

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BIJI PINANG
(*Areca catechu* L.) TERHADAP KADAR ALT & AST SERTA
HISTOPATOLOGI ORGAN HATI PADA
TIKUS PUTIH GALUR WISTAR**



oleh:

**Leonard Ardiyanto Sayang Moi
17134032A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BIJI PINANG
(*Areca catechu* L.) TERHADAP KADAR ALT & AST SERTA
HISTOPATOLOGI ORGAN HATI PADA
TIKUS PUTIH GALUR WISTAR**



Oleh :

**Leonard Ardiyanto Sayang Moi
17134032A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BIJI PINANG
(*Areca catechu* L.) TERHADAP KADAR ALT & AST SERTA
HISTOPATOLOGI ORGAN HATI PADA
TIKUS PUTIH GALUR WISTAR**

Oleh :

Leonard Ardiyanto Sayang Moi
17134032A

Dipertahankan dihadapan Panitia Pengji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 20 juni 2016

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM. M.Sc., Apt.

Pembimbing utama,

Ika Purwidyaningrum. S.Farm.,M.Sc.,Apt
Pembimbing pendamping,

Opstaria Saptarini. S.Farm.,M.Si.,Apt

Penguji :

1. Wiwin Herdwiani, M.Sc.,Apt
2. Vivin Nopiyanti, M.Sc.,Apt
3. Opstaria Saptarini. S.Farm.,M.Si.,Apt
4. Ika Purwidyaningrum. S.Farm.,M.Sc.,Apt

1.....

2.....

3.....

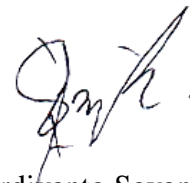
4.....

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar keserjanaan disuatu 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 peneliti/ karya ilmiah/ skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 20 Juni 2016



Leonard Ardiyanto Sayang Moi

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan anugerah – nya serta kesehatan yang dan rahmat yang diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. skripsi ini disusun merupakan salah satu syarat untuk memperoleh derajat sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini berjudul “**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL BIJI BUAH PINANG (*Areca catechu L.*) TERHADAP KADAR ALT DAN AST SERTA HISTOPATOLOGI ORGAN HATI PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR**”. Skripsi ini dapat selesai atas dukungan dari beberapa pihak, untuk itu penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada yang terhormat :

1. Bapak Dr.Ir. Djoni, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Ibu Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., Apt, selaku Dekan Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Ibu Dwi Ningsih, S.Farm.,M.Farm.,Apt, selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Ibu Ika Purwidyaningrum., S.Farm., M.Sc., Apt, selaku pembimbing utama yang dengan senang hati telah meluangkan waktunya untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan Proposal Penelitian ini.

5. Ibu Opstaria Saptarini, S.Farm., M.Sc., Apt, selaku pembimbing pendamping yang dengan tulus hati telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan Proposal Penelitian ini.
6. Ibu Wiwin Herdwiani, M.Sc.,Apt, dan ibu Vivin Nopiyanti,M.Sc.,Apt selaku penguji yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan masukan bagi penulis dalam rangka menyempurnakan Proposal Penelitian ini.
7. Segenap Dosen, Asisten dosen dan staf karyawan Universitas Setia Budi, yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat terutama dalam penyusunan Proposan Penelitian ini.
8. Kakek Nicolaus Lewayan, (Alm) Sayang Moi, Hendrik Hungga Remi Andung, Oma Marta Meti Kodi, Katiq Moi, Dorkas Ndai Ngana, ayah Karolus Kasih Sayang., S.Km, dan bunda tercinta Martha Remi Andung, om Obet R. Awang dan om Henok R. Andung, mama kecil Agustina R. Andung dan Adriana R. Andung, adik Rio, Putra, Wayan, Siska, serta semua keluarga yang belum sempat saya sebutkan dan sangat saya banggakan, telah memberikan doa dan bantuan moril maupun materil, sehingga penulis dapat menyelesaikan Proposal Penelitian ini dengan baik.
9. Sodara Ikatan Keluarga Sumba Solo, sodara Pandawa, sodara FLOBAMORATA, sodara St. Priska, sodara PERANTARA JATENG, sodara INTIM, teman – teman S1 Farmasi ka Suster, ka Lia, mba Dini, ka Yeyen, Ka Rahmi, Ka Tuty, ka Dian, Ka Dwi, Richard, dan yang Tersayang rambu Echy, serta semua teman – teman yang saya kasihi yang belum sempet saya sebutkan

satu – satu yang telah banyak memberikan semangat, bantuan berupa pikiran dan informasi yang penulis perlukan dalam penulisan Proposal Penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, meskipun penulis sudah berusaha semaksimal mungkin dalam menyajikannya. Penulis menyadari akan keterbatasan dan pengalaman, maka dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun guna menyempurnakan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga apa yang penulis kemukakan akan berguna bagi penulis maupun bagi siapa saja yang memanfaatkannya. Tuhan Yesus memberkati.

Surakarta 13 juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Biji Pinag	6
1. Klasifikasi Tanaman	6
2. Morfologi Tanaman	7
3. Kandungan Kimia	8
4. Kegunaan	8
B. Metode Penyarian	9
1. Pengertian simplisia	9
2. Metode ekstraksi	10
3. Maserasi	10
4. Pelarut.....	11
C. Toksisitas	11
1. Uji Toksisita Akut	12
2. Uji Toksisitas Subkronik.....	13
2.1. Spesies dan Jumlah Hewan	13
2.2. Kondisi Ruangan dan Pemeliharaan	14

2.3. Pemberian Tanda	14
2.4. Dosis Uji	14
2.5. Cara dan Lama Pemberian	14
2.6. Prosedur	15
2.7. Evaluasi	16
2.8. Cara Penggunaan.....	16
2.9. Cara Pemberian Obat Oral	16
3. Uji Toksisitas Kronis	16
D. Binatang Percobaan	17
1. Sistematika Tikus	18
2. Karakteristik	18
3. Pengambilan Darah dan Serum	18
4. Parameter	18
E. Hati	19
1. Struktur dan Fungsi	19
2. Kerusakan Hati	20
2.1. Perlemakan Hati	20
2.2. Nekrosis Hati	20
2.3. Sirosis Hati	20
2.4. Enselopati Hepatika	21
2.5. Fibrosis	21
F. Parameter Kerusakan Hati	21
1. ALT	22
2. AST	22
3. ALP	22
4. Billirubin	22
G. Histologi dan Histopatologi	25
1. Histologi	25
2. Histopatologi	25
3. Tujuan umum Kerusakan Jaringan	26
3.1. Respon atas Cedera Sel	27
3.2. Penyebab Fisik	27
3.3. Penyebab Kimia dan Biologis	27
3.4. Obat – Obatan dan Racun	27
3.5. Organisme infeksius	27
4. Gambaran Sel Setelah Cidera.....	28
4.1 Perubahan Hidropobik	28
4.2 Perubahan Melemak	29
H. Pengorbanan Hewan Uji	29
I. Landasan Teori.....	30
J. Hipotesis	22
BAB III. METODE PENELITIAN.....	33
A. Populasi dan Sampel	33
B. Variabel penelitian	33
1. Identifikasi variabel utama.....	33

2. Klasifikasi variabel utama.....	33
3. Definisi operasional variabel utama.....	34
C. Bahan, Alat, dan Binatang Percobaan.....	35
1. Alat.....	35
2. Bahan.....	35
3. Hewan Percobaan	36
D. Jalannya Penelitian	36
1. Pengambilan Sampel.....	36
2. Identifikasi Simplisia	37
3. Penetapan Kadar Air	37
4. Pembuatan Ekstrak Etanol 70%	37
5. Identifikasi Kandungan Kimia	38
6. Prosedur Kerja	39
7. Penetapan Aktivitas ALT dan AST.....	42
8. Pembuatan Preparat Histopatologi	42
9. Analisis Data	44
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	45
A. Biji Buah Pinang	45
1. Identifikasi Biji Buah Pinang	45
2. Pengambilan Bahan dan Pembuatan Serbuk	45
3. Pembuatan Ekstrak Etanol 70%	47
4. Identifikasi Pemeriksaan Organoleptis	48
5. Identifikasi Kandungan Kimia	48
6. Hasil Pengamatan Berat Badan	49
7. Pengujian toksisitas Subkronik	51
B. Uji Biokimia	52
1. Hasil ALT	52
2. Hasil AST	55
3. Hasil ALT dan AST Satelit	58
C. Histopatologi Organ	60
1. Hasil Histopatologi Kelompok Perlakuan.....	61
2. Hasil Histopatologi Satelit	64
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	68
A. Kesimpulan	68
B. Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Gambar Buah Pinang	7
2. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70%	38
3. Skema Uji Toksisitas Subkronik	41
4. Skema Pembuatan Preparat Histologi	43
5. Grafik Rata – Rata Berat Badan Hewan Uji	50
6. Grafik Rata – Rata Kadar ALT	53
7. Grafik Rata – Rata Kadar AST	56
8. Grafik Rata – Rata ALT dan AST Satelit	59
9. Gambar Hasil Pengamatan Histopatologi kelompok Uji	61
10. Grafik Persentase Sel Normal Dan Sel Nekrosis	63
11. Gambar Hasil Pengamatan Histopatologi Kelompok Satelit	65
12. Grafik Persentase Sel Normal dan Nekrosis kelompok Satelit	66

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Penetapan Kadar ALT dan AST	42
2. Hasil Persentasi Bobot Kering Dan Bobot Basah	46
3. Hasil Penetapan Kadar Air	46
4. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol 70%	47
5. Identifikasi Organoleptis	48
6. Hasil Identifikasi Senyawa Kimia	48
7. Analisis Statistik Rata – Rata Berat Badan Tikus	49
8. Hasil Analisis Rata – Rata Kadar ALT	53
9. Hasil Analisa Rata – Rata Kadar AST	55
10. Hasil Analisis Kadar ALT dan AST Kelompok Satelit	58
11. Hasil Pengamatan Mikroskopik Histopatologi Keompok Uji	63
12. Hasil Pengamatan Histopatologi kelompok Satelit	65

LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan determinasi	74
2. Surat keterangan hewan uji	75
3. Surat keterangan Histopatologi	76
4. Gambar Bahan – bahan	77
5. Gambaran Alat – alat pengujian	78
6. Gambar ekstrak dan Larutan Stok	79
7. Gambar pengambilan darah, reagen dan serum	80
8. Gambar identifikasi ekstrak	81
9. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah.....	82
10. Perhitungan Kadar air.....	83
11. Perhitungan pembuatan ekstrak etanol	84
12. Perhitungan dosis	85
13. Perhitungan Stok CMC 0,5%	86
14. Perhitungan dosis pemberian	87
15. Hasil pengukuran dan analisis ALT	89
16. Hasil pengukuran dan analisis AST	96
17. Hasil pengukuran dan Analisis ALT & AST satelit.....	103
18. Hasil perhitungan dan Analisis berat badan	113

INTISARI

MOI, LAS. 2016. UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BIJI BUAH PINANG (*Areca catechu* L.) KADAR ALT & AST SERTA HISTOPATOLOGI ORGAN HATI PADA TIKUS PUTIH GALUR WISAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Biji buah pinang (*Areca catechu* L.) mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat dalam beberapa pengobatan diantaranya arekolin, flavonoid, tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas subkronik ekstrak etanol biji buah pinang terhadap kenaikan kadar ALT dan AST serta gambaran histopatologi pada organ hati tikus putih galur wistar.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih sebanyak 60 ekor dalam 6 kelompok meliputi kelompok kontrol, dosis uji dan satelit, tiap kelompok terdiri dari 10 ekor masing – masing 5 jantan dan 5 betina. Pengujian selama 28 hari dan dilanjutkan 14 hari. Data diperoleh dari kadar T0, T28 dan penambahan 14 hari, sekaligus pengambilan dan pemeriksaan histopatologi organ hati. Data hasil pemeriksaan ALT dan AST dianalisis menggunakan *One Way Anova*, *Two Way Anova*, *LSD*, dan perhitungan persentase histopatologi sel normal dan sel yang terjadi nekrosis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji buah pinang secara oral dalam 28 hari pada dosis 34,2 mg/kg BB tidak memberikan efek toksik sedangkan dosis 1500 mg/kg BB dan dosis 2000 mg/kg BB memberikan efek toksik pada organ hati tikus putih, serta diamati dari parameter histopatologi dan organ hati tersebut mampu memberikan perbaikan sel yang dilihat pada pemeriksaan kadar ALT dan AST serta parameter histopatologi pada perlakuan satelit.

Kata kunci : toksisitas, ekstrak biji buah pinang, satelit, kadar AST/ALT dan histopatologi.

ABSTRACT

MOI, LAS. 2016. TEST OF SUBCHRONIC TOXICITY OF ARECA PALM SIDS (*Areca catechu* L.) EXTRACT ETANOL TO ALT & AST LEVELS WITH HISTOPATHOLOGY ORGAN HEPAR WHITE RATS GALUR WISTAR Scription, FARMASI UNIVERSITY OF SETIA BUDI SURAKARTA.

Areca palm sids (*Areca catechu* L.) have power element for medication, arecolin, flavonoid, and tanin. This experiment know toxination subchronic extract etanol areca palm sids high level ALT, AST and skets histopathology at white rats galur wistar.

Using method extract to mesure the etanol 70%, in this was experiment use 60 piece of animal white rats than devide by 6 group include control group. Satellite dosage experiment, every group with 10 piece of white rats, wich 5 piece of famale with rats, 5 piece of male white rats. In 28 days experiment, will continue in 14 days again. The prove data from the power of T0, T28 and next 14 days. All in search histopathology organ heart. Data resoult ALT and AST analist using *One Way Anova*, *Two Way Anova*, *LSD* and cound of percentage histopathology cell normal and cell wiht necrosis.

Experiment resoult show with extract etanol areca palm sids in oral 28 days on dosage 34,2 mg/kg BB did not have any efects toxic, but dosage 1500 mg/kg BB and 2000 mg/kg BB have efects to the organ hepar of white rats. Looking from the parameter histopathology and organ hepar with rat can make reparation partikel which show from search power ALT and AST levels include parameter histopathology on working satellite.

Keywords : toxicity, extract areca palm sids, satellite, ALT/AST levels, histopathology.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki jumlah penduduk yang relatif banyak di dunia (sekitar 200 juta jiwa) dan masyarakatnya masih tinggal di daerah pelosok – pelosok desa (Sastropradjo 1990). Masyarakat yang tinggal di pedesaan atau pelosok yang sulit dijangkau (*terisolir*) sulit merasakan hasil – hasil pembangunan seperti bidang pendidikan dan bidang kesehatan, namun pemanfaatan lingkungan terutama tumbuhan untuk pemenuhan kebutuhan kesehatan seperti untuk obat – obatan tradisional sangatlah tinggi (Sutarjadi 1992). Secara garis besar Indonesia memiliki 30.000 spesies tumbuhan dan 9.600 spesies diketahui berkhasiat sebagai obat, namun baru ditemukan 200 spesies telah dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri obat tradisional di Indonesia. Peluang pengembangan budi daya tanaman obat masih sangat terbuka luas, sejalan dengan semakin berkembangnya industri jamu, obat herbal, fitofarmaka, dan kosmetika tradisional (Rahayu 2007).

Salah satu tanaman obat tradisional yang berkhasiat adalah biji buah pinang (*Areca catechu* L.). Masyarakat Indonesia mempergunakan tanaman ini selayaknya kebutuhan pokok, tidak hanya dipergunakan saat acara tertentu (*menginang*) tetapi banyak juga menjadikan pinang sebagai makanan selingan setelah makan. Adapun khasiat empiris biji buah pinang (*Areca catechu* L.) sebagai antidiare, anticacing, antidisentri, untuk memperkuat gigi dan sebagai

peluruh haid (*emenogoga*) (Mutiatikum *et al.* 1999). Penelitian Sutrisno (2014) biji buah pinang (*Areca catechu* L.) berkhasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dapat memberikan zona hambat yang baik dengan konsentrasi 2 – 3% dan penelitian Meiyanto *et al.* (2008) dengan dosis 34,2 mg/kg BB tikus dapat menghambat pertumbuhan sel pada kemoterapi obat kanker. Penggunaan biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dalam jangka waktu lama juga sering menyebabkan keracunan (*toksisitas*) seperti mabok, berimajinasi berlebihan (*euforia*), pusing, lemas, karang gigi, gigi berwarna merah kehitaman dan bau mulut. Penelitian lain juga mengungkapkan kebiasaan *menginang* dapat menyebabkan kanker rongga mulut dan penelitian di India yang dilakukan di tata memorial menunjukkan 28 – 30% telah didiagnosa terkena fibrosis submukosa oral akibat sering *menginang* (Ridzuan 2009). Agar tanaman obat tradisional aman dalam tujuan terapi atau sebagai bahan makanan tambahan (*nginang*), perlu ditindaklanjuti keamanannya pada uji toksisitas.

Dari hasil penelitan uji toksisitas akut oleh Handayani *et. al.* (2012) yaitu pemberian ekstrak etanol biji buah pinang tidak memperlihatkan perubahan yang signifikan seperti yang diharapkan sehingga pemeriksaan dilanjutkan pada uji mikroskopik (histologi). Organ yang diamati yaitu organ hati, organ ginjal, organ lambung, organ limpa, memperlihatkan hasil yang sama dengan organ pada hewan kelompok kontrol, tetapi pada dosis 1000 mg/kg BB, organ paru tikus memperlihatkan infiltrasi sel radang yang ditunjukkan adanya sel limfosit berwarna ungu yang kurang signifikan.

Uji toksisitas subkronik bertujuan untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut dan efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu 28 hari atau 90 hari (BPOM 2014). Pengujian toksisitas subkronik dapat diketahui perubahan berupa akumulasi, toleransi, metabolisme dan kelainan khusus pada organ yang diteliti (Donatus 2005). Manfaat dilakukan uji toksisitas subkronik untuk menunjukkan tingkat keamanan dari suatu senyawa pada pemberian selama 28 hari (BPOM 2014) sehingga diketahui toksisitas yang muncul setelah terpapar toksikan (Harmita dan Radji 2005).

Organ – organ vital yang diamati pada pengujian toksisitas subkronik salah satunya adalah organ hati. Hati yang digunakan sebagai tempat metabolisme dan penawar racun sangat penting karena letaknya diantara vena dalam saluran pencernaan. Organ hati mungkin rusak oleh bahan toksik dari terpapar senyawa – senyawa kimia tanaman karena menerima darah dari saluran cerna melalui vena porta (Corwin 2009). Kerusakan hati sering ditandai dengan perubahan biokimia, oleh karena itu pemeriksaan laboratorium diperlukan untuk membantu diagnosa dan pemeriksaan tingkat keparahannya (Underwood 1999). Biji buah pinang mengandung alkaloid, seperti Arekolin ($C_8 H_{13} NO_2$), arekolidine, arekain, guvakolin, guvasine dan isoguvasine serta ekstrak etanolik biji buah pinang mengandung tanin terkondensasi, tanin terhidrolisis, flavan, dan senyawa fenolik, asam galat, getah, lignin, minyak menguap dan tidak menguap, serta garam (Wang dan Lee, 1996). Keamanan dan pemeliharaan organ – organ vital agar tetap aman dari toksikan perlu dilakukan penelitian antara lain

toksisitas akut, toksisitas subkronik, karsinogenik, teratogenik dan mutagenik. Dari hal tersebut peneliti ingin mengetahui keamanan ekstrak biji buah pinang sekaligus mengetahui gambaran histologis organ hati pada pemakaian berulang.

Berdasarkan khasiat empiris masyarakat dan penelitian – penelitian sebelumnya, pada penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas subkronik dari ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu* L.) terhadap hati dengan melihat parameter kadar AST dan ALT dan gambaran histologi dengan menggunakan tikus putih galur wistar sebagai hewan percobaan.

B. Rumusan Masalah

Pertama, apakah pemberian ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dapat memperlihatkan efek toksik pada organ hati, terutama terhadap kenaikan kadar AST dan ALT dan gambaran histologi organ hati?

Kedua, berapakah dosis toksik ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) yang dapat memberikan efek toksik subkronik pada tikus putih Galur Wistar?

Ketiga, apakah pemberhentian pemberian ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dapat mempengaruhi perbaikan sel organ hati tikus putih galur wistar?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas tujuan penelitian ini adalah

Pertama, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek toksik ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) terhadap parameter kadar AST, ALT dan gambaran histologi pada organ hati tikus putih Galur Wistar.

Kedua, agar mengetahui dosis yang menimbulkan efek toksik subkonik dari ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) pada tikus putih Galur Wistar

Ketiga, agar mengetahui efek perbaikan atau kerusakan lanjutan pada pemberhentian pemberian ekstrak biji buah pinang selama 14 hari terhadap parameter kadar AST, ALT dan gambaran histologi organ hati tikus putih Galur Wistar.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat dan ilmu pengetahuan pada umumnya, berkaitan dengan pengembangan dan penggunaan obat tradisional khususnya penggunaan biji buah pinang (*Areca catechu* L.) tentang bagaimana efek toksik subkronik dari ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) terhadap organ hati apabila dikonsumsi setiap hari dalam waktu yang lama tanpa disertai dosis atau takaran yang tepat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Biji Pinang (*Areca catechu* L.)

1. Klasifikasi Tanaman

Pinang adalah sejenis palma yang tumbuh di daerah Pasifik, Asia dan Afrika bagian Timur. Jenis buah ini yang di dunia barat dikenal dengan *betel nut*, terutama ditanam untuk dimanfaatkan bijinya. Menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991) klasifikasi dari tumbuhan Pinang (*Areca catechu* L.) memiliki sistematika adalah sebagai berikut :

Regnum	: Plantae
Divisi	: spermatophyte
Sub divisi	: angiospermae
Kelas	: monocotyledonae
Bangsa	: arecales
Famili	: arecaceae/palmae
Genus	: areca
Species	: <i>Areca catechu</i> L.



Gambar 1. Buah pinang

Indonesia merupakan salah satu daerah yang menghasilkan tanaman pinang terbanyak di Asia. Sekitar 80% daerah atau tempat di Indonesia bisa di tanami tanaman pinang sekaligus memiliki keanekaragaman nama seperti pineng, pineung, batang mayang, buah Bongkah, buah Pinang, pining, boni (Sumatra), gahat, kahat, taan, pinang (Kalimantan), alosi, mamaan, nyangan, luhuto, luguto, poko rapo, amongon (Sulawesi), bua hua, Soi, palm (Maluku), bua Winu (NTT) (Herlina *et al.* 2011).

2. Morfologi Tanaman

Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tumbuhan liar sejenis palam yang tumbuh di kebanyakan kawasan tropis Pasifik, Asia (India, Malaysia, Taiwan) dan bagian Afrika Timur dengan tinggi mencapai 25 meter, daun berbentuk tabung panjang + 80 cm serta berujung tajam, bunga jantan berbentuk kekuningan dan buah betina hijau, buah dikenal dengan buah buni berwarna oranye (George dan Robert 2006). Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman family *Areaceae* yang dapat mencapai tinggi 15 – 20 meter dengan batang tegak lurus bergaris tengah 15 cm. Buahnya berkecambah setelah 1,5 bulan dan 4 bulan kemudian mempunyai jambul daun-daun kecil yang belum terbuka. Pembentukan batang

baru terjadi setelah 2 tahun dan berbuah pada umur 5 – 8 tahun tergantung keadaan tanah (Depkes RI 1989).

Bagian – bagian dari tanaman pinang antara lain adalah akar yang berakar serabut, kuning kotor. Batang yang berkayu, tegak, diameter \pm 15 cm, berwarna hijau kecoklatan dengan tinggi \pm 25 m. Memiliki daun majemuk berupa roset batang, membentuk pita, ujung robek, bergerigi, tepi rata, panjang \pm 80 cm, tangkai pendek, berpelepah, panjang \pm 80 cm, berwarna hijau muda dan hijau. Bunga majemuk, bentuk bulir, di ketiak daun, bunga betina dan bunga jantan tersusun dalam dua baris, beralur, panjang bunga jantan \pm 4 mm, putih kekuningan, bunga betina panjang \pm 1½ cm, hijau. Memiliki buah buni, bulat telur, dan berwarna merah jingga. Biji yang berjumlah satu, bulat telur, kuning kecoklatan (Depkes RI 1989).

3. Kandungan Kimia

Biji buah pinang mengandung alkaloid, seperti arekolin ($C_8 H_{13} NO_2$), arekolidine, arekain, guvakolin, guvasine, isoguvasine, tanin terkondensasi, tanin terhidrolisis, flavan, senyawa fenolik, asam galat, getah, lignin, minyak menguap dan tidak menguap, serta garam (Meiyanto 2008). Selin itu dari ekstrak biji buah pinang mengandung proantosianidin, yaitu suatu tanin terkondensasi yang termasuk dalam golongan flavonoid (Nonaka 1989).

4. Kegunaan

Sejak zaman dulu pinang selain digunakan untuk campuran makan sirih juga digunakan untuk obat luar gatal – gatal, borok dan sakit perut. Biji buah pinang bisa untuk mengobati sebagai antibakteri, antidiare, anticacing,

antidisentri, untuk memperkuat gigi dan sebagai peluruh haid (*emenogoga*) (Meiyanto 2008). Sedangkan daunnya bisa digunakan untuk menambah nafsu makan dan mengobati sakit pinggang. Sabutnya bisa dipakai untuk menyembuhkan beri – beri, sembelit, dan gangguan pencernaan (Arief 2012).

Tanaman biji pinang (*Areca catechu* L.) telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk kepentingan penelitian. Berkembangnya zaman memungkinkan para peneliti mencetuskan kandungan yang ada dalam ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.). Kandungan senyawa yang ada memberikan khasiat – khasiat yang lebih baik dan lebih efektif, beberapa jurnal penelitian menyimpulkan efektivitas ekstrak biji pinang baik untuk digunakan antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Sutrisno 2014) dan kemoterapi obat kanker (Meiyanto *et al.* 2009).

B. Metode Penyarian

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan baku alami yang digunakan untuk membuat ramuan obat tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali proses pengeringan. Pengeringan simplisia dilakukan dengan cara dijemur langsung di bawah sinar matahari yang bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh mikroorganisme (cendawan atau bakteri) dan memudahkan proses penyerbukan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan 1987).

Simplisia nabati berasal dari tanaman, baik yang masih utuh bagian – bagiannya maupun zat – zat nabati yang dipisahkan dari tanamannya yang belum berupa zat murni. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum berupa zat kimia murni (Gunawan 1987).

2. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi adalah suatu proses pemisahan zat aktif yang terdapat dalam sel oleh cairan penyari sehingga zat aktif tersebut larut bersama cairan penyari. Apabila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas maka penyarian yang dihasilkan akan lebih baik. Metode dasar penyarian meliputi maserasi, perkolasi, dan soxhlet. Pemilihan terhadap ketiga metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik dari tujuan penelitian tersebut dan ketahanan simplisia terhadap panas (Depkes RI 1986).

3. Maserasi

Maserasi berasal dari kata *mecerase* yang berarti mengairi, melunakkan, merendam. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana dan dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan larutan terpekat akan didesak keluar karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel dan

peristiwa tersebut akan berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan yang di luar dan yang di dalam sel (Depkes RI 1989).

Maserasi merupakan proses paling tepat dimana serbuk simplisia yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam cairan penyari sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat – zat yang mudah larut akan melarut (Ansel 1989).

Serbuk simplisia yang diekstraksi secara maserasi biasanya ditempatkan bersama cairan penyari yang telah ditetapkan dalam sebuah wadah atau bejana yang bermulut lebar dan ditutup rapat kemudian isinya dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut segarnya mengalir dan masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia yang sudah halus.

4. Pelarut

Pelarut Etanol 70% merupakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar senyawa alkaloid yang ada dalam biji pinang (*Areca catechu* L.), bersifat semi polar dan memungkinkan dapat menarik alkaloid lebih banyak. Pelarut harus memiliki kriteria melarutkan zat – zat aktif, murah, mudah didapat, bersifat netral, selektif (dapat menarik zat yang berkhasiat yang diinginkan) dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986).

C. Toksisitas

Toksisitas merupakan efek yang tidak ingin ditimbulkan pada spesimen biologi oleh zat untuk meneliti batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan senyawa. Pengukuran toksisitas dapat ditentukan dengan suatu cara kuantitatif

yang bermanfaat untuk menyatakan tingkat bahaya zat tersebut (Harmita dan Radji 2005).

Toksisitas zat kimia digunakan 2 tipe yaitu uji toksisitas umum dan uji toksisitas khusus (uji metagenik, uji karsinogenik, uji teratogenik). Uji toksisitas umum adalah berbagai uji yang dirancang guna mengevaluasi efek khusus pada hewan uji. Tujuan uji toksisitas subkronik adalah mengevaluasi dan menggolongkan segala efek senyawa apabila senyawa itu diberikan kepada hewan uji secara berulang – ulang, biasanya sekali sehari selama masa waktu kurang lebih 28 atau 90 hari (BPOM 2014).

Penelitian toksikologi biasanya dibagi menjadi tiga kategori yaitu :

1. Uji Toksisitas Akut

Ketoksikan akut adalah pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian baik dengan dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam (BPOM 2014).

Tujuan utama uji ketoksikan akut suatu obat adalah untuk menetapkan potensi ketoksikan akut, yakni kisaran dosis letal atau dosis toksis obat terkait, pada suatu hewan uji, selain itu juga digunakan untuk menilai berbagai gejala klinis yang timbul, adanya efek toksik yang khas dan mekanisme yang memerantarai terjadinya kematian hewan uji (Loomis 1978). Kriteria pengamatan meliputi pengamatan fisik terhadap gejala – gejala klinis, jumlah hewan yang mati pada masing-masing kelompok uji dan histopatogi seluruh organ (Lu 1995).

2. Uji Toksisitas Subkronik

Ketoksikan subkronik adalah pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan, selama sebagian umur hewan tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Sediaan diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis dengan uji singkat selama 28 hari yang penggunaannya sediaan sekali pakai dalam kurun waktu yang singkat (kurang dari 1 minggu), atau 90 hari yang penggunaan secara klinis dalam jangka waktu yang lama (selama 1 – 4 minggu) (BPOM 2014). Ditemukan dua faktor yang membatasi rancangan eksperimen dan tipe hewan yang digunakan dalam uji toksisitas subkronik. Pertama ialah ketersediaan jalur pemberiannya terbatas karena jalur yang akan digunakan harus sesuai, supaya pemberian senyawa berulang tidak menimbulkan efek berbahaya dalam diri hewannya, Kedua ialah uji ketoksikan subkronik yang terencana dengan sebaik melibatkan penggunaan spesies hewan dengan cuplikan darah dan air kencingnya dapat diperoleh pada interval tertentu untuk pemeriksaan kimia klinis tanpa menimbulkan bahaya yang signifikan terhadap hewan ujinya (Loomis 1978).

2.1. Spesies dan jumlah hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah rodensia tikus putih galur Sprague Dawley atau wistar atau mencit. Syarat hewan uji adalah sehat, umur 6 – 8 minggu. Masing – masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 10 ekor yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk setiap kelompok dosis. Sebelum percobaan dimulai hewan diaklimatisasi di ruang percobaan selama kurang lebih 7 hari. Hewan

dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak lebih dari rata – rata berat badan (BPOM 2014).

2.2. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji. Untuk hewan pengerat digunakan ruangan dengan suhu 22⁰C, (+ 30⁰C), kelembaban relative 30% – 70% dan penerangan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Hewan dikelompokkan dalam kandang berdasarkan jenis kelamin. Ukuran kandang yang digunakan sesuai dengan jumlah hewan perkandang (Harmita dan Radji 2005).

2.3. Pemberian tanda pada hewan percobaan. Pemberian tanda pada hewan dilakukan untuk membedakan dengan hewan percobaan yang lain, dapat digunakan larutan pikrat 10%, tinta cina atau pewarna lain. Tanda dapat diberikan berupa titik dan garis pada punggung atau ekor (Harmita dan Radji 2005).

2.4. Dosis uji. Sekurang – kurangnya digunakan 3 kelompok dosis yang berbeda, 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok satelit (kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol). Dosis sediaan uji yang paling tinggi harus menimbulkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan sedangkan dosis menengah menimbulkan gejala toksik (BPOM 2014).

2.5. Cara dan lama pemberian zat uji. Pada dasarnya zat uji harus diberikan sesuai dengan cara pemberian atau pemaparan yang diharapkan pada manusia. Pemberian secara oral dengan cara pencekakan menggunakan sonde atau secara *adlibitum* di dalam makanan atau minuman hewan yang dikonsumsi setiap hari. Zat uji yang diberikan pada hewan percobaan dilakukan selama 28 hari diberikan tujuh hari dalam satu minggu, dapat diberikan secara *intra vena*

(iv), *sub-kutan (sk)*, *intra muscular (im)*, *intra peritoneal (ip)*, *intra dermal (id)* (BPOM 2014).

2.6. Prosedur. Hewan diaklimatisasi di dalam ruangan percobaan selama kurang lebih tujuh hari. Hewan dikelompokkan secara acak sehingga penyebaran bobot tubuh merata untuk semua kelompok. Pengamatan gejala – gejala toksik pada masing – masing hewan uji dilakukan setiap hari. Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan paling sedikit satu 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 sudah sekarat selama periode pemberian zat uji harus segera dikorbankan, diotopsi, dilakukan pengamatan makropatologi, organ tertentu ditimbang, serta harus dilakukan pemeriksaan parameter 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. Organ dan jaringan yang diperiksa secara histopatologi antara lain kulit, kelenjar, getah bening, kelenjar submaksila, tulang dada, tulang paha, timus, trakea, paru-paru dan bronchi, jantung, pankreas, limpa, ginjal, kelenjar anak ginjal, kandung kemih, epididymis, testis/ovarium, uterus, otak, kelenjar tiroid dan paratiroid lidah, esophagus, lambung, duodenum, usus kecil atau usus besar, hati kelenjar pituitary, sum – sum tulang belakang atau jaringan lain yang menunjukkan perubahan-perubahan secara makropatologi (Harmita dan Radji 2005).

2.7. Evaluasi hasil. Evaluasi hubungan dosis dan efek yang terjadi yaitu terjadinya efek toksis dan derajat toksisitas yang meliputi perubahan berat badan, gejala klinis, parameter hematologi, biokimia klinis, makropatologi dan histopatologi, organ sasaran, kematian dan efek umum lain atau efek yang spesifik seperti kenaikan AST, ALT, ASP, dan bilirubin pada organ hati (BPOM 2014).

2.8. Cara penggunaan hewan percobaan. Perlu diingat bahwa dalam percobaan yang menggunakan hewan percobaan tidak selalu diperoleh hasil yang tepat. Perlakuan yang tidak wajar terhadap hewan percobaan dapat memperbesar penyimpangan hasil percobaan. Hewan percobaan yang paling banyak dipakai adalah mencit, tikus, marmut, dan kelinci. Penanganan hewan percobaan adalah cara memperlakukan hewan baik secara pemeliharaan maupun selama masa percobaan (Harmita dan Radji 2005).

2.9. Cara pemberian obat secara oral. Pemberian obat peroral pada mencit dan tikus diberikan dengan alat suntik yang dilengkapi dengan jarum atau kanula berujung tumpul dan berbentuk bola. Jarum atau kanula dimasukkan ke dalam mulut perlahan-lahan, diluncurkan, melalui langit-langit kebelakang sampai esophagus. Pemberian oral pada kelinci dilakukan dengan pertolongan alat penahan rahang (Harmita dan Radji 2005).

3. Uji Toksisitas Kronis

Perlakuan pemberian zat kimia berulang – ulang selama masa hidup hewan coba atau sekurang – kurangnya sebagian besar dari masa hidupnya, misalnya 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, dan 7 – 10 tahun untuk anjing dan monyet (Lu 1995). Alasan utama untuk menjalankan uji toksisitas

hewan yang jangka waktu ujinya setahun atau lebih, yang pertama ialah untuk memaparkan tidak adanya toksisitas bila dosis yang tersangkut mewakili suatu tingkat dosis lazim dan yang kedua ialah potensial karsinogenik suatu senyawa. Jangka waktu uji toksisitas kronik biasanya tidak kurang dari satu tahun, dan apabila karsinogenik akan dievaluasi, maka uji toksisitas kronisnya sekurang-kurangnya harus berlangsung dalam jangka waktu dua tahun pada tikus (Loomis 1978).

D. Binatang Percobaan

Binatang percobaan dalam penelitian ini digunakan adalah tikus karena mempertimbangkan sensitivitas cara metabolisme serta mudahnya penanganan sewaktu dilakukan penelitian (BPOM 2014). Tikus merupakan binatang percobaan yang paling banyak digunakan dalam penelitian selain itu sistem metabolisme dan struktur anatomi tikus khususnya pada saluran pencernaan mempunyai kemiripan yang sangat dekat dengan manusia.

1. Sistematika Tikus

Kedudukan tikus dalam sistematika adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Plasentalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muidae
Marga	: Ratus
Jenis	: <i>Rattus novergricus</i> (Sugiyanto 1995).

2. Karakteristik Utama Tikus

Tikus relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas. Tikus putih pada umumnya tenang dan mudah ditangani. Tikus tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan kecenderungan untuk berkumpul sesamanya juga tidak begitu besar. Aktivasinya tidak terganggu oleh adanya manusia disekitarnya. Suhu tubuh normal $37,5^{\circ}\text{C}$, bila diperlakukan kasar tikus menjadi galak (Harmita dan Maksum 2005).

3. Pengambilan Darah dan Pengumpulan Serum

Pengambilan darah tikus dilakukan melalui *vena optalmikus*. Darah yang keluar ditampung dalam tabung pemusing kira-kira 1,5 cc melalui dinding tabung, lalu didiamkan selama 15 menit, disentrifusi 30 menit dengan kecepatan 3500 rpm/menit. Dilakukan pengambilan serum hasil sentrifusi yang berwarna putih kekuningan sebagai bahan penelitian (Sugiyanto 1995).

4. Parameter – Parameter Internal dan Eksternal

Parameter – parameter internal dan eksternal yang dapat menyebabkan hewan stres atau merasa terganggu yaitu perlakuan yang tidak wajar terhadap hewan percobaan, asupan makan yang kurang, ukuran kandang yang tidak sesuai dengan jumlah hewan yang ditampung, kondisi kandang yang tidak bersih, suhu dan kelembaban yang tidak sesuai (Harmita dan Radji 2005).

E. Hati

Hati merupakan kelenjar tubuh yang paling besar. Beratnya antara 1000 – 1500 gram, kurang lebih 25% berat badan orang dewasa dan sebagai tempat pusat metabolisme dengan fungsi yang kompleks. Hati memiliki 2 lobus utama kanan dan kiri. Lobus kanan terbagi menjadi segmen anterior dan posterior dan lobus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral (Noer 1996).

1. Struktur dan Fungsi Hati

Hati memiliki dua jenis sel yakni sel hepatosoid yang berasal dari epitel yang melakukan banyak kegiatan metabolit, dan sel kupffer seperti sel – sel retikulendotel yang memiliki fungsi fagositosis dan perombakan. Hati memiliki kapasitas cadangan yang sangat besar dan sangat dan sangat membutuhkan 10% – 20% fungsi jaringan untuk mempertahankan hidup, kerusakan total hati dapat menyebabkan kematian. Susunan anatomis terkecil ialah lobulus yang tersusun dari rangkaian hepatosit yang ditopang oleh anyaman retikulum yang mengitari saluran darah yang bernama sinusoid. Aliran darah diatur hingga tiap lobulus dimasuki dan bagian perifer, kemudian menyusup melalui sinusoid dan

akhirnya berkumpul dalam vena centralis. Darah dalam sinusoid dan sel – sel hati yang membatasi sinusoid bersentuhan erat sehingga pertukaran zat dalam darah sinusoid dan hepatoid menjadi maximal (Corwin 2009).

2. Kerusakan Hati

2.1. Perlemakan hati. Perlemakan hati adalah gambaran patologi yang ditandai dengan akumulasi lemak di dalam sel hati yang merupakan tanda adanya gangguan lipid di dalam hati. Ini sering disebabkan oleh faktor – faktor gaya hidup (primer) yakni, obesitas, hiperlipidemia dan resistensi insulin, serta faktor pemeliharaan (sekunder) seperti diet yang tidak seimbang, melabsorpsi, obat – obatan antaranya aspirin, tetrasiklin dan alkohol (Panjaitan *et al.* 2011).

2.2. Nekrosis hati. Peristiwa nekrosis hati, menyebabkan tersisnya hepatosit yang mengalami mumikasi dan kurang terwarnai. Nekrosis hati memiliki gambaran seperti hati yang menyusut, dengan tepi atau batas yang tidak beraturan dan dan warna gelap. Nekrosis memiliki tahapan diantaranya pertama adalah piknosis yang ditandai dengan inti sel yang terlihat bulat, mengecil dan berwarna gelap. Tahap berikutnya adalah karioreksis, inti sel mengalami fragmentasi menjadi kecil dan tersebar. Tahab akhir ialah kariolisis, inti sel akan melisis sehingga nampak rong kosong dibatasi membran hati.

2.3. Sirosis hati. Sirosis adalah kondisi fibrosis dan pembentukan jaringan parut yang difusi dihati. Jaringan hati normal digantikan oleh nodus – nodus fibrosa keras serta pita – pita fibrosa yang mengerut dan mengelilingi hepatosit. Sirosis terjadi sebagai respon terhadap cedera sel berulang dan reaksi peradangan yang ditimbulkannya. Penyebabnya adalah infeksi misalnya

hepatitis, obstruksi saluran empedu yang menyebabkan penimbunan empedu di kanalikulus dan pecahnya kanalikulus dan cedera hepatosit akibat toksin (Corwin 2009).

2.4. Enseelopati hepatica. Kerusakan ini merupakan suatu kompleks gangguan susunan saraf pusat yang di jumpai pada individu yang mengidap gagal hati. Kerusakan ini ditandai oleh gangguan memori dan perubahan kepribadian seseorang yang mengidap penyakit ini akhirnya mengalami koma dan kematian. Enseelopati hepatica sebagian besar timbul akibat penimbunan toksin dalam darah yang terjadi apabila hati gagal mengubah atau mendetoksifikasi toksin – toksin tersebut secara adekuat (Corwin 2009).

2.5. Fibrosis. Merupakan gambaran yang sering ditemukan dan penting pada hepatitis kronik, walaupun kadang – kadang sama sekali tidak dijumpai fibrosis minimal menyebabkan ekspansi truktus portal. Fibrosis luar menyebabkan pembentukan jembatan jaringan ikat antara daerah portal dan vena sentral. Hilangnya sel hati dalam jumlah banyak dan fibrosis yang terjadi akhirnya menyebabkan sirosis yang sering merupakan komplikasi hepatitis kronik (Corwin 2009).

F. Parameter Kerusakan Hati

Kerusakan hati selalu disertai dengan nekrosis sel, peningkatan peroksidasi jaringan lipid, pengurangan glutathion (GSH) di jaringan. Kerusakan hati juga akan berdampak pada kenaikan level enzim AST, ALT, ALP, bilirubin serum dalam

darah, oleh karena itu penanda – penanda tersebut sering digunakan dalam mengevaluasi fungsi hati (Sherwood 2011).

- 1. Alanine Transaminase (ALT).** Merupakan enzim yang ditemukan terutama di dalam sel hati. ALT dapat membantu metabolisme protein dalam tubuh. Dalam kondisi normal, kadar ALT di dalam darah adalah rendah. Sebaliknya, tingginya kadar ALT mengindikasikan adanya kerusakan hati.
- 2. Aspartate Transaminase (AST).** Enzim AST berperan dalam metabolisme alanine. AST ditemukan dalam kadar yang tinggi di sel-sel hati, jantung, dan otot-otot lainnya. Namun jika AST tersebut ditemukan dengan kadar yang tinggi di dalam darah, ini mengindikasikan adanya kerusakan atau penyakit hati.
- 3. Alkaline Phosphatase (ALP).** Enzim ALP ditemukan dalam konsentrasi yang tinggi di hati, saluran empedu, dan beberapa jaringan lainnya. Peningkatan kadar ALP mengindikasikan adanya kerusakan atau penyakit hati, terutama bila terjadi sumbatan di saluran empedu.
- 4. Bilirubin.** Bilirubin dihasilkan oleh pemecahan hemoglobin di dalam hati. Bilirubin dikeluarkan melalui empedu dan dibuang melalui feses. Peningkatan kadar bilirubin menunjukkan adanya penyakit hati atau saluran empedu.

Transaminase merupakan sekelompok enzim. Yang berperan sebagai katalisator dalam pemindahan gugus amino antar suatu asam α – amino dengan suatu α – keton. Enzim ini terdiri dari aspartat aminotransferase (AST) dan alanin aminotransferase (ALT). AST terdapat diseluruh jaringan tubuh, terutama di hati, dan dalam jumlah lebih kecil dan otot rangka. Sebagian besar AST terikat pada

organel sel dan hanya sedikit terdapat di sitoplasma. Bila kerusakan hati sebagian mengenai membran sel, maka kenaikan ALT lebih menonjol dan bila kerusakan sel hati terutama mengenai organel sel, maka kenaikan AST lebih menonjol. Meski ALT lebih menonjol untuk penyakit hati di banding AST, tapi kedua enzim ini sering digunakan bersama – sama untuk mengevaluasi kelainan hati. Peningkatan aktivitas enzim transaminase merupakan petunjuk yang paling peka telah terjadinya nekrosis sel – sel hati karena peningkatan terjadi paling awal dan paling akhir kembali ke kondisi normal dibandingkan dengan uji yang lain.

Pada orang dewasa normal, kadar AST berkisar 5 – 40 IU/L, sedangkan tikus berkisar 67,4 – 141 U/L. Kadar ALT pada orang dewasa normal berkisar 5 – 35 IU/L, sedangkan pada tikus berkisar dan 19,3 – 68,9 U/L (Baron 1992). Pada kerusakan membran sel hati kenaikan ALT lebih menonjol dibanding kadar AST (Mitruka 1987).

Billirubin adalah suatu pigmen yang larut dalam lemak yang berasal dari pemecahan enzimatik dari gugus *haem* dari berbagai homoprotein yang berasal dari seluruh tubuh. Meskipun billirubin (pigmen empedu) merupakan hasil akhir metabolisme dan secara fisiologis tidak memiliki peranan aktif, namun billirubin penting sebagai indikator penyakit hati (Price dan Wilson 1989). Pembentukan billirubin sekitar 250 sampai 350 mg billirubin atau sekitar 4 mg/kg berat badan terbentuk setiap harinya, 70 – 80% berasal dari pemecahan sel darah merah yang matang, sedangkan sisanya 20 – 30% berasal dari protein hema lainnya yang berbeda terutama dalam sumsum tulang dan hati. Kadar normal billirubin total dalam darah adalah 0,1 – 1,0 mg/dL. Pengukuran billirubin untuk pemeriksaan

fungsi hati, kadar billirubin akan meningkat pada berbagai penyakit hati (Corwin 2009). Elevasi atau peningkatan billirubin ini dapat terjadi karena adanya penghancuran hemoglobin berlebihan. Pada infeksi virus hepatitis, billirubin dapat muncul dalam urin dan dapat meningkat dalam serum. Pada obstruksi ekstrahepatik ditandai dengan peningkatan billirubin serum (Price dan Wilson 1989).

Kerusakan hati dapat di tunjukkan dengan gambaran histopatologi organ hati hewan uji. Stadium awal peradangan ditandai dengan munculnya sel – sel neutrofil pada daerah yang terpapar toksikan. Kerusakan keras dapat menghambat proses regenerasi dan meninggalkan bekas luka halus, walaupun hati telah normal kembali. Pada toksikan berat kegagalan fungsi hati dapat menyebabkan kematian dalam waktu 12 – 24 jam (Corwin 2009).

Radikal bebas dalam hati akan menyebabkan peroksidasi fosfolipid membran, menurunkan sintesis protein hati enzim dan plasma dan cidera mitokondria sehingga menurunkan cadangan ATP yang mengakibatkan gangguan tranport ion dan pembengkakan sel yang progresif. Hal ini akan menyebabkan membran sel rusak dan berujung pada kematian sel atau nekrosis (Price & Wilson 2005).

Gambaran histopatologi hati digunakan untuk menilai perubahan pada sel dan jaringan hati, yang dialisis secara deskriptif dengan menghitung distribusi frekuensi perubahan tersebut. Gambaran histopatologi hati digunakan untuk mengamati jaringan secara langsung guna memastikan adanya infeksi, infiltrasi atau fibrosa lemak dan kanker dalam pemeriksaan fungsi hati (Corwin 2009).

Salah satu gambaran histopatologi yang sering diamati dalam kerusakan hati adalah nekrosis sel hati.

G. Histologi dan histopatologi

1. Histologi

Ilmu histologi adalah ilmu yang mempelajari tentang struktur jaringan secara detail dengan gambaran optik pada mikroskop dengan preparat dipotong tipis. Histologi juga bisa dikatakan sebagai ilmu anatomi mikroskopis. Histologi (Corwin 2009). Salah satu gambaran histopatologi yang sering diamati dalam kerusakan hati adalah nekrosis sel hati. sangat berguna dalam mempelajari fungsi fisiologi sel – sel dalam tubuh baik manusia, hewan, serta tumbuhan, dan dalam bentuk histopatologi dan berguna dalam penegakan diagnosis penyakit yang melibatkan perubahan fungsi fisiologi dan deformasi organ (Corwin 2009).

2. Histopatologi

Gambaran histopatologi hati digunakan untuk menilai perubahan pada sel dan jaringan hati, yang di analisis secara deskriptif dengan menghitung distribusi frekuensi perubahan tersebut. Gambaran histologi hati digunakan untuk mengamati jaringan secara langsung guna memastikan adanya infeksi. Infiltrasi atau fibrosa lemak dan kanker dalam pemeriksaan fungsi hati (Corwin 2009). Organ dicuci dengan NaCl fisiologis, selanjutnya difiksasi dengan menggunakan formalin 10%, dilanjutkan didehidrasi dengan alkohol secara bertingkat dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% masing – masing selama 24

jam di lanjutkan dengan alkohol 100% selama 1 jam yang di ulang tiga kali. Lalu dilanjutkan dengan tahap penjernihan dengan menggunakan larutan xilol dengan di ulang secara berkala sebanyak tiga kali dengan range waktu 1 jam dan dilakukan penanaman kultur jaringan dengan media paraffin. Selanjutnya jaringan dipotong dengan menggunakan mikrotom ketebalan 4 – 5 mikron kemudian diletakkan pada kaca objek untuk selanjutnya diwarnai dengan pewarna hematoxilin – eosin (HE). Setiap perubahan pada masing – masing organ hati dari beberapa kelompok hewan uji tikus dibuat rata – rata skor perubahan gambaran histopatologi hati, kemudian dihitung persentasenya yang dinyatakan sebagai parameter kerusakan hati.

3. Tujuan Umum Kerusakan Jaringan Akibat Bahan Toksik

Hyperplasia “hypergenesis” adalah istilah umum yang mengacu pada perkembangan sel – sel dalam satu organ atau jaringan (misalnya terus – menerus membagi sel). Hyperplasia merupakan penambahan ukuran organ atau jaringan yang terjadi akibat rangsangan tertentu dan hanya terlihat pada analisis histologis dengan mikroskop, apabila rangsangan hilang dapat normal kembali. Hyperplasia berbeda dari hipertropi dalam perubahan adaptif. Hipertrofi sel adalah peningkatan ukuran sel, sedangkan hyperplasia meliputi peningkatan jumlah sel (Underwood 1999).

Hypoplasia merupakan efek kegagalan proses pertumbuhan berupa penyusutan ukuran morfologi jaringan setelah proses pemaparan gangguan. Hypoplasia mirip dengan aplasia, tetapi tidak terlalu parah. Secara teknis berlawanan dengan hyperplasia (perkembangan atau penambahan sel).

Hypoplasia adalah suatu kondisi bawaan sementara hyperplasia umumnya mengacu pada pertumbuhan sel yang berlebihan (Underwood 1999).

3.1. Respon atas cedera sel. Banyak penyebab yang dapat mencederai sel. Penyebab tersebut dapat dikumpulkan dalam beberapa kelompok. Mekanisme kerjanya sering amat mirip satu dengan yang lain. Berbagai penyebab yang bekerja melalui jalur yang biasa pada tingkat seluler.

3.2. Penyebab fisik. Trauma serta cedera karena suhu akan mengakibatkan kematian sel dan denaturasi protein, serta menyebabkan trombosis vaskuler lokal sehingga mengakibatkan iskemik atau infark.

3.3. penyebab kimia dan biologis. Sel akan mengalami cedera apabila mengalami kontak dengan obat – obatan dan bahan kimia lain, termasuk enzim dan toksin yang disekresi oleh mikroorganisme.

3.4. Obat – obatan dan racun. Berbagai bahan kimia alamiah dan sintetik dapat menyebabkan cedera sel. Umumnya efek yang terjadi berkaitan dengan dosis. Beberapa merupakan racun yang kuat dan berpengaruh pada metabolisme sistemik.

3.5. Organisme infeksius. Mekanisme kerusakan jaringan yang diakibatkan organisme infeksius beranekka ragam, karena produk atau sekresi yang berbahaya dari bakteri – bakteri tersebut. Jadi sel hospes menerima rangsangan bahan kimia yang mungkin bersifat toksik terhadap metabolisme atau terhadap keutuhan membran sel. Sebagai tambahan, sering timbul respon – respon peradangan – peradangan dari hospes yang dapat

menyebabkan kerusakan kimiawi terhadap sel, yang lebih mungkin disebabkan oleh reaksi imun hospes dari pada infeksi (Price 2005).

4. Gambaran Sel Setelah Cidera.

Sel dapat mengalami cedera baik reversibel maupun ireversibel melalui berbagai cara dan efeknya pada jaringan tergantung pada : lamanya cedera, sifat alami penyebab cedera, proporsi dan jenis sel yang terkena, kemampuan jaringan untuk regenerasi. Apabila cedera itu bersifat fatal terhadap sel akan terjadi nekrosis ini sering berbentuk sebagai nekrosis koagulative. Kemungkinan lain kerusakan intraselular akan memicu apoptosis (Price 2005).

Penyebab dari mekanisme yang menimbulkan berbagai kelainan histologi, walaupun hanya beberapa saja yang spesifik untuk setiap penyebab. Dua gambaran perubahan seluler subletal yang umum terlihat yaitu perubahan hidropobik dan perubahan lemak (Underwood 1999).

4.1. Perubahan hidropobik. Istilah deskriptif dari perubahan hidropobik dipakai untuk sel – sel sitoplasmanya menjadi pucat dan membengkak karena terjadi penimbunan cairan. Derajat yang ringan dari pembengkakan intraseluler disebut bengkak keruh. Penambahan yang lebih lanjut dari cairan dan pembengkakan organ menyebabkan terjadinya vakwola didalam sitoplasma. Perubahan hidropobik umumnya merupakan akibat adanya gangguan metabolisme seperti hipoksia atau keracunan bahan kimia. Perubahan ini bersifat reversibel walaupun dapat pula berubah menjadi ireversibel apabila penyebab cideranya menetap (Underwood 1999).

4.2. Perubahan melemak. Vakwolisasi sel sering disebabkan oleh penimbunan tetesan lipid sebagai akibat gangguan fungsi ribosom dan uncoupling lipid dari metabolisme protein. Hati umumnya terkena dengan cara melalui berbagai penyebab, seperti hipoksia, alkohol dan diabetes (Underwood 1999). Serta harus dilakukan pemeriksaan parameter hematologi, biokimia klinis, dan histopatologi.

Pada akhir pemberian periode zat uji, semua hewan yang hidup harus dikorbankan, diatopsi, dilakukan pengamatan makropatologi, penimbangan organ tertentu dan pemeriksaan histopatologi pada setiap organ dan jaringan. Pemeriksaan parameter biokimia klinis harus dilakukan pada darah yang dikumpulkan pada pengorbanan sebanyak parameter yang diperlukan (Lu 1995).

H. Pengorbanan Hewan Uji

Mengorbankan hewan uji pada uji toksisitas prinsipnya harus sesuai dengan kaidah – kaidah cara dan teknik pengorbanan hewan (*ethical clearance*) dan tidak mempengaruhi hasil uji toksisitas. Sebelum hewan uji dikorbankan, dilakukan anestesi terlebih dahulu. Hewan dipengang secara hati – hati tanpa menimbulkan rasa takut, lalu hewan dikorbankan dengan salasatu teknik mengorbankan hewan disuatu tempat terpisah dan dijaga agar tidak ada hewan hidup disekitarnya (BPOM 2014).

Mengorbankan hewan dilakukan dengan cara pemberian suatu anestetik dosis berlebihan. Secara intra vena untuk kelinci, secara *intraperitoneal* untuk

mencit, marmot dan tikus dengan menggunakan kloroform. CO₂, N₂ secara inhalasi. Secara fisik dilakukan dengan cara disembelih. Hewan dikorbankan sedemikian rupa sehingga mengalami penderitaan seminimal mungkin (Harmita dan Radji 2005).

I. Landasan Teori

Biji buah pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai anti bakteri karena memiliki efek antioksidan. Biji buah pinang (*Areca catechu* L.) juga merupakan tumbuhan jenis palma yang memiliki banyak kegunaan antara lain untuk dikonsumsi, bahan industri kosmetika, kesehatan, dan bahan pewarna tekstil. Tumbuhan ini tumbuh dan tersebar luas di wilayah India, Malaysia, Taiwan, Indonesia, dan Asia lainnya, baik secara individu maupun populasi (Kambolong 2015). Kandungan biji buah pinang ini adalah alkaloid (arekolin, arekoidin, gurasin, guvalin), tannin dan gula. Mengunyah biji pinang dapat menyebabkan saponifikasi ester alkaloid menghasilkan arekaidin yang menyebabkan euforia. Biji pinang bersifat toksis pada masa kehamilan karena memiliki aktivitas sitotoksik dan genotoksik. (Mutiatikum *et al.*, 1999). Toksisitas muncul setelah berkali – kali terpapar toksikan dalam jangka waktu pendek atau hanya satu kali terpapar tetapi korban tidak mati dan gejala akut sudah terlampaui (Harmita dan Radji 2005).

Toksisitas subkronik merupakan uji yang dilakukan dengan memberikan bahan obat secara berulang – ulang biasanya setiap hari atau lima kali dalam seminggu dengan tujuan untuk memeriksa tingkat toksisitas organ hati hewan

yang teracuni juga untuk menentukan keamanan suatu senyawa dalam dosis uji yang memerlukan waktu pemaparan terhadap hewan uji 28 – 90 hari dalam dosis berturut – turut dikonsumsi tiap hari (BPOM 2014).

Organ – organ vital yang di uji pada toksisitas subkronik salah satunya adalah Hati. Hati merupakan organ vital yang memetabolisme zat yang masuk dalam tubuh sekaligus menawarkan racun yang memberikan reaksi ketoksikan pada tubuh. Studi toksisitas fungsi hati dapat dievaluasi melalui analisis serum darah. Serum darah yang diperiksa adalah kadar AST dan ALT (Sherwood 2011).

Aspartate aminotransferase (AST) dan *Alanine Transaminase* (ALT) merupakan sebuah enzim yang biasanya terletak didalam sel – sel hati. AST dan ALT dilepaskan dalam darah ketika hati atau jantung rusak. Tingkat AST dan ALT dalam darah signifikan dengan tingginya kerusakan hati. Beberapa obat juga dapat meningkatkan kadar AST dan ALT. Enzim ini dalam jumlah yang kecil dijumpai pada otot jantung, ginjal dan otot rangka. Nilai AST dan ALT normal untuk tikus putih adalah 67,4 – 141 U/L (Mitruka 1981) dan 19,3 – 68,9 U/L (Baron 1992).

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih. Tikus merupakan binatang percobaan yang sering dipakai dalam penelitian, dengan pemberian ekstrak uji dengan dosis 34,2 mg/mg BB, 1500 mg/kg BB, 2000 mg/kg BB, karena sistem metabolisme dan struktur anatominya, khususnya pada saluran pencernaan mempunyai kemiripan yang sangat dekat dengan manusia (Baron 1995).

J. Hipotesis

Hipotesis yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah:

Pertama, ekstrak biji pinang dapat memperlihatkan kenaikan kadar ALT dan AST sekaligus gambaran kerusakan pada organ hati tikus melalui pemberian secara oral setiap hari dengan dosis tertentu selama 28 hari.

Kedua, dari ketiga variasi dosis ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) yaitu 34,2 mg/kg BB, 1500 mg/kg BB, 2000 mg/kg BB tidak memberikan efek toksik subkronik pada tikus putih.

Ketiga, pemberhentian ekstrak biji pinang dapat memperlihatkan efek perbaikan terhadap penurunan kadar ALT dan AST sekaligus gambaran kerusakan hati dalam perlakuan satelit 14 hari.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah biji buah pinang (*Areca catechu* L.) yang diambil dari buah pinang yang berasal dari Desa Baumata Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji buah pinang (*Areca catechu* L.) yang diambil secara acak dari buah pinang yang berasal dari Desa Baumata Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur pada bulan Desember 2015, dipilih buah pinang yang sudah tua (matang) dengan kulit yang segar dan berwarna orange kemerahan.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah pertama, dosis ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.). Kedua, hasil uji toksisitas subkronik secara ALT dan AST serta gambaran histopatologi pada organ hati tikus putih jantan. Ketiga, dalam penelitian hewan uji dan kondisi percobaan.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel yang telah diteliti terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke

dalam berbagai macam variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang diinginkan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dalam berbagai varian dosis yang di peroleh secara maserasi dengan pemberian langsung secara oral pada tikus jantan putih.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung adalah pengaruh pemberian ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dan efek toksik subkronik terhadap organ ginjal tikus jantan putih melalui pemeriksaan kadar AST dan ALT serta gambaran histopatologinya.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji yang meliputi kondisi pengukuran, laboratorium dan keadaan hewan uji yang meliputi berat badan, usia, lingkungan tempat hidup, perlakuan oleh peneliti.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, biji buah pinang adalah biji buah pinang (*Areca catechu* L.) yang diambil dari Desa Baumata Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Kedua, ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu* L.) adalah bahan uji yang dihasilkan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian dipekatkan menggunakan penguap putar (*rotary evaporator*), sehingga diperoleh ekstrak kental biji buah pinang (*Areca catechu* L.).

Ketiga, efek toksisitas subkronik adalah perubahan biokimia kadar ALT dan AST dan gambaran histopatologi pada organ hati setelah pemberian ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dalam berbagai variasi dosis selama pemberian 3 bulan.

Keempat, ALT dan AST merupakan sebuah enzim yang biasanya terletak didalam sel-sel hati yang dilepaskan ke dalam darah ketika hati terjadi komplikasi atau rusak, kadar ALT dan AST normal untuk tikus putih berturut – turut adalah 19,3 - 68,9 U/L dan 67,4 - 141 U/L

Kelima, hewan uji adalah hewan yang digunakan sebagai hewan percobaan dalam penelitian ini yaitu tikus putih diperoleh dari laboratotium Universitas Setia Budi Surakarta.

C. Bahan, Alat dan Hewan Percobaan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk maserasi adalah botol coklat, kain flanel, kertas saring, batang pengaduk, corong dan gelas ukur. Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan percobaan adalah kandang, sentrifuge, sonde lambung, alat bedah, objek glass, lampu Bunsen, timbangan analitik, pipet pasteur, mikrotom putar (spencer), disposibel 2 ml, kapas, mortar dan stamper, tabung reaksi.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol biji buah pinang. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar dengan

berat badan antara 200 – 300 gram, bahan – bahan lain yang digunakan untuk pengujian kadar ALT dan AST yaitu, parafin cair, hematoksin eosin (HE), serbuk magnesium, HCl, amil alkohol FeCl_3 dan CMC Na digunakan sebagai kontrol negatif. .

3. Hewan Percobaan

Binatang percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar yang berumur 2 – 3 bulan dengan berat badan 200 – 300 gram. Pengelompokan dibagi dalam lima kelompok yaitu tiga kelompok yang uji, dua kelompok satelit, dan satu kelompok yang tidak diberi perlakuan atau sebagai kontrol.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Biji pinang (*Areca catechu* L.) yang diambil dari buah pinang yang berasal dari Desa Baumata Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur. biji buah pinang yang diambil adalah biji buah pinang yang sudah dibelah dan dikerikankan dibawah sinar matahari langsung. Kemudian dibersihkan dengan bahan pengotor. Biji buah pinang yang sudah bersih digiling untuk mendapatkan masa serbuk biji buah pinang lalu diayak dengan ayakan no 40. Hasil serbuk biji buah pinang tersebut disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya akan dilakukan untuk penelitian.

2. Identifikasi Simplisia

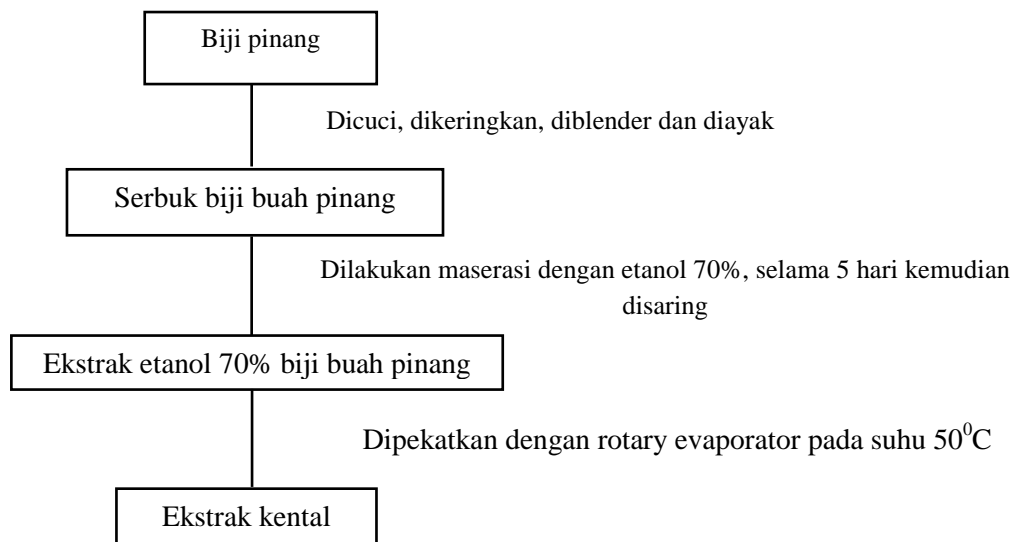
Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran biji buah pinang (*Areca catechu* L.) berkaitan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada biji buah pinang (*Areca catechu* L.) yang dilakukan dan dibuktikan di Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan di Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

3. Penetapan Kadar Air Serbuk Biji Buah Pinang

Penetapan kadar air serbuk biji buah pinang menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan cara menimbang serbuk biji buah pinang sebanyak 20 gram, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut *xylene* sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell* dan dipanaskan menggunakan api kecil. Pemanasan dihentikan bila pada penampung tidak menetes lagi dan dilanjutkan dengan mengukur kadar air hingga < 10% dengan alat *Sterling-Bidwell* dengan cara melihat volume pada skala alat.

4. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Biji Buah Pinang

Ekstrak etanol dibuat dengan cara diambil 300 gram serbuk biji buah pinang kemudian dimasukkan dalam wadah berwarna gelap lalu ditambah dengan etanol 70% sebanyak 3200 ml. Maserasi dilakukan kurang lebih selama 5 hari dengan penggojokan. Setelah itu dipisahkan antara filtrat dengan ampas. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan *rota evaporator* (suhu dijaga pada 50⁰C) sampai diperoleh ekstrak kental biji buah pinang (*Areca catechu* L.) (Farmakope herbal indonesia 2014).



Gambar 2 . Pembuatan Ekstrak Etanol 70% biji buah pinang

5. Identifikasi kandungan kimia ekstrak biji buah pinang

5.1. Identifikasi flavonoid. Ekstrak etanol biji buah pinang ditambahkan sedikit demi sedikit sebanyak 2 ml etanol. Dicampur dan dikocok kuat – kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil (Robinson 1995).

5.2. Identifikasi tanin. Ekstrak biji buah pinang masing – masing ditambahkan 3 ml larutan FeCl_3 1%. Reaksi positif akan terbentuk warna hijau violet (Depkes 1995).

5.3. Identifikasi alkaloid. Dimasukkan 3 ml ekstrak etanol biji buah pinang dalam tabung reaksi, ditambahkan 4 ml etanol 70% dan 1,5 ml HCl 2% kemudian larutan dibagi dalam 3 tabung reaksi. Tabung reaksi I sebagai pembanding. Tabung II ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Dragendrof yang menunjukkan positif adanya kekeruhan atau endapan coklat. Tabung reaksi III ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Mayer untuk mengetahui adanya endapan putih kekuningan (Robinson 1995)

6. Prosedur Kerja

6.1. Persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar sebanyak 60 ekor masing – masing 30 jantan dan 30 betina. Kemudian dibagi menjadi 3 kelompok uji 2 kelompok satelit dan 1 kelompok kontrol, dengan masing – masing tiap kelompok 5 ekor jantan dan 5 ekor betina dan diberikan pengenal (penanda) pada bagian ekor tikus. Hewan uji tikus diperoleh dari Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Hewan uji diperoleh dalam keadaan sehat dan sudah diadaptasi dengan lingkungan Universitas Setia Budi selama 1 minggu. Sebelum dilakukan pengukuran kadar awal (t₀), hewan uji dipuasakan selama 8 – 12 jam dengan diberikan minum. Suhu dan kelembaban dari kandang harus diperhatikan karena dapat mempengaruhi uji penelitian. Setelah semua telah dipersiapkan tikus dapat segera dilakukan penelitian dengan pemberian zat uji.

6.2. Penentuan dosis ekstrakbiji buah pinang. Penentuan dosis ekstrakbiji buah pinang didasarkan dosis efek kemoterapi pada penelitain Meiyanto et al 2008 dan standar dosis BPOM 2014. Variasi dosis yang digunakan adalah 34,2 mg/kg BB, 1500 mg/kg BB, 2000 mg/kg BB dan kelompok satelit dosis tertinggi 2000 mg/kg BB dan 34,2 mg/kg BB .

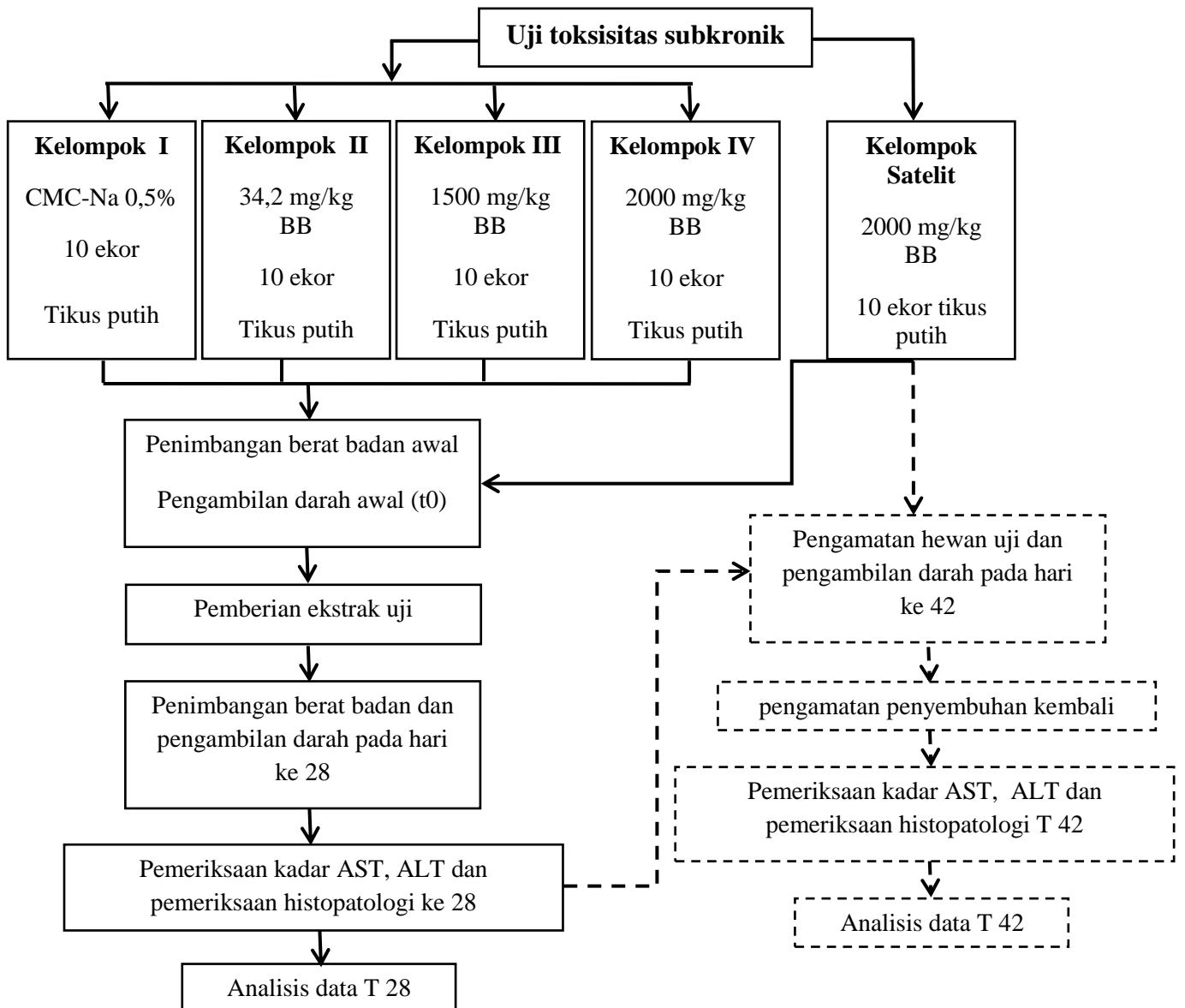
6.3. Perlakuan hewan uji. Hewan uji yang telah dipuasakan dan dikelompokan, diberikan ekstrak etanol biji buah pinang. Kelompok 1 diberikan Na CMC 0,5% secara oral. Kelompok ke 2 diberikan ekstrak biji buah pinang dengan dosis 34,2 mg/kg BB secara oral. Kelompok ke 3 diberikan ekstrak biji buah pinang dengan dosis 1500 mg/kg BB secara oral.

Kelompok ke 4 diberikan ekstrak biji buah pinang dengan dosis 2000 mg/kg BB secara oral. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk kelompok satelit yaitu kelompok dosis tertinggi diberikan secara oral.

Setelah dikelompokkan kemudian dilakukan pengambilan darah untuk melihat kadar ALT dan AST awal (t_0) dari hewan uji dan untuk memastikan organ hati tikus tidak ada yang rusak. Pemberian ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) selama 28 hari sekaligus pengambilan darah untuk pemeriksaan biokimia hewan uji dan akhir masa percobaan hewan kelompok uji dikorbankan untuk melihat efek toksisitas subkronik secara histopatologi pada organ hati. Proses penelitian berkelanjutan untuk hewan uji kelompok satelit yaitu selama 14 hari. Penambahan hari untuk kelompok satelit bertujuan untuk mengetahui efek toksik dan efek regenerasi sel hepar yang terjadi setelah pemberhentian pemberian ekstrak biji buah pinang dengan uji biokimia dan gambaran histopatologi organ hati.

6.4. Pembuatan suspensi CMC-Na 0,5%. Larutan CMC-Na 0,5% adalah 500 mg serbuk CMC dalam 100 ml aquades panas, yang dilarutkan sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga homogen. Larutan ini merupakan control negatif dan *suspending agent*.

6.5. Rancangan Penelitian.



Gambar 3. Uji toksisitas subkronik

7. Penetapan Aktivitas ALT dan AST

Pengujian ALT dan AST pada hewan uji dilakukan secara fotometrik dengan menggunakan cuvet 1cm pada temperatur 37⁰C.

Tabel 1. Penetapan kadar ALT dan AST

Prosedur	Pada suhu 37 ⁰ C
Sampel / serum	100 µl
Reagen kerja	1000 µl
Dicampur lalu didiamkan selam 1 menit kemudian dibaca pada kelombang 340 spektrofotometer nm	

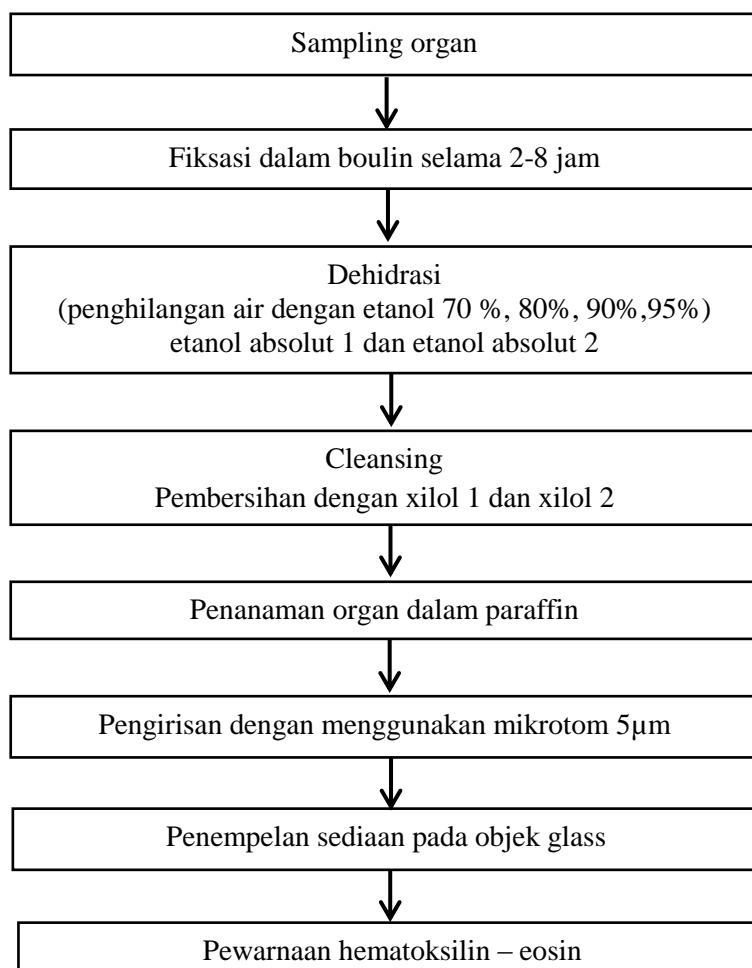
Aktivitas ALT dan AST dihitung dalam Unit/Liter dan dihitung pada masing – masing kelompok tikus. Semakin tinggi kadar ALT dan AST pada hewan uji makan akan semakin tinggi kerusakan hati yang terjadi. Pengujian aktivitas ALT dan AST pada hewan uji dilakukan kesimpulan secara fotometrik dengan metode kinetik GPT – ALAT (*Alanin Amino Tranferase*) dan GPT – ASAT (*Aspartat Amino Tranferase*).

8. Pembuatan Preparat Histopatologi.

Pada hari ke 28 untuk kelompok uji dan hari ke 42 untuk kelompok satelit, hewan uji dibedah kemudian diambil organ hatinya. Jaringan yang diambil difiksasi dengan *bouin* bertujuan agar preparat tidak rusak (posisinya bergeser, membusuk, atau rusak). Organ hati yang telah difiksasi dilarutkan dalam larutan etanol bertingkat, dengan kadar etanol 70 – 100 % guna menghilangkan kadar air pada organ tersebut (dehidrasi). Selanjutnya organ dipindahkan kedalam *xylem* untuk menghilang etanol (dealkoholisasi). Proses selanjutnya organ dimasukan ke dalam paraffin panas yang menginfiltrasi yang

berlangsung selama 12 – 16 jam setelah terjadi pengerasan, jaringan dipotong dengan menggunakan mikrotom dan ketebalan jaringan 3 – 5 mikrometer.

Perlakuan selanjutnya yaitu pengecatan lapisan yang diletakan diatas kaca objek untuk dilakukan pengecatan dengan pewarnaan *hematoxilin* dan *eosin* lalu dikeringkan. *Hematoxylin* akan memberikan warna biru pada nukleus dan *eosin* memberikan warna merah muda pada sitoplasma (Suntoro 1983) dan ditutup permukaan dengan kanada balsam. Pembuatan preparat histopatologi sel hati dilakukan oleh Laboratorium Histologi fakultas kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.



Gambar 4. Skema pembuatan preparat histologi hati

9. Analisa Data

Data yang diperoleh pada pengujian toksisitas subkronik adalah kadar ALT dan AST dan gambaran histopatologi organ hati. Kemudian diuji distribusi datanya dengan uji *Kolmogrov – Smirnov*, sedangkan uji kehomegenan variannya diuji dengan uji *Levene*. Apabila $P > 0,05$ maka terdistribusi normal dan homogen untuk tiap varian, dilanjutkan uji parametrik dengan uji *One Way Anova*. Apabila perbedaannya bermakna, dilanjutkan uji *Least Significant Difference (LSD)* dengan taraf kepercayaan 95%. Apabila hasil uji *Kolmogrov – Smirnov* $P < 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal dan dilakukan uji non parametrik dengan uji *Mann – Whithnay* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

I. Hasil Penelitian

A. Biji Buah Pinang

1. Identifikasi Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.)

Perlakuan identifikasi dilakukan untuk mendapatkan kebenaran tanaman sebagai bahan penelitian dengan cara pencocokan ciri dan literurnya. Identifikasi dilakukan di bagian laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Tujuan identifikasi ini adalah mencocokkan ciri morfologi dan mengetahui kebenaran biji buah pinang yang diambil, menghindari tercampurnya bahan dengan bahan lain, serta menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Hasil identifikasi tersebut dinyatakan bahwa tanaman yang diteliti adalah benar – benar tanaman biji buah pinang (*Areca catechu* L.). Hasil dapat dilihat dilampiran 1.

2. Pengambilan Bahan dan Pembuatan Serbuk Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah pinang (*Areca catechu* L.). Biji buah pinang yang dipilih adalah yang sudah kering dengan penjemuran dibawah sinar matahari langsung dengan warna coklat tua sebanyak 3,2 kg dari Desa Baumata Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur pada bulan Desember 2015.

Biji buah pinang yang diambil pada bulan Desember 2015 dibersihkan dari kotoran yang menempel kemudian digiling untuk mendapatkan masa serbuk biji buah pinang. Setelah itu Serbuk biji buah pinang diayak menggunakan ayakan no. 40 dan disimpan dalam wadah kering tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk pembuatan ekstrak.

2.1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah biji buah pinang. Hasil penimbangan berat basah buah pinang adalah 8,5 kg dan berat kering buah pinang adalah 3,2 kg dari data tersebut diperoleh persentase berat basah terhadap berat kering adalah 37,6 %, perhitungan persentase dapat dilihat di lampiran 9.

Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah biji buah pinang

Berat Basah (Kg)	Berat Kering (Kg)	Persentase (%)
8,5	3,2	37,6

2.2. Penetapan kadar air serbuk biji buah pinang. Perhitungan kadar air serbuk buah pinang 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.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk biji buah pinang

Serbuk Biji Buah Pinang (gram)	Volume Terbaca (ml)	Kadar Air (%)
20	1,7	8,5
20	1,9	9,5
20	1,7	8,5
Persentase rata – rata		8,83 ± 0,57

Hasil rata – rata kadar air dalam biji buah pinang adalah 8,83 %. Kadar air biji buah pinang tersebut memenuhi karena kurang dari 10 % karena kadar air yang melebihi atau diatas 10% dapat menyebabkan pembusukkan akibat tumbuhnya jamur dan bakteri dan juga dapat terjadi perubahan kimia zat terkandung sehingga menurunkan kualitas simplisia (Depkes 1985). Perhitungan kadar air pada lampiran 10.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Biji Buah Pinang

Proses pembuatan ekstrak etanol buah pinang dilakukan dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 70% sebagai pengekstraksi. Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan wadah berkaca gelap untuk menghindari sinar matahari langsung. Maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup sehingga etanol tidak menguap pada suhu kamar. Serbuk buah pinang yang sudah ditimbang 300 gram, kemudian diekstraksi menggunakan etanol 70% sebanyak 3000 ml, selama 5 hari dengan pengojokan minimal 3 kali sehari, kemudian disaring menggunakan kain flanel, lalu dipisahkan dengan menggunakan evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental biji buah pinang (*Areca catechu* L.). Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian organoleptis dengan tujuan untuk mengetahui sifat fisik ekstrak yaitu berbentuk kental dengan warna merah pekat dan berbau khas. Kemudian ekstrak ditimbang untuk menghitung persentase rendemen ekstrak biji buah pinang.

Tabel 4. Hasil pembuatan ekstrak biji buah pinang

Serbuk (gram)	Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
300	102,43	34,14 %

Ekstrak biji buah pinang yang diperoleh dari 300 gram serbuk buah pinang adalah 102,43 gram dengan rendemen 34,14 %. Hasil perhitungan rendemen pembuatan ekstrak etanol biji buah pinang dapat pada lampiran 11.

4. Identifikasi pemeriksaan organoleptis ekstrak

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh adalah berupa ekstrak kental, berwarna coklat kehitaman yang memiliki aroma khas pinang, memiliki rasa pahit dan sepat.

Tabel 5. Identifikasi organoleptis

Jenis pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Coklat kehitaman
Bau	Khas pinang
Rasa	Pahit, sepat

5. Identifikasi kandungan kimia

Hasil analisis kandungan senyawa ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu* L.) secara kualitatif berdasarkan pengamatan dan pustaka. Gambar disajikan dilampiran 8.

Tabel 6. Hasil uji identifikasi senyawa kimia ekstrak biji buah pinang

Senyawa	Identifikasi ekstrak			Pustaka
	Reagen	Hasil	Keterangan	
Alkaloid	Dragendrof	Endapan coklat kehitaman	+	Reagendrof positif endapan coklat kehitaman
	Mayer	Endapan putih	+	Reagen mayer positif endapan putih kekuningan
Flavonoid	Amil alkohol	Warna jingga	+	Merah/kuning/jingga pada amil alkohol (Robinson 1995).
Tanin	FeCl ₃	Hijau tua	+	Hijau violet/biru tua (depkes 1995).

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu* L.) bahwa ekstrak biji pinang tersebut mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, dan tanin.

6. Hasil Pengamatan Berat Badan Hewan Uji

Selama penelitian dilakukan pengamatan pada berat badan hewan uji yaitu setiap hari sampai pada hari ke 28 ketika hewan uji dikorbankan. Ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perubahan berat badan hewan uji antara sebelum perlakuan dan sesudah pemberian ekstrak biji buah pinang. Pengamatan berat badan hewan uji dilakukan dari hari ke – 0 sampai hari ke – 28 untuk kelompok perlakuan, dilanjutkan sampai hari ke 42 untuk kelompok satelit dengan cara penimbangan. Hasil penimbangan berat badan dapat dilihat pada lampiran 18.

Pengamatan berat badan hewan uji dilakukan setiap hari dari hari ke 0 sampai hari ke 28 untuk kelompok dosis uji Data berat badan tersebut dilanjutkan untuk dianalisis secara statistik dengan program SSPS 17. Hasil rata – rata (*Mean*) perhitungan statistik.

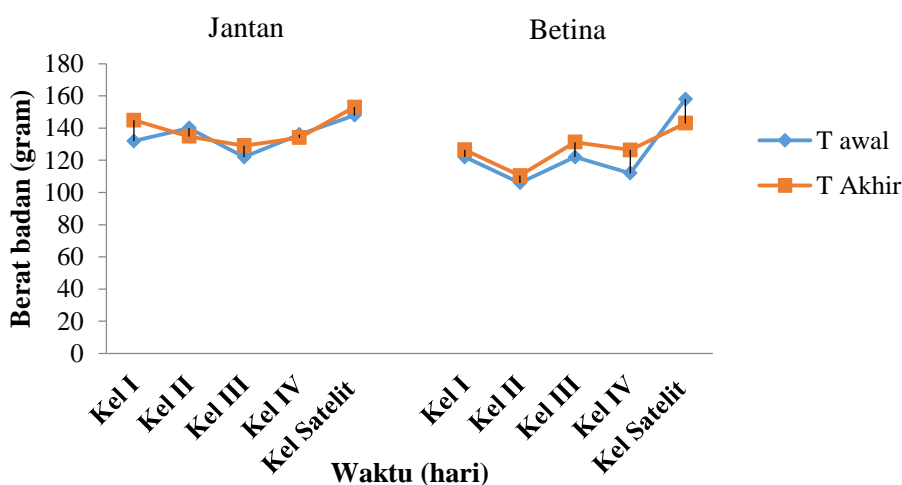
Tabel 7. Analisis statistik rata – rata berat badan hewan uji

Jenis Kelamin	Waktu	Rata – Rata Berat Badan (gram)									
		Kel I		Kel II		Kel III		Kel IV		Kel Satelit	
Jantan	T Awal	132	±8,37	140	±12,25	122	±8,37	136	±11,40	148	±12,18
	T Akhir	144,89	±6,53	134,85	±23,72	129,04	±9,28	134,02	±22,42	153	±7,75
Betina	T Awal	122	±19,29	106	±5,58	122	±8,37	112	±13,04	158	±13,07
	T Akhir	126,53	±17,01	110,53	±5,29	131,24	±7,08	126,36	±10,58	143	±6,96

Keterangan

- Kel I : Na CMC 0,5%
 Kel II : Dosis I : Ekstrak etanol biji buah pinang 34,2 mg/kg BB
 Kel III : Dosis II : Ekstrak etanol biji buah pinang 1500 mg/kg BB
 Kel IV : Dosis III : Ekstrak etanol biji buah pinang 2000 mg/kg BB
 Kel satelit : Dosis tertinggi : Ekstrak etanol biji buah pinang 2000 mg/kg BB

Grafik Rata - Rata Berat Badan Hewan Uji



Gambar 5. Rata – rata berat badan hewan uji

Grafik diatas adalah hasil rata – rata penimbangan hewan uji waktu awal (T Awal) artinya penimbangan sebelum dilakukan pemberian ekstrak, dan waktu akhir (T akhir) artinya sampai hari ke 28 yang merupakan batas uji toksisitas subkronik singkat, sehingga dalam pengujian dapat diketahui pengaruh pemberian ekstrak terhadap berat badan hewan uji. Pada minggu pertama diketahui adanya kenaikan berat badan untuk semua perlakuan. Pada minggu kedua hewan uji tidak mengalami kenaikan dan penurunan berat badan yang dikarenakan adanya pengaruh adaptasi dan kondisi biologis. Tetapi pada minggu ketiga dan keempat terjadi peningkatan berat badan kembali secara normal.

Hasil analisis secara statistik dilakukan untuk perhitungan data penimbangan berat badan. Data yang dikumpulkan hasilnya terdistribusi

normal dengan menggunakan *Kolmogorov – Smirnov*, analisis dilanjutkan dengan menggunakan *Anova* dan diuji varian menggunakan *One Way Anova*. Hasil signifikansi adalah $p > 0,05$ yang artinya tidak ada perbedaan antar kelompok perlakuan pada setiap kenaikan dosis pada minggu keempat. Data ini dapat dikatakan tidak memberikan perbedaan yang bermakna pada berat badan tikus. Hasil dapat dilihat pada lampiran 18.

7. Pengujian Toksisitas Subkronik

7.1. Hasil persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini tikus putih galur wistar sebanyak 60 ekor masing – masing 30 ekor jantan dan 30 ekor betina dan diadaptasi dalam kelompok kecil dengan jenis kelamin sama lalu diberikan tanda pengenal. Hewan uji diperoleh dari Universitas Setia Budi, Surakarta pada bulan Maret 2016. Sertifikat hewan uji dapat dilihat pada lampiran 2.

Hewan uji dikelompokkan sebanyak 10 ekor tiap kelompok masing masing 5 ekor jantan dan 5 ekor betina. Adapun kelompok diantaranya kelompok kontrol (Na CMC), kelompok ekstrak biji buah pinang dosis I, dosis II, dosis III, dan kelompok satelit yang terdiri dari kelompok dosis rendah dan dosis tinggi.

7.2. Hasil perhitungan dosis uji. Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah berdasarkan dosis terapi ekstrak etanol biji buah pinang yaitu 34,2 mg/kg BB tikus . Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah 34,2 mg/kg BB, 1500 mg/kg BB, 2000 mg/kg BB. Perhitungan dosis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 12.

B. Uji Biokimia Darah

1. Hasil Uji Kadar Alanine Transaminase (ALT)

Hasil pemeriksaan laboratorium untuk kadar ALT menunjukkan bahwa hasil kadar ALT sebelum pemberian (T awal) pada kelompok kontrol Na CMC 0,5%, kelompok dosis 34,2 mg/kg BB, kelompok dosis 1500 mg/kg BB, dan kelompok 2000 mg/kg BB adalah normal. Menurut Baron 1992, rentan normal kadar ALT pada tikus yaitu 19,3 – 68,9 U/L. Untuk melihat perbedaan *Mean* kadar ALT hewan uji maka dilakukan perhitungan kadar rata – rata dan standar deviasi karena membandingkan kadar sebelum dan sesudah perlakuan dan perbedaan kadar ALT pada tiap – tiap kelompok. Hasil pemeriksaan kadar dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 8. Hasil analisa rata – rata kadar ALT tikus galur wistar

Jenis Kelamin	Waktu	Rata – Rata Kadar ALT (U/L)									
		Kel I		Kel II		Kel III		Kel IV		Kel Satelit	
Jantan	T Awal	44,8	±7,26	48,8	±9,86	51,2	±7,08	44,2	±12,26	91,8	±12,58
	T Akhir	58,4	±8,73	68,8	±11,30	80	±11,83	92	±7,38	62,2	±14,75
Betina	T Awal	38	±6,60	38,4	±5,94	42,6	±3,58	41,8	±8,11	95,8	±12,47
	T Akhir	61,2	±6,42	67	±11,91	90	±21,53	103,6	±15,59	62,6	±8,96

Keterangan

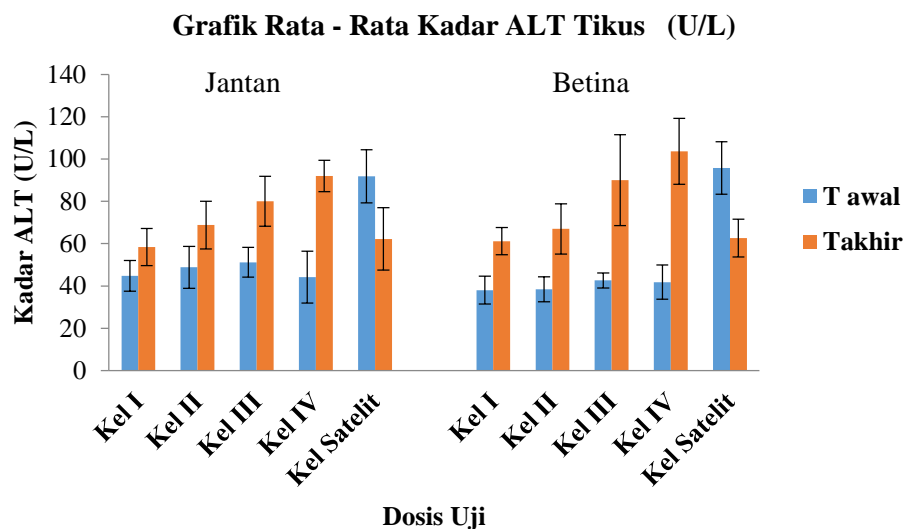
Kel I : Na CMC 0,5%

Kel II : Dosis I : Ekstrak etanol biji buah pinang 34,2 mg/kg BB

Kel III : Dosis II : Ekstrak etanol biji buah pinang 1500 mg/kg BB

Kel IV : Dosis III : Ekstrak etanol biji buah pinang 2000 mg/kg BB

Kel satelit : Dosis tertinggi : Ekstrak etanol biji buah pinang 2000 mg/kg BB



Gambar 6. Grafik rata – rata kadar ALT Tikus

Berdasarkan grafik rata – rata kadar ALT dapat diketahui terjadi peningkatan kadar ALT yang terindikasi toksik dan tidak toksik antara lain kelompok I (Na CMC 0,5%), kelompok II,III,IV (dosis 34,2 mg/kg BB, 1500 mg/kg BB dan dosis 2000 mg/kg BB) dan kelompok satelit (2000 mg/kg BB). Perlakuan uji kadar biokimia darah dilakukan pada tikus jantan dan betina. Pada kelompok Na CMC 0,5%, terjadi peningkatan tetapi ada pada rentan normal kadar ALT yaitu 19,3 – 68,9 U/L (Baron 1992), hal ini terjadi akibat penurunan aktifitas fisik tikus yang dipengaruhi lingkungan sekitar. Pada kelompok dosis 34,2 mg/kg BB pada kelompok jantan dan betina terjadi kenaikan kadar ALT yang terbilang normal sehingga pada dosis ini tidak terjadi efek toksik pada organ hati, tetapi peningkatan kadar ALT yang terjadi pada kelompok dosis 1500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB melebihi rentan normal sehingga terindikasi memberikan efek toksik pada organ hati.

Hasil berbeda pada data rata – rata kadar ALT satelit, grafik diatas menunjukkan rata – rata kadar ALT satelitnya mengalami penurunan menuju rentan normal secara signifikan. Kadar ALT hewan uji jantan dan betina pada pengukuran hari ke 42 adalah 61,6 U/L dan 64 U/L mengalami penurunan tetapi penurunan yang dialami masih berada pada rentan normal ALT yaitu 19,3 – 68,9 U/L (Baron 1992).

Dari hasil kadar ALT yang diperoleh dari penelitian selanjutnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan *One Way Anova*. Dari uji *One Way Anova* didapatkan hasil tetapi sebelumnya data tersebut di uji dengan *Kolmogorov – Smirnov* dengan hasil $>0,05$ untuk tiap – tiap kelompok perlakuan sehingga hasil disimpulkan terdistrusi normal dan dilanjutkan dengan analisa varian (ANOVA). Pada analisa varian didapatkan hasil dalam bentuk perbandingan tabel uji *Post Hoc (LSD)* untuk melihat hasil *Signifikan* yang terjadi antara kontrol dan dosis perlakuan. Hasil yang diperoleh bahwa T0 (T Awal) pada semua perlakuan untuk jenis kelamin jantan dan betina dan dosis perlakuan adalah $p>0,05$ sehingga disimpulkan kadar ALT pada T awal tidak ada perbedaan yang bermakna. Analisis menggunakan *LSD* dilanjutkan untuk T ke 28 (T akhir), terjadi perbedaan yang bermakna pada beberapa kelompok dosis antara lain, pada kelompok hewan uji jantan ada perbedaan yang bermakna pada dosis 1500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB dimana hasil *signifikan* – nya adalah $p<0,05$, sedangkan untuk kelompok hewan uji betina T ke 28 perbedaan yang bermakna hanya terjadi pada dosis 2000 mg/kg BB yang hasil

Signifikan – nya adalah $P < 0,05$. Keterkaitan dengan hal tersebut dikarekan oleh hormon seksual dapat menjadi sumber termodifikasinya respon toksik sehingga dapat diartikan tikus betina lebih peka terhadap ekstrak biji buah pinang dibanding tikus jantan. Untuk hasil analisis kadar ALT kelompok satelit $< 0,05$ sehingga disimpulkan kelompok satelit untuk perlakuan T42 memberikan beda makna sehingga dinyatakan bahwa T42 merupakan efek penyembuhan kembali dan aman terhadap organ hati.

Hasil analisis statistik tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji buah pinang pada kelompok dosis 34,2 mg/kg BB tidak memberikan efek toksik tetapi pada dosis 1500 mg/kg BB dan dosis 2000 mg/kg BB memberikan efek toksik sekaligus dalam pemberhentian pemberian ekstrak biji buah pinang terjadi penyembuhan pada organ hati tikus putih galur wistar yang terlihat pada hasil LSD T42 kelompok satelit.

2. Hasil Uji Kadar *Aspartate Transaminase* (AST)

Hasil pemeriksaan biokimia untuk kadar AST menunjukkan bahwa pemeriksaan sebelum pemberian pada kelompok Na CMC 0,5% dan kelompok dosis ekstrak biji buah pinang adalah normal. Menurut Mitruka 1981, rentan normal kadar AST pada tikus berkisar antara 67,4 – 141 U/L. Perhitungan kadar AST merujuk pada rentan normal dan kadar AST sebelum perlakuan untuk melihat perbedaan antara kelompok dosis ekstrak dan rentan normal, maka dilakukan perhitungan dengan menggunakan analisis secara statistik dengan jalan *One way Anova* dan dilanjutkan

perbandingan nilai *Signifikan* – nya pada uji *Post Hoc (LSD)*. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel 9. Hasil analisa rata – rata kadar AST tikus galur wistar

Jenis Kelamin	Waktu	Rata – Rata Kadar ALT (U/L)									
		Kel I		Kel II		Kel III		Kel IV		Kel Satelit	
Jantan	T Awal	117,4	±18,68	128,2	±8,32	131,4	±14,02	134,4	±10,53	193,4	±12,44
	T Akhir	122,4	±9,76	143,6	±7,29	194,8	±16,63	203,8	±43,81	148,2	±15,58
Betina	T Awal	115	±20	127,4	±6,77	115,4	±5,27	129,4	±18,47	204	±17,79
	T Akhir	122,4	±9,86	140,4	±6,12	203	±16,43	221	±26,22	159,4	±9,63

Keterangan

Kel I : Na CMC 0,5%

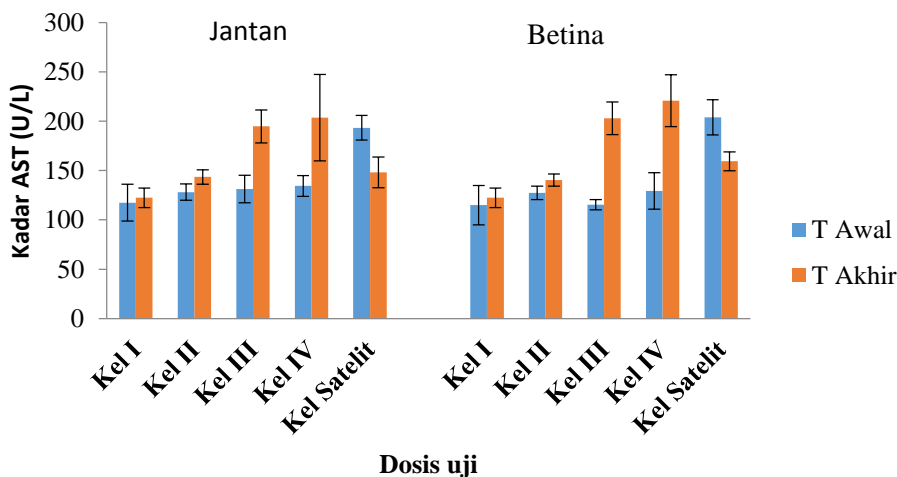
Kel II : Dosis I : Ekstrak etanol biji buah pinang 34,2 mg/kg BB

Kel III : Dosis II : Ekstrak etanol biji buah pinang 1500 mg/kg BB

Kel IV : Dosis III : Ekstrak etanol biji buah pinang 2000 mg/kg BB

Kel satelit : Dosis tertinggi : Ekstrak etanol biji buah pinang 2000 mg/kg BB

Grafik Rata - Rata Kadar AST Tikus (U/L)



Gambar 7. Grafik rata – rata kadar AST Tikus

Pada grafik rata – rata AST menunjukkan adanya kenaikan kadar AST pada tiap – tiap kelompok. Pada kelompok dosis 34,2 mg/kg BB terlihat kenaikan kadar AST yang masih pada rentan normal kadar AST atau tidak jauh berbeda dengan kadar AST kelompok Na CMC 0,5%. Untuk dosis

1500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB kenaikan kadar AST mengalami kenaikan yang sangat signifikan yang jauh dari rentan normal dan kelompok Na CMC 0,5%. Kenaikan kadar AST dikarenakan AST merupakan salah satu enzim yang lebih banyak terdapat di otot jantung, otot bergaris, dan sebagian kecil di hati, sehingga adanya aktivitas AST belum dapat dipastikan bahwa penyebab utama karena kerusakan hati, infark miocard, kerusakan otot karena latihan fisik yang terlalu berat mampu mempengaruhi kenaikan kadar AST. Adapun hal lain yang menjadi faktor penyebab yang dapat menimbulkan kenaikan kadar AST yaitu hemolisisnya darah akibat lama penyimpanan, suhu dan kelembaban tempat pengambilan darah, sehingga AST menjadi tidak spesifik untuk parameter kerusakan hati. Berbeda dengan hasil kadar AST satelit antara tikus jantan dan betina (148,2 U/L dan 159,4 U/L) mengalami penurunan yang berbeda atau sama dengan rentan normal tetapi dapat disimpulkan bahwa pemberhentian ekstrak biji buah pinang terjadi perbedaan makna, yang diartikan terjadi perbaikan sel yang pada organ hati. Penurunan kadar AST pada hari ke 42 diakibatkan karena kelompok satelit tidak mendapatkan perlakuan dari ekstrak etanol biji buah pinang dan faktor intrinsik dari organ hati yang mampu memperbaiki kerusakan dan meregenerasi sel secara signifikan serta faktor lain yaitu kondisi lingkungan dan kondisi fisiologi tikus.

Dari hasil kadar AST yang diperoleh dari penelitian kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan *One – Way Anova* dan *Uji One – Sample Kolmogorov – Smirnov*. Dari hasil *Uji One – Sample*

Klomagrov – Smirnov didapat hasil $>0,05$ untuk masing – masing kelompok. Hasil $>0,05$ dinyatakan mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilanjutkan pada analisa varian (ANOVA). Pada hasil *Anova* didapatkan hasil dalam bentuk analisa *Post Hoc (LSD)* yang lebih sensitif untuk membandingkan kadar AST dosis perlakuan dengan kelompok dosis kontrol. Tabel *LSD* untuk waktu T0 (T Awal) pada masing – masing kelompok $>0,05$ maka dinyatakan Normal, dilanjutkann pada T ke 28 pada kelompok I dan II hasilnya $> 0,05$ sehingga disimpulkan dosis II (34,2 mg/kg BB) tidak memberikan efek toksik dan aman terhadap organ hati, tetapi pada dosis 1500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB hasil *Signifikan* – nya $<0,05$ sehingga disimpulkan ada perbedaan makna yang mengakibatkan efek toksik pada organ hati. Analisis selanjutnya hasil kelompok satelit digunakan dari data T 42, hasilnya adalah $<0,05$ sehingga disimpulkan bahwa kelompok satelit memberikan beda makna yang merupakan efek penyembuhan kembali dan aman terhadap organ hati.

C. Histopatologi Organ.

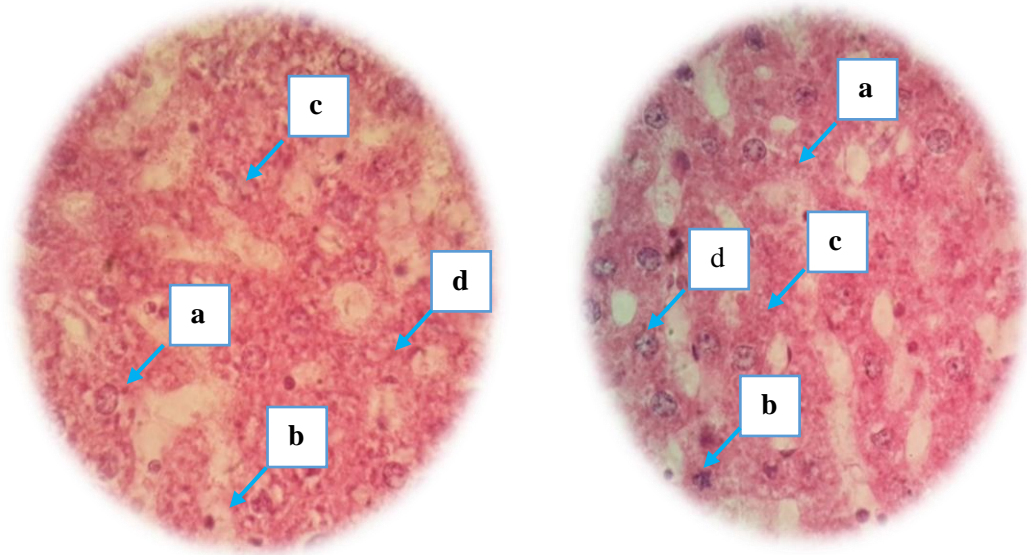
Setelah hewan uji diberikan ekstrak biji buah pinang sesuai dengan dosis kelompok uji dan satelit pada uji biokimia darah selama waktu yang ditentukan untuk perlakuan tiap hari, kemudian pada akhir hewan uji dibedah kemudian dilakukan pengamatan secara mikroskopik dengan uji histopatologi pada organ hati guna melihat seberapa besar sel normal dan sel yang

mengalami nekrosis pada organ hati tikus. Surat keterangan dan pembuatan preparat dan pembacaan histopatologi dapat dilihat dilampiran 3.

Nekrosis adalah kematian sel hepatosit. Nekrosis dapat bersifat lokal (sentral, pertengahan, perifer) atau masif. Nekrosis hati merupakan manifestasi toksik yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis karena hati mempunyai sifat yang mampu meregenerasi sel atau memperbaiki sel yang rusak dalam kurun waktu tertentu dengan syarat tidak terpapar senyawa toksin atau racun. Ada beberapa proses yang terjadi sebelum terjadi kerusakan sel hati diantaranya perubahan morfologik awal berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma, dan disagregasi polisom (Lu 1995)

1. Hasil pengamatan histopatologi organ hati

a. Gambar histopatologi kelompok I



Hati tikus jantan

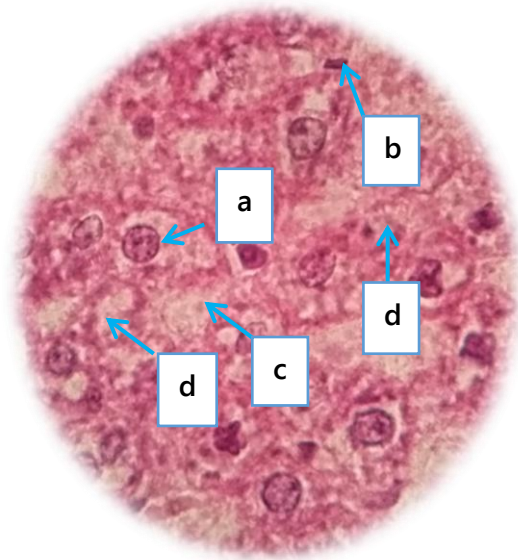
Hati tikus betina

Keterangan

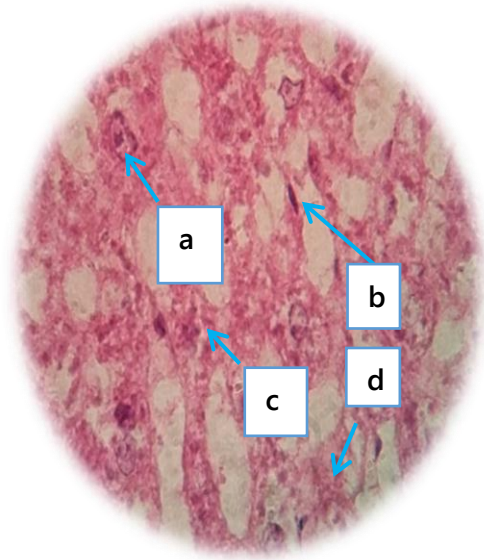
a : Inti sel normal
b : inti sel piknosis

c : inti sel karioreksis
d : inti sel kariolisis

b. Gambar histopatologi kelompok II

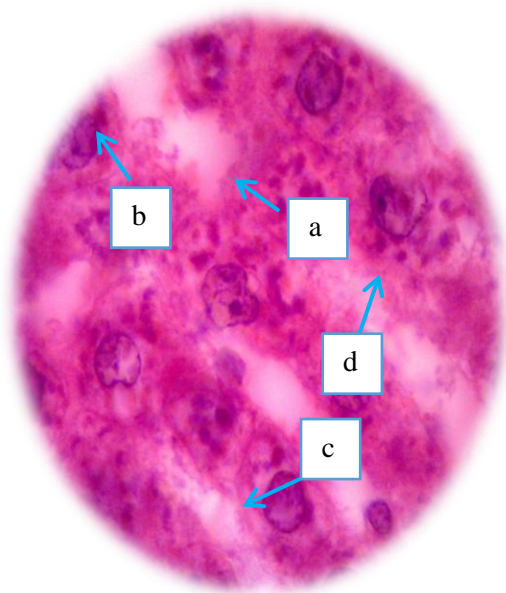


Hati tikus jantan

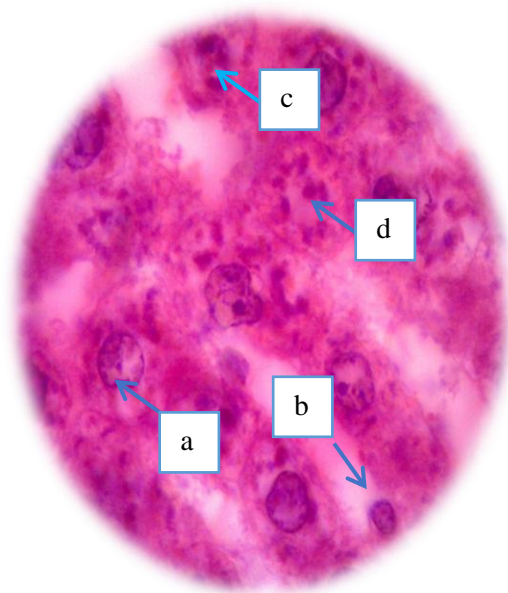


Hati tikus betina

c. Gambar histopatologi kelompok III

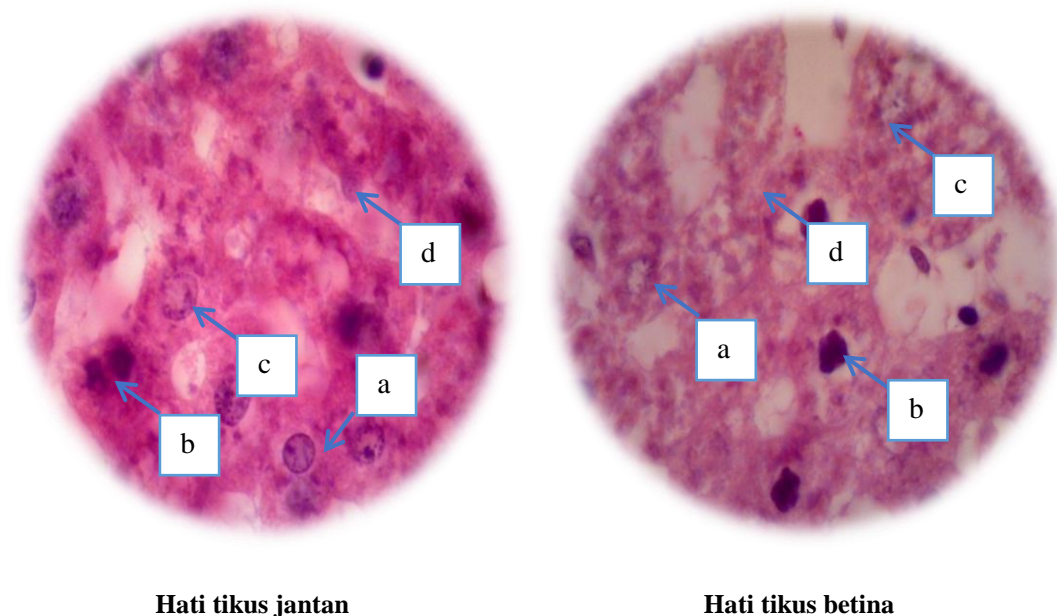


Hati tikus jantan



Hati tikus betina

d. Gambar histopatologi kelompok IV



e. Gambaran histopatologi kelompok satelit

Hati tikus jantan

Hati tikus betina

Gambar 9. Zona sentrabularis hepar tikus putih dengan perbesaran 1000X. Tampak pada gambar : (a) Inti sel normal, (b) inti sel yang mengalami piknosis, (c) inti sel yang mengalami karioreksis, (d) inti sel yang mengalami kariolisis.

Tabel 11. Hasil pengamatan mikroskop histopatologi organ hati

Kelompok perlakuan	Jumlah Sampel	Total Sel dalam 4 Lapang Pandang		Sel Normal		Persentase sel Normal (%)		Persentase Nekrosis (%)	
		Jantan	Betina	Jantan	Betina	Jantan	Betina	Jantan	Betina
		Kel I	2	100	100	87	82	87	82
Ke II	2	100	100	76	71	76	71	24	29
Kel III	2	100	100	56	49	56	49	44	51
Kel IV	2	100	100	40	42	40	42	60	58
Kel satelit	2	100	100	73	71	73	71	27	29

Keterangan

Kel I : Na CMC 0,5%

Kel II : Dosis I : Ekstrak etanol biji buah pinang 34,2 mg/kg BB

Kel III : Dosis II : Ekstrak etanol biji buah pinang 1500 mg/kg BB

Kel IV : Dosis III : Ekstrak etanol biji buah pinang 2000 mg/kg BB

Kel satelit : Dosis tertinggi : Ekstrak etanol biji buah pinang 2000 mg/kg BB

Grafik persentase sel normal dan sel nekrosis histopatologi organ hati

Gambar 10. Grafik persentase sel normal dan sel nekrosis histopatologi organ hati

Hasil persentasi dapat diketahui bahwa pada semua kelompok hewan uji mengalami kerusakan berupa piknotik, karioreksis dan kariolisis. Persentasi sel yang mengalami kerusakan dihitung berdasarkan jumlah 100 sel yang diamati dari masing preparat. Pada pemeriksaan histopatologi kelompok perlakuan diambil 2 hewan uji 1 jantan dan 1 betina dari masing – masing kelompok. Data terlihat dari perlakuan ekstrak biji buah pinang persentase nekrosis lebih tinggi dari kelompok I (Na CMC 0,5 %). Hal ini menunjukkan ada perbedaan jumlah sel hati normal dengan jumlah sel hati yang mengalami nekrosis (piknotis, karioreksis dan kariolisis), pada hewan uji dengan dosis 34,2 mg/kg BB persentasi sel nekrosis lebih kecil dibanding sel normal, tetapi pada dosis 1500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB persentasi sel hati yang mengalami nekrosis lebih tinggi dibandingkan dengan sel normal. Pada hasil kelompok satelit mengalami penurunan yang memperlihatkan banyaknya sel normal dibanding dengan sel yang mengalami nekrosis, hal tersebut akibat pemberhentian pemberian ekstrak biji pinang, organ hati dapat memperbaiki dan mengeliminasi zat – zat beracun sehingga berlangsung proses regenerasi sel yang megambarkan banyaknya sel normal. Faktor lain seperti kondisi lingkungan, kelembaban, perlakuan dan pemeliharaan pada hewan uji secara benar dan teratur, membantu tubuh hewan uji merespon sistem pertahanan diri, sehingga hewan uji menjadi lebih tenang dan lebih bersemangat beraktifitas dan

meningkatkan napsu makan sehingga mempengaruhi banyaknya sel normal.

Hasil ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji buah pinang dosis kelompok III dan kelompok IV memiliki nilai nekrosis yang tinggi yang dapat bersifat toksik. Jumlah sel normal pada masing – masing kelompok memiliki persentase yang berbeda, tetapi persentasi kelompok II sel normal tidak berbeda dengan kelompok I (Na CMC 0,5%), demikian pada kelompok satelit disimpulkan terjadi peningkatan jumlah sel normal dengan dibiarkan tanpa perlakuan ekstrak biji buah pinang dalam kurun waktu 2 minggu (14 hari) setelah hari ke 28 yang digunakan sebagai tetapan waktu untuk pemeriksaan biokimia sekaligus pengorbanan hewan untuk identifikasi histopatologi organ hati.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) secara oral selama 28 hari pada dosis 34,2 mg/kg BB tidak memberikan toksik pada organ hati tikus putih galur wistar yang dilihat dari hasil pemeriksaan kadar ALT dan AST serta pengamatan pada parameter histopatologi.
2. Pemberian ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu* L.) secara oral selama 28 hari pada dosis 1500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB memberikan efek toksik organ hati tikus putih galur wistar yang dilihat dari hasil pemeriksaan kadar ALT dan AST serta pengamatan pada parameter histopatologi.
3. Pemberhentian ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) untuk waktu penambahan 14 hari baik pada dosis rendah atau dosis tinggi dapat memberikan efek pemulihan kembali sel organ hati tikus putih galur wistar yang diamati dari parameter histopatologi.

B. SARAN

Berdasarkan analisa data dan kesimpulan penulis memberikan saran sebagai berikut :

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang waktu pemberian ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) pada kisaran dosis terapi dan perlakuan waktu yang lebih lama (90 hari), untuk melihat range kisaran dosis yang aman dan memberikan efek terapi maximal untuk mengetahui berdasarkan nilai ALT dan AST serta gambaran histopatologi mengalami kerusakan sel yang tidak terlampau parah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed. Ke-4. Farida I, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. Hlm 605-608.
- Arief A. 2012. *Makalah Morfologi Fisiologi Anatomi Tumbuhan Pinang (Areca catechu)*. Gowa, Universitas Islam Negeri Makassar.
- Baron D.N. 1992. *Kapita Selekta Patologi Klinik*. Ed ke-4. Andrianto P dan Gunawan J; penerjemah. Terjemahan dari: *A Short Textbook of Chemical Pathology*, EGC, pp 113-231. Jakarta.
- [BPOM]. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor 7 tentang Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo*. Jakarta. Hlm 28-37.
- Corwin J. Elisabeth. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta : EGC
- Departemen Kesehatan RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hlm 10-13, 53-54.
- Departemen Kesehatan RI. 1989. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 1989. *Materi Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2012. *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi II, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Donatus IA. 2005. *Toksikologi Dasar, edisi 11, laboratorium farmakologi dan toksikologi, fakultas farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta*. Hlm 86-89.
- Meiyanto E, sry H, Ratna AS, fitria R. 2008. *Ekstrak Etanol Biji Buah Pinang (Areca catechu L.) Mampu Mampu Menghambat Proliferasi dan Memicu Apoptosis Sel MCF – 7 MFI*. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada Jogjakarta. 19(1), 12 – 19, 2008.
- Fine AM. 2000. *Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications*. *Altern Med Rev*. 5(2):144-151.
- George W. Stapler dan Robert, G. Bevacava. 2006. *Areca Catechu (Betel Nut Pal)*. [cited 2009 october 13]. Available from: www.spesies Profile for Pacific Island Agroforestry. Traditionaltree.org.

- Harbone JB. 1987. *Metode Penuntun Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjema. Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*. Hlm 60 – 69.
- Handayani S, Meiyanto E, Jenie R, Susidarti R, 2012. *Toksisitas Akut Ekstrak Biji Buah Pinang (Areca catechu L.) terhadap Tikus Jantan Galur Sprague Dawley*. JKTI. ISSN 0853 – 2788.
- Harmita dan Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi Ketiga. Jakarta. Buku Kedokteran EGC.
- Herlina W. *et al.*, 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Yogyakarta: Medperss (anggota IKAPI). Hlm 271-276.
- Kepala Badan Pengawasan Obat Dan Makanan Republik Indonesia. 2014. *Pedoman uji toksisitas non klinik secara invivo*, BPOM RI 1 – 38.
- Lesson CR. & S.L. Thomas. 1998. *Buku Ajar Histologi*. Edisi V. Terjemahan dari *Text Book of Histology*, oleh J.Tamboyang, Sugito WV. Penerbit, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Loomis SL. 1978. Toksikologi Dasar, terjemahan oleh Donatus I.A., Edisi 111, IKIP Semarang press, Semarang.
- Lu C Frank. 1995. Toksikologi Dasar edisi 11, UI-Press-Jakarta.
- Mitruka M. 1987. *Clinical Biochemical and Hemathological Reference Values In Normal Experimental Animal and Normal Humans*. Secon Edition. Masson Publissin. USA
- Mutiatikum D, Wido wati L, Isnawati A. 1999. *Uji Toksisitas dan Uji Teratogenis Infus Biji Pinang (Areca catechu L.) fase Implantasi Pada Tikus Jantan Galur Wistar*. Bul. Penelit. Kesehat.26 (2&3)1998/1999.
- Meiyanto E, Ratna AS, Sri H, Fitria R. 2009. *Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (Areca catechu L.) Mampu Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MCF-7*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 19(1), 12 – 19, 2008
- Noer S. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Penerbit Gaya Baru.
- Nonaka G. 1989, Isolation and structure elucidation of tannins, *Pure & Appl. Chem*, 61 (3): 357-360.

- Panjaitan V. 2011. *Persepsi Siswa Terhadap Pelaksanaan Pengajaran Remedial IPA Terpadu Dan Hubungannya Dengan Hasil Belajar Siswa Smpn 1 Air Joman Kabupaten Asahan T.P. 2010/2011*, Skripsi, FMIPA, Unimed Medan.
- Price, S.A., Wilson, I.M., 2005. *Phatophysiologi: Clinical Concepts Of Disease Processes*. Brahm U Pendit, Penerjemah. Jakarta : penerbit buku kedokteran EGC.
- Rahayu D. 2007. *Piper betle*. http://toiusd.multiply.com/journal/item/99/Piper_betle 068114092.
- Ridzuan NB. 2009. *Kanker Rongga Mulut di Sebabkan oleh Kebiasaan Menyirih* [Skripsi]. Medan : Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatra Utara.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari : *the organic constituen of higher plan*. Hlm 157.
- Sutarjadi. 1992. *Tumbuhan Indonesia Sebagai Sumber Obat Komestika dan Jamu* [Pendahuluan]. Di dalam: *Seminar dan Loka Karya Nasional Etnobotani. Surabaya. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Denpasar. Universitas Udayana*. Hlm 1 – 4.
- Sutrisno J. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pinang (Areca catechu L.) terhadap Staphylococcus aureus*. [skripsi]. Pontianak. Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjung Pura. Hlm. 8 – 12.
- Sastropradjo. 1990. *Tumbuhan Obat*. Lembaga Biologi Nasional LIPI Jakarta. Balai Pustaka Jakarta.
- Soeksmanto, M.A. Subroto, H. Wijaya, Pertemuan Simanjuntak. 2010. *Anticancer Activicy Test for Exstrack Of Sarang Semut Plant (Myrmecodya Pendens)to HeLa and HMC – B2 cells*. Pakistan journal Of Biological Science 13 (3): 148 – 151.
- Sugiyanto. 1995. *Penuntun Praktikum Farmakologi Edisi IV*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Suntoro , S. Handari. 1983. *Metode Pewarnaan (histologi dan histokimia)*. Bhratara Karya Aksara. Jakarta.
- Sherwood, Lauralee. 2011. *Fisiologi Manusia: dari sel ke Sistem* Ed. 6. EGC. Jakarta

Syamsuhidayat S.S dan Hutapea, J.R., 1991, *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia*, Jilid I, Departemen Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.

Taty S. 2009. Analisis kadar tannin ekstrak air dan ekstrak etanol pada biji pinang (*Areca catechu* L.) [*Jurnal Chemica* vol.10]. FMIPA UNM.

Underwood E.C.J. 1999, *Buku kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi



**DEPARTEMEN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
Telp. , 0274.649.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN

No.: BF/33 / Ident/II/2016

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Leonard A.Sayang MOI
NIM. 17134032A
Fakultas Farmasi USB
Di Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi sampel biji yang Saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
33	<i>Areca catechu</i> L	Arecaceae


Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 29 Februari 2016
Ketua



Dr. rer.nat. Triana Hertiani, M.Si., Apt.
NIP. 197306091998032003

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

 KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS KEDOKTERAN
LABORATORIUM HISTOLOGI

SURAT KETERANGAN
011/ST./Hist./2016


Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta menerangkan bahwa mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : Leonard Ardiyanto Sayang Moi
Nim : 17134032A
Fakultas : Farmasi
Universitas : Setia Budi
Judul Skripsi : Uji toksisitas subkronik singkat ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca Catecu L*) terhadap organ hati tikus putih galur wistar.

Telah melaksanakan kegiatan pembuatan dan pembacaan preparat di Bagian Laboratorium Histologi FK UNS.

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 29 April 2016
Kepala Bagian Histologi FK UNS


Muthmainah, dr., M.Kes.
NIP. 19660702 199802 2 001

Lampiran 3. Surat Keterangan Histopatologi

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
√ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Leonard A.S Moi

Nim : 17134032 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar

Umur : 2-3 bulan

Jenis kelamin : Jantan dan Betina

Jumlah : 60 ekor

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 16 Mei 2016

Hormat kami



Sigit Pramono
"ABIMANYU FARM"

Lampiran 4. Gambar Bahan – Bahan



Serbuk Biji Buah Pinang



Serbuk Na CMC

Lampiran 5. Gambar Alat – Alat yang digunakan



Alat Pengilingan



Botol Maserasi



Alat Sentrefugesi



Alat Evaporator

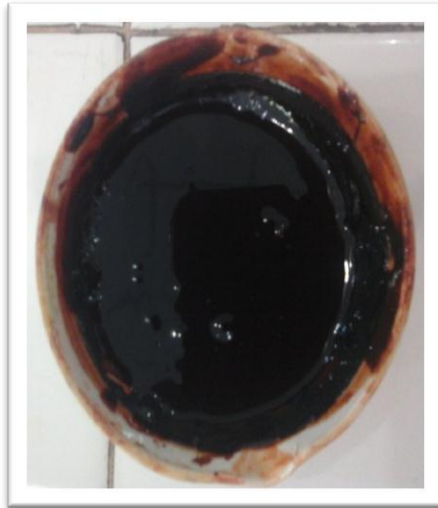


Alat Spektrofotometer



Alat Inkubator

Lampiran 6. Gambar Ekstrak dan Larutan Stok

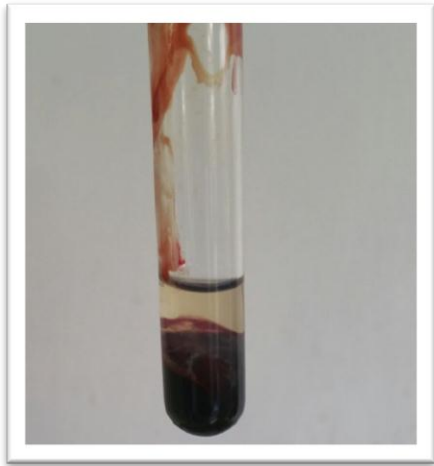


Ekstrak Kental Biji Buah Pinang



Stok

Lampiran 7. Gambar Pengambilan darah, Reagen dan Serum**Pengambilan darah****Kumpulan Darah****Reagen ALT****Reagen AST**



Sampel dan Serum



Serum

Lampiran 8 . Gambar identifikasi Ekstrak



Alkaloid
Ekstrak + dragendrof



Alkaloid
Ekstrak +mayer



**Flavonoid
Ekstrak**



**Tanin
Ekstrak**

**Lampiran 9. Hasil Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Biji
Buah Pinang**

No	Berat basah (g)	Berat kering (g)	Persentase (%)
1.	8,5	3,2	37,6

$$\text{Bobot kering serbuk biji buah pinang} = \frac{3,2 \text{ (gram)}}{8,5 \text{ (gram)}} \times 100\% = 37,6 \%$$

Jadi persentase berat kering terhadap berat basah biji buah pinang adalah 37,6 %.

Lampiran 10. Perhitungan kadar air serbuk biji buah pinang

Serbuk Buah Pinang (gram)	Volume Terbaca (ml)	Kadar Air (%)
20	1,7	8,5
20	1,9	9,5
20	1,7	8,5
Persentase rata – rata		8,83 ± 0,57

Persentase rata – rata penetapan kadar air serbuk buah pinang :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume terbaca (ml)}}{\text{Berat serbuk (Gram)}} \times 100 \%$$

$$\text{Kadar air 1} = \frac{1,7}{20} \times 100 \% = 8,5$$

$$\text{Kadar air 2} = \frac{1,9}{20} \times 100 \% = 9,5$$

$$\text{Kadar air 3} = \frac{1,7}{20} \times 100 \% = 8,5$$

$$\text{Persentase rata – rata} = \frac{1,7 + 1,9 + 1,7}{3} = 8,83 \%$$

Jadi kadar Air serbuk biji buah pinang adalah 8,83%

Lampiran 11. Perhitungan Pembuatan Ekstrak Etanol Serbuk Biji Buah

Pinang

Serbuk (gram)	Wadah kosong (gram)	Wadah + ekstrak (gram)	Ekstrak (gram)	Rendemen (gram)
300	172,83	275,26	102,43	34,14 % b/b

Perhitungan pembuatan serbuk ekstrak biji buah pinang menggunakan rumus :

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak (gram)}}{\text{Berat s gerbuk (gram)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{102,43 \text{ g}}{300 \text{ g}} \times 100 \% = 34,14 \% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. Perhitungan Dosis Ekstrak Biji Buah Pinang

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

Perhitungan dosis ekstrak etanol biji buah pinang

$$1. \text{ Dosis } 34,2 \text{ mg/kg BB} = 34,2 \text{ mg/kg BB}$$

$$\text{Larutan stok } 0,5 \% = 0,5 \text{ g/100 ml} = 500 \text{ mg/100 ml}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{6,84 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \text{ ml} = 1,3 \text{ ml}$$

$$2. \text{ Dosis } 300 \text{ mg/200g BB} = 1500 \text{ mg/kg BB}$$

$$\text{Larutan stok } 10 \% = 10 \text{ g/100 ml} = 10.000 \text{ mg/100 ml}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{300 \text{ g}}{10000 \text{ g}} \times 100 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$$

$$3. \text{ Dosis } 2000 \text{ mg/kg BB} = 400 \text{ mg/200 g BB}$$

$$\text{Larutan stok } 16 \% = 16 \text{ g/100 ml} = 16.000 \text{ mg/100 ml}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{400 \text{ g}}{16.000 \text{ g}} \times 100 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

Lampiran 13. 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/100ml
 = 5 mg/1 ml
- ✓ Larutan stok yang dibuat adalah 200 ml
 = Stok Na CMC 0,5 % = $\frac{200 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 500 \text{ mg}$
 = $\frac{1000 \text{ mg}}{200 \text{ ml aquadest}}$
 = 1 g/200 ml aquadest.

Kelompok Dosis pemberian	Berat badan (gram)	Perhitungan dosis	Volume pemberian (ml)
Na CMC 0,5%	150	$\frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$	2,2
	140	$\frac{140 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$	2,1
	130	$\frac{130 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml} = 1,9 \text{ ml}$	1,9
	120	$\frac{120 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml}$	1,8
	110	$\frac{110 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$	1,6
	100	$\frac{100 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$	1,5
	160	$\frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml} = 2,4 \text{ ml}$	2,4
	200	$\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 3 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$	3

Lampiran 14. Perhitungan Dosis Pemberian Ekstrak Biji Buah Pinang

Kelompok Dosis pemberian	Berat badan (gram)	Perhitungan dosis	Volume pemberian (ml)
II 34,2 mg/kg BB	150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 1,3\text{ ml} = 0,9\text{ ml}$	0,9
	140	$\frac{140\text{ g}}{200\text{ g}} \times 1,3\text{ ml} = 0,9\text{ ml}$	0,9
	130	$\frac{130\text{ g}}{200\text{ g}} \times 1,3\text{ ml} = 0,8\text{ ml}$	0,8
	120	$\frac{120\text{ g}}{200\text{ g}} \times 1,3\text{ ml} = 0,7\text{ ml}$	0,7
	110	$\frac{110\text{ g}}{200\text{ g}} \times 1,3\text{ ml} = 0,7\text{ ml}$	0,7
	100	$\frac{100\text{ g}}{200\text{ g}} \times 1,3\text{ ml} = 0,7\text{ ml}$	0,7
	160	$\frac{160\text{ g}}{200\text{ g}} \times 1,3\text{ ml} = 1,0\text{ ml}$	1,0
	200	$\frac{200\text{ g}}{200\text{ g}} \times 1,3\text{ ml} = 1,3\text{ ml}$	1,3
III 1500mg/kg BB	150	$\frac{150\text{ g}}{200\text{ g}} \times 3\text{ ml} = 2,2\text{ ml}$	2,2
	140	$\frac{140\text{ g}}{200\text{ g}} \times 3\text{ ml} = 2,1\text{ ml}$	2,1
	130	$\frac{130\text{ g}}{200\text{ g}} \times 3\text{ ml} = 1,9\text{ ml}$	1,9
	120	$\frac{120\text{ g}}{200\text{ g}} \times 3\text{ ml} = 1,8\text{ ml}$	1,8
	110	$\frac{110\text{ g}}{200\text{ g}} \times 3\text{ ml} = 1,6\text{ ml}$	1,6
	100	$\frac{100\text{ g}}{200\text{ g}} \times 3\text{ ml} = 1,5\text{ ml}$	1,5
	160	$\frac{160\text{ g}}{200\text{ g}} \times 3\text{ ml} = 2,4\text{ ml}$	2,4
200	$\frac{200\text{ g}}{200\text{ g}} \times 3\text{ ml} = 3\text{ ml}$	3	

IV 2000 mg/kg BB	150	$\frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,5 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml}$	1,8
	140	$\frac{140 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,5 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$	1,7
	130	$\frac{130 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,5 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$	1,6
	120	$\frac{120 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,5 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$	1,5
	110	$\frac{110 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,5 \text{ ml} = 1,3 \text{ ml}$	1,3
	100	$\frac{100 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,5 \text{ ml} = 1,2 \text{ ml}$	1,2
	160	$\frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,5 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$	2
	200	$\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 2,5 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$	2,5

Lampiran 15. Hasil Pengukuran kadar ALT dan analisis Statistik kelompok perlakuan

Kadar ALT T0 dan T28 (U/L)

No	Dosis	Jantan		Betina	
		T0	T28	T0	T28
1	Kel I(Na CMC 0,5%)	48	56	39	71
		41	61	48	63
		49	49	32	61
		52	72	39	55
		34	54	32	56
	Rata – rata	44,8	58,4	38	61,2
	±SD	±7,26	±8,73	±6,60	±6,42
2	Kel II(34,2 mg/kg BB)	43	64	46	54
		37	52	42	76
		46	81	32	56
		59	76	39	68
		59	71	33	81
	Rata – rata	48,8	68,8	38,4	67
	±SD	±9,86	±11,30	±4,94	±11,91
3	Kel III (1500mg/kg BB)	53	81	42	90
		43	62	42	87
		45	94	38	126
		60	87	48	72
		55	75	43	75
	Rata – rata	51,2	80	42,6	90
	±SD	±7,08	±11,83	±3,58	±21,53
4	Kel IV (2000 mg/kg BB)	37	86	53	79
		52	94	37	121
		26	104	31	109
		54	87	43	111
		52	89	46	98
	Rata – rata	44,2	92	41,8	103
	±SD	±12,26	±7,38	±8,11	±15,99

No	Perlakuan	Jantan			Betina		
		T0	T28	T 42	T0	T 28	T 42
2	Kel Satelit (2000 mg/kg BB)	42	90	73	58	112	49
		48	110	78	51	89	69
		55	82	61	66	98	58
		49	79	40	64	79	70
		47	98	59	74	101	67
	Rata – rata	48,2	91,8	62,2	62,6	95,8	62,6
	±SD	±4,66	±12,58	±14,75	±8,65	±12,47	±8,96

HASIL STATISTIK KADAR ALT KELOMPOK PERLAKUAN

Kadar ALT sebelum perlakuan (T0) dan Waktu akhir (T28)

1. Tikus Jantan

Tests of Normality

KELOMPOK PERLAKUAN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
KADAR ALT T0 TIKUS JANTAN	CMC	.270	5	.200*	.916	5	.503
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.250	5	.200*	.879	5	.304
	Dosis 1500 mg/kg BB	.209	5	.200*	.936	5	.641
	Dosis 2000 mg/kg BB	.338	5	.064	.823	5	.122
	Dosis Satelit	.232	5	.200*	.959	5	.800
KADAR ALT T28 TIKUS JANTAN	CMC	.208	5	.200*	.944	5	.696
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.177	5	.200*	.962	5	.824
	Dosis 1500 mg/kg BB	.147	5	.200*	.982	5	.944
	Dosis 2000 mg/kg BB	.258	5	.200*	.855	5	.211
	Dosis Satelit	.182	5	.200*	.946	5	.708
KADAR ALT T42 TIKUS JANTAN	CMC	.208	5	.200*	.944	5	.696
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.177	5	.200*	.962	5	.824
	Dosis 1500 mg/kg BB	.147	5	.200*	.982	5	.944
	Dosis 2000 mg/kg BB	.258	5	.200*	.855	5	.211
	Dosis Satelit	.214	5	.200*	.942	5	.678

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
KADAR ALT T0 TIKUS JANTAN	2.835	4	20	.052
KADAR ALT T28 TIKUS JANTAN	.495	4	20	.739
KADAR ALT T42 TIKUS JANTAN	.525	4	20	.718

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KADAR ALT T0 TIKUS JANTAN	Between Groups	170.160	4	42.540	.572	.686
	Within Groups	1488.000	20	74.400		
	Total	1658.160	24			
KADAR ALT T28 TIKUS JANTAN	Between Groups	4291.760	4	1072.940	9.488	.000
	Within Groups	2261.600	20	113.080		
	Total	6553.360	24			
KADAR ALT T42 TIKUS JANTAN	Between Groups	3758.960	4	939.740	7.519	.001
	Within Groups	2499.600	20	124.980		
	Total	6258.560	24			

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
KADAR ALT T0 TIKUS JANTAN	2.835	4	20	.052
KADAR ALT T28 TIKUS JANTAN	.495	4	20	.739
KADAR ALT T42 TIKUS JANTAN	.525	4	20	.718

Post Hoc Tests
Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KELOMPOK PERLAKUAN	(J) KELOMPOK PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
KADAR ALT T0 TIKUS JANTAN	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-4.000	5.455	.472	-15.38	7.38
		Dosis 1500 mg/kg BB	-6.400	5.455	.255	-17.78	4.98
		Dosis 2000 mg/kg BB	.600	5.455	.914	-10.78	11.98
		Dosis Satelit	-3.400	5.455	.540	-14.78	7.98
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	4.000	5.455	.472	-7.38	15.38
		Dosis 1500 mg/kg BB	-2.400	5.455	.665	-13.78	8.98
		Dosis 2000 mg/kg BB	4.600	5.455	.409	-6.78	15.98
		Dosis Satelit	.600	5.455	.914	-10.78	11.98
	Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	6.400	5.455	.255	-4.98	17.78
		Dosis 34,2 mg/kg BB	2.400	5.455	.665	-8.98	13.78
		Dosis 2000 mg/kg BB	7.000	5.455	.214	-4.38	18.38
		Dosis Satelit	3.000	5.455	.588	-8.38	14.38
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	-6.000	5.455	.914	-11.98	10.78
		Dosis 34,2 mg/kg BB	-4.600	5.455	.409	-15.98	6.78
		Dosis 1500 mg/kg BB	-7.000	5.455	.214	-18.38	4.38
		Dosis Satelit	-4.000	5.455	.472	-15.38	7.38
	Dosis Satelit	CMC	3.400	5.455	.540	-7.98	14.78
		Dosis 34,2 mg/kg BB	-6.000	5.455	.914	-11.98	10.78
		Dosis 1500 mg/kg BB	-3.000	5.455	.588	-14.38	8.38
		Dosis 2000 mg/kg BB	4.000	5.455	.472	-7.38	15.38
KADAR ALT T28 TIKUS JANTAN	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-10.400	6.725	.138	-24.43	3.63
		Dosis 1500 mg/kg BB	-21.400*	6.725	.005	-35.43	-7.37
		Dosis 2000 mg/kg BB	-33.600*	6.725	.000	-47.63	-19.57
		Dosis Satelit	-33.400*	6.725	.000	-47.43	-19.37
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	10.400	6.725	.138	-3.63	24.43
		Dosis 1500 mg/kg BB	-11.400*	6.725	.018	-25.03	3.03
		Dosis 2000 mg/kg BB	-23.200*	6.725	.003	-37.23	-9.17
		Dosis Satelit	-23.000*	6.725	.003	-37.03	-8.97
	Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	21.400*	6.725	.005	7.37	35.43
		Dosis 34,2 mg/kg BB	11.400*	6.725	.018	-3.03	25.03
		Dosis 2000 mg/kg BB	-12.200	6.725	.085	-26.23	1.83
		Dosis Satelit	-12.000	6.725	.090	-26.03	2.03
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	33.600*	6.725	.000	19.57	47.63
		Dosis 34,2 mg/kg BB	23.200*	6.725	.003	9.17	37.23
		Dosis 1500 mg/kg BB	12.200	6.725	.085	-1.83	26.23
		Dosis Satelit	.200	6.725	.977	-13.83	14.23
	Dosis Satelit	CMC	33.400*	6.725	.000	19.37	47.43
		Dosis 34,2 mg/kg BB	23.000*	6.725	.003	8.97	37.03

		Dosis 1500 mg/kg BB	12.000	6.725	.090	-2.03	26.03
		Dosis 2000 mg/kg BB	-200	6.725	.977	-14.23	13.83
KADAR ALT T42 TIKUS JANTAN	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-10.400	7.071	.157	-25.15	4.35
		Dosis 1500 mg/kg BB	-21.400*	7.071	.007	-36.15	-6.65
		Dosis 2000 mg/kg BB	-33.600*	7.071	.000	-48.35	-18.85
		Dosis Satelit	-3.800	7.071	.597	-18.55	10.95
		Dosis 34,2 mg/kg BB	10.400	7.071	.157	-4.35	25.15
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	-11.000	7.071	.135	-25.75	3.75
		Dosis 1500 mg/kg BB	-23.200*	7.071	.004	-37.95	-8.45
		Dosis 2000 mg/kg BB	6.600	7.071	.362	-8.15	21.35
		Dosis Satelit	21.400*	7.071	.007	6.65	36.15
	Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	11.000	7.071	.135	-3.75	25.75
		Dosis 34,2 mg/kg BB	-12.200	7.071	.100	-26.95	2.55
		Dosis 2000 mg/kg BB	-12.200	7.071	.100	-26.95	2.55
		Dosis Satelit	17.600*	7.071	.022	2.85	32.35
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	33.600*	7.071	.000	18.85	48.35
		Dosis 34,2 mg/kg BB	23.200*	7.071	.004	8.45	37.95
		Dosis 1500 mg/kg BB	12.200	7.071	.100	-2.55	26.95
		Dosis Satelit	29.800*	7.071	.000	15.05	44.55
	Dosis Satelit	CMC	3.800	7.071	.597	-10.95	18.55
		Dosis 34,2 mg/kg BB	-6.600	7.071	.362	-21.35	8.15
		Dosis 1500 mg/kg BB	-17.600*	7.071	.022	-32.35	-2.85
Dosis 2000 mg/kg BB		-29.800*	7.071	.000	-44.55	-15.05	

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

2. TIKUS BETINA

Tests of Normality

KELOMPOK PERLAKUAN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
KADAR ALT T0 TIKUS BETINA	CMC	.240	5	.200*	.873	5	.278
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.218	5	.200*	.933	5	.616
	Dosis 1500 mg/kg BB	.255	5	.200*	.927	5	.573
	Dosis 2000 mg/kg BB	.159	5	.200*	.990	5	.980
	dosis satelit	.164	5	.200*	.991	5	.982
KADAR ALT T28 TIKUS BETINA	CMC	.164	5	.200*	.968	5	.862
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.288	5	.200*	.848	5	.188
	Dosis 1500 mg/kg BB	.300	5	.161	.842	5	.171
	Dosis 2000 mg/kg BB	.232	5	.200*	.942	5	.683
	dosis satelit	.170	5	.200*	.990	5	.979
KADAR ALT T42 TIKUS BETINA	CMC	.164	5	.200*	.968	5	.862
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.288	5	.200*	.848	5	.188
	Dosis 1500 mg/kg BB	.300	5	.161	.842	5	.171
	Dosis 2000 mg/kg BB	.232	5	.200*	.942	5	.683
	dosis satelit	.265	5	.200*	.933	5	.617

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
KADAR ALT T0 TIKUS BETINA	1.017	4	20	.423
KADAR ALT T28 TIKUS BETINA	.238	4	20	.913
KADAR ALT T42 TIKUS BETINA	.241	4	20	.912

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KADAR ALT T0 TIKUS BETINA	Between Groups	2089.040	4	522.260	11.251	.000
	Within Groups	928.400	20	46.420		
	Total	3017.440	24			
KADAR ALT T28 TIKUS BETINA	Between Groups	2471.440	4	617.860	2.369	.087
	Within Groups	5216.400	20	260.820		
	Total	7687.840	24			
KADAR ALT T42 TIKUS BETINA	Between Groups	3012.240	4	753.060	2.928	.047
	Within Groups	5143.600	20	257.180		
	Total	8155.840	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KELOMPOK PERLAKUAN	(J) KELOMPOK PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
KADAR ALT T0 TIKUS BETINA	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-.400	4.309	.927	-9.39	8.59
		Dosis 1500 mg/kg BB	-4.600	4.309	.298	-13.59	4.39
		Dosis 2000 mg/kg BB	-3.800	4.309	.388	-12.79	5.19
		dosis satelit	-4.600	4.309	.300	-33.59	-15.61
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	.400	4.309	.927	-8.59	9.39
		Dosis 1500 mg/kg BB	-4.200	4.309	.341	-13.19	4.79
		Dosis 2000 mg/kg BB	-3.400	4.309	.439	-12.39	5.59
		dosis satelit	-4.200	4.309	.450	-33.19	-15.21
	Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	4.600	4.309	.298	-4.39	13.59
		Dosis 34,2 mg/kg BB	4.200	4.309	.341	-4.79	13.19
		Dosis 2000 mg/kg BB	.800	4.309	.855	-8.19	9.79
		dosis satelit	-5.000	4.309	.520	-28.99	-11.01
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	3.800	4.309	.388	-5.19	12.79
		Dosis 34,2 mg/kg BB	3.400	4.309	.439	-5.59	12.39
		Dosis 1500 mg/kg BB	-.800	4.309	.855	-9.79	8.19
		dosis satelit	-4.800	4.309	.601	-29.79	-11.81
	dosis satelit	CMC	4.600	4.309	.300	15.61	33.59
		Dosis 34,2 mg/kg BB	4.200	4.309	.450	15.21	33.19
		Dosis 1500 mg/kg BB	5.000	4.309	.520	11.01	28.99
		Dosis 2000 mg/kg BB	4.800	4.309	.601	11.81	29.79
KADAR ALT T28 TIKUS BETINA	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-13.800	10.214	.192	-35.11	7.51
		Dosis 1500 mg/kg BB	-18.200*	10.214	.024	-37.71	4.91
		Dosis 2000 mg/kg BB	-30.000*	10.214	.008	-51.31	-8.69
		dosis satelit	-22.200*	10.214	.042	-43.51	-.89
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	13.800	10.214	.192	-7.51	35.11
		Dosis 1500 mg/kg BB	17.200*	10.214	.002	-23.91	18.71
		Dosis 2000 mg/kg BB	18.120*	10.214	.028	-37.51	5.11
		dosis satelit	-22.200*	10.214	.021	-29.71	12.91
	Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	18.200*	10.214	.024	-4.91	37.71
		Dosis 34,2 mg/kg BB	-17.200*	10.214	.002	-18.71	23.91
		Dosis 2000 mg/kg BB	15.470*	10.214	.098	-34.91	7.71
		dosis satelit	11.470*	10.214	.076	-27.11	15.51
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	30.000*	10.214	.008	8.69	51.31
		Dosis 34,2 mg/kg BB	-18.120*	10.214	.028	-5.11	37.51
		Dosis 1500 mg/kg BB	-15.470*	10.214	.098	-7.71	34.91
		dosis satelit	7.800	10.214	.454	-13.51	29.11
	dosis satelit	CMC	22.200*	10.214	.042	.89	43.51
		Dosis 34,2 mg/kg BB	-22.200*	10.214	.021	-12.91	29.71
		Dosis 1500 mg/kg BB	-11.470*	10.214	.076	-15.51	27.11
		Dosis 2000 mg/kg BB	-7.800	10.214	.454	-29.11	13.51
KADAR ALT T42	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-13.800	10.143	.189	-34.96	7.36

TIKUS BETINA	Dosis 1500 mg/kg BB	-16.400	10.143	.122	-37.56	4.76	
	Dosis 2000 mg/kg BB	-30.000*	10.143	.008	-51.16	-8.84	
	dosis satelit	-1.400	10.143	.892	-22.56	19.76	
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	13.800	10.143	.189	-7.36	34.96
	Dosis 1500 mg/kg BB		-2.600	10.143	.800	-23.76	18.56
	Dosis 2000 mg/kg BB		-16.200	10.143	.126	-37.36	4.96
	dosis satelit		12.400	10.143	.236	-8.76	33.56
	Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	16.400	10.143	.122	-4.76	37.56
	Dosis 34,2 mg/kg BB		2.600	10.143	.800	-18.56	23.76
	Dosis 2000 mg/kg BB		-13.600	10.143	.195	-34.76	7.56
	dosis satelit		15.000	10.143	.155	-6.16	36.16
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	30.000*	10.143	.008	8.84	51.16
	Dosis 34,2 mg/kg BB		16.200	10.143	.126	-4.96	37.36
	Dosis 1500 mg/kg BB		13.600	10.143	.195	-7.56	34.76
	dosis satelit		28.600*	10.143	.011	7.44	49.76
dosis satelit	CMC	1.400	10.143	.892	-19.76	22.56	
Dosis 34,2 mg/kg BB		-12.400	10.143	.236	-33.56	8.76	
Dosis 1500 mg/kg BB		-15.000	10.143	.155	-36.16	6.16	
Dosis 2000 mg/kg BB		-28.600*	10.143	.011	-49.76	-7.44	

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

Lampiran 16. Hasil Pengukuran Kadar AST dan analisis statistik Kelompok Perlakuan

Kadar AST T0 dan T28 (U/L)

No	Dosis	Jantan		Betina	
		T0	T28	T0	T28
1	Kel I (Na CMC 0,5%)	134	120	105	127
		96	111	146	116
		117	117	98	109
		102	128	124	134
		138	136	102	126
		Rata – rata ±SD	117,4 ±18,68	122,4 ±9,76	115 ±20
2	Kel II (34,2 mg/kg BB)	136	149	138	147
		120	137	124	131
		119	135	129	140
		136	147	120	138
		130	151	126	144
		Rata – rata ±SD	128,2 ±8,32	143,6 ±7,29	127,4 ±6,77
3	Kel III (1500 mg/kg BB)	138	187	121	189
		130	218	108	218
		127	192	118	200
		150	174	112	186
		112	203	118	222
		Rata – rata±SD	131,4 ±14,03	194,8 ±16,63	115,4 ±5,27
4	Kel IV (2000 mg/kg BB)	130	258	142	216
		143	242	151	210
		131	186	123	256
		147	157	128	187
		121	176	103	236
		Rata – rata±SD	134,4 ±10,53	203,8 ±43,80	129,7 ±21,31

No	Dosis	T0	T28	T 42	T0	T 28	T 42
		144	176	171	135	179	174
		146	204	128	127	228	149
5	Kel satelit 2000 mg/kg BB	146	204	147	113	198	151
		141	198	152	138	206	167
		131	185	143	126	209	159
	Rata – rata ±SD	141,6 ±6,27	193,4 ±12,44	148,2 ±15,58	127,8 ±9,73	204 ±17,79	159,4 ±9,63

HASIL STATISTIK KADAR AST KELOMPOK PERLAKUAN

Kadar AST Sebelum perlakuan (T0) dan T akhir (T28)

1. TIKUS JANTAN

Tests of Normality

KELOMPOK PERLAKUAN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
KADAR AST T0 TIKUS JANTAN	CMC	.283	5	.200 [*]	.860	5	.228
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.238	5	.200 [*]	.830	5	.140
	Dosis 1500 mg/kg BB	.177	5	.200 [*]	.990	5	.978
	Dosis 2000 mg/kg BB	.227	5	.200 [*]	.941	5	.671
	Dosis satelit	.262	5	.200 [*]	.795	5	.073
KADAR AST T28 TIKUS JANTAN	CMC	.250	5	.200 [*]	.913	5	.483
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.194	5	.200 [*]	.920	5	.529
	Dosis 1500 mg/kg BB	.167	5	.200 [*]	.990	5	.981
	Dosis 2000 mg/kg BB	.258	5	.200 [*]	.899	5	.402
	Dosis satelit	.244	5	.200 [*]	.869	5	.262
KADAR AST T42 TIKUS JANTAN	CMC	.250	5	.200 [*]	.913	5	.483
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.194	5	.200 [*]	.920	5	.529
	Dosis 1500 mg/kg BB	.167	5	.200 [*]	.990	5	.981
	Dosis 2000 mg/kg BB	.258	5	.200 [*]	.899	5	.402
	Dosis satelit	.317	5	.112	.885	5	.332

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
KADAR AST T0 TIKUS JANTAN	.750	4	20	.570
KADAR AST T28 TIKUS JANTAN	10.159	4	20	.703
KADAR AST T42 TIKUS JANTAN	3.164	4	20	.436

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KADAR AST T0 TIKUS JANTAN	Between Groups	822.640	4	205.660	1.955	.641
	Within Groups	2104.400	20	105.220		
	Total	2927.040	24			
KADAR AST T28 TIKUS JANTAN	Between Groups	9199.600	4	2299.900	4.448	.010
	Within Groups	10340.400	20	517.020		
	Total	19540.000	24			
KADAR AST T42 TIKUS JANTAN	Between Groups	9188.640	4	2297.160	2.478	.037
	Within Groups	18539.200	20	926.960		
	Total	27727.840	24			

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KELOMPOK PERLAKUAN	(J) KELOMPOK PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
KADAR AST TO TIKUS JANTAN	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	14.800*	6.488	.034	1.27	28.33
		Dosis 1500 mg/kg BB	11.600	6.488	.089	-1.93	25.13
		Dosis 2000 mg/kg BB	8.600	6.488	.200	-4.93	22.13
		Dosis satelit	1.400	6.488	.831	-12.13	14.93
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	-14.800*	6.488	.034	-28.33	-1.27
		Dosis 1500 mg/kg BB	-3.200	6.488	.627	-16.73	10.33
		Dosis 2000 mg/kg BB	-6.200	6.488	.351	-19.73	7.33
		Dosis satelit	-13.400	6.488	.052	-26.93	.13
	Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	-11.600	6.488	.089	-25.13	1.93
		Dosis 34,2 mg/kg BB	3.200	6.488	.627	-10.33	16.73
		Dosis 2000 mg/kg BB	-3.000	6.488	.649	-16.53	10.53
		Dosis satelit	-10.200	6.488	.132	-23.73	3.33
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	-8.600	6.488	.200	-22.13	4.93
		Dosis 34,2 mg/kg BB	6.200	6.488	.351	-7.33	19.73
		Dosis 1500 mg/kg BB	3.000	6.488	.649	-10.53	16.53
		Dosis satelit	-7.200	6.488	.280	-20.73	6.33
	Dosis satelit	CMC	-1.400	6.488	.831	-14.93	12.13
		Dosis 34,2 mg/kg BB	13.400	6.488	.052	-.13	26.93
		Dosis 1500 mg/kg BB	10.200	6.488	.132	-3.33	23.73
		Dosis 2000 mg/kg BB	7.200	6.488	.280	-6.33	20.73
KADAR AST T28 TIKUS JANTAN	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-14.400	14.381	.329	-44.40	15.60
		Dosis 1500 mg/kg BB	-42.000*	14.381	.008	-72.00	-12.00
		Dosis 2000 mg/kg BB	-51.000*	14.381	.002	-81.00	-21.00
		Dosis satelit	-40.600*	14.381	.011	-70.60	-10.60
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	14.400	14.381	.329	-15.60	44.40
		Dosis 1500 mg/kg BB	-27.600	14.381	.069	-57.60	2.40

	Dosis 2000 mg/kg BB	-36.600*	14.381	.019	-66.60	-6.60
	Dosis satelit	-26.200	14.381	.083	-56.20	3.80
Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	42.000*	14.381	.008	12.00	72.00
	Dosis 34,2 mg/kg BB	27.600	14.381	.069	-2.40	57.60
	Dosis 2000 mg/kg BB	-9.000	14.381	.539	-39.00	21.00
	Dosis satelit	1.400	14.381	.923	-28.60	31.40
Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	51.000*	14.381	.002	21.00	81.00
	Dosis 34,2 mg/kg BB	36.600*	14.381	.019	6.60	66.60
	Dosis 1500 mg/kg BB	9.000	14.381	.539	-21.00	39.00
	Dosis satelit	10.400	14.381	.478	-19.60	40.40
Dosis satelit	CMC	40.600*	14.381	.011	10.60	70.60
	Dosis 34,2 mg/kg BB	26.200	14.381	.083	-3.80	56.20
	Dosis 1500 mg/kg BB	-1.400	14.381	.923	-31.40	28.60
	Dosis 2000 mg/kg BB	-10.400	14.381	.478	-40.40	19.60
KADAR AST T42 TIKUS JANTAN	Dosis 34,2 mg/kg BB	-14.400	19.256	.463	-54.57	25.77
	Dosis 1500 mg/kg BB	-42.000*	19.256	.041	-82.17	-1.83
	Dosis 2000 mg/kg BB	-51.000*	19.256	.015	-91.17	-10.83
	Dosis satelit	-13.200	19.256	.501	-53.37	26.97
Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	14.400	19.256	.463	-25.77	54.57
	Dosis 1500 mg/kg BB	-27.600	19.256	.167	-67.77	12.57
	Dosis 2000 mg/kg BB	-36.600	19.256	.072	-76.77	3.57
	Dosis satelit	1.200	19.256	.951	-38.97	41.37
Dosis 1500 mg/kg BB	CMC	42.000*	19.256	.041	1.83	82.17
	Dosis 34,2 mg/kg BB	27.600	19.256	.167	-12.57	67.77
	Dosis 2000 mg/kg BB	-9.000	19.256	.645	-49.17	31.17
	Dosis satelit	28.800	19.256	.150	-11.37	68.97
Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	51.000*	19.256	.015	10.83	91.17
	Dosis 34,2 mg/kg BB	36.600	19.256	.072	-3.57	76.77
	Dosis 1500 mg/kg BB	9.000	19.256	.645	-31.17	49.17
	Dosis satelit	32.000*	19.256	.064	-2.37	77.97
Dosis satelit	CMC	13.200	19.256	.501	-26.97	53.37

Dosis 34,2 mg/kg BB	-1.200	19.256	.951	-41.37	38.97
Dosis 1500 mg/kg BB	-28.800	19.256	.150	-68.97	11.37
Dosis 2000 mg/kg BB	-32.000 ^{*A}	19.256	.064	-77.97	2.37

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

2. TIKUS BETINA

Tests of Normality

KELOMPOK PERLAKUAN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
KADAR AST T0 TIKUS BETINA	CMC	.291	5	.191	.865	5	.249
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.207	5	.200*	.947	5	.714
	Dosis 1500 mg/kg BB	.289	5	.200	.915	5	.500
	Dosis 2000 mg/kg BB	.165	5	.200*	.975	5	.908
	Dosis satelit	.227	5	.200*	.932	5	.609
KADAR AST T28 TIKUS BETINA	CMC	.242	5	.200*	.954	5	.767
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.235	5	.200*	.865	5	.248
	Dosis 1500 mg/kg BB	.219	5	.200*	.886	5	.335
	Dosis 2000 mg/kg BB	.176	5	.200*	.988	5	.971
	Dosis satelit	.189	5	.200*	.980	5	.934
KADAR AST T42 TIKUS BETINA	CMC	.242	5	.200*	.954	5	.767
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.235	5	.200*	.865	5	.248
	Dosis 1500 mg/kg BB	.219	5	.200*	.886	5	.335
	Dosis 2000 mg/kg BB	.176	5	.200*	.988	5	.971
	Dosis satelit	.202	5	.200*	.936	5	.638

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
KADAR AST T0 TIKUS BETINA	3.020	4	20	.152
KADAR AST T28 TIKUS BETINA	1.304	4	20	.302
KADAR AST T42 TIKUS BETINA	2.278	4	20	.097

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KADAR AST T0 TIKUS BETINA	Between Groups	1025.600	4	256.400	1.409	.267
	Within Groups	3638.400	20	181.920		
	Total	4664.000	24			
KADAR AST T28 TIKUS BETINA	Between Groups	38426.640	4	9606.660	34.083	.000
	Within Groups	5637.200	20	281.860		
	Total	44063.840	24			
KADAR AST T42 TIKUS BETINA	Between Groups	34765.840	4	8691.460	36.070	.000
	Within Groups	4819.200	20	240.960		
	Total	39585.040	24			

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KELOMPOK PERLAKUAN	(J) KELOMPOK PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
KADAR AST T0 TIKUS BETINA	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-12.400	8.530	.162	-30.19	5.39
		Dosis 1500 mg/Kg BB	-.400	8.530	.963	-18.19	17.39
		Dosis 2000 mg/kg BB	-14.400	8.530	.107	-32.19	3.39
		Dosis satelit	-12.800	8.530	.149	-30.59	4.99
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	12.400	8.530	.162	-5.39	30.19
		Dosis 1500 mg/Kg BB	12.000	8.530	.175	-5.79	29.79
		Dosis 2000 mg/kg BB	-2.000	8.530	.817	-19.79	15.79
		Dosis satelit	-.400	8.530	.963	-18.19	17.39
	Dosis 1500 mg/Kg BB	CMC	.400	8.530	.963	-17.39	18.19
		Dosis 34,2 mg/kg BB	-12.000	8.530	.175	-29.79	5.79
		Dosis 2000 mg/kg BB	-14.000	8.530	.116	-31.79	3.79
		Dosis satelit	-12.400	8.530	.162	-30.19	5.39
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	14.400	8.530	.107	-3.39	32.19
		Dosis 34,2 mg/kg BB	2.000	8.530	.817	-15.79	19.79
		Dosis 1500 mg/Kg BB	14.000	8.530	.116	-3.79	31.79
		Dosis satelit	1.600	8.530	.853	-16.19	19.39
Dosis satelit	CMC	12.800	8.530	.149	-4.99	30.59	
	Dosis 34,2 mg/kg BB	.400	8.530	.963	-17.39	18.19	
	Dosis 1500 mg/Kg BB	12.400	8.530	.162	-5.39	30.19	
	Dosis 2000 mg/kg BB	-1.600	8.530	.853	-19.39	16.19	
KADAR AST T28 TIKUS BETINA	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-17.600	10.618	.113	-39.75	4.55
		Dosis 1500 mg/Kg BB	-80.600*	10.618	.000	-102.75	-58.45
		Dosis 2000 mg/kg BB	-98.600*	10.618	.000	-120.75	-76.45
		Dosis satelit	-81.600*	10.618	.000	-103.75	-59.45
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	17.600	10.618	.113	-4.55	39.75
		Dosis 1500 mg/Kg BB	-63.000*	10.618	.000	-85.15	-40.85
		Dosis 2000 mg/kg BB	-81.000*	10.618	.000	-103.15	-58.85
		Dosis satelit	-64.000*	10.618	.000	-86.15	-41.85
	Dosis 1500 mg/Kg BB	CMC	80.600*	10.618	.000	58.45	102.75
		Dosis 34,2 mg/kg BB	63.000*	10.618	.000	40.85	85.15
		Dosis 2000 mg/kg BB	-18.000	10.618	.106	-40.15	4.15
		Dosis satelit	-1.000	10.618	.926	-23.15	21.15
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	98.600*	10.618	.000	76.45	120.75
		Dosis 34,2 mg/kg BB	81.000*	10.618	.000	58.85	103.15
		Dosis 1500 mg/Kg BB	18.000	10.618	.106	-4.15	40.15
		Dosis satelit	17.000	10.618	.125	-5.15	39.15
Dosis satelit	CMC	81.600*	10.618	.000	59.45	103.75	
	Dosis 34,2 mg/kg BB	64.000*	10.618	.000	41.85	86.15	

		Dosis 1500 mg/Kg BB	1.000	10.618	.926	-21.15	23.15
		Dosis 2000 mg/kg BB	-17.000	10.618	.125	-39.15	5.15
KADAR AST T42 TIKUS BETINA	CMC	Dosis 34,2 mg/kg BB	-17.600	9.818	.088	-38.08	2.88
		Dosis 1500 mg/Kg BB	-80.600*	9.818	.000	-101.08	-60.12
		Dosis 2000 mg/kg BB	-98.600*	9.818	.000	-119.08	-78.12
		Dosis satelit	-37.600*	9.818	.001	-58.08	-17.12
	Dosis 34,2 mg/kg BB	CMC	17.600	9.818	.088	-2.88	38.08
		Dosis 1500 mg/Kg BB	-63.000*	9.818	.000	-83.48	-42.52
		Dosis 2000 mg/kg BB	-81.000*	9.818	.000	-101.48	-60.52
		Dosis satelit	-20.000	9.818	.055	-40.48	.48
	Dosis 1500 mg/Kg BB	CMC	80.600*	9.818	.000	60.12	101.08
		Dosis 34,2 mg/kg BB	63.000*	9.818	.000	42.52	83.48
		Dosis 2000 mg/kg BB	-18.000	9.818	.082	-38.48	2.48
		Dosis satelit	43.000*	9.818	.000	22.52	63.48
	Dosis 2000 mg/kg BB	CMC	98.600*	9.818	.000	78.12	119.08
		Dosis 34,2 mg/kg BB	81.000*	9.818	.000	60.52	101.48
		Dosis 1500 mg/Kg BB	18.000	9.818	.082	-2.48	38.48
		Dosis satelit	61.000*	9.818	.000	40.52	81.48
	Dosis satelit	CMC	37.600*	9.818	.001	17.12	58.08
		Dosis 34,2 mg/kg BB	20.000	9.818	.055	-.48	40.48
		Dosis 1500 mg/Kg BB	-43.000*	9.818	.000	-63.48	-22.52
		Dosis 2000 mg/kg BB	-61.000*	9.818	.000	-81.48	-40.52

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

g B B		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5							
	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1					
	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4					
		0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
	Betina																																			
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	Jantan																																			
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Betina																																			
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

D o s i s u j i 1 5 0 0 m g / k g B B

		0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5
	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5
D o s i t i 2 0 0 0	Jantan																														
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Betina																														
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Keterangan
JK : jenis kelamin

