

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA
(*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER
SGOT, SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
PADA TIKUS GALUR WISTAR**



Oleh :

Miraziza Amanda

20144169A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA
(*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER
SGOT, SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
PADA TIKUS GALUR WISTAR**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Miraziza Amanda
20144169A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER SGOT, SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS GALUR WISTAR

Oleh :

Miraziza Amanda
20144169A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 4 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping

Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt

Penguji :

1. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.
2. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt.
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.
4. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

HALAMAN PERSEMBAHAN

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا . إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

So verily with the hardship there is relief, verily with the hardship there is relief.

– (Q.S Al-Insyirah: 5-6)

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. – (Q.S Al-Insyirah: 5-6)

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT atas segala berkah dan karunia-Nya.
2. Kedua orang tuaku, saudaraku, serta keluarga besarku yang selalu memberikan support dan bantuan dalam bentuk doa, lisan, maupun finansial sehingga aku bias menyelesaikan skripsi ini.
3. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt. dan Mamik Ponco Rahayu M.Si., Apt. selaku orang tuaku sekaligus dosen pembimbing yang senantiasa membantu serta memberikan motivasi ataupun masukan sehingga selesailah skripsi ini
4. Almamater Universitas Setia Budi, Bangsa, dan Negara

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 16 Juli 2018

Penulis,



Miraziza Amanda

KATA PENGANTAR

Segala Puji syukur kehadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas berkah, karunia dan anugrah kesehatan, serta jalan yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER SGOT, SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS GALUR WISTAR** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Strata 1 pada Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak, baik material maupun spiritual. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

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

8. Kedua orang tuaku, saudaraku, dan keluarga besarku yang telah memberikan dukungan, dan bantuan dalam bentuk doa, lisan maupun finansial.
9. Para sahabat khususnya Ika, Venin, Sukron, Ruddy, Rosita, Rostika, Fajar, Satria, Hilda cs, Fatimah, Maudini, Setiaji, teman-teman kkn dan serta seluruh teman-teman S1 Farmasi USB angkatan 2014 atas dukungan dan semangatnya.
10. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu. Terimakasih.

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

Surakarta, 16 Juli 2018

Penulis,



Miraziza Amanda

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Matoa	6
1. Sistematika tanaman	6
2. Nama daerah	6
3. Morfologi tumbuhan	7
4. Kegunaan tanaman	7
5. Kandungan kimia	8
4.1. Flavonoid	8
4.2. Saponin	8
4.3. Tanin	9
B. Hewan Uji	9
1. Sistematika hewan uji	9
2. Karakteristik hewan uji	9
3. Pengambilan dan pemegangan	10
4. Pemberian sediaan uji	10

5.	Pengambilan darah dan pengumpulan serum	10
C.	Simplisia	11
1.	Pengertian simplisia.....	11
2.	Pengumpulan simplisia.....	11
3.	Cara pembuatan simplisia	11
4.	Pengeringan simplisia.....	11
D.	Ekstraksi	12
1.	Pengertian ekstraksi.....	12
2.	Pengertian ekstrak	12
3.	Metode ekstraksi	13
3.1	Maserasi.....	13
3.2	Perkolasi.	13
3.3	Refluks.....	13
3.4	Soxhlet.....	13
3.5	Digesti.....	14
4.	Pelarut.....	14
E.	Uji Toksisitas	14
1.	Uji toksisitas akut	14
2.	Uji toksisitas subkronik	15
2.1	Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari.....	15
2.2	Uji toksisitas subkronik oral 90 hari.....	16
3.	Uji toksisitas kronik.....	16
F.	Uji Toksisitas Subkronik	16
1.	Hewan Uji dan Jumlah	16
2.	Dosis uji	17
3.	Cara Pemberian dan Volume Pemberian.....	17
4.	Pengamatan Gejala Klinis dan Toksik.....	17
5.	Monitoring Berat Badan dan Konsumsi Pakan.....	17
6.	Pengambilan Darah	18
7.	Parameter pengujian	18
8.	Pengamatan Makropatologi dan Penimbangan Organ	19
9.	Pengamatan Histopatologi	19
G.	Organ Hati	21
1.	Struktur Hati.....	21
2.	Fungsi Hati.....	22
2.1	Fungsi metabolik.....	22
2.2	Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu.....	23
2.3	Fungsi vaskular hati.....	23
2.4	Fungsi pertahanan tubuh.....	23
3.	Jenis Kerusakan Hati	23
3.1	Perlemakan hati.....	23
3.2	Nekrosis hati.....	23
3.3	Sirosis hati.....	24
3.4	Fibrosis.....	24
4.	Parameter Kerusakan Hati	24
H.	Histologi dan Histopatologi	26

1. Histologi.....	26
2. Histopatologi.....	27
I. Landasan Teori.....	28
J. Kerangka Pikir	31
1. Jumlah kematian hewan.....	31
2. Berat badan	31
3. Jumlah berat makanan	31
4. Indeks berat organ hati relatif	31
K. Hipotesis	32
 BAB III METODE PENELITIAN.....	 33
A. Populasi dan Sampel	33
B. Variabel Penelitian	33
1. Idenifikasi variabel utama.....	33
2. Klasifikasi variabel utama	33
3. Definisi operasional variabel utama	34
C. Bahan dan Alat.....	35
1. Bahan	35
1.1. Bahan sampel.....	35
1.1. Bahan kimia.	35
1.2. Hewan uji.....	35
2. Alat	35
D. Tata Cara Penelitian	36
1. Determinasi daun matoa	36
2. Pembuatan serbuk daun matoa.....	36
3. Penetapan kadar air serbuk daun matoa.....	36
4. Pembuatan ekstrak etanolik daun matoa.....	36
5. Identifikasi kualitatif	37
5.1 Identifikasi flavonoid.....	37
5.2 Identifikasi saponin.	37
5.3 Identifikasi tanin.....	37
6. Tes bebas etanol ekstrak daun matoa	37
7. Penetapan susut pengeringan	38
8. Pembuatan Suspensi Na-CMC 0,5%	38
9. Penetapan dosis	38
10. Prosedur pengujian Uji Toksisitas Subkronis.....	38
10.1 Penyiapan hewan uji.....	38
10.2 Dosis dan lama pemberian.....	38
10.3 Pengelompokan hewan uji.....	39
10.4 Pengambilan darah.	39
10.5 Penetapan kadar GOT (<i>Glutamat Oksaloasetat Transaminase</i>) dan GPT (<i>Glutamat Piruvat Transaminase</i>).....	39
10.6 Euthanasia hewan percobaan. Eutanasia dilakukan dengan gas CO ₂	40
10.7 Penimbangan dan penetapan indeks organ hati	40

10.8	Perlakuan	40
10.9	Pengamatan makropatologi.....	41
10.10	Pembuatan preparat histopatologi	41
E.	Analisis Data.....	42
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	44
A.	Tanaman Matoa.....	44
1.	Hasil determinasi tanaman.....	44
2.	Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk	44
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun matoa	45
4.	Penetapan kadar air serbuk daun matoa.....	45
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun matoa.....	46
6.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun matoa	46
7.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun matoa.....	48
B.	Hasil Uji Toksisitas Subkronis Daun Matoa	48
1.	Persiapan hewan uji	48
2.	Penetapan dosis hewan uji	48
3.	Hasil rata-rata indeks organ hati.....	48
4.	Hasil pengamatan makroskopis.....	49
5.	Hasil pemeriksaan kadar SGOT (Serum glutamic oxaloacetic transaminase)/ Aspartat aminotransaminase (AST)	50
6.	Hasil pemeriksaan kadar SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase)/ Alanin aminotransferase (ALT)	53
7.	Hasil histopatologi hati.....	56
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	61
A.	Kesimpulan.....	61
B.	Saran.....	61
	DAFTAR PUSTAKA	62
	LAMPIRAN	69

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Matoa.....	6
Gambar 2. Senyawa flavonoid Kuersetin.....	8
Gambar 3. Gambaran makroskopis organ hepar normal	19
Gambar 4. Gambaran mikroskopik organ hepar pada tikus Wistar.....	20
Gambar 5. Anatomi organ hati	22
Gambar 6. Reaksi pemeriksaan SGPT	26
Gambar 7. Reaksi pemeriksaan SGOT	26
Gambar 8. Kerangka pikir peneliti	31
Gambar 9. Skema pembuatan ekstrak Etanol daun Matoa	37
Gambar 10. Skema uji toksisitas subronik ekstrak Etanol daun Matoa.....	43
Gambar 11. Perlemakan hati	50
Gambar 12. Grafik rata-rata kadar SGOT Jantan.	52
Gambar 13. Grafik rata-rata kadar SGOT Betina.....	53
Gambar 14. Grafik rata-rata kadar SGPT Jantan.....	55
Gambar 15. Grafik rata-rata kadar SGPT Betina	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kebutuhan reagen yang digunakan	40
Tabel 2. Hasil perhitungan rendemen daun matoa	45
Tabel 3. Hasil susut pengeringan serbuk daun matoa.....	45
Tabel 4. Persentase penetapan kadar air serbuk daun matoa	45
Tabel 5. Hasil persentase rendemen ekstrak daun matoa.....	46
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa daun matoa	47
Tabel 7. Hasil rata-rata indeks organ hati	49
Tabel 8. Kadar SGOT pada tikus jantan	51
Tabel 9. Kadar SGOT pada tikus betina	51
Tabel 10. Kadar SGPT pada tikus jantan	54
Tabel 11. Kadar SGPT pada tikus betina	54
Tabel 12. Hasil skoring histopatologi kerusakan sel nekrosis	57
Tabel 13. Hasil skoring histopatologi kerusakan sel piknosis, kariolisis, dan karioereksis	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat determinasi	70
Lampiran 2. Perhitungan rendemen daun matoa.....	71
Lampiran 3. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk.....	72
Lampiran 4. Perhitungan penetapan kadar air	73
Lampiran 5. Perhitungan rendemen berat serbuk terhadap berat ekstrak.....	74
Lampiran 6. Proses pembuatan ekstrak	74
Lampiran 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa daun matoa.....	75
Lampiran 8. Surat keterangan hewan uji	76
Lampiran 9. Surat izin etik kehewanan	77
Lampiran 10. Hewan uji yang digunakan	78
Lampiran 11. Perhitungan penyesuaian dosis dan volume pemberian	79
Lampiran 12. Monitoring berat badan tikus.....	80
Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar SGOT dan SGPT	81
Lampiran 14. Pengambilan darah, proses sentrifugasi, dan proses pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT.....	83
Lampiran 15. Berat organ dan indeks organ hati.....	84
Lampiran 16. Pengamatan makroskopis	85
Lampiran 17. Data kematian tikus	86
Lampiran 18. Proses histopatologi.....	88

Lampiran 19. Hasil Histopatologi organ hati	90
Lampiran 20. Hasil uji statistik.....	97

INTISARI

AMANDA, M., 2018. UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER SGOT, SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS GALUR WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Matoa merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional untuk antihipertensi. Penelitian sebelumnya pada uji toksisitas akut nilai $LD_{50} > 5000$ mg/kgBB (praktis tidak toksik). Selanjutnya dilakukan penelitian ini untuk mengetahui toksisitas subkronik terhadap perubahan kadar SGOT, SGPT, serta gambaran histopatologi pada organ hati tikus.

Ekstrak daun matoa dihasilkan melalui proses maserasi menggunakan etanol 70%. Penelitian ini menggunakan 50 ekor tikus jantan dan 50 ekor tikus betina yang terbagi atas 5 kelompok yang terdiri dari kontrol negatif, 3 kelompok perlakuan diberi sediaan ekstrak daun matoa dengan dosis 150, 500, dan 1000 mg/kgBB, dan kelompok satelit diberi dosis 1000 mg/kgBB. Penelitian ini berlangsung selama 90 hari dan ditambah 28 hari pada kelompok satelit. Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT dilakukan pada hari ke-0, 90 dan 118. Histopatologi dilakukan pada akhir penelitian.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun matoa dapat meningkatkan kadar SGOT ($p < 0,05$) dosis 500, dan 1000 mg/kgBB pada tikus jantan dan dosis 1000 mg/kgBB pada tikus betina. Sedangkan pemberian ekstrak daun matoa pada semua kelompok tidak dapat meningkatkan kadar SGPT ($p > 0,05$). Pemberian ekstrak daun matoa dapat mempengaruhi gambaran makroskopis dan kelompok dosis 500, 1000 mg/kgBB dan kelompok satelit dapat mempengaruhi gambaran histopatologi organ hati tikus ($p < 0,05$).

Kata kunci : Ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst), toksisitas subkronik, SGOT, SGPT, histopatologi hati.

ABSTRACT

AMANDA, M., 2018. SUBCHRONIC TOXICITY OF THE ETHANOL EXTRACT MATOA LEAVES (*Pometia pinnata* JR & G. FORST) WITH PARAMETERS SGOT, SGPT AND HISTOPATHOLOGY OF LIVER ON WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*). THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Matoa is one of the traditional medicine as an antihypertensive drug. The pre-research in acute toxicity has a $LD_{50} > 5000$ mg/kgbw. This research was to know the subchronic toxicity towards SGOT, SGPT level, and histopathology of rat's liver.

Matoa leaves were extracted by maceration with ethanol 70%. Male and female Wistar rats were divided into 5 groups which negative control, matoa leaves extract (with doses of 150 mg/kg bw., 500 mg/kg bw., and 1000 mg/kg bw.), and satellite group. Matoa leaves extract orally, every day as long as 90 days, then continued over the next 28 days for satellite group. Then SGOT and SGPT levels examined at 0st, 90th and 118th. Histomorphological of rat's liver examined in the end of research.

Matoa leaves extract can increase SGOT levels ($p < 0.05$) on the 90th day at dose of 500 mg/kgbw, 1000 mg/kgbw in male rats and 1000 mg/kgbw in female rats. Matoa leaves extract at dose 150 mg/kgbw, 500 mg /kgbw, 1000 mg/kgbw were not different with negative control groups in SGPT levels ($p > 0,05$). Matoa leaves extract can affect in macropathological and increase necrosis cell ($p < 0,05$) in Histomorphological of rat's liver at doses 500 mg/kgbw, 1000 mg/kgbw, and satellite group.

Keywords: Extract matoa leaves (*Pometia pinnata* JR & G. FORST), subchronic toxicity, SGOT, SGPT, histopathology.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit hipertensi merupakan salah satu penyakit tidak menular (PTM) yang masih menjadi masalah di bidang kesehatan. Hasil Riset Kesehatan Dasar yang dilakukan di Indonesia menunjukkan bahwa proporsi penyebab kematian tertinggi adalah PTM, yaitu penyakit kardiovaskuler (31,9%) termasuk hipertensi (6,8%) dan stroke (15,4%). Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2013) diketahui prevalensi hipertensi di Indonesia pada responden, ditemukan sebesar 25,8%. Prevalensi hipertensi yang tertinggi terdapat di Bangka Belitung (30,9%), sedangkan di Riau prevalensi hipertensi juga tergolong tinggi, yaitu sebesar 20,9%. Penyakit hipertensi adalah peningkatan abnormal tekanan darah, baik tekanan darah sistolik maupun tekanan darah diastolik, dengan tekanan darah sistolik/diastolik $> 140/90$ mmHg (normalnya 120/80 mmHg). Hipertensi merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya gagal jantung kongestif serta penyakit cerebrovaskuler yang dipengaruhi oleh cara dan kebiasaan hidup (*Life style*) seseorang. Sebagai pencegahan hipertensi sering kali memerlukan obat untuk menormalkan tekanan darah. Obat-obatan kimia yang dikonsumsi secara terus menerus dapat menimbulkan efek samping yang merugikan pada tubuh, sedangkan prinsip pengobatan hipertensi yaitu membutuhkan pengobatan jangka panjang bahkan pengobatan seumur hidup agar tekanan darah pasien dapat dikontrol (DepKes 2006).

Meningkatnya penggunaan bahan alam yang digunakan sebagai obat namun masih kurangnya pengetahuan dan penelitian tentang bahan alam yang digunakan sebagai obat tradisional memperbesar resiko toksisitas yang dapat terjadi sehingga keamanan bahan alam sebagai obat tradisional masih diragukan. Salah satu tanaman yang dapat dipakai sebagai obat tradisional adalah matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.). Tanaman ini sejak dulu telah dimanfaatkan oleh bangsa Asia seperti Malaysia dan Indonesia sebagai salah satu obat-obatan tradisional. Kulit batang yang dikunyah digunakan untuk mengobati luka bakar.

Di Fiji, ekstrak daun dan kulit batang digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit, termasuk gangguan perut, diare, disentri, penghilang nyeri (tulang, otot, sendi, dada, sakit kepala), demam, flu, diabetes, dan ulkus di mulut. Di Tonga, infusa dari kulit batang digunakan untuk mengobati diare pada anak-anak, gangguan di perut, batuk yang disertai demam dan konstipasi, dan daunnya juga digunakan untuk pengobatan. Di Serawak Malaysia, matoa digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk cacar air (*chicken pox*), dimana pasien dimandikan dengan ekstrak air panas dari kulit batang (Thomson *et al.* 2006). Sebagian masyarakat di daerah asalnya, telah mengenal dan memanfaatkan air dari seduhan daun matoa sebagai salah satu obat-obatan tradisional yang diketahui mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, tanin dan saponin (Dalimartha 2008).

Hasil penelitian sebelumnya oleh Purwidyaningrum *et al.* (2017), mengenai ekstrak dan fraksi daun matoa melalui uji aktivitas antihipertensi, diketahui bahwa ekstrak daun matoa pada dosis 150 mg/kgBB dan fraksi pada dosis 13,08 mg/kgBB selama 28 hari dapat menurunkan tekanan darah dan memiliki profil pemberian terapi yang sama dengan hidroklorthiazid pada dosis 0,45 mg/kgBB. Hasil penelitian lain mengenai ekstrak etanol daun matoa pada uji penurunan kadar kolesterol total menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun matoa dengan dosis efektif 100 mg/kgBB dapat menurunkan kolesterol total serum darah tikus (Putri 2017). Penelitian lain yang telah dilakukan Purwidyaningrum *et al.* (2016) melalui uji aktivitas diuretik ekstrak daun matoa memiliki aktivitas sebagai diuretik yang paling efektif pada dosis 100 mg/kgBB dapat meningkatkan ekskresi sodium dan potasium dalam urin.

Sebagian masyarakat menganggap obat yang berasal dari bahan alam aman dan bebas dari efek toksik. Bahan alam yang digunakan sebagai obat tradisional secara alami memiliki potensi yang bersifat toksik. Efek toksik yang ditimbulkan bergantung pada takaran dosis dan lama waktu pemberian didalam tubuh. Bahaya akibat pemaparan suatu zat pada manusia dapat diketahui dengan mempelajari dosis yang dapat menimbulkan efek toksik pada manusia, efek karsinogenik, teratogenik, mutagenik, dan lain-lain. Pada umumnya informasi

tersebut dapat diperoleh dari percobaan menggunakan hewan uji sebagai model yang dirancang pada serangkaian uji toksisitas (BPOM 2014).

Dalam penelitian obat tradisional, untuk bahan obat yang berbasis bahan alam yang akan dikembangkan sebagai obat baru harus melalui uji keamanan yaitu uji praklinik dan uji klinik. Uji praklinik adalah suatu uji yang dilakukan pada hewan coba dengan tujuan untuk menentukan keamanan dan khasiat suatu bahan uji secara ilmiah sebelum dilakukan uji klinik. Uji toksisitas merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menentukan keamanan suatu bahan uji meliputi uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis. Untuk bahan uji yang akan dipakai di klinik dalam kurun waktu 28 hari, maka lama uji toksisitas subkronis 90 hari, dan untuk pemakaian di klinik lebih dari 30 hari seperti bahan uji untuk terapi penyakit degeneratif yakni obat hipertensi, obat diabetes mellitus, obat tuberkulosis, obat kanker dan terapi supporting lainnya maka lama pengujian toksisitas subkronis berkisar 90–180 hari (Meles 2010).

Efek toksik terjadi karena adanya interaksi biokimiawi antara toksikan dengan struktur reseptor tertentu dalam tubuh. Umumnya toksikan hanya mempengaruhi satu organ atau beberapa organ saja. Hati merupakan organ yang terlibat dalam proses metabolisme zat makanan serta sebagian obat dan toksikan (Frank 1995). Organ yang sering menjadi sasaran zat toksikan adalah hati karena sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal dan setelah toksikan diserap lalu dibawa oleh vena porta ke hati (Frank 1995). Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel sel hati seperti steatosis, nekrosis, kolestatis, sirosis, hepatitis, dan karsinogenesis. Hati mengandung banyak enzim yang digunakan sebagai katalisator dalam metabolisme substan, termasuk obat dan makanan (Guyton 1996).

Enzim Serum transaminase yang biasa digunakan untuk mengidentifikasi adanya kerusakan hati adalah SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*) (Gines *et al.* 2011). Enzim SGOT dan SGPT terdapat di otot jantung, sel hati, otot tubuh, ginjal, dan pankreas. Namun jika terjadi kerusakan, sel hati akan melepaskan enzim ini kedalam darah. Peningkatan enzim tersebut didalam darah menunjukkan adanya

kerusakan hati (Baron 1990). Perubahan dan peningkatan pada enzim tersebut merupakan perubahan biokimia sebagai wujud efek toksik dan digunakan sebagai indikator adanya pengaruh efek toksik terhadap organ hati.

Penyakit hipertensi memerlukan pengobatan untuk jangka panjang bahkan sampai seumur hidup pasien. Penggunaan obat secara terus menerus dapat mempengaruhi organ-organ yang berperan untuk memetabolisme obat dan makanan sehingga perlu adanya alternatif obat yang dapat berasal dari bahan alam yang memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat-obat kimia. Penggunaan obat tradisional perlu dilakukan uji keamanan untuk dapat dikembangkan menjadi sediaan obat baru sehingga perlu dilakukan uji toksisitas subkronis 90 hari. Penelitian sebelumnya telah dilakukan uji toksisitas akut dengan nilai $LD_{50} > 5000$ mg/kgBB tikus (Purwidyaningrum 2017b). Sehingga perlu untuk dilakukan uji toksisitas 90 hari untuk mengetahui efek toksik setelah pemberian uji yaitu ekstrak etanol daun matoa yang diberikan secara berulang dalam jangka waktu tertentu khususnya terhadap organ hati. Pada penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas subkronik 90 hari dari ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) terhadap fungsi hati dengan melihat parameter kadar SGPT dan SGOT serta melihat gambaran makroskopis dan histopatologi organ hati dengan menggunakan tikus putih galur wistar sebagai hewan percobaan.

B. Rumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

Pertama, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) pada tikus putih dengan dengan dosis 150 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB dalam waktu 90 hari dapat mempengaruhi kadar SGOT pada tikus putih galur Wistar ?

Kedua, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa pada tikus putih dengan dengan dosis 150 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB dalam waktu 90 hari dapat mempengaruhi kadar SGPT pada tikus putih galur Wistar ?

Ketiga, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa dengan dosis 150 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB pada tikus dalam waktu 90 hari dapat menimbulkan efek toksik pada organ hati yang ditinjau dari nilai indeks organ, gambaran makroskopik dan histopatologi organ hati ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas tujuan penelitian ini adalah :

Pertama, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun matoa pada tikus putih dengan dengan dosis 150 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB dalam waktu 90 hari terhadap kadar SGOT pada uji toksisitas sub kronis 90 hari.

Kedua, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun matoa pada tikus putih dengan dengan dosis 150 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB dalam waktu 90 hari terhadap kadar SGPT pada uji toksisitas sub kronis 90 hari.

Ketiga, mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun matoa pada tikus putih setelah pemberian secara oral selama 90 hari terhadap gambaran makroskopik dan histopatologi organ hati.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat dan ilmu pengetahuan, berkaitan dengan pengembangan obat tradisional mengenai penggunaan daun matoa tentang bagaimana toksisitas ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) terhadap organ hati apabila dikonsumsi setiap hari dalam jangka waktu yang lama tanpa disertai dosis atau takaran yang tepat. Penelitian ini diharapkan juga dapat memberikan landasan informasi bagi peneliti lainnya untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang daun matoa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Matoa

1. Sistematika tanaman

Matoa merupakan tumbuhan daerah tropis yang banyak terdapat di hutan-hutan pedalaman Pulau Irian (sekarang Papua) (Hutapea 1994). Secara taksonomi klasifikasi tanaman matoa adalah :

Bangsa	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Sapindales
Suku	: Sapindaceae
Marga	: Pometia
Jenis	: <i>Pometia pinnata</i> J.R. & G. Forst.



Gambar 1. Tanaman Matoa (Thomson & Randolph 2006)

2. Nama daerah

Tanaman ini di dunia perdagangan dikenal dengan nama Matoa. Di tempat lain matoa dikenal dengan berbagai nama, yaitu Sumatera (Pakam Langsek, Anggang, Kungki), jawa (Leungsir, Kayu sapi) (Hutapea 1994). Irian Jaya (Kalasina, Kalauw, Iwa), Solomon Islands (tauna, igi, ako, dawa, nyia tava, tava, nodae, gema, mede, piraka taba, taoa, tao, awa), Fiji (dawa, tawa) (Thompson & Randolph 2006)

3. Morfologi tumbuhan

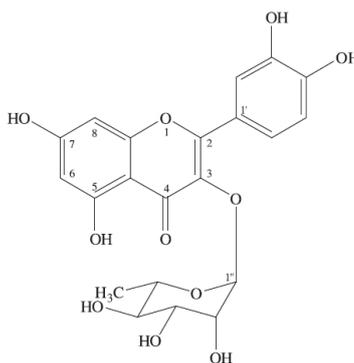
Tumbuhan berbentuk pohon, batang tegak, bulat, berkayu, percabangan simpodial kasar, coklat keputih-putihan. Daun majemuk, lonjong, berseling, panjang 9-24 cm, lebar 4-11 cm, tepi bergerigi, ujung dan pangkal meruncing, pertulangan menyirip, permukaan mengkilat, berwarna hijau (Hutapea 1994). Permukaan luar kulit batang halus-tidak mengelupas; sumbu daun hijau kekuningan, panjang 13-15 cm (pendek), anak daun 8-10 pasang, berhadapan-berseling, pangkal meruncing, ujung meruncing 2-4 cm; permukaan anak daun dewasa hijau tua mengkilap dan pucuk merah-ungu. Buah matoa panjangnya 2-4 cm, diameter 1.5-4 cm; biji tidak memiliki tangkai biji yang jelas, tetapi *integumen* luar yang berlekatan pada biji tumbuh membesar dan melebar hingga menyalut permukaan biji menjadi daging, dan tebal 0.01-4 mm (Hengky 2011).

4. Kegunaan tanaman

Masyarakat Melayu menggunakan daun matoa sebagai obat demam dan kulit pohon digunakan sebagai tuba ikan. Etnis sakai menggunakan akar tanaman matoa sebagai obat beri-beri dan daun untuk obat sakit kulit. Masyarakat Sumatera Selatan juga menggunakan kulit buah sebagai obat luka bernanah dan Etnis Upuya menggunakan daun matoa sebagai obat bengkak dan keseleo (Sangat *et al.* 2000). Masyarakat Indonesia menggunakan kulit batang matoa yang dikunyah untuk mengobati luka bakar. Di Fiji, masyarakat menggunakan ekstrak daun dan kulit batang untuk mengobati berbagai jenis penyakit, termasuk gangguan perut, diare, disentri, penghilang nyeri (tulang, otot, sendi, dada, sakit kepala), demam, flu, diabetes, dan ulkus di mulut. Di Tonga, masyarakat menggunakan infusa dari kulit batang matoa untuk mengobati diare pada anak-anak, gangguan di perut, batuk yang disertai demam dan konstipasi, dan daunnya juga digunakan untuk pengobatan. Di Malaysia matoa digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk cacar air (*chicken pox*), dimana pasien dimandikan dengan ekstrak air panas dari kulit batang (Thompson dan Randolph 2006). Pada penelitian telah ditemukan aktivitas anti HIV-1 pada ekstrak etanol daun matoa (Suedee *et al.* 2013).

5. Kandungan kimia

Hasil penelitian lain Martiningsih *et al.* (2016) mengenai skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun matoa dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun matoa mengandung senyawa flavonoid dan tannin. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun matoa terdapat senyawa yang mengarah pada golongan flavonoid auron, flavonoid flavon, saponin dan tannin (Variany 1999). Hasil penelitian lain telah ditemukan pula kandungan saponin triterpenoid pada daun matoa dan kulit batang matoa (Mohammad *et al.* 2012). Isolasi dari ekstrak etanol daun matoa menghasilkan suatu senyawa yang teridentifikasi adalah tiga flavonoid (kuersetin, kaempferol, dan epikatekin), senyawa tanin (proantosianidin), dan saponin (triterpenoid saponin) (Suedee *et al.* 2013)



Quercetin-3-O-rhamnoside (4)

Gambar 2. Senyawa Flavonoid Kuersetin (Suedee *et al.* 2013).

4.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang mempunyai dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik C₃ (C₆-C₃-C₆). Kuersetin merupakan aglikon yang berwarna kuning, sukar larut dalam air dingin, tidak larut dalam air panas tetapi cukup larut dalam alkohol. Adanya gugus glikosil seperti ramnosida dapat memperbaiki kelarutan pada air (Gregory & Kelly 2011). Flavonoid yang terdapat pada daun matoa yaitu flavonoid glikosida, kuersetin dan epikatekin (Suedee *et al.* 2013).

4.2. Saponin. Saponin adalah glukosida triterpen sterol. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa bila

dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah. Saponin larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Saponin yang terdapat dalam daun matoa adalah jenis triterpenoidsaponin pentasiklik (Mohammad *et al.* 2012).

4.3. Tanin. Tanin mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Kelarutan tanin adalah larut dalam air, tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Robinson 1995). Tanin memiliki sifat dapat membentuk larutan koloidal yang bereaksi asam dalam air, mengendapkan larutan gelatin dan larutan alkaloid, tidak dapat mengkristal, larutan alkali dapat mengoksidasi oksigen dan mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut sehingga tidak dipengaruhi oleh enzim proteolitik (Harbone 1987). Senyawa tanin yang terdapat dalam daun matoa adalah proanthocyanidin (Suedee *et al.* 2013).

B. Hewan Uji

1. Sistematika hewan uji

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Krinke (2000) adalah sebagai berikut:

Bangsa	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Placentalia
Sub kelas	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: Rattus
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik hewan uji

Tikus merupakan hewan yang cerdas dan resisten terhadap infeksi. Tikus putih biasanya tidak bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan termasuk hewan yang tidak sering berkumpul dengan kelompoknya. Tikus putih mudah ditangani dengan cukup tenang. Aktivitasnya tidak terganggu oleh adanya manusia disekitarnya. Suhu tubuh normal 37,5°C, laju respirasi normal 210 tiap menit. Tikus putih bila diperlakukan dengan kasar akan menjadi galak dan sering

menyerang bagi pemegang. Kecepatan metabolisme obat tikus jantan lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina dan memiliki kondisi biologis tubuh lebih stabil dibanding tikus betina (Sugiyanto 1995).

3. Pengambilan dan pemegangan

Tikus ditempatkan di kandang dengan cara membuka kandang. Mengangkat tikus dengan tangan kanan, dan meletakkan diatas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakkan dipunggung tikus. Kepala tikus diletakkan diantara ibu jari dan jari tengah, jari manis dan kelingking di sekitar perut tikus sehingga kaki depan kiri dan kanan terselip diantara jari-jari. Tikus juga dapat dipegang dengan cara menjepit kulit pada tengkuknya (Harmita & Maksum 2005).

4. Pemberian sediaan uji

Pemberian obat pada hewan percobaan dengan jalan oral dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain dengan mencampurkannya dalam makanan atau minuman, menggunakan jarum oral, dan dengan pipa lambung yang terbuat dari karet atau plastik. Jarum yang digunakan untuk pemberian obat secara oral adalah jarum khusus berukuran 20 dengan panjang kira-kira 5 cm, ujungnya berbentuk bulat dengan lubang yang menyamping. (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Cairan obat diberikan dengan menggunakan sonde oral. Sonde oral ditempelkan pada langit-langit mulut atas mencit, kemudian perlahan-lahan dimasukkan sampai keesofagus dan cairan obat dimasukkan (Stevani 2016).

5. Pengambilan darah dan pengumpulan serum

Hewan dianastesi menggunakan eter, darah diambil dari vena jugularis atau vena optalmikus. Pengambilan darah dilakukan secara perlahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3-5 ml. Darah yang diperoleh ditampung dalam tabung mikrosentrifus, didiamkan pada suhu ruang selama 10 menit, kemudian disentrifuse selama 10 menit, dengan kecepatan 3000-3500 rpm. Serum dipisahkan dan disimpan untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Widiyastuti *et al.* 2015).

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah daun. Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Daun dipilih yang tua sebelum menguning, dipanen sebelum tanaman berbunga (Widiyastuti *et al.* 2015).

3. Cara pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia prosesnya didahului dengan pengumpulan bahan baku yang bertujuan untuk menentukan kualitas bahan baku yang baik. Dilakukan sortasi basah untuk pemilihan bahan ketika tanaman masih segar, kemudian dilakukan proses pencucian untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang terkontaminasi pestisida. Kemudian bahan baku ditimbang untuk penetapan kadar zat yang seksama pada sejumlah bahan yang ditimbang (Balitro 2008)

4. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dengan mengurangi kadar air dan menghentikan sensasi enzimatis sehingga dapat dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Metode pengeringan simplisia dapat dibedakan menjadi dua yaitu metode pengeringan terbuka dan metode pengeringan

dalam panas buatan. Metode pengeringan terbuka dilakukan dengan cara dikeringkan dibawah sinar matahari langsung atau diangin-anginkan. Metode pengeringan dalam panas buatan dilakukan dengan dikeringkan didalam oven, dimana panas yang dihasilkan lebih stabil, dapat dikontrol, dan waktu yang dibutuhkan relatif singkat (DepKes 1986). Suhu pengeringan pada umumnya antara 40-60⁰C dan hasil yang baik dari proses pengeringan adalah simplisia yang mengandung kadar air kurang dari 10% sampai 12% (DepKes RI 2000). Waktu pengeringan juga bervariasi, tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan seperti rimpang, daun, kayu ataupun bunga. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses pengeringan adalah kebersihan (khususnya pengeringan menggunakan sinar matahari), kelembapan udara, aliran udara dan tebal bahan (tidak saling menumpuk) (Ballitro 2008).

D. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif yang berkhasiat obat dari komponen tidak aktif atau inert di dalam jaringan tanaman atau hewan menggunakan pelarut yang selektif, sesuai dengan *standart* prosedur ekstraksi. *Standart* prosedur ekstraksi bertujuan untuk mencapai efek terapi yang diinginkan dan untuk menghilangkan bahan yang tidak diinginkan dengan pelarut yang selektif (Handa *et al.* 2008).

2. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani yang menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DepKes 1995). Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok dan terhindar dari pengaruh sinar matahari langsung (KemenKes 2013a).

3. Metode ekstraksi

3.1 Maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahayasiswa sambil diaduk sekali-kali setiap hari serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan kedalam bejana tertutup, biarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari. Enap tuangkan atau saring (BPOM 2010)

3.2 Perkolasi. Perkolasi dilakukan menurut cara yang tertera pada Tinctura. Setelah perkolator ditutup dan dibiarkan selama 24 jam, biarkan cairan menetes, tuangi massa dengan cairan penyari hingga jika 500 mg perkolat yang keluar terakhir diuapkan tidak meninggalkan sisa. Perkolat disuling atau diuapkan dengan tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga konsistensi yang dikehendaki. Pada pembuatan ekstrak cair, 0,8 bagian perkolat pertama dipisahkan, perkolat selanjutnya diuapkan hingga 0,2 bagian, campur dengan perkolat pertama. Pembuatan ekstrak cair dengan penyari etanol, dapat juga dilakukan dengan cara reperiolasi tanpa menggunakan panas. Ekstrak yang diperoleh dengan penyari air: Hangatkan segera pada suhu lebih kurang 90°C, enapkan, serkai, uapkan serkaian pada tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga bobot sama dengan bobot simplisia yang digunakan, enapkan ditempat sejuk selama 24 jam, serkai uapkan pada tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga konsistensi yang dikehendaki. Ekstrak (air dengan penyari etanol): hasil akhir harus dibiarkan ditempat sejuk selama 1 bulan, kemudian disaring sambil mencegah penguapan (BPOM 2010).

3.3 Refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (DepKes 2000).

3.4 Soxhlet. Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi

kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (DepKes 2000).

3.5 Digesti. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (DepKes 2000).

4. Pelarut

Pelarut adalah suatu zat untuk melarutkan zat farmasi lain atau suatu obat dalam preparat larutan. Pemilihan menstrum atau pelarut yang akan digunakan dalam ekstraksi dari bahan mentah obat tertentu berdasarkan pada daya larut zat aktif dan zat tidak aktif (Ansel 1989). Pertimbangan pemilihan pelarut adalah selektifitas, titik didih, pelarut bersifat inert, kapasitas kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut tersebut. Prinsip kelarutan adalah *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non polar (Susanti *et al.* 2012)

Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol diatas 20%, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, sedang kerugiannya adalah bahwa etanol mahal harganya (Ansel 1989). Etanol juga memiliki sifat untuk melarutkan flavonoid, tanin, dan saponin (DepKes 1986).

E. Uji Toksisitas

1. Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam (BPOM 2014). Tujuan uji toksisitas akut ialah untuk menetapkan suatu gejala sebagai akibat pemberian suatu senyawa dan untuk menentukan peringkat letalitas senyawa tersebut (Loomis 1978), untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat

digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya (BPOM 2014).

2. Uji toksisitas subkronik

Uji toksisitas subkronik yaitu untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan. Uji toksisitas subkronik dilakukan untuk memperoleh informasi adanya efek toksik yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, kemungkinan adanya efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang, memperoleh informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOAEL*), melihat adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tertentu (BPOM 2014).

Prinsip dari uji toksisitas subkronik yaitu sediaan uji dengan dosis bertingkat diberikan dengan satu dosis masing-masing kelompok, setiap hari selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek yang tertunda atau efek yang bersifat *reversible*. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi, dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir periode sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu dilakukan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi (BPOM 2014).

Jenis uji toksisitas subkronis menurut BPOM (2014) dibagi menjadi dua, yaitu :

2.1 Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari. Hewan yang digunakan adalah tikus putih galur wistar, masing-masing kelompok dosis menggunakan minimal 10 ekor yang terdiri dari 5 ekor betina dan 5 ekor jantan. Hewan diaklimasi diruang percobaan selama lebih kurang 7 hari. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk kelompok dengan variasi berat badan tidak lebih dari 20% dari rata-rata berat badan. Waktu pemberian sediaan uji setiap hari atau minimal 5 hari

dalam 1 minggu selama 28 hari. Pengamatan reversibilitas pada kelompok satelit dilakukan selama 14 hari setelah akhir pemberian sediaan uji.

2.2 Uji toksisitas subkronik oral 90 hari. Hewan yang digunakan adalah tikus putih galur wistar, masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 20 ekor yang terdiri dari 10 ekor betina dan 10 ekor jantan. Hewan diaklimasi di ruang percobaan kurang lebih 7 hari. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk kelompok dengan variasi berat badan tidak lebih dari 20% dari rata-rata berat badan. Waktu pemberian sediaan uji setiap hari atau minimal 5 hari dalam satu minggu selama 90 hari. Pada akhir penelitian dilakukan pemeriksaan biokimia darah, kemudian hewan uji yang masih hidup dikorbankan kemudian dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan histopatologi organ hepar.

3. Uji toksisitas kronik

Percobaan ini mencakup pemberian obat secara berulang selama 3 sampai 6 bulan atau seumur hidup hewan, misalnya 18 bulan untuk mencit dan 24 bulan untuk tikus dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet. Uji toksisitas subkronik ini dijalankan karena dipergunakan untuk memaparkan tidak adanya toksisitas bila dosis yang bersangkutan mewakili suatu tingkat dosis lazim dan untuk potensial karsinogenik suatu senyawa. Uji ini dilakukan dalam jangka waktu setahun atau lebih (loomis 1978). Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu panjang (BPOM 2014).

F. Uji Toksisitas Subkronik

1. Hewan Uji dan Jumlah

Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (Wistar). 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. Disediakan juga 2 kelompok satelit minimal 10 hewan per kelompok yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tinggi. Pengamatan

reversibilitas pada kelompok satelit dilakukan selama 14 hari setelah akhir pemberian sediaan uji. Sebelum percobaan dimulai, hewan diaklimatisasi di ruang percobaan selama lebih kurang 7 hari. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak lebih 20% dari rata-rata berat badan (BPOM 2014).

2. 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 kematian atau gejala toksisitas yang berat; dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik (NOAEL) (BPOM 2014).

3. Cara Pemberian dan Volume Pemberian

Pada dasarnya cara pemberian sediaan uji harus disesuaikan dengan cara pemberian atau pemaparan yang diterapkan pada manusia, biasanya diberikan secara oral dengan volume pemberian 1 mL sediaan uji per 100 g berat badan hewan, tetapi dalam kondisi tertentu volume pemberian dapat sampai 2 mL sediaan uji per 100 g berat badan hewan apabila digunakan pembawa air (BPOM 2014).

4. Pengamatan Gejala Klinis dan Toksik

Pengamatan terjadinya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekskresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misalnya berjalan mundur), kejang dan sebagainya dilakukan setiap hari selama 90 hari. Sedangkan untuk kelompok satelit pengamatan dilanjutkan selama 14 hari kemudian untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali dari pengaruh toksik (BPOM 2014).

5. Monitoring Berat Badan dan Konsumsi Pakan

Monitoring kenaikan berat badan dilakukan seminggu dua kali. Hewan ditimbang setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan.

Sedangkan jumlah makanan yang dikonsumsi ditimbang duahari sekali (BPOM 2014).

6. Pengambilan Darah

Pada akhir pemberian sediaan uji darah diambil menggunakan alat suntik steril dan selalu dijaga agar tidak terkena air (untuk menghindari terjadinya hemolisa). Setelah hewan di anestesi dengan eter darah diambil dari vena jugularis secara perlahan-lahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3–5 mL. Darah 0,5 mL dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus yang telah diisi antikoagulan (EDTA) sebanyak 10 μ L untuk pemeriksaan hematologi, sebanyak 0,5 mL darah untuk pembuatan apusan darah pada penetapan deferensial leukosit. Sisanya dimasukkan kedalam tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian dipindahkan kedalam tangas es tidak lebih dari 20 menit dan segera disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

Selain itu juga pengambilan darah juga dapat dilakukan dengan cara *Plexus Retroorbitalis* yaitu cara pengambilan darah yang dilakukan melalui mata. Cara ini dilakukan dengan menggoreskan mikrohematokrit pada medial canthus mata di bagian bawah bola mata ke arah foramen opticus. Mikrohematokrit kemudian diputar sampai melukai plexus, jika diputar 5 kali maka harus dikembalikan 5 kali, lalu darah ditampung (Permatasari 2012).

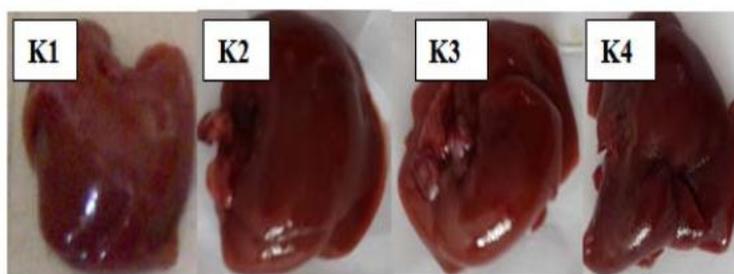
7. Parameter pengujian

Parameter hematologi meliputi: kadar hemoglobin, jumlah eritrosit (RBC/*Red Blood Cell*), jumlah leukosit (WBC/*White Blood Cell*), diferensial leukosit, hematokrit, jumlah platelet (trombosit), tetapan darah yaitu: MCV (*Mean Corpuscular Volume*), MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobin*), MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*). Parameter biokimia meliputi: natrium, kalium, glukosa, total-kolesterol, trigliserida, nitrogen urea, kreatinin, total-protein, albumin, GOT (*glutamat oksaloasetat transaminase*), GPT (*glutamat piruvat transaminase*), total bilirubin, *alkaline fosfatase*, *gamma glutamil trans-peptidase*, LDH (*laktat dehidrogenase*), asam empedu (*bile acids*). Sedangkan

menurut WHO (2000) pemeriksaan biokimia klinis meliputi: fungsi hati (GOT, GPT, Gamma GT) dan fungsi ginjal (nitrogen urea, kreatinin, total-bilirubin). Parameter utama minimal yang harus diperiksa adalah nitrogen urea, kreatinin, GOT dan GPT (BPOM 2014).

8. Pengamatan Makropatologi dan Penimbangan Organ

Hewan yang telah dikorbankan harus segera diotopsi dan dilakukan pengamatan secara makropatologi secara seksama untuk setiap organ. Mengeringkan terlebih dahulu organ yang akan ditimbang dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan bobot organ absolut (BPOM 2014).



Gambar 3. Gambaran Makroskopis organ hepar normal (Tatukude *et al.* 2014)

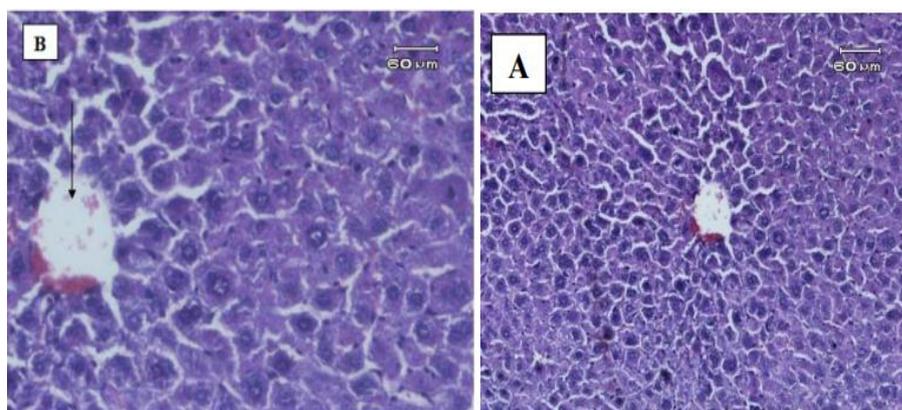
9. Pengamatan Histopatologi

Organ yang diperiksa secara histopatologi meliputi: otak, pituitari, tiroid, timus, paru-paru, jantung, hati, ginjal, limpa, adrenal, pankreas, testis, vesikula seminalis, kantong kemih, indung telur, uterus, epididimis, usus, limfo nodus, saraf tepi, lambung, tulang dada, tulang paha, sumsum tulang belakang atau sekurang-kurangnya 5 organ utama yaitu hati, limpa, jantung, ginjal, paru dan ditambah organ sasaran yang diketahui secara spesifik. Organ-organ kecil seperti pituitari, tiroid, adrenal yang tidak memungkinkan untuk dibuat preparat histopatologi dapat diabaikan. Setiap organ dan jaringan yang sudah dipisahkan segera dimasukkan dalam larutan dapar formaldehida 10% dan dibuat preparat histopatologi kemudian diperiksa dibawah mikroskop (BPOM 2014).

Organ direndam dalam larutan dapar formalin 10 % dan harus sering digoyang dan dibiarkan selama 1 minggu pada suhu kamar. Formalin dari masing-masing botol dibuang, lalu organ dipotong secara kasar. Kantong organ hasil

potongan dimasukkan ke dalam botol berisi larutan dapar formalin untuk difiksasi paling sedikit selama 3 hari. Setelah fiksasi kedua, untuk menghilangkan sisa formalin, kantong yang berisi organ dimasukkan kedalam, bak yang berisi air dan dialiri air ledeng secara terus menerus selama paling sedikit 6 jam. Proses dehidrasi dilakukan menggunakan alat dehidrasi otomatis. Jaringan yang telah terfiksasi dimasukkan ke dalam larutan etanol bertingkat, dengan kadar etanol 70%-100% untuk menghilangkan air dalam jaringan (dehidrasi). Selanjutnya jaringan dipindahkan ke dalam xylen untuk menghilangkan etanol (dealkoholisasi). Proses selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam parafin panas yang menginfiltrasi jaringan berlangsung selama 12-16 jam. Setelah jaringan mengeras dilakukan pemotongan jaringan dengan mikrotom dengan ketebalan 3-5 mikrometer.

Tahap selanjutnya adalah pengecatan, lapisan tersebut diletakkan diatas kaca objek untuk dilakukan pengecatan. Pewarnaan yang digunakan adalah *hematoksillin eosin* selanjutnya dikeringkan. *Hematoksillin* akan memberikan warna biru pada nukleus dan *eosin* memberikan warna merah pada sitoplasma. Tahap akhir, menutup permukaan preparat dengan kanada balsam. Kemudian kaca objek ditutup dengan kaca penutup memakai perekat *eukit*, preparat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran yang sesuai (BPOM 2014).



Gambar 4. Gambaran mikroskopik organ hepar pada tikus Wistar (Tatukude *et al.* 2014)

G. Organ Hati

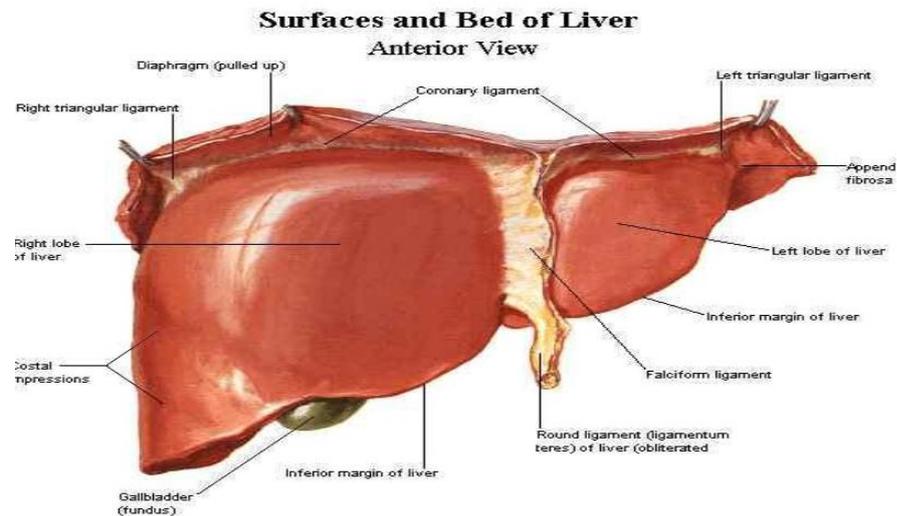
Hati adalah kelenjar terbesar didalam tubuh, terletak dibagian teratas dalam rongga abdomen sebelah kanan dibawah diafragma. Bagian hati terbagi menjadi dua bagian lobus kanan dan lobus kiri. Permukaan atas berbentuk cembung dan terletak di bawah diafragma, permukaan bawah tidak rata dan memperlihatkan lekukan. Hati mempunyai dua jenis persediaan darah, yaitu yang datang melalui arteri hepatica dan melalui vena porta (Pearce 2009). Hati mempunyai peran penting dalam metabolisme, detoksifikasi, penyimpanan. Hati merupakan organ yang rentang terhadap kerusakan karena metabolit yang bersifat toksik (Brzoska *et al.* 2003).

Menurut Frank (1995), hati menjadi sasaran toksisitas suatu zat karena hati memiliki banyak tempat pengikatan. Zat yang memasuki tubuh sebagian besar masuk kedalam tubuh melalui sistem gastrointestinal, kemudian diserap lalu dibawa oleh vena porta hati masuk ke dalam hati. Toksikologi hati dan berbagai mekanisme yang menyebabkan morfologik serta biokimia.

1. Struktur Hati

Hati berbentuk dua jenis sel yaitu sel hepatosit yang berasal dari epitel yang melakukan berbagai kegiatan metabolit dan sel-sel kupffer yang seperti sel retikulendotel diseluruh tubuh mempunyai fungsi fagositosis dan perombakan. Hati terbungkus oleh sebuah kapsul libroelastik yang disebut Kapsul Glisson dan secara makroskopik dipisahkan menjadi lobus kanan dan lobus kiri. Kapsul Glisson berisi darah, pembuluh darah, pembuluh limfe dan saraf. Kedua lobus hati tersusun oleh unit-unit yang lebih kecil yang disebut Lobulus. Lobulus terdiri atas sel-sel (hepatosit), yang menyatu dalam suatu lempeng. Hepatosit disebut sebagai unit fungsional hati. Aliran darah diatur sedemikian sehingga setiap lobulus dimasuki dan bagian perifer, kemudian menyusup ketengah lobulus dimasuki dan pada akhirnya berkumpul pada vena centralis. Satuan anatomis terkecil lobus yang terbentuk dari rangkaian hepatosit yang ditopang oleh anyaman reticulum yang mengelilingi saluran darah yang bernama sinusoid. Pertukaran zat dalam darah sinusoid dan hepatosit dapat terjadi secara maksimal karena darah dalam sinusoid dan sel-sel hati yang membatasi sinusoid bersentuhan secara erat. Sel-sel hati

dapat melakukan pembelahan sel dan mudah diproduksi kembali saat dibutuhkan untuk mengganti jaringan yang rusak (Corwin 2009). Anatomi organ hati dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Anatomi organ hati (Putz 2007)

2. Fungsi Hati

Fungsi dari organ hati sangat banyak dan kompleks. Hati memiliki fungsi yang penting untuk mempertahankan dan penting dalam proses metabolisme dalam tubuh. Hati mempunyai kapasitas cadangan yang besar dan cukup membutuhkan 10% sampai 20% fungsi jaringan untuk mempertahankan hidup. Kerusakan total atau pengambilan hati mengakibatkan kematian dalam 10 jam. Hati mempunyai kemampuan regenerasi, pada kasus pengambilan atau pembuangan sel hati yang mati, sel hati akan digantikan dengan sel yang baru (Noer 1996).

2.1 Fungsi metabolik. Hati memiliki fungsi pada metabolisme karbohidrat, lemak, protein, vitamin, selain itu hati dapat memproduksi energi dan tenaga. Proses glukoneogenesis terjadi didalam hati, yaitu hati mensintesis protein plasma kecuali globulin gamma. Protein yang disintesis merupakan albumin yang dibutuhkan untuk mempertahankan tekanan osmotik koloid, protombin, fibrinogen. Dalam proses metabolisme lemak, hati memiliki fungsi oksidasi beta asam lemak dan pembentukan asam asetoasetat yang sangat tinggi, pembentukan

lipoprotein, pembentukan kolesterol dan fosfolipid dalam jumlah yang besar (Noer 1996).

2.2 Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu. Empedu dihasilkan oleh hati sebanyak satu liter per hari. Saluran empedu mengalirkan, kantung empedu menyiapkan dan mengeluarkan empedu ke usus halus. Garam empedu oleh usus halus, direabsorpsi dalam ileum, mengalami resirkulasi, rekonjugasi dan resekreasi ke hati. Bilirubin merupakan hasil akhir dalam metabolisme. Bilirubin digunakan sebagai indikator penyakit hati dan saluran empedu dengan cara mewarnai jaringan dan cairan yang berhubungan dengan bilirubin (Noer 1996).

2.3 Fungsi vaskular hati. Aliran darah ke hati dalam tubuh orang dewasa setiap menitnya sekitar 1500 cc. Darah portal mengalir ke hati sebanyak 1200 cc melalui sinusoid, diteruskan ke vena sentralis dan ke vena hepatica, kemudian masuk ke dalam vena inferior. Darah arterial bercampur dengan darah portal, setelah masuk kedalam sinusoid. Hati berfungsi sebagai ruang penampung dan bekerja secara filter (Noer 1996).

2.4 Fungsi pertahanan tubuh. Sel kuffer terdapat di dinding sinusoid hati, mempunyai fungsi sebagai sistem endothelial, mempunyai kemampuan fagositosis yang dapat membersihkan kuman dalam vena porta sebesar 90%. Hati mempunyai fungsi sebagai detoksifikasi, enzim di dalam hati melakukan oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konjugasi zat yang dapat menimbulkan racun, dan mengubahnya menjadi zat yang secara fisiologi tidak aktif (Noer 1996).

3. Jenis Kerusakan Hati

3.1 Perlemakan hati. Perlemakan hati merupakan hati yang mengandung lipid lebih dari 50%. Berlebihnya lemak pada hati disebabkan oleh adanya toksikan yaitu etanol, fosfor, dan tetrasiklin. Penumpukan lemak didalam hati terjadi melalui mekanisme penghambatan sintesis satuan protein dari lipoprotein dan penghambatan konjugasi trigliserid dengan lipoprotein (Frank 1995).

3.2 Nekrosis hati. Nekrosis hati menyebabkan tersisnya hepatosit yang mengalami mumikasi dan kurang terwarnai. Pada nekrosis sel hati ditandai dengan adanya sel yang menyusut, batas tidak beraturan dan berwarna gelap (Cotran *et al.* 2006). Nekrosis mengalami 3 tahapan, yang pertama adalah

piknosis yang ditandai dengan inti sel yang terlihat bulat, mengecil, dan berwarna gelap, kemudian karioreksis yaitu inti sel terbagi atas fragmen-fragmen yang piknotik. Tahap selanjutnya adalah kariolisis yaitu inti sel akan terjadi lisis sehingga akan nampak rongga kosong dibatasi rongga inti (Cotran *et al.* 2006).

3.3 Sirosis hati. Sirosis hati adalah kondisi fibrosis dan pembentukan jaringan parut difusi di hati. Jaringan hati normal digantikan oleh nodus-nodus fibrosa keras serta pita-pita fibrosa yang mengerut dan mengelilingi hepatosit. Sirosis terjadi di hati 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 kalikulus, serta cedera hepatosit akibat toksin (Corwin 2009).

3.4 Fibrosis. Fibrosis merupakan gambaran yang sering ditemukan dan penting pada hepatitis kronis, walaupun kadang-kadang sama sekali tidak dijumpai. Fibrosis minimal menyebabkan ekspansi traktus portal. Fibrosis luas 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 kronis (Damjanov 2000).

3.5 Ensefalopati hepatica. Kerusakan ini merupakan suatu kompleks gangguan susunan syaraf pusat yang dijumpai 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. Ensefalopati hepatica sebagian timbul akibat penumpukan toksin didalam darah, yang terjadi apabila hati gagal mengubah atau mendetoksifikasi toksin-toksin tersebut secara adekuat (Corwin 2009).

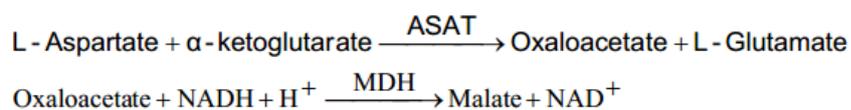
4. Parameter Kerusakan Hati

Sel hati memproduksi berbagai macam enzim. Enzim tersebut sangat penting untuk keperluan diagnostik karena dialirkan ke pembuluh darah, aktivitasnya juga dapat menunjukkan adanya penyakit hepar ataupun tingkat keparahannya. Serum transaminase adalah indikator yang sering digunakan dalam menilai kerusakan hati. (Tampubolon *et al.* 2014). Serum transaminase yang biasa

digunakan untuk mengidentifikasi adanya kerusakan hati adalah SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*) (Gines *et al.* 2011). Enzim SGPT dan SGOT masuk kedalam peredaran darah. Enzim SGOT terdapat di otot jantung, sel hati, otot tubuh, ginjal, dan pankreas. Enzim SGPT terdapat pada sel jaringan tubuh dan sel hati. Kerusakan pada hati dapat dilihat dari kadar SGPT dan SGOT yang meningkat, hal tersebut disebabkan karena ada sel yang kaya akan transaminase mengalami nekrosis (Noer 1996). Kenaikan enzim SGOT dan SGPT merupakan tanda kerusakan sel hati karena virus, obat-obatan atau toksin yang menyebabkan hepatitis, karsinoma metastatik, kegagalan jantung dan penyakit hati granulomatous. Pemicu lainnya yaitu mengkonsumsi alkohol (Noer 1996). Kadar normal SGOT pada laki-laki kurang dari atau sama dengan 42 U/liter, pada wanita yaitu kurang dari 37 U/liter. Kadar normal SGPT pada laki-laki yaitu kurang atau sama dengan 42 U/liter, sedangkan pada wanita yaitu kurang dari 37 U/liter. Pengukuran SGPT dan SGOT menggunakan metode kalorimetrik (Fiscbach 1998). Kerusakan hati yang disebabkan karena virus, atau obat-obatan akan menyebabkan kadar transaminase mengalami kenaikan lebih dari 1000 U. Kenaikan kadar transaminase serum sebanyak sepuluh kali lipat dapat menyebabkan nekrosis hepatoseluler akut (Noer 1996).

Bila kerusakan sel-sel hepar sebagian mengenai membran dari sel hepar maka kenaikan SGPT lebih menonjol, sebaliknya kerusakan sel hepar terutama mengenai organel akan menyebabkan kenaikan SGOT yang lebih menonjol. Enzim hepar mempunyai kecepatan pembersihan plasma dengan waktu yang berbeda-beda. Waktu paruh dari SGPT adalah 47 jam, sedangkan waktu paruh SGOT adalah 17 jam. Sehingga pada kerusakan akut hepatosit, peningkatan SGOT akan lebih tinggi pada awalnya dikarenakan aktivitas SGOT sitoplasma yang lebih besar dalam hepatosit. Namun dalam 24-48 jam jika kerusakan hepar terus berlangsung, maka peningkatan SGPT akan lebih terlihat dibandingkan SGOT karena waktu paruh SGPT yang lebih panjang dibandingkan dengan SGOT (Soemohardjo, 1982).

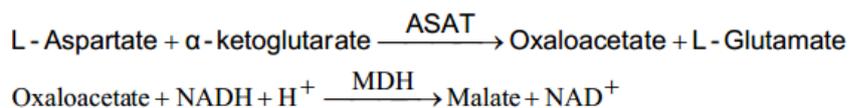
Pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT diukur dengan metode *optimized UV test*. Prinsip penetapan kadar GPT adalah L-alanin (pereaksi A) dan 2-oksoglutarat (pereaksi B) dengan adanya GPT akan menjadi L-glutamat dan piruvat, hasil urai tersebut dengan adanya NADH akan direduksi menghasilkan l-laktat dan NAD⁺. Jumlah hasil urai yang terbentuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer (BPOM 2014).



MDH = malate-dehydrogenase

Gambar 6. Reaksi pemeriksaan SGPT (Raflizar 2009)

Prinsip penetapan kadar GOT adalah L-aspartat (pereaksi A) dan 2-oksoglutarat (pereaksi B) dengan adanya GOT akan menjadi L-glutamat dan oksaloasetat, hasil urai tersebut dengan adanya NADH akan direduksi menghasilkan l-malat dan NAD⁺. Jumlah hasil urai yang terbentuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Kadar GPT dapat ditentukan dengan menghitung rata-rata selisih absorbansi setiap menit dikali faktor 1745 (BPOM 2014).



MDH = malate-dehydrogenase

Gambar 7. Reaksi pemeriksaan SGOT (Raflizar 2009)

H. Histologi dan Histopatologi

1. Histologi

Histologi merupakan cabang ilmu biologi anatomi. Histologi berasal dari bahasa Yunani yaitu *histos* yang berarti jaringan dan *logos* yang berarti ilmu, jadi histologi adalah ilmu yang mempelajari tentang struktur dari hewan secara terperinci diamati menggunakan mikroskop pada jaringan yang diiris tipis dan

mempelajari hubungan antara struktur pengorganisasian sel dan jaringan serta fungsi-fungsi yang mereka lakukan (Lesson *et al.* 1995). Jaringan merupakan sekumpulan sel yang tersimpan dalam suatu kerangka struktur atau matriks yang mempunyai suatu kesatuan organisasi yang mampu mempertahankan keutuhan dan penyesuaian terhadap lingkungan diluar batas dari kemampuannya (Bajpai 1989)

Langkah untuk membuat sajian histologi yaitu; pertama bahan yang diambil berasal dari hewan yang sedang dianestesi. Kemudian dilakukan fiksasi yang tujuannya untuk mengawetkan protoplasma agar terpelihara dalam keadaan yang sama pada masa hidup. Reagen yang digunakan dalam fiksasi adalah formalin, alkohol, merkuri biklorida, kalium bikromat, asam pikrat, asam asetat, asam osmiat. Kedua setelah difiksasi dilakukan dehidrasi dengan etil-alkohol agar tidak terdapat kelebihan zat fiksasi, kemudian dilakukan penjernihan menggunakan xilol, kloroform, dan benzene. Ketiga adalah di infiltrasi menggunakan parafin atau seloidin dan dipadatkan untuk mendapatkan masa yang homogen. Jaringan tersebut dipotong tipis, dipindahkan ke kaca objek, lalu irisan dikembangkan di atas air pada kaca objek, dan di atas bidang pemanas, diuapkan, saat irisan menempel pada permukaan kaca, jaringan siap dipulas (Leeson *et al.* 1995)

Langkah selanjutnya adalah pemulasan. Untuk memulas suatu irisan parafin dengan zat warna, parafin harus dihilangkan terlebih dahulu dengan mencelupkannya ke dalam xilol atau toluol. Zat warna yang berlebih dibilas dengan air dan alkohol. Melakukan dehidrasi pada irisan jaringan, kemudian dipindahkan ke dalam larutan dengan zat penjernih. Irisan yang telah dijernihkan diberi setetes medium saji, kemudian ditutup dengan kaca, tunggu sampai mengering dan diamati dengan menggunakan mikroskop (Leeson *et al.* 1995).

2. Histopatologi

Cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi merupakan salah satu pertimbangan dalam penentuan diagnosis, melalui pengamatan terhadap organ tertentu (Robbins *et al.* 2006). 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).

Organ dicuci dengan NaCl fisiologi, selanjutnya difiksasi dengan menggunakan buffer formalin 10%. Dilanjutkan dehidrasi menggunakan alkohol mulai dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% masing-masing selama 24 jam dilanjutkan dengan alkohol 100 % selama 1 jam yang diulang 3 kali. Setelah dehidrasi dilanjutkan dengan penjernihan dengan menggunakan xylol sebanyak 3 kali masing-masing selama 1 jam. Jaringan kemudian ditanam dalam media paraffin. Kemudian jaringan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron kemudian diletakkan pada kaca objek untuk selanjutnya diwarnai pewarna Hematoksin-Eosin (HE). Setiap perubahan dari masing-masing organ hati dari beberapa kelompok hewan uji tikus dibuat rata-rata skor perubahan gambaran histopatologi hati, kemudian dihitung persentasenya yang dinyatakan sebagai persentase kerusakan organ hati. Preparat histopatologi diperiksa dibawah mikroskop dilakukan dengan pembesaran 100x kemudian dilanjutkan dengan perbesaran 400x. Perubahan histopatologi yang diamati meliputi adanya degenerasi melelemak (vakuolisasi) dan nekrosis (Nursal *et al.* 2006)

I. Landasan Teori

Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat tradisional. Daun matoa dapat digunakan sebagai obat demam, sakit kulit, dan bengkak keseleo. Sebagian masyarakat di daerah asalnya, telah mengenal dan memanfaatkan air dari seduhan daun matoa sebagai salah satu obat-obatan tradisional yang diketahui mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, tanin dan saponin (Dalimartha 2008). Daun matoa mengandung senyawa flavonoid dan tanin (Martiningsih *et al.* 2016; Rahimah *et al.* 2013), saponin (Mohammad *et al.* 2012) dan tanin (Dalimartha 2008). Mekanisme senyawa flavonoid yang dapat menghambat fase penting dalam biosintesis prostaglandin yaitu pada lintasan siklooksigenase, dan dapat juga menghambat fosfodiesterase, aldoreduktase, monoamine oksidase, protein kinase, DNA polimerase dan lipooksigenase (Robinsson 1995). Tanin memiliki efek

farmakologis yaitu untuk mengobati diare, menghentikan pendarahan, dan mengobati ambien (Lenny 2006). Tanin dapat bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus sehingga dapat menghambat penyerapan lemak (Harbone 1987). Saponin memiliki aktivitas farmakologi dengan aglikon triterpenoid yang banyak dimanfaatkan sebagai ekspektoran dan antiinflamasi (Bruneton 1999). Saponin dengan aglikon steroid sangat penting dalam sintesis bahan-bahan seperti hormon seks, kortison, vitamin D, dan glikosida jantung (Evans 2002)

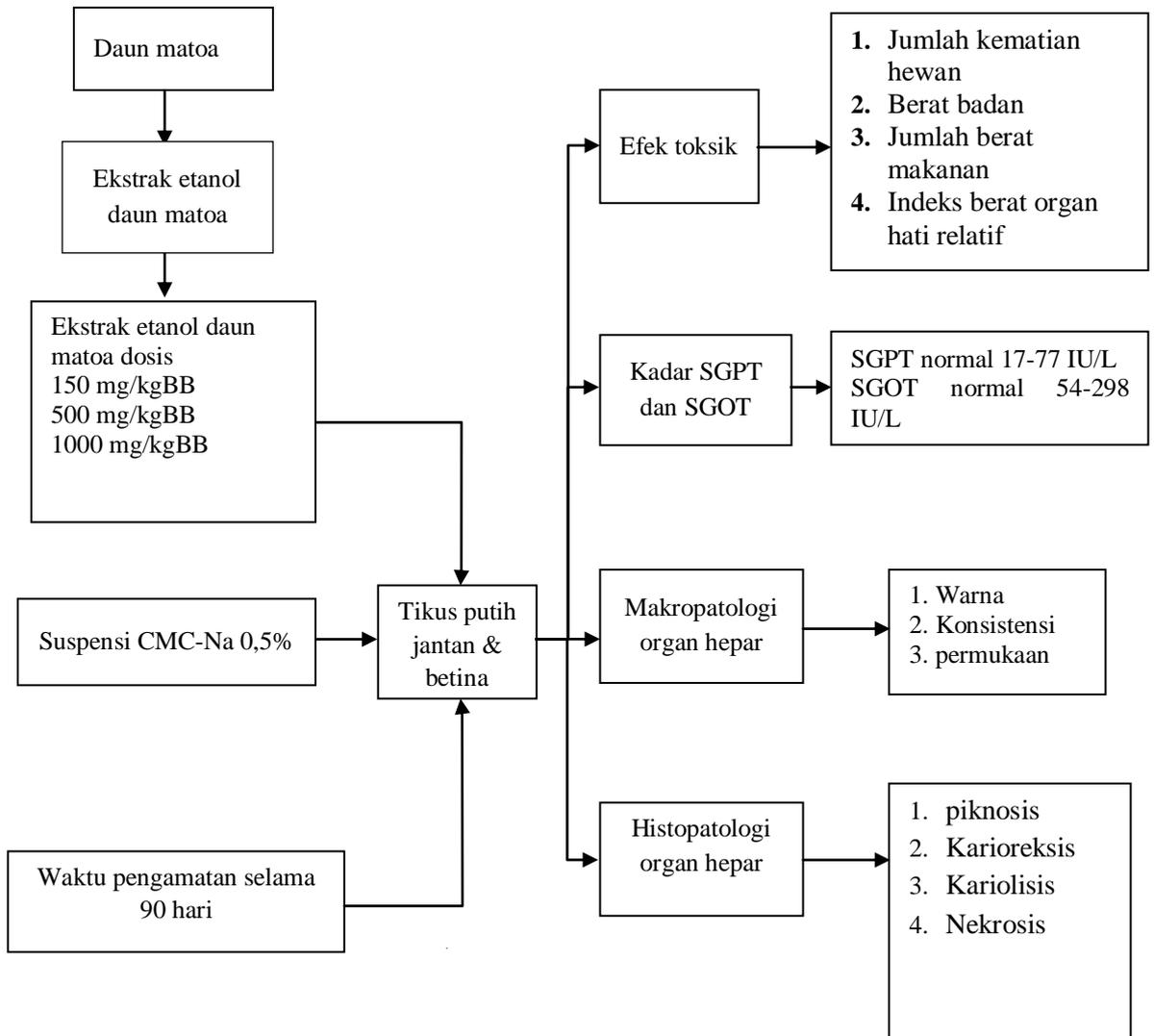
Penelitian lain yang telah dilakukan Purwidyaningrum *et al.* (2016) melalui uji aktivitas diuretik ekstrak daun matoa. Ekstrak etanolik daun matoa memiliki aktivitas sebagai diuretik yang paling efektif pada dosis 100 mg/kgBB dapat meningkatkan ekskresi sodium dan potassium dalam urin. Dosis efektif ekstrak etanol daun matoa sebagai diuretik sebesar 100 mg/kgBB. Hasil penelitian lain mengenai ekstrak etanol daun matoa pada uji pengaruh pemberian ekstrak etanol daun matoa terhadap penurunan kadar kolesterol total pada tikus putih menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun matoa dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dapat menurunkan kolesterol total serum darah tikus, dengan dosis efektif 100 mg/kgBB (Putri 2017). Hasil penelitian sebelumnya dari Purwidyaningrum *et al.* (2017), mengenai ekstrak dan fraksi daun matoa melalui uji aktivitas antihipertensi ekstrak dan fraksi daun matoa. Diketahui bahwa ekstrak daun matoa pada dosis 150 mg/kgBB dan fraksi pada dosis 13,08 mg/kgBB selama 28 hari dapat menurunkan tekanan darah dan memiliki profil pemberian terapi yang sama dengan hidroklorthiazid pada dosis 0,45 mg/kgBB.

Penggunaan obat tradisional yang digunakan dalam jangka panjang perlu diperhatikan keamanannya, serta belum banyaknya penelitian tentang mekanisme senyawa yang berperan dalam daun matoa mendorong perlunya penentuan toksisitas subkronis, walaupun penggunaan obat tradisional dirasa lebih aman. Prinsip uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji yang diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok selama 28 hari, dan ditambahkan juga kelompok satelit selama 14 hari untuk melihat adanya efek yang tertunda (BPOM 2014). Pada pengujian uji toksisitas subkronik salah satu organ vital yang diamati adalah hati. Hati penting untuk hidup dan karena

letaknya diantara saluran pencernaan, hati mudah rusak oleh bahan-bahan toksik yang diserap karena hati tidak hanya menerima darah dari arteri tetapi juga menerima darah dari saluran cerna melalui vena porta yang membawa berbagai bahan toksik ke dalam hati. Kerusakan hati antara lain yaitu : perlemakan hati, nekrosis hati, sirosis hati, asites dan ensefalopati hepatis (Corwin 2009).

Enzim yang spesifik diamati untuk monitoring fungsi hati adalah *Serum Glutamat Piruvat Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase* (SGOT). Enzim ini secara normal ada disel hati. Namun jika terjadi kerusakan, sel hati akan melepaskan enzim ini kedalam darah. Peningkatan enzim tersebut didalam darah menunjukkan adanya kerusakan hati (Baron 1990). Perubahan dan peningkatan pada enzim tersebut merupakan perubahan biokimia sebagai wujud efek toksik dan digunakan sebagai indikator adanya pengaruh efek toksik terhadap organ hati. Pengembangan daun matoa sebagai bahan sediaan obat alami harus didukung oleh adanya penelitian. Salah satu penelitian yang dilakukan adalah pengujian toksisitas. Peneliti sebelumnya telah melakukan uji toksisitas akut dengan LD₅₀ > 5000 mg/kgBB tikus (Purwidyaningrum 2017). Gambaran histopatologi hati digunakan untuk menilai perubahan pada sel dan jaringan hati, yang dianalisis secara diskriptif dengan menghitung distribusi frekuensi perubahan tersebut. Gambaran histologi hati digunakan untuk mengamati jaringan secara langsung guna memastikan adanya infeksi, infiltrasi atau fibrosa dan kanker dalam pemeriksaan fungsi hati (Corwin 2009).

J. Kerangka Pikir



Gambar 8. Kerangka Pikir Peneliti

K. Hipotesis

Hipotesis yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah:

Pertama, ekstrak etanol daun matoa pada dosis 100, 500, dan 1000 mg/kgBB yang diberikan selama 90 hari tidak berpengaruh terhadap kadar SGOT pada tikus putih galur wistar.

Pertama, ekstrak etanol daun matoa pada dosis 100, 500, dan 1000 mg/kgBB yang diberikan selama 90 hari tidak berpengaruh terhadap kadar SGPT pada tikus putih galur wistar.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol daun matoa pada dosis 100, 500, dan 1000 mg/kgBB yang diberikan selama 90 hari tidak tidak mempengaruhi nilai indeks organ, gambaran makroskopis dan histopatologi organ hati pada tikus putih galur wistar.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) yang terdapat di daerah Tawang Sari, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun matoa yang diperoleh dari daerah Sukoharjo, Jawa Tengah. Sampel diambil pada bulan September tahun 2017 dengan sistem secara acak dipilih daun yang berwarna hijau, belum terlalu tua, sehat dan tidak berpenyakit.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun matoa dalam berbagai variasi dosis. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kadar enzim SGOT dan SGPT serta hasil pengamatan makroskopis pada organ hati tikus putih jantan dan betina. Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah hewan uji dan kondisi percobaan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identitas dari semua variabel yang diteliti langsung yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun matoa yang diperoleh dengan cara maserasi dalam berbagai variasi dosis yang diberikan pada tikus jantan dan betina.

Variabel tergantung adalah variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek toksisitas subkronik ekstrak daun matoa terhadap organ hepar tikus putih jantan dan betina melalui pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT, serta hasil pengamatan makroskopis organ hati.

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

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun matoa adalah bagian dari tanaman matoa yang termasuk dalam spesies *Pometia pinnata* J.R. & G. Forst., tua tetapi tidak terlalu tua, berwarna merah tidak berpenyakit yang diambil dari daerah Tawang Sari, Sukoharjo, Jawa Tengah.

Kedua, Serbuk daun matoa adalah daun dari tanaman matoa yang sudah dikeringkan lalu digiling sampai halus kemudian diayak dengan pengayak nomor 40 hingga diperoleh serbuk halus daun matoa.

Ketiga, ekstrak etanol daun matoa adalah ekstrak yang dihasilkan dari penyarian dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian dipekatkan di atas *vaccum rotary evaporator* pada suhu 50°C. Karena titik didih etanol sekitar 78°C sehingga pemekatan dilakukan pada suhu di atas 50°C untuk memisahkan etanol dari air.

Keempat, penggunaan hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dan betina, usia 8-12 minggu, berat badan 150-200 gram diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kelima, parameter uji fungsi hati dalam penelitian ini adalah kadar enzim SGOT dan SGPT serta hasil pengamatan makroskopis dan histopatologi organ hati berupa kerusakan sel hati tikus jantan dan betina galur wistar yang dipejankan ekstrak etanolik daun matoa. Pengamatan kerusakan sel hati dilakukan dengan cara membuat preparat histopatologi, organ hati diambil dari hewan uji kemudian dibuat preparat histopatologi dengan metode *block paraffin* dan pengecatan *Haematoxilin Eosin*.

Keenam, efek toksisitas subkronik yang diamati. Efek toksisitas subkronik yang diamati yaitu perubahan kadar SGPT dan SGOT serta gambaran

histopatologi pada organ hati setelah pemberian ekstrak etanolik daun matoa dengan berbagai variasi dosis selama 90 hari.

Ketujuh, kelompok satelit adalah kelompok hewan uji yang digunakan untuk melihat adanya reversibilitas yang dilakukan setelah pemberian sediaan uji selama 90 hari dan dilanjutkan 28 hari tanpa diberi perlakuan.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) yang diperoleh dari daerah Tawanghari, kab. Sukoharjo, Jawa Tengah.

1.1. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan sebagai kontrol negatif adalah CMC Na 0,5%. Penetapan aktivitas SGOT ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen kit Dyasis SGOT (R1) TRIS pH 7,65 sebanyak 110 mmol/L, L-aspartate 320 mmol/L, MDH (*malate dehydrogenase*) ≥ 800 U/L dan LDH (*lactate dehydrogenase*) ≥ 1200 U/L: reagen SGOT (R2) 2-oksoglutarate 65 mmol/L dan NADH 1 mmol/L. Penetapan aktivitas SGPT ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen kit Dyasis SGPT (R1) TRIS pH 7,15 sebanyak 140 mmol/L, L-alanine 700 mmol/L dan LDH (*lactate dehydrogenase*) ≥ 2300 U/L: reagen SGPT (R2) 2-oksoglutarate 85 mmol/L dan NADH 1 mmol/L. (BPOM 2014)

1.2. Hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan dan betina galur wistar dengan usia 6-8 minggu dan bobot badan 100-200 gram.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, penggiling, ayakan no 40, botol warna gelap, gelas ukur, corong kaca, batang pengaduk, mortir, stamper, aluminium foil, spatel, kain flanel, botol penampung, beaker glass, erlenmeyer, fotometer, penangas air, vortex, tabung reaksi, pipet eppendorf, tip eppendorf kuning dan biru, pisau, kantong kasa, kain kasa, botol fiksasi, botol dehidrasi, alat dehidrasiotomatis, blok kayu, alat potong beku,

mikrotom, kaca obyek, lemari pemanas, alat pewarna jaringan, mikroskop binokuler, obyek glas, cover glas.

D. Tata Cara Penelitian

1. Determinasi daun matoa

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah dilakukan determinasi daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel daun matoa berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis, makroskopis, serta ciri-ciri morfologi tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi dan menghindari kesalahan pengumpulan bahan. Determinasi akan dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Setiabudi Surakarta.

2. Pembuatan serbuk daun matoa

Daun matoa dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai kering, kemudian diserbuk menggunakan ayakan ukuran 40 mesh. Serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat selanjutnya digunakan penelitian.

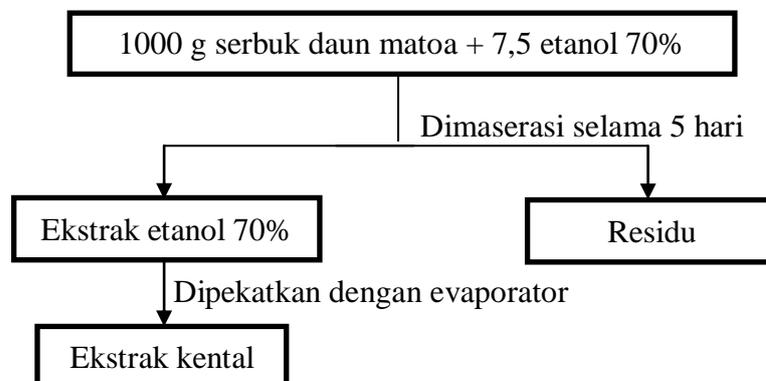
3. Penetapan kadar air serbuk daun matoa.

Penetapan kadar air serbuk daun matoa dilakukan dengan cara serbuk 20 g ditimbang kemudian, dimasukan lebih kurang 200 ml xylen ke dalam labu, kemudian alat dihubungkan. Tuang xylen ke dalam tabung penerima melalui alat pendingin. Labu dipanaskan secara hati-hati selama 15 menit. Setelah xylen mendidih, suling dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian air tersuling, kemudian kecepatan penyulingan dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Tabung penerima dibiarkan dingin hingga suhu kamar. Setelah air dan xylen memisah sempurna, volume air dibaca. Kadar air dihitung dalam persen (Mutiatikum *et al.* 2010)

4. Pembuatan ekstrak etanolik daun matoa

Serbuk daun matoa 1000 g dimasukan ke dalam botol berwarna gelap, kemudian etanol 70% ditambahkan sebanyak 7,5 L (7,5 bagian penyari). Kemudia ditutup dan didiamkan selama 5 hari dengan pengocokan berulang. Setelah 5 hari maserat disaring dan residu diperas. Sisa etanol 70% ditambahkan ke residu, diaduk dan diserikai hingga didapat seluruh sari sebanyak 10 bagian.

Sari yang didapat dipekatkan dengan evaporator hingga didapatkan ekstrak kental (DepKes 1986).



Gambar 9. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Matoa

5. Identifikasi kualitatif

5.1 Identifikasi flavonoid. Serbuk dan ekstrak daun matoa sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 1 ml etanol. Kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg-P dan 10 tetes HCl pekat. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavonoid (Fansworth 1996)

5.2 Identifikasi saponin. Serbuk dan ekstrak daun matoa encer ditambah air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif bila terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Robinson 1995).

5.3 Identifikasi tanin. Serbuk dan ekstrak daun matoa ditimbang sebanyak masing-masing 0,5 g dilarutkan 10 ml aquadeest kemudian disaring dan filtrat ditambah 3 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Setyowati *et al.* 2014).

6. Tes bebas etanol ekstrak daun matoa

Tes bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol daun matoa sudah tidak mengandung etanol, yaitu dengan cara dilakukan reaksi esterifikasi alkohol sehingga dapat dilakukan reaksi esterifikasi alkohol. Ekstrak daun matoa ditambah dengan asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Tidak adanya bau ester (etil asetat) yang khas senyawa etanol menunjukkan bahwa ekstrak tersebut sudah bebas dari senyawa etanol (Wahyuningsih 2010).

7. Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan daun matoa dilakukan menggunakan alat *Moisture balance*. Serbuk daun matoa sebanyak 2 gram ditimbang dan dimasukkan dalam wadah. Suhu diatur 105°C dan tunggu sampai pemanasan berhenti. Hasil susut pengeringan pada alat dicatat dalam satuan persen (%) terhadap bobot awal. Penetapan susut pengeringan dilakukan sebanyak 3 kali. Kadar air yang memenuhi syarat jika kadar air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10% (Raharjo 2014).

8. Pembuatan Suspensi Na-CMC 0,5%

Suspensi CMC konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara 0,5 g CMC disuspensikan sedikit demi sedikit dalam aquadestilata hingga volume 100 ml. Suspensi ini digunakan sebagai suspending agent ekstrak daun matoa.

9. Penetapan dosis

Penetapan dosis didasarkan pada penelitian Purwidyaningrum *et al.* (2016) dimana dosis yang digunakan untuk dosis rendah adalah dosis efektif ekstrak etanol daun matoa sebagai antihipertensi sebesar 150 mg/kgBB, dan untuk dosis menengah yaitu 500 mg/kgBB tikus. Batas dosis yang diberikan pada hewan uji adalah 1000 mg/kgBB tikus (BPOM 2014). Dosis 1000 mg/kgBB juga digunakan sebagai dosis maksimal uji toksisitas dan digunakan untuk kelompok satelit.

10. Prosedur pengujian Uji Toksisitas Subkronis

10.1 Penyiapan hewan uji. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih galur wistar jantan dan betina, umur 6-8 minggu dengan bobot badan antara 120-250 gram. Hewan tersebut diaklimasi terlebih dahulu selama kurang lebih 7 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan dan selama proses adaptasi dilakukan pengamatan kondisi umum serta dilakukan penimbangan berat badan setiap hari. Hewan uji yang sakit, dengan ciri-ciri aktivitas berkurang, lebih banyak diam, dan bulunya berdiri, tidak diikuti sertakan dalam penelitian.

10.2 Dosis dan lama pemberian. Sediaan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun matoa dan larutan CMC Na 0,5%. Volume maksimal larutan uji yang dapat diberikan pada tikus secara oral sebesar < 5ml. Dosis sediaan uji ekstrak etanol daun matoa yang digunakan pada

penelitian ini berdasarkan dari dosis ekstrak etanol daun matoa dengan aktivitas sebagai antihipertensi pada tikus yaitu 150 mg/kgBB (Purwidianingrum 2015). Dosis yang digunakan pada penelitian ini dibuat dengan tiga variasi dosis yaitu dosis rendah (150 mg/kgBB), dosis sedang (500 mg/kgBB), dosis tinggi (1000 mg/kgBB) dan kelompok satelit dengan dosis 1000 mg/kgBB. Sedangkan untuk larutan CMC Na 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 gram CMC dalam 100 ml aquadestilata. Sediaan uji akan diberikan setiap hari selama 90 hari (BPOM 2014).

10.3 Pengelompokan hewan uji. Pada penelitian ini digunakan lima kelompok perlakuan sebanyak 100 ekor tikus yang terdiri dari 50 ekor jantan dan 50 ekor betina. Dibagi menjadi lima kelompok secara acak yaitu satu kelompok kontrol, tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok satelit. Masing-masing kelompok uji terdiri dari 20 ekor tikus (10 ekor jantan dan 10 ekor betina).

Kelompok I : diberi larutan CMC 0,5% (kelompok kontrol negatif)

Kelompok II : diberi ekstrak daun matoa dengan dosis 150 mg/kgBB

Kelompok III : diberi ekstrak daun matoa dengan dosis 500 mg/kgBB

Kelompok IV : diberi ekstrak daun matoa dengan dosis 1000 mg/kgBB

Kelompok V : diberi ekstrak daun matoa dengan dosis 1000 mg/kgBB
(kelompok satelit)

10.4 Pengambilan darah. Pengambilan darah dilakukan pada awal pengujian (T0), hari ke-90 (T90), dan hari ke-118 (untuk kelompok satelit). Hewan dianestesi menggunakan gas CO₂, Darah diambil menggunakan mikropipet, darah diambil dari vena yang ada di mata hewan uji sebanyak 2 ml, satu mikropipet digunakan untuk satu hewan. Darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, kemudian disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

10.5 Penetapan kadar GOT (*Glutamat Oksaloasetat Transaminase*) dan GPT (*Glutamat Piruvat Transaminase*). Penetapan kadar GOT dan GPT dilakukan dengan metode fotometri. Pemeriksaan dilakukan pada hari sebelum dan sesudah 90 hari pemberian sediaan uji untuk mengetahui ada atau tidak

pengaruh ekstrak daun matoa terhadap fungsi hati. Pengambilan darah dilakukan pada (T0), hari ke-90 (T90), dan hari ke-118 (untuk kelompok satelit). Sejumlah 100 µL serum uji direaksikan dengan 1000 µL pereaksi uji untuk pemeriksaan GOT di dalam tabung reaksi 5 mL dihomogenkan dengan bantuan vortex. Darah yang telah diambil, ditampung dalam tabung sentrifuge. Kemudian sentrifuge hingga terpisah antara serum dan sel-sel darah menjadi pemisahan antara cairan bening di atas, dan endapan. Sentrifuge dilakukan selama 15 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Serum darah sebanyak 100 µl dicampur dengan reagen Kit SGPT dan SGOT sebanyak 1000 µl pada fotometer pada panjang gelombang 340 nm dan suhu 37°C (Indarto 2013).

Tabel 1. Kebutuhan reagen yang digunakan

Perlakuan	Blanko	Sampel
Kalibrasi	50 µL	-
Reagen kerja	100 µL	50 µL

10.6 Euthanasia hewan percobaan. Eutanasia dilakukan dengan gas CO₂, dengan tikus diletakkan pada kotak yang tertutup plastik yang dialiri gas CO₂ secara bertahap sampai hewan tidak sadar dan mati (AVMA 2013).

10.7 Penimbangan dan penetapan indeks organ hati . Penimbangan organ dilakukan pada hari terakhir perlakuan. Hewan uji dikorbankan menggunakan gas CO₂, kemudian dibedah untuk diambil organ hati untuk dihitung % indeks organ. Organ diambil kemudian dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan berat organ. % indeks organ dapat diperoleh dengan menggunakan persamaan sebagai berikut: %

$$\text{indeks organ} = \frac{\text{berat organ}}{\text{berat badan}} \cdot 100\%$$

10.8 Perlakuan hewan uji pasca bedah. Pada akhir penelitian setelah dilakukan pembedahan dan pengambilan organnya, jasad hewan uji dikubur dengan membuat lubang dengan kedalaman minimal setengah meter untuk menghindari terbongkarnya tempat penguburan. Hewan uji dikubur di tempat yang telah disediakan di Universitas Setia Budi

10.9 Pengamatan makropatologi. Pengamatan makropatologi pada hewan uji, hewan yang telah dikorbankan harus segera diotopsi dan dilakukan pengamatan secara makropatologi secara seksama untuk setiap organ. Organ yang diamati yaitu hati (BPOM 2014).

10.10 Pembuatan preparat histopatologi. Pada hari ke 90 semua hewan uji dibedah kemudian diambil hatinya. Organ hati diambil seluruhnya dan di fiksasi dengan larutan formalin 4% minimal selama 24 jam. Masukkan sepotong jaringan hati setebal 4-6 mm ke dalam aseton 3 kali. Setiap jam, kemudian dimasukkan ke dalam benzol 2 kali setiap 15 menit. Dilakukan parafinasi selama 1-2 jam, kemudian jaringan hati dicetak dalam paraffin. Jaringan hati dipotong dengan ketebalan 4-5 um dengan menggunakan mikrotom. Dilakukan pewarnaan *hematoksin eosin* sebagai berikut : celupkan slide jaringan hati ke dalam xylol I selama 5-10 menit, kemudian xylol II selama 5 - 10 menit, alkohol 96% selama 3 - 5 menit, alkohol 70% selama 3-5 menit, aquadestilata selama 5 menit, hematoksin selama 10-15 menit, air selama 10 menit alkohol asam 2-3 kali celup, air mengalir selama 10 menit, eosin 1% selama 3 menit, alkohol 70% 3 kali celup, alkohol 96% 3 kali celup, alcohol absolute 3 kali celup, kemudian di celup pada karbol xylol, xylol I, xylol II, selanjutnya ditutup dengan gelas penutup yang diberi balsem Canada. Pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 kali dan 100 kali (Raflizar 2009). Dalam menilai derajat kelainan histopatologi hati ini, digunakan skoring Pada perhitungan sel hepar yang dilakukan dibawah mikroskop, didapatkan Skor Kerusakan Hati (SKH) tikus sebagai berikut:

$$SKH = (\sum \text{sel piknotik} \times 1) + (\sum \text{sel karioreksis} \times 2) + (\sum \text{sel kariolisis} \times 3)$$

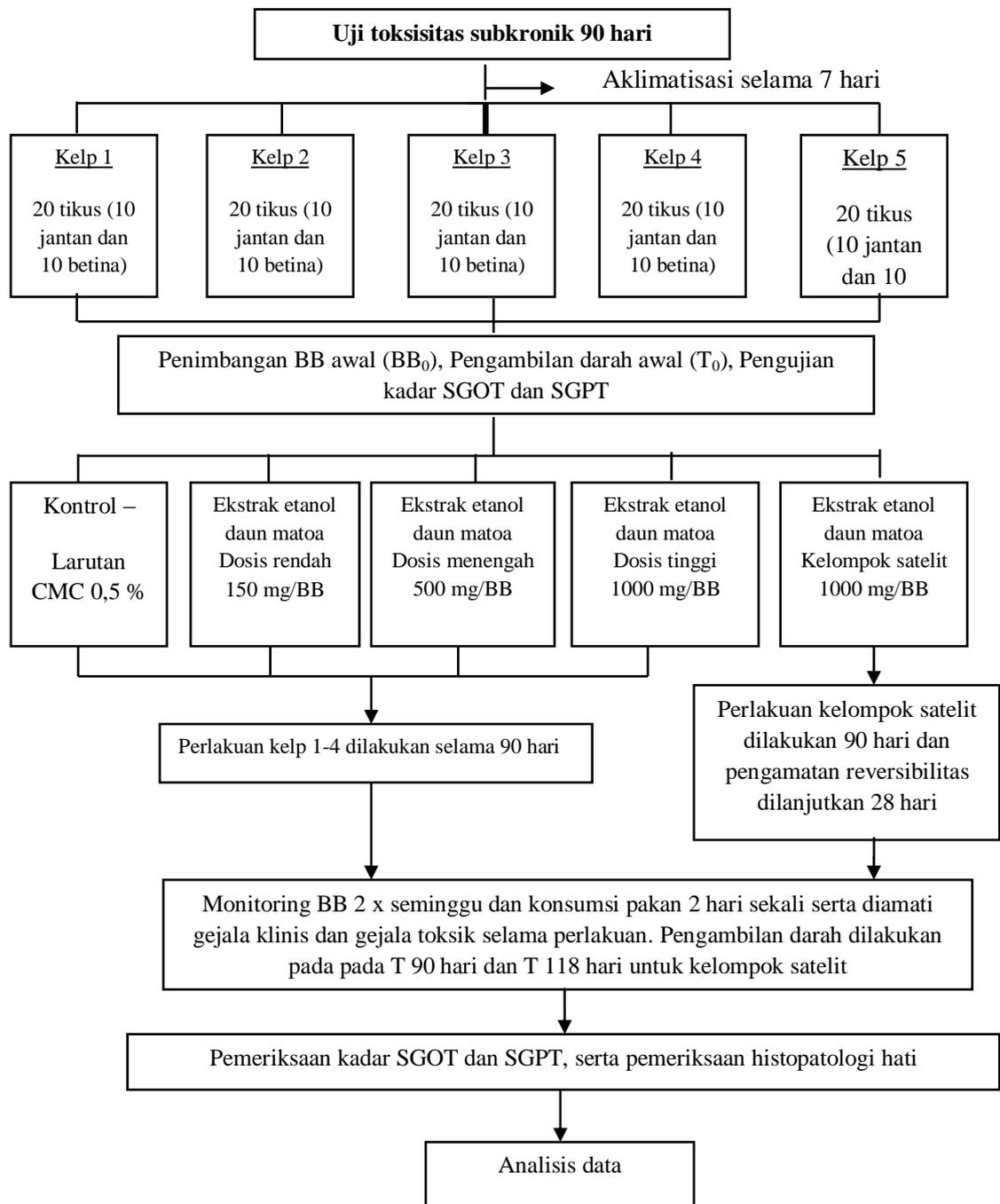
\sum sel piknotik : Jumlah inti piknotik dalam 1 lobulus yang diamati

\sum sel karioreksis : Jumlah inti karioreksis dalam 1 lobulus yang diamati

\sum sel kariolisis: Jumlah inti kariolisis dalam 1 lobulus yang diamati

E. Analisis Data

Data yang diperoleh pada toksisitas subkronis adalah berupa data kualitatif yang didapatkan melalui pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT dari serum darah yang diambil pada awal pengujian (T0), hari ke 90 (T2), dan hari 118 (untuk kelompok satelit). Pada hari ke-91 dilakukan pemeriksaan histopatologi pada organ hewan uji yang diberi perlakuan dengan kelompok hewan uji kontrol negatif, dan pada hari ke-119 dilakukan pemeriksaan histopatologi pada organ hewan uji kelompok satelit. Data yang diperoleh digunakan untuk mengevaluasi ketoksikan pada organ hewan uji tikus. Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT dari serum dianalisis dengan metode *Kolmogorov-Smirnov*, sedangkan kehomogenan varian uji dengan *Levene* menggunakan taraf kepercayaan 95%. Apabila data terdistribusi normal dan homogen untuk tiap variasinya maka dilakukan uji ANOVA (analisa varian) satu jalan. Apabila data terdistribusi tidak normal maka dilakukan uji *Kruskal-Walis* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Untuk melihat ada tidaknya perubahan parameter diawali dan diakhiri penelitian seiring berjalannya waktu maka dilakukan analisa *Paired Sample T-Tes*.



Gambar 10. Skema Uji Toksisitas Subronik Ekstrak Etanol Daun Matoa

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Matoa

1. Hasil determinasi tanaman

Tanaman matoa sebelum digunakan sebagai sampel penelitian terlebih dahulu dilakukan determinasi. Determinasi dilakukan di Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui tanaman yang diambil adalah benar-benar tanaman yang digunakan dalam penelitian, dilakukan dengan cara mencocokkan ciri morfologis tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi.

Berdasarkan surat keterangan hasil determinasi tanaman matoa berdasarkan Backer: Flora of Java dengan kode : 1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24a - 25b - 26b - 27a - 28b - 29b - 30b - 31a - 32a - 37b - 38b - 39b - 41b - 42b - 44b - 45b - 46e - 50b - 51b - 53b - 54b - 56b - 57b - 58b - 59d - 73b - 74a - 75b - 76a - 77a - 78b - 103b - 104a - 106a - 107a - 108b - 109a - 110b - 115a - 116b - 117b - 118c. familia137. Sapindaceae. 1b - 2b - 4a - 6b. 16. Pometia. 1a. *Pometia pinnata* J.R. & G. Frost. Menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar tanaman matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Frost. Surat keterangan hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun matoa diperoleh dari petani di daerah Tawang Sari, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah pada bulan September 2017 dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk. Pengeringan yang dilakukan menggunakan oven dengan suhu tetap 40°C dimaksudkan untuk mencegah timbulnya kuman, kapang dan kamir yang dapat menyebabkan pembusukan serta mencegah terjadinya perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu dan khasiat daun matoa. Daun Matoa yang telah kering selanjutnya dilakukan penggilingan dan kemudian diayak dengan ayakan mesh 40. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperbesar luas permukaan kontak serbuk dengan pelarut ekstraksi, sehingga senyawa aktif yang didapatkan lebih banyak dan waktu yang diperlukan untuk proses ekstraksi lebih cepat.

Tabel 2. Hasil perhitungan rendemen daun matoa

Berat basah (kg)	Berat kering (kg)	Rendemen (%)
48	18	45

Hasil penimbangan berat basah daun matoa sebanyak 40 kg dan didapatkan berat kering daun matoa sebesar 18 kg, sehingga diperoleh persentase rendemen sebesar 45 %. Hasil dapat dilihat pada tabel 1 dan perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 2.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun matoa

Metode penetapan susut pengeringan serbuk daun matoa menggunakan alat *Moisture Balance*. Penetapan susut pengeringan ini bertujuan untuk melihat hasil dari serbuk daun matoa yang didapatkan memenuhi persyaratan yang sesuai dengan standar yang sudah ditetapkan atau tidak. Hasil penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil susut pengeringan serbuk daun matoa

Berat penimbangan (g)	Kadar %
2,0	8,0
2,0	8,5
2,0	9,0
Rata-rata ± SD	8,50 ± 0,50

Hasil penetapan susut pengeringan dengan menggunakan *Moisture Balance* diperoleh rata-rata kadar sebesar 8,50 %. Nilai ini menyatakan jumlah maksimal senyawa yang mudah menguap atau hilang, nilai ini identik dengan kadar air jika simplisia tersebut tidak mengandung minyak atsiri..

4. Penetapan kadar air serbuk daun matoa

Penetapan kadar air dalam serbuk daun matoa pada penelitian ini menggunakan *Sterling Bidwell*. Cairan pembawa yang digunakan adalah *xylene* karena *xylene* memiliki titik didih yang lebih besar dari air serta tidak bercampur dengan air. Perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 4. Persentase penetapan kadar air serbuk daun matoa

Replikasi	Serbuk daun matoa (g)	Volume (ml)	Kadar (%)
Replikasi I	20	0,9	4,5
Replikasi II	20	0,8	4
Replikasi III	20	0,9	4,5
Rata-rata ± SD	20	0,9	4,33 ± 0,29

Hasil penetapan kadar air serbuk daun matoa yang dilakukan sebanyak 3 kali didapatkan rata-rata 4,33%. Kadar air yang diperoleh memenuhi syarat yaitu

kurang dari 10%, karena jika kadar air > 10 % akan menjadi media yang baik untuk pertumbuhan jamur (Sitorus *et al.* 2012).

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun matoa

Pembuatan ekstrak etanol daun matoa menggunakan metode maserasi dengan perbandingan serbuk dan pelarut adalah 1:10. Serbuk daun matoa yang digunakan adalah 1000 gram dengan pelarut etanol 70 % sebanyak 10 liter. digunakan etanol 70% karena etanol adalah penyari yang bersifat universal yaitu dapat melarutkan senyawa polar maupun senyawa nonpolar. Etanol yang paling baik untuk menghasilkan senyawa aktif yang optimal adalah etanol 70% (Voight, 1995).

Tabel 5. Hasil persentase rendemen ekstrak daun matoa

Sampel	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Daun matoa	1000	320	32

Tabel 5 menunjukkan persentase rendemen dari ekstrak daun matoa sebesar 32 %. Hasil rendemen ekstrak yang tinggi dapat disebabkan karena penggunaan pelarut etanol 70%. Menurut Haygreen *et al.* (1985) Pelarut etanol memiliki dua gugus yang berbeda kepolarannya yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Dengan adanya dua gugus ini diharapkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda akan terekstrak ke dalam etanol sehingga kandungan kimia yang terkandung dalam tanaman dapat tersari lebih banyak. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun matoa

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun matoa dilakukan dengan menggunakan metode uji tabung, yang dimana hasilnya dilihat secara kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan flavonoid, saponin dan tanin. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun matoa dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa daun matoa

Kandungan	Hasil & Interpretasi		Pustaka
	Serbuk	Ekstrak	
Flavonoid	Merah jingga (+)	Merah jingga (+)	Menunjukkan warna merah / kuning / jingga pada lapisan amil alkohol (DepKes RI 1979).
Saponin	Terbentuk buih stabil (+)	Terbentuk buih stabil (+)	Buih setinggi 1 sampai 10 cm. Dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (DepKes RI 1977).
Tanin	Warna hijau kehitaman (+)	Warna hijau kehitaman (+)	Menunjukkan warna hijau violet atau hijau kehitaman (Harborne 1987).

Hasil identifikasi flavonoid menunjukkan adanya warna jingga yang berarti positif adanya flavonoid. Magnesium dan asam klorida bereaksi membentuk gelembung- gelembung yang merupakan gas H₂, sedangkan Logam Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga (Tiwari *et al.* 2011). Hasil identifikasi saponin. setelah serbuk dan ekstrak dikocok dalam akuades akan terbentuk busa stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik dan setelah ditambahkan asam klorida 2 N busa tersebut tidak hilang. Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa jika dikocok, karena saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa (Baud *et al.* 2014).

Hasil identifikasi tannin pada serbuk dan ekstrak daun matoa adalah positif mengandung tanin dengan memberikan warna hijau kehitaman. Penambahan ekstrak dengan FeCl₃ 1% dalam air menimbulkan warna hijau, merah, ungu atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl₃ 1% karena tanin akan beraksi dengan ion Fe³⁺ membentuk senyawa kompleks (Harbone, 1987). Hal tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Suedee *et al.* (2013) bahwa pada daun matoa terdapat senyawa kimia yaitu flavonoid (kuersetin, kaempferol, epikatekin), saponin (triterpenoid saponin) dan tanin (proantosianidin).

7. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun matoa

Uji bebas etanol ekstrak daun matoa menggunakan uji esterifikasi yang bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi dalam pengujian toksisitas pada hewan uji. Ekstrak daun matoa ditambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat lalu dipanaskan. Hasil uji esterifikasi kali ini, didapatkan hasil bahwa ekstrak daun matoa tidak berbau ester yang khas, yang menandakan bahwa tidak terdapat etanol di dalam ekstrak daun matoa.

B. Hasil Uji Toksisitas Subkronis Daun Matoa

1. Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar sebanyak 100 ekor yang terdiri dari 50 ekor jantan dan 50 ekor betina yang diperoleh dari perternakan khusus di wilayah Surakarta, Jawa Tengah. Tikus yang digunakan, sebelumnya diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan tempat uji. Tikus dibedakan berdasarkan kelompok dosis, dimana setiap kelompok terdiri dari 20 ekor tikus, yaitu 10 ekor jantan dan 10 ekor betina. Surat hewan uji dapat dilihat pada lampiran 8.

2. Penetapan dosis hewan uji

Dosis yang digunakan berdasarkan dosis efektif ekstrak daun matoa sebagai antihipertensi yaitu 150 mg/kgBB (Purwidyaningrum *et al.* 2016). Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah dosis rendah 150 mg/kgBB, dosis sedang 500 mg/kgBB, dosis tinggi 1000 mg/kgBB, dan untuk kontrol satelit diberikan dosis yang tinggi yaitu 1000 mg/kgBB, sedangkan untuk kelompok kontrol negatif diberikan larutan CMC 0,5%. Pemberian sediaan kepada hewan uji berdasarkan berat badan hewan uji. Perhitungan dosis terdapat pada lampiran 11.

3. Hasil rata-rata indeks organ hati.

Berat organ relatif merupakan berat organ absolut dibanding berat badan (BPOMRI 2014). Pemeriksaan persen indeks organ relatif hati dilakukan dengan cara menimbang bobot organ hati dan selanjutnya melakukan perhitungan dengan

cara membagi bobot organ dengan berat badan hewan uji dan dikalikan 100% untuk mencari persen indeks organ relatif hati.

Tabel 7. Hasil rata-rata indeks organ hati

Kelompok	Rata-rata indeks organ hati (%) \pm SD	
	Jantan	Betina
Kontrol negatif	3,413 \pm 0,464	2,638 \pm 0,521
Dosis 150 mg/kgBB	3,607 \pm 0,931	3,373 \pm 0,560
Dosis 500 mg/kgBB	3,310 \pm 0,496	2,593 \pm 0,585
Dosis 1000 mg/kgBB	3,177 \pm 0,634	3,243 \pm 0,229
Kontrol satelit	2,657 \pm 0,224	3,420 \pm 0,339

Pemeriksaan indeks organ hati pada hewan uji jantan dan betina diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan analisis uji *levene* dan *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa data tersebut homogen dan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Hal ini berarti ekstrak daun matoa tidak mempengaruhi indeks organ hati pada hewan uji jantan dan betina pada setiap kelompok. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 20.

4. Hasil pengamatan makroskopis

Setelah 90 hari perlakuan terhadap hewan uji, hewan uji pada kelompok negatif, dosis 150, 500, dan 1000 mg/kgBB dibedah, sedangkan untuk kelompok kontrol satelit dibedah pada hari ke 118, kemudian dilihat organ hatinya secara makroskopis. Pengamatan organ hati dilakukan untuk melihat adanya perubahan pada organ, baik warna, bentuk, dan ada tidaknya perlemakan hati. Dari hasil pengamatan warna pada setiap organ hati pada hewan uji jantan dan betina, memiliki warna yang sama seperti warna hati normal dan memiliki permukaan yang licin, namun terdapat bintik-bintik pada permukaan hati pada semua kelompok dosis dan perlemakan hati pada beberapa kelompok. Menurut Robins dan Kumar (1992), menyatakan bahwa hati yang normal memiliki permukaan rata dan halus serta berwarna merah kecokelatan, sedangkan hati yang abnormal memiliki permukaan berbintik-bintik, terdapat kista dan mengalami perubahan warna.

Perlemakan hati terjadi pada kelompok dosis 150 mg/kgBB dan kelompok satelit untuk hewan uji jantan, sedangkan untuk hewan uji betina perlemakan hati

terjadi pada semua kelompok perlakuan. Untuk mengetahui adanya reversibilitas dapat dilihat pada kelompok kontrol negatif. Pada hewan uji jantan tidak mengalami reversibilitas hal tersebut dapat diketahui melalui masih adanya perlemakan hati pada kelompok satelit. Namun efek reversibilitas dapat dilihat pada hewan uji betina pada kelompok satelit tidak ditemukan adanya perlemakan hati. Perlemakan hati (*fatty liver*) merupakan pengumpulan lemak (lipid) yang berlebihan di dalam sel-sel hati. Perlemakan hati merupakan gambaran patologi yang ditandai dengan akumulasi lemak di dalam sel hati yang disebabkan adanya gangguan pada metabolisme lipid di hati, faktor penyebab terjadinya perlemakan hati meliputi diet yang tidak seimbang, malabsorpsi serta obat-obatan (Panjaitan *et al* 2007). Tetapi hal ini tidak dapat disimpulkan bahwa perlemakan hati terjadi karena adanya faktor dari sediaan uji, karena hanya 6 ekor tikus yang mengalami perlemakan hati. Hasil pengamatan makroskopis organ hati dapat dilihat pada lampiran 16.



Gambar 11. Perlemakan hati dan bintik-bintik pada permukaan hati

5. Hasil pemeriksaan kadar SGOT (Serum glutamic oxaloacetic transaminase)/ Aspartat aminotransaminase (AST)

Pemeriksaan laboratorium terhadap aktivitas SGOT menunjukkan hasil pemeriksaan kadar pada kelompok perlakuan sebelum dan sesudah diberikan sediaan uji. Menurut Szmidt *et al.* (2013) rentang normal kadar SGOT tikus berkisar antara 39-111 IU/L. Perhitungan kadar SGOT merujuk pada nilai normal SGOT pada tikus.

Tabel 8. Kadar SGOT pada tikus jantan

Kelompok perlakuan	Kadar SGOT \pm SD Jantan Bulan-		
	T0	T90	T118
Kontrol negatif	88,30 \pm 12,29	117,90 \pm 23,33	
150 mg/kgBB	88,67 \pm 12,44	151,39 \pm 10,50	
500 mg/kgBB	93,21 \pm 17,38	178,99 \pm 20,08*	
1000 mg/kgBB	93,82 \pm 16,35	245,68 \pm 37,34*	
Satelit	92,72 \pm 25,23	228,18 \pm 18,37*	203,18 \pm 34,64*

Tabel 9. Kadar SGOT pada tikus betina

Kelompok perlakuan	Kadar SGOT \pm SD Betina Bulan-		
	T0	T90	T118
Kontrol negatif	109,90 \pm 49,25	129,19 \pm 35,14	
150 mg/kgBB	106,53 \pm 42,06	141,60 \pm 41,14	
500 mg/kgBB	107,70 \pm 39,97	148,63 \pm 42,04	
1000 mg/kgBB	108,17 \pm 27,25	180,86 \pm 23,42*	
Satelit	105,25 \pm 35,49	189,66 \pm 25,53*	174,19 \pm 17,32

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

T0 : Rata-rata kadar SGOT Hari ke-0

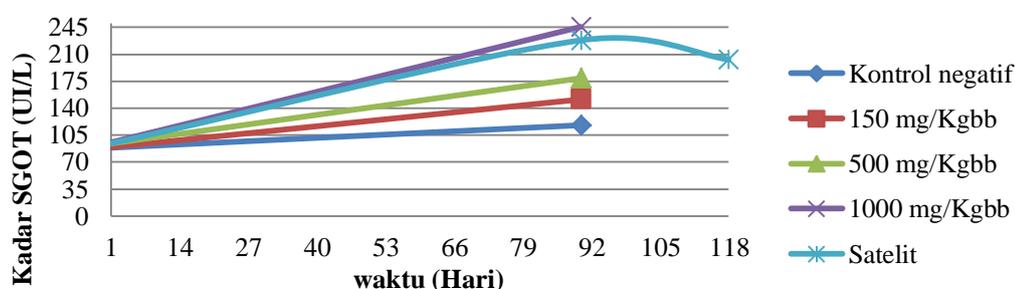
T90 : Rata-rata kadar SGOT Hari ke-90

T118 : Rata-rata kadar SGOT Hari ke-118

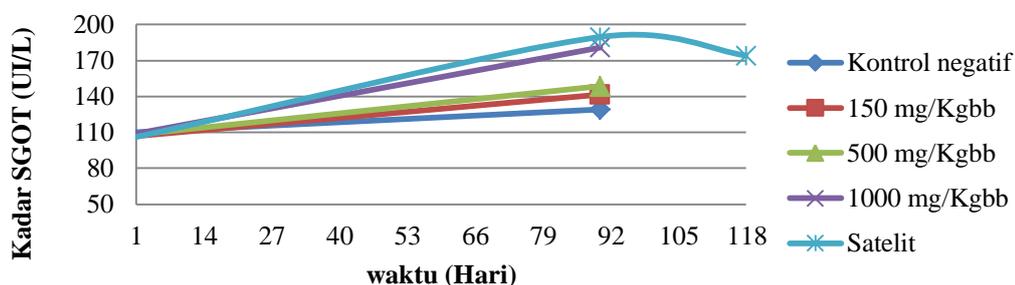
Analisis statistik kadar SGOT pada tikus jantan dan betina untuk T0, T90 dan T118 diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p \geq 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan analisis uji *levene* dan *One Way Anova* untuk T0 dan T90. Hasil analisis statistik T0 pada hewan uji jantan dan betina dengan uji *levene* dan *One Way Anova* didapatkan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa data tersebut homogen dan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Hasil analisis statistik T90 pada hewan uji jantan dan betina dengan uji *levene* didapatkan nilai signifikan ($p \geq 0,05$) menunjukkan bahwa data tersebut homogen, dilanjutkan dengan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Dilakukan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis 500 mg/kgBB, 1000mg/kgBB, dan kelompok satelit pada hewan uji jantan, sedangkan kelompok perlakuan 1000mg/kgBB, dan kelompok satelit pada hewan uji betina. Berdasarkan hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun matoa dapat

menyebabkan perubahan kadar SGOT pada hewan uji jantan dan betina pada hari ke-90 (T90).

Analisis statistik T118 untuk kelompok satelit pada hewan uji jantan dan betina dianalisis menggunakan *Paired T-Test*. Uji ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya perubahan atau reversibilitas antara kelompok satelit T90 dengan kelompok satelit T118. Hasil analisis yang didapat pada hewan uji jantan dengan nilai probabilitas $\leq 0,025$ yang artinya ada perbedaan yang bermakna antara kelompok satelit pada T90 yang diberikan sediaan uji terhadap kelompok satelit T118 yang tidak diberikan sediaan uji. Untuk mengetahui adanya reversibilitas sampai pada titik normal maka dilanjutkan dengan analisis statistik antara kelompok satelit pada T118 dan kelompok satelit pada T0. Hasil analisis yang didapat pada hewan uji jantan nilai probabilitas $\leq 0,025$ yang artinya ada perbedaan yang bermakna antara kelompok satelit T118 dan kelompok satelit T0. Hal tersebut menunjukkan bahwa reversibilitas yang terjadi pada kelompok satelit T118 tidak mencapai titik normal. Hasil analisis yang didapat pada hewan uji betina nilai probabilitas $\geq 0,025$ yang artinya tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok satelit pada T90 dengan kelompok satelit pada T118. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada hari ke-118 kadar SGOT untuk kelompok hewan uji jantan mengalami reversibilitas, sedangkan pada kelompok hewan uji betina belum mengalami reversibilitas. Hal tersebut dikarenakan penurunan kadar SGOT pada hewan uji betina pada T118 tidak signifikan sehingga pada hasil uji statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok satelit T90 dengan kelompok satelit T118.



Gambar 12. Grafik rata-rata kadar SGOT Jantan.



Gambar 13. Grafik rata-rata kadar SGOT Betina

Berdasarkan gambar 12 dan 13 rata-rata kadar SGOT pada kelompok hewan uji jantan dan betina setiap kelompoknya mengalami kenaikan. Menurut Lembang *et al.* (2015) kerusakan hepar baru berarti secara klinis apabila terjadi peningkatan kadar SGOT antara tiga sampai sepuluh kali lipat dari range normal. Pada hewan uji jantan pada dosis 500 mg/kgBB mengalami kenaikan kadar sebesar 3 kali dari range normal, sedangkan pada dosis 1000 mg/kgBB dan kelompok satelit yang diberikan dosis 1000 mg/kgBB terjadi kenaikan kadar SGOT sebesar 4 kali dari range normalnya. Sedangkan pada hewan uji betina pada dosis 1000 mg/kgBB dan kelompok satelit yang diberikan dosis 1000 mg/kgBB terjadi kenaikan kadar SGOT sebesar 3 kali dari range normalnya. Pemeriksaan kadar SGOT pada T118 mengalami penurunan kadar baik hewan jantan maupun betina dari bulan sebelumnya karena adanya efek *reversible* yaitu efek pemulihan perbaikan fungsi hati yang terjadi setelah penghentian pemberian sediaan uji. Kenaikan kadar tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun matoa selama hari dapat menyebabkan penurunan fungsi organ hati sehingga menyebabkan kenaikan kadar SGOT. Kenaikan kadar SGOT baik pada hewan uji jantan dan betina yang lebih dari tiga kali lipat dibandingkan dengan range normal hal tersebut menunjukkan bahwa pada dosis 1000 mg/kgBB ekstrak etanol daun matoa dapat menimbulkan efek toksik.

6. Hasil pemeriksaan kadar SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase)/ Alanin aminotransferase (ALT)

Hasil pemeriksaan kadar SGPT pada bulan sebelum pemberian sediaan uji pada kelompok hewan jantan menunjukkan rentang dibawah normal. Menurut

Szmidt *et al.* (2013) rentang normal kadar SGOT tikus jantan berkisar antara 20-61 IU/L. Perhitungan kadar SGPT merujuk pada nilai normal SGPT pada tikus.

Tabel 10. Kadar SGPT pada tikus jantan

Kelompok perlakuan	Kadar SGPT \pm SD Jantan Bulan-		
	T0	T90	T118
Kontrol negatif	45,26 \pm 7,25	58,53 \pm 11,11	
150 mg/kgBB	42,25 \pm 9,87	65,70 \pm 11,90	
500 mg/kgBB	42,33 \pm 9,66	75,97 \pm 18,82	
1000 mg/kgBB	45,21 \pm 8,66	78,86 \pm 19,02	
Satelit	48,28 \pm 9,88	83,03 \pm 7,36	75,75 \pm 8,81

Tabel 11. Kadar SGPT pada tikus betina

Kelompok perlakuan	Kadar SGPT \pm SD Betina Bulan-		
	T0	T90	T118
Kontrol negatif	41,42 \pm 8,31	65,38 \pm 25,85	
150 mg/kgBB	43,62 \pm 16,23	66,32 \pm 9,67	
500 mg/kgBB	44,60 \pm 10,84	73,28 \pm 18,28	
1000 mg/kgBB	44,50 \pm 7,55	84,11 \pm 25,30	
Satelit	51,61 \pm 15,01	78,43 \pm 22,07	77,66 \pm 11,52

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

T0 : Rata-rata kadar SGOT Hari ke-0

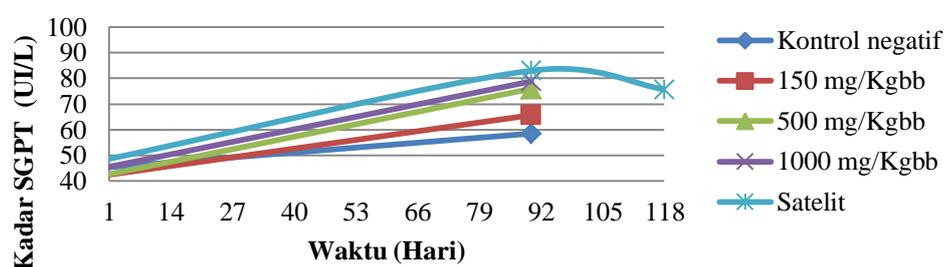
T90 : Rata-rata kadar SGOT Hari ke-90

T118 : Rata-rata kadar SGOT Hari ke-118

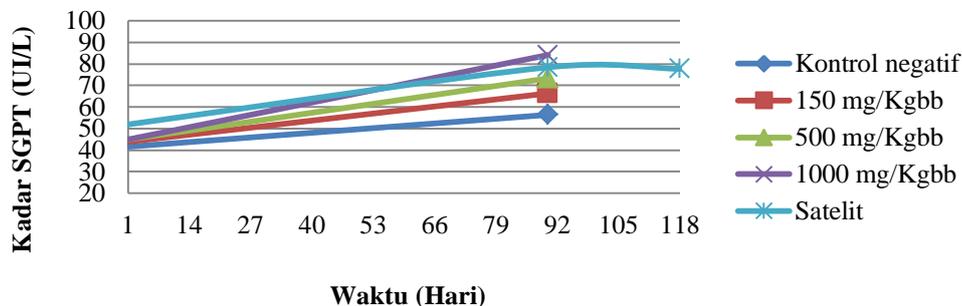
Analisis statistik kadar SGPT pada tikus jantan maupun betina pada T0, T90, dan T118 diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan analisis uji *levene* dan *One Way Anova* untuk T0 dan T90. Hasil analisis statistik T0 dan T90 pada hewan uji jantan dan betina dengan uji *levene* dan *One Way Anova* didapatkan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa data tersebut homogen dan tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Hal ini berarti ekstrak daun matoa tidak menyebabkan perubahan kadar SGPT pada hewan uji jantan dan betina. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 20.

Analisis statistik T118 untuk kelompok satelit pada hewan uji jantan dan betina dianalisis menggunakan *Paired T-Test*, digunakan uji ini karena pada subjek perlakuan yang sama tetapi diberikan perlakuan yang berbeda. Uji ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah ada perubahan atau reversibilitas antara kelompok satelit diwaktu 90 hari dengan kelompok satelit pada waktu 118 hari. Hasil analisis yang didapat pada hewan uji baik jantan

maupun betina dengan nilai probabilitas $\geq 0,025$ yang artinya tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok satelit yang diberikan sediaan uji terhadap kelompok satelit yang tidak diberikan sediaan uji. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar SGPT hewan jantan dan betina pada T118 belum mengalami reversibilitas. Hal tersebut dikarenakan penurunan kadar SGOT pada T118 tidak signifikan sehingga pada hasil uji statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok satelit T90 dengan kelompok satelit T118.



Gambar 14. Grafik rata-rata kadar SGPT Jantan



Gambar 15. Grafik rata-rata kadar SGPT Betina

Berdasarkan gambar grafik rata-rata kadar SGPT pada kelompok hewan uji jantan dan betina setiap kelompoknya mengalami kenaikan. Adanya peningkatan kadar SGPT pada setiap skala waktu menggambarkan adanya aktivitas hati yang menurun, namun kenaikan kadar SGPT masih dalam range normal. Pemeriksaan kadar SGPT pada T118 mengalami penurunan kadar baik hewan jantan maupun betina dari bulan sebelumnya karena adanya efek pemulihan atau perbaikan fungsi hati yang terjadi setelah penghentian pemberian sediaan uji. Berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol selama 90 hari tidak menimbulkan efek toksik terhadap enzim

SGPT. Kenaikan kadar SGOT dan SGPT dapat dipengaruhi faktor lain seperti stress, pakan, lingkungan dan cuaca. Kemungkinan adanya senyawa steroid glikosida yang terdapat dalam ekstrak menyebabkan kadar SGOT meningkat, karena steroid glikosida merupakan senyawa yang dapat meningkatkan aktifitas jantung (Bone *et al.* 2013) Kenaikan kadar SGOT lebih dari 3-10 kali range normal menunjukkan adanya kerusakan hepar meskipun dari hasil pengukuran menunjukkan kenaikan kadar SGPT masih dalam range normal. Kenaikan kadar SGOT yang masih dalam range normal diduga karena adanya senyawa 3 senyawa antioksidan flavonoid (kuersetin, epikatekin dan kamferol) yang dapat menghambat kerusakan hati dengan cara mengikat radikal bebas sehingga dampaknya terhadap hati berkurang (Treinen, 2003). Adanya kerusakan sel dapat dilihat melalui hasil histopatologi organ hepar yang terdapat pada tabel 11 dan lampiran 19.

7. Hasil histopatologi hati

Histopatologi organ dilakukan untuk melihat adanya nekrosis pada organ hati. Terdapat 3 kerusakan yang biasa terjadi yaitu piknosis ditandai dengan melisisnya nukleus dan peningkatan basofil kromatin (warna gelap) lalu DNA berkondensasi menjadi massa yang melisut padat. Karioreksis adalah keadaan nukleus yang hancur dan membentuk fragmen materi kromatin memudar. Kariolisis adalah adanya nukleus yang mati dan hilang disebabkan oleh aktivitas DNA sehingga basofil kromatin memudar (Cotran *et al.* 2007).

Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dan langsung segera dibedah untuk dilakukan pengamatan organ secara histopatologi. Histopatologi yang dilakukan pada akhir penelitian menggunakan tiga sampel preparat, kemudian diamati 100 sel pada satu lobulus organ hati untuk tiap sampel preparat. Sel lobulus berfungsi untuk memetabolisme bahan kimia serta menjadi tempat yang paling rentan apabila terpapar oleh bahan-bahan toksik, sehingga dapat digunakan sebagai parameter kerusakan sel-sel hati. Hasil pengamatan mikroskopis dilihat dari 100 sel organ hati untuk tiap sampel, dengan perbesaran 1000 kali. Hasil pengamatan histopatologi dapat dilihat pada lampiran 19.

Tabel 12. Hasil skoring histopatologi kerusakan sel nekrosis pada organ hati tikus pada akhir penelitian

Kelompok perlakuan	Jumlah sampel	Total sel yang diamati	Rata-rata scoring kerusakan sel nekrosis \pm SD	
			JANTAN	BETINA
Kontrol negatif	3	300	6,33 \pm 1,53	5,000 \pm 2,00
Dosis 150 mg/kgBB	3	300	21,00 \pm 4,36	12,67 \pm 1,53
Dosis 500 mg/kgBB	3	300	34,00 \pm 2,65*	26,00 \pm 7,00*
Dosis 1000 mg/kgBB	3	300	47,00 \pm 11,44*	47,00 \pm 5,20*
Satelit	3	300	36,67 \pm 7,51*	31,33 \pm 5,03*

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

Analisis statistik data histopatologi pada hewan uji jantan dan betina pertama kali diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), Kemudian dilanjutkan dengan analisis uji *levene* dan *One Way Anova*. Pada uji *levene* didapatkan nilai signifikan ($p \geq 0,05$) menunjukkan bahwa data tersebut homogen. Pada analisis *One Way Anova* didapatkan nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan dosis 500, 1000 mg/kgBB dan kontrol satelit baik jantan maupun betina. Hal ini berarti ekstrak etanol daun matoa menyebabkan perubahan histopatologi pada perlakuan dosis 500, 1000 mg/kgBB dan kontrol satelit baik hewan uji jantan maupun betina.

Tabel 13. Hasil skoring histopatologi kerusakan sel piknosis, kariolisis, dan karioereksis pada organ hati tikus pada

Kelompok perlakuan	Total sel yang diamati	Rata-rata kerusakan nekrosis sel \pm SD		
		Piknosis	Kariolisis	Karioereksis
JANTAN				
Kontrol negatif	300	2,33 \pm 0,58	0,67 \pm 0,58	1,00 \pm 1,00
150 mg/kgBB	300	3,33 \pm 1,15	3,00 \pm 1,73	4,33 \pm 2,31*
500 mg/kgBB	300	6,67 \pm 4,04	4,00 \pm 2,00	7,67 \pm 4,04*
1000 mg/kgBB	300	4,00 \pm 1,00	4,33 \pm 3,21	15,00 \pm 9,85*
Satelit	300	8,00 \pm 2,00	2,67 \pm 2,60	10,33 \pm 2,08*

BETINA				
Kontrol negatif	300	1,67 ± 0,58	0,67 ± 0,58	0,67 ± 0,58
150 mg/kgBB	300	3,00 ± 1,00	1,67 ± 0,58	2,33 ± 0,58
500 mg/kgBB	300	5,00 ± 2,00	1,67 ± 2,08	8,00 ± 1,73*
1000 mg/kgBB	300	2,33 ± 2,52	3,33 ± 1,53	17,33 ± 2,08*
Satelit	300	5,33 ± 1,53	2,00 ± 1,00	10,00 ± 2,00*

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

Analisis statistik kerusakan sel piknosis, kariolisis dan karioereksis pada hewan uji jantan dan betina pertama kali diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan analisis *One Way Anova*. Pada hewan uji jantan kerusakan sel piknosis dan kariolisis nilai signifikan ($p > 0,05$), menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Sedangkan pada kerusakan sel karioereksis nilai signifikan ($p < 0,05$), menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* didapatkan nilai signifikan ($p < 0,05$), menunjukkan data kerusakan sel karioereksis tidak homogen sehingga perlu dilakukan analisis *non-parametric* dengan uji *kruskal-wallis* diperoleh hasil signifikan ($p < 0,05$), menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang mengalami perbedaan bermakna maka perlu dilakukan analisis menggunakan uji *mann-whitney* didapatkan hasil signifikan ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan semua kelompok perlakuan.

Hasil analisis *One Way Anova* pada hewan uji betina kerusakan sel piknosis dan kariolisis diperoleh nilai signifikan ($p > 0,05$), menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Sedangkan pada kerusakan sel karioereksis nilai signifikan ($p < 0,05$), menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar

kelompok. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis 500 mg/kgBB, 1000mg/kgBB, dan kelompok satelit. Hal tersebut menunjukkan bahwa kerusakan sel yang paling banyak terjadi pada hewan uji jantan maupun betina adalah kerusakan sel karioereksis.

Hati merupakan organ yang terlibat dalam proses metabolisme zat makanan serta sebagian obat dan toksikan. Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal dan setelah toksikan diserap lalu dibawa oleh vena porta ke hati (Frank 1995). Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel sel hati seperti steatosis, nekrosis, kolestatis, sirosis, hepatitis, dan karsinogenesis. Hati mengandung banyak enzim yang digunakan sebagai katalisator dalam metabolisme substansi, termasuk obat dan makanan (Guyton 1995). Hati juga memiliki tugas sebagai detoksifikasi melalui terjadinya metabolisme *xenobiotic*. Didalam proses metabolisme *xenobiotic*, suatu molekul diubah menjadi molekul yang lebih besar dan lebih polar (hidrofilik) sehingga bersifat lebih larut dan mudah diekskresi keluar sel melalui proses biotransformasi. Proses biotransformasi di dalam hati terjadi melalui dua tahap, yaitu reaksi tahap I dan tahap II. Pada tahap I, *xenobiotic* akan termodifikasi dengan penambahan struktur kimia fungsional, yaitu oksigen.

Telah diketahui bahwa tanaman matoa memiliki khasiat sebagai tanaman obat, namun penggunaan secara berlebihan dapat menyebabkan keracunan dan dapat mengakibatkan kerusakan sel. Suatu zat pada dasarnya bersifat racun dan terjadinya keracunan ditentukan oleh dosis dan cara pemberian, namun dosis merupakan faktor utama yang terpenting (Ganiswara, 1995). Pada penelitian ini tikus diberikan ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dengan dosis 150, 500, dan 1000 mg/kgBB. Adanya kerusakan sel hati diduga karena dosis yang diberikan berlebihan, sehingga bersifat toksik bagi tubuh, terutama organ hati. Pemberian ekstrak daun matoa setiap hari selama 90 hari dapat meningkatkan aktifitas metabolisme dihepar sehingga mempengaruhi laju oksidasi yang menyebabkan stres oksidatif. Pemberian senyawa kimia secara terus menerus akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas di dalam hepar, yang kemudian

menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel dan akan mengganggu aktivitas sitokrom P-450 yang berfungsi dalam proses biotransformasi (sebagai katalis proses oksidasi). Hal ini akan berakibat terhambatnya reaksi fase I pada proses biotransformasi yang akan menyebabkan gagalnya mekanisme detoksifikasi di hepar. Perbedaan konsentrasi ekstrak yang diberikan dan intensitas pemberian juga dapat berpengaruh terhadap kondisi morfologi hati. Menurut Astuti *et al.* (2007), jika intensitas paparan suatu zat terhadap suatu organ ditingkatkan maka akan menimbulkan perubahan morfologis dan fungsi, umumnya perubahan tersebut bersifat reversible. Zat kimia yang terlalu banyak berada di dalam hati akan mengakibatkan kerusakan sel, seperti infiltrasi sel radang, degenerasi melembak, piknosis, dan kongesti (Guyton *et al.* 1997).

Adanya senyawa saponin diduga dapat menyebabkan toksik. Pemberian saponin dapat mengganggu permeabilitas membran plasma dan membran organel intraseluler pada sel hepatosit. Pada penelitian yang dilakukan oleh Irawati (2014) pemberian saponin dapat mengakibatkan membran plasma menjadi permeabel yang dinilai dengan keluarnya 50% dari total *lactate dehydrogenase* (LDH), yaitu suatu protein terlarut dalam sitosol. Konsentrasi saponin yang lebih tinggi juga dapat mengeluarkan protein di dalam organel sel, misalnya retikulum endoplasma dan kompleks golgi. Hal ini dapat dilihat pada tabel 12, pada kontrol negatif mengalami kerusakan sel hati yang paling sedikit, sedangkan pada kelompok perlakuan yaitu 150, 500, dan 1000 mg/kgBB mengalami kerusakan sel lebih banyak dibanding kontrol negatif, lalu pada kontrol satelit, terjadi penurunan tingkat kerusakan sel hati jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis tinggi yaitu 1000 mg/kgBB. Penurunan tingkat kerusakan sel hati pada kontrol satelit bisa diakibatkan karena penghentian pemberian ekstrak daun matoa.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dapat meningkatkan kadar SGOT hewan uji jantan pada dosis 500, dan 1000 mg/kgBB, pada hewan uji betina hanya berpengaruh pada dosis 1000 mg/kgBB.

Kedua, pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari tidak dapat meningkatkan kadar SGPT pada semua kelompok baik pada hewan uji jantan maupun betina.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari tidak mempengaruhi nilai indeks organ hati, namun dapat mempengaruhi gambaran makroskopik dan perubahan histopatologi organ hati tikus putih baik pada hewan uji jantan maupun betina pada dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB dan kelompok satelit.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut terhadap uji toksisitas kronis ekstrak etanol daun matoa terhadap tikus putih.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang menyebabkan efek toksisitas pada ekstrak etanol daun matoa

DAFTAR PUSTAKA

- [AVMA] Americal Veterinary Medical Association. 2013. Guidelines for the Euthanasia of Animals. J. Am. Vet. Ass. 2013 : (201) 18-21; 25-26.
- [Balitro] Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. 2008. Teknologi Penyiapan Simplisia Terstandar Tanaman Obat. <http://balitro.litbang.deptan.go.id/index.php> (23 Oktober 2017).
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2010. Acuan Sediaan Herbal. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan RI. 2006. *Pedoman Teknis Penemuan Dan Tatalaksana Penyakit Hipertensi*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [[KKRI] Kementerian Kesehatan RI. 2013a. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [KKRI] Kementerian Kesehatan RI. 2013b. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Ansel, Howard C, 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Form*.

- Astuti, U.N.W., D. Rismawati, S. Hidayati, dan S.H. Suntoro. 2007. *Pemanfaatan Mindi (Melia azedarach L.) sebagai Anti Parasit Trypanosoma evansi dan Dampaknya terhadap Struktur Jaringan Hepar dan Ginjal Mencit*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Bajpai RN. 1989. *Histologi Dasar Edisi 4*. Tambayong J, penerjemah. Jakarta: Binapura Aksara.
- Baron DN. 1990. *Kapita Selekta Patologi Klinik, Edisi 4*. Andriyanto P, Gunawan J Penerjemah; Jakarta: EGC.
- Baud GS, Sangi MS, & Koleangan HSJ. 2014. Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol batang tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). *UNSRAT* vol 14/2, 2014, 106-112.
- Bone K, Mills S. 2013. *Principles and Practice of Phytotherapy*. 2nd Edition. Churchill Livingstone: 17-82.
- Brzoska M, Jakoniuk JM, Marcinkiewicz BP, Sawicki B. 2003. *Liver & Kidney Fuction, & Histology in Rats Exposed to Cadmium & Ethanol*. Medical Council on Alcohol Vol. 38(1): 2-10.
- Carlson, B.S.E.M. (2009). Saponin: Biactivity and Potential Impact on Intestinal Health. *Thesis*. The Ohio State University. Hal. 32.
- Corwin J. E. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. 2006. *Phatologic Basis of Disease*. Jakarta: Buku Kedokteran.
- Dalimartha, S. 2008. *36 Resep Tumbuhan Obat Untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Damjanov. 2000. *Buku Teks dan Atlas Berwarna Histopatologi*. Pendit UB. Penerjemah. Himawan M. Editor. Jakarta : Widya Medika.
- Evans, WC. 2002. *Pharmacognosy*, Edisi 15. WB Saunders : London.
- Fischbach. 1998. FT. *Stool Examination, In A of Laboratory and Diagnostic Test*.
- Frank LC. 1995. *Toksikologi Dasar, Edisi II*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Ganiswara, S.G. (1995). *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi Keempat. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal. 763- 764.

- Gines P, Kamath PS, dan Arroyo V. 2011. *Chronic Liver Failure*. London: Humana Press, Hal 48-49.
- Gregory S, Kelly ND. 2011. Quercetin. *Alternative Medicine Review* 16: 172-194.
- Ghufron M. 2001. Gambaran struktur histologik hepar dan ren mencit setelah perlakuan infusa akar rimpang jahe (*Zingiber officinale*) dengan dosis bertingkat. *J Kedokteran YARSI* 9(1): 72.
- Guntarti A, Sholehah K, Irna N, Fistianingrum W. 2015. Penentuan Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana*) Pada Variasi Asal Daerah. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Guyton AC. 1996. Buku Ajar Fisiologi. Edisi 7. Tengadi *et al.*, Penerjemah; Jakarta: EGC.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italy: Italian ministry of foreign affairs.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi IV. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia.
- Harmita, Maksum. 2005. *Buku Ajar Analisis hayati*, Edisi 2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Haygreen, J.G. and J.L. Bowyer. 1985. *Forest products and wood science*. Fourth ed. Ames. Iowa. The Iowa State University Press
- Hengky LW. 2011. Karakterisasi Morfologi Dan Isozim Matoa (*Pometia Pinnata* Forst.) [thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hutapea JR. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal: 227.
- Indarto D.M. 2013. *Aktivitas enzim transaminase dan gambaran histopatologi hati tikus galur wistar jantan yang diberi fraksi n-heksan daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) pasca induksi sisplatin*. [SKRIPSI]. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Irawati E. 2014. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Daun kemuning (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) Terhadap Hepatotoksisitas Yang Diinduksi Parasetamol. [SKRIPSI]. Pontianak: Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura

- Krinke GJ. 2000. *The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat*. New York: Academy Press
- Lembang I.R *et al.* 2015 *Efek Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Buah Terong Belanda Terhadap Tikus Putih Jantan yang diinduksi CCl4*. Makasar: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi dan Pengetahuan Alam (STIFA).
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida, Alkaloid [Karya Ilmiah]*. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Lesson *et al.* 1995. *Buku Ajar Histologi*, Edisi V. Terjemahan dari Text Book Of Loomis SL. 1978. *Toksikologi Dasar*, Terjemahan oleh Donatus LA. Edisi III, Semarang: IKIP Semarang Press.
- Martiningsih NW, Gede ABW, Putu LPK. 2016. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Matoa (Pometia Pinnata) dengan Metode DPPH*. Universitas Pendidikan Ganesha Singaraja.
- Meles DK. 2010. *Peran Uji Praklinik Dalam Bidang Farmakologi [Pidato]*. Pengukuhan Jabatan Guru Besar dalam Bidang Farmakologi dan Toksikologi pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada Hari Sabtu, tanggal 18 Deseber 2010. Surabaya.
- Melodita, R. 2011. *Identifikasi Pendahuluan Senyawa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hitam Dengan Perlakuan Jenis Pelarut*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Mitchell, Me, Schenkens S, Avant GR, Speg K. *Cimetidine protects against acetaminophen hepatotoxicity in rats*. *Gastroenterolog* 1981 ; 81 : 1052-60.
- Mohammad FV, Noorwala M., Ahmad VU, Zahoor A., Lajis NH. 2012. *A New Monodesmosidic Triterpenoid Saponin From The Leaves of Pometia pinnata*. *Pubmed* 7(11):1432-1436.
- Mutiatikum D, Alegantina S, Astuti Y. 2010. *Standarisasi Simplisia Dari Buah Miana yang Berasal Dari 3 Tempat Tumbuh*. *Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Vol 18:1-16.
- Noer S. 1996. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Jakarta : Gaya Baru.
- Nuridayanti, E.F.T. 2011. *Uji Toksisitas akut ekstrak air rambut jagung (Zea mays L.) ditinjau dari nilai LD50 dan pengaruhnyaterhadap fungsi hati dan ginjal pada mencit [Skripsi]*. Depok: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

- Nursal, Wulandari S, Juwita WS. 2006. *Bioaktivitas Ekstrak Jahe (Zingiber officinale Roxb) dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni Bakteri Escherichia Coli dan Bacillus subtilis*. Jurnal Biogenesis
- Panjaitan RGP, Handaryani E, Chairul, Masriani, Zakiah Z, Manalu W. 2007. *Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus*. Pontianak: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tanjungpura.
- Pearce C.E. 2009. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. *Penyakit*, Edisi VI, Vol. 2, diterjemahkan oleh Pendit, B. U., Hartanto, H., Wulansari, P., Mahanani, D. A., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. *Phytochemical Screening and Extraction*. Internationale Pharmaceutica Scientia. 1(1): 1-9.
- Purwidyaningrum, I. 2016. Diuretic Activity of Different Organs of Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G. Forst) Extracts and its Influence on Potassium and Sodium Levels. *Int J Pharmacognosy and Phytochemical*. 8(2): 244-247.
- Purwidyaningrum, I. 2017a. Antihypertensive Activity Of Extract and Fractions of Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G. Forts) Leaves. *Asian J Pharm Clin Res* 10(3): 323-328.
- Purwidyaningrum, I. 2017b. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G. Forst). Bandung: Disertasi Program Doktor, Institut Teknologi Bandung.
- Putri AS. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. forst) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Jantan Hiperlipidemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Putz R, Pabts R. 2007. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Departemen Farmasi FMIPA UI. Depok.
- Raflizar. 2009. *Sub Chronic Toxicity Test From Alcohol Extract Paliasa Leaves (Kleinhovia Hospita Linn) To Hepar/Liver And Kidney Of Experimental Mice*. Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Vol 19 (4).
- Raharjo SM. 2014. Aktivitas fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) terhadap penurunan kadar kolesterol total serum darah tikus putih jantan galur wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

- Rahimah, Sayekti E, Jayuska A. 2013. *Karakterisasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolat Dari Fraksi Etil Asetat Daun Matoa (Pometia pinnata J. R. Forst & G. Forst)*. Jurnal Kimia Khatulistiwa. 2(2): 84-89.
- Robbins, Kumar. 1995. *Buku Ajar Patologi 1*. Edisi 4. Jakarta. EGC. 290-293
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Edisi ke-6 Bandung: ITB.
- Sangat HM. 2000. *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitomedika)*. Jakarta: Yayasan Obat Indonesia
- Setyowati W, Sri RDA, Ashadi, Bakti Mulyadi, Cici PR. 2014. *Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (Durio zibethinus Murr.) Varietas Petruk*. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan VI. ISBN: 9779373174-0 : 271-280.
- Sitorus P, Pasaribu F, Bahri S. 2012. *Uji Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah*. Sumatera Utara: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Smith BJ, Mangkoewidjojo S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Soemohardjo, S. 1982. *Tes Faal Hati*. Ed. 1. Penerbit Alumni. Bandung. p: 45-52.
- Stevani H. 2016. *Praktikum Farmakologi*. Cetakan pertama. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Suedee A, Tewtrakul S, Panichayupakaranant P. 2013. *Anti-HIV-1 Integrase Compound from Pometia pinnata Leaves*. Pubmed 51(10):1256-61.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Farmakologi Adisi IV*. Yogyakarta. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Susanti M, Dachriyanus, Putra DP. 2012. *Aktivitas Perlindungan Sinar Uv Kulit Buah Garcinia mangostana Linn Secara In Vitro*. Vol. 13(2), Susanti, M. et al. (61-64) Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.
- Tampubolon SR, Ardana IBK, Sudira IW. 2014. *Aktivitas Alanin Aminotransferase dan Aspartat Aminotransferase Pada Mencit yang Diberikan Jamu Temulawak*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana : Bali,

- Tatukude RL, Loho L, Lintong MP. 2014. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar yang di Berikan Boraks. Jurnal e-Biomedik (eBM), Vol 2(3). Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi : Manado.
- Thomson LAJ, Randolph RT. 2006. *Pometia pinnata* (tava), Species profiles for Pacific island argoforestry. Hlm 1-7.
- Treinen, M. 2003. Toxic Respons of the Liver. In Toxicology the Basic Science Poison. Klaassen, C.D. (Ed.). 6th ed. Mc GrawHill Meddical PU, New York, Chicago.
- Variany G. 1999. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Pometia pinnata J.R. & G. Forst.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Vogel HG. 2002. *Drug Discovery and Evaluation.* New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Voight, Rudolf. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi.* Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, 1995.
- Wahyuningsih HK. 2010. pengaruh pemberian ekstrak herba meniran (*Phyllanthus Niruri* L.) terhadap penurunan kadar asam urat darah tikus putih jantan hiperurisemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Widiyastuti Y *et al.* 2015. *Budidaya, Panen dan Pascapanen Tanaman Obat.* Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Surat determinasi



UPT- LABORATORIUM

No : 210/DET/UPT-LAB/19/III/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Miraziza Amanda
NIM : 20144169 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G.Frost.)**
Hasil determinasi berdasarkan : **Backer : Flora of Java**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24a – 25b
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33b – 35a – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b
– 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a
– 78b – 103b – 104a – 106a – 107a – 108b – 109a – 110b – 115a – 116b – 117b – 118c.
Familia 137. Sapindaceae. 1b – 2b – 4a – 5a – 6b. 16. Pometia. 1a. *Pometia pinnata* J.R. & G.Frost.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi dapat mencapai 50 m.
Akar : Sistem akar tunggang.
Batang : Tegak, berkayu, silindris, percabangan monopodial, permukaan kasar, warna coklat, arah cabang miring hingga datar.

Daun : Majemuk menyirip genap, tersusun berseling, anak daun sama sisi, 4 – 12 pasang anak daun, waktu muda berwarna merah kecoklatan, setelah tua hijau, pangkal tumpul, ujung meruncing, tepi rata, bentuk jorong, panjang 30 – 38 cm, lebar 8 – 15 cm, ujung meruncing, pangkal tumpul, tepi rata, permukaan atas dan bawah melekuk pada daerah pertulangan daun, permukaan atas mengkilat, helaian daun tebal dan kaku.

Bunga : Majemuk, malai, mahkota bunga hijau kecoklatan, kalyx 5 lobi, petala 5, putih, stamen 5, ovulum 1.

Buah : Bundar sampai lonjong, panjang 1,7 – 4,5 cm, diameter 1 – 3 cm, kulit buah licin, waktu muda berwarna kuning kehijauan, setelah matang coklat kemerahan, daging buah putih kekuningan.

Biji : Bulat, coklat muda.

Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surakarta, 19 Maret 2018
Tim determinasi

Dra. Kartmah Wirjosoendjojo, SU.

Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Perhitungan rendemen berat basah terhadap berat kering daun matoa

Diketahui :

- Berat basah daun matoa = 40 kg
- Berat kering daun matoa = 18 kg

Perhitungan % rendemen

$$\begin{aligned}\% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\% \\ &= \frac{18}{40} \times 100 \% \\ \% \text{ rendemen} &= 45 \%\end{aligned}$$

Lampiran 3. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk

Tanaman matoa



Daun matoa



Pengambilan bahan



Pengeringan daun matoa



Pembuatan serbuk



Penimbangan serbuk

Lampiran 4. Perhitungan penetapan kadar air

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20	0,9	4,5
2	20	0,8	4
3	20	0,9	4,5
Rata-rata ± SD			4,33 ± 0,29

Replikasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,9}{20} \times 100 \% \\ &= 4,5 \% \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,8}{20} \times 100 \% \\ &= 4 \% \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,9}{20} \times 100 \% \\ &= 4,5 \% \end{aligned}$$

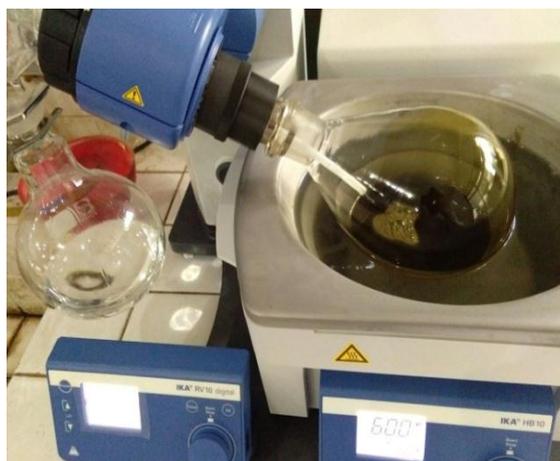
Lampiran 5. Perhitungan rendemen berat serbuk terhadap berat ekstrak

- Berat serbuk daun matoa = 1000 gram
- Berat ekstrak daun matoa = 320 gram

Perhitungan % rendemen

$$\begin{aligned}\% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{320}{1000} \times 100\%\end{aligned}$$

$$\% \text{ rendemen} = 32\%$$

Lampiran 6. Proses pembuatan ekstrak

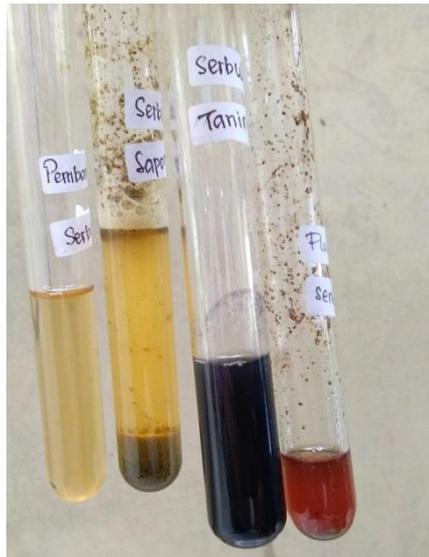
Proses evaporasi



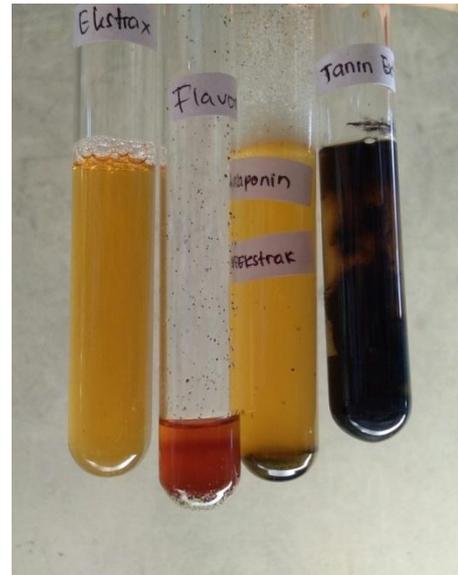
Ekstrak kental

Lampiran 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun matoa

Serbuk daun matoa



Ekstrak daun matoa



Lampiran 8. Surat keterangan hewan uji

"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 : Miraziza Amanda

Nim : 20144169 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 100 ekor

Jenis kelamin : Jantan 50 ekor dan Betina 50 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, 2 Mei 2018

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 9. Surat izin etik kehewanan

4/25/2018

Form A2



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



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 1.057 / XII / HREC / 2017

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

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

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

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (Pometia pinnata J.R. & G. Forst) DENGAN
 PARAMETER SGOT,SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS GALUR WISTAR**

Principal investigator : Miraziza Amanda
 Peneliti Utama : 20144169A

Location of research :
 Lokasi Tempat Penelitian :

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 25 Apr 2018

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F.MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 10. Hewan uji yang digunakan



Kandang hewan



Pengelompokan hewan



Pembedahan



Pengoralan tikus

Lampiran 11. Perhitungan penyesuaian dosis dan volume pemberian

1. Kontrol negatif. Pembuatan larutan suspensi CMC Na 0,5 % adalah dengan 500 mg CMC Na ditambahkan aquades sampai batas 100 ml. Volume yang diberikan adalah 1 ml karena kurang dari volume pemberian maksimal yaitu 2 ml/100 gram berat badan tikus atau kurang lebih 4 ml/200 gram berat badan tikus.

2. Dosis rendah 150 mg/kgBB. Dosis rendah untuk tikus sebesar 150 mg/kgBB tikus atau 0,15 mg/gram BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 0,15 mg/g x 200 g = 30 mg/200 gram BB tikus

Larutan stok 1%

$$\text{Larutan stok} = \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 10 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang oralkan} = \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$$

3. Dosis sedang 500 mg/kgBB. Dosis sedang untuk tikus sebesar 500 mg/kgBB tikus atau 0,5 mg/gram BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 0,5 mg/g x 200 g = 100 mg/200 gram BB tikus

Larutan stok 3%

$$\text{Larutan stock} = \frac{3000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 30 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{100 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3,3 \text{ ml}$$

4. Dosis tinggi 1000 mg/kgBB. Dosis tinggi untuk tikus sebesar 1000 mg/kgBB BB tikus 200 gram

Dosis = 1 mg/g x 200 g = 200 mg/200 gram BB tikus

Larutan stok 5 %

$$\text{Larutan stock} = \frac{5000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 50 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{200 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 4 \text{ ml}$$

Lampiran 12. Monitoring berat badan tikus

Jenis Hewan	Kelompok Perlakuan	Rata-rata Berat Badan (gram) ± SD																
		Minggu ke-																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Jantan	Kelompok Kontrol Negatif	178,2	180	181,10	180,40	179,80	180,11	181,00	180,00	180,57	180,67	181,67	182,00	183,00				
		±5,35	±4,08	±4,31	±4,77	±5,88	±5,30	±5,12	±5,80	±5,61	±7,17	±7,20	±7,50	±7,50				
	Kelompok 150 mg/kgBB	177,8	178,30	179,00	179,30	179,67	180,11	179,89	179,44	179,00	179,56	180,67	181,44	182,00				
		±6,17	±6,63	±5,33	±5,79	±5,31	±5,53	±6,25	±6,90	±7,78	±7,92	±7,34	±7,10	±7,60				
	Kelompok 500 mg/kgBB	178,1	179,10	178,80	179,40	180,90	179,90	179,90	180,33	180,88	181,14	181,85	182,71	183,71				
		±5,51	±5,22	±5,51	±5,48	±6,24	±6,23	±6,26	±8,30	±7,72	±8,05	±7,51	±8,00	±8,00				
	Kelompok 1000 mg/kgBB	178,8	179,50	180,20	180,80	180,56	180,50	181,25	181,62	182,13	182,71	183,00	183,14	183,40				
		±5,37	±5,48	±5,77	±6,29	±6,67	±7,21	±6,73	±7,00	±6,66	±7,11	±7,26	±7,40	±8,30				
Kelompok Satelit		178,6	178,90	179,40	180,10	180,60	181,10	181,70	181,20	180,88	181,14	182,80	183,40	185,00	185,75	186,50	187,00	187,75
		±5,95	±6,15	±6,02	±5,90	±6,45	±6,28	±6,07	±6,80	±6,90	±7,95	±6,53	±6,70	±7,40	±7,27	±6,95	±6,68	±6,94
Betina	Kelompok Kontrol Negatif	178,5	179,40	180,20	180,90	181,90	182,30	183	182,50	181,80	182,10	182,60	183,10	184,00				
		±6,04	±5,91	±5,63	±5,30	±5,78	±5,50	±5,59	±6,00	±5,70	±6,20	±6,80	±7,20	±8,30				
	Kelompok 150 mg/kgBB	179,7	180,20	180,70	181,60	181,80	182,00	182,3	181,67	181,00	181,80	183,00	183,80	184,50				
		±7,08	±7,04	±6,57	±6,83	±7,15	±6,82	±6,53	±7,40	±7,30	±7,60	±7,90	±9,60	±9,90				
	Kelompok 500 mg/kgBB	180,3	181,00	181,90	182,50	182,22	182,78	181,8	182,00	182,10	182,40	182,80	183,60	184,30				
		±5,91	±6,18	±5,78	±5,50	±5,93	±6,38	±6,85	±7,20	±7,20	±7,90	±8,40	±9,20	±10,00				
	Kelompok 1000 mg/kgBB	179,4	180,20	180,90	181,70	182,20	182,80	182,00	182,50	181,20	182,4	183,10	183,30	184,60				
		±5,77	±5,75	±5,88	±5,66	±6,21	±6,53	±6,67	±7,40	±8,50	±9,10	±9,30	±10,10	±11,10				
Kelompok Satelit		179,7	180,10	180,60	181,20	180,40	180,89	180,44	180,11	178,60	179,50	180,10	180,90	181,80	185,37	187,62	189,37	192,12
		±6,58	±6,26	±6,62	±6,66	±6,19	±6,68	±6,65	±6,20	±6,00	±5,90	±7,00	±6,70	±7,00	±6,50	±6,45	±6,82	±6,89

Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar SGOT dan SGPT

	SGOT (UI/L)				Tikus	SGPT (UI/L)				
	Jantan		Betina			Jantan		Betina		
	T0	T90	T0	T90		T0	T90	T0	T90	
kontrol negatif	1	92	108,7	74	0	1	44	59,7	34,1	0
	2	81	0	64	0	2	34	0	32,3	0
	3	82	85,5	118,7	178	3	41	51,4	33,3	75,6
	4	72	124,4	158,8	165,8	4	42	41,1	47,1	29,7
	5	107	117,9	187,9	142,7	5	61,1	64,9	46,5	87,3
	6	83,5	157	172,8	88,5	6	41,1	73,2	34,4	41,9
	7	97	0	59,3	150,1	7	51,5	0	41	68,1
	8	83,5	113,9	108,2	104,2	8	47,1	60,9	40,3	87,3
	9	77	0	52,3	85,5	9	47	0	47,1	31,4
	10	108	0	103	118,7	10	43,8	0	58,1	29,7

	SGOT (UI/L)				Tikus	SGPT (UI/L)				
	Jantan		Betina			Jantan		Betina		
	T0	T90	T0	T90		T0	T90	T0	T90	
D150	1	70	164	94	0	1	35	66,6	30,5	0
	2	91	139,6	160	0	2	40	63,3	44,5	0
	3	91	0	125,6	137,9	3	30	0	44,8	64,9
	4	71	0	181,5	190,2	4	50,5	0	33,1	80,1
	5	80	143,1	94,2	97,7	5	38,1	92,1	25,3	68,6
	6	101,7	158,8	136,1	144,8	6	36,3	62,4	42	52,2
	7	90	165,8	75	0	7	56	59,4	66,3	0
	8	110	150,1	64,6	94	8	34	56,6	40,3	72
	9	89	139,6	71,5	185	9	59,3	70,8	32,6	60,1
	10	93	150,1	62,8	0	10	43,3	54,4	76,8	0

	SGOT (UI/L)				Tikus	SGPT (UI/L)				
	Jantan		Betina			Jantan		Betina		
	T0	T90	T0	T90		T0	T90	T0	T90	
D500	1	119	0	115	198,9	1	35	0	50,6	79,4
	2	70	144,8	192	198,9	2	43	52,2	59,3	53,2
	3	91	190,2	97,7	124	3	57	80,2	34,1	81,6
	4	71	197,2	97,7	108	4	35,5	70	64,4	75,4
	5	101,1	198,9	82	0	5	27,9	111,6	47,1	0
	6	92	165,8	92,5	124	6	48,5	69,8	38	90
	7	117	0	166,3	0	7	42	0	41	0
	8	100	188,5	73,3	106	8	45,5	83,8	43,5	66,6
	9	96	167,5	82	197,2	9	33,1	64,2	31,4	97,2
	10	75	0	78,5	132	10	55,8	0	36,6	42,8

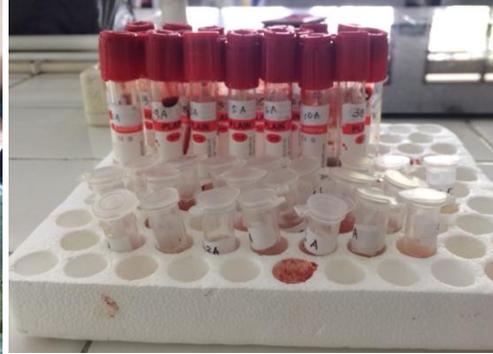
	Tikus	SGOT (UI/L)				Tikus	SGPT (UI/L)			
		Jantan		Betina			Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90		T0	T90	T0	T90
D1000	1	81	286,2	119	146,6	1	40	62,8	50,6	76,8
	2	100	0	146	0	2	45	0	33,3	0
	3	97	233,8	139,6	173,7	3	58	73,3	45,5	48,8
	4	75	0	123,9	163	4	42	0	40,3	66,6
	5	70	195,4	73,3	0	5	56	69,8	55,8	0
	6	83,5	0	129,1	188,9	6	46	0	52,3	111,6
	7	91,7	233,8	68,1	0	7	34,5	111,6	47,1	0
	8	114	0	89	162	8	31,1	0	43,6	79
	9	116	0	99,5	159,4	9	50,6	0	43,6	122,2
	10	110	279,2	94,2	202,4	10	48,9	76,8	32,9	83,8

	Tikus	SGOT (UI/L)				Tikus	SGPT (UI/L)			
		Jantan		Betina			Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90		T0	T90	T0	T90
Satelit	1	100	0	121	0	1	46,5	0	48,9	0
	2	90	207,7	51	202,4	2	36	76,8	34,1	41,8
	3	71,7	0	75	235,6	3	47	0	73,3	101,2
	4	93,5	0	97,7	200,7	4	55	0	52,3	69,2
	5	104	232,1	139,6	165	5	43,2	87,3	71,5	71,2
	6	140	0	179,7	0	6	63,5	0	32	0
	7	67	0	94,2	160,5	7	44,5	0	59,3	77,4
	8	78	0	104	193,7	8	55	0	59,3	69,8
	9	60	251,3	103	195,4	9	59,3	76,8	33,1	82
	10	123	221,6	87,3	164	10	32,8	91,2	52,3	114,8

Lampiran 14. Pengambilan darah, proses sentrifugasi, dan proses pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT



Pengambilan sampel darah



Sampel darah dan serum



sentrifugator



Fotometer



Reagen

Lampiran 15. Berat organ dan indeks organ hati

Dosis (mg/kgBB)	BB			BB		
	Tikus (gram)	Berat Hati (gram)	% Indeks Organ	Tikus (gram)	Berat Hati (gram)	% Indeks Organ
	Jantan			Betina		
Kontrol Negatif	207	6,85	3,31	198	5,37	2,71
Kontrol Negatif	198	7,76	3,92	206	6,58	3,19
Kontrol Negatif	217	6,53	3,01	201	4,32	2,15
Dosis 150 mg/kgBB	186	6,34	3,41	209	5,87	2,81
Dosis 150 mg/kgBB	186	8,59	4,62	183	7,20	3,93
Dosis 150 mg/kgBB	234	6,53	2,79	201	6,79	3,38
Dosis 500mg/kgBB	190	5,84	3,07	210	4,07	1,94
Dosis 500mg/kgBB	213	6,34	2,98	191	5,87	3,07
Dosis 500mg/kgBB	196	7,61	3,88	198	5,50	2,77
Dosis 1000mg/kgBB	199	4,93	2,48	201	5,99	2,98
Dosis 1000mg/kgBB	184	6,13	3,33	205	6,87	3,35
Dosis 1000mg/kgBB	202	7,51	3,72	199	6,35	3,40
Kelompok Satelit	229	6,65	2,90	192	6,99	3,64
Kelompok Satelit	215	5,60	2,61	195	7,01	3,59
Kelompok Satelit	198	4,87	2,46	205	6,22	3,03

Lampiran 16. Pengamatan makroskopis

Kelompok	Makropatologi					
	Warna	Permukaan	Perlemakan hati	Warna	Permukaan	Perlemakan hati
	Jantan			Betina		
Kontrol Negatif 1	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Kontrol Negatif 1	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Kontrol Negatif 1	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 150mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 150mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 150mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Ada
Dosis 500mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 500mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Ada
Dosis 500mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 1000mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Ada
Dosis 1000mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 1000mg/kgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Ada
Kelompok Satelit	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Kelompok Satelit	Merah Kecoklatan	Licin	Ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Kelompok Satelit	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada

Lampiran 17. Data kematian tikus

Hewan uji jantan

No	Tanggal	Minggu	Dosis
1	25/01/18	3	150 mg/kgBB
2	29/01/18	4	1000 mg/kgBB
3	5/02/18	5	1000 mg/kgBB
4	9/02/18	5	1000 mg/kgBB
5	9/02/18	5	Kontrol negatif
6	18/02/18	7	500 mg/kgBB
7	22/02/18	7	Kontrol negatif
8	26/02/18	8	Kontrol negatif
9	26/02/18	8	1000 mg/kgBB
10	27/02/18	8	Kelompok satelit
11	1/03/18	8	500 mg/kgBB
12	3/03/18	8	Kelompok satelit
13	3/03/18	8	Kelompok satelit
14	5/03/18	8	Kelompok satelit
15	8/03/18	9	Kontrol negatif
16	9/03/18	9	500 mg/kgBB
17	13/03/18	10	Kelompok satelit
18	25/03/18	12	1000 mg/kgBB
19	27/03/18	12	150 mg/kgBB
20	27/03/18	12	Kelompok satelit

Hewan uji betina

No	Tanggal	Minggu	Dosis
1	15/01/18	2	500 mg/kgBB
2	5/02/18	5	Kelompok satelit
3	15/02/18	6	Kelompok satelit
4	18/02/18	7	1000 mg/kgBB
5	24/02/18	7	150 mg/kgBB
6	3/03/18	8	1000 mg/kgBB
7	5/03/18	9	500 mg/kgBB
8	5/03/18	9	150 mg/kgBB
9	17/03/18	10	150 mg/kgBB
10	21/03/18	11	150 mg/kgBB
11	21/03/18	11	Kontrol negatif
12	23/03/18	11	Kontrol negatif
13	29/03/18	12	1000 mg/kgBB

Lampiran 18. Proses histopatologi



Fiksasi



Organ dimasukkan kedalam wadah



Tissue processor



Embedding



Cold plate



mikrotom



Waterbath dan hot plate



Preparat sebelum pewarnaan



Deparafinasi dan rehidrasi



dehidrasi



Pengecatan



Preparat setelah pewarnaan

Lampiran 19. Hasil Histopatologi organ hati

Kelompok Perlakuan (mg/kgBB)	Jumlah Sel Normal	Jumlah Sel			SKH	Rata-rata SKH
		Karioereksis	Pinotik	Kariolisis		
JANTAN						
Kontrol	97	0	2	1	5	6,33
negatif	95	1	3	1	8	
	96	2	2	0	6	
Kelompok	91	3	4	2	16	21,00
Dosis 150	90	3	2	5	23	
mg/kgBB	87	7	4	2	24	
Kelompok	83	12	3	2	33	34,00
Dosis 500	78	7	11	4	37	
mg/kgBB	84	4	6	6	32	
Kelompok	83	4	5	8	37	47,00
Dosis 1000	77	18	3	2	45	
mg/kgBB	70	23	4	3	59	
Kelompok	76	11	10	3	41	36,67
Satelit	77	12	8	3	41	
	84	8	6	2	28	
BETINA						
Kontrol	96	1	2	1	7	5,00
negatif	98	1	1	0	3	
	97	0	2	1	5	
Kelompok	93	2	3	2	13	12,67
Dosis 150	92	2	4	2	14	
mg/kgBB	94	3	2	1	11	
Kelompok	84	9	3	4	33	26,00
Dosis 500	85	9	5	1	26	
mg/kgBB	87	6	7	0	19	
Kelompok	77	15	5	3	44	47,00
Dosis 1000	79	19	0	2	44	
mg/kgBB	75	18	2	5	53	
Kelompok	80	10	7	3	36	31,33
Satelit	82	12	5	1	32	
	86	8	4	2	26	

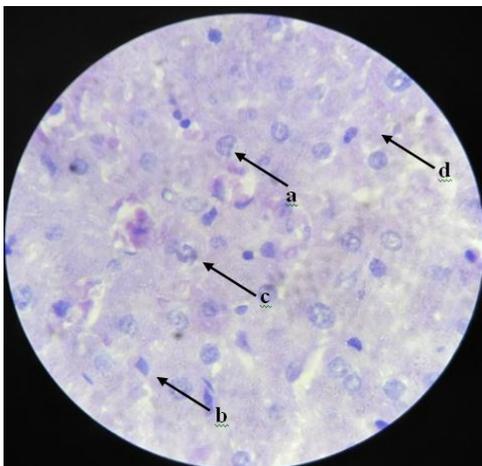
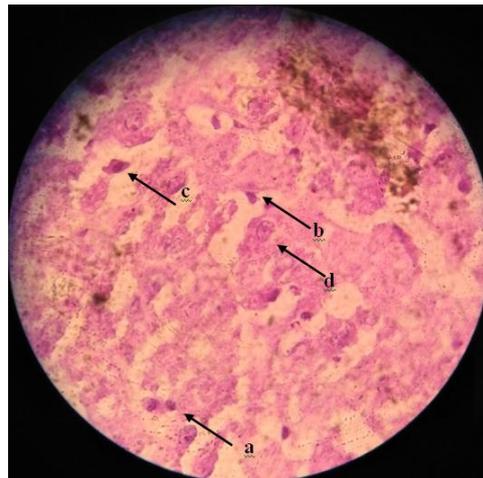
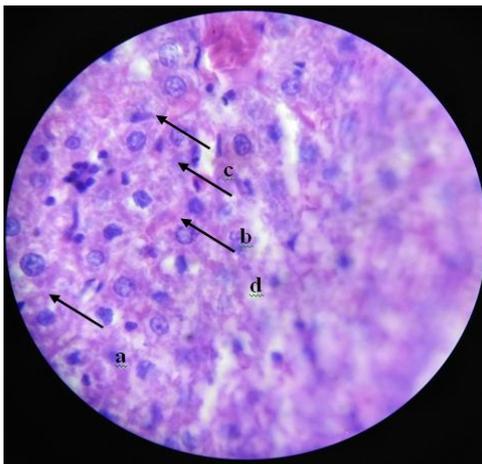
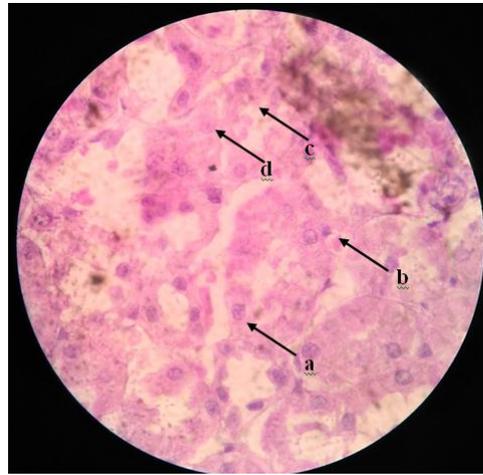
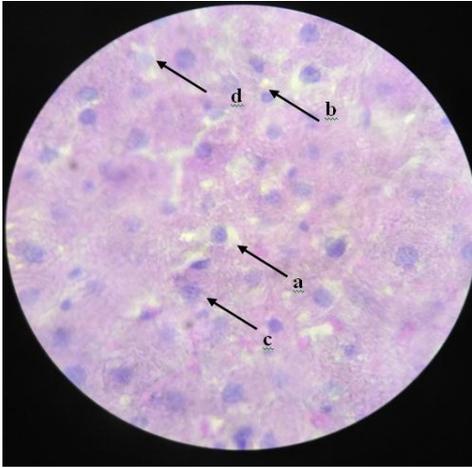
Skor	Kerusakan nekrosis
0	Normal
1	Piknosis
2	Karioereksis
3	kariolisis

$$SKH = (\sum \text{sel piknotik} \times 1) + (\sum \text{sel karioereksis} \times 2) + (\sum \text{sel kariolisis} \times 3)$$

Kontrol negatif jantan

Dosis 150 mg/kgBB jantan

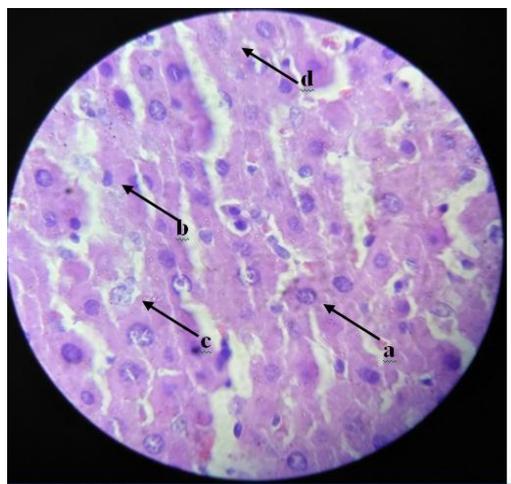
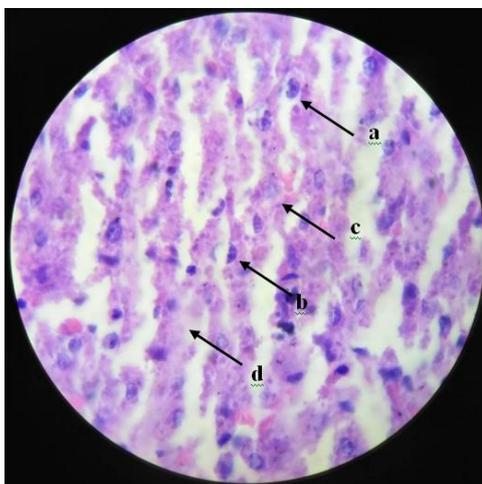
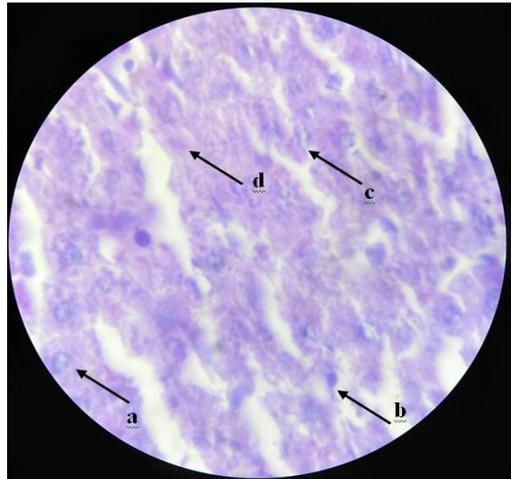
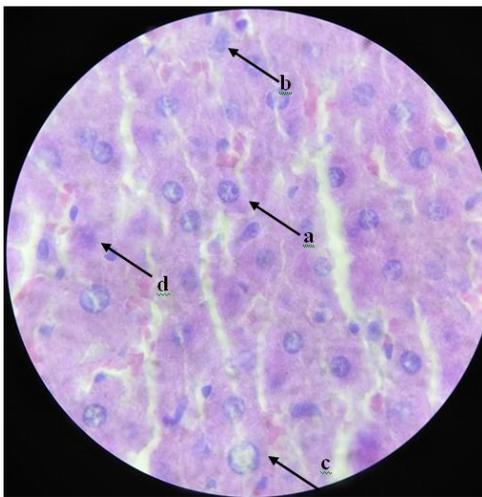
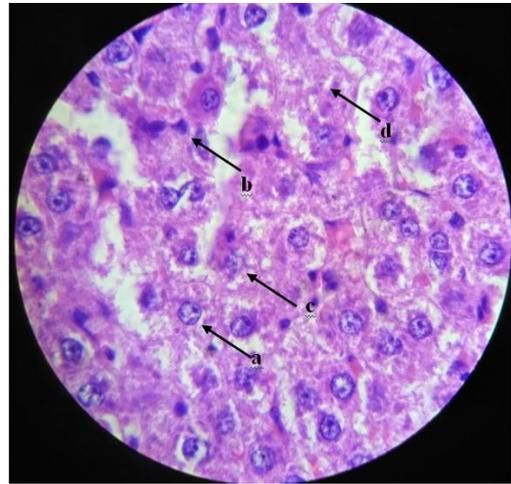
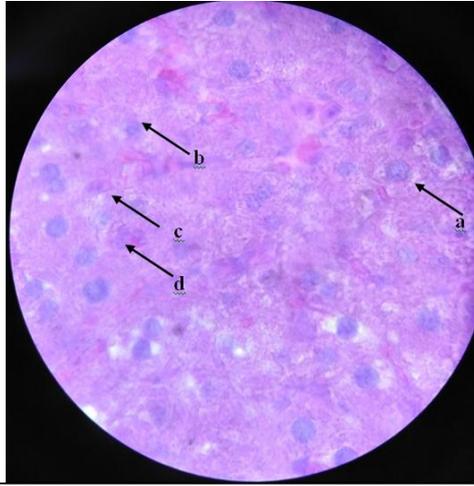
Perbesaran 1000 kali



Dosis 500 mg/kgBB jantan

Dosis 1000 mg/kgBB jantan

Perbesaran 1000 kali

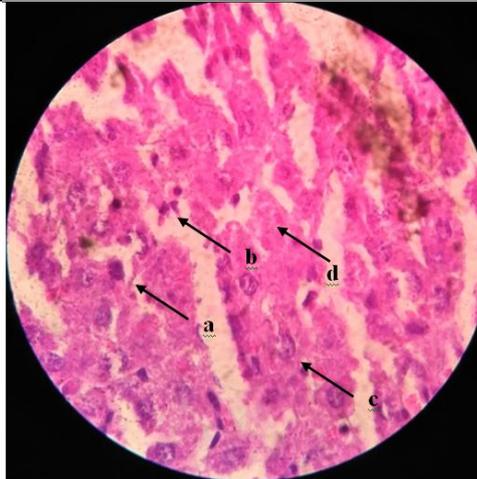
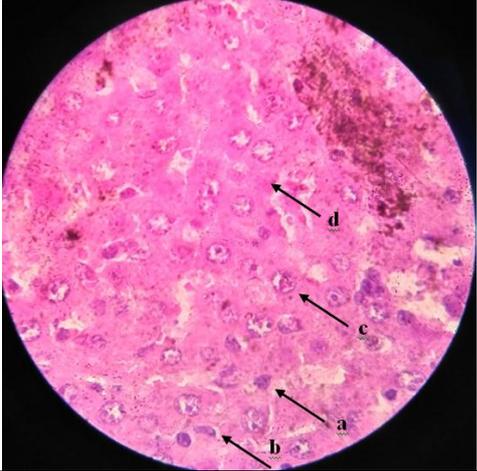
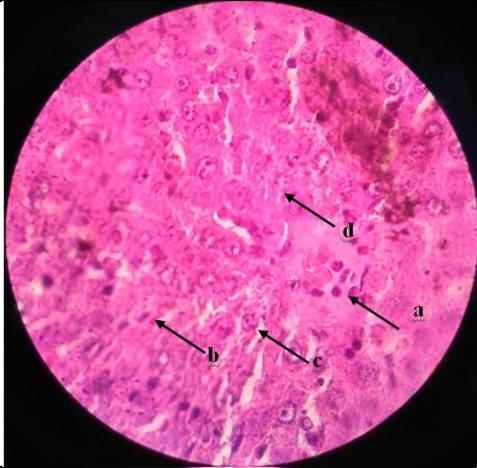


Kode Preparat : kelompok satelit jantan

Perbesaran 1000 kali

Keterangan

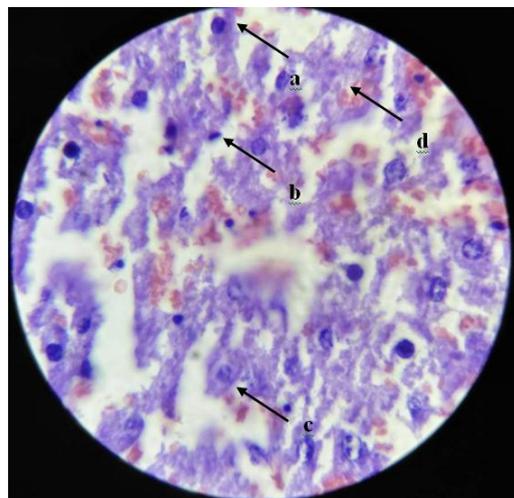
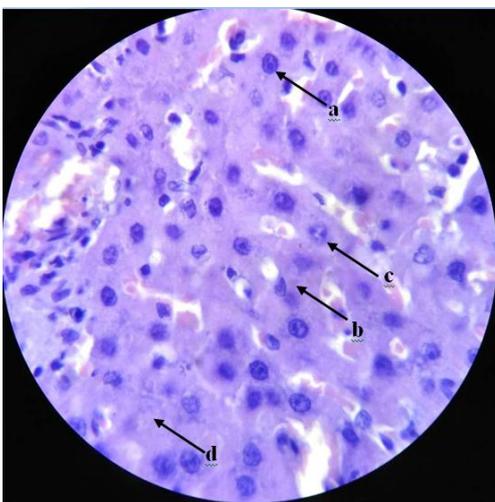
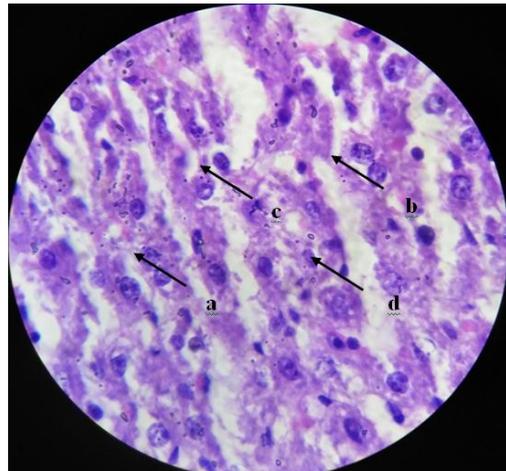
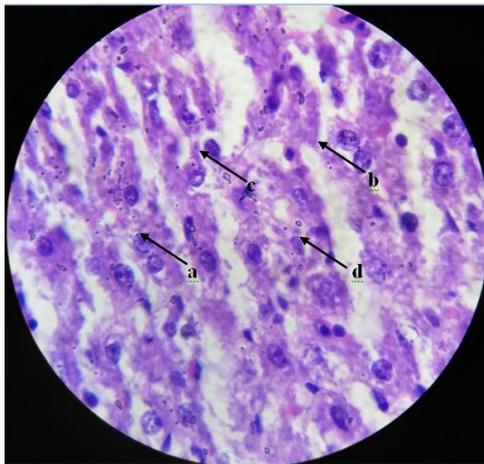
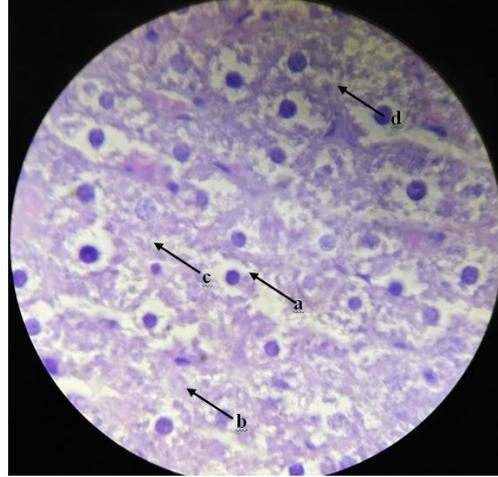
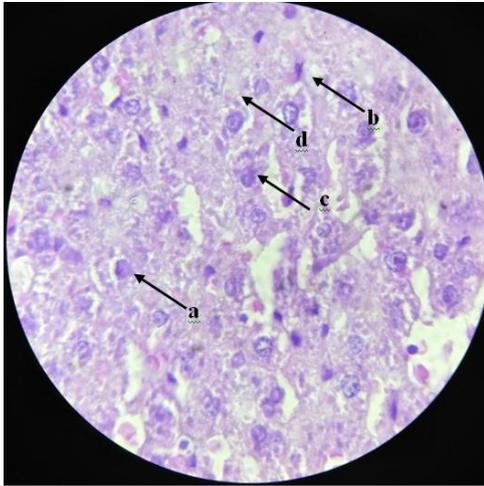
- a: sel normal
- b: piknosis
- c: karyoreksis
- d: karyolisis



Kontrol negatif betina

Dosis 150 mg/kgBB betina

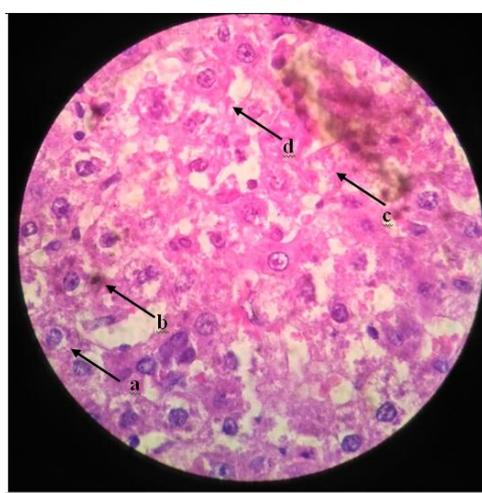
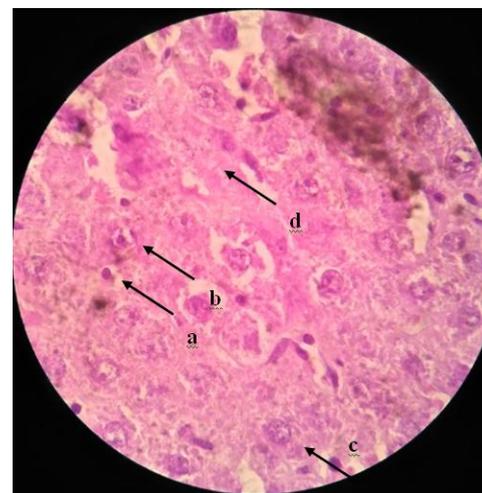
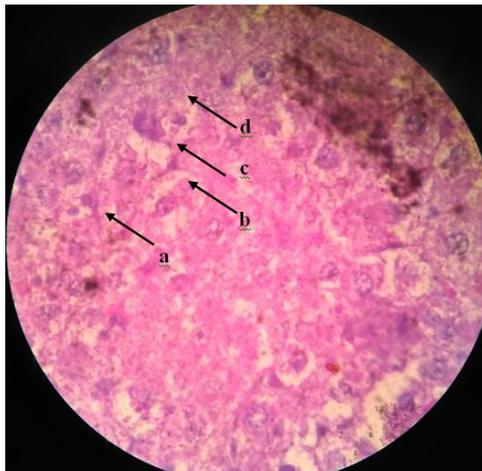
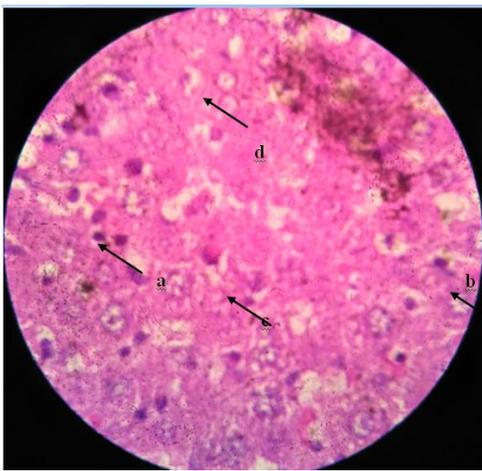
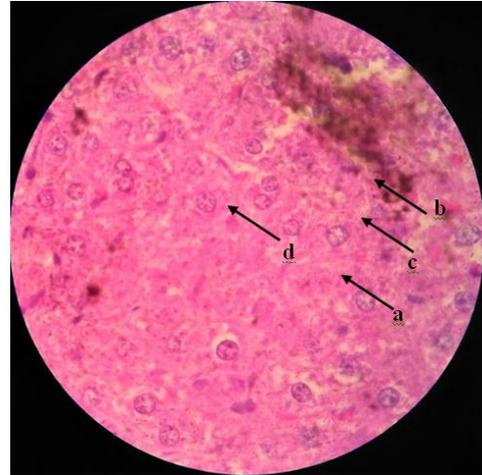
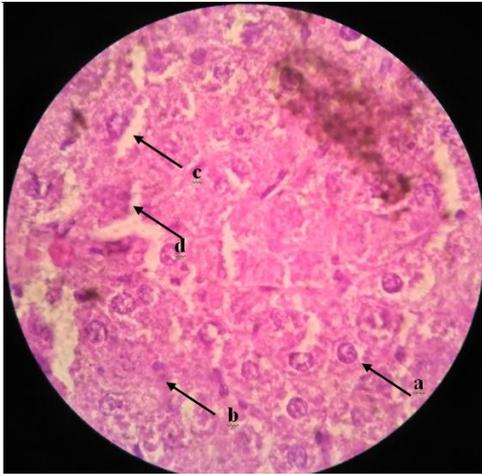
Perbesaran 1000 kali



Dosis 500 mg/kgBB betina

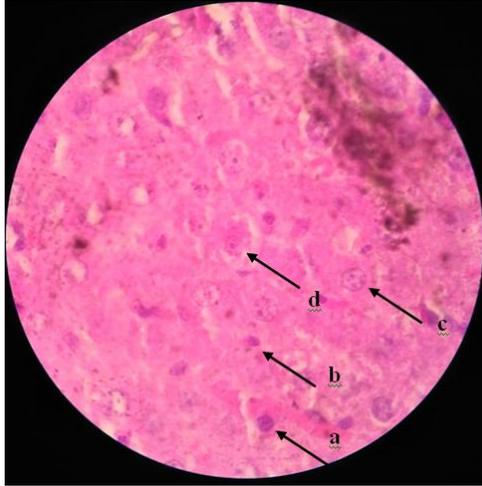
Dosis 1000 mg/kgBB betina

Perbesaran 1000 kali



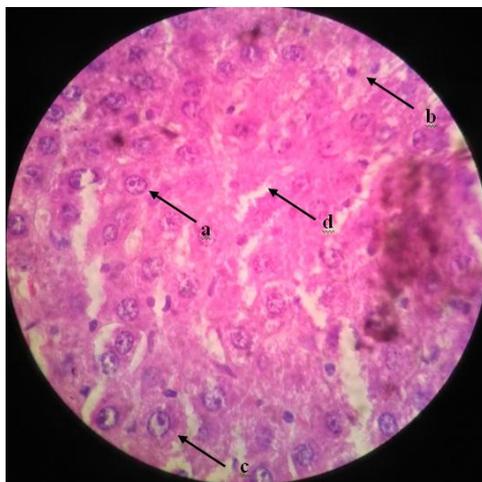
Kode Preparat : kelompok satelit betina

Perbesaran 1000 kali



Keterangan

- a: sel normal
- b: piknosis
- c: karyoreksis
- d: karyolisis



Lampiran 20. Hasil uji statistik

INDEKS ORGAN HATI JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indeksorgan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.6053
	Std. Deviation	.99799
Most Extreme Differences	Absolute	.149
	Positive	.149
	Negative	-.129
Kolmogorov-Smirnov Z		.576
Asymp. Sig. (2-tailed)		.894

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Indeksorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.523	4	10	.722

ANOVA

Indeksorgan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.962	4	.740	.674	.625
Within Groups	10.982	10	1.098		
Total	13.944	14			

INDEKS ORGAN HATI BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indeksorgan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.0627
	Std. Deviation	.53799
Most Extreme Differences	Absolute	.123
	Positive	.088
	Negative	-.123
Kolmogorov-Smirnov Z		.475
Asymp. Sig. (2-tailed)		.978

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indeksorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.606	4	10	.668

ANOVA

indeksorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.863	4	.466	2.128	.152
Within Groups	2.189	10	.219		
Total	4.052	14			

SGOT JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	91.3440
	Std. Deviation	16.83386
Most Extreme Differences	Absolute	.079
	Positive	.079
	Negative	-.062
Kolmogorov-Smirnov Z		.561
Asymp. Sig. (2-tailed)		.911

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.680	4	45	.171

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	279.221	4	69.805	.231	.920
Within Groups	13606.342	45	302.363		
Total	13885.563	49			

SGOT JANTAN T90

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	177.0833
	Std. Deviation	50.10096
Most Extreme Differences	Absolute	.143
	Positive	.143
	Negative	-.064
Kolmogorov-Smirnov Z		.781
Asymp. Sig. (2-tailed)		.576

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.549	4	25	.064

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60292.489	4	15073.122	30.145	.000
Within Groups	12500.593	25	500.024		
Total	72793.082	29			

Multiple Comparisons

SGOT
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	D150	-33.48750	12.07643	.071	-68.9544	1.9794
	D500	-61.08571*	12.44063	.000	-97.6222	-24.5492
	D1000	-127.78000*	13.54039	.000	-167.5464	-88.0136
	ST	-110.27500*	14.43410	.000	-152.6661	-67.8839
D150	K-	33.48750	12.07643	.071	-1.9794	68.9544
	D500	-27.59821	11.57303	.153	-61.5867	6.3903
	D1000	-94.29250*	12.74785	.000	-131.7313	-56.8537
	ST	-76.78750*	13.69339	.000	-117.0032	-36.5718
D500	K-	61.08571*	12.44063	.000	24.5492	97.6222
	D150	27.59821	11.57303	.153	-6.3903	61.5867
	D1000	-66.69429*	13.09338	.000	-105.1479	-28.2407
	ST	-49.18929*	14.01563	.014	-90.3514	-8.0272
D1000	K-	127.78000*	13.54039	.000	88.0136	167.5464
	D150	94.29250*	12.74785	.000	56.8537	131.7313
	D500	66.69429*	13.09338	.000	28.2407	105.1479
	ST	17.50500	15.00036	.770	-26.5491	61.5591
ST	K-	110.27500*	14.43410	.000	67.8839	152.6661
	D150	76.78750*	13.69339	.000	36.5718	117.0032
	D500	49.18929*	14.01563	.014	8.0272	90.3514
	D1000	-17.50500	15.00036	.770	-61.5591	26.5491

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

SGOT

Tukey HSD^{a,b}

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K-	6	117.9000		
D150	8	151.3875	151.3875	
D500	7		178.9857	
ST	4			228.1750
D1000	5			245.6800
Sig.		.119	.262	.684

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.653.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

SGOT JANTAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Satelit t90	Satelit T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	83.0250	203.1750
	Std. Deviation	7.36223	34.63922
Most Extreme Differences	Absolute	.301	.413
	Positive	.301	.292
	Negative	-.219	-.413
Kolmogorov-Smirnov Z		.602	.825
Asymp. Sig. (2-tailed)		.861	.504

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Satelit t90	83.0250	4	7.36223	3.68112
	Satelit T118	203.1750	4	34.63922	17.31961

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Satelit t90 & Satelit T118	4	.607	.393

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Satelit t90 - Satelit T118	-120.15000	30.73635	15.36818	-169.05839	-71.24161	-7.818	3	.004

SGOT JANTAN T0 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T0	Tsatelit
N		10	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	92.7200	203.1750
	Std. Deviation	25.23480	34.63922
Most Extreme Differences	Absolute	.127	.413
	Positive	.127	.292
	Negative	-.097	-.413
Kolmogorov-Smirnov Z		.403	.825
Asymp. Sig. (2-tailed)		.997	.504

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T0	88.8000	4	12.12958	6.06479
	Tsatelit	203.1750	4	34.63922	17.31961

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T0 & Tsatelit	4	.920	.080

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T0 - Tsatelit	-114.37500	23.96461	11.98230	-152.50804	-76.24196	-9.545	3	.002

SGOT BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	107.5100
	Std. Deviation	37.87030
Most Extreme Differences	Absolute	.137
	Positive	.137
	Negative	-.072
Kolmogorov-Smirnov Z		.968
Asymp. Sig. (2-tailed)		.306

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.019	4	45	.408

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	122.518	4	30.630	.020	.999
Within Groups	70151.287	45	1558.917		
Total	70273.805	49			

SGOT BETINA T90

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		37
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	158.2541
	Std. Deviation	40.12457
Most Extreme Differences	Absolute	.115
	Positive	.084
	Negative	-.115
Kolmogorov-Smirnov Z		.702
Asymp. Sig. (2-tailed)		.708

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.126	4	32	.100

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20633.032	4	5158.258	4.422	.006
Within Groups	37326.280	32	1166.446		
Total	57959.312	36			

Multiple Comparisons

SGOT
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	D150	-12.41250	18.44488	.961	-65.7070	40.8820
	D500	-19.43750	17.07664	.785	-68.7786	29.9036
	D1000	-51.66964*	17.67600	.046	-102.7426	-.5967
	ST	-60.47500*	17.07664	.010	-109.8161	-11.1339
D150	K-	12.41250	18.44488	.961	-40.8820	65.7070
	D500	-7.02500	18.44488	.995	-60.3195	46.2695
	D1000	-39.25714	19.00113	.259	-94.1589	15.6446
	ST	-48.06250	18.44488	.093	-101.3570	5.2320
D500	K-	19.43750	17.07664	.785	-29.9036	68.7786
	D150	7.02500	18.44488	.995	-46.2695	60.3195
	D1000	-32.23214	17.67600	.378	-83.3051	18.8408
	ST	-41.03750	17.07664	.141	-90.3786	8.3036
D1000	K-	51.66964*	17.67600	.046	.5967	102.7426
	D150	39.25714	19.00113	.259	-15.6446	94.1589
	D500	32.23214	17.67600	.378	-18.8408	83.3051
	ST	-8.80536	17.67600	.987	-59.8783	42.2676
ST	K-	60.47500*	17.07664	.010	11.1339	109.8161
	D150	48.06250	18.44488	.093	-5.2320	101.3570
	D500	41.03750	17.07664	.141	-8.3036	90.3786
	D1000	8.80536	17.67600	.987	-42.2676	59.8783

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

SGOT

Tukey HSD^{a,b}

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K-	8	129.1875	
D150	6	141.6000	141.6000
D500	8	148.6250	148.6250
D1000	7		180.8571
ST	8		189.6625
Sig.		.812	.078

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.304.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

SGOT BETINA T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		satelit T90	satelit T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	189.6625	174.1875
	Std. Deviation	25.52533	17.31931
Most Extreme Differences	Absolute	.208	.274
	Positive	.208	.199
	Negative	-.188	-.274
Kolmogorov-Smirnov Z		.588	.774
Asymp. Sig. (2-tailed)		.879	.586

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	satelit T90	189.6625	8	25.52533	9.02457
	satelit T118	174.1875	8	17.31931	6.12330

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	satelit T90 & satelit T118	8	-.459	.253

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	satelit T90 - satelit T118	15.47500	36.84282	13.02590	-15.32637	46.27637	1.188	7	.274

SGPT JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	44.6660
	Std. Deviation	9.02675
Most Extreme Differences	Absolute	.094
	Positive	.083
	Negative	-.094
Kolmogorov-Smirnov Z		.664
Asymp. Sig. (2-tailed)		.771

a. Test distribution is Normal.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	44.6660
	Std. Deviation	9.02675
Most Extreme Differences	Absolute	.094
	Positive	.083
	Negative	-.094
Kolmogorov-Smirnov Z		.664
Asymp. Sig. (2-tailed)		.771

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.561	4	45	.692

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	250.037	4	62.509	.752	.562
Within Groups	3742.595	45	83.169		
Total	3992.632	49			

SGPT JANTAN T90

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	71.1667
	Std. Deviation	16.14628
Most Extreme Differences	Absolute	.130
	Positive	.130
	Negative	-.077
Kolmogorov-Smirnov Z		.713
Asymp. Sig. (2-tailed)		.689

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.729	4	25	.581

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2216.700	4	554.175	2.593	.061
Within Groups	5343.667	25	213.747		
Total	7560.367	29			

SGPT JANTAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		satelit T90	satelit T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	83.0250	75.7500
	Std. Deviation	7.36223	8.80965
Most Extreme Differences	Absolute	.301	.266
	Positive	.301	.266
	Negative	-.219	-.196
Kolmogorov-Smirnov Z		.602	.532
Asymp. Sig. (2-tailed)		.861	.940

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	satelit T90	83.0250	4	7.36223	3.68112
	satelit T118	75.7500	4	8.80965	4.40483

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	satelit T90 & satelit T118	4	.646	.354

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	satelit T90 - satelit T118	7.27500	6.92983	3.46491	-3.75190	18.30190	2.100	3	.127

SGPT BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	45.1500
	Std. Deviation	12.10145
Most Extreme Differences	Absolute	.116
	Positive	.116
	Negative	-.093
Kolmogorov-Smirnov Z		.820
Asymp. Sig. (2-tailed)		.512

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.420	4	45	.243

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	587.104	4	146.776	1.002	.416
Within Groups	6588.701	45	146.416		
Total	7175.805	49			

SGPT BETINA T90

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		37
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	71.6568
	Std. Deviation	22.51223
Most Extreme Differences	Absolute	.114
	Positive	.081
	Negative	-.114
Kolmogorov-Smirnov Z		.692
Asymp. Sig. (2-tailed)		.724

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.874	4	32	.139

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3513.109	4	878.277	1.908	.133
Within Groups	14731.702	32	460.366		
Total	18244.811	36			

SGPT BETINA T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		satelit T90	satelit T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	78.4250	77.6625
	Std. Deviation	22.06728	11.51929
Most Extreme Differences	Absolute	.213	.216
	Positive	.186	.216
	Negative	-.213	-.151
Kolmogorov-Smirnov Z		.602	.612
Asymp. Sig. (2-tailed)		.861	.848

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 satelit T90	78.4250	8	22.06728	7.80196
satelit T118	77.6625	8	11.51929	4.07269

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 satelit T90 & satelit T118	8	.245	.558

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	satelit T90 - satelit T118	.76250	22.24718	7.86557	-17.83661	19.36161	.097	7	.925

HISTOPATOLOGI ORGAN HATI JANTAN
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		total.kerusakan
N		15
Normal Parameters ^{a..b}	Mean	14.9333
	Std. Deviation	8.32781
Most Extreme Differences	Absolute	.135
	Positive	.123
	Negative	-.135
Kolmogorov-Smirnov Z		.524
Asymp. Sig. (2-tailed)		.947

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

total.kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.014	4	10	.168

ANOVA

total.kerusakan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	803.600	4	200.900	12.006	.001
Within Groups	167.333	10	16.733		
Total	970.933	14			

Multiple Comparisons

total.kerusakan

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	D150	-5.00000	3.33999	.586	-15.9922	5.9922
	D500	-13.33333	3.33999	.017	-24.3255	-2.3411
	D1000	-19.33333	3.33999	.001	-30.3255	-8.3411
	Satelit	-17.00000	3.33999	.003	-27.9922	-6.0078
D150	kontrol	5.00000	3.33999	.586	-5.9922	15.9922
	D500	-8.33333	3.33999	.168	-19.3255	2.6589
	D1000	-14.33333	3.33999	.011	-25.3255	-3.3411
	Satelit	-12.00000	3.33999	.031	-22.9922	-1.0078
D500	kontrol	13.33333	3.33999	.017	2.3411	24.3255
	D150	8.33333	3.33999	.168	-2.6589	19.3255
	D1000	-6.00000	3.33999	.426	-16.9922	4.9922

	Satelit	-3.66667	3.33999	.804	-14.6589	7.3255
D1000	kontrol	19.33333	3.33999	.001	8.3411	30.3255
	D150	14.33333	3.33999	.011	3.3411	25.3255
	D500	6.00000	3.33999	.426	-4.9922	16.9922
	Satelit	2.33333	3.33999	.952	-8.6589	13.3255
Satelit	kontrol	17.00000	3.33999	.003	6.0078	27.9922
	D150	12.00000	3.33999	.031	1.0078	22.9922
	D500	3.66667	3.33999	.804	-7.3255	14.6589
	D1000	-2.33333	3.33999	.952	-13.3255	8.6589

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

total.kerusakan

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol	3	4.0000		
D150	3	9.0000	9.0000	
D500	3		17.3333	17.3333
Satelit	3			21.0000
D1000	3			23.3333
Sig.		.586	.168	.426

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

PIKNOSIS, KARIOLISIS, DAN KARIOEREKSIS JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		piknotik	kariolisis	karioereksis
N		15	15	15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.87	2.93	7.67
	Std. Deviation	2.850	2.086	6.532
Most Extreme Differences	Absolute	.219	.221	.179
	Positive	.219	.221	.179
	Negative	-.157	-.127	-.120
Kolmogorov-Smirnov Z		.850	.854	.695
Asymp. Sig. (2-tailed)		.465	.459	.720

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
piknotik	2.523	4	10	.107
kariolisis	3.286	4	10	.058

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
piknotik	Between Groups	67.733	4	16.933	3.681	.043
	Within Groups	46.000	10	4.600		
	Total	113.733	14			
kariolisis	Between Groups	24.933	4	6.233	1.731	.219
	Within Groups	36.000	10	3.600		
	Total	60.933	14			

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
piknotik	kontrol	D150	-1.000	1.751	.976	-6.76	4.76
		D500	-4.333	1.751	.173	-10.10	1.43
		D1000	-1.667	1.751	.870	-7.43	4.10
		satelit	-5.667	1.751	.054	-11.43	.10
	D150	kontrol	1.000	1.751	.976	-4.76	6.76
		D500	-3.333	1.751	.374	-9.10	2.43
		D1000	-.667	1.751	.995	-6.43	5.10
		satelit	-4.667	1.751	.130	-10.43	1.10
	D500	kontrol	4.333	1.751	.173	-1.43	10.10
		D150	3.333	1.751	.374	-2.43	9.10
		D1000	2.667	1.751	.572	-3.10	8.43
		satelit	-1.333	1.751	.936	-7.10	4.43
	D1000	kontrol	1.667	1.751	.870	-4.10	7.43
		D150	.667	1.751	.995	-5.10	6.43
		D500	-2.667	1.751	.572	-8.43	3.10
		satelit	-4.000	1.751	.227	-9.76	1.76
satelit	kontrol	5.667	1.751	.054	-.10	11.43	
	D150	4.667	1.751	.130	-1.10	10.43	
	D500	1.333	1.751	.936	-4.43	7.10	

		D1000	4.000	1.751	.227	-1.76	9.76
kariolisis	kontrol	D150	-2.333	1.549	.581	-7.43	2.77
		D500	-3.333	1.549	.272	-8.43	1.77
		D1000	-3.667	1.549	.202	-8.77	1.43
		satelit	-2.000	1.549	.702	-7.10	3.10
	D150	kontrol	2.333	1.549	.581	-2.77	7.43
		D500	-1.000	1.549	.964	-6.10	4.10
		D1000	-1.333	1.549	.905	-6.43	3.77
		satelit	.333	1.549	.999	-4.77	5.43
	D500	kontrol	3.333	1.549	.272	-1.77	8.43
		D150	1.000	1.549	.964	-4.10	6.10
		D1000	-.333	1.549	.999	-5.43	4.77
		satelit	1.333	1.549	.905	-3.77	6.43
	D1000	kontrol	3.667	1.549	.202	-1.43	8.77
		D150	1.333	1.549	.905	-3.77	6.43
		D500	.333	1.549	.999	-4.77	5.43
		satelit	1.667	1.549	.815	-3.43	6.77
	satelit	kontrol	2.000	1.549	.702	-3.10	7.10
		D150	-.333	1.549	.999	-5.43	4.77
		D500	-1.333	1.549	.905	-6.43	3.77
		D1000	-1.667	1.549	.815	-6.77	3.43

Homogeneous Subsets

piknotik

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kontrol	3	2.33
D150	3	3.33
D1000	3	4.00
D500	3	6.67
satelit	3	8.00
Sig.		.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

kariolisisTukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
kontrol	3		.67
satelit	3		2.67
D150	3		3.00
D500	3		4.00
D1000	3		4.33
Sig.			.202

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Test of Homogeneity of Variances

karioereksis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.769	4	10	.021

ANOVA

karioereksis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	349.333	4	87.333	3.522	.048
Within Groups	248.000	10	24.800		
Total	597.333	14			

Multiple Comparisons

karioereksis

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	D150	-3.333	4.066	.919	-16.72	10.05
	D500	-6.667	4.066	.507	-20.05	6.72
	D1000	-14.000	4.066	.039	-27.38	-.62
	satelit	-9.333	4.066	.223	-22.72	4.05
D150	kontrol	3.333	4.066	.919	-10.05	16.72
	D500	-3.333	4.066	.919	-16.72	10.05
	D1000	-10.667	4.066	.139	-24.05	2.72
	satelit	-6.000	4.066	.598	-19.38	7.38

D500	kontrol	6.667	4.066	.507	-6.72	20.05
	D150	3.333	4.066	.919	-10.05	16.72
	D1000	-7.333	4.066	.422	-20.72	6.05
	satelit	-2.667	4.066	.962	-16.05	10.72
D1000	kontrol	14.000	4.066	.039	.62	27.38
	D150	10.667	4.066	.139	-2.72	24.05
	D500	7.333	4.066	.422	-6.05	20.72
	satelit	4.667	4.066	.779	-8.72	18.05
satelit	kontrol	9.333	4.066	.223	-4.05	22.72
	D150	6.000	4.066	.598	-7.38	19.38
	D500	2.667	4.066	.962	-10.72	16.05
	D1000	-4.667	4.066	.779	-18.05	8.72

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

karioereksis

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol	3	1.00	
D150	3	4.33	4.33
D500	3	7.67	7.67
satelit	3	10.33	10.33
D1000	3		15.00
Sig.		.223	.139

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank
karioereksis	kontrol	3	2.00
	D150	3	5.83
	D500	3	9.17
	D1000	3	11.83
	satelit	3	11.17
	Total	15	

Test Statistics^{a,b}

	karioereksis
Chi-Square	10.089
df	4
Asymp. Sig.	.039

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Mann-Whitney Test**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
karioereksis	kontrol	3	2.00	6.00
	D150	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	karioereksis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Mann-Whitney Test**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
karioereksis	kontrol	3	2.00	6.00
	D500	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	karioereksis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
karioereksis	kontrol	3	2.00	6.00
	D1000	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	karioereksis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
karioereksis	kontrol	3	2.00	6.00
	satelit	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	karioereksis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

HISTOPATOLOGI ORGAN HATI BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		total.kerusakan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	24.4000
	Std. Deviation	15.67892
Most Extreme Differences	Absolute	.146
	Positive	.146
	Negative	-.094
Kolmogorov-Smirnov Z		.567
Asymp. Sig. (2-tailed)		.905

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

total.kerusakan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3226.267	4	806.567	37.457	.000
Within Groups	215.333	10	21.533		
Total	3441.600	14			

Multiple Comparisons

total.kerusakan

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	D150	-7.66667	3.78887	.322	-20.1362	4.8028
	D500	-21.00000	3.78887	.002	-33.4695	-8.5305
	D1000	-42.00000	3.78887	.000	-54.4695	-29.5305
	Satelit	-26.33333	3.78887	.000	-38.8028	-13.8638
D150	kontrol negatif	7.66667	3.78887	.322	-4.8028	20.1362
	D500	-13.33333	3.78887	.035	-25.8028	-.8638
	D1000	-34.33333	3.78887	.000	-46.8028	-21.8638
	Satelit	-18.66667	3.78887	.004	-31.1362	-6.1972
D500	kontrol negatif	21.00000	3.78887	.002	8.5305	33.4695
	D150	13.33333	3.78887	.035	.8638	25.8028
	D1000	-21.00000	3.78887	.002	-33.4695	-8.5305
	Satelit	-5.33333	3.78887	.637	-17.8028	7.1362
D1000	kontrol negatif	42.00000	3.78887	.000	29.5305	54.4695
	D150	34.33333	3.78887	.000	21.8638	46.8028

	D500	21.00000*	3.78887	.002	8.5305	33.4695
	Satelit	15.66667*	3.78887	.014	3.1972	28.1362
Satelit	kontrol negatif	26.33333	3.78887	.000	13.8638	38.8028
	D150	18.66667*	3.78887	.004	6.1972	31.1362
	D500	5.33333	3.78887	.637	-7.1362	17.8028
	D1000	-15.66667*	3.78887	.014	-28.1362	-3.1972

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

total.kerusakan

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negatif	3	5.0000		
D150	3	12.6667		
D500	3		26.0000	
Satelit	3		31.3333	
D1000	3			47.0000
Sig.		.322	.637	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

PIKNOSIS, KARIOLISIS, DAN KARIOEREKSIS BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		piknosis	kariolisis	karioereksis
N		15	15	15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.47	5.60	15.33
	Std. Deviation	2.066	4.222	12.574
Most Extreme Differences	Absolute	.161	.198	.171
	Positive	.161	.198	.171
	Negative	-.106	-.136	-.111
Kolmogorov-Smirnov Z		.624	.765	.662
Asymp. Sig. (2-tailed)		.831	.601	.772

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
piknosis	1.118	4	10	.401
kariolisis	2.186	4	10	.144
karioereksis	1.758	4	10	.214

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
piknosis	Between Groups	31.733	4	7.933	2.833	.083
	Within Groups	28.000	10	2.800		
	Total	59.733	14			
kariolisis	Between Groups	99.600	4	24.900	1.660	.235
	Within Groups	150.000	10	15.000		
	Total	249.600	14			
karioereksis	Between Groups	2117.333	4	529.333	55.139	.000
	Within Groups	96.000	10	9.600		
	Total	2213.333	14			

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
piknosis	kontrol negatif	D150	-1.333	1.366	.860	-5.83	3.16
		D500	-3.333	1.366	.182	-7.83	1.16
		D1000	-.667	1.366	.987	-5.16	3.83
		satelit	-3.667	1.366	.127	-8.16	.83
	D150	kontrol negatif	1.333	1.366	.860	-3.16	5.83
		D500	-2.000	1.366	.605	-6.50	2.50
		D1000	.667	1.366	.987	-3.83	5.16
		satelit	-2.333	1.366	.471	-6.83	2.16
	D500	kontrol negatif	3.333	1.366	.182	-1.16	7.83
		D150	2.000	1.366	.605	-2.50	6.50
		D1000	2.667	1.366	.353	-1.83	7.16
		satelit	-.333	1.366	.999	-4.83	4.16
	D1000	kontrol negatif	.667	1.366	.987	-3.83	5.16
		D150	-.667	1.366	.987	-5.16	3.83
		D500	-2.667	1.366	.353	-7.16	1.83
		satelit	-3.000	1.366	.256	-7.50	1.50
satelit	kontrol negatif	3.667	1.366	.127	-.83	8.16	

	D150		2.333	1.366	.471	-2.16	6.83
	D500		.333	1.366	.999	-4.16	4.83
	D1000		3.000	1.366	.256	-1.50	7.50
kariolisis	kontrol negatif	D150	-3.000	3.162	.871	-13.41	7.41
		D500	-3.000	3.162	.871	-13.41	7.41
		D1000	-8.000	3.162	.159	-18.41	2.41
		satelit	-4.000	3.162	.717	-14.41	6.41
	D150	kontrol negatif	3.000	3.162	.871	-7.41	13.41
		D500	.000	3.162	1.000	-10.41	10.41
		D1000	-5.000	3.162	.539	-15.41	5.41
		satelit	-1.000	3.162	.997	-11.41	9.41
	D500	kontrol negatif	3.000	3.162	.871	-7.41	13.41
		D150	.000	3.162	1.000	-10.41	10.41
		D1000	-5.000	3.162	.539	-15.41	5.41
		satelit	-1.000	3.162	.997	-11.41	9.41
	D1000	kontrol negatif	8.000	3.162	.159	-2.41	18.41
		D150	5.000	3.162	.539	-5.41	15.41
		D500	5.000	3.162	.539	-5.41	15.41
		satelit	4.000	3.162	.717	-6.41	14.41
	satelit	kontrol negatif	4.000	3.162	.717	-6.41	14.41
		D150	1.000	3.162	.997	-9.41	11.41
		D500	1.000	3.162	.997	-9.41	11.41
		D1000	-4.000	3.162	.717	-14.41	6.41
karioereksis	kontrol negatif	D150	-3.333	2.530	.687	-11.66	4.99
		D500	-14.667*	2.530	.001	-22.99	-6.34
		D1000	-33.333*	2.530	.000	-41.66	-25.01
		satelit	-18.667*	2.530	.000	-26.99	-10.34
	D150	kontrol negatif	3.333	2.530	.687	-4.99	11.66
		D500	-11.333*	2.530	.008	-19.66	-3.01
		D1000	-30.000*	2.530	.000	-38.33	-21.67
		satelit	-15.333*	2.530	.001	-23.66	-7.01
	D500	kontrol negatif	14.667*	2.530	.001	6.34	22.99
		D150	11.333*	2.530	.008	3.01	19.66
		D1000	-18.667*	2.530	.000	-26.99	-10.34
		satelit	-4.000	2.530	.539	-12.33	4.33
	D1000	kontrol negatif	33.333*	2.530	.000	25.01	41.66
		D150	30.000*	2.530	.000	21.67	38.33
		D500	18.667*	2.530	.000	10.34	26.99
		satelit	14.667*	2.530	.001	6.34	22.99
	satelit	kontrol negatif	18.667*	2.530	.000	10.34	26.99
		D150	15.333*	2.530	.001	7.01	23.66
		D500	4.000	2.530	.539	-4.33	12.33
		D1000	-14.667*	2.530	.001	-22.99	-6.34

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

piknosisTukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
kontrol negatif	3		1.67
D1000	3		2.33
D150	3		3.00
D500	3		5.00
satelit	3		5.33
Sig.			.127

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

kariolisisTukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
kontrol negatif	3	2.00	
D150	3	5.00	
D500	3	5.00	
satelit	3	6.00	
D1000	3	10.00	
Sig.		.159	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

karioereksisTukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negatif	3	1.33		
D150	3	4.67		
D500	3		16.00	
satelit	3		20.00	
D1000	3			34.67
Sig.		.687	.539	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.