang dihitung dinyatakan dalam Unit/Liter dan dihitung pada masing-masing kelompok tikus. Makin kuat daya hepatoprotektor bahan uji, makin besar kemampuan untuk mempertahankan aktivitas aminotransferase. Semakin tinggi kadar SGOT dan SGPT maka akan semakin tinggi tingkat kerusakan hati. Pengujian aktivitas SGOT dan SGPT pada hewan uji dilakukan kesimpulan secara fotometrik dengan metode kinetik GPT-ALAT (*Alanin Amino Transferase*) dan GPT-ASAT (*Aspartat Amino Transferase*).

9. Pembuatan preparat histopatologi

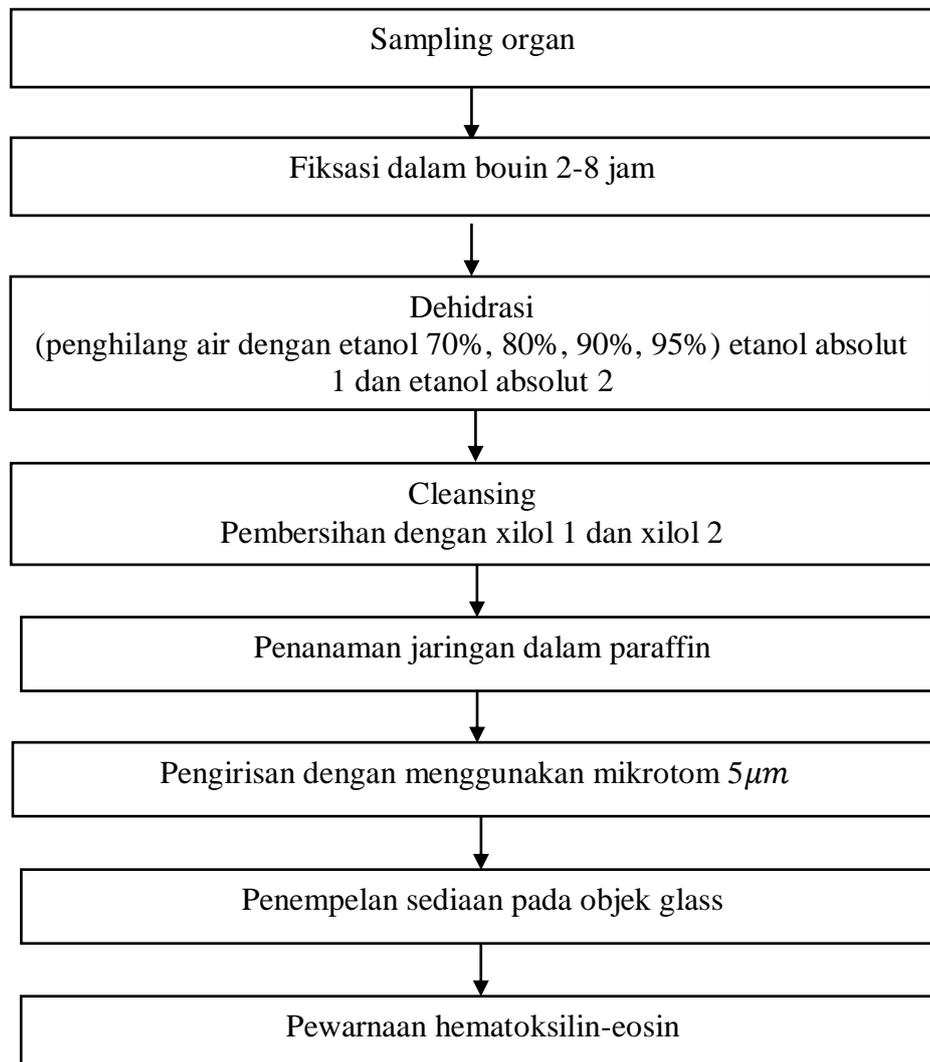
Pada hari ke 28 semua hewan uji dibedah kemudian diambil hatinya. Jaringan yang diambil difiksasi dengan *Bouin* bertujuan agar preparat tidak rusak (posisinya bergeser, membusuk, atau rusak). Pertama, jaringan yang telah terfiksasi dimasukkan ke dalam larutan etanol bertingkat, dengan kadar etanol 70-100% untuk menghilangkan air dalam jaringan (dehidrasi), selanjutnya jaringan dipindahkan ke dalam *xylene* untuk menghilangkan etanol (dealkoholisasi). Kedua, jaringan dimasukkan ke dalam paraffin panas yang menginfiltrasi jaringan berlangsung selama 12-16 jam. Setelah jaringan mengeras dilakukan pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan jaringan 3-5 mikrometer.

Tahap selanjutnya adalah pengecatan, lapisan tersebut diletakkan di atas kaca objek untuk dilakukan pengecatan. Pewarnaan yang digunakan adalah *hematoxylin* dan *eousin* memberikan warna merah muda pada sitoplasma (Suntoro 1983). Tahap akhir, menutup permukaan preparat dengan kanada balsam. Pembuatan preparat histopatologi sel hati dilakukan oleh Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada. Skema alur penelitian dapat dilihat pada gambar 3, sedangkan skema pembuatan preparat histopatologi dapat dilihat pada gambar 4.

E. Skema Alur Penelitian



Gambar 3. Skema jalannya penelitian



Gambar 4. Skema pembuatan preparat histopatologi hati

F. Analisis Data

Data yang diperoleh adalah data kuantitatif yang berasal dari penimbangan berat badan dan hasil pemeriksaan biokimia klinis kadar SGOT dan SGPT hewan uji. Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (*Kolmogorov smirnov*). Data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan data tidak terdistribusi tidak normal ($p < 0,05$). Kedua, untuk melihat apakah data tersebut memiliki homogenitas varian yang sama atau tidak yaitu dengan menggunakan uji *Levene*. Analisa hasil data presentase kerusakan organ hati

dilanjutkan dengan uji parametrik (*One Way ANOVA*) untuk mengetahui perbedaan yang bermakna diantara kelompok perlakuan. Apabila hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan ($p > 0,05$) memiliki arti bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan (hasil normal), sedangkan jika hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan ($p < 0,05$) memiliki arti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan (hasil tidak normal).

Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc*. Apabila terdapat perbedaan yang bermakna untuk mengetahui kelompok-kelompok yang memiliki perbedaan tersebut.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tumbuhan Temu Putih

1. Determinasi Tumbuhan Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)

Determinasi tumbuhan temu putih dilakukan sebelum sampel digunakan dalam penelitian. Determinasi dari suatu tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, sehingga menghindari kemungkinan terjadinya kesalahan dalam pengumpulan sampel dengan membandingkan ciri morfologi tumbuhan temu putih terhadap literatur yang ada. Tumbuhan temu putih *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe yang digunakan untuk penelitian ini dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta. Kunci determinasi tumbuhan temu putih adalah sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338a-339b-340a_____ **207. Zingiberaceae** 1a-2b-6b-7a_____ **12. Curcuma** 1b-4b-6a_____ *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe. Hasil determinasi selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan Bahan dan Pembuatan Serbuk Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)

Bagian temu putih yang diambil yaitu bagian rimpang temu putih yang masih segar, yang telah dikumpulkan dari bulan November 2017. Rimpang temu putih dibersihkan untuk menghilangkan kotoran yang selanjutnya dikeringkan. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan yang dapat menurunkan mutu. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan partikel kontak dengan pelarut.

2.1 Persentase bobot kering terhadap bobot basah rimpang temu putih. Hasil penimbangan berat basah rimpang temu putih adalah 10 kg dan berat kering rimpang temu putih adalah 2,5 kg dari data tersebut diperoleh persentase berat basah terhadap berat kering adalah 25%. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah rimpang temu putih

Berat Basah (Kg)	Berat Kering (Kg)	Persentase (%)
10	2,5	25%

2.2 Penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih. Perhitungan kadar air serbuk rimpang temu putih dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan cairan pembawa *Xylene*, karena *Xylene* memiliki titik didih lebih tinggi dari pada air dan sukar larut dalam air sehingga mudah dalam penetapan kadar air. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih

Serbuk Rimpang Temu Putih (gram)	Volume Terbaca (ml)	Kadar Air (%)
20,3460	1,6	7,86
20,6792	1,8	8,70
20,2685	1,6	7,89
Persentase rata-rata		8,15 ± 0,57

Menurut Farmakope Herbal Indonesia, kadar air rimpang temu putih adalah tidak lebih dari 14%. Hasil rata-rata kadar air pada penelitian ini adalah 8,33% artinya kadar air tersebut sesuai dengan literatur. Berdasarkan literatur lain menyebutkan bahwa kadar air yang ditentukan kurang dari 10%. Kadar air yang melebihi 10% dapat menyebabkan serbuk yang akan digunakan tidak stabil dalam penyimpanan, terjadi pembusukkan akibat tumbuhnya jamur dan bakteri serta terjadi perubahan pada zat kimia yang terkandung sehingga menurunkan kualitas simplisia (BPOM 2014). Perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 11.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih

Ekstrak etanol dibuat dengan mengekstraksi serbuk rimpang temu putih melalui metode maserasi, dipilih untuk meminimalisir senyawa metabolit sekunder yang dapat rusak oleh pemanasan. Ekstrak cair yang dihasilkan

kemudian dipisahkan dengan *rotary evaporator* untuk memperoleh komponen zat aktif, yang terdapat pada rimpang temu putih dan menghilangkan pelarut yang digunakan, hingga menghasilkan ekstrak kental. Hasil pembuatan ekstrak rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil pembuatan ekstrak rimpang temu putih

Serbuk (gram)	Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	50,3	10,06%

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan. Ekstrak rimpang temu putih yang diperoleh dari 500 gram serbuk rimpang temu putih adalah 50,3 gram dengan rendemen 10,06%. Nilai rendemen digunakan untuk mengetahui nilai ekonomis suatu produk atau bahan. Semakin tinggi nilai rendemennya, maka semakin tinggi pula nilai ekonomisnya sehingga pemanfaatannya dapat menjadi lebih efektif (Yunita *et al.*, 2012). Hasil perhitungan rendemen pembuatan ekstrak rimpang temu putih dapat dilihat pada lampiran 12.

4. Identifikasi pemeriksaan organoleptis ekstrak

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh adalah berupa ekstrak kental, berwarna kuning kecoklatan yang memiliki bau khas, memiliki rasa pahit. Hasil identifikasi organoleptis dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi organoleptis

Jenis pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Kuning kecoklatan
Bau	Khas rimpang temu putih
Rasa	Pahit

Identifikasi organoleptis merupakan identifikasi yang menggunakan panca indra untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak. Tujuannya adalah untuk melakukan pengenalan awal yang sederhana dan obyektif.

5. Identifikasi kandungan kimia

a. Uji fitokimia

Hasil identifikasi senyawa aktif golongan flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid dari ekstrak etanol rimpang temu putih memperlihatkan perubahan warna sesuai dengan literatur. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi ekstrak etanol rimpang temu putih

Golongan	Pengamatan Hasil	Inteprestasi Data
Flavonoid	Ekstrak + Mg + HCl _(p) + Amil alkohol → dikocok kuat hingga memisah → warna merah (Depkes 1995)	+
Saponin	Ekstrak + Aquadest → dikocok hingga muncul buih → + HCl Buih tetap (Depkes 1995)	+
Tanin	Ekstrak + Metanol + FeCl ₃ → hijau kehitaman (Minarno 2015)	+
Alkaloid	Ekstrak + HCl + Aquadest → dipanaskan + pereaksi Mayer → Endapan putih (Agustina 2016)	+

Hasil identifikasi senyawa golongan flavonoid pada ekstrak rimpang temu putih menunjukkan hasil positif, ditandai dengan terbentuknya cincin merah dikarenakan adanya reduksi flavonoid oleh Mg serta terbentuknya garam flavilium (Minarno 2015).

Uji saponin pada penelitian ini menunjukkan hasil positif, ditandai dengan timbulnya busa. Busa yang terbentuk menunjukkan adanya glikosida yang mampu membentuk buih dalam air. Senyawa glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan aglikon (Kurniawati 2015).

Tanin merupakan senyawa polifenol, terbentuknya warna hijau kehitaman setelah ditambahkan dengan FeCl₃, dikarenakan senyawa fenol yang terkandung akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺ (Abdillah *et al.*, 2017).

Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Ergina *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa hasil uji tabung menunjukkan ekstrak etanol rimpang temu putih mengandung senyawa aktif flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Gambar hasil identifikasi ekstrak etanol rimpang temu putih dapat dilihat pada lampiran 8.

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi dengan metode KLT bertujuan untuk membuktikan kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol rimpang temu putih secara spesifik. Hasil uji KLT dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak etanol rimpang temu putih

Senyawa	Fase Diam	Fase Gerak	Penampak Noda	Pembanding	Hasil
Flavonoid	Silika gel GF ₂₅₄	Heksan : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2)	uap amoniak	Quersetin	+
Tanin	Silika gel GF ₂₅₄	n-butanol : asam : air (4 : 1 : 5)	FeCl ₃	Asam galat	+

Ekstrak rimpang temu putih dilakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT) untuk lebih menegaskan hasil yang didapat dari uji tabung. Proses identifikasi dengan menggunakan KLT dapat terjadi karena adanya pemisahan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut/eluen yang digunakan. Paparan sinar UV 254 nm, lempeng akan berflouresensi dan sampel akan tampak berwarna gelap, sedangkan pada sinar 366 nm noda yang akan berflouresensi dan lempeng akan berwarna gelap (Fajriaty *et al.*, 2017).

Hasil pengamatan pada UV 366 nm, plat KLT menunjukkan ekstrak etanol rimpang temu putih mengandung senyawa golongan flavonoid dengan adanya bercak berwarna kuning, dan senyawa golongan tanin pada uv 366 nm, plat KLT menghasilkan bercak berwarna lembayung (Hayati 2010). Pembanding senyawa golongan flavonoid yang digunakan dalam penelitian ini adalah quersetin yang menunjukkan nilai $R_f = 0,41$, sedangkan sampel yang digunakan menunjukkan nilai $R_f = 0,41$, dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang temu putih positif mengandung senyawa golongan flavonoid karena dilihat dari R_f yang sama yaitu 0,41. Pembanding senyawa golongan tanin yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam galat yang menunjukkan nilai $R_f = 0,88$, sedangkan sampel yang digunakan menunjukkan nilai $R_f = 0,88$, dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang temu putih positif mengandung senyawa golongan tanin. Perhitungan nilai R_f dapat dilihat pada lampiran 9.

Menurut Lipsy (2010) bila identifikasi nilai R_f memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik yang sama atau mirip. Kesimpulan dari hasil uji KLT menegaskan bahwa dalam ekstrak etanol rimpang temu putih mengandung senyawa golongan flavonoid dan tanin.

B. Uji Toksisitas Subkronik

1. Penyiapan hewan uji dan perhitungan dosis

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan dan betina galur Wistar masing-masing sebanyak 25 ekor. Hewan uji diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta pada bulan Januari 2017. Surat keterangan hewan uji dapat dilihat pada lampiran 3.

Setiap tikus ditimbang dan diberi pengenalan. Tikus diadaptasikan terlebih dahulu terhadap lingkungannya. Selanjutnya tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan. Dosis yang diberikan pada hewan uji berdasarkan dosis yang digunakan sebagai dosis terapi anti diare dari dosis terendah yang dapat menimbulkan efek terapi, hingga dosis terbesar yang diduga mampu memberikan efek toksisitas apabila digunakan secara subkronik. Perhitungan dosis dan volume pemberian sediaan ekstrak rimpang temu putih dapat dilihat pada lampiran 13 dan lampiran 14.

2. Hasil pengamatan berat badan hewan uji

Perubahan berat badan merupakan salah satu kriteria pengamatan pada uji toksisitas subkronik untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh ekstrak terhadap berat badan hewan uji, serta untuk menentukan volume pemberian tiap hewan uji. Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap 7 hari sekali untuk mengetahui apakah terjadi perubahan berat badan yang signifikan antara kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Rata-rata berat badan hewan uji dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil analisa rata-rata berat badan tikus jantan dan betina

Jenis hewan	Klp	Berat badan tikus jantan dan betina				
		Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	Hari ke-28
Jantan	K1	170 ± 27,39	170,4 ± 27,03	170,8 ± 25,82	173,2 ± 27,51	175,4 ± 27,13
	K2	156 ± 28,81	157,2 ± 27,11	157 ± 23,61	155,6 ± 23	155,4 ± 21,3
	K3	156 ± 25,1	156 ± 25,1	154,8 ± 23,7	152,4 ± 22,35	150,2 ± 22,11
	K4	148 ± 32,71	148,2 ± 30,54	146,6 ± 30,62	145,6 ± 31,33	143 ± 31,5
	K5	148 ± 32,71	147 ± 29,71	144,2 ± 27,6	141 ± 26,1	143,2 ± 24,72
Betina	K1	172 ± 21,68	172,6 ± 20,51	173,4 ± 18	174 ± 15,12	174,6 ± 14
	K2	176 ± 16,73	175 ± 17,1	172,8 ± 16,5	170,4 ± 16,3	168 ± 16,5
	K3	174 ± 25,1	173,2 ± 23,3	172 ± 20,7	171 ± 17,62	170 ± 16,32
	K4	160 ± 22,4	160,2 ± 22,03	159,8 ± 22,43	157,8 ± 23,2	155,6 ± 23,8
	K5	156 ± 8,94	153 ± 9,2	152 ± 8,1	150 ± 8,72	148,8 ± 9,31

Keterangan :

K1 : Kontrol negatif (CMC)

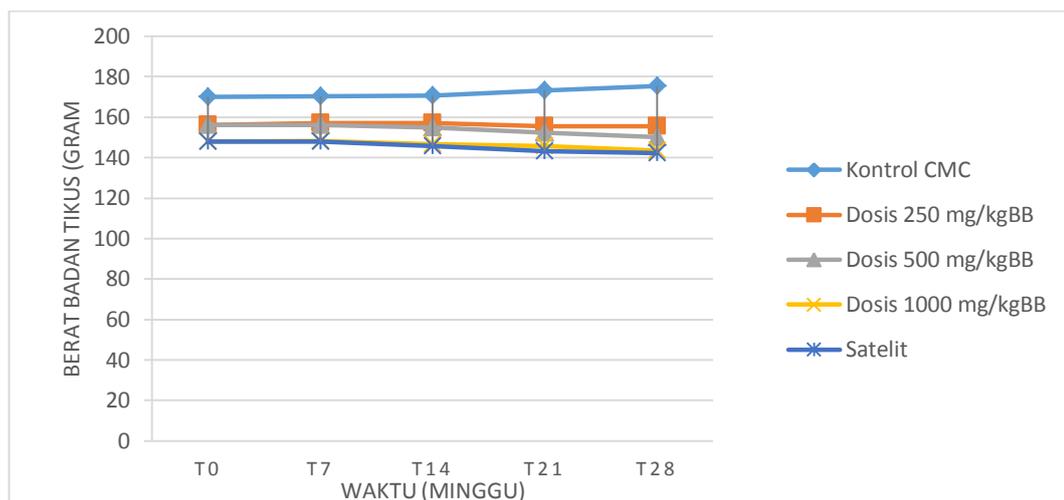
K2 : Dosis 250 mg/kgBB

K3 : Dosis 500 mg/kgBB

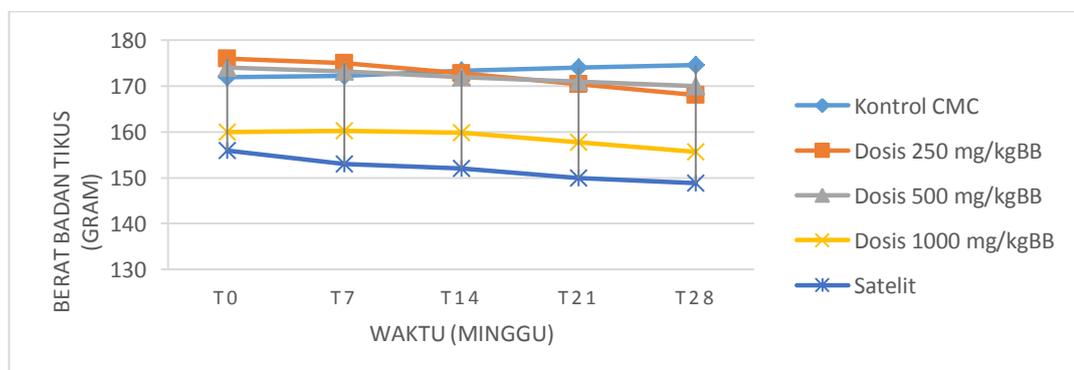
K4 : Dosis 1000 mg/kgBB

K5 : Satelit

Berdasarkan tabel 9 dapat diketahui bahwa terjadi penurunan berat badan tikus jantan dan tikus betina pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28. Penurunan berat badan terjadi hanya pada kelompok hewan uji yang diberikan ekstrak etanol rimpang temu putih. Kelompok hewan uji yang diberikan CMC mengalami peningkatan berat badan. Grafik perubahan rata-rata berat badan tikus jantan dan betina tiap minggu dapat dilihat pada gambar 5 dan gambar 6.



Gambar 5. Grafik rata-rata berat badan tikus jantan



Gambar 6. Grafik rata-rata berat badan tikus betina

Berdasarkan grafik di atas maka dapat diketahui bahwa terjadi penurunan berat badan tikus jantan dan betina pada kelompok yang diberikan ekstrak

rimpang temu putih setiap minggunya. Kandungan senyawa yang terdapat dalam rimpang temu putih meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Tanin bekerja dengan cara menghambat enzim lipase pankreas sehingga lipid lebih sedikit yang diabsorpsi oleh tubuh. Berdasarkan penelitian Putri *et al.*, (2016) disebutkan bahwa tanin dapat menghambat penyerapan lemak di usus dengan cara bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus sehingga mengurangi penyerapan makanan. Faktor lain terjadi penurunan berat badan pada hewan uji adalah adaptasi lingkungan dan memburuknya nafsu makan pada hewan uji.

Data dari pengamatan berat badan hewan uji dianalisis signifikasinya. Hasil uji yang didapat dengan menggunakan *Kolmogorov smirnov* menunjukkan data terdistribusi normal ($p>0,05$), kemudian dilakukan uji homogenitas varian dengan menggunakan uji *Levene* menunjukkan data memiliki varian yang homogen ($p>0,05$). Data penurunan berat badan dapat dilanjutkan dengan uji varian satu arah (*One Way ANOVA*). Hal ini bertujuan untuk melihat apakah terdapat pengaruh pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang temu putih yang dibandingkan dengan kelompok kontrol CMC. Hasil dari analisis berat badan tikus jantan dan betina terhadap kelompok perlakuan menunjukkan hasil tidak berbeda bermakna ($p>0,05$) yang berarti berat badan masing-masing kelompok perlakuan tidak ada perbedaan secara bermakna dengan kontrol CMC.

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil analisis di atas bahwa pemberian ekstrak rimpang temu putih tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap berat badan tikus jantan dan betina dengan variasi dosis yang berbeda. Data berat badan dapat dilihat pada lampiran 15, sedangkan hasil analisa statistik dapat dilihat pada lampiran 16.

3. Hasil pengamatan makropatologi

Hewan uji yang telah diberikan perlakuan ekstrak etanol rimpang temu putih dibedah dan dilihat organ hatinya secara makropatologi. Pengamatan organ hati dilakukan untuk melihat adanya perubahan pada organ, baik warna, bentuk, dan ada tidaknya perlemakan hati. Hewan uji pada kelompok CMC, dosis 250, 500, 1000 mg/kgBB, dibedah pada hari ke-28, sedangkan untuk kelompok satelit dibedah pada hari ke-42. Hasil pengamatan warna pada setiap organ hati,

cenderung memiliki warna yang sama seperti warna hati normal, memiliki permukaan licin, dalam kondisi utuh dan konsistensinya kenyal serta tidak ada perlemakan hati. Hasil pengamatan makropatologi organ hati dapat dilihat pada lampiran 17.

4. Hasil penimbangan organ

Berat organ relatif merupakan berat organ absolut dibanding berat badan (BPOM 2014). Nilai persen indeks organ relatif berbeda-beda antara setiap hewan uji dikarenakan berat badan hewan uji berbeda-beda. Hasil rata-rata indeks organ hati hewan uji dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 9. Hasil rata-rata indeks organ hati hewan uji

Kelompok	Rata-rata indeks organ hati (%) \pm SD	
	Jantan	Betina
Kontrol CMC	3,79 \pm 0,58	2,91 \pm 0,48
Dosis 250 mg/kgBB	3,34 \pm 0,97	2,66 \pm 0,53
Dosis 500 mg/kgBB	2,75 \pm 0,33	2,42 \pm 0,13
Dosis 1000 mg/kgBB	3,12 \pm 0,70	2,43 \pm 0,42
Satelit	2,34 \pm 0,21	2,54 \pm 0,37

Pemeriksaan indeks organ hati pada hewan uji jantan dan betina diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan uji *Levene* menunjukkan data memiliki varian yang homogen ($p > 0,05$). Data indeks organ hati dapat dilanjutkan dengan uji varian satu arah (*One Way ANOVA*), nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol CMC dengan kelompok perlakuan. Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil analisis di atas bahwa pemberian ekstrak rimpang temu putih tidak menyebabkan perubahan indeks organ hati hewan uji jantan dan betina tiap kelompok. Hasil analisa statistik dapat dilihat pada lampiran 18.

5. Hasil pengukuran SGOT dan SGPT

Hati merupakan organ yang berperan penting dalam proses metabolisme makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Hati dapat mengalami kerusakan karena zat toksik yang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis zat kimia yang terlibat, dosis yang diberikan, dan lamanya paparan zat tersebut. Kerusakan hati selalu ditandai dengan perubahan biokimia, karena itu dilakukan pemeriksaan

Serum Oxaloasetic transaminase (SGOT) dan *Serum Glutamic Pyruvic transaminase* (SGPT). Kadar SGOT dan SGPT tikus yang mengalami toksik adalah apabila kadar SGOT dan SGPT tikus melebihi nilai normal yaitu rentang nilai normal SGOT pada tikus adalah 45,7-80,8 IU/L, sedangkan nilai normal SGPT pada tikus adalah 17,5-30,2 IU/L (Johnson 2008).

5.1 Hasil Pengukuran Kadar SGOT. Pengukuran kadar SGOT dilakukan sebelum (*pre*) perlakuan dan sesudah (*post*) perlakuan pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang temu putih selama 28 hari dengan tujuan untuk melihat apakah terdapat perbedaan hasil kadar SGOT darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih.

Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol CMC Na 0,5% sebagai kontrol negatif, dan kelompok perlakuan sediaan ekstrak etanol rimpang temu putih dengan dosis 250, 500, dan 1000 mg/kgBB serta kelompok dosis satelit. Pelarut yang digunakan pada sediaan ekstrak etanol rimpang temu putih yaitu CMC Na maka CMC Na dijadikan sebagai kelompok kontrol negatif. Penggunaan CMC Na sebagai kelompok kontrol bertujuan untuk melihat pengaruh CMC Na sebagai pelarut ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap kadar SGOT darah pada pemberian 28 hari. Hasil rata-rata pengukuran SGOT tiap kelompok dapat dilihat pada tabel 11.

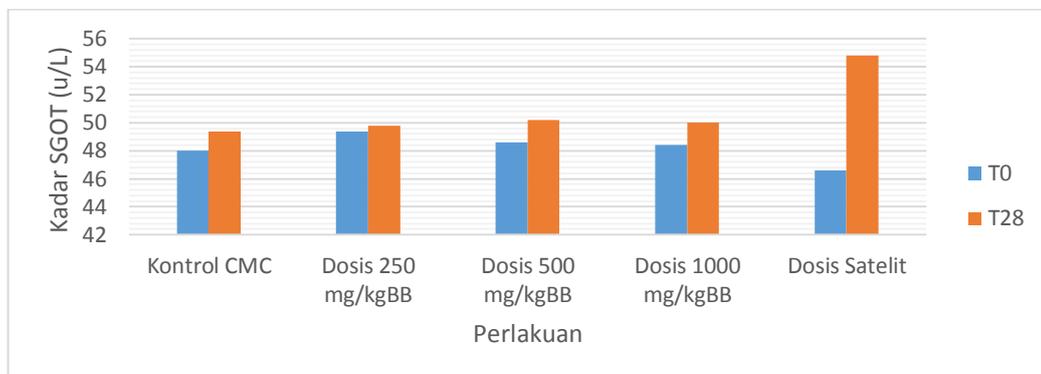
Tabel 10. Hasil rata-rata pengukuran SGOT tiap kelompok

Jenis Hewan	Kelompok Perlakuan	Rata-Rata kadar SGOT (IU/L) \pm SD		
		T0	T28	T42
Jantan	Kontrol CMC Na	48 \pm 1	49,4 \pm 1,34	-
	Dosis 250 mg/kgBB	49,4 \pm 1,14	49,8 \pm 1,78	-
	Dosis 500 mg/kgBB	48,6 \pm 1,94	50,2 \pm 2,16	-
	Dosis 1000 mg/kgBB	48,4 \pm 1,94	50 \pm 2,64	-
	Dosis Satelit	46,6 \pm 2,30	54,8 \pm 5,54	51,4 \pm 3,78
Betina	Kontrol CMC	49 \pm 0,70	50,6 \pm 1,51	-
	Dosis 250 mg/kgBB	53 \pm 5,70	50 \pm 2,82	-
	Dosis 500 mg/kgBB	50,8 \pm 2,77	63,8 \pm 7,39*	-
	Dosis 1000 mg/kgBB	51,6 \pm 3,84	80,8 \pm 7,59*	-
	Dosis Satelit	53,8 \pm 5,80	86 \pm 10,55*	75,2 \pm 13,04

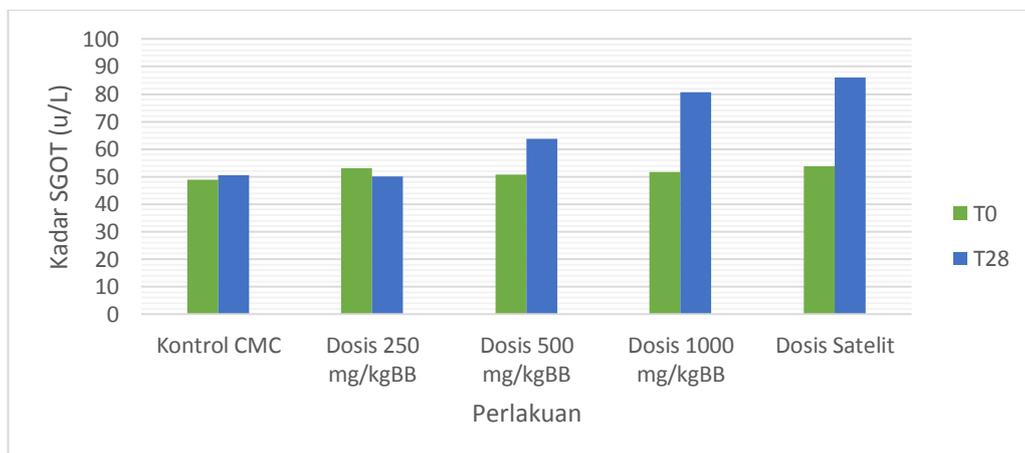
Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa kadar SGOT sebelum perlakuan (*pre*), untuk semua kelompok perlakuan adalah normal. Menurut Johnson (2008) nilai normal kadar SGOT pada tikus adalah 45,7-80,8 IU/L. Peningkatan kadar SGOT terjadi sesudah perlakuan (*post*), pada kelompok kontrol negatif yang diberi CMC dan kelompok yang diberikan ekstrak rimpang temu putih dengan dosis 250 mg/kgBB peningkatan kadar SGOT masih dalam nilai normal. Kelompok hewan uji dengan dosis 500 mg/kgBB dan dosis 1000 mg/kgBB peningkatan kadar SGOT melebihi nilai normal. Diagram rata-rata kadar SGOT tikus jantan dan betina dapat dilihat pada gambar 7 dan gambar 8.



Gambar 7. Diagram rata-rata kadar SGOT tikus jantan



Gambar 8. Diagram rata-rata kadar SGOT tikus betina

Diagram di atas menunjukkan bahwa kadar SGOT tikus jantan dan betina mengalami peningkatan dibandingkan dengan T0. Hasil penelitian ini kemudian dianalisis menggunakan uji statistik. Pertama, dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa data terdistribusi normal

dan homogen ($p > 0,05$). Analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji varian satu arah (*One Way ANOVA*). Hasil *ANOVA* pada kadar SGOT hewan uji jantan ($p > 0,05$) tidak ada perbedaan yang bermakna, sedangkan kadar SGOT hewan uji betina ($p < 0,05$) terdapat perbedaan yang bermakna. Hasil uji statistik terhadap kadar SGOT dapat dilihat pada lampiran 20.

Keberadaan SGOT pada mitokondria lebih banyak (80%) dibandingkan pada sitosol (20%). Peningkatan kadar SGOT pada penelitian ini termasuk jenis ringan, yang banyak dijumpai pada penyakit sirosis, neonatal hepatitis, perlemakan hati dan toksisitas obat-obatan terjadi jika peningkatan hanya sebesar 1-3 kali dari nilai normal. Peningkatan kadar SGOT yang ringan diduga karena jumlah SGOT yang dikeluarkan berasal dari sitosol. Enzim GOT yang dilepaskan jumlah tidak banyak, karena jumlah trauma akan merangsang sel hepatosit untuk melakukan perbaikan (*repair*).

Sel hepatosit tikus mempunyai kemampuan *repair* lebih luas dibandingkan manusia. Tikus mampu melakukan perbaikan sampai 75% sel yang rusak dalam waktu 30 hari, saat terjadi kerusakan hati yang hebat. SGOT adalah parameter yang memiliki sensitivitas maksimum 90% namun hanya 18% yang spesifik pada hati, ini menunjukkan bahwa SGOT sensitif tetapi tidak spesifik untuk melihat kerusakan hati. Hal ini berhubungan dengan distribusi enzim SGOT yang relatif luas pada jantung. SGOT pada jantung digunakan sebagai parameter untuk diagnosa penyakit infark miokard (Qodriyati *et al.*, 2016).

Faktor penyebab kenaikan kadar SGOT disebabkan karena latihan fisik yang terlalu berat, hemolisisnya darah akibat penyimpanan, suhu, dan kelembaban tempat pengambilan darah. Data SGOT dapat menyimpang karena kemungkinan tikus sedang mengalami gangguan pada organ selain hati seperti otot jantung, ginjal, dan otot rangka, karena SGOT terdapat di hampir seluruh tubuh, berbeda dengan SGPT yang spesifik pada hati (Sudatri *et al.*, 2016).

Pengukuran kadar SGOT pada kelompok satelit dilakukan pada T42 menunjukkan adanya penurunan kadar SGOT jika dibandingkan pada T28. Penurunan kadar SGOT pada T42 diakibatkan karena kelompok satelit tidak mendapatkan perlakuan dari ekstrak etanol rimpang temu putih dan faktor

instrinsik dari organ hati yang mampu memperbaiki kerusakan dan meregenerasi sel secara signifikan serta faktor lain yaitu kondisi lingkungan dan kondisi fisiologi tikus. Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya efek toksik yang tertunda karena pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih.

5.2 Hasil pengukuran kadar SGPT. Pengukuran kadar SGPT dilakukan sebelum (pre) perlakuan dan sesudah (post) perlakuan pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang temu putih selama 28 hari dengan tujuan untuk melihat apakah terdapat perbedaan hasil kadar SGPT darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih.

Hasil pemeriksaan biokimia untuk kadar SGPT menunjukkan bahwa hasil kadar SGPT sebelum pemberian T0 pada kelompok kontrol CMC Na, kelompok dosis 250 mg/kgBB, kelompok dosis 500 mg/kgBB, kelompok dosis 1000 mg/kgBB adalah normal. Menurut Johnson (2008), nilai normal kadar SGPT pada tikus adalah 17,5-30,2 IU/L. Perhitungan kadar SGPT merujuk pada nilai normal dan kadar SGPT sebelum perlakuan untuk melihat perbedaan rata-rata SGPT hewan uji maka dilakukan uji statistik *One Way ANOVA*. Hasil rata-rata pengukuran SGPT tiap kelompok dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 11. Hasil rata-rata pengukuran SGPT tiap kelompok

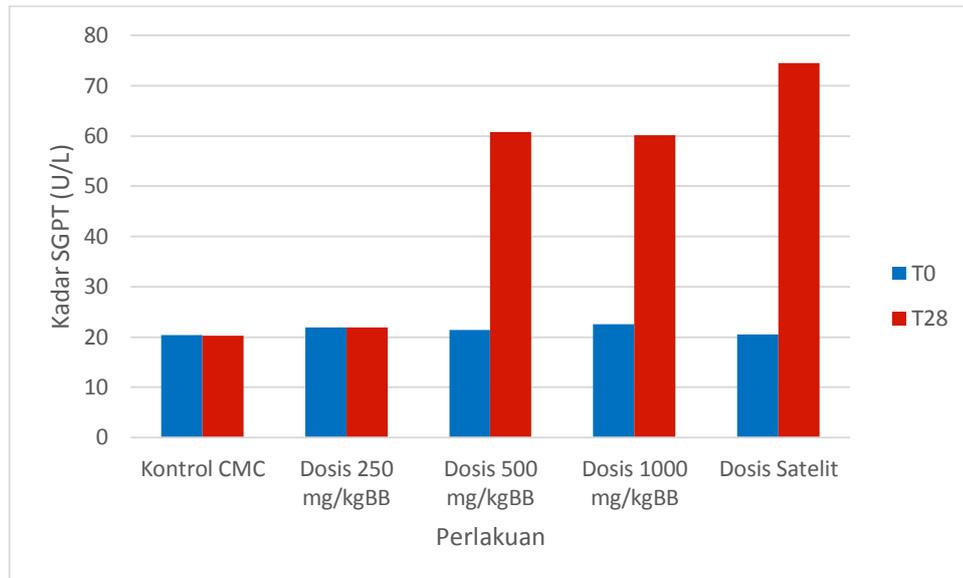
Jenis Hewan	Kelompok Perlakuan	Rata-rata kadar SGPT (IU/L) \pm SD		
		T0	T28	T42
Jantan	Kontrol CMC	20,36 \pm 1,56	20,28 \pm 1,73	-
	Dosis 250 mg/kgBB	21,9 \pm 3,41	21,94 \pm 4,28	-
	Dosis 500 mg/kgBB	21,44 \pm 1,18	60,8 \pm 21,90*	-
	Dosis 1000 mg/kgBB	22,5 \pm 4,51	60,16 \pm 26,04*	-
	Dosis Satelit	20,54 \pm 1,34	74,5 \pm 16,22*	40,82 \pm 6,84
Betina	Kontrol CMC	20,3 \pm 1,36	20,34 \pm 1,03	-
	Dosis 250 mg/kgBB	20,06 \pm 1,23	20,42 \pm 1,23	-
	Dosis 500 mg/kgBB	21,14 \pm 2,42	59,86 \pm 18,55*	-
	Dosis 1000 mg/kgBB	19,54 \pm 1,08	68,3 \pm 21,51*	-
	Dosis Satelit	20,1 \pm 0,84	65,44 \pm 22,60*	46,5 \pm 18,14

Keterangan :

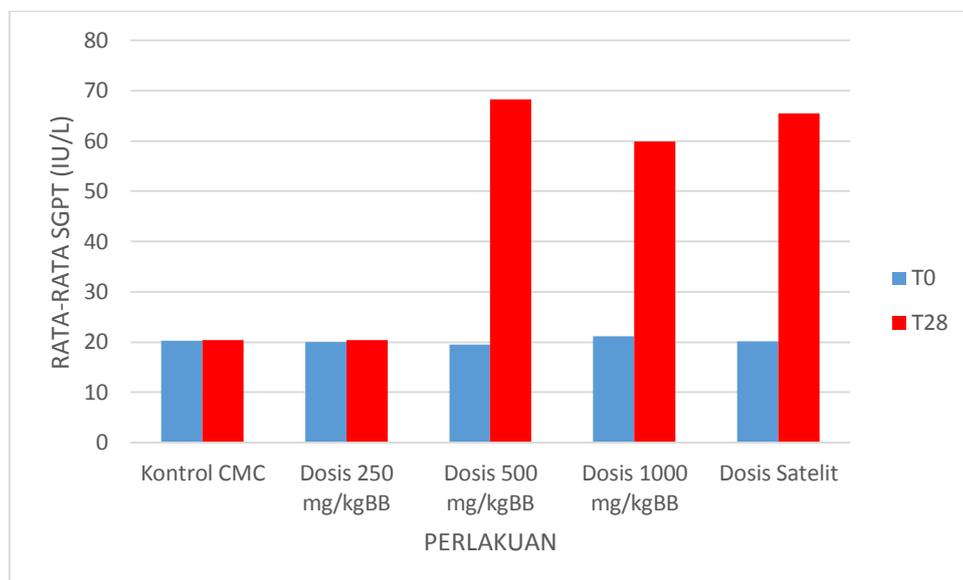
* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif.

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan kadar SGPT sesudah perlakuan (*post*), pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan CMC Na dan kelompok yang diberikan ekstrak rimpang temu putih

dengan dosis 250 mg/kgBB peningkatan kadar SGPT masih dalam nilai normal. Peningkatan kadar SGPT yang cukup tinggi jauh dari nilai normal terjadi pada kelompok yang diberikan ekstrak rimpang temu putih dengan dosis 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB. Diagram rata-rata SGPT tikus jantan dan betina dapat dilihat pada gambar 9 dan gambar 10.



Gambar 9. Diagram rata-rata SGPT tikus Jantan

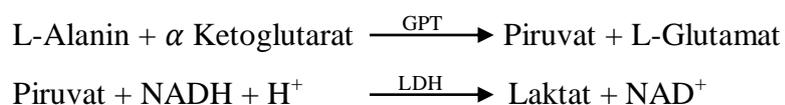


Gambar 10. Diagram rata-rata SGPT tikus betina

Berdasarkan diagram di atas dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak rimpang temu putih menunjukkan peningkatan bermakna dibandingkan kelompok

kontrol yang hanya diberikan CMC. Kadar SGPT hewan uji yang diperoleh selama penelitian dianalisis menggunakan uji statistik. Pertama, dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$). Kedua, analisis dilanjutkan dengan menggunakan varian satu arah (*One Way ANOVA*) didapatkan nilai ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna, sehingga dilanjutkan analisis *Post Hoc* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil uji statistik terhadap kadar SGPT dapat dilihat pada lampiran 22.

SGPT dikenal juga dengan sebutan ALT (*Alanin Aminotransferase*). Alanin mengkatalisis reaksi pemindahan gugus NH_2 dari asam amino alanin ke asam alfa-ketoglutarat. Hasilnya terbentuklah asam keto yang lain yang berasal dari alanin yaitu asam piruvat dan asam amini yang berasal dari asam alfa-ketoglutarat yaitu asam glutamat. Prinsip kerja enzim SGPT adalah sebagai berikut :



GPT mengkatalisis pemindahan gugus amino dari alanin ketoglutarat untuk membentuk piruvat dan glutamat, kemudian dengan adanya NADH dan laktat dehidrogenase maka piruvat akan direduksi menjadi laktat dan NAD^+ . Enzim ini banyak terdapat dalam sel-sel hati (Laili 2013). Kadar SGPT banyak terdapat pada sitoplasma. Zat toksik atau zat-zat berlebih yang masuk ke dalam tubuh akan dimetabolisme oleh enzim sitokrom P_{450} dalam hati menjadi radikal bebas.

Radikal bebas ini merusak membran sel dengan cara berikatan secara kovalen dengan komponen membran sel sehingga terjadi perubahan sifat-sifat membran sel dan membran sitoplasmik pada unsur-unsur sel seperti mitokondria dan lisosom diakibatkan oleh lemak peroksida (Indarto 2013). Perubahan membran sel hati ditandai dengan terjadinya perubahan permeabilitasnya (meningkat). Hal ini dapat menimbulkan dua macam konsekuensi. Pertama, zat-zat dari dalam sel keluar dengan bebas sehingga hati akan mengalami pengkerutan dan terjadi nekrosis. Kedua, zat-zat yang berada di luar sel hati juga dapat masuk

dan menyebabkan hati menjadi besar (degenerasi hidrofis) dan terjadi apoptosis (Sudatri *et al.*, 2016). Sel-sel yang kaya transaminase yang mengalami nekrosis atau hancur akan menyebabkan kenaikan kadar transaminase dalam serum.

Kerusakan sel berupa nekrosis menyebabkan pembengkakan inti dan sitoplasma kemudian pecah menumpahkan kandungan isi sel ke jaringan ekstraseluler karena adanya gangguan pada pompa natrium yang diakibatkan oleh kekurangan ATP. ATP sangat penting untuk integritas hepatosit. Apabila kadar ATP rendah, maka enzim intraseluler akan keluar dari dalam darah dan menyebabkan kerusakan pada hepar (Fajariyah 2010).

Faktor peningkatan kadar SGPT sebenarnya bisa disebabkan oleh kondisi ekstrahepatik seperti takikardi yang persisten, latihan fisik yang berlebihan, puasa dalam waktu yang lama, defisiensi vitamin B6, hipertiroid, hipertermi, obesitas, dan asupan protein yang berlebihan. Jumlah asupan makan yang diberikan pada tikus secara *ad libitum*, suhu, dan kelembaban kandang, serta beberapa faktor lain yang tidak bisa dikendalikan oleh peneliti diduga dapat mempengaruhi kadar SGPT (Sari *et al.*, 2015).

Pengukuran kadar SGPT pada kelompok satelit dilakukan pada T42 menunjukkan adanya penurunan kadar SGPT jika dibandingkan pada T28. Penurunan kadar SGPT pada hari ke 42 diakibatkan karena kelompok satelit tidak mendapatkan perlakuan dari ekstrak etanol rimpang temu putih, dapat disimpulkan bahwa T42 merupakan efek penyembuhan kembali dan tidak adanya efek toksik yang tertunda karena pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih.

6. Hasil pemeriksaan histopatologi organ hati

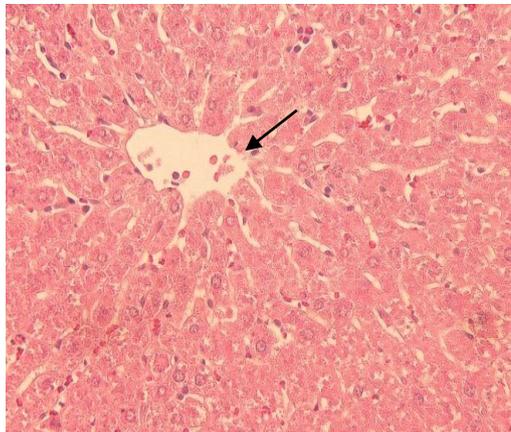
Hasil pemeriksaan histopatologi pada organ hati tikus putih yang diberikan ekstrak etanol rimpang temu putih, ditemukan adanya perubahan seperti nekrosis. Nilai rerata skor perubahan organ hepar tikus putih yang diberi ekstrak etanol rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 13, sedangkan gambaran histopatologi hati dapat dilihat pada gambar 11.

Tabel 12. Nilai rerata skor perubahan hepar

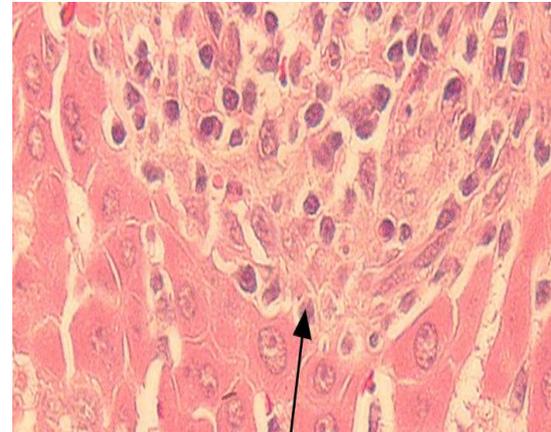
Jenis Kelamin	No	Kelompok				
		Kontrol	250 mg/kgBB	500 mg/kgBB	1000 mg/kgBB	Satelit
Jantan	1	1	1	1	4	1
	2	1	1	1	1	4
	3	1	1	1	1	1
Betina	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1
	3	1	1	1	4	1

Keterangan :

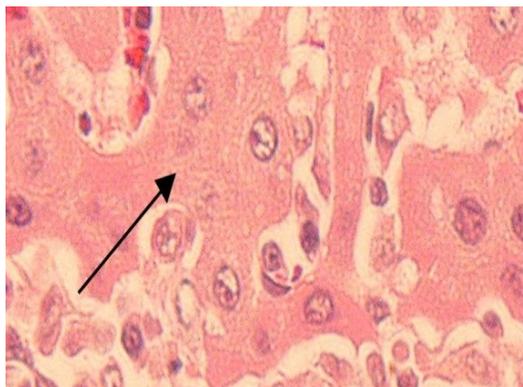
- 1 : Normal, tidak ada perubahan
- 2 : Perdarahan (hemoragi) / Degenerasi parenkimatosa
- 3 : Degenerasi melembak / Degenerasi hidropobik
- 4 : Nekrosis



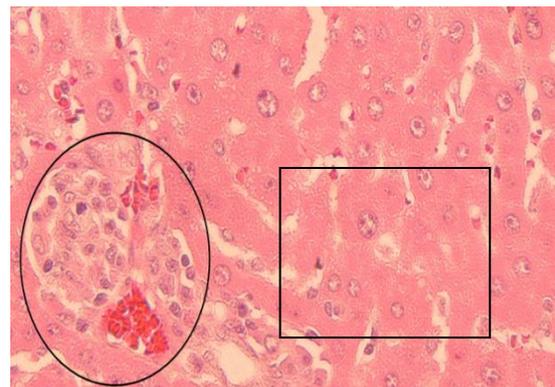
Gambar 11.1a. Struktur histopatologi hati normal (kontrol), vena sentralis (tanda panah)



Gambar 11.1b. Struktur histopatologi hati tikus (dosis 250 mg/kgBB) infiltrasi sel radang.



Gambar 11.1c. Struktur histopatologi hati (dosis 500 mg/kgBB) nekrosis (tanda panah)



Gambar 11.1d. Struktur histopatologi hati (1000 mg/kgBB) infiltrasi radang (lingkaran), Nekrosis (Kotak)

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi kerusakan sel pada organ hati tikus yang diberikan ekstrak etanol rimpang temu putih pada semua kelompok

menunjukkan nekrosis, dan terjadi radang kecuali kelompok kontrol. Radang atau inflamasi adalah bukan suatu penyakit namun reaksi pertahanan tubuh melawan berbagai jejas yang ikut berperan dalam reaksi ini adalah pembuluh darah, syaraf, cairan dan sel-sel tubuh di tempat jejas. Penyebab terjadinya radang atau inflamasi adalah adanya kuman patogen, bakteri, parasit, dan virus yang mengiritasi jaringan melalui zat kimia yang dilepaskan berupa toksin. Adanya rangsang fisis seperti trauma, rangsang panas atau dingin yang berlebihan. Adanya rangsangan kimia seperti asam dan basa yang kuat dan keracunan obat.

Pemberian ekstrak temu putih secara subkoronik selama 28 hari, jika dikonsumsi secara oral mengalami biotransformasi obat melalui hepar. Reaksi metabolisme yang terpenting adalah oksidasi oleh enzim sitokrom P₄₅₀ (CYP) dan reaksi glukuronidasi dengan enzim UDP-*glukoronil-transferase* (UGT) yang akan membentuk metabolit yang stabil (Ganong 2006), akan tetapi ketika senyawa tersebut diberikan dalam jangka waktu yang lama dan dosis yang tinggi dapat bersifat mengganggu dan menghasilkan metabolit yang lebih reaktif. Proses biotransformasi, senyawa akan membentuk ikatan kovalen dengan *gluthathione* yang kemudian membentuk senyawa yang bersifat kurang toksik, sedangkan ketika kadar dari senyawa tersebut tinggi maka akan menyebabkan *gluthathione* dalam hepar tidak mampu untuk membentuk ikatan kovalen dengan seluruh senyawa tersebut yang menjadikannya kurang toksik, sehingga senyawa yang tidak membentuk ikatan kovalen dengan *gluthathione* akan tetap bersifat toksik dan menjadi radikal bebas. Senyawa yang bersifat toksik tersebut akan masuk ke dalam hepatosit sehingga mengakibatkan banyak kerusakan sel (Rofiqoh 2015).

Jejas sel berupa perubahan mitokondria menyebabkan adanya kegagalan oksidasi yang mengakibatkan penurunan ATP sehingga terjadi gangguan transport aktif yang mengakibatkan sel tidak mampu mempompa ion Na⁺ keluar, sehingga konsentrasi ion Na⁺ di dalam sel naik. Hal tersebut berpengaruh pada proses osmosis yang menyebabkan influks air ke dalam sel sehingga mengakibatkan sel menjadi membengkak seperti vakuola, nukleus membesar (Mitchell *et al.*, 2008).

Pada kelompok perlakuan dapat terlihat adanya nekrosis (Gambar 11). Nekrosis adalah kematian sel atau akhir suatu perubahan degeneratif yang

irreversibel. Penyebab nekrosis ada tiga yaitu virus, kekurangan oksigen, racun-racun (toxin) termasuk toxin kuman, racun-racun yang berasal dari hewan dan tumbuh-tumbuhan serta bahan kimia/sintetik. Nekrosis yang terjadi pada kelompok perlakuan disebabkan oleh paparan rimpang temu putih yang mempunyai kandungan senyawa yaitu saponin, dan alkaloid.

Pada penelitian Akinpelu (2012), ditemukan bahwa saponin menyebabkan gambaran nekrosis yang luas dan *mild cytolysis* pada hepatosit. Pada penelitian Abdelouahab (2011), ditemukan bahwa alkaloid dapat menyebabkan perubahan gambaran hepatosit, yaitu adanya gambaran nekrosis dan gangguan sirkulasi. Mekanisme terjadinya nekrosis yaitu berawal dengan kerusakan membran sel yang disebabkan oleh beberapa hal meliputi penurunan jumlah ATP, serta peningkatan aktivitas enzim phospholipase dan protease. Kerusakan membran sel akan mengakibatkan zat toksik dapat masuk tanpa terkendali melalui sel, melewati sitoplasma, merusak organel-organel sel, menuju inti sel yaitu pada DNA mitokondria dan nukleus yang masuk melalui membran inti sel kemudian merusak untaian tunggal. Akibatnya, terjadi fragmentasi DNA yang menimbulkan morfologi sel. Perubahan morfologi sel berupa pengerutan inti sel dan terjadi kondensasi kromatin (piknotik), nukleus pecah menjadi fragmen-fragmen sisa inti berupa zat kromatin yang tersebar di dalam sel (karioreksis), penghancuran dan pelarutan inti sel sehingga menghilang (kariolisis), membran sel mengalami lisis sehingga batas antar sel tidak tampak jelas. Bentuk sel seperti ini disebut nekrosis (Rofiqoh 2015).

Secara makroskopik dan dengan pemeriksaan mikroskop dapat dikenali beberapa bentuk nekrosis. Bentuk-bentuk tersebut adalah nekrosis koagulasi, nekrosis liquefaktif, nekrosis kaseosa (perkejuan). Nekrosis koagulatif ditandai dengan masih dikenalnya struktur sel atau jaringan baik secara makroskopis maupun mikroskopis, biasanya disebabkan oleh snoksia akut seperti obstruksi aliran darah atau karena toksin dengan toksisitas yang sangat akut. Nekrosis koagulasi tidak hanya terjadi denaturasi protein, namun juga berkaitan dengan hambatan enzim-enzim litik. Sel tidak mengalami lisis, dengan demikian kerangka luar sel relatif utuh. Inti menghilang dan sitoplasma yang mengalami

asidifikasi menjadi eosinofilik. Nekrosis liquefaktif adalah nekrosis yang ditandai dengan adanya massa cair atau semipadat pada sel atau jaringan tersebut. Nekrosis ini biasanya cepat dapat dieleminir oleh makrofag melalui sistem limfatik. Nekrosis kaseosa (perkejuan), ditandai dengan hilangnya struktur sel, inti gelap, ada debris di sitoplasma serta gumpalan darah (Berata *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi maka bentuk nekrosis yang terjadi pada kelompok perlakuan adalah nekrosis koagulasi. Nekrosis yang terjadi pada hewan uji dapat disebabkan oleh faktor internal dari hewan uji itu sendiri seperti sulit beradaptasi dengan lingkungan baru dan kemungkinan adanya penyakit bawaan pada tikus tersebut yang tidak teridentifikasi sewaktu pemilihan hewan uji.

Faktor penyebab lainnya dapat disebabkan karena usia dari hewan uji yang terlalu muda dan terlalu tua dimana pada usia yang terlalu muda fungsi organ hati belum terbentuk dengan sempurna atau pada usia tua fungsi organ hati telah mengalami penurunan, sehingga dapat mempengaruhi hasil histopatologi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) selama 28 hari tidak menimbulkan efek toksik dengan parameter SGOT, dan histopatologi hati, sedangkan dengan parameter SGPT menimbulkan efek toksik.
2. Pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) dengan dosis 250 mg/kgBB, selama 28 hari tidak menimbulkan efek toksik.

B. Saran

Berdasarkan analisa data dan kesimpulan penulis memberikan saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek toksik yang ditimbulkan pada organ hati dengan pemeriksaan fungsi hati lainnya seperti albumin, bilirubin, *cholinesterase*, dan lain-lain.
2. Pemeriksaan biokimia klinis seperti SGPT, SGOT, albumin, bilirubin, dan lain-lain perlu dilakukan setiap 7 hari sekali untuk mengetahui saat terjadinya perubahan yang signifikan.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi kandungan senyawa yang berpotensi menimbulkan efek toksik yang terkandung di dalam ekstrak etanol rimpang temu putih.
4. Perlu dilakukan penelitian yang sama dengan mengendalikan faktor lain seperti suhu, makanan, dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengekstrasi terhadap kadar sinestein dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus benth.* *E-Journal Planta Husada* 2:1-4.
- Agustina *et al.* 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Indonesian E-journal of Applied Chemistry* 4:72-73.
- Akbar B. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan *Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press. hlm 4-5.
- Akinpelu, Aykinke B *et al.* 2012. Biochemical and histopatological profile of toxicity induced by saponin fraction of *Erythrophleum suaveolens* (Guil. & Perri) bark extract *Phytopharmacology* 3:38-53
- Amin LA. 2015. Tatalaksana Diare Akut. *Continuing Medical Education*. 42: 504-508.
- Amirudin, Rifal. 2009. Fisiologi dan Biokimia Hati. In : Sudoyo, Aru W., Setiyohadi, Bambang., Alwi, Idrus., Sumadibrata, Marcellus., Setiati, Siti. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid I. Edisi V.* Jakarta : Interna Publishing. hlm 627-633.
- Berata IK, Winaya IBO, Adi AM, Adnyana IBW, editor. 2015. *Patologi Veteriner Umum*. Ed ke-3. Denpasar: Swasta Nulus. hlm 13.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis secara In Vivo*. Jakarta.
- Bouzidi A, Mahdeb N, Kara N. 2011. Toxicity studies of alkaloids of seeds of *datura stramonium* and synthesis alkaloids in male rats. *J. Med Plant. Res.* 5:3421-3431.
- Chrissman JW. 2004. Best practices guideline; Toxicologic hispathology. *Society of toxicologic pathology guideline*. 32:126-131.
- Cucikodana Y, Agus H, Budi P. 2012. Pengaruh Perbedaan Suhu Perebusan dan Konsentrasi NaOH Terhadap Kualitas Bubuk Tulang Ikan Gabus (*Channa striata*). *Fishtech*. 1: 91-101.
- Dalimartha S. 2005. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Melitus*. Jilid II. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1986. *Sedian Galenik*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.

- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI
- Fajriaty I, Saputra IR, Silitonga M, Hariyanto IH. 2017. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*).
- Fajariyah S, Utami ET, Arisandi Y. 2010. Efek Pemberian Estrogen Sintesis (Diethylstilbestrol) terhadap Struktur Hepar dan Kadar SGOT dan SGPT pada Mencit (*Mus musculus*) Betina Strain Balb'C. *Jurnal Ilmu Dasar* 11:76-82
- Golam Azam *et al.* 2017. Evaluation of Anti-diarrhoeal Activitty of *Curcuma zedoaria* rhizome. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 6:171-173.
- Gunawan dan Sri M. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jilid I. Depok: Penebar Swadaya.
- Hariana, Arief. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Cet. 1 (edisi revisi). Jakarta: Penebar Swadaya, 387-389.
- Haribi R *et al.* 2009. Kelainan fungsi hati dan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) akibat suplementasi taws dalam pakan. *Jurnal kesehatan* 2:11-19
- Herbie, Tandi. 2015. Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh. Yogyakarta: OCTOPUS Publishing House.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Balitbang Kehutanan.
- Indarto MD. 2013. Aktivitas Enzim Transaminase Dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan Yang Diberi Fraksi N-Heksan Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) Pasca Induksi Sisplatin [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Indriyani, 2012, Model Pengeringan Lapisan Tipis Temu Putih (*Curcuma Zedoaria* Berg. Rosc) [Skripsi]. Makassar: Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.
- Irianti *et al.* 2012. Variasi Komposisi Pelarut Metanol-Air pada Ekstraksi Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). ISSN. 1907-0500.
- Kurniawati E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Wiyata* 2:193-199

- Johson Delaney CA. 2008. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik*. Jakarta: EGC.
- Laili U. 2013. Pengaruh Pemberian Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Dalam Bentuk Kapsul Terhadap Kadar SGPT (*Serum Glutamat Transaminase*) dan SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*) Pada Orang Sehat [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Linawati *et al.* 2008. Efek Hepatoprotektif Rebusan Herba Putri Malu (*Mimosa pigra* L.) Pada Tikus Terangsang Paracetamol. http://www.usd.ac.id/06/publ_dosen/far/yunita.pdf. [3 Oktober 2017].
- Lu Frank C. 2010. *Toksikologi Dasar*. Jakarta: UI Press.
- Mufidah, Harun Indah. 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma Zedoaria* (Berg.) Roscoe)[Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Ningsih DR, Zufahair, Mantari D. 2017. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida albicans* dan Identifikasi Golongan Senyawanya. *Jurnal Kimia Riset* 2:61-68.
- Nurhalimah H *et al.* 2015. Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap Mencit Yang Diinduksi Bakteri *Salmonella Thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3:1083-1094.
- Qodriyati *et al.* 2016. Kadar Serum *Glutamic Oxaloacetic Transminase* (SGOT) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Dipapar Stresor Rasa Sakit *Electrical Foot Shock* Selama 28 hari. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 4:73-77
- Rofiqoh AD. 2015. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin Serum dan Histopatologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina [Skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Rosida A. 2016. Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati. *Berkala Kedokteran*. 12:123-131.
- Prieto Pilar, Wilson L. 1994. *Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Ed ke-4. Jakarta : EGC.
- Sari HK, Budirahardjo R, Sulistyani E. 2015. Kadar Serum *Glutamat Piruvat Transminase* (SGPT) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Dipapar Stesor Rasa Sakit berupa *Electrical Foot Shock* selama 28 hari. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 3:205-211.

- Sudarmadji *et al.* 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudatri NW, Setyawati I, Suartini NM, Yulihastuti DA. 2016. Penurunan Fungsi Hati Tikus Betina (*Rattus norvegicus* L) yang Diinjeksi White Vitamin C Dosis Tinggi Dalam Jangka Waktu Lama Ditinjau dari Kadar SGPT, SGOT serta Gambaran Histopatologi Hati. *Jurnal Metamorfosa* 1:44-51.
- Tiwari *et al.* 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Riview. *Internationale Scientia*. 1:98-106.
- Tjay Tan Hoan, Kirana Rahardja. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Ed ke-6. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Windono, M. S. and Parfiani, N. 2002, *Curcuma zedoaria* Rosc. Kajian Pustaka Kandungan Kimia dan aktivitas Farmakologik, *Artocaspus*, 2: 1–10.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi Tanaman Rimpang Temu Putih



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 230/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Desi Armayanti
NIM : 20144181A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1968) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338a-339b-340a _____ 207. Zingiberaceae
1a-2b-6b-7a _____ 12. *Curcuma*
1b-4b-6a _____ *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : tera, menahun, tegak, tinggi 0.3-0.5(-2) m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, basah dan aromatik, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, panjang 3-6 cm, diameter 1-2 cm, bercabang-cabang, bagian dalam rimpang berwarna kuning-putih, bagian luar berwarna kuning kotor. Akar : melekat pada rimpang, serabut, berwarna putih hingga kuning kotor. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, bulat, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, berbentuk memanjang-lanset, panjang 31-84 cm, lebar 10-18 cm, ujung runcing atau meruncing, pangkal tumpul, tepi rata, berwarna hijau permanen atau hijau dengan ibu tulang daun berwarna ungu kecoklatan, menggulung memanjang ketika masih kuncup, tulang daun menyirip dan terlihat tidak terlalu nyata, permukaan gundul dan licin. Perbungaan : bunga majemuk tipe bulir, biasanya muncul dari daun yang paling bawah, panjang 9-23 cm, lebar 4-6 cm, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat dan tertutupi oleh daun pelindung (brakteola). Bunga : kelopak berambut, panjang 8-13 mm, putih hingga putih kemerahan; panjang mahkota bunga 4.5 cm, tabung mahkota berbentuk seperti corong dan putih atau putih kekuningan, panjang 1.5-2 cm, cuping mahkota berbentuk bulat telur atau memanjang, ujungnya tumpul, berwarna putih atau putih dengan tepi berwarna merah atau ungu, panjang 1.5-2 cm. Buah : berbentuk kapsul, berambut, panjang 2 cm, kering ketika masak. Biji : sedikit hingga banyak.

Surakarta, 22 November 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyahi, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Lampiran 2. Surat *Ethical Clearance*

11/17/2017

Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 1.034 / XI / HREC /2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

Uji toksisitas subkronik rimpang temu putih (Curcuma zedoaria) terhadap kadar SGPT dan SGOT serta histopatologi hati tikus putih wistar.

Principal investigator : Desi Armayanti
Peneliti Utama : 20144181A

Location of research : Universitas Setia Budi Surakarta
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 17 Nov 2017
Chairman
Ketua

Dr. Hari Wijoso, dr., Sp.FMM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 3. Surat Keterangan Kesehatan Hewan



**PEMERINTAH KOTA SURAKARTA
DINAS PERTANIAN,
KETAHANAN PANGAN DAN PERIKANAN**

JL. Yap Tjwan Bing (Jagalan) No. 26 Telp. (0271) 656816 – Fax. (0271) 656816
Website www.disperten.surakarta.co.id E-mail pertanian_ska@yahoo.co.id
SURAKARTA Kode Pos 57124

SURAT KETERANGAN KESEHATAN HEWAN

Nomor : 524.3/ 39

Yang bertandatangan di bawah ini **drh. Abdul Aziz MK**. Dokter Hewan yang berwenang di wilayah **Kota Surakarta**, menerangkan bahwa pada hari **Jum'at** tanggal **05** bulan **Januari** tahun **2018** telah memeriksa hewan di bawah ini :

NO	JENIS HEWAN	SUB SPESIES/ TRAH	JUMLAH (ekor)			UMUR (bln)	Tanda / Warna
			Jtn	Btn	Total		
1	Tikus	Wistar	25	25	50	3 - 4	Putih

Menerangkan bahwa hewan-hewan tersebut di atas : **sehat** , atau saat pemeriksaan tidak menunjukkan tanda klinis penyakit hewan menular.

KETERANGAN :

Nama pemilik/pengirim : Sdr. Yulianto Ratno Saputro
No KTP/SIM pemilik/pengirim : 3372053007720003
No telp. Pemilik/pengirim : 082133998945
Alamat pemilik/pengirim : Sumber RT 04 RW 03 Surakarta.
Daerah asal hewan : Sumber RT 04 RW 03 Surakarta.
Daerah tujuan : Surakarta.
Nama dan alamat Penerima : Lia Dwi Hastawati dan Desi Armayanti, Mahasiswa Setia Budi Surakarta
Rencana dikirim : Senin, 8 Januari 2018
Kendaraan : Mobil

Setelah sampai di daerah tujuan segera melaporkan ke dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan.

Surakarta, 05 Januari 2018

Mengetahui
a.n. KEPALA DINAS PERTANIAN,
KETAHANAN PANGAN DAN PERIKANAN
KOTA SURAKARTA
Sekretaris

Drs. DJOKO WASKITO RAHARJO, MM
Perbina Tingkat I
NIP. 19620822 1989031009

Dokter Hewan Berwenang,

drh. ABDUL AZIZ MK
NIP. 198102428 200501 1 006

Tembusan Yth. :

1. Walikota Surakarta (sebagai laporan);
2. Kepala Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Jawa Tengah;
3. Kepala Balai Karantina Pertanian Surakarta.
4. Arsip

Lampiran 4. Gambar Hasil Ekstrak Rimpang Temu Putih**Rimpang temu putih****Simplisia rimpang temu putih****Serbuk rimpang temu putih****Ekstrak rimpang temu putih**

Lampiran 5. Alat – Alat yang digunakan**Penghalus simplisia*****Rotary evaporator*****Chamber KLT*****Steriling-Bidwell***

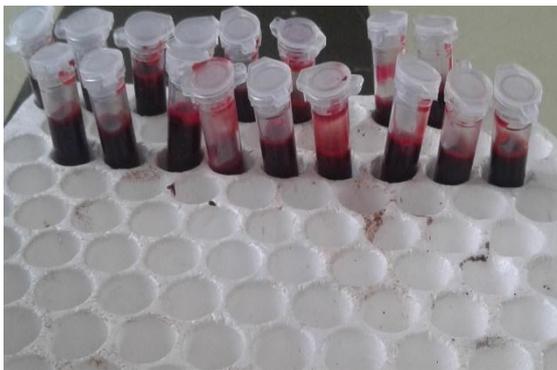
Lampiran 6. Gambar Adaptasi tikus, Oral tikus, Pengambilan darah, Reagen dan Serum



Adaptasi tikus



Oral tikus



Serum darah



Pipa Kapiler



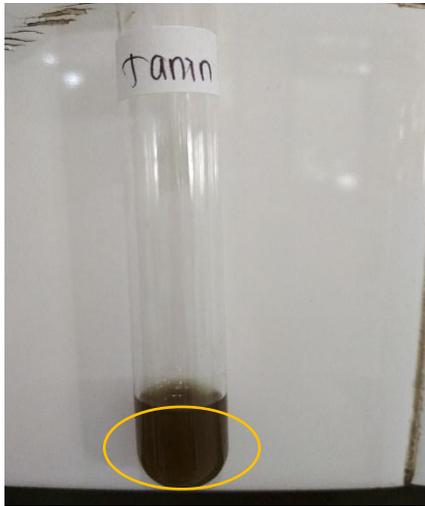
Reagen SGPT



Reagen SGOT

Lampiran 7. Gambar Pembedahan dan Preparat Histopatologi**Pembedahan tikus****Organ Hati****Sampel Histopatologi Hati**

Lampiran 8. Gambar Hasil Identifikasi Ekstrak Rimpang Temu Putih



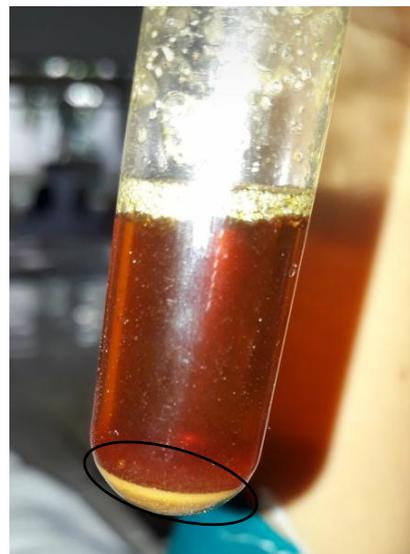
Tanin



Saponin

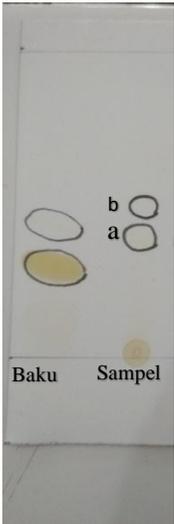
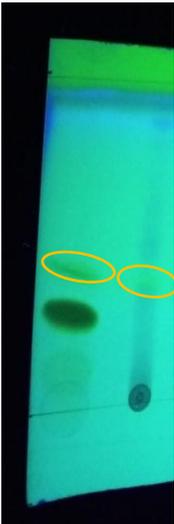
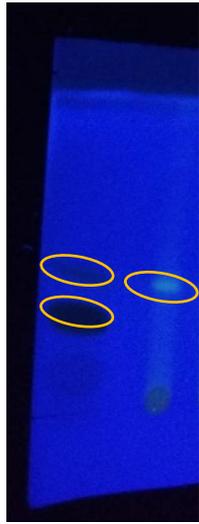


Flavonoid



Alkaloid

**Lampiran 9. Hasil identifikasi kimia ekstrak rimpang temu putih dengan
KLT**

Senyawa	Hasil identifikasi KLT			RF
	Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	
Flavonoid				Sampel a). $\frac{2,5 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} = 0,41$ b). $\frac{3 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} = 0,5$ Baku $\frac{2,5 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} = 0,41$
Tanin				Sampel $\frac{5,3 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} = 0,88$ Baku $\frac{5,3 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} = 0,88$

Lampiran 10. Hasil Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Rimpang Temu putih

Berat Basah (Kg)	Berat Kering (Kg)	Persentase (%)
10	2,5	25%

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat kering}}{\text{berat basah}} \times 100\% \\ &= \frac{2,5}{10} \times 100\% \\ &= 25\%\end{aligned}$$

Jadi persentase berat kering terhadap berat basah rimpang temu putih adalah 25%.

Lampiran 11. Perhitungan Penetapan Kadar Air Serbuk Rimpang Temu Putih

Replikasi 1

Jumlah serbuk rimpang temu putih = 20,3460 gram

Jumlah pelarut *xylene* = 100 ml

Kadar air = $\frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume serbuk mula-mula}} \times 100\%$

Kadar air = $\frac{1,6}{20,3460} \times 100\%$

= 7,86%

Replikasi 2

Jumlah serbuk rimpang temu putih = 20,6792 gram

Jumlah pelarut *xylene* = 100 ml

Kadar air = $\frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume serbuk mula-mula}} \times 100\%$

Kadar air = $\frac{1,8}{20,6792} \times 100\%$

= 8,70%

Replikasi 3

Jumlah serbuk rimpang temu putih = 20,2685 gram

Jumlah pelarut *xylene* = 100 ml

Kadar air = $\frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume serbuk mula-mula}} \times 100\%$

Kadar air = $\frac{1,6}{20,2685} \times 100\%$

= 7,89%

Rata-rata kadar air serbuk rimpang temu putih = $\frac{7,86\%+8,70\%+7,89\%}{3} = 8,15 \pm 0,47\%$

Lampiran 12. Perhitungan Hasil Pembuatan Ekstrak Rimpang Temu Putih

Serbuk (gram)	Wadah Kosong	Wadah+Ekstrak	Ekstrak
500	122,68	172,98	50,3

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{50,3}{500} \times 100\% \\ &= 10,6\%\end{aligned}$$

Lampiran 13. Perhitungan Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih

Rentan oral untuk tikus 100 – 200 gram adalah 1 – 5 ml.

Perhitungan dosis ekstrak etanol rimpang temu putih

1. Dosis 250 mg/kgBB $= \frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 250 \text{ mg}$
 $= 50 \text{ mg}/200 \text{ gram BB Tikus}$
 Larutan Stok 2,5% $= 2,5 \text{ gram} / 100 \text{ ml}$
 $= 2500 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$
 Volume Pemberian $= \frac{50 \text{ mg}}{2500 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml}$
 $= 2 \text{ ml}$

2. Dosis 500 mg/kgBB $= \frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 500 \text{ mg}$
 $= 100 \text{ mg}/200 \text{ gram BB Tikus}$
 Larutan Stok 5% $= 5 \text{ gram} / 100 \text{ ml}$
 $= 5000 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$
 Volume Pemberian $= \frac{100 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml}$
 $= 2 \text{ ml}$

3. Dosis 1000 mg/kgBB $= \frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 1000 \text{ mg}$
 $= 200 \text{ mg}/200 \text{ gram BB Tikus}$
 Larutan Stok 10% $= 10 \text{ gram}/100 \text{ ml}$
 $= 10000 \text{ mg}/100 \text{ ml}$
 Volume pemberian $= \frac{200 \text{ mg}}{10000} \times 100 \text{ ml}$
 $= 2 \text{ ml}$

Lampiran 14. Perhitungan Dosis Stok Na CMC 0,5%

- ✓ Larutan stok 0,5%
 - = 1 gram/100 ml
 - = 1000 mg/100 ml
 - = 10 mg/ml

- ✓ Dosis Na CMC 0,5% = 500 mg/100 ml
 - = 5 mg/1 ml

- ✓ Larutan stok yang dibuat adalah 200 ml
 - = Stok Na CMC 0,5% = $\frac{200 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} 500 \text{ mg}$
 - = $\frac{1000 \text{ mg}}{200 \text{ ml aquadest}}$
 - = 1 g/200 ml aquadest

Kelompok Dosis Pemberian	Jenis Hewan	Berat Badan (gram)	Perhitungan dosis	Volume pemberian (ml)
Na CMC 0,5 %	Jantan	200	$\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	3
		200	$\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	3
		150	$\frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	2,25
		150	$\frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	2,25
		150	$\frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	2,25
	Betina	200	$\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	3
		180	$\frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	2,7
		150	$\frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	2,25
		150	$\frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	2,25
		180	$\frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml}$	2,7

Kelompok Dosis Pemberian	Jenis Hewan	Berat Badan (gram)	Perhitungan dosis	Volume pemberian (ml)
Dosis 250 mg/kgBB	Jantan	190	$\frac{190 g}{200 g} \times 2 ml$	1,9
		180	$\frac{180 g}{200 g} \times 2 ml$	1,8
		150	$\frac{150 g}{200 g} \times 2 ml$	1,5
		140	$\frac{140 g}{200 g} \times 2 ml$	1,4
		120	$\frac{120 g}{200 g} \times 2 ml$	1,2
	Betina	160	$\frac{160 g}{200 g} \times 2 ml$	1,6
		200	$\frac{200 g}{200 g} \times 2 ml$	2
		160	$\frac{160 g}{200 g} \times 2 ml$	1,6
		180	$\frac{180 g}{200 g} \times 2 ml$	1,8
		180	$\frac{180 g}{200 g} \times 2 ml$	1,8
		160	$\frac{160 g}{200 g} \times 2 ml$	1,6
Dosis 500 mg/kgBB	Jantan	180	$\frac{180 g}{200 g} \times 2 ml$	1,8
		180	$\frac{180 g}{200 g} \times 2 ml$	1,8
		150	$\frac{150 g}{200 g} \times 2 ml$	1,5
		120	$\frac{120 g}{200 g} \times 2 ml$	1,2
		150	$\frac{150 g}{200 g} \times 2 ml$	1,5
	Betina	150	$\frac{150 g}{200 g} \times 2 ml$	1,5
		200	$\frac{200 g}{200 g} \times 2 ml$	2
		170	$\frac{170 g}{200 g} \times 2 ml$	1,7

Kelompok Dosis Pemberian	Jenis Hewan	Berat Badan (gram)	Perhitungan dosis	Volume pemberian (ml)
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		200	$\frac{200\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	2
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	200	$\frac{200\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	2
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		120	$\frac{120\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,2
		120	$\frac{120\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,2
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
	Betina	150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		200	$\frac{200\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	2
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	200	$\frac{200\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	2
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		120	$\frac{120\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,2
		120	$\frac{120\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,2
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5

Kelompok Dosis Pemberian	Jenis Hewan	Berat Badan (gram)	Perhitungan dosis	Volume pemberian (ml)
	Betina	160	$\frac{160\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,6
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,5
		170	$\frac{170\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,7
		160	$\frac{160\text{ g}}{200\text{ g}} \times 2\text{ ml}$	1,6

Volume pemberian (mL)

Kelompok	Jenis kelamin		Minggu ke -0	Minggu ke-7	Minggu ke-14	Minggu ke-21	Minggu ke-28
Kontrol CMC	Jantan	1	3	3	3	3,1	3,1
		2	3	3	2,97	3	3,1
		3	2,25	2,25	2,29	2,33	158
		4	2,25	2,28	2,31	2,35	159
		5	2,25	2,25	2,24	2,25	2,29
	Betina	1	3	2,97	2,93	2,9	2,9
		2	2,7	2,7	2,67	2,63	2,6
		3	2,25	2,29	2,33	2,37	2,4
		4	2,25	2,25	2,33	2,4	2,5
		5	2,7	2,73	2,76	2,76	2,8
Dosis 250 mg/kgBB	Jantan	1	1,9	1,89	1,86	1,83	1,8
		2	1,8	1,8	1,77	1,75	1,75
		3	1,5	1,51	1,49	1,47	1,45
		4	1,4	1,43	1,43	1,45	1,47
		5	1,2	1,23	1,3	1,28	1,3
	Betina	1	1,6	1,58	1,56	1,54	1,52
		2	2	2	1,97	1,94	1,92
		3	1,6	1,6	1,59	1,56	1,53
		4	1,8	1,8	1,78	1,75	1,73
		5	1,8	1,77	1,74	1,73	1,7
Dosis 500 mg/kgBB	Jantan	1	1,6	1,8	1,77	1,74	1,71
		2	1,8	1,8	1,79	1,75	1,73
		3	1,8	1,5	1,48	1,45	1,43
		4	1,5	1,2	1,22	1,22	1,20

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu ke -0	Minggu ke-7	Minggu ke-14	Minggu ke-21	Minggu ke-28	
	Betina	5	1,2	1,5	1,48	1,46	1,44
		1	1,5	1,53	1,56	1,59	1,62
		2	1,5	2	1,97	1,94	1,93
		3	2	1,68	1,67	1,64	1,63
		4	1,7	15	1,5	1,53	1,52
		5	1,5	1,95	1,9	1,85	1,8
Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	1	2	1,97	1,95	1,93	1,9
		2	1,5	1,47	1,45	1,45	1,42
		3	2	1,2	1,18	1,15	1,12
		4	1,5	1,25	1,23	1,2	1,18
		5	1,2	1,52	1,52	1,55	1,56
	Betina	1	1,2	1,45	1,4	1,35	1,3
		2	1,5	1,49	1,48	1,45	1,44
		3	1,5	1,55	1,56	1,58	1,55
		4	1,5	1,99	1,98	1,96	1,94
		5	1,5	1,53	1,57	1,55	1,55
Dosis 1000 mg/kgBB (satelit)	Jantan	1	2	1,95	1,9	1,85	1,8
		2	1,5	1,5	1,45	1,4	1,35
		3	1,5	1,2	1,19	1,17	1,17
		4	2	1,25	1,27	1,28	1,25
		5	1,5	1,45	1,4	1,35	1,3
	Betina	1	1,2	1,55	1,5	1,45	1,4
		2	1,2	1,45	1,46	1,43	1,44
		3	1,5	1,47	1,47	1,45	1,43
		4	1,6	1,5	1,51	1,53	1,55
		5	1,5	1,68	1,66	1,64	1,62

Lampiran 15. Data Berat Badan Hewan Uji

Kelompok	Jenis Kelamin	Minggu ke-0	Minggu ke-7	Minggu Ke-14	Minggu ke-21	Minggu ke-28	
Kontrol CMC	Jantan	1	200	200	200	205	205
		2	200	200	198	199	202
		3	150	150	153	155	158
		4	150	152	154	157	159
		5	150	150	149	150	153
	Rata-Rata		170	170,4	170,8	173,2	175,4
	SD		27,39	27,03	25,82	26,49	25,77
	Betina	1	200	198	195	193	190
		2	180	180	178	175	173
		3	150	153	155	158	158
		4	150	150	155	160	165
		5	180	182	184	184	187
	Rata-Rata		172	172,6	173,4	174	174,6
	SD		21,68	20,51	18	15,12	14
Dosis 250 mg/kgBB	Jantan	1	190	189	186	183	180
		2	180	180	177	175	175
		3	150	151	149	147	145
		4	140	143	143	145	147
		5	120	123	130	128	130
	Rata-Rata		156	157,2	157	155,6	155,4
	SD		28,81	27,11	23,61	23	21,3
	Betina	1	160	158	156	154	152
		2	200	200	197	194	192
		3	160	160	159	156	153
		4	180	180	178	175	173
		5	180	177	174	173	170
	Rata-Rata		176	175	172,8	170,4	168
	SD		16,73	17,1	16,5	16,3	16,5
Dosis 500 mg/kgBB	Jantan	1	180	180	177	174	171
		2	180	180	179	175	173
		3	150	150	148	145	143
		4	120	120	122	122	120
		5	150	150	148	146	144
	Rata-Rata		156	156	154,8	152,4	150,2
	SD		25,1	25,1	23,7	22,35	22,17
	Betina	1	150	153	156	159	162
		2	200	200	197	194	193
		3	170	168	167	164	163
		4	150	150	150	153	152
		5	200	195	190	185	180
	Rata-Rata		174	173,2	172	171	170

Kelompok	Jenis Kelamin	Minggu ke-0	Minggu ke-7	Minggu Ke-14	Minggu ke-21	Minggu ke-28	
	SD	25,1	23,3	20,7	17,62	16,32	
Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	1	200	197	195	193	190
		2	150	147	145	145	142
		3	120	120	118	115	112
		4	120	125	123	120	118
		5	150	152	152	155	156
	Rata-Rata	148	148,2	146,6	145,6	143,6	
	SD	32,71	30,54	30,62	31,33	31,5	
	Betina	1	150	145	140	135	130
		2	150	149	148	145	144
		3	150	155	156	158	155
		4	200	199	198	196	194
		5	150	153	157	155	155
	Rata-Rata	160	160,2	159,8	157,8	155,6	
	SD	22,4	22,03	22,43	23,2	23,8	
Satelit Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	1	200	200	198	196	195
		2	150	150	145	140	145
		3	120	120	119	117	117
		4	120	125	127	128	125
		5	150	145	140	135	130
	Rata-Rata	148	148	148	145,8	143,2	
	SD	32,71	32,71	31,74	30,94	30,75	
	Betina	1	160	155	150	145	140
		2	150	145	146	143	144
		3	150	147	147	145	143
		4	150	150	151	153	155
		5	170	168	166	164	162
	Rata-Rata	156	153	152	150	148,8	
	SD	8,94	9,2	8,1	8,72	9,31	

Lampiran 16. Uji Statistik Berat Badan Hewan Uji

Jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BBT0	BBT7	BBT14	BBT21	BBT28
N		25	25	25	25	25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	155.60	155.76	154.68	153.72	152.60
	Std. Deviation	28.148	26.923	25.934	26.589	27.065
Most Extreme Differences	Absolute	.259	.236	.190	.131	.102
	Positive	.259	.236	.190	.131	.102
	Negative	-.141	-.136	-.125	-.097	-.072
Kolmogorov-Smirnov Z		1.294	1.178	.952	.655	.510
Asymp. Sig. (2-tailed)		.070	.125	.325	.785	.957

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BBT0	.067	4	20	.991
BBT7	.065	4	20	.992
BBT14	.086	4	20	.986
BBT21	.264	4	20	.898
BBT28	.386	4	20	.816

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BBT0	Between Groups	1616.000	4	404.000	.464	.761
	Within Groups	17400.000	20	870.000		
	Total	19016.000	24			
BBT7	Between Groups	1751.760	4	437.940	.560	.694
	Within Groups	15644.800	20	782.240		
	Total	17396.560	24			
BBT14	Between Groups	2201.840	4	550.460	.790	.545
	Within Groups	13939.600	20	696.980		
	Total	16141.440	24			
BBT21	Between Groups	3221.440	4	805.360	1.172	.353
	Within Groups	13745.600	20	687.280		
	Total	16967.040	24			
BBT28	Between Groups	4460.400	4	1115.100	1.700	.190
	Within Groups	13119.600	20	655.980		
	Total	17580.000	24			



One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BBT0	BBT7	BBT14	BBT21	BBT28
N		25	25	25	25	25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	167.60	166.80	166.00	164.64	163.40
	Std. Deviation	19.849	19.553	18.495	18.009	18.081
Most Extreme Differences	Absolute	.252	.207	.207	.162	.119
	Positive	.252	.207	.207	.162	.119
	Negative	-.188	-.132	-.103	-.102	-.104
Kolmogorov-Smirnov Z		1.262	1.035	1.037	.808	.594
Asymp. Sig. (2-tailed)		.083	.235	.232	.531	.872

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BBT0	1.512	4	20	.237
BBT7	1.347	4	20	.288
BBT14	1.181	4	20	.349
BBT21	.681	4	20	.613
BBT28	.443	4	20	.776

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BBT0	Between Groups	1616.000	4	404.000	1.031	.416
	Within Groups	7840.000	20	392.000		
	Total	9456.000	24			
BBT7	Between Groups	1879.200	4	469.800	1.288	.308
	Within Groups	7296.800	20	364.840		
	Total	9176.000	24			
BBT14	Between Groups	1857.200	4	464.300	1.462	.251
	Within Groups	6352.800	20	317.640		
	Total	8210.000	24			
BBT21	Between Groups	2111.760	4	527.940	1.862	.157
	Within Groups	5672.000	20	283.600		
	Total	7783.760	24			
BBT28	Between Groups	2320.800	4	580.200	2.100	.119
	Within Groups	5525.200	20	276.260		
	Total	7846.000	24			

Lampiran 17. Hasil pengamatan makropatologi organ hati

Kelompok	Hewan uji	Bentuk		Warna	Bau	Kondisi
		Permukaan	Benjolan			
CMC	1	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
	2	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
	3	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
Dosis 250mg/kgbb	1	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
	2	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
	3	Licin	Tidak ada	Merah kecoklatan	Anyir	Utuh
Dosis 500mg/kgbb	1	Licin	Tidak ada	Mera kecoklatan	Anyir	Utuh
	2	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
	3	Licin	Tidak ada	Merah kecoklatan	Anyir	Utuh
Dosis 1000mg/kgbb	1	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
	2	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
	3	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
Satelit	1	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh
	2	Licin	Tidak ada	Merah kecoklatan	Anyir	Utuh
	3	Licin	Tidak ada	Merah	Anyir	Utuh

Lampiran 18. Berat Organ dan Indeks Organ Hati

Kelompok	Jantan			Betina		
	BB Tikus (gr)	Berat Hati (gr)	% Indeks Organ	BB Tikus (gr)	Berat Hati (gr)	% Indeks Organ
Kontrol CMC	207	8.70	4.20	190	6.59	3.47
Kontrol CMC	205	5.02	2.45	173	4.38	2.53
Kontrol CMC	158	7.42	4.69	187	5.17	2.76
Dosis 250mg/kgBB	180	7.97	4.43	152	4.34	2.85
Dosis 250mg/kgBB	175	3.35	1.91	192	3.96	2.06
Dosis 250mg/kgBB	147	3.75	2.55	153	4.70	3.07
Dosis 500mg/kgBB	171	4.4	2.57	162	4.02	2.48
Dosis 500mg/kgBB	173	5.15	2.98	193	4.39	2.27
Dosis 500mg/kgBB	143	3.39	2.37	163	4.11	2.52
Dosis 1000mg/kgBB	190	4.72	2.48	130	3.80	2.92
Dosis 1000mg/kgBB	142	4.05	2.85	144	3.26	2.26
Dosis 1000mg/kgBB	112	3.39	3.03	194	4.13	2.12
Satelit	195	4.08	2.09	155	4.26	2.74
Satelit	130	3.21	2.47	144	3.05	2.11
Satelit	145	3.58	2.46	162	4.52	2.79

Lampiran 19. Hasil Pengukuran kadar SGOT

Kelompok	Jantan		Betina	
	T0	T28	T0	T28
Kontrol CMC	49	48	49	50
	48	51	48	49
	47	50	49	53
	47	48	50	51
	49	50	49	50
Rata-Rata	48	49,4	49	50,6
SD	1	1,34	0,70	1,51
Dosis 250 mg/kgBB	51	49	50	49
	50	51	63	48
	48	51	52	53
	49	47	51	47
	49	51	49	53
Rata-Rata	49,4	49,8	53	50
SD	1,14	1,78	5,70	2,82
Dosis 500 mg/kgBB	48	53	52	57
	52	47	50	64
	48	51	48	56
	48	50	55	73
	47	50	49	69
Rata-Rata	48,6	50,2	50,8	63,8
SD	1,94	2,16	2,77	7,39
Dosis 1000 mg/kgBB	51	53	55	77
	46	49	53	90
	49	51	55	70
	47	51	48	84
	49	46	47	83
Rata-Rata	48,4	50	51,6	80,8
SD	1,94	2,64	3,84	7,59

Kelompok	Jantan			Betina		
	T0	T28	T42	T0	T28	T42
Dosis 1000 mg/kgBB (satelit)	45	64	50	63	95	85
	45	49	47	53	90	92
	45	54	50	48	86	63
	48	54	53	50	91	63
	50	53	57	55	68	73
Rata-Rata	46,6	54,8	51,4	53,8	86	75,2
SD	2,30	5,54	3,78	5,80	10,55	13,04

Lampiran 20. Uji Statistik ANOVA Terhadap Kadar SGOT

Jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar SGOT Jantan
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.00
	Std. Deviation	1.443
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156
	Negative	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		.779
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Awal	1.488	4	20	.243
Akhir	1.403	4	20	.269

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Awal	Between Groups	21.200	4	5.300	1.743	.180
	Within Groups	60.800	20	3.040		
	Total	82.000	24			
Akhir	Between Groups	99.760	4	24.940	2.631	.065
	Within Groups	189.600	20	9.480		
	Total	289.360	24			

 **Betina**
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar SGOT Betina
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.00
	Std. Deviation	1.443
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156
	Negative	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		.779
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kawal	2.156	4	20	.111
Kakhir	2.215	4	20	.104

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kawal	Between Groups	70.960	4	17.740	.994	.433
	Within Groups	356.800	20	17.840		
	Total	427.760	24			
Kakhir	Between Groups	5583.760	4	1395.940	29.802	.000
	Within Groups	936.800	20	46.840		
	Total	6520.560	24			

Post Hoc Tests

Kawal

Student-Newman-Keuls^a

Kadar SGOT Betina	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
Kontrol CMC	5	49.00	
Dosis 500 mg/kgBB	5	50.80	
Dosis 1000 mg/kgBB	5	51.60	
Dosis 250 mg/kgBB	5	53.00	
Satelit	5	53.80	
Sig.		.403	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Kakhir

Student-Newman-Keuls^a

Kadar SGOT Betina	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Dosis 250 mg/kgBB	5	50.00		
Kontrol CMC	5	50.60		
Dosis 500 mg/kgBB	5		63.80	
Dosis 1000 mg/kgBB	5			80.80
Satelit	5			86.00
Sig.		.891	1.000	.244

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 21. Hasil Pengukuran Kadar SGPT

Kelompok	Jantan		Betina	
	T0	T28	T0	T28
Kontrol CMC	18,4	18,3	20	20,6
	19,3	19,6	22,2	21,3
	21,4	20,3	21	21,3
	20,4	19,7	18,6	19,2
	22,3	23,5	19,7	19,3
Rata-Rata	20,36	20,28	20,3	20,34
SD	1,6	1,7	1,36	1,03
Dosis 250 mg/kgBB	19,7	20	20	19,7
	22,4	21	21,3	20,4
	21,7	20,2	18,7	19,3
	27,3	29,5	21,3	20,2
	18,4	19	19	22,5
Rata-Rata	21,9	21,94	20,06	20,42
SD	3,4	4,3	1,23	1,23
Dosis 500 mg/kgBB	21,3	57,3	21,3	61,2
	23,4	95,3	19,9	77,6
	21,3	53,9	22	30,3
	20,2	62,5	18	73,2
	21	35	24,5	57
Rata-Rata	21,44	60,8	21,14	59,86
SD	1,2	21,9	2,42	18,55
Dosis 1000 mg/kgBB	30	70,3	18	67,3
	21	59,7	19,4	97,5
	19,3	92,3	21	72,4
	19	58	19,4	67,3
	23,2	20,5	19,9	37
Rata-Rata	22,5	60,16	19,54	68,3
SD	4,51	26,04	1,08	21,51

Kelompok	Jantan			Betina		
	T0	T28	T42	T0	T28	T42
Dosis 1000 mg/kgBB (Satelit)	19	57,3	50,2	19	27,4	25
	22,5	90	43,2	19,8	72	30,3
	21,2	69,8	40,2	20	65,2	50,2
	20	93,1	31,3	21,3	76,3	63,5
	20	62,3	39,2	20,4	86,3	63,5
Rata-Rata	20,54	74,5	40,82	20,1	65,44	46,5
SD	1,344	16,22	6,84	0,84	22,60	18,14

Lampiran 22. Hasil Uji ANOVA Terhadap Kadar SGPT

Jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelompok SGPT Jantan
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.00
	Std. Deviation	1.443
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156
	Negative	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		.779
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kawal	2.084	4	20	.121
Kakhir	2.222	4	20	.103

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kawal	Between Groups	16.346	4	4.087	.542	.706
	Within Groups	150.676	20	7.534		
	Total	167.022	24			
Kakhir	Between Groups	12302.006	4	3075.501	10.653	.000
	Within Groups	5773.772	20	288.689		
	Total	18075.778	24			

Post Hoc Tests

Kawal

Student-Newman-Keuls^a

Kelompok SGPT Jantan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
Kontrol CMC	5	20.360	
Satelit	5	20.540	
Dosis 500mg/kgBB	5	21.440	
Dosis 250mg/kgBB	5	21.900	
Dosis 1000mg/kgBB	5	22.500	
Sig.			.733

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Kakhir

Student-Newman-Keuls^a

Kelompok SGPT Jantan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol CMC	5	20.280	
Dosis 250mg/kgBB	5	21.940	
Dosis 1000mg/kgBB	5		60.160
Dosis 500mg/kgBB	5		60.800
Satelit	5		74.500
Sig.		.879	.393

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

 **Betina**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar SGPT Betina
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.00
	Std. Deviation	1.443
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156
	Negative	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		.779
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kawal	1.393	4	20	.272
Kakhir	2.174	4	20	.109

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kawal	Between Groups	6.774	4	1.694	.762	.562
	Within Groups	44.456	20	2.223		
	Total	51.230	24			
Kakhir	Between Groups	11881.366	4	2970.342	11.249	.000
	Within Groups	5281.224	20	264.061		
	Total	17162.590	24			

Post Hoc Tests

Kawal

Student-Newman-Keuls^a

Kadar SGPT Betina	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Dosis 1000mg/kgBB	5	19.540
Dosis 250mg/kgBB	5	20.060
Satelit	5	20.100
Kontrol CMC	5	20.300
Dosis 500mg/kgBB	5	21.140
Sig.		.458

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

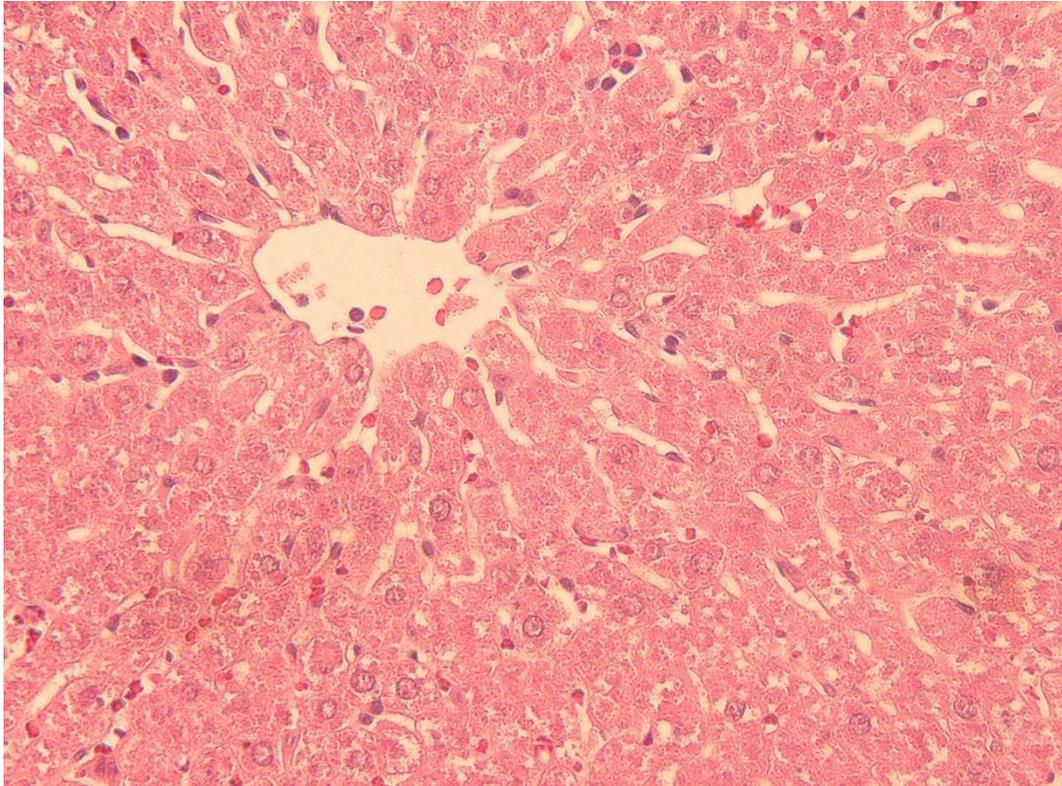
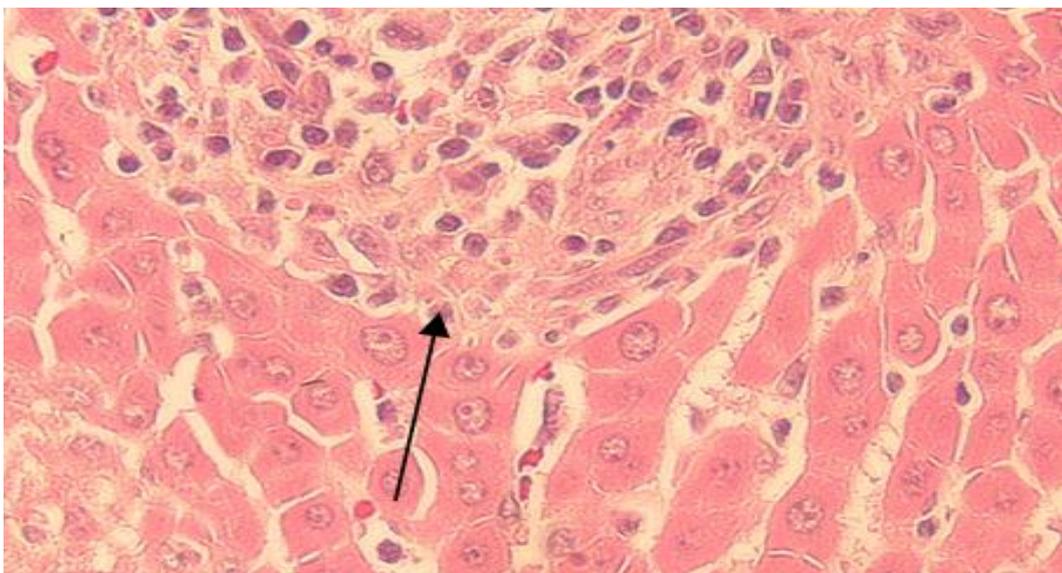
Kakhir

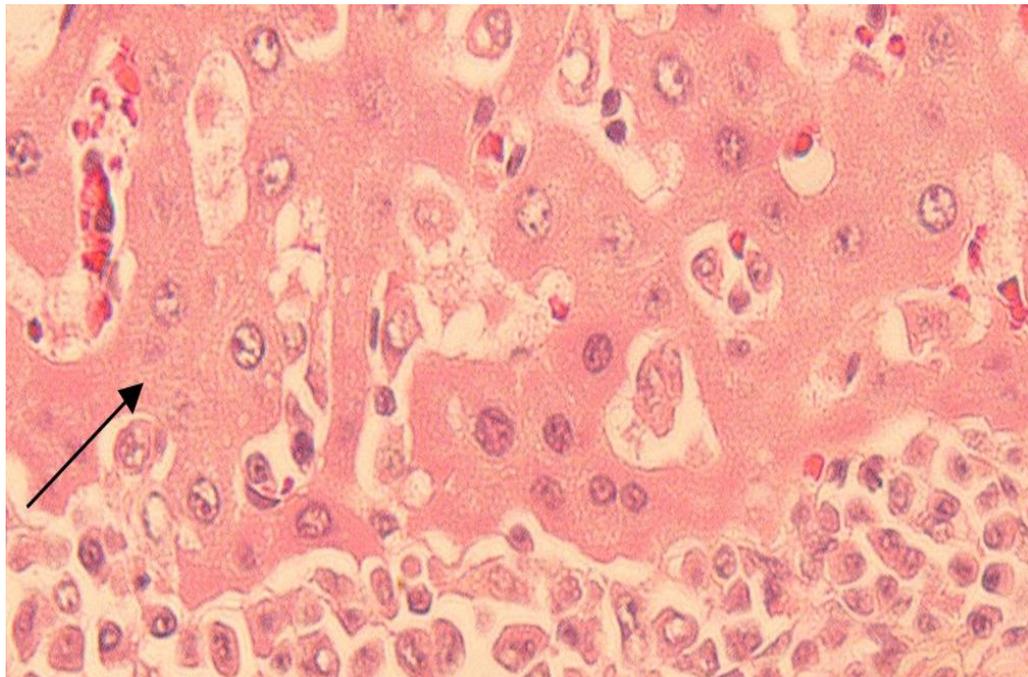
Student-Newman-Keuls^a

Kadar SGPT Betina	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol CMC	5	20.340	
Dosis 250mg/kgBB	5	20.420	
Dosis 500mg/kgBB	5		59.860
Satelit	5		65.440
Dosis 1000mg/kgBB	5		68.300
Sig.		.994	.695

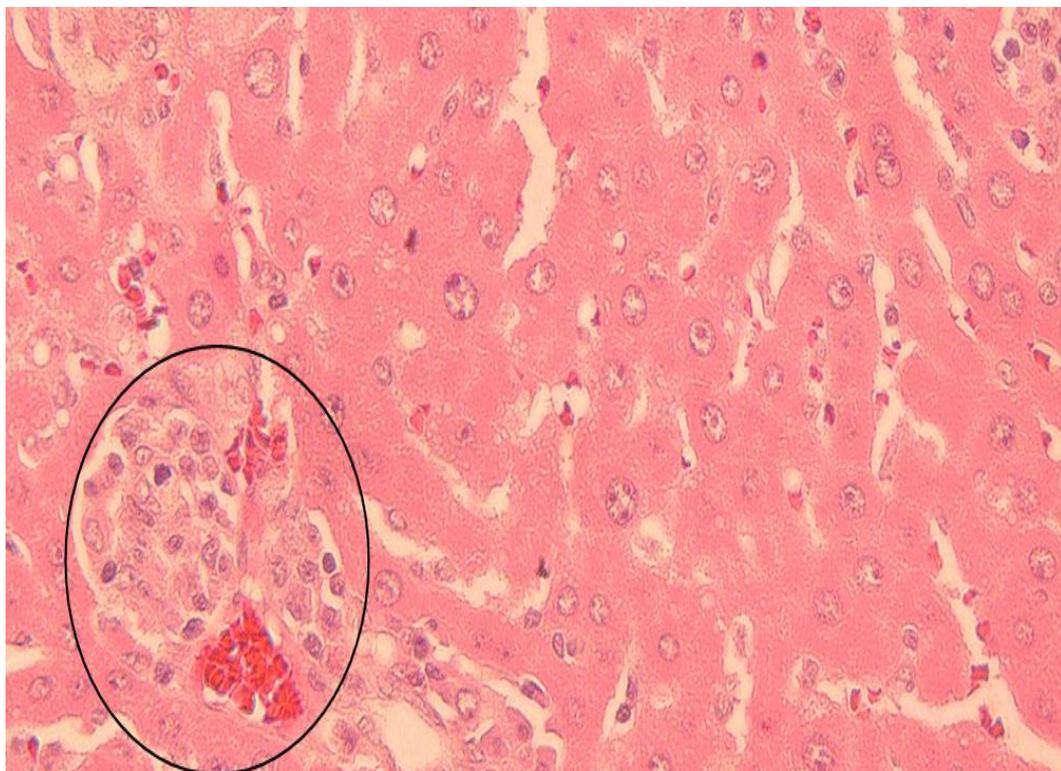
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

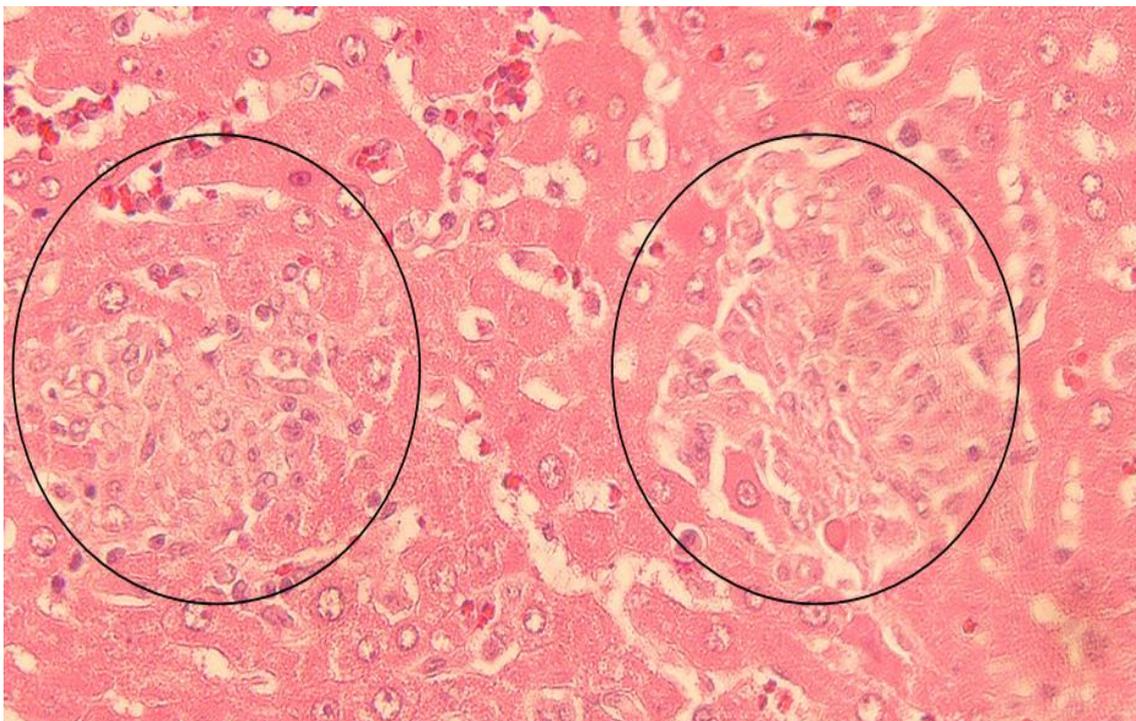
Lampiran 23. Hasil Histopatologi Hewan Uji**Histopatologi hati hewan uji (normal)****Histopatologi hewan uji (radang)**



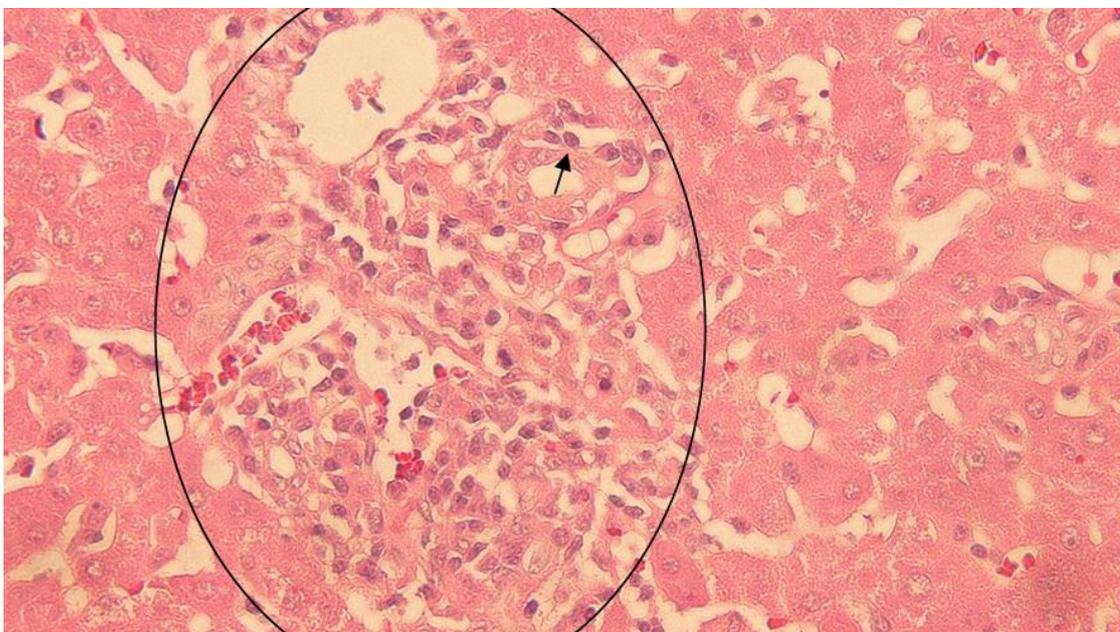
2K hati 40x N



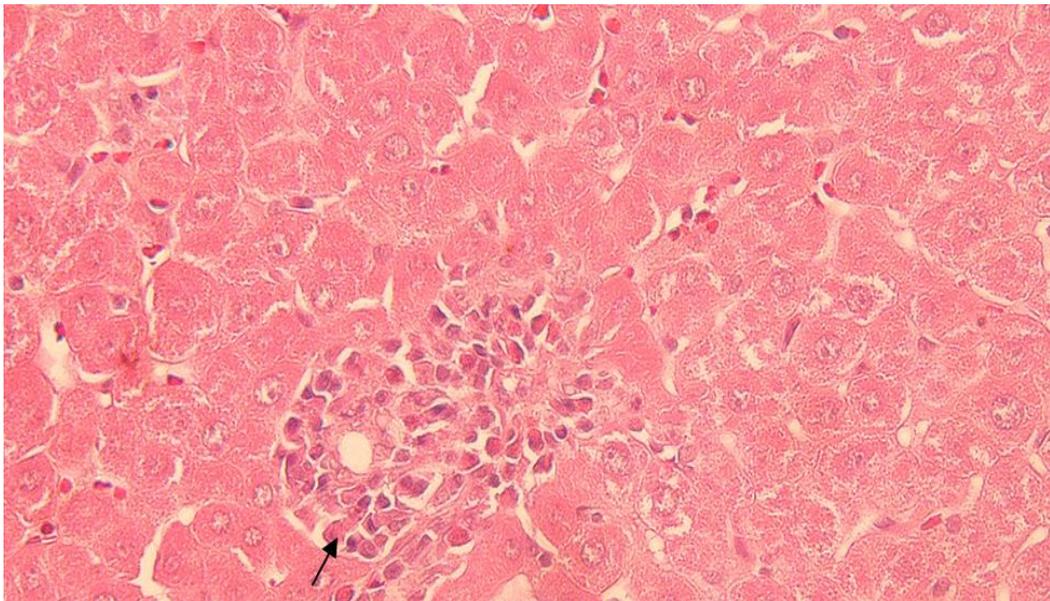
Histopatologi hewan uji Radang (lingkaran), dan Nekrosis tidak ada batas



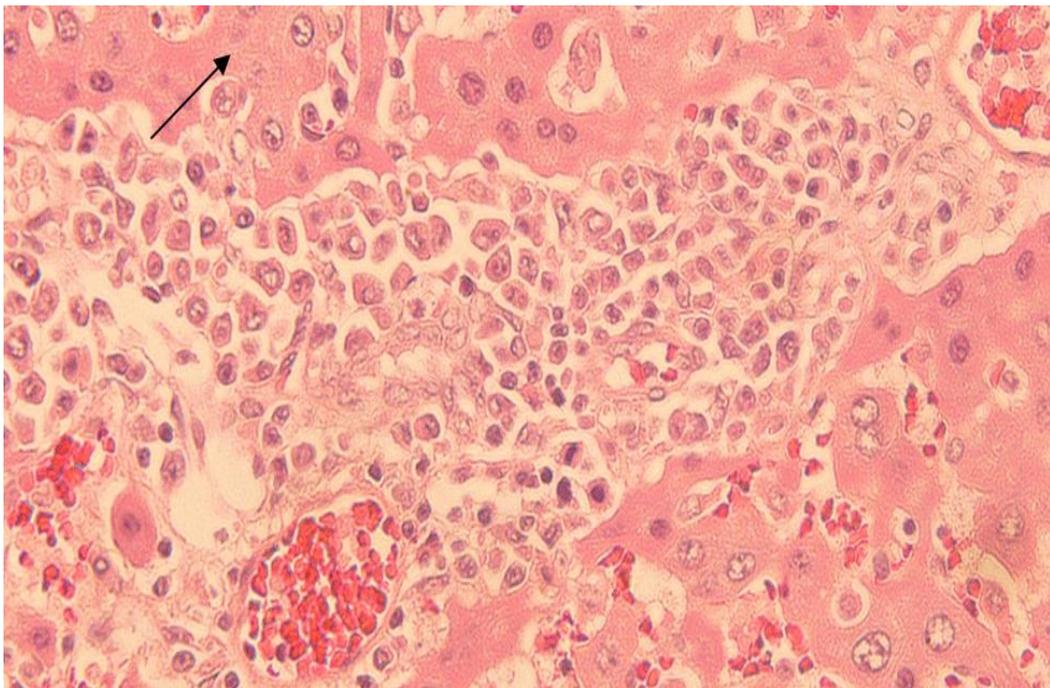
11K hati 40x N>>



5K hati 40x R1 N



7K hati 40x R/N



12K hati 40x N>