

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa*)

1. Definisi

Temu hitam (*Curcuma aeruginosa*) adalah jenis tumbuhan yang rimpangnya digunakan untuk membuat obat atau jamu. Temu hitam juga disebut temu lotong, temu erang, atau temu ireng.



Gambar 1. Gambar rimpang temu hitam

2. Sistematika tanaman

Kingdom : Plantae
Divisio : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : *Curcuma*
Spesies : *Curcuma aeruginosa*

3. Kandungan kimia

Minyak atsiri, saponin, polifenol, dan flavonoid ditemukan dalam tumbuhan temu hitam (Anonim, 2008). Karena mengandung senyawa flavonoid yang dikenal memiliki aktivitas antikanker, temu hitam dianggap memiliki aktivitas sitotoksik (Srisadono, 2008). Flavonoid juga berpotensi berperan sebagai imunostimulan karena dapat meningkatkan produksi IL-2 yang bertugas mengaktifkan proliferasi sel T. Flavonoid dapat membuat IFN-, yang membantu

limfosit B membuat imunoglobulin. IFN- γ juga membantu sel Th1 membuat IFN- γ . (Carmelita, 2016).

4. Kegunaan tanaman

Tanaman temu hitam umumnya digunakan untuk penambah rasa lapar, membersihkan darah sehabis bersalin, mengencerkan lendir, mengatasi masuk angin, mengobati infeksi kulit, mengobati penyakit asam lambung, menyembuhkan luka, melepuh dan mengobati cacangan (Suparni, 2012).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat. Itu tidak diproses selain dalam bentuk bahan kering. Bagian tanaman, eksudat, atau keseluruhan tanaman merupakan contoh simplisia nabati. Isi sel yang tiba-tiba keluar dari tumbuhan, isi sel yang secara nyata dikeluarkan dari sel, atau zat tumbuhan lain yang diisolasi dari tumbuhan dengan cara tertentu dikenal sebagai eksudat tumbuhan. Simplisia makhluk adalah simplisia makhluk secara keseluruhan, bagian-bagiannya sebagai senyawa sintetik murni, simplisia pelicasis (mineral) yang malang ditangani secara dasar dan sebagai bahan majemuk murni (Gunawan & Mulyani, 2004).

2. Perajangan

Perajangan simplisia membantu pengeringan simplisia dan penghancuran dan pemerasan. Alat belah luar biasa, pisau, digunakan untuk meretas simplisia. Potongan dengan ukuran dan ukuran yang diperlukan dapat diperoleh dengan alat pembelah khusus (Depkes, 1986). Bahan baku diperajangan untuk membuat permukaannya lebih luas, yang akan membuatnya kering lebih cepat (Gunawan & Mulyani, 2004).

3. Pengeringan

Karena enzim pada bahan mentah akan memecahnya, maka pengeringan dilakukan untuk mencegah kerusakan mudah. Jika ada air di dalam simplisia, protein akan memisahkan bahan-bahan nutrisi yang ada. Bahan kimia dipecah oleh ini, mencegah tumbuhnya jamur dan mikroorganisme lainnya. Memasukkannya ke dalam oven dengan suhu

tertentu atau menyembunyikannya dari sinar matahari langsung di bawah atap rumah adalah dua cara menjemurnya di tempat teduh. Sebelum dijemur, permukaan rimpang harus dicincang terlebih dahulu (Gunawan & Mulyani, 2004).

4. Penyimpanan

Penyimpanan produk harus dilakukan di tempat yang memiliki suhu, cahaya, dan kelembapan udara yang sesuai untuk memastikan dan memperpanjang masa penggunaan produk. Persyaratan gudang untuk simplisia, cara penyortiran dan pemeriksaan mutu, serta cara pengawetan merupakan hal-hal yang perlu diperhatikan dalam penyimpanan simplisia karena dapat merusak produk. Menyimpan simplisia pada tempat yang tidak tepat dapat membahayakan simplisia tersebut karena dimakan oleh serangga atau ngengat yang merupakan serangga. Kerusakan yang dilakukan hewan pengerat seperti tikus terhadap simplisia memerlukan perhatian (Suswono, 2013).

C. Ekstraksi

Pemindahan masa didefinisikan sebagai pencarian atau ekstraksi. Dalam sel yang dindingnya masih utuh, proses penyarian terjadi ketika zat aktif dalam sel ditarik oleh cairan penyari, menyebabkan larutan zat aktif dalam cairan penyari. Derajat kehalusan serbuk dan perbedaan konsentrasi mempengaruhi pencarian (Depkes, 1986).

1. Cairan penyari

Cairan penyari dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa kandungan yang berkhasiat dan aktif selama proses pembuatan ekstrak. Ini dapat dilakukan dengan memisahkan cairan penyari dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya. pilih, murah, mudah, ramah lingkungan, aman (Depkes, 2000).

1.1 Air. Air merusak gusi, pati, protein, bank, katalis, lemak, gelatin, pewarna, lemak, lilin, dan asam alami selain melarutkan garam alkaloid, minyak yang hilang, glikosida, tanin, dan gula. Air yang dimanfaatkan sebagai saluran cair kurang produktif. Air merupakan tempat berkembang biaknya mikroba, jamur dan ragi, oleh karena itu bahan tambahan harus ditambahkan saat membuat air. Air dipandang

sebagai racun karena sifatnya yang sederhana, stabil, tidak dapat diprediksi dan tidak mudah terbakar, tidak berbahaya dan teratur. Jus dapat menumbuhkan jamur dan kuman, cepat rusak, dan membutuhkan waktu lama untuk mengering karena tidak selektif dalam memilih air (Depkes, 2000).

1.2 Etanol. Alkaloid dasar, minyak tidak stabil, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakonin, flavonoid, steroid, getah, dan klorofil adalah semua contoh bahan yang dapat dipecahkan oleh etanol. Lemak, lilin, tanin, dan saponin semuanya sangat mudah terurai. Untuk meningkatkan kemampuan penyaringan, etanol dan air biasanya digabungkan. Bergantung pada bahan yang akan diekstraksi, proporsi etanol dan air berbeda. Dengan konsentrasi etanol di atas 20%, etanol dianggap sebagai polutan karena lebih selektif, menghalangi jamur dan kuman untuk berkembang biak, tidak beracun, netral, memiliki daya serap yang baik, dapat disamakan dengan air, dan menghasilkan lebih sedikit panas. dibutuhkan untuk menempatkannya (Depkes, 2000).

2. Metode penyarian

Cara penyarian dapat dibedakan menjadi : infudasi, maserasi, perkolasi dan penyarian berkesinambungan (Depkes, 1986).

2.1 Infudasi. Perencanaan cairan melibatkan pemisahan simplisia dengan air selama lima belas menit pada suhu 90 derajat Celcius. Implantasi adalah interaksi penyaringan yang biasanya digunakan untuk memisahkan bahan tanaman dari zat dinamis yang larut dalam air. Cara pemurnian ini menghasilkan sari buah yang kental sehingga mudah bercampur dengan bentuk dan mikroorganisme lain, sehingga sari buah tidak boleh dibiarkan lebih dari 24 jam (Depkes, 1986).

2.2 Maserasi. Teknik pemisahan langsung. Proses maserasi selesai ketika serbuk simplisia dituangkan ke dalam cairan saluran. Karena adanya perbedaan fiksasi antara zat dinamis di dalam dan di luar sel, maka cairan saluran akan menyusup ke dinding sel kemudian masuk ke lubang sel. Akibatnya, komposisi yang terkonsentrasi akan menderita. Peristiwa ini diulangi untuk menjaga keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Maserasi umumnya dilakukan pada suhu 15°C - 20°C selama 33 hari hingga bahan terurai dalam saluran. Air, etanol, air-etanol, atau pelarut lainnya dapat

digunakan sebagai cairan filter. Proses kerja dan peralatan yang digunakan dalam maserasi sederhana, sehingga memberikan keuntungan; namun, pengerjaannya memakan waktu lama dan ekstraksinya di bawah standar (Depkes, 1986).

2.3 Perkolasi. Proses melewati pelarut yang sesuai secara perlahan melalui simplisia yang telah dimurnikan dalam kolom untuk mengekstraksi simplisia. Perkolator adalah alat ekstraksi yang memampatkan simplisia, dan ekstrak yang dihasilkan disebut *percolate* (Ansel, 1985). Adanya aliran cairan penyari mencegah perpindahan larutan dengan larutan dengan konsentrasi lebih rendah, yang membuat metode perkolasi lebih baik daripada metode meserasi. Penyarian berkesinambungan adalah prosedur yang digunakan untuk menghasilkan ekstrak cair yang akan dilanjutkan dengan penguapan (Depkes, 1986).

2.4 Soxhlet. Ekskresi soxhlet hanya diperlukan ketika senyawa yang diinginkan terlarut dalam pelarut yang terbatas dan pengotornya tidak larut. Jika senyawa yang diinginkan terlarut dalam pelarut yang tinggi, maka senyawa dapat dibedakan dari zat yang tidak larut dengan menggunakan filtrasi sederhana. Keuntungan Soxhlet adalah bahwa sampel tidak mengeluarkan banyak bagian pelarut hangat dan hanya satu batch pelarut yang didaur ulang. Karena pemanasan yang berkepanjangan dapat merusak senyawa, metode ini tidak dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas (Tiwari *et al.*, 2011).

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah teknik pemisahan fisikokimia yang mengandalkan distribusi molekul komponen antara dua fase gerak eluen dan penyerap masing-masing dengan tingkat polaritas yang berbeda. Kromatografi lapis tipis, teknik kromatografi planar, digunakan untuk membedakan senyawa hidrofobik seperti lipid dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo, 1991).

Prinsip pemisahan kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa senyawa memiliki sifat kimia dan fisik yang berbeda. Ini termasuk kecenderungan molekul untuk menempel pada permukaan, menguap, dan larut dalam cairan (kelarutan). Nilai R_f (*Retardation factor*), yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen sehubungan dengan jarak keseluruhan, dapat digunakan dalam kromatografi lapis tipis untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda, seperti :

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

Struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap, ketebalan dan panjang lapisan penyerap, pelarut (fasa gerak), derajat kejenuhan, cara pemisahan, jumlah sampel, dan suhu semuanya berdampak pada pergerakan titik R_f dalam kromatografi lapis tipis (Sastrohamidjojo, 1991).

E. Uji Toksisitas

Bahaya yang timbul karena keterbukaan terhadap suatu zat pada manusia yang masih berada di udara dengan memusatkan perhatian pada dampak gabungan, porsi yang dapat menimbulkan akibat yang merugikan bagi manusia, penyebab kanker, dampak teratogenik, mutagenik, dan sebagainya. Biasanya, data ini dapat diperoleh dari pengujian yang melibatkan kelinci percobaan sebagai model yang dimaksudkan untuk serangkaian pengujian bahaya yang mencakup keracunan mulut yang intens, bahaya subkronik oral, bahaya oral yang terus-menerus, teratogenisitas, penghalusan kulit, gangguan mata, gangguan kulit yang parah, vagina. gangguan mukosa, kerusakan parah pada kulit, kerusakan subkronis pada kulit, dan uji sifat penyebab kanker. Sebagai aturan umum, data ini dapat diperoleh dari pengujian yang melibatkan kelinci percobaan sebagai model yang dimaksudkan untuk rangkaian pengujian bahaya yang mencakup keracunan mulut intens, keracunan mulut subkronis, dan pengujian bahaya mulut yang sedang berlangsung. Uji keracunan pada kelinci percobaan dilakukan sebagai bukti pendukung keamanan suatu perencanaan pengujian. Keputusan pengujian bergantung pada alasan di balik penggunaan suatu zat, lamanya penggunaan, dan kemungkinan bahaya akibat keterbukaan terhadap manusia (BPOM 2022).

1. Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut adalah tes untuk mencari efek negatif yang muncul dengan cepat setelah protokol tes dikontrol dan diberikan secara oral dalam satu porsi atau dalam beberapa dosis yang dapat diminum dalam waktu 24 jam atau kurang. Standar pengujian bahaya yang intensif melibatkan pengujian kelinci percobaan dengan porsi

yang berbeda diberikan kepada masing-masing kelompok. Setelah itu, efek toksik dan kematian dinilai. Otopsi dilakukan pada hewan yang mati selama uji coba dan yang masih hidup selama sisa analisis untuk mengidentifikasi indikasi bahaya.

Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk mengidentifikasi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan sensitivitas organ target dan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah paparan akut suatu zat, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk meningkatkan kadar dosis, merancang uji toksisitas lanjutan, memperoleh nilai LD₅₀ suatu bahan atau sediaan, dan menentukan klasifikasi dan pelabelan bahan atau sediaan (BPOM, 2014).

2. Uji toksisitas Subkronis

Uji toksisitas subkronis dilakukan dengan memberikan bahan uji berulang kali, biasanya setiap hari atau lima hari seminggu, selama kurang lebih 10% dari masa hidup hewan. Beberapa peneliti menggunakan jangka waktu lebih pendek, seperti pemberian zat selama 14 atau 28 hari (Lu, 2010). Uji toksisitas subkronis bekerja berdasarkan prinsip bahwa sediaan uji diberikan dalam dosis yang berbeda kepada kelompok selam selama 28 atau 90 hari, dan kelompok satelit yang diperklukan ditambahkan untuk mengidentifikasi efek yang tertunda atau dapat diperbaiki. Hewan uji harus diamati setiap hari untuk mengetahui apakah ada toksisitas selama waktu uji. Hewan yang mati selama periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan, dilakukan pemeriksaan hematologic, biokimia klinis serta histopatologi (BPOM, 2014).

Tujuan uji toksisitas subkronis adalah untuk mengetahui efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, informasi tentang kemungkinan efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, informasi tentang dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse effect level/NOAEL*), dan untuk mengetahui efek kumulatif dan reversibilitas zat tersebut (BPOM, 2014).

Hewan yang digunakan untuk uji toksisitas subkronis adalah rodensia tikus putih (strain *Sprague Dawley* atau *Wistar*) atau mencit (strain ddY atau BAL.B/c, dll.). Hewan yang diuji harus sehat dan berusia antara enam dan delapan minggu. Setiap kelompok dosis terdiri dari lima hewan jantan dan lima hewan betina, bersama dengan

kelompok satelit tambahan. Setelah pemberian sediaan uji berakhir, kelompok satelit diamati untuk reversibilitas selama 14 hari.

Sediaan uji digunakan dalam tiga kelompok dosis. Dosis tertinggi dari sediaan uji mempunyai efek toksik tanpa menyebabkan kematian atau gejala toksisitas yang parah; Dosis terendah dari sediaan uji menghasilkan gejala toksik yang lebih ringan; Selain itu, tidak ada gejala toksik yang diamati pada dosis terendah dari sediaan uji (BPOM, 2014).

2.1 Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari. Sediaan uji yang digunakan secara klinis apakah digunakan sekali atau berulang dalam waktu kurang dari satu minggu untuk diuji dengan uji toksisitas ini.

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

3. Uji toksisitas Kronis

Uji toksisitas kronis oral sama dengan uji toksisitas subkronis, tetapi dilakukan pada hewan uji selama tidak kurang dari waktu berikut: Uji toksisitas kronis oral mengukur reaksi toksik yang dihasilkan setelah pemberian sediaan uji berulang kali selama sebagian besar umur hewan uji:

- a. 9 bulan untuk proses pengujian yang umumnya dipandang aman, seperti mengubah obat alami menjadi obat herbal atau fitofarmaka yang dinormalisasi; atau
- b. 12 bulan untuk campuran murni atau rangkaian pengujian yang mungkin beracun, misalnya rangkaian pengujian yang mengandung bahan baru atau bahan sintetik tertentu, misalnya alkaloid tinggi atau hasil fraksinasi yang profil keamanannya tidak jelas.

Uji toksisitas oral jangka panjang digunakan untuk menentukan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (NOAEL) dan mengukur profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji dalam waktu lama. Sebagai bagian dari informasi toksisitas, uji toksisitas kronis harus dirancang dengan mempertimbangkan efek neurologis, fisiologis, hematologi, biokimia klinis, dan histopatologis. Jika perlu, uji bahaya oral secara terus-menerus dapat dilakukan bersamaan dengan uji sifat

penyebab kanker pada hewan serupa menggunakan konvensi yang mengacu pada OECD TG 453 (2018).

Obat-obatan, obat tradisional, dan zat lain yang sering digunakan selama lebih dari empat minggu harus menjalani uji toksisitas jangka panjang (BPOM, 2022).

F. Histopatologi

1. Histopatologi

Histopatologi mencakup pemeriksaan jaringan secara makroskopik dan mikroskopik serta pengambilan sampel jaringan untuk pemeriksaan. Salah satu cara utama untuk mendiagnosis tumor dan memberikan informasi tentang prognosisnya adalah dengan menilai tingkat (grade) dan stadium spesimen hasil reseksi atau pembedahan. Diagnosis kondisi infeksi dan peradangan dapat juga dibuat seperti deteksi *helicobacter pylori* pada biopsi gaster atau deteksi diagnosis kondisi peradangan kulit. Sebagian besar diagnose histopatologi berasal dari potongan jaringan blok paraffin yang diwarnai dengan hematoksilin dan eosin. Jaringan-jaringan ini berasal dari eksisi bedah atau biopsi yang dimasukkan ke dalam jaringan fiksasi formaldehid (Underwood, 1999).

2. Kerusakan jaringan akibat bahan toksik

Hiperplasia merupakan suatu respon umum jaringan. Hiperplasia merupakan penambahan jumlah sel dengan cara pembelahan sel yang terjadi akibat rangsangan tertentu dan hanya terlihat pada analisis histologis dengan mikroskop, apabila rangsangan hilang dapat kembali normal. Suatu komponen yang penting pada hiperplasia yang sering lepas dari perhatian karena hilangnya seldengan cara apoptosis.

Hipoplasia adalah kegagalan pembentukan organ yang mencapai ukuran normal. Kelainan ini mungkin hanyaterdapat di bagian kecil organ, misalnya hipoplasia segmental pada ginjal. Hipoplasia yang relatif sering ditemukan ialah hipoplasia yang mengenai inti osscous pada asetabulum dan akan menyebabkan terjadinya dislokasi bawaan pada pinggul karena atap yang mendarat dari asetabulum (Unerwood, 1999)

3. Respon atas cedera sel

Ada banyak penyebab yang dapat mencederai sel. Penyebab tersebut dapat dikelompokkan menjadi beberapa kelompok. Mekanisme kerjanya sering mirip satu sama lain.

Berbagai penyebab yang berbeda bekerja melalui jalur yang biasanya pada tingkat seluler.

3.1 Penyebab fisik. Trauma serta cedera karena suhu akan mengakibatkan kematian sel, sobeknya sel dan denaturasi protein, serta menyebabkan thrombosis vaskuler lokal yang mengakibatkan terjadinya iskemik atau infark

3.2 Penyebab kimiawi dan biologis. Sel mengalami cedera akibat kontak dengan obat-obatan dan bahan kimia lain, termasuk enzim dan toksin yang disekresi oleh mikroorganisme.

3.3 Obat-obatan dan racun. Berbagai bahan kimia alamiah dan sintetik dapat menyebabkan cederanya sel. Efeknya biasanya berkaitan atau tergantung dengan dosisnya yang beberapa kondisi efeknya akan menghebet karena faktor konstitusional

4. Gambaran sel setelah cedera

Kerusakan sel dapat bersifat *reversibel* atau *ireversibel*. Kelainan histologis mungkin disebabkan oleh faktor-faktor ini; perubahan hidropik dan lemak adalah dua karakteristik perubahan seluler subletal.

4.1 Perubahan hidropik. Perubahan hidropik ditandai dengan sel-sel sitoplasma irreversibel bila penyebab cederanya menetap.

4.2 Perubahan Lemak. Ciri khas perubahan lipid adalah vakuolisasi sel, yang terjadi karena akumulasi tetapan lipatan karena fungsi ribosom yang terganggu dan pelepasan lipid dari metabolisme protein. Berbagai faktor, termasuk hipoksia, alkohol, dan diabetes, biasanya berdampak pada hati. Perubahan lemak tingkat sedang bersifat reversibel, namun perubahan lemak yang serius tidak dapat dibalik (Underwood, 1999)

G. Organ Hati

1. Anatomi hati

Di sisi kanan atas rongga perut terdapat organ terbesar, yaitu hati. Hati berwarna merah tua ketika masih hidup karena begitu banyak darah yang dipompa ke dalamnya (Sloane, 2004). Permukaan atasnya berada di bawah diafragma, dan permukaan bawahnya berada di atas organ abdomen. Batas bawah hati terbentang dari iga IX kanan sampai iga VIII kiri dan sejajar dengan sela iga V kanan. Permukaan belakang hati memperlihatkan kerangka porta hepatis dengan celah melintang 5 cm (Amirudin, 2009).

Hati dipisahkan menjadi bagian kiri dan kanan oleh tendon falciformis. Ada celah di bagian ligamen venosum yang biasa-biasa saja yang mengiris tendon falciformis (Hadi, 2002). Lobus kanan hati terdiri dari tiga bagian utama: lobus kanan atas, lobus caudatus, dan lobus quadrates. Itu enam kali lebih besar dari lobus kiri. Menurut Sloane (2004), ada porta hepatis di antara kedua lobus yang menghubungkan saraf, duktus, dan kelua pembuluh darah. Kapsul glisson, sebuah kapsul fibrosa, sebagian besar permukaan hati ditutupi peritoneum (Hadi, 2002).

Dua pembuluh darah memasok hati: vena saluran masuk hepatic, yang berasal dari lambung dan organ pencernaan dan dikemas dengan mineral dan nutrisi yang larut dalam air, termasuk asam amino dan monosakarida. koridor Koltaka yang kaya akan oksigen. Vena-vena ini masuk ke hepar melalui porta hepatis. Pada titik ini, koridor hepatic bercabang menjadi dua, masing-masing ke lengkung kiri dan kanan (Hadi, 2002).

Kanalikuli empedu adalah kapiler empedu yang dibentuk oleh saluran empedu yang mengalir di antara lapisan sel hati. Bagian tepi kurva hati juga ditutupi oleh bagian vena masuk dan koridor hepatic (Amiruddin, 2009).

2. Fungsi hati

Hati mempunyai kemampuan yang banyak dan kompleks. Hati penting untuk menjaga tubuh dan bekerja dalam pencernaan tubuh. Hati membutuhkan 10 hingga 20 persen fungsi jaringan untuk bertahan hidup, meskipun memiliki banyak cadangan. Kecewa total atau putus asa termasuk hilang dalam waktu 10 jam atau kurang. Hati dapat dipulihkan; seringkali, jaringan baru menggantikan sel-sel hati yang

terinfeksi atau mati. Beberapa unsur hati adalah produksi dan keluarnya empedu, kemampuan metabolisme, kemampuan pertahanan tubuh, dan kemampuan pembuluh darah hati (Noer, 1996).

Sistem kekebalan terdiri dari hati. Semua tugas metabolik di atas dapat dilakukan oleh sel hati atau hepatosit, kecuali aktivitas fagositik yang dilakukan oleh makrofag residen, atau sel kupffer (Sherwood, 2001). Sel kupffer, yang merupakan 80% dari populasi fagosit tubuh dan 15% dari massa hati, sangat kuat dalam menangani antigen eksternal dan membawa antigen tersebut ke limfosit (Amiruddin, 2009).

3. **Histologi hati**

Hati terdiri dari berbagai sel Hepatosit termasuk \pm 60% sel hati, sedangkan sisanya terdiri dari sejumlah besar sel epitel kerangka empedu dan sel non-parenkim termasuk endotelium, sel Kupffer, dan sel bintang berbentuk bintang (Fahrian, 2016).

Hepatosit sendiri diisolasi oleh sinusoid yang disusun dalam lingkaran di sekitar eferen vena hepatic dan saluran hepatic. Ketika darah masuk ke hati melalui hati hepatic dan vena gerbang dan menuju vena fokal, akan terjadi penurunan oksigen secara terus menerus. Akibatnya, kerentanan jaringan terhadap kerusakan asinar akan sangat bervariasi (Fahrian, 2016).

Melalui ruang yang disebut "ruang perisinusoidal", sinusoid hati dipisahkan dari hepatosit oleh lapisan edotel permeabel. Sel lain yang dapat ditemukan di dinding sinusoid disebut sel stelata, sel ito, liposit, atau perisit. Sel stelata dan sel Kupffer fagositik, yang merupakan komponen penting dari kerangka retikuloendotelial, memiliki gerakan myofibroblastik dan juga dapat membantu mengendalikan aliran darah sinusoidal dan memperbaiki kerusakan pada hati. Sinusoid, yang mengandung banyak mikrofil, berlawanan langsung dengan lapisan hepatosit. Mikrofil juga muncul di sisi berlawanan dari sel yang melapisi saluran empedu, yang menunjukkan dimulainya emisi empedu. Permukaan epatosit horizontal memiliki desmosom dan persimpangan yang saling bertautan dengan yang terdekat dengannya. Tindakan yang diperluas dari sel-sel Stellate memiliki semua ciri-ciri sebagai tokoh penting dalam perkembangan fibrosis di hati (Fahrian, 2016).

4. Hubungan hati dengan senyawa toksik

4.1 Perlemakan hati (steatosis). Pelemakan hati adalah penimbunan lemak di sel hati karena terhambatnya pencernaan lipid hati. Malabsorpsi, pola makan yang tidak seimbang, penggunaan obat-obatan seperti aspirin, tetrasiklin, dan alkohol, serta pola makan yang tidak seimbang adalah beberapa faktor yang berkontribusi terhadap perlemakan hati. Faktor-faktor ini dibagi menjadi faktor primer dan faktor sekunder (Panjaitan *et al.*, 2011).

4.2 Radang. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), ada 2 milyar orang di seluruh dunia yang menderita penyakit radang hati (hepatitis), dan 1,4 juta di antaranya meninggal akibat penyakit ini. Penyakit ini disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya adalah infeksi virus yang berkembang biak.

4.3 Fibrosis. Walaupun kadang-kadang tidak ditemukan sama sekali, fibrosis hati adalah gejala hepatitis kronis yang umum dan penting. Fibrosis minimal menyebabkan perluasan tratus portal, sedangkan fibrosis luas menyebabkan pembentukan jembatan jaringan ikat antara area portal dan vena sentral. Sirosis, yang sering menyebabkan hepatitis kronis, terjadi setelah banyak sel hilang dan fibrosis muncul (Damjanov, 2000).

4.4 Degenerasi. Hilangnya struktur normal sel disebut degenerasi sel. Benuk degenerasi palin serin adalah contoh degenerasi sel yang reversibel (Spector, 1993). Hati mengumpulkan zat toksik dan metabolit lain, menyebabkan degenerasi (Koeman, 1987).

4.5 Nekrosis. Dalam kasus nekrosis hati, hepatosit yang tersisa menjadi mumikasi dan tidak terwarna. Adanya sel yang menyusut, batas yang tidak rata, dan warna gelap adalah tanda nekrosis sel hati. Proses nekrosis terjadi dalam tiga tahap. Inti terbagi menjadi fragmen piknotik pada tahap pertama. Tahap kedua adalah karinolisis, di mana inti sel lisis, menciptakan rongga kosong yang dibatasi oleh rongga inti (Cotran *et al.*, 2006).

4.6 Sirosis. Sirosis hati adalah kondisi yang menyebabkan fibrosis dan pembentukan jaringan parut difusi pada hati. Nodus fibrosa kertas dan pita fibrosa mengerut dan mengganti jaringan hati normal dengan hepatosit. Sebagai tanggapan terhadap kerusakan sel yang berulang dan reaksi peradangan, hati mengalami sirosis. Infeksi seperti

hepatitis, obstruksi saluran empedu, yang mengakibatkan penimbunan empedu di kanalikulus dan pecahnya kalikulus, dan toksin yang merusak hepatosit (Corwin, 2009).

H. Pemeriksaan Fungsi Hati

1. Albumin

Albumin adalah protein terbesar yang dikirimkan hati. Tekanan onkotik diatur dan nutrisi, hormon, asam lemak, dan limbah dari tubuh diangkut oleh albumin. Kadar putih telur serum, juga dikenal sebagai hipoalbumin, akan berkurang dalam kasus di mana kemampuan sintesis sel hati terganggu, terutama dalam kasus luka sel hati langsung dan terus-menerus. Penyebab hipoalbumin lainnya termasuk tumpahnya putih telur ke tempat lain, misalnya ginjal jika terjadi kegagalan ginjal, saluran pencernaan karena malabsorpsi protein, dan tumpah melalui kulit jika dikonsumsi dalam jumlah besar. Asupan yang tidak mencukupi, peradangan, atau infeksi juga dapat menyebabkan hipoalbumin. Kadar putih telur yang meningkat jarang ditemukan selain karena kurangnya hidrasi (Rosida, 2016).

2. Globulin

Globulin adalah komponen alfa, beta, dan gamma globulin, protein tubuh. Antibodi, lipid, logam, dan berbagai bahan kimia semuanya dapat dibawa oleh globulin. Kadar globulin yang rendah dapat disebabkan oleh beberapa hal, termasuk malnutrisi, malabsorpsi, penyakit hati atau ginjal, dan kerusakan arsitektur hati yang berhubungan dengan sirosis (Rosida, 2016).

3. Elektroforesis protein

Pemeriksaan elektroforesis protein adalah pemeriksaan yang menghitung jumlah protein dalam serum. Ini dilakukan dengan memisahkan fraksi protein menjadi lima fraksi yang berbeda, alpha 1, alpha 2, beta, dan gamma. Kemudian, fraksi-fraksi ini disusun menjadi kurva untuk menghitung jumlah protein dalam serum. Sekitar 2/3 protein serum terdiri dari albumin. Karena albumin memiliki rentang nilai rujukan yang luas, penurunan kadar albumin atau hypoalbuminemia adalah perubahan pola kurva albumin yang paling umum. 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 2 globulin, haptoglobin, seruloplasmin, alpha 2 makroglobulin, dan alpha lipoprotein adalah komponen alpha 2 globulin, yang merupakan protein reaksi fase akut yang meningkat pada kehamilan, penyakit inflamasi, dan penyakit degenerative.

Sebagai protein fase akut pada peradangan, kadar haptoglobin meningkat. Anemia hemolitik intravaskular, penyakit hati yang parah, dapat menyebabkan penurunan kadar haptoglobin. Terdiri dari beta 1 dan beta 2, yang masing-masing terdiri dari transferrin, sedangkan beta 2 terutama terdiri dari beta lipoprotein dan beberapa komplemen.

Hiperkolesterolemia LDL dan hipertransferrinemia pada anemia keduanya dapat mengakibatkan peningkatan pita beta, sedangkan penyimpanan serum dalam jangka waktu yang lama akibat hilangnya beta 2 dapat mengakibatkan penurunan pita beta. Ada korelasi antara sirosis hati alkoholik dan peningkatan pita beta yang menyeluruh. Pita gamma globulin terdiri dari immunoglobulin A, immunoglobulin M, 85%, immunoglobulin G, hemopexin, dan komplemen C3. Neoates dapat menunjukkan hipogama globulinemia fisiologis.

Pengobatan immunosupresif, kortikosteroid, kemoterapi, dan defisiensi imun dapat menyebabkan penurunan pita gamma globulin. Hipogamaglobulinemia dapat ditemukan pada myeloma tipe *light chain*, yang harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan protein bence jones di urin. Salah satu gejala hipergamaglobulinemia dapat berupa kekebalan difus, poliklonal, atau lokal (Rosida, 2016).

4. Masa protombin (PT)

Hati merupakan sumber dari hampir semua faktor koagulasi, kecuali faktor VII. Oleh karena itu, penilaian beat transdermal (PT), yang mencakup penilaian hemostasis, diingat untuk penilaian kemampuan rekayasa hati karena PT mensurvei faktor I, II, V, VII, IX, dan X dengan waktu paruh yang lebih terbatas dibandingkan putih telur. Karena kerusakan hati yang signifikan mengurangi produksi faktor koagulasi yang dihasilkan oleh hati, tes transdermal (PT) untuk menilai fungsi sintetik hati lebih sensitif karena PT membutuhkan waktu lebih lama. Faktor II, VII, IX, dan X merupakan faktor koagulasi yang memerlukan vitamin K. Obstruksi bilier mencegah empedu masuk ke

usus sehingga mengakibatkan malabsorpsi lemak. Selanjutnya, kadar nutrisi pelarut lemak A, D, E, dan K turun.

Penyatuan faktor koagulasi turunan vitamin K menurun, menyebabkan tertundanya PT. Suntikan vitamin K orang tua dapat digunakan untuk membedakan antara pemanjangan PT yang disebabkan oleh penurunan fungsi sintetik dan defisiensi vitamin K. Jika PT berjalan normal selama 1-3 hari setelah suntikan vitamin K orang tua, maka kekurangan vitamin K adalah penyebab perpanjangannya, dan jika terus berkepanjangan, mungkin penyebabnya adalah obstruksi bikarbonat (Rosida, 2016).

5. Cholinesterase (CHE)

Estimasi aksi katalis kolinesterase serum mensurvei kemampuan campuran hati. Karena putih telur merupakan protein transpor kolinesterase, gangguan kapasitas metabolisme hati, penyakit hati kronis, dan hipoalbumin semuanya mengakibatkan penurunan aktivitas kolinesterase serum. Karena kurang dipengaruhi oleh faktor di luar hati, penurunan kolinesterase lebih terlihat jelas dibandingkan putih telur ketika mengevaluasi kemampuan kombinasi harian. Aktivitas kolinesterase menurun 30% hingga 50% pada hepatitis berat dan persisten. Penurunan kolinesterase sebesar setengah - 70% dapat ditemukan pada sirosis dan karsinoma yang bermetastasis ke hati. Penilaian kolinesterase berturut-turut dapat membantu menilai ekspektasi pasien terhadap infeksi dan menyaring kewajaran hati setelah transplantasi hati (Rosida, 2016).

6. Bilirubin

Penghancuran trombosit merah oleh sel retikuloendotelial mengakibatkan pemecahan heme yang merupakan sumber bilirubin. Penyakit kuning adalah warna kuning yang disebabkan oleh penumpukan bilirubin berlebihan di kulit, sklera, dan lapisan mukosa. Kadar bilirubin beberapa mg/dL biasanya dapat menyebabkan penyakit kuning. Penyakit kuning menunjukkan gangguan fungsi hati, infeksi saluran empedu, atau kombinasi lainnya. Setelah 120 hari, sistem retikuloendotelial memecah eritrosit menjadi globin dan heme, yang kemudian digunakan untuk membuat protein lain. Globin kemudian dipecah menjadi asam amino.

Proses oksidasi heme melepaskan karbon monoksida dari karbon monoksida dan mengubahnya menjadi biliverdin. Menurunkan

bilirubin disebabkan oleh penurunan biliverdin. Asam glukuronat akan mengkonjugasikan bilirubin menjadi bilirubin terkonjugasi (bilirubin langsung), yang selanjutnya akan dikeluarkan ke saluran empedu dan saluran cerna. Karena urobilinogen larut dalam air, ginjal menghilangkan sebagian darinya karena bakteri usus menghidrolisis bilirubin terkonjugasi untuk membentuk urobilinogen, yang dapat dikeluarkan melalui tinja (stercobilin) atau diserap kembali oleh darah. Bilirubin serum total, bilirubin serum langsung, dan bilirubin serum tidak langsung, serta bilirubin urin dan produk turunannya seperti urobilinogen dan urobilin dalam urin serta stercobilin dan stercobilinogen dalam tinja, semuanya diuji di laboratorium untuk menentukan fungsi ekskresi hati.

Jika terjadi peningkatan kemampuan pelepasan bilirubin, maka kadar bilirubin serum total akan meningkat. Penyakit kuning dapat terjadi ketika kadar bilirubin serum meningkat terlalu tinggi. Pensepsi prehepatik, hati, dan hati (kolestatik) adalah tiga penyebab penyakit kuning yang spesifik lokasi. Penghancuran sel darah merah yang berlebihan sering kali menyebabkan peningkatan bilirubin prehepatik. Bilirubin tidak terbentuk pada hipertensi, sedangkan serum transaminase dan antasida fosfatase normal, tidak ada bilirubin yang ditemukan dalam urin.

Kekurangan atau tidak adanya senyawa glukuronil transferase, seperti yang disebabkan oleh obat-obatan atau kelainan Cliger-Najjar pada kondisi Gilbert, mencegah pembentukan bilirubin, yang terkait dengan peningkatan bilirubin akibat penyakit hati. Penyakit yang mendasari akan menentukan perkembangan bahan kimia hati; penyakit kuning biasanya berkembang dengan cepat. peningkatan kadar bilirubin panas akibat ketidakmampuan sel hati melepaskan bilirubin yang terbentuk di saluran empedu akibat kerusakan sel hati atau penyumbatan saluran empedu baik di dalam hati maupun di luar hati (Rosida, 2016).

7. Asam empedu

Asam empedu dibuat di hati dan jaringan yang berbeda. Misalnya, bakteri di usus bisa menghasilkan asam empedu yang bisa mencapai 250-500 miligram per hari. Asam empedu diproduksi di usus dan dikeluarkan melalui tinja. Ketika usus menyerap kembali 955 asam empedu, siklus enterohepatik akan berlanjut. Asam empedu membantu sistem pencernaan menyerap lemak dan mempertahankan nutrisi yang

melarutkan lemak. Jika sel-sel hati rusak, mereka akan gagal menyerap asam empedu sehingga jumlah asam empedu meningkat. Karena makanan memiliki dampak besar pada penilaian kerusakan empedu, sebaiknya berpuasa selama 8 hingga 12 jam sebelum melakukannya. Asam basa dan asam pembantu adalah dua jenis asam empedu. Sel-sel hati menggabungkan asam empedu esensial dan opsional, sementara mikroba di saluran pencernaan mencerna asam empedu opsional. Pada kolestasis, asam empedu tidak terbentuk sehingga terjadi peningkatan proporsi asam empedu esensial, sedangkan pada sirosis, kombinasi asam empedu esensial menurun sehingga terjadi penurunan proporsi asam empedu esensial terhadap asam empedu opsional. Asam pembantu terbuat dari asam empedu (Rosida, 2016).

8. Fungsi detoksifikasi ammonia

Dalam kondisi khas di dalam tubuh, alkali berasal dari pencernaan protein dan perkembangan organisme mikroskopis gastrointestinal. Hati berperan dalam mendetoksifikasi garam-garam apek menjadi urea yang akan dibuang oleh ginjal. Garam penciuman akan meningkat akibat sel-sel hati tidak mampu melakukan detoksifikasi, sehingga mengakibatkan ensefalopati atau heptik trance, suatu keadaan penurunan kesadaran (Rosida, 2016).

9. Pengukuran aktivitas enzim

Kolestasis dilakukan oleh aktivitas enzim ALP. Bahan kimia ini ada di hati dan tulang plasenta. Gunung yang tertutup salju di sel-sel hati ditemukan di sinusoid dan lapisan saluran empedu di mana pengirimannya dilakukan dengan garam empedu. Selain itu, gunung yang tertutup salju sering kali terlacak pada osteoblas. Tingkat pegunungan yang tertutup salju bergantung pada usia dan orientasi terhadap hepatobilier dibandingkan dengan hepatoseluler. Retikulum endoplasma adalah tempat ditemukannya senyawa gamma GT, tetapi sel epitel adalah tempat ditemukannya senyawa tersebut dalam empedu. Pada penyakit kuning obstruktif, kolangitis, dan kolestasis, kerja GGT meningkat. Ketidakmampuan empedu mencapai duodenum dikenal sebagai kolestasis (Rosida, 2016).

I. SGOT dan SGPT

Enzim transaminase meliputi enzim *alamine transaminase* (ALT) atau *serum glutamare piruvatat transferase* (SGPT) dan *aspartate transaminase* (AST) atau *serum glutamare oxaloacetate transferase* (SGOT). Pengukuran aktivitas serum SGPT dan SGOT dapat menunjukkan adanya kelainan sel hati tertentu. Sel-sel hati, jantung, otot, dan ginjal semuanya mengandung senyawa ALT/SGPT. Sitoplasma sel hati mengandung sebagian besar, yang terdapat pada sel hati. Sel jantung, hati, otot rangka, ginjal, otak besar, pankreas, limpa, dan paru-paru mengandung AST/SGOT. Sel-sel jantung mengandung tingkat tertinggi. Mitokondria sel hati mengandung 70% dan sitoplasma sel hati mengandung 30% AST. Tingkat keparahan kerusakan sel berkorelasi langsung dengan tingginya kadar AST/SGOT. Dalam waktu sekitar 12 jam, kerusakan sel akan diikuti dengan peningkatan kadar AST/SGOT yang bertahan di dalam darah selama 5 hari. Karena perubahan daya tembus atau kerusakan dinding sel hati menyebabkan peningkatan SGPT atau SGOT, maka digunakan sebagai penanda adanya masalah kesehatan pada sel hati (hepatoseluler).

Peningkatan senyawa SGPT dan SGOT hingga 300 U/L tidak hanya terjadi pada penyakit liver saja, namun jika ditemukan peningkatan lebih dari 1000 U/L, hal tersebut cenderung ditemukan pada virus. penyakit, iskemia hati yang disebabkan oleh hipertensi jangka panjang atau gangguan kardiovaskular yang parah, dan kerusakan hati yang dipicu oleh obat-obatan. atau sebaliknya zat berbahaya. Tingkat keparahan kerusakan sel hati dapat dinilai dengan menggunakan rasio De Ritis SGPT/SGOT.

Pada penyakit yang parah dan mulai (intens) hepatoseluler, lapisan sel akan pecah sehingga benda-benda sitoplasma menjauh, menyebabkan peningkatan SGOT lebih tinggi dibandingkan SGPT dengan rasio SGPT/SGOT $<0,8$ yang menunjukkan kerusakan ringan. Rasio SGPT/SGOT lebih besar dari 0,8, yang menunjukkan kerusakan hati yang parah atau terus-menerus, ketika kerusakan sel hati dan peradangan mencapai mitokondria (Rosida, 2016).

Pada penyakit hati kadar AST dan ALT dalam serum cenderung berubah, kelainan di luar hati terkadang juga dapat meningkatkan kadar aminotransaminase, khususnya kolaps sirkulasi, gagal jantung kongestif dan infark jantung. Peningkatan kadar SGOT secara kasar sejajar dengan derajat kerusakan hati. Pada kerusakan hati oleh alcohol,

baik yang akut maupun yang kronis peningkatan SGOT biasanya lebih tinggi dari peningkatan SGPT. Pada tikus normal, kadar SGOT berkisar dibawah 35 U/l untuk jantan dan dibawah 31 U/l untuk betina. Sedangkan untuk kadar SGPT pada tikus normal berkisar dibawah 41 U/l untuk jantan dan dibawah 31 U/l untuk betina.

J. 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.



Gambar 2. Gambar tikus galur wistar

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	: Rattus
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Spesies dan jumlah hewan uji

Hewan pengerat dan hewan non-hewan pengerat setidaknya merupakan dua jenis hewan yang digunakan. Dalam kebanyakan kasus,

gigi taring dan hewan pengerat dari kedua jenis kelamin dapat digunakan. Gigi taringnya harus sehat, dewasa, dan berumur antara 5 setengah hingga 4 bulan untuk hewan pengerat. Ada sepuluh tikus atau empat anjing dari setiap jenis kelamin di setiap kelompok. Jumlah hewan uji harus diperhatikan terlebih dahulu jika percobaan ingin memasukkan hewan kurban (Harmita dan Radji, 2005). Setiap kelompok dosis menggunakan minimal sepuluh hewan, lima di antaranya jantan dan lima betina, untuk uji toksisitas subkronik. Jika diperlukan, dua kelompok satelit tambahan dapat dibuat, masing-masing dengan minimal sepuluh hewan, dengan lima hewan jantan dan lima hewan betina untuk setiap kelompok kontrol, serta kelompok dosis tinggi (BPOM, 2014).

3. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji

Hewan pengerat digunakan ruangan dengan suhu $22^{\circ}\text{C} (\pm 30^{\circ}\text{C})$, kelembapan relative 30% - 70% dan penerangan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Untuk hewan bukan pengerat kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan disesuaikan dengan Jenis hewan. Jenis kelamin dipertimbangkan ketika menempatkan hewan di dalam kandang, dan ukuran kandang ditentukan oleh jumlah hewan di setiap kandang. Makanan dan minuman yang sesuai untuk hewan laboratorium diberikan kepada hewan tersebut, dan jumlah makanan dan minumannya tidak dibatasi (Harmita dan Radji, 2005).

4. Dosis uji

Untuk setiap jenis kelamin, setidaknya tiga kelompok dosis dan satu kelompok kontrol digunakan. Porsi dan jumlah tandan porsi harus mencukupi, sehingga dapat diperoleh dosis yang beracun dan dosis yang tidak berdampak. Dosis yang berbahaya akan menimbulkan efek samping yang benar-benar beracun pada beberapa kelinci percobaan agar angka kematian terjadi sekitar 10%, sedangkan dosis yang tidak berdampak seharusnya tidak menimbulkan efek samping yang berbahaya. Karena bagian beracun biasanya digunakan 10% - 20% dari nilai LD50 mengingat hasil yang diperoleh dalam tes dasar, bagian lainnya tidak ditentukan dengan elemen duplikasi yang layak dari 2 hingga 10 (Harmita dan Radji, 2005).

Jika efek toksis tidak terjadi pada dosis 1000 mg/kg berat badan, dosis tidak perlu dinaikkan lagi. Ini berlaku bahkan jika dosis manusia yang diinginkan belum tercapai (BPOM, 2014).

5. Cara pemberian dan lama pemberian zat uji

Persyaratan dasarnya adalah mengelola zat uji dengan cara yang diharapkan dapat dikonsumsi oleh manusia. Zat uji dapat diberikan secara oral baik *ad libitum* atau *sonde* ke dalam makanan atau minuman hewan. Jumlah bahan uji yang harus ditambahkan apabila dicampur dengan makanan atau minuman hewani harus ditentukan berdasarkan jumlah harian makanan atau minuman hewani yang dikonsumsi.. Zat uji diberikan kepada hewan selama 10 persen dari umurnya, yaitu 28 hingga 90 hari. diberikan selama tujuh hari seminggu (Harmita dan Radji, 2005).

6. Prosedur

Hewan diaklimatisasikan selama sekitar tujuh hari di ruang percobaan. Hewan dikelompokkan sehingga bobot tubuh mereka rata-rata di antara kelompok mereka. Setelah setiap hewan diuji selama setiap hari, setiap hewan atau kelompok harus ditimbang dua kali setiap minggu untuk memastikan bahwa tidak ada gejala toksik.

Hewan yang mati pada saat pengorganisasian bahan uji harus segera diautopsi, setiap organ dan jaringan diperhatikan secara makropatologis, jika penting, penilaian histopatologis dan pengukuran organ tertentu. Makhluk yang jelas-jelas mati selama masa pengorganisasian bahan uji harus segera dimusnahkan, diautopsi, dan setiap organ dan jaringan diidentifikasi untuk makropatologi. Organ-organ tertentu diukur dan batas hemapatologi, kimia alami klinis, dan histopatologi harus dianalisis.

Hewan uji yang telah mati pada akhir periode uji diotopsi, diamati makropatologi, ditimbang organ tertentu, dan diperiksa histopatologi pada jaringan dan setiap organ. Pemeriksaan parameter hemapatologi dan biokimia klinis harus dilakukan pada darah yang dikumpulkan pada saat pengorbanan hewan terhadap sebanyak mungkin parameter (Harmita dan Radji, 2005).

7. Parameter pengujian

Parameter hematologi berikut diperiksa: Jumlah leukosit, jumlah eritrosit, hematokrit, kadar hemoglobin, dan nilai darah MCV, MCH, dan MCHC semuanya dimasukkan. Batasan biokimia klinis yang dicoba meliputi: bilirubin total, glukosa, kolesterol, albumin, nitrogen urea, kreatin, glutamat piruvat transaminase, laktat

dehidrogenase, kolinesterase, kalsium, dan fosfor anorganik semuanya merupakan komponen dari total protein. 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, pancreas, limpa, ginjal, kelenjar anak ginjal, kandung kemih, epididymis, testis/ovarium, uterus, otak, kelenjar tiroid dan paratiroid, lidah esofagus, lambung, duodenum, usus kecil/besar, hati, kelenjar pituitary, sumsum tulang belakang, organ atau jaringan lain yang menunjukkan perubahan secara makropatologi. Berdasarkan hasil pengamatan dan organ yang beruppa pasangan ditimbang bersamaan. Berdasarkan hasil pengamatan secara makropatologi, gejala-gejala klinis atau pertimbangan lain beberapa organ atau jaringan tidak perlu diuji (Harmita dan Radji, 2005).

Persepsi terhadap efek samping berbahaya dan efek samping klinis seperti perubahan pada kulit, bulu, mata, selaput lendir, sekret, sekret, perubahan langkah, perilaku aneh (misalnya berjalan mundur), kejang, air liur, berlari, kekurangan, istirahat dan keadaan trance yang dilakukan secara konsisten selama 28 hari. Sementara itu, untuk pengumpulan satelit, persepsi dilakukan selama 14 hari dan kemudian diidentifikasi siklus pemulihan dari dampak buruk (BPOM, 2014).

8. Cara penggunaan hewan uji

Eksperimen pada hewan tidak selalu memberikan hasil yang akurat. Eksekusi makhluk penjelajah yang tidak masuk akal dapat meningkatkan penyimpangan dalam hasil pengujian. Menghadapi makhluk penjelajah adalah dengan memperlakukan makhluk tersebut dengan baik dan ramah selama jangka waktu dukungan dan selama jangka waktu uji coba (Harmita dan Radji, 2005).

9. Mengorbankan hewan

Hewan uji tidak berdampak pada hasil uji toksisitas karena prinsip-prinsip pengorbanan hewan disesuaikan dengan prinsip-prinsip pengorbanan hewan sesuai dengan *ethical clearence* Etika Helsinki. Salah satu metode pengorbanan hewan uji adalah euthanasia, di mana hewan uji dianestesisikan sebelum dikobankan. Hewan dikorbankan setelah dipegang dengan hati-hati dan tidak takut. Teknik pengorbanan hewan uji termasuk penyuntikan atau inhalasi anestesi, penylokasi leher pada hewan kecil seperti tikus atau mencit, dan pengeluaran darah melalui arteri atau vena karotis.

Idenya adalah hewan uji dikorbankan sesuai dengan aturan dan prosedur pengorbanan hewan Deklarasi Helsinki dan tidak berpengaruh pada hasil uji toksisitas. Dalam metode pengorbanan hewan, anestesi diberikan sebelum eutanasia hewan uji. Hewan tersebut dikorbankan agar tidak ada hewan hidup yang ada setelah ditangani dengan hati-hati dan tanpa rasa takut. Dislokasi leher tikus, anestesi inhalasi atau injeksi, dan pendarahan vena atau arteri karotis adalah metode yang dapat digunakan untuk membunuh hewan uji.

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 dan Radji, 2005).

K. Landasan Teori

Pemanfaatan obat tradisional di Indonesia telah terjadi ribuan tahun sebelum obat modern ditemukan. Indonesia, yang memiliki suhu panas dan kelembapan, Indonesia memiliki sekitar 25.000 hingga 30.000 spesies tumbuhan, menjadikannya negara kedua dengan keanekaragaman hayati terbanyak di dunia setelah Brasil. Spesies ini mencakup 80% jenis tumbuhan di dunia dan 90% jenis tumbuhan di Asia (Dewoto, 2007). Salah satunya adalah *Curcumin* yang diketahui memiliki kemampuan untuk mengontrol perkembangan dan respons sel dari berbagai variabel sel dalam sistem kekebalan. Temu hitam, atau *Curcuma aeruginosa* Roxb., adalah salah satu tanaman dalam genus *Curcuma* yang mengandung *curcumin* (Mei, 2012). Senyawa yang tersusun dari polisakarida, terpenoid, alkaloid, polifenol, dan flavonoid merupakan contoh senyawa aktif dengan bioaktivitas yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Flavonoid pada jahe hitam, salah satu senyawa sintetik yang dikandungnya, berpotensi berperan sebagai imunostimulan karena dapat meningkatkan produksi IL-2 yang merangsang pertumbuhan sel darah putih. Flavonoid dapat membuat IFN-, yang membantu limfosit B membuat imunoglobulin. IFN- γ juga membantu sel Th1 membuat IFN- γ (Carmelita, 2016).

Masyarakat secara keseluruhan menganggap obat-obatan yang diperoleh dari bahan-bahan alami dilindungi dan bebas dari bahaya. Bahan-bahan yang biasa digunakan dalam pengobatan tradisional

biasanya bisa beracun. Dampak beracun merupakan dampak yang dapat menimbulkan efek samping yang merugikan bahkan bersifat sementara. Dampak racun yang terjadi bergantung pada jumlah porsi dan jangka waktu penanganannya di dalam tubuh (Nurdayanti, 2011).

Pengujian toksisitas subkronis melibatkan pemberian dosis yang bervariasi pada setiap kelompok selama 28 atau 90 hari. Untuk menemukan efek yang tertunda atau yang dapat dibalik, kelompok satelit dapat dimasukkan jika diperlukan. Setiap hari, hewan uji harus diawasi untuk melihat apakah ada toksisitas selama periode pengujian. Uji toksisitas subkronik bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya suatu zat mempunyai efek toksik yang tidak ditemukan pada uji toksisitas akut, ada tidaknya efek toksik setelah terpapar terlalu lama pada sediaan uji, dosis berapa yang tidak menimbulkan efek toksik *No Observed Adverse effect level* atau NOAEL, dan apakah zat ini mempunyai efek kumulatif atau reversibel atau tidak.

Uji toksisitas subkronis didasarkan pada penggunaan dosis bervariasi per kelompok selama 28 atau 90 hari. Jika diperlukan, kelompok satelit dapat ditambahkan untuk mengidentifikasi efek yang tertunda atau dapat diperbaiki. Hewan uji harus diamati setiap hari untuk mengetahui apakah ada toksisitas selama waktu uji. Tujuan uji toksisitas subkronis adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksis 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* / NOAEL), dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut (BPOM, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Zulfiah *et al.*, (2020) bahwa untuk pengujian toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Dengan kata lain ekstrak etanol rimpang jahe hitam mempunyai nilai LC50 sebesar 37,73115 ppm, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak jahe hitam dapat bersifat toksik, masuk dalam kategori racun kuat, mempunyai nilai LC50 antara 30 hingga 100 ppm, dan bersifat toksik terhadap *Artemia salina* Leach.

Pada penyakit hati kadar AST dan ALT dalam serum cenderung berubah, kelainan di luar hati terkadang juga dapat meningkatkan kadar aminotransaminase, khususnya kolaps sirkulasi, gagal jantung kongestif dan infark jantung. Peningkatan kadar AST secara kasar

sejajar dengan derajat kerusakan hati. Pada kerusakan hati oleh alcohol, baik yang akut maupun yang kronis peningkatan AST biasanya lebih tinggi dari peningkatan ALT. Pada tikus normal, kadar SGOT berkisar dibawah 35 U/l untuk jantan dan dibawah 31 U/l untuk betina. Sedangkan untuk kadar SGPT pada tikus normal berkisar dibawah 41 U/l untuk jantan dan dibawah 31 U/l untuk betina.

L. Hipotesa

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan dapat disusun hipotesa dalam penelitian ini sebagai berikut :

Pertama, pemberian ekstrak etanol temu hitam (*Curcuma aeruginosa*) berpotensi menimbulkan efek toksik dengan perubahan kadar SGOT dan SGPT serta histopatologi hati tikus galur Wistar.

Kedua, terdapat dosis toksik dari ekstrak etanol temu hitam (*Curcuma aeruginosa*) yang mempengaruhi kadar SGOT dan SGPT tikus galur Wistar.

Ketiga, Perubahan gambaran histopatologi hati tikus galur Wistar setelah pemberian ekstrak etanol temu hitam (*Curcuma aeruginosa*).