

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK AIR DAUN KATUK  
(*Sauropus androgynous*) TERHADAP KADAR BILIRUBIN SERUM DAN  
HISTOLOGI HEPAR TIKUS (*Rattus norvegicus*) BETINA**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ARIEK DIFA ROFIQOH**

**NIM.11620020**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2015**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK AIR DAUN KATUK  
(*Sauropus androgynous*) TERHADAP KADAR BILIRUBIN SERUM DAN  
HISTOLOGI HEPAR TIKUS (*Rattus norvegicus*) BETINA**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ARIEK DIFA ROFIQOH**

**NIM.11620020**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2015**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK AIR DAUN KATUK  
(*Sauropus androgynous*) TERHADAP KADAR BILIRUBIN SERUM DAN  
HISTOLOGI HEPAR TIKUS (*Rattus norvegicus*) BETINA**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:**

**Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN)  
Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:**

**ARIEK DIFA ROFIQOH  
NIM.11620020**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2015**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK AIR DAUN KATUK  
(*Sauropus androgynous*) TERHADAP KADAR BILIRUBIN SERUM DAN  
HISTOLOGI HEPAR TIKUS (*Rattus norvegicus*) BETINA**

**SKRIPSI**

Oleh:

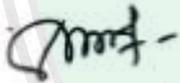
**ARIEK DIFA ROFIQOH**

**NIM.11620020**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 06 November 2015

**Pembimbing I**



**Dr. Retno Susilowati, M.Si**  
**NIP. 19671113 199402 2 001**

**Pembimbing II**



**Umaiyatus Syarifah, M.A**  
**NIP. 19820925 200901 2 005**

**Mengetahui,**

**Ketua Jurusan**



  
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
**NIP. 19741018 200312 2 002**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK AIR DAUN KATUK  
(*Sauropus androgynous*) TERHADAP KADAR BILIRUBIN SERUM DAN  
HISTOLOGI HEPAR TIKUS (*Rattus norvegicus*) BETINA**

**SKRIPSI**

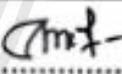
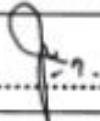
**Oleh:**

**ARIEK DIFA ROFIQOH**

**NIM.11620020**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**Tanggal: 06 November 2015**

<b>Penguji Utama</b>	<b><u>Dr. drh. Bayvinatul M. M.Si.</u></b> NIP. 19710919 200003 2 001	 .....
<b>Ketua Penguji</b>	<b><u>Kholifah Holil, M.Si</u></b> NIP. 19751106 200912 2 002	 .....
<b>Sekretaris Penguji</b>	<b><u>Dr. Retno Susilowati, M.Si</u></b> NIP. 19671113 199402 2 001	 .....
<b>Anggota Penguji</b>	<b><u>Umaivatus Svarifah, M.A</u></b> NIP. 19820925 200901 2 005	 .....

**Mengetahui,**

**Ketua Jurusan**

  
  
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
NIP. 19741018 200312 2 002

## PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ariek Difa Rofiqoh

NIM : 11620020

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Uji Toksisitas SubKronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin Serum Dan Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir atau skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir atau skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, November 2015

Yang membuat Pernyataan



Ariek Difa Rofiqoh

NIM. 11620020

# MOTTO

**Selalu berusaha, bersabar, bersyukur dan berdo'a, karena hasil tidak akan mengkhianati proses begitupun proses tidak akan mengkhianati hasil. Selalu tetap berfikir positif dan optimis karena Allah mengikuti prasangka hambanya.**

## *HALAMAN PERSEMBAHAN*

*Dengan mengucap rasa syukur Alhamdulillah karya kecil ini  
aku persembahkan kepada:*

*Untuk-Mu Allah SWT, terima kasih yang tak terhingga atas  
limpahan rahmat serta karunia-Nya sehingga skripsi ini  
dapat diselesaikan*

*Untuk Ayah ku H. sunardi dan Ibu ku Hj. Siti Fatimah yang  
sangat berharga dan aku sayangi. Terima kasih yang  
sedalam-dalamnya yang selalu setiap saat mendoakan,  
memberikan pengorbanan dan motivasi. Skripsi ini  
merupakan wujud kecil rasa cinta dan sayang saya kepada  
beliau. Semoga saya selalu bisa mewujudkan impian beliau.*

*Untuk Adek ku Atiek Difa Mufidah dan Fandi Berlian  
Ma'ruf terima kasih atas motivasi dan dukungan nya tanpa  
kalian mbak Ariek belum bisa apa-apa.*

*Untuk Mbah ku terima kasih atas segala doa yang telah  
diberikan.*

*Untuk Semua Bapak dan Ibu dosen jurusan Biologi UIN  
Malang, terima kasih atas ilmu yang telah diberikan,  
motivasi dan kesabaran selama masa perkuliahan. Semoga  
ilmu yang saya terima dapat bermanfaat.*

*Untuk Laboran Mas Basar jurusan Biologi UIN Malang,  
terima kasih atas semua bantuan yang diberikan.*

*Untuk Teman-teman ku Wahyuningrum Mustika Sari,  
Afriani Susilo Wulandari, Dyah Puspitasari, Fira Rizki  
Amaliyah, Kunti Mardiyatal Firdausi, Dian Widia Putri,  
terima kasih atas bantuan dan motivasi nya. Semoga kita  
selalu diberi keberkahan oleh Allah SWT dan ilmu yang kita  
terima dapat bermanfaat.*

*Untuk Teman-teman Bio 2011 terima kasih atas segala bentuk  
pertemanan dan kenangan yang diberikan. Semoga kita  
semua menjadi orang sukses.*





## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb*

Syukur Alhamdulillah yang sebesar-sebesarnya, syukur kita lantunkan ke hadirat Allah atas segala nikmat, petunjuk, rahmat, taufiq, hidayah serta Inayah-Nya berupa kesehatan, kesempatan, keimanan dan keislaman sehingga penulis mampu menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin Serum dan Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina” sebagai salah satu syarat meraih gelar Sarjana Sains (S.Si). Shalawat serta salam tetap kita curahkan kepada Nabi Muhammad SAW sebagai penyampai risalah sehingga kita semua terbebas dari keterpurukan dunia menuju dunia yang terang benderang.

Segala sesuatu yang tertulis dalam skripsi ini merupakan pengorbanan, jerih payah baik tenaga dan pikiran dari penulis. Namun semua itu bukanlah sebuah beban ketika orang-orang disekitar selalu membantu dan melantunkan doa untuk kesuksesan peneliti. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada

1. Prof. Dr. Mudjia Raharjo selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku ketua jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
4. Kholifah Holil, M.Si. selaku sekretaris jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
5. Dr. Retno Susilowati, M.Si selaku dosen pembimbing karena atas segala bimbingan, bantuan dan kesabaran beliau, penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.

6. Umayyatus Syarifah, M.A selaku pembimbing Integrasi ke-Islaman dan sains,karena atas bimbingannya, bantuan dan arahan serta motivasi terhadap penulis. Sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
7. Semua dosen serta staf kantor Jurusan Biologi dan semua staf, bagian administrasi fakultas Sains dan Teknologi Terima kasih atas segala bantuannya.
8. Koordinator Lab. Biologi UIN Malang beserta laboran.
9. Ibu Kholifah Holil, M.Si dan Ibu Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si atas masukannya serta doanya selama ini sehingga penulis bisa terlatih untuk segala sesuatu yang bermanfaat.
10. Ayahku H. Sunardi dan Ibu ku Hj. Siti Fatimah yang selalu mendoakan memberi semangat, motivasi dan memberikan kasih sayang.
11. Adik ku Atiek Difa Mufidah dan Fandi Berlian Ma'ruf atas motivasi dan doanya.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah khazanah ilmu pengetahuan bagi semuanya.

*Wassalamu'alaikum salam Wr.Wb*

Malang, November 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>I</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN</b> .....	<b>v</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xvi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvii</b>
<b>مستخلص البحث</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	6
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Hipotesis Penelitian.....	7
1.5 Manfaat Masalah.....	7
1.6 Batasan Masalah.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>9</b>
2.1 Toksisitas .....	9
2.1.1 Uji Toksisitas.....	9
2.1.1.1 Uji Toksisitas Akut.....	11
2.1.1.2 Uji Toksisitas Subkronik.....	12
2.1.1.3 Uji Toksisitas Kronik.....	14
2.2 Tanaman Katuk.....	15
2.2.1 Karakteristik Tanaman Katuk.....	15
2.2.2 Senyawa Aktif Daun Katuk .....	17
2.2.3 Manfaat Dan Toksisitas Daun Katuk.....	18
2.3 Hepar.....	21
2.3.1 Anatomi Hepar.....	21
2.3.2 Histologi Hepar.....	23
2.3.3 Fisiologi Hepar.....	25
2.3.4 Hubungan Hepar Dengan Senyawa Toksik.....	28
2.4 Bilirubin.....	32
2.4.1 Bilirubin Terkonjugasi.....	33
2.4.2 Bilirubin Tak Terkonjugasi.....	34
2.4.3 Metabolisme Bilirubin.....	38
2.4.4 Metode Pengukuran Bilirubin.....	39
2.5 Mekanisme Kerusakan Hepar Akibat Zat Toksik .....	39
2.6 Tikus.....	41

2.6.1 Klasifikasi dan Karakteristik Tikus Putih.....	41
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>44</b>
3.1 Rancangan Penelitian.....	44
3.2 Waktu dan Tempat.....	44
3.3 Variabel Penelitian.....	44
3.4 Populasi dan Sampel.....	45
3.5 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	45
3.6 Alat dan Bahan .....	46
3.6.1 Alat-alat.....	46
3.6.2 Bahan-bahan.....	46
3.7 Prosedur Penelitian.....	47
3.7.1 Preparasi.....	47
3.7.1.1 Persiapan Hewan Coba.....	47
3.7.1.2 Pembuatan Simplisia Daun Katuk.....	47
3.7.1.3 Pembuatan Ekstrak Air Daun Katuk.....	48
3.7.1.4 Perhitungan Dosis dan Pengenceran Ekstrak Air Daun Katuk.....	49
3.8 Kegiatan Penelitian.....	50
3.8.1 Perlakuan Ekstrak Air Daun Katuk .....	50
3.8.2 Perlakuan Uji Toksisitas Subkronik.....	50
3.8.3 Pengukuran Kadar Bilirubin.....	51
3.8.3 Pengukuran Kadar Bilirubin <i>direct</i> Serum.....	51
3.8.4 Pembuatan Preparat Histologi Hepar.....	52
3.9 Teknik Pengambilan Data .....	56
4.0 Teknik Analisa Data.....	56
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>57</b>
4.1. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Saoropus androgynous</i> ) Terhadap Histologi Hepar Tikus Betina ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	57
4.1.1 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Luas Vena Sentralis Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	57
4.1.2 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Sinusoid Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	62
4.1.3 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Kerusakan Sel Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	64
4.2 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Saoropus androgynous</i> ) Terhadap Kadar Bilirubin <i>direct</i> Serum Tikus Betina ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	76
<b>BAB V KESIMPULAN.....</b>	<b>87</b>
5.1 Kesimpulan.....	87
5.2 Saran.....	87
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>89</b>
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Tabel ringkasan perhitungan ANOVA tentang Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Luas Vena Sentralis Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina .....	60
Tabel 4.2	Jumlah Persentase Sel Hepar Normal Dan Sel Hepar Yang Mengalami Kerusakan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) .....	65
Tabel 4.3	Tabel ringkasan Hasil Uji ANAVA Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina Pada $\alpha$ 5% .....	67
Tabel 4.4	Ringkasan Hasil Uji Duncan 5% Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Pada Hepatosit Normal Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina .....	68
Tabel 4.5	Ringkasan Hasil Uji Duncan 5% Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Pada Degenerasi Hidropik Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina .....	69
Tabel 4.6	Ringkasan Hasil Uji Duncan 5% Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Pada Nekrosis Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	70
Tabel 4.7	Kadar Bilirubin <i>Direct</i> (mg/dl) Pada Serum Tikus Pada Pemberian Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ).....	77
Tabel 4.8	Tabel Ringkasan Hasil Uji ANAVA toksisitas subkronik ekstrak air daun katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) terhadap kadar bilirubin <i>direct</i> serum tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) betina Pada $\alpha$ 1%.....	81
Tabel 4.9	Hasil Uji Duncan 1% Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Kadar Bilirubin <i>Direct</i> Serum Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	82

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman katuk ( <i>Sauropus androgynus</i> ) beserta buah dan bunga.....	17
Gambar 2.2	Histologi hepar.....	24
Gambar 2.3	Morfologi Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) putih.....	43
Gambar 4.1	Irisan membujur histologi hepar tikus betina pada perbesaran 100x. 1= Vena Sentralis, 2= Sinusoid..	58
Gambar 4.2	Rerata Hasil Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Luas Vena Sentralis Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	59
Gambar 4.3	Irisan membujur histologi hepar tikus betina pada perbesaran 100x. 1= Vena Sentralis, S= Sinusoid, N= Normal, D= Dilatasi.....	62
Gambar 4.4	Irisan membujur histologi hepar yang memperlihatkan kerusakan hepatosit pada perbesaran 400x. 1= Sinusoid, 2= Hepatosit normal, 3= Hepatosit degenerasi, 4= Hepatosit nekrosis (piknotik).....	64
Gambar 4.5	Rerata Hasil Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Kadar Bilirubin <i>Direct</i> Serum Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	78

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Dokumentasi Penelitian.....	88
Lampiran 2.	Perhitungan Luas Vena Sentralis Hepar.....	91
Lampiran 3.	Hasil Analisis Statistik tentang Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Histologi Luas Vena Sentralis Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	96
Lampiran 4.	Hasil Analisis Statistik tentang Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Histologi Sel Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina .....	97
Lampiran 5.	Hasil Analisis Statistik tentang Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk ( <i>Sauropus androgynous</i> ) Terhadap Kadar Bilirubin <i>Direct</i> Serum Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Betina.....	100

## ABSTRAK

Rofiqoh, Ariek Difa. 2015. **Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin Serum Dan Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina**. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Dr. Retno Susilowati, M.Si; Pembimbing Agama: Umayyatus Syarifah, MA.

Kata kunci: Toksisitas Subkronik, Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynous*), Kadar Bilirubin *Direct* Serum, Sel Hepar, Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Uji toksisitas merupakan suatu pengujian untuk mengamati suatu aktivitas farmakologi suatu senyawa dan mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi (tubuh). Uji toksisitas ini memiliki tujuan untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaan konsumsi suatu senyawa, salah satunya adalah uji toksisitas pada tanaman dalam bentuk obat tradisional. Salah satu jenis uji toksisitas yang bertujuan untuk mengetahui efek toksik jangka pendek adalah uji toksisitas subkronik. Tanaman katuk banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal karena kandungan zat aktifnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek toksik secara subkronik ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 4 perlakuan 6 ulangan. Hewan coba yang digunakan adalah tikus betina normal berusia 2 bulan. Kelompok perlakuan pada penelitian ini meliputi K (akuades), PI (45mg/kgBB), PII (60mg/kgBB), dan PIII (75 mg/kgBB). Parameter yang diamati adalah kadar bilirubin *direct* serum dan histologi vena sentralis, sinusoid dan sel hepar. Data yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan ANAVA, apabila terdapat perbedaan signifikan, maka diuji lanjut dengan Duncan 5% dan 1%. Selain itu juga dilakukan uji regresi linier dan uji korelasi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada dosis 75 mg/kgBB memiliki efek toksik secara subkronik sedangkan dosis 45 mg/kgBB dan dosis 60 mg/kgBB merupakan dosis aman pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin serum dan histologi hepar pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

## ABSTRACT

Rofiqoh, Ariek Difa. 2015. **Toxicity Subchronic Test of Katuk's Leaves Water Extract (*Sauropus androgynous*) On the Serum Bilirubin Levels and Hepatic Histology of Female Rat (*Rattus norvegicus*)**. Biology Department, Science and Technology Faculty, Maulana Malik Ibrahim State Islamic university of Malang. Biology Supervisor: Dr. Retno Susilowati, M.Si; Religion Supervisor: Umaiyyatus Syarifah, MA.

Keywords: Toxicity Subkronik, Katuk's Leaves extract (*Sauropus androgynous*), Serum Bilirubin Levels, Hepatic cells, female rat (*Rattus norvegicus*)

Toxicity test is an examination to observe a pharmacological compound activity and to detect the effect of toxic essence in biological systems (body). Toxicity test aims to know the security level of the use of compound consumption, one of them is toxicity test on traditional medicinal plants. One of toxicity test that aims to know Short-term toxic effects is toxicity subkronik test. Many Katuk plants are used as a herbal medicine because of its active substance content. This research aims to know the Toxic effect in subchronic of Katuk's leaves water extract (*Sauropus androgynous*) on the serum bilirubin levels and hepatic histology of female rat (*Rattus norvegicus*).

This research is experimental research which use RAL (Complete Random Design) with 4 treatment 6 replications. Animals used is female rat aged 2 months. The treatment group in this research include K (aquades), PI (45mg/kgBB), PII (60mg/kgBB), and PIII (75 mg/kgBB). Parameter observed is serum bilirubin *direct* levels and histology of vena sentralis, sinusoid and hepatic cells. The data obtained is analyzed by using ANAVA, if there is a significant difference, then a further test by Duncan 5% and 1%. It also conducted linear regression and correlation test.

The results showed that the dose dose 75 mg/kgBB likely to have toxic effects in subkronik while dose 45 mg/kgBB and 60 mg/kgBB is safe dose in giving Katuk's Leaves water extract (*Sauropus androgynous*) on the serum bilirubin levels and destruction of hepatic cells in female rat (*Rattus norvegicus*).

## مستخلص البحث

أريك ديفا رفيقة، 2015م، اختبار "توكسيستاس سوبكرونيك" من استخراج المياه ورق "كاتوك" على مقدار "بيلروبين سيروم" وأنسجة من كبد فأر إناث، البحث الجامعي، قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة رتنو سوسيلوواتي الماجستير، والمشرفة الثانية: عمية الشريعة الماجستير

الكلمات الأساسية: "توكسيستاس سوبكرونيك"، استخراج المياه ورق "كاتوك"، مقدار "بيلروبين سيروم"، كبد فأر إناث.

إن اختبار "توكسيستاس" هو اختبار لمراقبة نشاطات من مركبات وكشف آثار توكسيك من مادة في نظام الجسم. وهذا الإختبار لديه فوائد ومنهم لمعرفة درجة الأمن في استخدام ستهلاكاً مركباً واحداً منهم هو اختبار "توكسيستاس" على نبات تقليدي وأما أحد من اختبار "توكسيستاس" الذي يهدف آثار توكسيك وقتاً قصراً هو اختبار "سوبكرونيك". وأما الأهداف المرجوة في هذا البحث وهي لمعرفة آثار "توكسيستاس سوبكرونيك" من استخراج المياه ورق "كاتوك" على مقدار "بيلروبين سيروم" وأنسجة من كبد فأر إناث.

وأما المدخل المستخدم في هذا البحث هو بحثاً تجريبياً باستخدام تصميم كامل العشوائية بأربع خطوات وستة التكرار. وأما الحيوان المستخدمة في هذا البحث هو فأر أبيض إناث بشهرين من عمره. وأما المجموعة الإجرائي في هذا البحث وهي المجموعة السيطرة (K)، (جرعة 45 mg/kg BB)، (P2) 60 و (mg/kg BB) 75 p3. وأما مقدار الملاحظ في هذا البحث وهو مقدار "بيلروبين سيروم" وأنسجة من خلايا الكبد. وأما الطريقة المستخدمة في هذا البحث وهي الطريقة "ANOVA" وإذا كان هناك ذو معنى مختلفة تختبر مرة أخرى باستخدام الطريقة DUNCAN حوالي 1% و 5% والإنحدار الخطي الإرتباطي.

وأما النتائج من هذا البحث تدل على أن في جرعة حوالي 75 mg/kg BB تميل إلى أن تكون لها آثار توكسيك في سوبكرونيك وفي حين في جرعة حوالي 45 mg/kg BB و 60 mg/kg BB هو من جرعة آمنة على اعطاء استخراج المياه ورق "كاتوك" على مقدار "بيلروبين سيروم"، كبد فأر إناث.

## ABSTRAK

Rofiqoh, Ariek Difa. 2015. **Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin Serum Dan Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina**. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Dr. Retno Susilowati, M.Si; Pembimbing Agama: Umayyatus Syarifah, MA.

Kata kunci: Toksisitas Subkronik, Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynous*), Kadar Bilirubin *Direct* Serum, Sel Hepar, Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Uji toksisitas merupakan suatu pengujian untuk mengamati suatu aktivitas farmakologi suatu senyawa dan mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi (tubuh). Uji toksisitas ini memiliki tujuan untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaan konsumsi suatu senyawa, salah satunya adalah uji toksisitas pada tanaman dalam bentuk obat tradisional. Salah satu jenis uji toksisitas yang bertujuan untuk mengetahui efek toksik jangka pendek adalah uji toksisitas subkronik. Tanaman katuk banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal karena kandungan zat aktifnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek toksik secara subkronik ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 4 perlakuan 6 ulangan. Hewan coba yang digunakan adalah tikus betina normal berusia 2 bulan. Kelompok perlakuan pada penelitian ini meliputi K (akuades), PI (45mg/kgBB), PII (60mg/kgBB), dan PIII (75 mg/kgBB). Parameter yang diamati adalah kadar bilirubin *direct* serum dan histologi vena sentralis, sinusoid dan sel hepar. Data yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan ANAVA, apabila terdapat perbedaan signifikan, maka diuji lanjut dengan Duncan 5% dan 1%. Selain itu juga dilakukan uji regresi linier dan uji korelasi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada dosis 75 mg/kgBB memiliki efek toksik secara subkronik sedangkan dosis 45 mg/kgBB dan dosis 60 mg/kgBB merupakan dosis aman pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin serum dan histologi hepar pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

## ABSTRACT

Rofiqoh, Ariek Difa. 2015. **Toxicity Subchronic Test of Katuk's Leaves Water Extract (*Sauropus androgynous*) On the Serum Bilirubin Levels and Hepatic Histology of Female Rat (*Rattus norvegicus*)**. Biology Department, Science and Technology Faculty, Maulana Malik Ibrahim State Islamic university of Malang. Biology Supervisor: Dr. Retno Susilowati, M.Si; Religion Supervisor: Umaiyyatus Syarifah, MA.

Keywords: Toxicity Subkronik, Katuk's Leaves extract (*Sauropus androgynous*), Serum Bilirubin Levels, Hepatic cells, female rat (*Rattus norvegicus*)

Toxicity test is an examination to observe a pharmacological compound activity and to detect the effect of toxic essence in biological systems (body). Toxicity test aims to know the security level of the use of compound consumption, one of them is toxicity test on traditional medicinal plants. One of toxicity test that aims to know Short-term toxic effects is toxicity subkronik test. Many Katuk plants are used as a herbal medicine because of its active substance content. This research aims to know the Toxic effect in subchronic of Katuk's leaves water extract (*Sauropus androgynous*) on the serum bilirubin levels and hepatic histology of female rat (*Rattus norvegicus*).

This research is experimental research which use RAL (Complete Random Design) with 4 treatment 6 replications. Animals used is female rat aged 2 months. The treatment group in this research include K (aquades), PI (45mg/kgBB), PII (60mg/kgBB), and PIII (75 mg/kgBB). Parameter observed is serum bilirubin *direct* levels and histology of vena sentralis, sinusoid and hepatic cells. The data obtained is analyzed by using ANAVA, if there is a significant difference, then a further test by Duncan 5% and 1%. It also conducted linear regression and correlation test.

The results showed that the dose dose 75 mg/kgBB likely to have toxic effects in subkronik while dose 45 mg/kgBB and 60 mg/kgBB is safe dose in giving Katuk's Leaves water extract (*Sauropus androgynous*) on the serum bilirubin levels and destruction of hepatic cells in female rat (*Rattus norvegicus*).

## مستخلص البحث

أريك ديفا رفيقة، 2015م، اختبار "توكسيستاس سوبكرونيك" من استخراج المياه ورق "كاتوك" على مقدار "بيلروبين سيروم" وأنسجة من كبد فأر إناث، البحث الجامعي، قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة رتنو سوسيلوواتي الماجستير، والمشرفة الثانية: عمية الشريعة الماجستير

الكلمات الأساسية: "توكسيستاس سوبكرونيك"، استخراج المياه ورق "كاتوك"، مقدار "بيلروبين سيروم"، كبد فأر إناث.

إن اختبار "توكسيستاس" هو اختبار لمراقبة نشاطات من مركبات وكشف آثار توكسيك من مادة في نظام الجسم. وهذا الإختبار لديه فوائد ومنهم لمعرفة درجة الأمن في استخدام ستهلاكاً مركباً واحد منهم هو اختبار "توكسيستاس" على نبات تقليدي وأما أحد من اختبار "توكسيستاس" الذي يهدف آثار توكسيك وقتاً قصراً هو اختبار "سوبكرونيك". وأما الأهداف المرجوة في هذا البحث وهي لمعرفة آثار "توكسيستاس سوبكرونيك" من استخراج المياه ورق "كاتوك" على مقدار "بيلروبين سيروم" وأنسجة من كبد فأر إناث.

وأما المدخل المستخدم في هذا البحث هو بحثاً تجريبياً باستخدام تصميم كامل العشوائية بأربع خطوات وستة التكرار. وأما الحيوان المستخدمة في هذا البحث هو فأر أبيض إناث بشهرين من عمره. وأما المجموعة الإجرائي في هذا البحث وهي المجموعة السيطرة (K)، (جرعة 45 mg/kg BB)، (P2)، (60 mg/kg BB) و (3p) (75 mg/kg BB). وأما مقدار الملاحظ في هذا البحث وهو مقدار "بيلروبين سيروم" وأنسجة من خلايا الكبد. وأما الطريقة المستخدمة في هذا البحث وهي الطريقة "ANOVA" وإذا كان هناك ذو معنى مختلفة تختبر مرة أخرى باستخدام الطريقة DUNCAN حوالي 1% و 5% والإنحدار الخطي الإرتباطي.

وأما النتائج من هذا البحث تدل على أن في جرعة حوالي 75 mg/kg BB تميل إلى أن تكون لها آثار توكسيك في سوبكرونيك وفي حين في جرعة حوالي 45 mg/kg BB و 60 mg/kg BB هو من جرعة آمنة على اعطاء استخراج المياه ورق "كاتوك" على مقدار "بيلروبين سيروم"، كبد فأر إناث.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar belakang

Indonesia memiliki berbagai jumlah spesies tanaman. Terdapat 2 juta spesies tanaman yang sudah dikenali di seluruh dunia, 60 Persen dari jumlah tersebut berada di Indonesia (Fazri, 2015). Keanekaragaman jenis tanaman tersebut banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai sayuran bahkan obat-obatan. Secara umum salah satu manfaat tanaman adalah untuk menjaga kesehatan tubuh kita. Sebagaimana disebutkan dalam al Quran tentang keanekaragaman tanaman yaitu dalam surat Al-An'am (06) 141:

﴿ وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرِ مَّعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكْلُهُمْ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَانَ مَتَشَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ ۗ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ۝١٤١﴾

Artinya:”141. Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebon yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). Makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan”.

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan kebun yang luas dan taman-taman menghijau yang terdiri dari berbagai jenis tanaman di antaranya ada yang tumbuh tinggi dan ada pula yang tumbuh tidak tinggi. Ada yang bentuknya serupa namun rasanya berbeda (Al-Jazairi, 2007). Terdapat kata مُخْتَلِفًا bermakna berbeda, أُكْلُهُ bermakna rasa. Sehingga kata مُخْتَلِفًا أُكْلُهُ bermakna tanaman-

tanaman yang berbeda rasanya, ada yang enak dan ada pula yang kurang enak, jadi dapat disimpulkan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai macam tanaman yang menghasilkan buah-buahan yang memiliki rasa berbeda-beda. Kemudian, tanaman-tanaman tersebut dapat dimanfaatkan oleh manusia agar manusia seraya bersyukur kepada Allah SWT (Qurthubi, 2008). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk sayuran hingga dimanfaatkan sebagai obat-obatan oleh manusia adalah tanaman katuk.

Tanaman katuk (*Sauropus androgynus*) merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemui di Indonesia. Tanaman katuk dikenal dengan nama tarok manis, atau cekok manis, babing, kertu, dan dalam bahasa asing dikenal dengan nama *sweet shoot* (Wiradimadia, 2010). Tanaman katuk (*Sauropus androgynus*) banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia yaitu untuk sayuran, lalapan sampai digunakan sebagai obat. Tanaman katuk yang banyak dimanfaatkan adalah pada bagian daun karena memiliki banyak kandungan yang sangat bermanfaat bagi tubuh salah satunya adalah memperlancar ASI. Penelitian yang telah dilakukan oleh Sa'roni *et al.* (2004) diperoleh bahwa pemberian ekstrak daun katuk pada kelompok ibu melahirkan dan menyusui bayinya dengan dosis 3 x 300 mg/hari selama 15 hari terus-menerus mulai hari ke-2 atau hari ke-3 setelah melahirkan dapat meningkatkan produksi ASI 50-70% lebih banyak dibandingkan dengan kelompok ibu melahirkan dan menyusui bayinya yang tidak diberi ekstrak daun katuk.

Daun katuk juga dapat dimanfaatkan oleh wanita premenopause. Penelitian yang dilakukan oleh Hikmah (2014) diperoleh bahwa kandungan dari

ekstrak air daun katuk yaitu sejenis senyawa fitoestrogen dapat mempengaruhi berat uterus dan tebal endometrium pada mencit premenopause. Oleh karena itu, daun katuk dapat mengurangi atrofi pada endometrium yang dapat menyebabkan pendarahan pada endometrium. Hal tersebut yang sering dialami pada wanita premenopause.

Daun katuk termasuk ke dalam famili *Euphorbiaceae*. Ciri khas famili tersebut adalah mengandung minyak atsiri, sterol, saponin, flavonoid, triterpen, asam-asam organik, asam-asam amino, alkaloid, dan tanin (Wiradimadia, 2010). Secara umum, kandungan yang dapat ditemukan dalam ekstrak air daun katuk adalah flavonoid, saponin, tanin, glikosida, alkaloid, dan triterpenoid. Masing-masing senyawa tersebut mempunyai manfaat bagi kesehatan tubuh (Gayatrama, 2012). Salah satu kandungan lain dari ekstrak air daun katuk adalah senyawa fitoestrogen yang dapat digunakan sebagai pengganti estrogen alami dalam tubuh (Hikmah, 2014). Tetapi, beberapa kandungan tersebut diduga dapat bersifat toksik pada kadar tertentu seperti senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin, dan flavonoid (Cahyadi, 2006).

Beberapa senyawa aktif tersebut dikhawatirkan ketika dikonsumsi dalam jangka panjang, pemberian secara berulang, dan dosis yang belum dianjurkan dapat menimbulkan efek toksik pada organ tubuh. Oleh karena itu, perlu dilaksanakan pengujian toksisitas pada daun katuk. Islam mengajarkan agar kita harus selalu mengonsumsi segala sesuatu dengan seimbang dan tidak berlebihan sesuai dengan kadar yang ditentukan. Sebagaimana disebutkan dalam firman Allah SWT dalam al Quran surat al-An'am (06)141:

وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Artinya: "Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan".

Ayat tersebut menjelaskan bahwa dilarang berlebih-lebihan dalam segala sesuatu. Mengonsumsi makanan dan segala sesuatunya secara berlebihan tanpa dosis yang dianjurkan dapat dikhawatirkan berbahaya bagi pikiran dan tubuh, sehingga berakibat pada metabolisme dari tubuh terganggu (Ghoffar, 2007). Hal ini diperkuat juga dalam al Quran surat Al-A'raf (07) 31 yang menjelaskan bahwa Islam sangat menganjurkan mengonsumsi makanan dan minuman yang halal lagi baik, tanpa berlebih-lebihan karena makanan dan minuman ketika dikonsumsi dalam keadaan seimbang maka akan memberikan manfaat yang baik bagi kesehatan tubuh tetapi ketika makanan dan minuman itu dikonsumsi secara berlebihan maka akan berdampak buruk bagi tubuh. Allah SWT sangat tidak menyukai orang yang berlebihan dalam segala hal kemudian *mubadzir* atau berlebihan dalam sesuatu tindakan (Jabir, 2007). Seperti halnya dalam mengonsumsi daun katuk dalam bentuk obat, makanan maupun sayuran harus dikonsumsi sesuai dengan dosis yang dianjurkan.

Beberapa kelompok senyawa yang dapat menimbulkan efek toksik ditemukan pada tanaman yang sebagian larut lemak dan dapat bersifat bioakumulatif. Ketika tanaman tersebut dikonsumsi tanpa dosis yang dianjurkan, maka senyawa tersebut akan bersifat toksik kemudian tersimpan dan menumpuk pada jaringan dan organ tubuh salah satunya dalam organ hepar. Hepar dapat terkena efek samping senyawa toksik karena bertanggung jawab melakukan metabolisme berbagai macam senyawa. Dalam hepar, senyawa-senyawa tersebut

akan mengalami biotransformasi. Selain itu, proses ini juga berperan dalam mengakhiri kerja senyawa dalam tubuh. Fungsi hepar untuk detoksifikasi senyawa juga dipengaruhi oleh jumlah dan dosis yang masuk. Semakin banyak kadar senyawa toksik yang masuk, maka fungsi hepar dapat terganggu (Setiawati et al., 2007). Salah satu fungsi hepar yang akan mengalami gangguan adalah dalam memetabolisme dan mengekskresi pigmen empedu bilirubin ke dalam kandung empedu yang tidak dapat dilaksanakan. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya peningkatan bilirubin khususnya bilirubin *direct* dalam serum. Sehingga dengan pengukuran kadar bilirubin *direct* serum dapat digunakan sebagai indikator untuk mengetahui derajat kerusakan hepar (Nilandari, 2006).

Beberapa senyawa aktif tersebut dapat diketahui memiliki efek toksik bagi tubuh yaitu dengan cara pengujian toksisitas. Pengujian toksisitas bertujuan untuk mengetahui efek jangka pendek, jangka panjang dan dosis yang sesuai dari bahan yang mengandung senyawa aktif (Wirasuta, 2007). Oleh karena itu, berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan pengujian toksisitas. Hal tersebut dapat dikarenakan terdapat beberapa kandungan dari ekstrak air daun katuk yang dikhawatirkan dapat membahayakan bagi kesehatan manusia jika dikonsumsi dalam jangka panjang dan dosis yang belum dianjurkan. Penelitian ini dilakukan uji toksisitas melalui pengujian toksisitas subkronik dalam bentuk ekstrak air daun katuk sehingga dapat diketahui tingkat keamanan penggunaan konsumsi daun katuk dalam bentuk ekstrak air terhadap hepar dengan melihat kadar bilirubin *direct* serum serta gambaran mikroskopis hepar. Melalui pengukuran kadar

bilirubin *direct* serum diharapkan dapat menilai efek toksik dari ekstrak air daun katuk dan fungsi dari organ tubuh salah satunya adalah hepar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah terdapat efek toksik secara subkronik pada pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina?
2. Berapakah dosis aman yang tidak menimbulkan efek toksik secara subkronik pada pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui efek toksik secara subkronik pada ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina.
2. Untuk mengetahui dosis aman yang tidak menimbulkan efek toksik secara subkronik pada pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

#### 1.4 Hipotesis Penelitian

Tidak terdapat efek toksik secara subkronik pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) pada dosis rendah terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang efek toksik subkronik penggunaan daun katuk.
2. Dapat digunakan sebagai acuan, landasan lebih lanjut mengenai uji toksisitas ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*).

#### 1.6 Batasan masalah

1. Bagian tanaman katuk (*Sauropus androgynous*) yang digunakan adalah daun katuk.
2. Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) betina sebanyak 24 ekor dengan umur 2 bulan jenis wistar dengan berat badan 200-350 gram.
3. Perlakuan menggunakan ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) dengan 4 tingkatan dosis uji toksisitas subkronik yaitu 0, 45 mg/kg BB, 60 mg/kg BB dan 75 mg/kg BB.
4. Pengamatan pada uji toksisitas subkronik meliputi pemeriksaan kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar. Gambaran histologi hepar dinilai menggunakan luas vena sentralis, sinusoid dan presentase jumlah sel hepar yang normal dan yang mengalami kerusakan meliputi degenerasi

parenkim, degenerasi hidropik, nekrosis yang intinya mengalami piknotik, karioreksis dan kariolisis.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Toksisitas**

Toksisitas merupakan istilah dalam toksikologi yang didefinisikan sebagai kemampuan senyawa untuk menyebabkan kerusakan atau injuri. Istilah toksisitas merupakan istilah kualitatif yang terjadi atau tidak terjadinya kerusakan tergantung pada jumlah unsur senyawa toksik yang terabsorpsi. Proses pengrusakan ini baru terjadi apabila pada organ target telah menumpuk menjadi satu dalam jumlah yang cukup dari bagian toksik atau metabolitnya, begitu pula hal ini bukan berarti bahwa penumpukan yang tertinggi dari agen toksik itu berada di organ target, tetapi bisa juga di tempat yang lain. Selanjutnya, untuk sebagian besar senyawa toksik pada konsentrasi yang tinggi dalam tubuh akan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Konsentrasi senyawa toksik dalam tubuh merupakan jumlah racun yang dipaparkan, kemudian berkaitan dengan kecepatan absorpsinya, jumlah yang diserap, dan berhubungan dengan distribusi, metabolisme maupun ekskresi senyawa toksik tersebut (Mansur, 2008).

##### **2.1.1 Uji Toksisitas**

Uji toksisitas adalah suatu pengujian untuk mengamati suatu aktivitas farmakologi suatu senyawa. Prinsip uji toksisitas merupakan pengujian terhadap komponen bioaktif yang bersifat toksik jika diberikan dengan dosis tinggi dan apabila diberikan dengan dosis rendah maka akan menjadi obat. Zat atau senyawa asing yang ada di lingkungan dapat terserap ke dalam tubuh secara difusi dan langsung akan mempengaruhi keseimbangan dalam tubuh. Uji

toksisitas digunakan untuk mengetahui pengaruh senyawa yang dihasilkan oleh dosis tunggal dari suatu campuran senyawa pada hewan coba sebagai uji pra skrining senyawa bioaktif (Fadli, 2015).

Hakekat dari obat tradisional diteliti kembangkan adalah untuk dimanfaatkan sebagai obat untuk manusia. Berdasarkan hal tersebut uji toksisitas obat tradisional harus mampu mengungkapkan keamanannya terkait dengan maksud penggunaannya (Sari, 2010).

Efek toksik sangat bervariasi dalam mempengaruhi sifat, organ sasaran, maupun mekanisme kerjanya. Umumnya toksikan hanya mempengaruhi satu atau beberapa organ saja. Hal tersebut dapat disebabkan lebih peka suatu organ, atau lebih tingginya kadar bahan kimia dan metabolitnya di organ. Toksisitas merupakan sifat bawaan suatu zat, bentuk dan tingkat manifestasi toksiknya pada suatu organisme bergantung pada berbagai jenis faktor. Faktor yang nyata adalah dosis dan lamanya pajanan. Faktor yang kurang nyata adalah spesies dan strain hewan, jenis kelamin, umur, serta status gizi dan hormonal. Faktor lain yang turut berperan yaitu faktor fisik, lingkungan dan sosial. Di samping itu, efek toksik suatu zat dapat dipengaruhi oleh senyawa lain yang diberikan bersamaan. Efek toksik dapat berubah karena berbagai hal seperti perubahan absorpsi, distribusi, dan ekskresi senyawa, peningkatan atau pengurangan biotransformasi, serta perubahan kepekaan reseptor pada organ sasaran (Hernawati, 2012).

Menurut bentuknya toksisitas dapat dibagi menjadi 2 bentuk, toksisitas umum (akut, subakut atau subkronik, kronik) dan toksisitas khusus (teratogenik,

mutagenik, dan karsinogenik). Dalam uji toksisitas juga perlu dibedakan obat tradisional yang dipakai secara singkat dan yang dipakai dalam jangka waktu lama penggunaannya (Fadli, 2015).

#### **2.1.1.1 Uji Toksisitas akut**

Uji Toksisitas akut dilakukan dengan memberi senyawa yang sedang diuji sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam, kemudian diamati selama 14 hari (Hendriani, 2007). Uji toksisitas akut bertujuan untuk mengamati efek toksik suatu senyawa yang bisa terjadi dalam jangka waktu yang singkat setelah pemberiannya dengan takaran tertentu. Paling tidak empat peringkat dosis yang dianjurkan dalam pengujian toksisitas akut, dosis tersebut berkisar dari dosis terendah yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji sampai dengan dosis tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji (Fadli, 2015).

Pengamatan pada pengujian ini seperti gejala-gejala klinis perubahan nafsu makan, perubahan bobot badan, aktivitas motorik, Reaksi yang aneh seperti berkeliling tanpa arah, menyeruduk, gerakan menyodok hidung, gerakan berputar-putar (Mansur *et,al.* 2012). Kematian yang timbul oleh kerusakan pada hepar, ginjal atau sistem hemopoetik tidak akan terjadi pada hari pertama. Kematian yang ditimbulkan karena kerusakan tersebut baru timbul paling cepat pada hari ketiga sehingga para peneliti memberikan perpanjangan waktu sampai 14 hari (Sari, 2010).

### 2.1.1.2 Uji toksisitas Subkronik

Uji toksisitas jangka pendek (juga dikenal sebagai penelitian subakut atau subkronik) dilaksanakan dengan memberikan bahan uji berulang-ulang, biasanya setiap hari atau lima kali seminggu, selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan. Meskipun demikian, beberapa peneliti menggunakan jangka waktu lebih pendek, misalnya pemberian zat selama 14 dan 28 hari (Lu, 2010).

Uji toksisitas oral pada tikus 28 hari atau 90 hari sering digunakan untuk uji toksisitas jangka pendek dan jangka panjang. Dosis tertinggi diberikan dirancang untuk menyebabkan beberapa keracunan, tetapi tidak menimbulkan kematian (Prieto *et.al*, 2010). Uji toksisitas jangka pendek ini disarankan untuk memilih tiga dosis yaitu satu dosis yang cukup tinggi, dosis rendah yang diharapkan tidak akan memberikan efek toksik sama sekali dan dosis menengah. Kadang kala ditambahkan satu dosis atau lebih untuk memastikan tujuan diatas agar dapat dicapai dan kelompok pembanding harus diikutsertakan (Lu, 2010). Tujuan utama dari uji ini adalah untuk mengungkapkan dosis tertinggi yang diberikan tanpa memberikan efek merugikan serta untuk mengetahui pengaruh senyawa kimia terhadap tubuh dalam pemberian berulang. Uji ini ditujukan untuk mengungkapkan spektrum efek toksik senyawa uji serta untuk memperlihatkan apakah spektrum efek toksik itu berkaitan dengan takaran dosis (Fadli, 2015).

Uji toksisitas subkronik menyangkut evaluasi seluruh hewan yang bertujuan untuk mengetahui efek patologi kasar dan efek histologi. Uji ini

dapat menghasilkan informasi toksisitas zat uji yang berkaitan dengan organ sasaran, efek pada organ tersebut dan hubungan dosis efek dan dosis respons. Informasi tersebut dapat memberikan petunjuk jenis penelitian khusus lainnya yang perlu dilakukan (Hendriani, 2007).

Persyaratan dalam uji toksisitas subkronik antara lain hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lainnya). Syarat hewan uji adalah sehat, umur 6-8 minggu. Dosis yang digunakan adalah sekurang-kurangnya digunakan 3 kelompok dosis yang berbeda antara lain dosis sediaan uji yang paling tinggi menimbulkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat, dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik (NOAEL) (BPOM, 2014).

Pemeriksaan pada uji toksisitas subkronik ini meliputi pemeriksaan secara klinis, berkurangnya pertambahan berat badan diukur setiap minggu. Hal tersebut merupakan indeks efek toksik yang sederhana namun sensitif. Konsumsi makanan juga merupakan indikator yang berguna. Pengamatan umum meliputi penampilan, perilaku, dan semua abnormalitas. Hewan yang mati atau sakit harus dipisahkan dari kandang untuk diperiksa secara umum dan kalau mungkin secara mikroskopis. Uji laboratorium seperti hematologi dan klinis kimiawi, kondisi seluruh tubuh. Pemeriksaan pasca mati dilakukan jika mungkin semua hewan yang mati atau sedang sekarat diperiksa. Di samping itu, berat beberapa organ baik dalam nilai absolut maupun relatif

terhadap berat badan, harus diukur karena ini merupakan indikator yang berguna bagi toksisitas (Lu, 2010).

Pemeriksaan lain meliputi analisa organ individu. Analisa organ individu merupakan hal yang perlu dilakukan untuk mengetahui efek samping yang muncul terhadap pemberian obat yang mengandung toksik. Pemberian obat yang mengandung toksik melalui jalur oral ke dalam tubuh akan diserap masuk ke saluran pencernaan kemudian akan memasuki darah, sehingga akan terdistribusi cepat ke seluruh tubuh (Harrison *et,al.* 2013).

#### **2.1.1.3 Uji Toksisitas Kronik**

Uji toksisitas kronik atau jangka panjang dilakukan dengan memberikan bahan uji berulang-ulang selama masa hidup hewan coba atau sekurang-kurangnya sebagian besar dari masa hidupnya, misalnya 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet (Lu, 1994).

Tujuan uji toksisitas kronik adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas subkronik, karakterisasi toksisitas dari suatu sediaan uji yang dipaparkan dalam waktu lama dan berulang, dan menentukan dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (BPOM, 2014).

## 2.2 Tanaman Katuk

### 2.2.1 Karakteristik tanaman Katuk

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا  
مُتْرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ  
مُتَشَبِهٍ أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩﴾

Artinya: "dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman" (Q.S Al-an'am:09).

Berdasarkan ayat diatas Allah SWT menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang menghijau dan bermanfaat bagi manusia yang beriman kepada-Nya.

Kata خَضِرًا bermakna sifat yang memiliki warna hijau. Kemudian isim dari kata tersebut adalah الحُضْرُ yang bermakna sayur-sayuran atau tanaman yang berwarna hijau (Al-Qurthubi, 2008). Berdasarkan ilmu biologi, tanaman atau sayur-sayuran yang menghijau disebabkan karena banyak mengandung klorofil. Klorofil banyak ditemukan pada tanaman atau sayur-sayuran terutama dibagian daun. Begitu pula pada penelitian ini digunakan daun pada tanaman katuk (*Sauropus androgynous*), yang mempunyai banyak sekali kandungan salah satunya klorofil serta sejumlah bahan aktif lainnya (Wiradimadja, 2010).

Tanaman katuk merupakan tanaman yang telah lama dikenal masyarakat di negara Asia Barat dan Asia Tenggara. Di Indonesia penyebarannya terdapat di pulau Jawa, Sumatera, Kalimantan, Sumbawa, Maluku, dan Ambon (Sari, 2011). Taksonomi tanaman katuk menurut Backer dan Brink (1963) dalam (Sari, 2011) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Monochlamydeae (Apetalae)
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Sauropus</i>
Jenis	: <i>Sauropus androgynous</i>

Bentuk tanaman katuk berupa semak dengan tinggi mencapai 2 sampai dengan 3 meter. Daun katuk berbentuk bulat memanjang, pangkal daun tumpul atau bulat, ujung daun runcing, dan kadang-kadang setengah runcing. Lebar daun berkisar antara 1,25-3 cm, panjang daun berkisar antara 2,25-7,5 cm, tangkai daun berkisar antara 2-4 mm, dan stipula atau daun penumpu berkisar antara 1,75-3 mm. Warna permukaan atas daunnya hijau gelap, sedangkan permukaan bawah hijau muda. Bunga katuk berwarna merah gelap atau kuning dengan titik-titik merah yang gelap dan berwarna putih atau sedikit merah muda (Bahar, 2011). Selanjutnya tanaman katuk dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Tanaman katuk (*Sauropus androgynus*) beserta buah dan bunga (Sari, 2011).

Tanaman katuk memiliki susunan daun yang menarik bahwa seolah-olah berdaun majemuk tetapi jika dilihat dengan seksama berdaun tunggal karena di ketiak daunnya terdapat bunga. Batang tanaman katuk memiliki alur-alur dengan kulit yang agak licin berwarna hijau, jumlah daun percabang berkisar antara 11-12 helai. Tanaman Katuk umumnya ditanam pada ketinggian antara 5-3000 m diatas permukaan laut dan di perbanyak dengan cara stek (Bahar, 2011).

### 2.2.2 Senyawa aktif daun Katuk

Daun katuk diketahui memiliki kandungan kimia antara lain tanin, catechin, flavonoid, alkaloida, triterpen, steroid, asam-asam organik, minyak atsiri, saponin, sterol, asam-asam amino, protein, karbohidrat, vitamin, dan mineral. Kandungan flavonoid dalam daun katuk juga tinggi (Pradikta, 2012).

Daun katuk juga mengandung beberapa senyawa aktif lain yang dapat mempengaruhi fungsi fisiologis tubuh. Pengujian ekstrak daun katuk dengan menggunakan analisa kromatografi gas dan spektrometri masa (KGMS) menunjukkan adanya enam senyawa utama yaitu *monomethyl*

*succinate* dan *cis-2-methyl cyclopentanol asetat* (ester), *asam benzoat* dan *asam fenil malonat* (asam karboksilat), *2 Pyrolidinon* dan *methyl pyroglutamat* (alkaloid). Semua senyawa ini berpotensi untuk industri kimia dan farmasi (Suprayogi, 2000).

Kandungan yang banyak terdapat dalam ekstrak air daun katuk adalah flavonoid, fenolik, glikosida, dan triterpenoid. Masing-masing senyawa tersebut mempunyai manfaat bagi kesehatan tubuh (Gayatrama, 2012). Saponin memiliki efek menurunkan kadar gula darah. Flavonoid berfungsi sebagai antimikroba dan triterpenoid sebagai antifagus atau insektisida. Tetapi senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin, dan flavonoid diduga dapat bersifat toksik pada kadar tertentu (Cahyadi, 2006).

### **2.2.3 Manfaat dan Toksisitas daun katuk**

Tumbuhan katuk telah dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai tanaman dengan kandungan gizi yang cukup tinggi. Selain itu, mengkonsumsi katuk dipercaya memiliki khasiat sebagai bahan obat tradisional (Bahar, 2011). Islam juga telah menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini dapat dimanfaatkan dan dipelihara untuk kehidupan umat manusia salah satunya tumbuhan, sebagaimana yang difirmankan oleh Allah SWT dalam al Quran surat As-Syu'ara (26) 7-8:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya:”Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah, dan kebanyakan mereka tidak beriman” (Qs As-Syu’ara 7-8).

Kata زَوْجٍ bermakna pasangan. Makna dalam pasangan tersebut adalah pasangan tumbuh-tumbuhan. Sedangkan terdapat juga kata كَرِيمٍ yang bermakna segala sesuatu yang baik bagi setiap objeknya dalam hal ini adalah tumbuhan. Tumbuhan yang baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Menurut al-Qurthubi kata كَرِيمٍ bermakna baik dan mulia sehingga ayat tersebut membuktikan keniscayaan Allah SWT, karena aneka tumbuhan yang terhampar di persada bumi sedemikian banyak memiliki manfaat yang beraneka ragam (Al-Qurthubi, 2009) salah satu contohnya adalah daun katuk

Pada umumnya daun katuk digunakan sebagai sayuran atau lalapan dan dipercaya masyarakat mampu melancarkan air susu ibu dan mempercepat pemulihan tenaga bagi orang yang sakit (Sari, 2011). Pemanfaatan daun katuk sebagai obat tradisional telah banyak dibuktikan secara ilmiah, Suprayogi (1995) dalam Sari (2011) menyatakan bahwa daun katuk terbukti memiliki khasiat sebagai obat bisul dan borok serta mampu memperbaiki fungsi pencernaan dan metabolisme tubuh.

Salah satu manfaat lain dari daun katuk adalah mampu memperlambat berkurangnya massa tulang (*osteomalasia*) karena kandungan senyawa fitokimia seperti saponin, flavonoid, tannin, isoflavonoid yang menyerupai estrogen dalam daun katuk. Senyawa fitokimia tersebut juga berkhasiat sebagai obat, seperti progesteron, estradiol, testosterone dan glukortiroid (Rizki, 2013). Isoflavon memiliki potensi estrogenik. Secara fisiologi efek isoflavon seperti estrogen yaitu bergantung pada respon yang terjadi, agonis (menstimulir) atau antagonis (menghambat) terhadap reseptor dalam sel targetnya. Interaksi antara isoflavon dengan reseptor estrogen dalam saluran genitalia, menggantikan kerja estrogen pada saluran tersebut, sehingga gejala menopause menurun. Demikian pula yang terjadi pada estrogen pada sistem syaraf pusat, hipotalamus, isoflavon akan mengaktifkan sel hipotalamus dan mengatur suhu tubuh. Efek tersebut dapat menurunkan simtom *hot flush* pada wanita menopause (Winarsi, 2005).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Santoso *et, al.* (1996) dengan fokus pengamatan pada efek farmakologis dan toksisitas ekstrak alkohol daun katuk pada kambing laktasi. Pemberian ekstrak alkohol daun katuk selama 14 hari dengan dosis 1,89 g/hari mampu meningkatkan produksi susu kambing laktasi yang diikuti juga dengan kualitas susu yang masih tetap stabil.

Berbagai penelitian tentang khasiat daun katuk telah diketahui banyak orang sebagai pelancar produksi susu dan sebagai fitoestrogen.

Walaupun begitu harus tetap waspada terhadap efek samping yang mungkin dapat muncul sebagai konsekuensi dari aktivitas senyawa aktif. Senyawa-senyawa yang terdapat di dalam daun katuk ketika melakukan aksi selulernya sangat bergantung pada berbagai faktor di antaranya dosis, kondisi fisiologis tubuh, dan interaksinya dengan senyawa-senyawa lainnya. Penggunaan senyawa (obat) dengan dosis yang tepat tentu akan menekan kemungkinan adanya efek samping, namun bila senyawa tersebut dikonsumsi berlebihan (overdosis) mungkin saja senyawa yang tadinya berkhasiat akan bergeser menjadi efek yang merugikan dan merusak atau dikatakan efek keracunan (Suprayogi, 2012).

Efek negatif dapat dimiliki oleh daun katuk ketika mengkonsumsi dalam konsentrasi yang tinggi. Terdapat hubungan antara konsumsi daun katuk dengan bronkiolitis di Taiwan Selatan. Sebanyak 54 kasus bronkiolitis yang diteliti di Rumah Sakit Veterans General Hospital-Kaohsiung menunjukkan bahwa 100% pasien mengkonsumsi daun katuk (Bahar, 2011). Penggunaan daun katuk menunjukkan efek yang cukup mengganggu yaitu penghambatan absorpsi kalsium di saluran pencernaan dan gangguan pada pernafasan (Suprayogi, 2000).

## **2.3 Hepar**

### **2.3.1 Anatomi Hepar**

Hepar adalah organ terbesar di tubuh, memiliki berat 1-1,5 kg dan menggambarkan 1,5-2,5% dari massa tubuh tanpa lemak. Ukuran dan bentuk hepar bervariasi dan umumnya sesuai dengan bentuk tubuh. Hepar terletak di

kuadran kanan atas abdomen dibawah sangkar iga bawah kanan, bersebelahan dengan diafragma dan menonjol dengan tingkat bervariasi ke kuadran kiri atas. Hepar dipertahankan di tempatnya oleh ligament-ligament yang melekat ke diafragma, peritoneum pembuluh darah dan organ-organ saluran pencernaan atas (Harrison *et.al.* 2013). Dalam keadaan sehat hepar berwarna merah tua atau merah coklat, warna tersebut terutama disebabkan oleh adanya darah yang sangat banyak (Astuti, 2009).

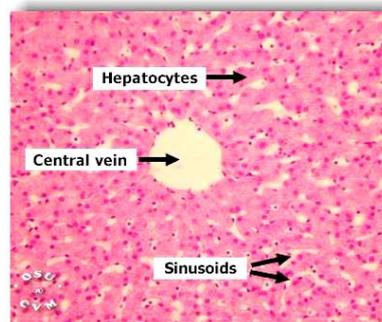
Hepar tikus terdiri dari empat lobus utama yang saling berhubungan di sebelah belakang. Lobus tengah dibagi menjadi kanan dan kiri oleh bifurcatio yang dalam. Lobus sebelah kiri tidak terbagi, sedangkan lobus sebelah kanan terbagi secara horizontal menjadi bagian anterior dan posterior. Lobus belakang terdiri dari dua lobus berbentuk daun yang berada di sebelah dorsal dan ventral dari esophagus sebelah kurvatura dari lambung. Struktur dan komponen hepar tikus sama dengan mamalia tersusun dari vena sentralis, sinusoid, dan hepatosit (Hebel, 1989).

Hepar menerima pasokan darah rangkap, sekitar 20% dari aliran darah merupakan darah kaya oksigen dari arteri hepatica dan 80% merupakan darah kaya nutrient dari vena porta yang berasal dari lambung, usus, pankreas dan limpa (Harrison *et.al.* 2013). Hepar tersusun atas lobuli hepatis. Vena sentralis pada masing-masing lobulus bermuara ke vena hepatica. Dalam ruangan antara lobulus-lobulus terdapat kanalis hepatis yang berisi cabang-cabang arteria hepatica, vena porta hepatis, dan sebuah cabang duktus koledokus (trias hepatis). Darah arteri dan vena berjalan di antara sel-sel

hepar melalui sinusoid dan dialirkan ke vena sentralis (Maulina *et al*, 2010). Melalui vena porta, darah yang berasal dari saluran pencernaan dan rongga abdomen lain yaitu limpa, pankreas dan kantung empedu masuk ke hepar sehingga sebagian besar zat toksik yang memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal dibawa ke vena porta ke hepar sehingga bahan-bahan toksik dari saluran pencernaan seperti yang berasal dari tumbuhan, fungi dan produk bakteri akan diabsorpsi kedalam pembuluh darah portal dan ditransfer ke hepar. Zat toksik ini dapat menyebabkan kerusakan hepar karena zat toksik dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis zat kimia yang terlibat, dosis yang diberikan dan lamanya paparan zat tersebut (Sani, 2013).

### **2.3.2 Histologi Hepar**

Struktur histologi hepar meliputi parenkim hepar, lobulus hepar dan sinusoid hepar. Lobulus hepar berbentuk prisma poligonal berdiameter 1-2 mm. Pada penampang melintang tampak sebagai heksagonal dengan pusatnya vena sentralis dan sudut-sudut luar lobulus terdapat kanalis porta. Komponen struktural dasar hepar adalah sel-sel hepar atau disebut juga hepatosit atau parenkim hepar. Parenkim hepar tersusun dalam rangkaian lempeng-lempeng bercabang dan beranastomosis membentuk labirin dan di antaranya terdapat sinusoid. Lempeng ini bermula secara radial dari tepi lobulus ke vena sentralis sebagai pusat. Sel hepar berbentuk poligonal, berukuran sekitar 20-35  $\mu\text{m}$ . Inti sel berbentuk bulat atau lonjong dengan permukaan teratur dengan satu atau lebih anak inti dan granula kromatin tersebar tampak jelas (Boya, 2011).



Gambar 2.2. Histologi hepar (Charlotte, 2002)

Diantara lempengan sel hepar terdapat kapiler-kapiler yang disebut sebagai sinusoid. Sinusoid hepar adalah saluran darah yang berkelu-liku dan melebar, dengan diameter tidak teratur, dilapisi sel endotel bertingkat tidak utuh, yang dipisahkan dari hepatosit di bawahnya oleh ruang perisinusoidal. Akibatnya, zat makanan yang mengalir di dalam sinusoid yang berkelu-liku, menembus dinding endotel yang tidak utuh dan berkontak langsung dengan hepatosit. Hal ini memperlancar perpindahan zat antara darah dan hepatosit. Sinusoid dibatasi oleh sel fagositik atau sel kupffer. Sel kupffer merupakan sistem monosit-makrofag, dan fungsi utamanya adalah menelan bakteri dan benda asing lain dalam darah. Sejumlah 50% dari semua makrofag dalam sel hepar adalah sel kupffer, sehingga hepar merupakan salah satu organ penting dalam pertahanan melawan invasi dan agen toksik (Yatim, 1996).

Salah satu fungsi hepatosit adalah menyekresi empedu ke dalam saluran halus yang disebut kanalikuli biliaris yang terletak diantara hepatosit. Kanalikuli ini berkumpul di tepi setiap lobulus di daerah porta sebagai duktus biliaris. Duktus biliaris kemudian menjadi duktus hepaticus yang lebih besar yang membawa empedu keluar dari hepar. Di dalam lobulus hepar, empedu mengalir di dalam kanalikuli biliaris ke duktus biliaris pada daerah

porta, dan darah dalam sinusoid mengalir ke vena sentral. Jadi, empedu dan darah tidak bercampur (Eroscheko, 2003).

Pada sediaan yang diberi pewarna Hematoksilin dan Eosin (H&E) sitoplasma sel hepar bersifat eosinofilik, terutama disebabkan jumlah mitokondria yang lebih banyak dibanding retikulum endoplasma halus. Sel hepar memiliki banyak retikulum endoplasma baik kasar maupun halus. Pada sel hepar, retikulum endoplasma kasar membentuk agregat yang tersebar dalam sitoplasma, agregat ini sering disebut badan basofilik. Beberapa protein (misalnya albumin darah, fibrinogen) disintesis pada poliribosom. Berbagai proses penting berlangsung di dalam retikulum endoplasma halus, yang tersebar secara difusi di dalam sitoplasma. Organel ini bertanggung jawab atas proses oksidasi, metilasi, dan konjugasi yang diperlukan untuk menonaktifkan atau mendetoksifikasi berbagai zat sebelum diekskresi dari tubuh. Retikulum endoplasma halus merupakan sistem labil yang segera bereaksi terhadap molekul yang diterima sel hepar (Junqueira, 2004).

### 2.3.3 Fisiologi Hepar

Sebagian besar sel di hepar adalah hepatosit, yang membentuk dua pertiga dari massa hepar. Tipe sel sisanya adalah sel kupffer (anggota dari sistem retikuloendotel), sel mempunyai bentuk seperti bintang (*Ito* atau penyimpanan lemak) sel endotel dan pembuluh darah, sel duktus empedu, dan struktur-struktur penunjang (Harrison *et.al.* 2013).

Hepatosit melakukan peran beragam dan vital dalam mempertahankan homeostasis dan kesehatan (Harrison *et.al.* 2013). Hepar mudah rusak oleh

bagian-bagian toksik yang diserap. Hepar penting untuk mempertahankan kadar gula darah. Sel mengambil gula darah dan menyimpannya sebagai glikogen, juga dibentuk dari bahan lain seperti asam laktat dan asam piruvat. Hepar penting terhadap metabolisme lipid, karena lipid diangkut didalam darah sebagai lipoprotein, dan lipoprotein ini dibentuk didalam hepar. Hepar juga menyimpan vitamin A, B dan heparin (dihasilkan dari sel mast). Hepar mensekresi garam empedu ke dalam sistem biliaris, dan fibrinogen (faktor anti anemia) dan albumin plasma ke dalam darah. Hepar juga mensintesis kolesterol, mengeluarkan pigmen empedu dari uraian hemoglobin sel darah merah yang rusak, dan menghasilkan urea (hasil samping metabolit protein). memetabolisme berbagai bahan toksik dalam peredaran darah (Astuti, 2009).

Salah satu fungsi hepar selain sebagai saluran pencernaan adalah berperan dalam sistem ekskresi. Fungsi hepar dalam sistem ekskresi yaitu mengekskresikan cairan empedu secara terus-menerus. Setiap hari hepar mampu mengekskresikan cairan empedu 800–1000 ml. Cairan empedu mengandung air, asam empedu, garam empedu, kolesterol, fosfolipid (lesitin), zat warna empedu (pigmen bilirubin, dan biliverdin), serta beberapa ion (Glenn dan Susan, 2004).

Cairan empedu berperan mencerna dan mengemulsi lemak dalam usus, mengaktifkan lipase, mengubah zat yang tidak larut dalam air menjadi zat yang larut dalam air, serta membentuk urea dan amonia. Cairan empedu berasal dari penghancuran hemoglobin dari eritrosit yang telah tua. Hemoglobin ini akan diuraikan menjadi hemin, zat besi, dan globin. Zat besi dan globin akan

disimpan di dalam hepar kemudian dikirim ke sumsum tulang merah. Zat-zat tersebut digunakan dalam pembentukan antibodi atau hemoglobin baru. Sementara itu, hemin akan dirombak menjadi bilirubin dan biliverdin. Bilirubin dan biliverdin ini merupakan zat warna bagi empedu dan mengandung warna hijau biru. Zat warna tersebut di dalam usus akan mengalami oksidasi menjadi urobilin. Urobilin kemudian diekresikan dari dalam tubuh dan memberi warna kekuningan pada feses dan urin (Glenn dan Susan, 2004).

Hepar dapat mengalami beberapa perubahan, kerusakan hepar dapat bersifat tetap (*irreversible*) dan sementara (*reversible*). Degenerasi merupakan kerusakan yang *reversible*, dimana sel mengalami perubahan struktur normal. Degenerasi sel dapat berupa degenerasi berbulir, degenerasi hidropik dan degenerasi lemak. Degenerasi terjadi karena adanya gangguan biokimiawi yang disebabkan oleh iskemia, anemia, metabolisme abnormal dan zat kimia yang bersifat toksik. Degenerasi yang berlangsung terus-menerus akan menyebabkan kematian sel yang bersifat menetap (*irreversible*). Kematian sel dapat terjadi melalui proses nekrosis dan apoptosis. Nekrosis merupakan kematian sel yang disebabkan oleh kerusakan sel secara akut. Sedangkan apoptosis merupakan mekanisme biologi yang salah satu jenis kematian sel yang terencana. Apoptosis digunakan oleh organisme multisel untuk membuang sel yang sudah tidak diperlukan oleh tubuh. Keputusan untuk apoptosis berasal dari sel itu sendiri, dari jaringan yang mengelilinginya atau dari sel yang berasal dari sistem imun (Natalia, 2013).

### 2.3.4 Hubungan hepar dengan senyawa toksik

Hepar (*liver*) merupakan organ tubuh yang penting untuk mendetoksifikasi zat kimia yang tidak berguna atau merugikan tubuh. Hepar merupakan organ yang mempunyai kemampuan tinggi untuk mengikat zat-zat kimia atau melebihi organ-organ lain (Hernawati, 2012).

Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, setelah diserap, toksikan dibawa vena porta ke hepar. Hepar mempunyai banyak tempat pengikatan. Kadar enzim yang memetabolisme senyawa toksik dalam hepar tinggi. Hal tersebut membuat sebagian besar toksikan menjadi kurang toksik dan lebih mudah larut dalam air, sehingga lebih mudah dieksresikan. Tetapi dalam beberapa kasus, toksikan diaktifkan sehingga dapat menginduksi lesi. Lesi hepar bersifat sentrilobuler banyak dihubungkan dengan kadar sitokrom P<sub>450</sub> yang lebih tinggi. Selain itu kadar glutathion yang relatif rendah, dibandingkan dengan kadar glutathion di bagian lain dari hepar, dapat juga berperan mengaktifkan toksikan (Hernawati, 2012).

Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel dalam sel hepar, seperti perlemakan hepar (steatosis), nekrosis, kolestasis, dan sirosis (Lu, 1995). Kerusakan hepar juga ditandai dengan adanya hiperbilirubinemia, yaitu kenaikan konsentrasi bilirubin. Hal ini karena bilirubin seharusnya disekresikan hepar ke empedu tidak dapat dilaksanakan, akibatnya bilirubin akan bertumpuk di dalam darah. Hiperbilirubinemia ini disebabkan oleh rusaknya sel parenkim hepar atau terjadi obstruksi saluran empedu di dalam hepar. Di dalam plasma darah,

bilirubin ini tidak terikat erat oleh protein albumin. Karena ikatan yang tidak kuat ini mengakibatkan bilirubin mudah lepas, dikeluarkan ke jaringan dan menyebabkan ikterus yaitu warna kuning pada sklera mata dan kulit (Natalia, 2013).

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

1. Radang

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

2. Fibrosis

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

3. Degenerasi

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

lebih penting daripada jenis degenerasi (Boya, 2011). Jenis degenerasi antara lain:

- a. Degenerasi lemak (Parenkim) ditandai dengan adanya penimbunan lemak dalam parenkim hepar, dapat berupa bercak, zonal dan merata. Pada pengecatan inti terlihat terdesak ke tepi, rongga sel terlihat kosong diakibatkan butir lemak yang larut pada saat pemrosesan (Junqueira, 2004). Degenerasi parenkim merupakan degenerasi yang paling ringan, terjadi pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma karena munculnya granula-granula dalam sitoplasma akibat endapan protein (Bhara, 2009).
- b. Degenerasi hidropik terjadi karena adanya gangguan membran sel sehingga cairan masuk ke dalam sitoplasma, menimbulkan vakuola-vakuola kecil sampai besar. Terjadi akumulasi cairan karena sel yang sakit tidak dapat mengeluarkan cairan yang masuk (Harrison *et.al.* 2013). Degenerasi hidropik merupakan derajat kerusakan yang lebih berat, pada degenerasi ini tampak vakuola yang berisi air dalam sitoplasma yang tidak mengandung lemak atau glikogen, sitoplasmanya menjadi pucat dan membengkak karena timbunan cairan. Perubahan ini umumnya merupakan akibat adanya gangguan metabolisme seperti hipoksia atau keracunan bahan kimia. (Bhara, 2009).
- c. Degenerasi hialin merupakan degenerasi yang berat karena terjadi akumulasi material protein diantara jaringan ikat.
- d. Degenerasi amiloid merupakan penimbunan amiloid pada celah disse, sering terjadi amilodosis primer ataupun sekunder. Degenerasi pada inti:

- Vakuolisasi, inti tampak membesar dan bergelembung serta kromatinnya jarang dan tidak eosinofilik.
- *Inclusion bodies*, terkadang terdapat pada sel inti hepar.

#### 4. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel hepar. Nekrosis dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) atau masif. Biasanya nekrosis bersifat akut (Lu, 2010). Ciri nekrosis adalah tampaknya fragmen atau sel hepar nekrotik tanpa pulasan inti atau tidak tampaknya sel disertai reaksi radang. Kolaps atau bendungan rangka hepar dengan eritrosit adalah tingkat lanjut dari degenerasi dan sifatnya tidak *reversibel*. Tampak atau tidaknya sisa sel hepar tergantung pada lama dan jenis nekrosis (Boya, 2011).

#### 2.4 Bilirubin

Bilirubin adalah pigmen kristal berbentuk jingga ikterus yang merupakan bentuk akhir dari pemecahan katabolisme heme melalui proses reaksi oksidasi-reduksi. Bilirubin berasal dari katabolisme protein heme, sebesar 75% berasal dari penghancuran eritrosit dan 25% berasal dari penghancuran eritrosit yang imatur dan protein heme lainnya seperti mioglobin, sitokrom, katalase dan peroksidase (Parnayoga, 2012).

Bilirubin merupakan pigmen empedu dan memiliki karakteristik warna hijau, namun di dalam lumen usus bilirubin akan diubah oleh bakteri menjadi senyawa sekunder yang karakteristik warnanya berubah menjadi kuning sehingga mengakibatkan warna kekuningan pada feses dan urine. Bilirubin sebagian besar dihasilkan dari perombakan eritrosit dalam sistem fagosit

mononuklear terutama pada organ limpa, hepar, dan sumsum tulang (Lestari, 2014). Pada tahun 1959 bilirubin diketahui dapat berfungsi untuk melindungi membran sel terhadap peroksidasi lipid serta melindungi protein membran terhadap reaksi oksidasi dan bilirubin fisiologis dapat bertindak sebagai sitoprotektor penting dari jaringan yang buruk dilengkapi dengan sistem pertahanan antioksidan, termasuk miokardium dan jaringan saraf (James, 2003).

Bilirubin merupakan suatu produk penguraian cincin porifirin pada protein yang mengandung cincin porifirin pada protein yang mengandung hem, ditemukan dalam darah dalam dua fraksi terkonjugasi (*direct*) dan fraksi tak langsung (*indirect*) (Harrison *et.al.* 2013). Dalam uji laboratorium, bilirubin diperiksa sebagai bilirubin total dan bilirubin *direct*. Sedangkan, bilirubin *indirect* diperhitungkan dari selisih antara bilirubin total dan bilirubin *direct* (Isna, 2015). Pengukuran bilirubin *direct* dapat dilakukan untuk mengetahui fungsi hepar sebagai penghasil empedu. Kisaran normal bilirubin total dan bilirubin *direct* pada tikus adalah sebesar 0,2-0,55 mg/dl (Lab, 2014).

#### **2.4.1 Bilirubin terkonjugasi (*direct*)**

Bilirubin terkonjugasi (*direct*) adalah bilirubin bebas yang bersifat larut dalam air sehingga dalam pemeriksaan mudah bereaksi. Bilirubin terkonjugasi (bilirubin glukoronida atau hepatobilirubin) masuk ke saluran empedu dan diekskresikan ke usus. Selanjutnya, flora usus akan mengubahnya menjadi urobilinogen. Bilirubin terkonjugasi bereaksi cepat dengan asam sulfanilat yang terdiazotasi membentuk azobilirubin (Zairen,2015).

Bilirubin terkonjugasi (*direct*) jika diukur dengan metode orisinal van den Bergh, konsentrasi bilirubin serum total adalah  $<17 \mu\text{mol/L}$  (1 mg/dl). Hingga 30% atau  $5,1 \mu\text{mol/L}$  (0,3 mg/dL) dari total adalah bilirubin yang bereaksi langsung (atau terkonjugasi) (Harrison *et.al.* 2013). Jika bilirubin total berada dalam kisaran normal, kadar bilirubin langsung (*direct*) dan tak langsung (*indirect*) tidak perlu dianalisis (Kee, 2007). Dalam keadaan normal, bilirubin *direct* ini tidak ditemukan dalam plasma darah atau dalam konsentrasi yang normal (Isna, 2015).

Peningkatan kadar bilirubin terkonjugasi (*direct*) menunjukkan adanya gangguan pada hepar (kerusakan sel hepar) atau saluran empedu (batu atau tumor) (Isna, 2015). Bilirubin terkonjugasi tidak dapat keluar dari empedu menuju usus sehingga akan masuk kembali, dan terabsorpsi dalam aliran darah. Sel hepar yang rusak dapat menyebabkan hambatan sinusoid empedu sehingga meningkatkan kadar bilirubin terkonjugasi (Kee, 2007). Hal tersebut dapat disebabkan pada tahap penentu kecepatan dalam metabolisme bilirubin bukan konjugasi bilirubin, tetapi pengangkutan bilirubin terkonjugasi ke kanalikulus biliaris. Karena itu, meningkatnya kadar bilirubin tekonjugasi dapat ditemukan pada semua tipe penyakit hepar (Harrison *et.al.* 2013).

#### **2.4.2 Bilirubin tak terkonjugasi (*Indirect*)**

Bilirubin tak terkonjugasi (*Indirect*), yang juga disebut fraksi tak langsung (*indirect*) merupakan bilirubin yang tidak larut dalam air dan

terikat oleh albumin dalam darah (Harrison *et,al.* 2013). Bilirubin tak terkonjugasi juga merupakan ikatan protein yang dikaitkan dengan peningkatan penghancuran sel darah merah (hemolisis) (Kee, 2007).

Secara umum batas normal bilirubin tak terkonjugasi pada orang dewasa adalah sebesar 0,1-1,0 mg/dl, 1,7-17,1  $\mu\text{mol/l}$  (satuan SI). Sedangkan, untuk anak batas normal kadar bilirubin tak terkonjugasi adalah sebesar sama dengan orang dewasa. Pengukuran terhadap kadar bilirubin *indirect* belum pernah dilakukan atau tidak ada uji laboratorium. Sehingga kadar bilirubin *indirect* dihitung dengan cara bilirubin total dikurangi bilirubin *direct* (Kee, 2007).

Meningkatnya bilirubin tak terkonjugasi jarang disebabkan oleh penyakit hepar (Harrison *et,al.* 2013). Peningkatan bilirubin tak langsung dapat terjadi pada hemolisis yang terpicu oleh autoimun atau tranfusi pada proses hemolitik yang disebabkan oleh anemia sel sabit, pada anemia perniosa dan malaria serta septikema (Kee, 2013). Peningkatan bilirubin tak tekonjugasi juga dapat dijumpai pada sejumlah penyakit genetik misalnya sindrom Crigler Najjardan Gilbert (Harrison *et,al.* 2013).

#### **2.4.3 Metabolisme Bilirubin**

Bilirubin adalah produk akhir penguraian hem. Sekitar 70-90% bilirubin berasal dari penguraian hemoglobin di sel darah merah yang tua. Metabolisme bilirubin meliputi pembentukan bilirubin, transportasi bilirubin, asupan bilirubin, konjugasi bilirubin, dan ekskresi bilirubin

(Lestari, 2014). Bilirubin yang diproduksi diperifer diangkut ke hepar dalam plasma, tempat zat ini terikat erat ke albumin karena tidak larut dalam larutan air. Pada kondisi normal, bilirubin dikeluarkan dari sirkulasi secara cepat dan efisien oleh hepatosit (Harrison *et.al.*, 2013).

Proses pembentukan bilirubin diawali ketika sel darah merah yang telah melewati masa hidupnya rata-rata 120 hari dan menjadi mudah pecah bila berada lebih lama di dalam sistem sirkulasi, kemudian membran sel darah merah pecah dan melepaskan hemoglobin yang difagositosis oleh sel-sel retikuloendotel di limpa, hepar dan sumsum tulang. Dalam sel-sel retikuloendotel hemoglobin mula-mula dipecah menjadi *globin* dan *heme*. Lalu cincin *hem* cepat dikonversikan menjadi *biliverdin* dengan bantuan enzim heme oksigenase yaitu enzim yang sebagian besar terdapat dalam sel hepar, dan organ lain. (Guyton, 1990).

*Biliverdin* yang larut dalam air kemudian akan direduksi menjadi bilirubin oleh enzim *biliverdin reduktase*, sehingga menjadi bilirubin tak terkonjugasi. Bilirubin tak terkonjugasi larut dalam lemak, tidak larut dalam air, dan tidak dapat dieksresikan dalam empedu atau urin. Pembentukan bilirubin yang terjadi di sistem retikuloendotel merupakan bilirubin tak terkonjugasi yang akan berikatan dengan albumin dalam suatu kompleks larut air, kemudian diangkut oleh sel darah menuju ke sel-sel hepar (Fathoni, 2008).

Pada saat kompleks bilirubin-albumin mencapai membran plasma hepatosit, albumin akan terikat ke reseptor permukaan sel. Kemudian bilirubin tak terkonjugasi ini ditransfer melalui sel membran yang berikatan dengan ligandin (protein Y), mungkin juga dengan protein ikatan sitotoksik lainnya. Berkurangnya kapasitas pengambilan hepatic bilirubin yang tak terkonjugasi akan berpengaruh terhadap pembentukan ikterus fisiologis (Lestari, 2014).

Bilirubin yang tak terkonjugasi dikonversikan ke bentuk bilirubin konjugasi yang larut dalam air di retikulum endoplasma oleh asam *UDP glukoronil transferase* yang dibentuk oleh hepar dari glukosa, ATP, dan UTP dengan bantuan enzim *uridine diphosphate glucuronosyl transferase* (UDPG-T) (Handojo, 2008). Bilirubin ini kemudian diekskresikan ke dalam kanalikulus empedu. Sedangkan satu molekul bilirubin yang tak terkonjugasi akan kembali ke retikulum endoplasmik untuk rekonjugasi berikutnya (Harrison, 2013).

Sistem *glukoronil transferase* dalam retikum endoplasma halus selain mengkatalis pembentukan glukoronida bilirubin juga mengkatalis pembentuk glukoronida salah satunya adalah steroid dan obat-obatan. Senyawa-senyawa lainnya dapat bersaing dengan bilirubin memperebutkan sistem enzim ini bila senyawa-senyawa tersebut terdapat dalam jumlah yang banyak (Ganong, 2006).

Setelah mengalami proses konjugasi, bilirubin akan diekskresikan ke dalam kandung empedu, kemudian memasuki saluran

pencernaan dan diekskresikan melalui feses. Setelah berada dalam usus halus, bilirubin yang terkonjugasi tidak langsung dapat diresorpsi, kecuali dikonversikan kembali menjadi bentuk tidak terkonjugasi oleh enzim *beta-glukoronidase* yang terdapat dalam usus. Resorpsi kembali bilirubin dari saluran cerna dan kembali ke hepar untuk dikonjugasi disebut sirkulasi enterohepatik (Lestari, 2014).

#### 2.4.4 Metode pengukuran Bilirubin

Menurut Pradana (2007) dalam pemeriksaan bilirubin total metode yang dipakai antara lain:

1. Metode Jendrasik- Grof

Prinsip: Bilirubin bereaksi dengan DSA (*diazotized sulphanic acid*) dan membentuk senyawa azo yang berwarna merah. Daya serap warna dari senyawa ini dapat langsung dilakukan terhadap sampel bilirubin pada panjang gelombang 546 nm. Bilirubin glukuronida yang larut dalam air dapat langsung bereaksi dengan DSA, namun bilirubin yang terdapat di albumin yaitu bilirubin terkonjugasi hanya dapat bereaksi jika ada akselerator. Total bilirubin = bilirubin *direct* + bilirubin *indirect*.

2. Colorimetric Test - Dichloroaniline (DCA)

Prinsip: Total bilirubin direaksikan dengan dichloroanilin terdiazotisasi membentuk senyawa azo yang berwarna merah dalam larutan asam, campuran khusus (*detergen enables*) sangat sesuai untuk menentukan bilirubin total. Reaksi: Bilirubin + ion diazonium → membentuk Azobilirubin dalam suasana asam (Dialine Diagnostik).

### 3. Van den Bergh, Malloy dan Reaksi Evelyn

Metode ini digunakan reagen Ehlirch diazo, dimana reagen ini bila direaksikan dengan bilirubin *direct* dalam larutan berair akan membentuk kompleks senyawa berwarna merah muda sampai ungu dalam waktu 1 menit, sedangkan dalam larutan metil alkohol 50%, reagen Ehlirch diazo akan bereaksi dengan bilirubin total membentuk warna merah muda sampai ungu pada waktu penangguhan 30 menit.

## 2.5 Mekanisme Kerusakan Hepar Akibat Zat Toksik

Salah satu organ yang bekerja untuk mendetoksifikasi racun atau senyawa toksik adalah organ hepar. Kandungan yang berlebih tersebut akan berbahaya sehingga akan dimungkinkan dapat mengganggu proses yang ada dalam hepar. Ketika hepar mengalami kerusakan maka fungsi dalam hepar akan mengalami gangguan. Kerusakan hepar juga dapat disebabkan oleh konversi hepar terhadap hasil biotransformasi terhadap obat. Hasil biotransformasi obat umumnya berupa metabolit inaktif, tetapi ada juga obat yang hasil metabolitnya sama aktif, lebih aktif, atau bahkan lebih toksik (Lu, 2010). Sel yang sehat selalu berada dalam keadaan homeostatis, dimana terjadi proses adaptasi sel terhadap lingkungan, namun sel memiliki keterbatasan beradaptasi. Bila hal ini terjadi, akan menyebabkan jejas atau kematian sel hingga dapat mengganggu fungsinya. Hal tersebut juga terjadi pada sel hepar (Sawitri, 2005). Hal tersebut disebabkan karena cukup banyak bahan toksik yang masuk ke dalam hepar, sehingga mengganggu proses pencernaan nutrisi dari vena pencernaan. Akibatnya bahan

nutrisi tersebut tertimbun dan menjadi racun (*midly toxic*) bagi sel-sel hepar sendiri.

Senyawa toksik ini akan mengalami proses detoksifikasi. Proses detoksifikasi ini menurut Soeksmanto *et.al* (2010) dilakukan melalui proses oksidasi, reduksi dan hidrolisis (reaksi-reaksi fase I) atau glukuronidasi, sulfasi, asetilasi, dan metilasi (reaksi-reaksi fase II). Proses metabolisme bahan asing tersebut, terkadang dapat mengganggu keseimbangan ion-ion, cairan atau produk-produk metabolisme seperti lemak bebas maupun hasil penguraian dari membran fosfolipid sehingga kerusakan hepar akibat senyawa berbahaya ditandai dengan lesi awal yaitu lesi biokimiawi, yang memberikan rangkaian perubahan fungsi dan struktur (Bhara, 2001). seperti terjadi adanya sel yang mengalami peradangan, degenerasi sampai nekrosis.

Pada hepar oksidasi obat-obat tertentu oleh enzim sitokrom P<sub>450</sub> menghasilkan senyawa yang reaktif, yang dalam keadaan normal segera diubah menjadi metabolit yang lebih stabil. Namun, bila enzimnya diinduksi atau kadar obat terlalu tinggi, maka metabolit antara yang terbentuk menjadi lebih banyak. Karena inaktivasi terhadap metabolit antara tersebut tidak cukup cepat, senyawa tersebut akan bereaksi dengan komponen sel dan menyebabkan kerusakan jaringan. Metabolit antara yang lebih reaktif tersebut, melalui rantai bebasnya, dapat juga berikatan secara kovalen dengan protein dan asam lemak tak jenuh membran sel, sehingga menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran sel dan mengakibatkan terjadinya kematian hepatosit. Sel hepar yang mengalami kematian atau nekrosis tidak dapat melakukan fungsinya (Firdaus, 2010).

Salah satu adanya kerusakan hepar dapat ditandai dengan adanya hiperbilirubinemia, yaitu kenaikan konsentrasi bilirubin. Hal ini karena bilirubin yang disekresikan hepar ke empedu tidak dapat dilaksanakan, akibatnya bilirubin akan bertumpuk di dalam darah. Hiperbilirubinemia ini disebabkan oleh rusaknya sel parenkim hepar atau terjadi obstruksi saluran empedu di dalam hepar. Di dalam plasma darah, bilirubin ini tidak terikat erat oleh protein albumin. Karena ikatan yang tidak kuat ini mengakibatkan bilirubin mudah lepas, dikeluarkan ke jaringan dan menyebabkan ikterus yaitu warna kuning pada sclera mata dan kulit (Natalia, 2013).

## 2.6 Tikus

### 2.6.1 Klasifikasi dan Karakteristik tikus putih

Allah menciptakan berbagai jenis hewan agar manusia dapat memperhatikan serta mempelajari berbagai pengetahuan tentang penciptaan beberapa jenis binatang. Hewan-hewan tersebut memiliki karakteristik yang berbeda mulai dari morfologi sampai dengan habitatnya sebagaimana dalam Q.S An-Nuur (24) 45:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ ۖ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ

مَّن يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ ۗ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۗ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya :”Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan diatas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki, sedang sebagian yang lain berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaknya, sesungguhnya Allah Maha kuasa atas segala sesuatu”. Q.S An-Nuur (24):45

Berdasarkan ayat al Quran tersebut bahwa Allah telah menciptakan semua hewan di muka bumi ini. Kata *الحيوان* bermakna makhluk hidup yang punya cara berjalan berbeda-beda ada yang merayap seperti hewan melata ada yang berjalan dengan dua kaki sebagaimana halnya dengan manusia dan ada juga yang berjalan dengan empat kaki seperti kuda, anjing, kucing (Maraghi, 1993).

Salah satu hewan yang dapat digunakan dan dimanfaatkan oleh manusia untuk kepentingan penelitian kesehatan dalam ayat di atas adalah kata *yamsyi'ala arba'* yang bermakna ada yang berjalan dengan empat kaki salah satunya adalah tikus putih. Tikus (*Rattus norvegicus*) putih merupakan salah satu hewan percobaan atau hewan laboratorium yang sering digunakan dalam riset medis. Keuntungan utamanya adalah ketenangan dan kemudahan penanganannya. Tikus putih merupakan rodensia yang mudah dipelihara, praktis juga dapat berkembang biak dengan cepat, serta anatomis dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik. Di Indonesia hewan percobaan ini sering dinamakan tikus besar, sedangkan hewan percobaan lain yang lebih kecil, *Mus musculus* dinamakan mencit (Bahar, 2011). Sistem klasifikasi tikus putih menurut Ruedas (2008) dalam Sari (2011) sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus merupakan hewan yang cerdas dan relatif resisten terhadap infeksi. Tikus putih mudah ditangani, menjadi agresif terutama saat diperlakukan kasar atau mengalami defisiensi nutrisi. Hewan uji merupakan suatu sumber variasi avabilitas sistemik, distribusi, dan kecepatan eliminasi obat-obatan (Astuti, 2009).



Gambar 2.3 Morfologi Tikus (*Rattus norvegicus*) putih.  
(Bahar, 2011)

Tikus laboratorium lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih mudah berkembangbiak. Jika tikus liar dapat hidup 4-5 tahun, tikus laboratorium jarang hidup lebih dari 3 tahun. Umumnya berat badan tikus laboratorium lebih ringan daripada tikus liar. Biasanya pada umur empat minggu, berat badan tikus liar mencapai 40-50 g dan setelah dewasa sampai 300 g atau lebih, sedangkan tikus laboratorium pada umur empat minggu, beratnya hanya 35-40 g dan berat dewasa rata-rata 200-250 g, tetapi bervariasi tergantung pada galur (Sari, 2011).

Hewan yang paling banyak digunakan untuk pengujian adalah tikus dan mencit. Tikus mudah didapat, ukurannya kecil, harganya murah, mudah ditangani, dan data toksikologinya relatif telah banyak. Penetapan toksisitas pada hepar sering merupakan bagian penelitian jangka pendek dan jangka panjang yang biasanya dilakukan pada tikus dan mencit (Frank 1995 dalam Astuti 2009).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dikelompokkan menjadi beberapa bagian yang terdiri dari dengan 4 perlakuan dengan ulangan masing-masing 6 kali ulangan yang terdiri dari kelompok kontrol yakni tikus betina normal dengan pemberian akuades, sedangkan kelompok perlakuan tikus betina normal dengan pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynus*) dengan dosis yang berbeda yaitu 45 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 75 mg/kgBB.

#### 3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal Juni sampai Agustus 2015. Penelitian bertempat di Laboratorium hewan coba dan laboratorium Fisiologi hewan Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pengujian kadar bilirubin *direct* serum bertempat di Laboratorium Klinik Pattimura Malang.

#### 3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang dalam penelitian ini adalah variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkontrol.

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak air daun katuk dengan dosis 0, 45, 60 dan 75 mg/kg BB.
2. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pemeriksaan pada kadar bilirubin *direct* serum dan histologi sel hepar normal yang mengalami

degenerasi parenkim, degenerasi hidropik dan nekrosis. Hasilnya dibandingkan antara kelompok tikus perlakuan dengan kelompok kontrol untuk setiap level dosis.

3. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah jenis hewan uji yaitu tikus normal galur wistar jenis kelamin betina, usia 2 bulan dan berat sekitar 200-350 gram.

### 3.4 Populasi dan Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) betina Strain wistar, berumur 2 bulan dan berat badan antara 200-350 g yang berjumlah 24 ekor. Tikus (*Rattus norvegicus*) betina diperoleh dari peternakan tikus Sudimoro di kota Malang. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun katuk (*Sauropus androgynous*) yang didapatkan di daerah Materia Medika Batu Malang, dan ekstrak daun katuk di Universitas Muhammadiyah Malang.

### 3.5 Pembagian Kelompok Perlakuan

Pembagian kelompok perlakuan adalah hewan uji dipilih sebanyak 24 ekor tikus betina dikelompokkan secara acak sehingga penyebaran bobot badan merata pada semua kelompok. Terdapat 4 kelompok, dihitung berdasarkan rumus Federer:

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

Dimana  $n$  = jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan

$t$  = jumlah perlakuan

Jumlah hewan uji yang digunakan adalah

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

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1)(3) \geq 15$$

$$(3n-3) \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Diperoleh pembagian kelompok dosis sebagai berikut:

Dosis subkronik yaitu dengan 4 perlakuan dengan ulangan masing-masing 6 kali ulangan yang terdiri dari:

- Kelompok I (Kontrol) : Pemberian akuades
- Kelompok II : Pemberian ekstrak air daun katuk 45 mg/kg BB
- Kelompok III : Pemberian ekstrak air daun katuk 60 mg/kg BB
- Kelompok IV : Pemberian ekstrak air daun katuk 75 mg/kg BB

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan coba dan kawat, timbangan analitik, gelas beaker, pengaduk, tisu, lampu bunsen, gelas ukur, cawan petri, timbangan manual, spuit oral 3 ml, hand glove, masker, seperangkat alat bedah, sentrifuge, yellow tipe, blue tipe, ependorf, pipet mikro 1000  $\mu$ l, rak tabung, kuvet dan spektrofotometer.

#### 3.6.2 Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan coba yang digunakan adalah tikus betina, berumur 2 bulan dengan kisaran berat

badan 200-350 gram sebanyak 24 ekor. Makan dan minum tikus, Akuades, daun katuk, dan bahan kimia yang digunakan yaitu formalin 10%, pewarna HE, Reagen untuk bilirubin *direct* yaitu untuk reagen 1 (D-BIL) terdiri dari sulphanic acid 14 mmol/l, Hydrochloric acid 250 mmol/l. Reagen 2 (D-NIT) terdiri dari sodium nitrite 0,9 mmol/l.

### **3.7 Prosedur Penelitian**

Prosedur penelitian yang dilakukan sebagai berikut :

#### **3.7.1 Preparasi**

##### **3.7.1.1 Persiapan Hewan Coba**

1. Hewan coba diaklimatisasi di dalam laboratorium selama 1 minggu sebelum perlakuan.
2. Selama proses aklimatisasi tikus betina normal diberi makan pelet (BR 1) dan air minum PAM.
3. Setelah aklimatisasi, ditimbang berat badan tikus betina normal
4. Pengelompokan dilakukan sesuai kode kandang kelompok perlakuan dengan distribusi tikus betina normal dengan berat badan secara acak.
5. Tikus betina normal yang siap digunakan untuk proses penelitian adalah dengan kisaran berat badan 200-350 gram.

##### **3.7.1.2 Pembuatan Simplisia daun katuk**

Pembuatan Simplisia daun katuk dilakukan di balai Materia Medika Malang meliputi:

- a. Persiapan bahan yaitu bahan daun katuk segar dicuci, dibersihkan kemudian ditiriskan.
- b. Pengeringan: cara pengeringan yang digunakan yaitu pengeringan dengan sinar matahari didalam ruangan khusus untuk mengeringkan.

Pelaksanaan pengeringan:

Bahan yang sudah dibersihkan ditimbang masing-masing 1 kg, kemudian didederkan dialas (nyiru, rak kaleng). Selanjutnya untuk pengeringan dengan sinar matahari dijemur diatas rak bambu didalam ruangan khusus untuk mengeringkan. Pengeringan dianggap selesai apabila bahan sudah dapat dipecah atau patah apabila diremas dengan tangan. Lama pengeringan pada pengeringan matahari berlangsung selama 3x7 jam (hari ke 1,2,3) dengan cuaca normal atau matahari penuh. Bahan yang sudah kering ditimbang masing-masing.

- c. Penggilingan dilakukan agar menjadi serbuk ataupun langsung disimpan dalam bentuk kering didalam ruang penyimpanan dikemas dalam kantong plastik yang kedap udara.

### **3.7.1.3 Pembuatan ekstrak air daun katuk**

Langkah yang dilakukan dalam pembuatan ekstrak air daun katuk sesuai dengan penelitian Prishandono (2009) yakni:

1. Penambahan air dengan perbandingan simplisia dan air 1:2 (b/v)
2. Perebusan dalam waterbath pada suhu 70<sup>0</sup> C selama 2 jam, kemudian disaring dengan kain saring dan kertas Whatman sehingga dihasilkan filtrat dan residu (Ia).

3. Residu Ia diekstraksi kembali dengan akuades dengan maserasi di atas shaker dengan kecepatan putar 2500 rpm selama 6 jam. Setelah itu disaring dengan kain saring dan kertas Whatman sehingga dihasilkan filtrat dan residu (Ib).
4. Filtrat Ia dan Ib digabung sehingga diperoleh ekstrak daun katuk yang dilarutkan dengan pelarut air. Apabila ekstrak yang dihasilkan memiliki konsentrasi yang rendah maka dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotary evaporator.
5. Filtrat diuapkan dengan *freeze drying* sampai pelarut tidak tersisa lagi sehingga didapatkan ekstrak daun katuk kering.

#### **3.7.1.4 Perhitungan Dosis dan Pengenceran Ekstrak Air Daun Katuk**

Berdasarkan penelitian Hikmah (2014) tentang ekstrak air daun katuk yang mengandung isoflavin sebagai terapi fitoestrogen pada menciit pre menopause, digunakan dosis sebesar 0 mg/kgBB, 15 mg/kgBB, dan 30 mg/kgBB.

Pada penelitian pada uji toksisitas subkronik menggunakan 3 dosis dibuat secara bertingkat yang diberikan secara oral satu kali sehari dan berbeda yaitu:

Dosis I : 45 mg/kgBB

Dosis II : 60 mg/kgBB

Dosis III : 75 mg/kgBB

Dibuat stok kebutuhan katuk dengan dosis tertinggi, kemudian dilakukan pengenceran untuk stok pada dosis yang lebih rendah dengan rumus pengenceran:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

$M_1$  = Konsentrasi dosis yang dibuat

$V_1$  = Volume dosis yang dibuat

$M_2$  = Konsentrasi dosis stok

$V_2$  = Volume dosis stok

### **3.8 Kegiatan Penelitian**

#### **3.8.1 Perlakuan Pemberian Ekstrak air daun Katuk**

Pemberian perlakuan aquades dan ekstrak air daun katuk adalah dengan injeksi dengan spuit secara gavage / oral sesuai dengan kelompok perlakuan selama 28 hari. Metode pemberian oral sesuai dengan Malole *et al.*, 1989) yakni dilakukan dengan memakai jarum yang panjangnya sekitar 10 cm dengan ujungnya yang tajam telah dimodifikasi yaitu ditambah dengan bentuk bundar untuk kemudian dimasukkan ke dalam mulut tikus.

#### **3.8.2 Perlakuan uji toksisitas Subkronik**

Menurut BPOM (2014) perlakuan uji toksisitas subkronik adalah sebagai berikut:

1. Tikus betina normal dibagi menjadi 4 kelompok setiap kelompok terdiri dari 6 tikus. Kelompok 1 menerima aquades dan sebagai kontrol. Kelompok II, III dan IV menerima dosis ekstrak 45, 60 dan 75 mg / kgBB.

2. Ekstrak air daun katuk diberikan setiap hari selama 28 hari.
3. Pengamatan pada kondisi setiap hewan coba dilakukan di setiap level dosis setidaknya dua kali sehari selama pemberian ekstrak.
4. Berat badan hewan coba di evaluasi setiap 1 kali seminggu.
5. Hewan coba didislokasi pada hari ke-29 setelah dipuasakan semalam kemudian dilakukan pemeriksaan pada kadar bilirubin *direct* dan histologi sel hepar. Hasilnya dibandingkan antara kelompok tikus perlakuan kelompok kontrol untuk setiap level dosis.

### **3.8.3 Pengukuran Kadar Bilirubin**

Darah dalam ependorf disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, plasma dipisahkan kedalam tabung yang bersih dan kering yang sudah diberi label. Kemudian dilakukan pengukuran pada kadar bilirubin *direct*.

#### **3.8.3.1 Pengukuran Kadar Bilirubin *Direct***

Menurut Pradana (2007) pengukuran terhadap kadar bilirubin *direct* dilakukan dengan metode Jendrassik grof. Prinsip pemeriksaan ini adalah bahwa bilirubin bereaksi dengan *diazohed sulphanilic acid* membentuk zat warna azo merah. Konsentrasi bilirubin *direct* dalam serum dinyatakan dalam mg/dl. Prosedur kerja adalah sebagai berikut:

1. 2 kuvet disiapkan untuk wadah blanko dan sampel yang akan diukur pada spektrofotometer.
2. Reagen d-bil sebanyak 1000  $\mu$ l dimasukkan kedalam kuvet blanko.

3. Reagen d-bil 1000  $\mu\text{l}$  dan d-nit 40  $\mu\text{l}$  dimasukkan kedalam kuvet sampel.
4. Kedua kuvet tersebut diinkubasi selama 2 menit.
5. 100  $\mu\text{l}$  serum darah dimasukkan kedalam masing-masing kuvet tersebut.
6. Kedua kuvet diinkubasi selama 5 menit pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ .
7. Dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm, faktor 13.
8. Konsentrasi dikalkulasikan menggunakan rumus  
 Konsentrasi bilirubin  $[\text{mg/dl}] = \Delta A_{546} \times 13,0$   
 $[\text{mg/dl}] \times 17,1 = [\mu\text{mol/l}]$

#### 3.8.4 Pembuatan Preparat Histologi Hepar

Pembuatan preparat histologi hepar dilakukan dengan langkah sebagai berikut :

##### 1. Tahap Fiksasi

Pada tahap ini, hepar difiksasi pada larutan formalin 10% selama 12-18 jam diulang sebanyak 2 kali pada larutan yang berbeda.

##### 2. Tahap Dehidrasi

Pada tahap ini, hepar yang telah difiksasi kemudian didehidrasi pada larutan etanol 70% selama 1 jam, kemudian dipindahkan dalam larutan etanol 80%, dilanjutkan kedalam larutan etanol

95% sebanyak 2 kali dan dalam ethanol absolut selama 1 jam dan diulang sebanyak 2 kali pada ethanol absolut yang berbeda.

### 3. Tahap Clearing (Penjernihan)

Pada tahap ini, hepar yang telah didehidrasi kemudian diclearing untuk menarik kadar ethanol dengan menggunakan larutan xylol I selama 1 jam dan dilanjutkan ke larutan xylol II selama 1 jam.

### 4. Tahap Embedding

Pada tahap ini, hepar dimasukkan kedalam kaset dan diinfiltrasi dengan menuangkan paraffin yang dicairkan pada suhu 56-58 C, kemudian parafin dibiarkan mengeras dan dimasukkan ke dalam freezer selama 2 jam.

### 5. Tahap Sectioning (Pemotongan)

Pada tahap ini, hepar yang sudah mengeras dilepaskan dari kaset dan dipasang pada mikrotom kemudian dipotong setebal 5 micron dengan pisau mikrotom. Hasil potongan dimasukkan ke dalam water bath bersuhu 400<sup>0</sup>C untuk merentangkan hasil potongan, hasil potongan kemudian diambil dengan object glass dengan posisi tegak lurus dan dikeringkan.

### 6. Tahap Staining (Pewarnaan)

Hasil potongan diwarnai dengan hematoxilin eosin (pewarnaan HE) melalui tahapan sebagai berikut:

- a) Preparat direndam dalam larutan xylol I selama 2 menit.

- b) Preparat diambil dari xylol I dan direndam dalam larutan xylol II selama 2 menit.
- c) Preparat diambil dari xylol II dan direndam dalam ethanol absolut selama 1 menit.
- d) Preparat diambil dari ethanol absolut dan direndam dalam ethanol 95% selama 1 menit.
- e) Preparat diambil dari ethanol 95% dan direndam ethanol 50% selama 30 detik.
- f) Preparat diambil dari ethanol 95% dan direndam dalam running tap water selama 5 menit.
- g) Preparat diambil dari running tap water dan direndam dalam mayer's haematoksin (Haematoksin kristal 1 g, aquadestilata 1000 ml, sodium iodate 0,20 g, amonium 50 g, asam sitrat 1 g, chloral hidrat 50 g) selama 15 menit.
- h) Preparat diambil dari larutan meyer dan direndam dalam running tap water selama 2-3 menit.
- i) Preparat diambil dari running tap water dan direndam dalam pewarna eosin 1 % selama 2 menit.
- j) Preparat diambil dari larutan eosin kemudian dimasukkan dalam ethanol 95% selama 2 menit, kemudian dimasukkan ke dalam ethanol absolut selama 2 menit diulang 3 kali pada ethanol absolut yang berbeda.

k) Preparat diambil dan direndam dalam xylol III selama 2 menit, kemudian dipindahkan dalam xylol IV selama 2 menit dan terakhir dipindahkan ke dalam xylol V selama 2 menit.

7. Tahap Mounting dengan entelan dan deckglass

- a) Slide dibiarkan kering pada suhu ruangan.
- b) Setelah slide kering siap untuk diamati.

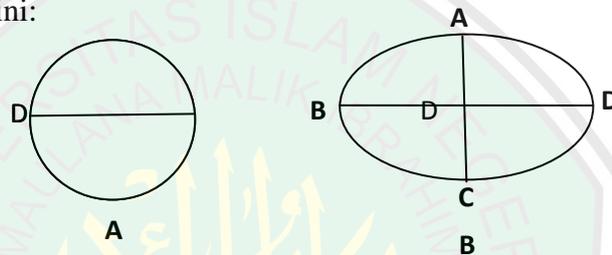
### 3.9 Teknik Pengambilan data

Data yang diperoleh untuk mengetahui efek toksik secara subkronik ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi sel hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina dapat diketahui melalui pengamatan. Pengamatan uji toksisitas subkronik dilakukan selama 28 hari. Pengamatan dilakukan dengan interval setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas, pemeriksaan berat badan dilakukan seminggu sekali dan analisis organ individu khususnya hepar dan mengukur kadar bilirubin *direct* pada hari ke 29, kemudian hasilnya dibandingkan antara kelompok tikus perlakuan dengan kelompok kontrol untuk setiap level dosis.

Perhitungan kadar bilirubin *direct* dilakukan dengan pengambilan darah kemudian dimasukkan ke dalam ependorf disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, plasma dipisahkan kedalam tabung yang bersih dan kering yang sudah diberi label. Kemudian dilakukan pengukuran pada kadar bilirubin *direct* serum.

Gambaran histologi atau mikroskopis hepar diperoleh dari setiap tikus yang dibuat 1 preparat jaringan hepar. Penilaian kerusakan hepar dilakukan dengan mengukur 10 luas vena sentralis dalam satu preparat, sinusoid hepar dan menghitung persentase kerusakan sel hepar. Preparat dibaca di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x untuk pengamatan vena sentralis dan sinusoid hepar. Berikut cara perhitungan luas vena sentralis:

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



Jika D = diameter vena sentralis

Maka luas vena sentralis diukur sebagai berikut:

**A**  $L = \pi \times r^2$

**B**  $L = \frac{1}{2} \times \pi \times (AC \times BD)$

Sedangkan untuk menghitung persentase kerusakan sel hepar menggunakan perbesaran 400x yang dilakukan dalam 5 lapang pandang, tiap lapang pandang diamati hepatosit pada bagian sisi kiri, bagian atas, bagian bawah, bagian samping kiri dan kanan dan bagian tengah (vena sentralis) baik yang masih dalam keadaan normal (tampak sel berbentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah homogen, dan inti sel terletak di sentral) maupun yang mengalami kerusakan. Jenis kerusakan sel hepar yang diamati meliputi degenerasi parenkim (inti terletak terdesak ke tepi rongga sel), degenerasi hidropik (bengkak, sitoplasma pucat), dan nekrosis (piknotik, karioeksis, dan kariolisis). Dalam setiap preparat diambil data dari 5 lapang pandang pada

setiap ulangan, kemudian dijumlah data tersebut diakumulasikan dengan menghitung persentase kerusakan. Data yang sudah diakumulasikan kemudian dijumlah dan dihitung reratanya, sehingga didapatkan nilai 1 ulangan dalam setiap perlakuan. Berikut rumus persentase menurut Januar (2014):

$$\text{Kerusakan sel (\%)} = \frac{\text{jumlah sel rusak}}{\text{jumlah sel keseluruhan}} \times 100\%$$

#### 4.0 Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini untuk mengetahui uji toksisitas subkronik ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin serum dan histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina dianalisis statistik dengan One Way Anava (*Analysis Of Varians*). Apabila terdapat perbedaan yang signifikan, maka diuji lanjut dengan uji Duncan 5% dan 1%. Selain itu juga dilakukan uji regresi linear.

## BAB IV

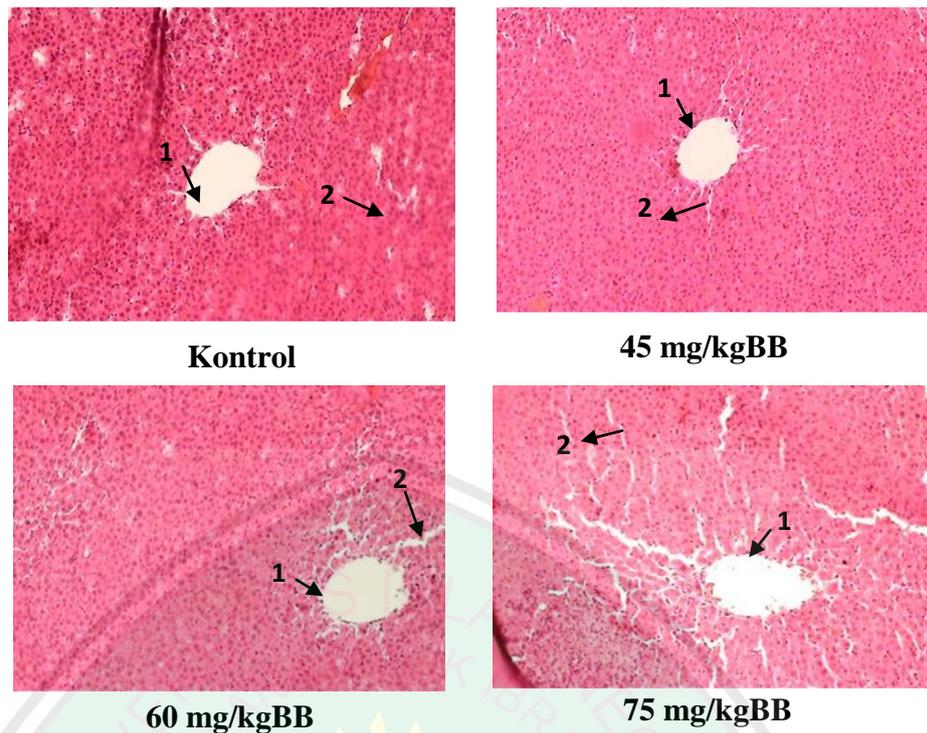
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### **4.1 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina**

Penelitian tentang pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) menggunakan beberapa parameter. Salah satu parameter tersebut adalah tentang histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina. Data histologi hepar tikus betina kontrol dan perlakuan yang diberi ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) 45 mg/kgBB, 60 mg/kgBB dan 75 mg/kgBB diuraikan dalam bentuk tabel, grafik dan gambar seperti di bawah ini.

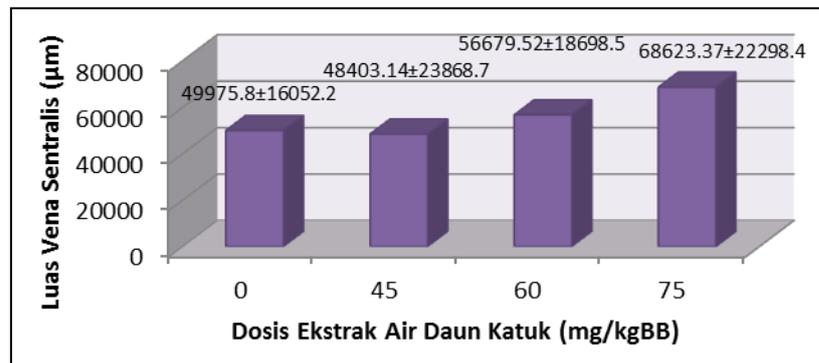
##### **4.1.1 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Luas Vena Sentralis Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina**

Hasil penelitian uji toksisitas subkronik ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) tidak berpengaruh terhadap luas vena sentralis hepar. Data histologi terkait hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Irisan membujur histologi hepar tikus betina pada perbesaran 100x.  
1= Vena Sentralis, 2= Sinusoid.

Vena sentralis merupakan tempat menampung aliran darah dari vena porta dan vena hepatica. Dinding vena sentralis berotot sehingga memungkinkan untuk mengecil dan membesar. Hal tersebut mengakibatkan vena mampu menyimpan darah dalam jumlah kecil atau besar yang tergantung pada kebutuhan badan (Guyton, 2000). Pada keadaan normal, vena sentralis merupakan sebuah pembuluh vena yang dikelilingi oleh sel endotelium yang tersusun rapat dan terletak pada pusat lobulus dengan hepatosit yang tersusun secara radier ke arah vena sentralis (Flore, 1981). Rerata luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) sesudah pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 4.4



Gambar 4.2 Rerata Hasil Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Luas Vena Sentralis Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Berdasarkan gambar 4.2 rerata luas vena sentralis menunjukkan bahwa terjadi peningkatan rata-rata dari kelompok kontrol (K), perlakuan dosis 45 mg/kgBB, perlakuan dosis 60 mg/kgBB serta perlakuan dosis 75 mg/kgBB. Menurut Endri (2004) peningkatan luas vena sentralis hepar dapat disebabkan oleh aliran darah yang mengosongkan isinya ke dalam vena sentralis untuk kemudian mengalir ke vena kava inferior.

Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) tunggal dengan taraf signifikansi 5%. Hasil penelitian terlebih dahulu data diuji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada luas vena sentralis hepar tikus betina yang diberikan ekstrak daun katuk adalah 0,596 dimana signifikansi dari nilai tersebut  $0,596 > 5\%$  maka dapat disimpulkan bahwa data yang diuji tersebut normal. Sedangkan berdasarkan uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada luas vena sentralis hepar 0,825 dimana signifikansi dari nilai tersebut  $0,825 > 5\%$  disimpulkan bahwa varian dari dua atau lebih kelompok populasi data sama. Kemudian data diuji menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) satu arah dengan taraf signifikansi 5%. Hasil perhitungan ANOVA satu arah dilakukan untuk mengetahui efek

toksik subkronik luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina setelah perlakuan pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) secara subkronik dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Tabel Ringkasan Hasil Uji ANAVA Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Luas Vena Sentralis Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Pada  $\alpha$  5%

SK	db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>5%</sub>
Perlakuan	3	1,140	3,800	0,90	3,10
Galat	20	8,371	4,186		
Total	23	9,511			

Keterangan : SK = Sumber Keragaman  
 db = Derajat Bebas  
 JK = Jumlah Kuadrat  
 KT = Kuadrat Tengah

Berdasarkan tabel 4.1 hasil yang diperoleh dari uji ANAVA satu arah dengan taraf signifikansi 5%, diperoleh F hitung  $0,90 < F$  tabel 3,10. Jadi dapat disimpulkan bahwa di antara ketiga macam dosis yang diberikan menunjukkan tidak ada efek toksik subkronik yang signifikan pada luas vena sentralis hepar.

Pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) secara subkronik tidak menimbulkan efek toksik pada luas vena sentralis hepar. Hal tersebut dapat dikarenakan adanya salah satu kandungan antioksidan dari ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) yaitu flavonoid yang dapat mencegah terjadinya kerusakan pada luas vena sentralis hepar. Menurut Simamora (2008) menjelaskan bahwa flavonoid adalah senyawa polifenol yang merupakan salah satu golongan antioksidan yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi yang dipicu oleh radikal bebas dari senyawa toksik.

Mekanisme perlindungan flavonoid yaitu dengan cara menghambat reaksi oksidasi yang diakibatkan senyawa-senyawa yang mengandung racun yang masuk ke dalam tubuh. Senyawa-senyawa yang mengandung racun

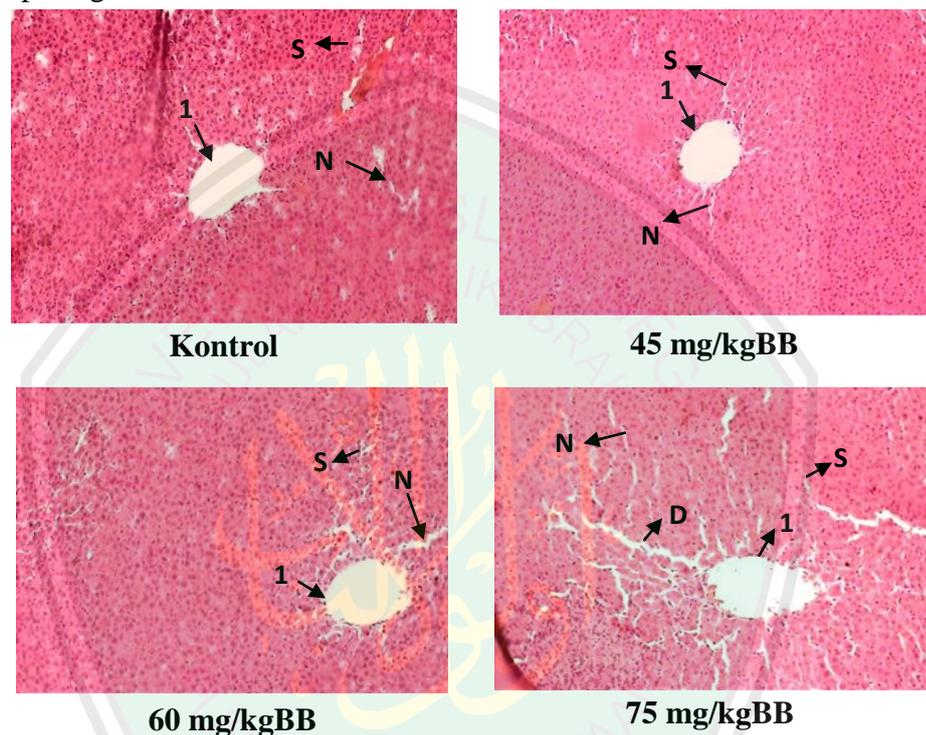
merupakan radikal bebas didalam tubuh yang kemudian oleh flavonoid radikal-radikal bebas tersebut akan distabilkan dengan cara terlibat dalam proses oksidasi yang akan berikatan kompleks dengan senyawa flavonoid sehingga vena sentralis tidak mengalami kerusakan (Simamora, 2008).

Ketika vena sentralis mengalami kerusakan maka ukuran vena sentralis akan bertambah. Hal tersebut disebabkan adanya senyawa aktif yang bersifat toksik. Menurut (Lesson, 1996) menjelaskan bahwa jika terjadi kerusakan maka sel-sel endotel pada vena sentralis akan lisis dan akan mengakibatkan terjadinya perbesaran dari luas vena sentralis. Tetapi pada penelitian ini luas vena sentralis masih normal hal tersebut dimungkinkan adanya salah satu antioksidan dalam ekstrak air daun katuk yaitu flavonoid sehingga mencegah terjadinya kerusakan pada vena sentralis.

Menurut Robinson (1995) flavonoid memiliki berbagai macam manfaat terhadap beberapa organisme dan dapat menjelaskan bahwa tumbuhan yang mengandung flavonoid digunakan dalam pengobatan tradisional. Hal tersebut dapat dikarenakan flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, dapat menghambat beberapa reaksi oksidasi baik secara enzim maupun nonenzim dan flavonoid dapat bertindak sebagai penampang yang baik radikal hidroksi dan superoksida, dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak.

#### 4.1.2 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Sinusoid Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Hasil penelitian pemberian ekstrak air daun katuk berpengaruh terhadap sinusoid hepar tikus. Data histologi terkait hal tersebut dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4.3 Irisan membujur histologi hepar tikus betina pada perbesaran 100x. 1= Vena Sentralis, S= Sinusoid, N= Normal, D= Dilatasi.

Hasil penelitian histologi sinusoid hepar dapat dilihat pada gambar 4.3. Keadaan histologi sinusoid kelompok Kontrol, dosis 45 mg/kgBB dan dosis 60 mg/kgBB menunjukkan normal. Sedangkan pada dosis 75 mg/kgBB sinusoid terjadi dilatasi (pelebaran).

Sinusoid hepar adalah saluran darah yang berliku-liku, dilapisi sel endotel bertingkap tidak utuh, yang dipisahkan dari hepatosit di bawahnya oleh ruang perisinusoidal (dari Disse) (Daglia, 2000). Sinusoid menerima darah dari

vena porta dan arteri hepatic, kemudian menyalurkan ke vena sentralis. Terdapat dinding sinusoid yang terdiri dari sel-sel endotel membentuk lapisan tidak utuh. Hepatosit dan sinusoid dibatasi oleh celah subendotel yang mengandung mikrovili dari hepatosit. Hal tersebut memudahkan terjadinya kontak langsung antara permukaan hepatosit dan sinusoid sehingga memudahkan terjadinya pertukaran makromolekul termasuk toksikan (Arifin, 2007).

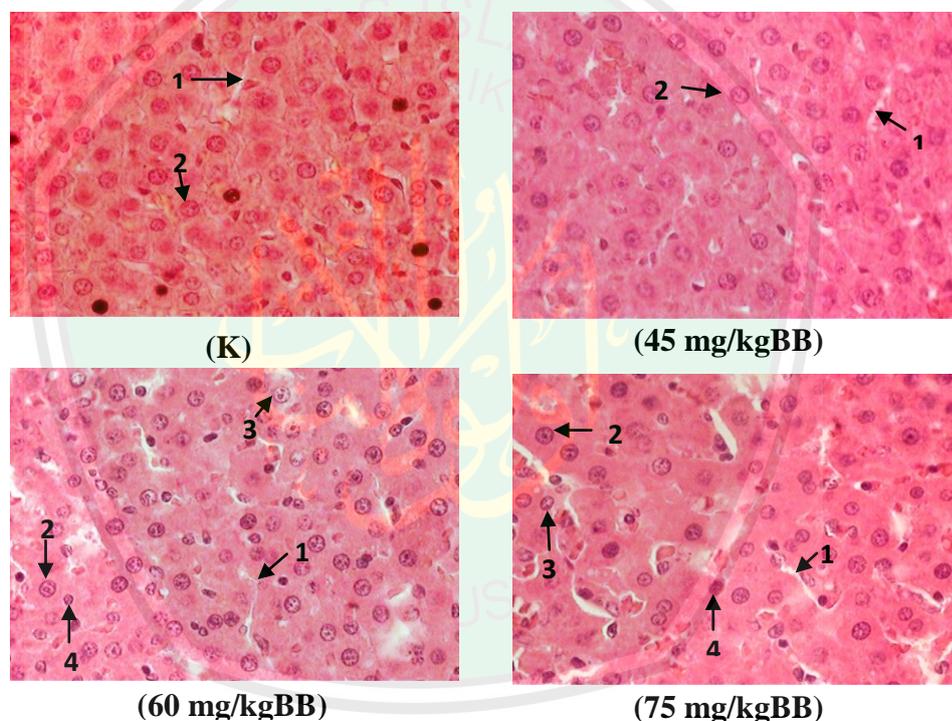
Kelompok dosis 75 mg/kgBB terdapat sinusoid yang mengalami pelebaran (dilatasi). Hal ini dimungkinkan karena tingginya kadar senyawa toksik dalam ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynous*). Menurut Ressang (1984) pelebaran (dilatasi) sinusoid dapat terjadi karena adanya desakan pada dinding sinusoid akibat adanya senyawa toksik. Ketika konsentrasi senyawa toksik tinggi didalam darah kemudian terjadi penyaluran darah dengan perfusi yang kuat kemudian disalurkan pada sinusoid dan terjadi kerusakan hepatosit maka akan mengakibatkan kerusakan pada sinusoid hal tersebut menyebabkan rongga sinusoid mulai membesar (Arifin, 2007).

Salah satu bahan aktif yang dapat menimbulkan efek toksik dalam ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) adalah alkaloid papaverin. Senyawa tersebut dalam dosis tinggi dapat menimbulkan stress oksidatif sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada sinusoid. Hal tersebut juga disebabkan kandungan antioksidan dalam tubuh berkurang. Menurut (Trilaksani, 2003) stress oksidatif merupakan keadaan yang tidak seimbang

antara jumlah molekul radikal bebas dan antioksidan didalam tubuh sehingga menyebabkan kerusakan pada fungsi jaringan dan sel-sel tubuh.

#### 4.1.3 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kerusakan Sel Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Hasil penelitian uji toksisitas subkronik ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) berpengaruh terhadap kerusakan sel hepar. Data histologi terkait hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4.4. Irisan membujur histologi hepar yang memperlihatkan kerusakan hepatosit pada perbesaran 400x. 1= Sinusoid, 2= Hepatosit normal, 3= Hepatosit degenerasi, 4= Hepatosit nekrosis (piknotik).

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis hepar dapat dilihat pada gambar 4.6. Struktur hepatosit yang mengalami degenerasi parenkim, degenerasi hidropik dan nekrosis sangat berbeda dengan struktur hepatosit normal. Pada jaringan hepar normal terlihat inti sel yang masih terlihat jelas, sitoplasma tidak rusak, serta susunan sel hepatosit yang radial dari vena sentral

menuju perifer (Gambar 4.4) (Hastuti, 2008). Sedangkan pada jaringan hepar abnormal terlihat inti sel mengalami degenerasi yaitu degenerasi parenkim kemudian degenerasi hidropik dan inti sel akan mengalami nekrosis. Pada degenerasi parenkim (Gambar 4.6) ditandai dengan adanya inti terlihat terdesak ke tepi, vakuola (ruang-ruang kosong) yang disebabkan karena sel hepatosit membengkak dan granular-granular terlihat jelas. Menurut Januar (2014) Degenerasi parenkim ini disebut *cloudy swelling* yaitu terbentuknya vakuola-vakuola yang terlihat seperti berawan. Sedangkan pada degenerasi hidropik (Gambar 4.6) ditandai dengan vakuola yang berisi air dalam sitoplasmanya dan tidak mengandung lemak atau glikogen. Sel hepatosit berisi air yang lebih banyak di dalam sitoplasma, sehingga sel hepatosit terlihat lebih terang dibandingkan sel yang mengalami degenerasi parenkim. Data jumlah persentase sel hepar normal dan sel hepar yang mengalami kerusakan dapat dilihat pada tabel 4.2 dibawah ini.

Tabel 4.2 Jumlah Persentase Sel Hepar Normal Dan Sel Hepar Yang Mengalami Kerusakan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynous*)

Perlakuan	Jumlah Sel Normal (%)	Jumlah Kerusakan (%)		
		Degenerasi Parenkim	Degenerasi Hidropik	Nekrosis
K	84,6	3,3	1,27	9,86
PI	81,8	3,5	4,76	10,6
PII	69,5	3,6	8,14	18,34
PIII	61	4,24	8,44	26,5

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa kelompok kontrol menunjukkan jumlah hepatosit normal lebih banyak (84,6)% dari pada sel hepar yang mengalami

kerusakan. Pada perlakuan I dan perlakuan II diperoleh jumlah kerusakan sel hepar lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan III. Pada perlakuan III sel hepar yang mengalami nekrosis (26,3%) lebih banyak dibandingkan dengan sel yang mengalami degenerasi parenkim (4,24) dan degenerasi hidropik (8,44%). Hal tersebut mungkin disebabkan oleh tingginya kandungan atau dosis pada ekstrak air daun katuk. Pada pengamatan mikroskopik diperoleh inti sel hepar mengalami degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Pada sel yang mengalami nekrosis meliputi inti sel piknotik, karioeksis dan kariolisis baik pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sel hepar yang mengalami kerusakan akan mengalami tahap-tahap yaitu degenerasi kemudian akan mengalami nekrosis. Degenerasi merupakan kerusakan hepatosit sebelum timbulnya nekrosis (Wulandari, 2007).

Data yang diperoleh selanjutnya diuji normalitas dan homogenitasnya. Hasilnya menunjukkan data-data tersebut berdistribusi normal dan homogen (lampiran 5). Kemudian data diuji menggunakan Analisis Variansi (ANAVA) satu arah dengan taraf signifikansi 5%. Hasil perhitungan ANAVA satu arah yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik subkronik persentase kerusakan sel hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina setelah perlakuan pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) secara subkronik dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Tabel ringkasan Hasil Uji ANAVA Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Pada  $\alpha$  5%

Parameter	F <sub>hitung</sub>	F <sub>5%</sub>
Hepatosit Normal	12,22	3,10
Degenerasi Parenkim	0,83	
Degenerasi Hidropik	3,78	
Nekrosis	4,89	

Pada tabel 4.3 diperoleh dari uji ANAVA satu arah dengan taraf signifikansi 5%, diperoleh F hitung > F tabel 5% hal ini menunjukkan bahwa di antara ketiga macam dosis yang diberikan menunjukkan ada efek toksik subkronik yang signifikan pada persentase kerusakan sel hepar yaitu pada hepatosit normal, degenerasi hidropik dan nekrosis. Sedangkan pada degenerasi parenkim hasil uji ANAVA signifikan 5%, menunjukkan F hitung < F tabel 5%, sehingga menunjukkan di antara ketiga macam dosis yang diberikan tidak pengaruh yang signifikan.

Untuk mengetahui tingkat perbedaan persentase kerusakan sel hepar khususnya pada hepatosit normal, degenerasi hidropik dan nekrosis terhadap beberapa dosis ekstrak daun katuk yang telah diberikan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji duncan dengan taraf 5% hasilnya tertera pada tabel 4.4, 4.5 dan 4.6

Tabel 4.4 Ringkasan Hasil Uji Duncan 5% Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Pada Hepatosit Normal Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Kelompok perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD (%)	Notasi
PIII (Dosis 75 mg/kgBB)	61 $\pm$ 11,91	a
PII (Dosis 60 mg/kgBB)	69,5 $\pm$ 7,79	a
PI (Dosis 45 mg/kgBB)	81,83 $\pm$ 3,86	b
Kontrol (Aquades)	84,67 $\pm$ 4,54	b

Uji duncan pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa ada perbedaan toksistas subkronik yang nyata pada jumlah hepatosit normal terhadap persentase kerusakan sel hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina kelompok kontrol berbeda nyata dengan kelompok perlakuan PII dan PIII. Kelompok P1 berbeda nyata dengan PII dan PIII, akan tetapi kelompok kontrol tidak berbeda nyata dengan PI.

PI (45 mg/kgBB) tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol dimungkinkan karena dosis ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) yang diberikan rendah sehingga jumlah hepatosit normal masih relatif banyak. Sedangkan PII dan PIII berbeda nyata dengan PI dan kontrol karena dosis yang diberikan lebih tinggi yaitu PII (60 mg/kgBB) dan PIII (75 mg/kgBB) sehingga dapat mempengaruhi jumlah sel hepar normal tikus (*Rattus norvegicus*) betina yang semakin berkurang. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa kelompok PI adalah perlakuan optimal yang tidak menimbulkan toksistas subkronik pada jumlah sel hepar normal tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

Pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) tidak menimbulkan efek toksik subkronik yaitu berupa tidak terjadi kerusakan

degenerasi parenkim pada sel hepar. Hal tersebut dapat dikarenakan adanya salah satu kandungan antioksidan dalam ekstrak air daun katuk yaitu flavonoid. Menurut Robinson (1995) flavonoid menghambat reaksi oksidasi dengan cara sebagai penampang radikal bebas sehingga dapat melindungi lipid membran dari berbagai reaksi yang merusak. Flavonoid dapat melindungi jaringan mukosa dengan cara mencegah pembentukan kerusakan pada sel-sel hepar, sehingga sel-sel hepar yang mengalami kerusakan menjadi pulih kembali.

Tabel 4.5 Ringkasan Hasil Uji Duncan 5% Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Pada Degenerasi Hidropik Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Kelompok perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD (%)	Notasi
Kontrol (Aquades)	1,27 $\pm$ 1,16	a
PI (Dosis 45 mg/kgBB)	4,76 $\pm$ 3,02	ab
PII (Dosis 60 mg/kgBB)	8,12 $\pm$ 5,40	b
PIII (Dosis 75 mg/kgBB)	8,44 $\pm$ 5,64	b

Uji Duncan 5% pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa ada perbedaan toksistas subkronik yang nyata pada jumlah degenerasi hidropik terhadap persentase kerusakan sel hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina kelompok PII tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan PI dan PIII, tetapi berbeda nyata pada kelompok kontrol.

PI (45 mg/kgBB) tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol dimungkinkan karena dosis ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) yang diberikan rendah sehingga jumlah sel hepar yang mengalami degenerasi hidropik masih rendah. Sedangkan PII dan PIII berbeda nyata dengan PI dan kontrol karena dosis yang diberikan lebih tinggi yaitu PII (60 mg/kgBB) dan PIII (75 mg/kgBB) sehingga dapat mempengaruhi jumlah sel hepar yang

mengalami degenerasi hidropik tikus (*Rattus norvegicus*) betina yang semakin bertambah. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa kelompok PI adalah batas pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) yang tidak menimbulkan toksisitas subkronik pada jumlah sel hepar yang dapat menimbulkan degenerasi hidropik.

Tabel 4.6 Ringkasan Hasil Uji Duncan 5% Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Pada Nekrosis Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Kelompok perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD (%)	Notasi
PI (Dosis 45 mg/kgBB)	9,86 $\pm$ 2,98	a
Kontrol (Aquades)	10,6 $\pm$ 5,50	ab
PII (Dosis 60 mg/kgBB)	18,34 $\pm$ 5,61	bc
PIII (Dosis 75 mg/kgBB)	26,3 $\pm$ 14,81	c

Uji duncan 5% pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa ada perbedaan toksistas subkronik yang nyata pada jumlah nekrosis terhadap persentase kerusakan sel hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina kelompok PIII tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan PII, tetapi berbeda nyata pada kelompok kontrol dan PI.

PI (45 mg/kgBB) tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol dimungkinkan karena dosis ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) yang diberikan rendah sehingga jumlah sel hepar yang mengalami nekrosis masih rendah. Sedangkan PII dan PIII berbeda nyata dengan PI karena dosis yang diberikan lebih tinggi yaitu PII (60 mg/kgBB) dan PIII (75 mg/kgBB) sehingga dapat mempengaruhi jumlah sel hepar yang mengalami nekrosis tikus (*Rattus norvegicus*) betina yang semakin bertambah. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa kelompok PI adalah perlakuan optimal yang tidak

menimbulkan toksisitas subkronik pada jumlah sel hepar yang dapat menimbulkan nekrosis. Sedangkan kelompok PII merupakan batas pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) yang tidak menimbulkan toksisitas subkronik pada jumlah sel hepar yang dapat menimbulkan nekrosis.

Tanda-tanda kerusakan hepar yang dapat diamati secara mikroskopik adalah degenerasi dan nekrosis. Degenerasi merupakan perubahan morfologi sel akibat dari luka yang tidak mematikan dan bersifat *reversibel*. *Reversibel* karena apabila rangsangan yang menimbulkan cedera dapat dihentikan, maka sel akan kembali normal. Tetapi apabila berjalan terus-menerus dan dosis yang berlebihan, maka akan mengakibatkan nekrosis atau kematian sel yang tidak dapat pulih kembali (Nadhifah, 2010). Menurut Januar (2014) hepatosit yang mengalami degenerasi kemudian nekrosis dapat disebabkan adanya rangsangan yang terus-menerus dari zat toksik.

Hasil dari uji skrining fitokimia ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) diperoleh bahwa terdapat kandungan senyawa yang meliputi flavonoid, triterpenoid, tanin, glikosida, saponin, dan alkaloid. Menurut Suprayogi (2000) terdapat jenis alkaloid pada daun katuk yang dapat mengganggu kesehatan yaitu alkaloid papaverin. Alkaloid papaverin dapat larut dalam pelarut air (Sari, 2011).

Senyawa alkaloid papaverin dapat menimbulkan efek toksik pada dosis tinggi. Hal tersebut dikarenakan pertama dapat menimbulkan efek yang merugikan ketika dikonsumsi, kedua suatu bahan atau senyawa dapat dikatakan toksik apabila menyebabkan efek yang tidak seharusnya yaitu menyebabkan

kerusakan pada pemakaian yang melebihi dosis yang diperbolehkan, dan senyawa yang berpotensi toksik adalah ketika senyawa tersebut memiliki kemampuan untuk menimbulkan kerusakan pada suatu organ (Jauhari, 2015).

Pemberian ekstrak air daun katuk secara subkronik selama 28 hari, jika dikonsumsi secara oral mengalami biotransformasi obat melalui hepar. Reaksi metabolisme yang terpenting adalah oksidasi oleh enzim sitokrom P<sub>450</sub> (CYP) dan reaksi glukuronidasi dengan enzim *UDP-glukoronil-transferase* (UGT) yang akan membentuk metabolit yang stabil (Ganong, 2006) akan tetapi ketika senyawa tersebut diberikan dalam jangka waktu yang lama dan dosis yang tinggi dapat bersifat mengganggu dan menghasilkan metabolit yang lebih reaktif.

Salah satu pada proses biotransformasi, senyawa akan membentuk ikatan kovalen dengan glutathione yang kemudian membentuk senyawa yang bersifat kurang toksik. Sedangkan, ketika kadar dari senyawa tersebut tinggi maka akan menyebabkan glutathione dalam hepar tidak mampu untuk membentuk ikatan kovalen dengan seluruh senyawa tersebut yang menjadikannya kurang toksik, sehingga senyawa yang tidak membentuk ikatan kovalen dengan glutathione akan tetap bersifat toksik dan menjadi radikal bebas. Senyawa yang tetap bersifat toksik tersebut akan masuk ke dalam hepatosit sehingga mengakibatkan banyak kerusakan sel (Bowen dan Lockshin, 1981).

Penelitian ini pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) secara subkronik tidak menimbulkan degenerasi parenkim tetapi

dapat menimbulkan degenerasi hidropik pada sel hepar. Pada degenerasi hidropik dimulai ketika kandungan alkaloid papaverin yang mempunyai gugus hidroksil (-OH) bereaksi pada mitokondria. Gugus hidroksil (-OH) dapat mengakibatkan pemutusan (*uncoupling*) rantai pernafasan di mitokondria. Hal ini menyebabkan suplai oksigen ke sel mengalami penurunan sehingga fosforilasi oksidatif (metabolisme aerobik) berhenti dan sel mengandalkan glikolisis untuk menghasilkan energi (metabolisme anaerobik). Glikolisis menghasilkan akumulasi asam laktat dan fosfat organik yang akan menurunkan pH intrasel dan mengakibatkan penurunan aktivitas berbagai enzim seluler. Gangguan tersebut dapat mengakibatkan produksi ATP menurun sehingga terjadi jejas sel hepar dikarenakan keberlangsungan hidup sel bergantung pada metabolisme oksidatif di mitokondria (Nirwana, 2015).

Jejas sel berupa perubahan mitokondria menyebabkan adanya kegagalan oksidasi yang mengakibatkan penurunan ATP sehingga terjadi gangguan transport aktif yang mengakibatkan sel tidak mampu memompa ion  $\text{Na}^+$  keluar sehingga konsentrasi ion  $\text{Na}^+$  di dalam sel naik. Hal tersebut berpengaruh pada proses osmosis yang menyebabkan influks air ke dalam sel sehingga mengakibatkan sel menjadi membengkak seperti vakuola, nukleus membesar, dan juga terlihat jelas granular-granular di dalam nukleus (Mitchell et.al., 2008).

Degenerasi parenkim dan degenerasi hidropik pada dasarnya sama yaitu bersifat *reversible*. Namun derajat kerusakannya, degenerasi hidropik lebih berat dibandingkan degenerasi parenkim. Kerusakan hepar akibat senyawa

kimia ditandai dengan perubahan metabolik di dalam sel yang memberikan rangkaian perubahan fungsi dan struktur. Beberapa perubahan struktur hepar akibat senyawa kimia yang dapat tampak dalam pengamatan mikroskopis seperti, radang, fibrosis, degenerasi, dan nekrosis (Prasetiawan, 2014).

Pada kelompok perlakuan dapat terlihat adanya nekrosis (Gambar 4.4) hal tersebut dapat disebabkan oleh paparan ekstrak air daun katuk yang mempunyai kandungan senyawa toksik yaitu alkaloid papaverine. Pada dosis tinggi kandungan tersebut dapat berubah menjadi reaksi oksidatif yang bereaksi pada DNA mitokondria dan nukleus. Setelah itu terjadi pemecahan DNA yang menyebabkan nekrosisnya sel hepar (Nirwana, 2014). Sedangkan kerusakan inti sel pada kelompok kontrol dapat disebabkan oleh kondisi awal hepar atau sel hepar yang telah mengalami kerusakan sebelumnya atau karena faktor lain seperti kondisi lingkungan dan kondisi kandang, faktor psikologis tikus yang juga dapat mempengaruhi kesehatan hepar tikus, penyakit yang menyerang hewan coba, proses pembuatan preparat yang kurang sempurna dan faktor imunitas hewan coba sendiri (Firdaus, 2010).

Mekanisme terjadinya kematian sel atau nekrosis dapat diakibatkan senyawa kimia yang mengandung racun. Nekrosis sel hepar yaitu berawal dengan kerusakan membran sel yang disebabkan oleh beberapa hal meliputi penurunan jumlah ATP, serta peningkatan aktivitas enzim phospholipase dan protease. Radikal bebas yang dihasilkan oleh ekstrak air daun katuk dengan dosis 60 mg/kgBB dan 75 mg/kgBB yang tidak berikatan dengan glutathione akan mengakibatkan stres oksidatif dalam sel sehingga proses respirasi seluler

dalam mitokondria terhambat. Respirasi seluler yang terhambat mengakibatkan kerusakan membran sel makin meningkat (Price and Wilson, 1990).

Kerusakan membran sel akan menyebabkan terganggunya metabolisme energi dan hilangnya pengaturan volume. Hal ini mengakibatkan kestabilan lingkungan interna sel terganggu, karena sel tidak mampu memompa natrium dalam sel maka terjadi peningkatan natrium. Keadaan ini menyebabkan perbedaan tekanan osmotik antara intrasel dan ekstrasel, sebagai akibatnya air masuk ke dalam sel. Penambahan air dalam sel yang cedera ini mengakibatkan terjadinya bengkak sel (Price and Wilson, 1990).

Kerusakan membran sel akan mengakibatkan zat toksik dapat masuk tanpa terkendali melalui membran sel, melewati sitoplasma, merusak organel-organel sel, menuju inti sel yaitu pada DNA mitokondria dan nukleus yang masuk melalui membran inti sel kemudian merusak untaian tunggal. Akibatnya terjadi fragmentasi DNA yang menimbulkan morfologi sel. Perubahan morfologi sel berupa pengerutan inti sel dan terjadi kondensasi kromatin (piknotik), nukleus pecah menjadi fragmen-fragmen sisa inti berupa zat kromatin yang tersebar didalam sel (karioeksis), penghancuran dan pelarutan inti sel sehingga sel menghilang (kariolisis), membran sel mengalami lisis sehingga batas antar sel tidak nampak jelas. Bentuk sel seperti ini disebut nekrosis (Hastuti, 2006).

Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma. Hal tersebut mengakibatkan tidak terdapat perubahan ultrastruktural membran yang dapat dideteksi sebelum pecah. Namun, ada beberapa perubahan yang

mendahului kematian sel. Perubahan morfologik awal antara lain berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma, dan disagregasi polisom. Terjadi akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel. Perubahan yang terdahulu merupakan pembengkakan mitokondria progresif dengan kerusakan krista, pembengkakan sitoplasma, penghancuran organel dan inti dan pecahnya membran plasma (Lu, 1995).

Berdasarkan penjelasan diatas sel hepar yang rusak kemudian akan menyebabkan salah satu proses metabolisme bilirubin terganggu yaitu pada pengangkutan bilirubin *direct* ke kanalikulus biliaris sehingga mengakibatkan kadar bilirubin *direct* serum akan meningkat. Sel hepar yang rusak juga dapat menyebabkan hambatan sinusoid empedu sehingga bilirubin *direct* tidak dapat diekresikan. Dengan demikian bilirubin akan mengalami peningkatan ke dalam vena hepatica serta saluran limfatik akibatnya bilirubin akan terlihat di dalam darah (Wijayanti, 2011).

### **1.2 Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin *Direct* Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina**

Bilirubin adalah produk akhir penguraian heme. Sekitar 70-90% bilirubin berasal dari penguraian hemoglobin di sel darah merah yang tua. Bilirubin akan mengalami metabolisme di hepar. Metabolisme bilirubin meliputi pembentukan bilirubin, transportasi bilirubin, asupan bilirubin, konjugasi bilirubin, dan ekskresi bilirubin. Bilirubin terdiri dari bilirubin *direct* dan bilirubin *indirect* (Lestari, 2014). Bilirubin *direct* merupakan hasil konjugasi dari bilirubin *indirect* oleh asam glukuronid dalam hepar. Tujuan

dari proses konjugasi ini adalah untuk meningkatkan kelarutan bilirubin dan membatasi akses bilirubin ke dalam sel. Kedua tujuan tersebut memungkinkan proses ekskresi bilirubin dari tubuh. Bilirubin *direct* diekskresikan melalui saluran empedu menuju kantung empedu, kemudian dilepaskan ke saluran intestinal (Ettinger, 2010).

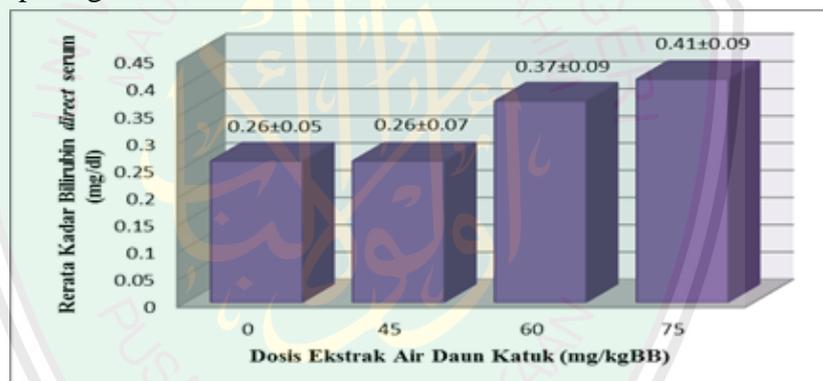
Salah satu metode pengukuran kadar bilirubin *direct* serum adalah dengan menggunakan metode spektrofometri yaitu *jendrasik groff*. Menurut Peadana (2007) prinsip dari metode *jendrasik groff* adalah bilirubin bereaksi dengan DSA (*diazotized sulphanic acid*) dan membentuk senyawa azo yang berwarna merah. Daya serap warna dari senyawa ini dapat langsung dilakukan terhadap sampel bilirubin pada panjang gelombang 546 nm. Bilirubin *direct* yang larut dalam air dapat langsung bereaksi dengan DSA.

Data hasil pengukuran kadar bilirubin *direct* serum dengan menggunakan metode *jendrasik groff* menunjukkan hasil yang berbeda pada tiap perlakuan. Perlakuan tersebut yaitu kelompok dosis 75 mg/kgBB. Data kadar bilirubin *direct* serum dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Kadar Bilirubin *Direct* (mg/dl) Pada Serum Tikus Pada Pemberian Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*)

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
1	0.17	0.20	0.43	0.30
2	0.3	0.33	0.43	0.35
3	0.25	0.17	0.34	0.45
4	0.33	0.34	0.38	0.44
5	0.25	0.21	0.44	0.38
6	0.26	0.33	0.18	0.56
<b>Rata-rata</b>	0.26	0.26	0.37	0.41

Berdasarkan tabel 4.9 diketahui bahwa rerata kadar bilirubin *direct* serum pada kelompok PIII (0.41 mg/dl) lebih tinggi dibandingkan dengan kadar bilirubin *direct* serum kelompok kontrol (0.26 mg/dl). Bilirubin *indirect* yang diproduksi diperifer diangkut ke hepar dalam plasma. Bilirubin *indirect* tersebut akan mengalami metabolisme menjadi bilirubin *direct*. Pada kondisi normal, bilirubin dikeluarkan dari sirkulasi secara cepat dan efisien oleh hepatosit tetapi ketika hepar mengalami kerusakan maka bilirubin *direct* tidak dapat diekskresikan ke saluran pencernaan sehingga mengakibatkan terjadi peningkatan bilirubin *direct* pada serum (Harrison *et.al.*, 2013). Rerata peningkatan bilirubin *direct* serum dapat dilihat pada gambar 4.5



Gambar 4.5 Rerata Hasil Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin *Direct* Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Berdasarkan gambar 4.5 diketahui bahwa terjadi peningkatan rata-rata kadar bilirubin *direct* serum dari kelompok kontrol (K), perlakuan dosis 45 mg/kgBB, perlakuan dosis 60 mg/kgBB serta perlakuan dosis 75 mg/kgBB. Pada perlakuan kontrol dengan jumlah rerata kadar bilirubin *direct* 0,26 mg/dl masih berada pada kisaran batas normal. Pada perlakuan 1 (dosis 45 mg/kgBB tikus) memiliki rerata yang sama dengan kelompok kontrol yaitu 0,26 mg/dl. Pada perlakuan 2 (dosis 60 mg/kgBB tikus) dan perlakuan 3 (dosis 75

mg/kgBB tikus) mengalami peningkatan dengan jumlah rerata kadar bilirubin *direct* serum yaitu 0,37 mg/dl dan 0,41 mg/dl. Peningkatan kadar bilirubin *direct* pada setiap perlakuan masih dalam kadar normal meskipun terdapat sedikit perbedaan yang nyata pada perlakuan 2 (dosis 60 mg/kgBB tikus) dan perlakuan 3 (dosis 75 mg/kgBB tikus). Jumlah rerata kadar bilirubin *direct* serum masing-masing perlakuan mengalami peningkatan 0-1 kali lipat dari jumlah rerata kadar bilirubin *direct* serum kontrol. Menurut Lab (2014) kisaran normal bilirubin total dan bilirubin *direct* serum pada tikus adalah sebesar 0,20-0,55 mg/dl.

Berdasarkan dari data di atas kadar bilirubin *direct* serum masih dalam batas normal, namun ketika dilihat pada rata-rata terjadi peningkatan. Peningkatan kadar bilirubin *direct* dapat disebabkan adanya beberapa faktor. Salah satunya berkurangnya kemampuan sel-sel hepar sehingga mengakibatkan konjugasi bilirubin dalam hepar meningkat yang kemudian mengakibatkan bilirubin akan bertumpuk dalam darah dan jaringan (Syaharudin, 2013). Akan tetapi perubahan yang terjadi secara keseluruhan dianggap belum menyimpang karena peningkatan belum melebihi batas normal.

Faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya peningkatan bilirubin *direct* adalah adanya gangguan dalam ekskresi bilirubin akibat kelainan bawaan, infeksi atau kerusakan hepar (Wahyudi, 2007). Pada penelitian ini diduga yang menjadi penyebab peningkatan kadar bilirubin *direct* serum adalah gangguan pada ekskresi bilirubin *direct*. Menurut Stockham dan Scott (2008) penurunan ekskresi pada bilirubin *direct* ke saluran intestinal dapat

disebabkan oleh kolestasis obstruktif atau kolestasis fungsional. Kolestasis obstruktif merupakan kondisi patologis dimana terjadi obstruksi atau penyumbatan aliran bilirubin dalam saluran empedu, baik secara intrahepatik maupun ekstrahepatik. Hal ini dapat disebabkan adanya pembengkakan hepatoseluler, lesio periportal, infeksi, dan penyumbatan saluran empedu karena batu empedu, parasit, dan neoplasma.

Mekanisme ini diawali ketika kadar konsentrasi senyawa toksik yang tinggi dalam darah kemudian disalurkan oleh sinusoid kemudian mengalami biotransformasi pada sel hepar. Senyawa toksik tersebut menyebabkan inversi pada fungsi polaritas dari hepatosit terganggu sehingga mengakibatkan eliminasi bahan seperti bilirubin *direct*, asam empedu, dan lemak kedalam empedu melalui plasma membran permukaan sinusoid terganggu. Hal tersebut juga mengakibatkan proses sekresi bilirubin *direct* ke dalam kanalikuli terganggu (Arief, 2014).

Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) tunggal dengan taraf signifikansi 1%. Hasil penelitian terlebih dahulu data diuji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada kadar bilirubin *direct* serum tikus betina yang diberikan ekstrak daun katuk adalah 0,971 dimana signifikansi dari nilai tersebut  $0,971 > 1\%$  maka dapat disimpulkan bahwa data yang diuji tersebut normal. Sedangkan berdasarkan uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada kadar bilirubin *direct* serum 0,466 dimana signifikansi dari nilai tersebut  $0,466 > 1\%$  disimpulkan bahwa varian dari dua atau lebih

kelompok populasi data sama. Kemudian data diuji menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) satu arah dengan taraf signifikansi 1%. Hasil perhitungan ANOVA satu arah yang dilakukan untuk mengetahui efek toksisitas subkronik kadar bilirubin *direct* serum setelah pemberian ekstrak daun katuk dapat dilihat pada tabel 4.8

Tabel 4.8 Tabel Ringkasan Hasil Uji ANOVA toksisitas subkronik ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) terhadap kadar bilirubin *direct* serum tikus (*Rattus norvegicus*) betina Pada  $\alpha$  1%

SK	db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>1%</sub>
Perlakuan	3	0,105383	0,035128	5,17	4,94
Galat	20	0,1358	0,00679		
Total	23	0,241183			

Keterangan: SK = Sumber Keragaman  
 db = Derajat Bebas  
 JK = Jumlah Kuadrat  
 KT = Kuadrat Tengah

Pada tabel 4.8 hasil yang diperoleh dari uji ANOVA dengan taraf signifikansi 1%, didapatkan kadar bilirubin *direct* serum menunjukkan F hitung 5,17 > F tabel 4,94. Hal tersebut menunjukkan bahwa di antara ketiga macam dosis yang diberikan menunjukkan ada efek toksisitas subkronik yang sangat signifikan pada kadar bilirubin *direct* serum. Untuk mengetahui tingkat perbedaan kadar bilirubin *direct* serum terhadap beberapa dosis ekstrak daun katuk yang telah diberikan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan dengan taraf 1% hasilnya tertera pada tabel 4.11

Tabel 4.9 Hasil Uji Duncan 1% Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin *Direct* Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Kelompok perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD (mg/dl)	Notasi
Kontrol (Aquades)	0.26 $\pm$ 0.05	a
PI (Dosis 45 mg/kgBB)	0.26 $\pm$ 0.07	a
PII (Dosis 60 mg/kgBB)	0.37 $\pm$ 0.09	ab
PIII (Dosis 75 mg/kgBB)	0.41 $\pm$ 0.09	b

Berdasarkan hasil uji Duncan 1% pada tabel 4.9 menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang sangat nyata antara kelompok kontrol dengan perlakuan pada dosis 75 mg/kgBB terhadap kadar bilirubin *direct* serum tikus betina. Diantara kelompok yang tidak berpotensi toksik secara subkronik terhadap pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) adalah pada dosis 45 mg/kgBB dan dosis 60 mg/kgBB. Hal tersebut dapat dikarenakan kadar bilirubin *direct* serum tidak berbeda sangat nyata toksisitasnya dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada dosis 45 mg/kgBB dengan dosis 60 mg/kgBB secara statistik sama yang artinya adalah keduanya memiliki potensi sama tidak berbeda sangat nyata. Dosis 60 mg/kgBB merupakan dosis maksimal pemberian secara subkronik ekstrak air daun katuk yang tidak menimbulkan efek toksik sedangkan dosis 75 mg/kgBB merupakan dosis yang dapat menimbulkan efek toksik secara subkronik dan besarnya efek sejalan dengan tingginya dosis ekstrak daun katuk. Pada dosis 45 mg/kgBB dengan dosis 75 mg/kgBB mempunyai notasi yang berbeda, artinya adalah keduanya memiliki potensi yang berbeda sangat nyata.

Berdasarkan uji toksisitas subkronik terhadap kadar bilirubin *direct* serum, salah satu kandungan dari ekstrak air daun katuk yang bekerja sebagai zat aktif yang dapat meningkatkan kadar bilirubin *direct* serum yaitu alkaloid. Menurut Yakubu (2012) senyawa alkaloid murni pada dosis 250 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar bilirubin *direct* serum. Senyawa alkaloid pada dosis tinggi dapat mempengaruhi fungsi sintesis dan ekskretoris dari hepar. Hal tersebut dapat ditandai dengan perubahan kadar albumin, bilirubin dan globulin. Penurunan albumin serum dengan kadar globulin dapat digunakan sebagai indikator fungsi sintesis hepar dan hal tersebut dapat menunjukkan efek buruk pada fungsi normal organ. Selain itu, peningkatan konsentrasi bilirubin dalam darah dapat dikarenakan terdapat gangguan penyerapan pada saat konjugasi atau ekskresi bilirubin, peningkatan terkonjugasi atau bilirubin tak terkonjugasi dari sel-sel hepar yang rusak atau saluran empedu.

Kerusakan pada hepar yang menyebabkan fungsi ekskresi bilirubin *direct* terganggu juga dapat disebabkan berkurangnya senyawa antioksidan dalam tubuh. Menurut (Boer, 2000) berkurangnya senyawa antioksidan dalam tubuh dapat menyebabkan fungsi jaringan tubuh terganggu hal tersebut disebabkan karena senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi yang berperan pada timbulnya penyakit degeneratif.

Salah satu indikator utama kerusakan fungsi hepar yang terkait dengan metabolisme bilirubin adalah hiperbilirubinemia (Rahman, 2008). Hiperbilirubinemia akan menyebabkan gejala *ikterik* atau *jaundice*. *Ikterik* atau *jaundice* merupakan keadaan di mana jaringan terutama kulit dan sklera mata

menjadi kuning akibat deposisi bilirubin yang berdifusi dari darah karena konsentrasinya dalam darah sangat tinggi (Afrah, 2010). Menurut Lestari (2014) beberapa kondisi dapat menyebabkan terjadinya hiperbilirubinemia, antara lain peningkatan konsentrasi bilirubin *indirect* akibat hemolitik, penurunan pengambilan *indirect* oleh hepatosit karena penurunan fungsi hati, dan penurunan ekskresi bilirubin *direct* menuju kantung empedu karena penurunan fungsi hepar sehingga menimbulkan peningkatan bilirubin *direct* pada serum.

Apabila semuanya dibandingkan antara kelompok perlakuan PI dosis 45 mg/kgBB, PII dosis 60 mg/kgBB, dan perlakuan PIII dosis 75 mg/kgBB terlihat bahwa terjadi peningkatan luas vena sentralis hepar, persentase kerusakan sel hepar dan kadar bilirubin *direct* serum. Diantara kelompok perlakuan yang memiliki toksik secara subkronik terhadap histologi hepar dan kadar bilirubin *direct* serum adalah dosis 75 mg/kgBB, sedangkan pada dosis 45 mg/kgBB dan 60 mg/kgBB merupakan kisaran dosis yang tidak memiliki efek toksik secara subkronik. Jadi dapat disimpulkan bahwa terdapat toksisitas secara subkronik pada dosis 75 mg/kgBB pemberian ekstrak air daun katuk terhadap histologi hepar dan kadar bilirubin *direct* serum.

Secara statistik hubungan kadar bilirubin *direct* serum dengan histologi hepar dapat diketahui dengan hasil uji regresi linier. Ringkasan uji regresi dan korelasi histologi hepar dengan kadar bilirubin *direct* serum dapat dilihat pada lampiran 6. Hasil uji regresi linier diperoleh bahwa hubungan histologi hepar dengan kadar bilirubin *direct* serum signifikan dan berkorelasi positif.

Diperoleh koefisien Determinasi (KD) pada nilai R Square sebesar 34,9% dapat diartikan bahwa variabel x (histologi hepar) memiliki pengaruh terhadap variabel y (kadar bilirubin *direct* serum).

Hubungan antara histologi hepar dan kadar bilirubin *direct* serum dijelaskan oleh Boyer (2002) bahwa didalam hepar khususnya sel hepar (sel parenkim hepar) mempunyai fungsi salah satunya adalah dalam proses metabolisme bilirubin yaitu dalam proses konjugasi dan ekskresi bilirubin *direct* ke dalam empedu. Ketika sel hepar yang rusak akan menyebabkan proses konjugasi terganggu sehingga kadar bilirubin serum juga akan meningkat. Kerusakan sel parenkim hati juga menyebabkan komponen obstruksi pada saluran empedu di hepar sehingga bilirubin *direct* tidak dapat diekresikan. Dengan demikian bilirubin *direct* akan mengalami peningkatan ke dalam vena hepatica serta saluran limfatik akibatnya bilirubin akan terlihat di dalam darah (Wijayanti, 2011).

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa kandungan ekstrak air daun katuk cenderung memiliki toksik subkronik terhadap kadar bilirubin *direct* serum dan histologi hepar tikus betina. Pada hasil penelitian ini terdapat pelajaran bahwa mengkonsumsi makanan atau obat berlebihan harus sesuai dosis yang dianjurkan, karena jika berlebihan dikhawatirkan berefek buruk bagi tubuh kita yang kemudian dapat menimbulkan penyakit. Sesuatu yang berlebihan sangat tidak dianjurkan dalam Islam. Allah SWT berfirman dalam Q.S al-Qamar (54) 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya:”*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”(al-Qamar:49).

Terdapat kata *قَدَرٍ* bermakna ketentuan. Dari segi bahasa kata tersebut bermakna kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Ayat diatas membicarakan bahwa segala sesuatu termasuk ketentuan dan sistem yang ditetapkan adalah kekuasaan dari Allah SWT dan tidak hanya terbatas pada salah satu aspek saja. Pada manusia telah ada kadar yang ditetapkan Allah SWT seperti halnya makan, minum dan berkembang biak melalui sistem yang ditetapkan-Nya. Oleh karena itu, sangat dianjurkan dalam meminum obat tidak boleh melebihi dosis yang dianjurkan. Hal tersebut dapat mengganggu sistem yang ada pada tubuh karena semuanya berkaitan dan saling menunjang dalam satu keseimbangan (Shihab, 2002).

Hasil penelitian ini memberikan pelajaran penting akan konsep dari mengkonsumsi obat. Setiap obat memiliki batasan atau dosis tertentu saat dikonsumsi. Sehingga ketika dikonsumsi oleh manusia obat tersebut dapat memberi kesembuhan dan memberi manfaat. Sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu untuk memberi potensi yang sesuai dan dengan kadar yang cukup untuk melakukan fungsinya yang bertujuan untuk mempertahankan satu keseimbangan (Shihab, 2002). Seperti halnya dalam mengkonsumsi daun katuk sebagai obat. Menurut Wiradimadja (2010), sebaiknya daun katuk tidak dikonsumsi terlalu sering karena mengandung alkaloid yang dapat mengganggu kesehatan.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa

1. Pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) dapat menimbulkan efek toksik secara subkronik terhadap kadar bilirubin serum dan histologi sinusoid, sel hepar khususnya jumlah sel hepar normal dan yang mengalami degenerasi hidropik dan nekrosis, tetapi tidak menimbulkan efek toksik secara subkronik terhadap histologi vena sentralis hepar dan sel hepar khususnya jumlah sel hepar yang mengalami degenerasi parenkim tikus (*Rattus norvegicus*) betina.
2. Dosis aman pada pemberian ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynous*) yaitu dosis 45 mg/kgBB sampai dengan dosis 60 mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik secara subkronik terhadap kadar bilirubin serum dan histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan untuk penggunaan dosis konsumsi daun katuk sebagai obat yaitu pada dosis 45 mg/kgBB sampai dengan dosis 60 mg/kgBB untuk menghindari efek samping yang tidak diinginkan. Selain itu, disarankan untuk mengukur sel pada vena sentralis apakah terjadi pelebaran yang menyebabkan luas vena sentralis

hepar bertambah dan untuk mendapatkan informasi yang lebih lengkap mengenai kerusakan fungsi lain hepar secara subkronik maka disarankan dilakukan pengukuran serum lengkap seperti pengukuran kadar albumin untuk mengetahui fungsi albumin sebagai pengangkut bilirubin *indirect* menuju ke hepar untuk dikonjugasi.



## DAFTAR PUSTAKA

- Afrah, Zatil 2010. Pengujian Hepatotoksisitas Subkronis Ekstrak Daun Jelatang (*Urtica dioica L.*) Pada tikus Sprague Dawley. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian: Institut Pertanian Bogor
- Arief, sjamsul. 2014. *Deteksi Dini Kolestasis Neonatal (Early Detection Of Neonatal Cholestasis)*. Divisi Hepatologi Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr Soetomo, Surabaya.
- Arifin, Hilmi *dkk.* 2007. Pengaruh Pemberian Akut Ekstrak Etanol Daun Capo (*Blumea balsamifera (L)DC*) terhadap Gambaran Morfolofis dan Histologi Hati Mencit Putih Jantan. *J. Sains Teks Far*, 12(2)
- Astuti, dwi santi. 2009. *Efek Ekstrak Etanol 70% Daun Pepaya (Carica papaya, linn.) Terhadap Aktivitas Ast & Alt Pada Tikus Galur Wistar Setelah Pemberian Obat Tuberkulosis (isoniazid & rifampisin)*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Bahar, Novri Wandu. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Dan Fraksi Daun Katuk (*Sauropus androgynus (l.) Merr*) Terhadap Gambaran Hematologi Pada Tikus Putih Laktasi. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Bhara, Makna L.A. 2009. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari Terhadap Gambaran Histologi Hepar Tikus Wistar. *Artikel Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Boer, Y., 2000. Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). *Jurnal Matematika dan IPA*, 1(1): 26 -33.
- Bowen, I. D., Lockshin, R. 1981. *Cell Death in Biology and Pathology*. London: Chopman and Hill
- BPOM, 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Secara In Vivo*. Jakarta: Menteri Hukum dan HAM.
- Cahyadi, Wisnu. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Pangan: Bahan Tambahan Pangan*. Bandung: Bumi Aksara.
- Charlotte. L, Ownby. 2002. *Digestive System II*. [Online]. Tersedia: <https://instruction.cvhs.okstate.edu/Histology/HistologyReference/HRD2frame>. Html. [17 September 2015].
- Daglia M, Rachi M, Papetti A, Lanni C, Govoni S, Gazzani G. 2000. In Vitro and Ex-Vivo Antihydroxyl Radical Activity of Green and Roasted Coffee. *Jurnal Agric Food Chem.*; 48 (5):1449-54

- Eroscheko, Victor P. 2003. *Atlas Histologi di Flore dengan Korelasi Fungsional*. Alih bahasa: JanTambayong. Jakarta:EGC.
- Ettinger SJ. 2010. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Volume 7. Philadelpia (USA): W.B. Saunders Company.
- Fadli, Muhammad Yogie. 2015. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*gynura procumbens (lour.) merr*) Terhadap Gambaran Histopatologis Lambung Pada Tikus Galur *Sprague dawley*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Fathoni, Fajarrullah. 2008. Studi Kadar SGPT, SGOT dan Total Protein Pada Serum Darah Anjing Kampung (*Canis familiaris*) usia 3 dan 6 bulan. *Skripsi*. Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut pertanian bogor.
- Fawcett, D. W., M. D. 2002. *Buku Ajar Histologi, edisi VII, alih bahasa J. Tambayong*. Jakarta: Kedokteran EGC
- Flore, M. S. H. 1981. *Atlas of Human Histology, edisi V*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Fazri, Mohammad. 2015. *Jumlah spesies tumbuhan di Indonesia*. [Online]. Tersedia:<http://www.satwa.net/599/jumlah-spesies-tumbuhan-di-indonesia.html>. [21 Januari 2015]
- Firdaus, Gugum Indra. 2010. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Hepar Mencit Balb/C. *Artikel Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Kedokteran.
- Gayathramma.K, K.V. Pavani dkk. 2012. Chemical Constituents And Antimicrobial Activities Of Certain Plant Parts Of *Sauropus androgynus l*. India. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol 3, Issue 2, 561-566.
- Ganong, W.F. 2006. *Fisiologi Kedokteran Edisi 10*. Jakarta:EGC
- Ghoffar, Abdul. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 3*. Semarang: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Glenn and Susan Toole. 2004. *New Understanding Biology*. United Kingdom.
- Guyton, A.C.,Arthur C. 1990. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Alih Bahasa: Petrus Andriyanto. Jakarta: EGC.
- Guyton, A.C.,Arthur C. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, ed 6*. Jakarta: EGC.
- Harrison, longo L dkk. 2013. *Gastroentologi dan Hepatologi*. Jakarta:EGC.

- Hastuti, Sri Utami. 2006. Pengaruh Berbagai Dosis Citrinin Terhadap Kerusakan Struktur Hepatosit Mencit (*Mus musculus*) Pada Tiga Zona Lobulus Hepar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. XXII, No. 3.
- Hebel R. & Stromberg MW. 1989. *Anatomy Of The Laboratory Rat*. Baltimore: The Wiliam & Wilin Company.
- Hendriani, Rini. 2007. Uji Toksisitas Subkronis Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia linn.*) dan Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale rosc.*) Pada Tikus Wistar. *Karya Ilmiah Yang Tidak Dipublikasikan*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Hernawati. 2012. *Gambaran Efek Toksik Etanol Pada Sel Hati*. Bandung.
- Hikmah, Exma Mu'tatal. 2014. Pengaruh Ekstrak Air Daun Katu (*Sauropus androgynus (L) Merr*) Terhadap Berat Uterus Dan Tebal Endometrium Mencit (*Mus muusculus L.*) Premenopause. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Ibrahim Mansur, Akhyar Anwar dkk. 2012. Uji lethal dose 50% (LD<sub>50</sub>) polih herbal (*Curcuma xanthorriza*, *Kleinhovia hospita*, *Nigella sativa*, *Arcangelisia flava* dan *Ophiocephalus striatus*) pada heparmin® terhadap mencit (*Mus musculus*). *Research & Development PT Royal Medicalink Pharmalab*.
- Ismiyatun, Siti. 2006. Pengaruh Pemberian Ekstrak Sidaguri Terhadap Kadar Enzim AST dan ALT Pada Darah Tikus. *Skripsi Diterbitkan*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Isna, Prasetya. 2015. *Bilirubin total*. [Online]. Tersedia: <https://anisnurprasetya.wordpress.com/2013/04/24/dasar-teori-bilirubin/>. Html. [31 Maret 2015]
- Jauhari, Ahmad. 2015. Mewaspadaai toksisitas beracun. [Online]. Tersedia: [http://www.kompasiana.com/ahmad\\_jauhari/mewaspadaai-toksisitas-bahan-beracun\\_54ff7711a33311ea4a510454](http://www.kompasiana.com/ahmad_jauhari/mewaspadaai-toksisitas-bahan-beracun_54ff7711a33311ea4a510454). Html. [09 November 2015]
- Januar, Rahmawati, Yusfiati dan Fitmawati. 2014. Struktur Mikroskopis Hati Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Akibat Pemberian Ekstrak Tanaman *Tristaniopsis whiteana Griff*. *JOM FMIPA Volume 1 No. 2*.
- Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar Jilid 3*. Jakarta: Darus Sunnah.
- Jenova, Rika. 2009. Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan LD<sub>50</sub> Ekstrak Herba Putri Malu (*Mimosa pudica L.*) Terhadap Mencit Balb/C. *laporan Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

- Kee, Joyce LeFever. 2007. *Pedoman pemeriksaan laboratorium & diagnostik (Laboratory and diagnostic test with nursing implication)*. Jakarta:EGC.
- Lab, Value. 2014. *The Rat Fan Club*. [Online]. Tersedia: [http://www.ratfanclub.org/values. Html](http://www.ratfanclub.org/values.Html). [13 Juli 2015]
- Lenny, Sovia. 2006. Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoida dan Alkaloid. *Karya Ilmiah*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam: Universitas Sumatera Utara.
- Lestari, Cinthyarindi Tiffani. 2014. Konsentrasi Bilirubin, Aktivitas Aspartat Aminotransferase dan Alanin Aminotransferase Pada Anjing Yang Terinfeksi *Babesia Sp.* Kronis. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Leeson, C.R., T.S. Leeson & A.A. Paparo. 1996. *Buku ajar histology. Ed. Ke-5. Terj. dari Textbook of histology*, oleh Siswojo, S. K., J. Tambong., S. Wonodirekso., I.A. Suryono., R. Tanzil., R. Soeharto., S. Roewijoko., I. Goeritno & M. Martoprawiro. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lu, Frank C. 2010. *Toksikologi Dasar*. Jakarta: UI Press.
- Martini, Jovita Tri, Radestyia Triwibowo, Ninoek Indriati. 2010. Uji Toksisitas Sub Kronik *Spirulina platensis* Secara In-Vivo. Yogyakarta. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol. 5 No. 2*.
- Malole, MBM. 1989. Penggunaan hewan-hewan percobaan laboratorium. Departemen pendidikan dan kebudayaan direktorat jenderal pendidikan tinggi pusat antar universitas. Bogor:ITB.
- Maulina Nora, Gusbakti Rusip, Betty. 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Manggis (Garcinia mangostana L) terhadap Perubahan Kadar Enzim ALT, AST Hati Mencit Jantan (Mus musculus L) strain DDW setelah diberi Monosodium Glutamate (MSG) dibandingkan dengan Vitamin E*. Sumatera.
- Mitchell, R. N., Kumar, V., Abbas, A. K., dan Fausto, N. 2008. *Dasar Patologis Penyakit*. Jakarta:EGC.
- Nadhifah, Umi Hawwin. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centela asiatica*) Dosis Tinggi Sebagai Bahan Antifertilitas Terhadap Kadar Enzim GOT-GPT dan Gambaran Hitologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) Betina. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi: UIN Maliki Malang.
- Natalia, Eka Dessy. 2013. Uji Toksisitas Tepung Glukomanan (*Amorphophalus blume*) Dengan Penentuan LETHAL DOSE (LD<sub>50</sub>) Dan Pengaruhnya Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus Wistar. *Skripsi*. Malang: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.

- Nilandari, Rigina. 2006. Toksisitas Ekstrak *Ganoderma lucidum* Terhadap Hepar Dengan Melihat Kadar Bilirubin Serum Tikus Wistar. *Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Nirwana, Galuh Iman. 2014. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Sel Hepar Tikus (*Rattus novvergicus*) Galur Wistar. *Tugas akhir*. Fakultas kedokteran: Universitas Brawijaya Malang.
- Panjaitan, Ganda Putri Ruqiah dkk. 2007. Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus. Pontianak. *Makara kesehatan, Vol. 11, No. 1, 11-16*.
- Panjaitan, Ganda Putri Ruqiah dkk. 2011. Pengaruh pemberian akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) pada fungsi hepar. Pontianak. *Majalah Farmasi Indonesia, 22(1), 15 – 20*
- Parnayoga, I Wayan Widi. 2012. Studi Kasus Pencitraan Sonogram Kelainan Organ Hati Dan Kantung Empedu Anjing (*Canis lupus*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Pradana Hadi Nur. 2007. Pengaruh Pemberian Teh Hijau Terhadap Kadar Total Bilirubin Serum Tikus Wistar Yang Diberi Kloramfenikol. *Artikel Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Pradikta, Rona Wila, Osfar Sjojfan dan Irfan H.Djunaidi. 2012. *Effect Of Katuk Wheat Leaves (Sauropus androgynus l.merr) Feeding On Blood Profile Of Lactating Period New Zealand White Rabbit*. Malang.
- Praptiwi, Dewi dkk. 2010. Efek Toksisitas Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* Linn.) Pada Organ Dan Mencit (*Mus musculus*). *Majalah Farmasi Indonesia, XXI(1)*.
- Prasetiawan1, Eka, Emita Sabri dan Syafruddin Ilyas. 2014. Gambaran Histologis Hepar Mencit (*Mus musculus* L.) Strain Ddw Setelah Pemberian Ekstrak N-Heksan Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Selama Masa Pra Implantasi dan Pasca Implantasi. Fakultas MIPA: Universitas Sumatera Utara
- Price S. A., Wilson L. M. 1994. *Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-proses Penyakit. Edisi 4*. Jakarta: EGC
- Prieto Pilar, Cecilia Clemedson dkk. 2010. *Subacute and subchronic toxicity*. Austria.
- Prishandono. 2009. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Dan Fraksi Daun Katuk (Sauropus androgynous) Terhadap Involusi Uterus Tikus (Rattus norvegicus)*. ITB.

- Rahayu, Aji dkk. 2007. Studi Frekuensi Penggorengan Dari Minyak Jelantah Bermerek Dan Tidak Bermerek Terhadap Nekrosis Sel Hati. *Karya ilmiah*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahman, Abdul S dan Kosim M. Sholeh *et, al.* 2008. *Hiperbilirubinemia: Buku Ajar Neonatologi Edisi pertama*. Jakarta: Badan Penebit IDAI.
- Ressang,A.A. 1984. *Patologi khusus veteriner*. Ed. Ke-2. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Institut Technology Bandung, Bandung
- Sa'roni, Tonny Sadjimin dkk. 2004. Effectiveness of the *Sauropus androgynus (L.) merr* Leaf Extract In Increasing Mother's Breast Milk Production. *Media Litbang Kesehatan Volume XIV Nomor 3:21-24*.
- Sani, Robby Nasrul. 2013. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas (LD<sub>50</sub>) Ekstrak Mikroalga (*Tetraselmis chuil*) Terhadap Hati Tikus Wistar Secara IN VIVO. *Skripsi*. Malang: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Sanjayasari, Dyahruri, Wiranda dkk. 2011. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynous (L.) Merr.*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina*: Potensi Fitofarmaka Pada Ikan. Bogor. *Berkala Perikanan Ternak. Vol.39, No.1:91-100*.
- Sari, Mulya Rusyda. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Dan Fraksi Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr*) Terhadap Involusi Uterus Tikus (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Sari, Permata Wulan. 2010. Uji Toksisitas Akut Campuran Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle L.*) Dan Ekstrak Kering Gambir (*Uncaria gambir R.*) Terhadap Mencit Putih Jantan. *Skripsi*. Tangerang: Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Sarjadi. 2003. *Patologi Umum*. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Sawitri. 2009. Hubungan Gambaran Histopatologis, Kadar Beberapa Enzim Hepar, Kadar Bilirubin Hepar Tikus Wistar Yang Diberi Ekstrak *Ganoderma lucidum*. *Artikel Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Shihab, M.Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.

- Simamora, A. 2009. *Flavonoid Dalam Apel Dan Aktifitas Antioksidannya*. Jakarta: UKRIDA.
- Stockham SL, Scott MA. 2008. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Ames (USA): Balckwell Publishing.
- Suprayogi A. 2000. *Studies of the biological effect of Sauropus androgynus (L)Merr.: Effect of milk production and the possibilities of induced pulmonary Disorder in lactating sheep*. Cuvillier Verlag Gottingen. Germany.
- Suprayogi Agik. 2012. Peran Ahli Fisiologi Hewan Dalam Mengantisipasi Dampak Pemanasan Global Dan Upaya Perbaikan Kesehatan Dan Produksi Ternak. *Orasi Ilmiah*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Syahrudin. 2013. Penentuan aktivitas enzim SGOT dan SGPT pada hewan uji kelinci yang telah diberi ekstrak tiram asal pantai takalar Sulawesi selatan. *Seminar nasional kefarmasian*.
- The Organization of Economic Co-operation and Development (OECD). 2001. *The OECD for testing of chemicals acute oral toxicity – fixed dose procedure*. England.
- Trilaksani, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, sumber, mekanisme kerja dan peran terhadap kesehatan*. Term paper Introductory Science Philosophy (PPS702). IPB.
- Utamaningrum, Febriani. 2011. Pengaruh Pemberian Yoghurt Kedelai Hitam (*Black Soyoghurt*) Terhadap Kadar Kolesterol LDL Serum Pada Tikus Displidemia. *Artikel penelitian*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Wahyudi, beta. 2007. Pengaruh Pemberian Jus Lalapan Terhadap Perbaikan Kerusakan Hati dan Peningkatan Kadar Bilirubin Direk dan Total Serum Mencit Jantan Galur Swiss Derived yang Diberi Diet Tambahan Minyak Goreng Bekas Pakai. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran: Universitas Jember.
- Wijayanti lilik. 2011. Pengaruh Akuapunktur Titik Paravertebra Vth VIII-X terhadap Kadar Bilirubin Total dan Albumin pada Kelinci yang Diinduksi Asetaminofen. Surakarta. *Maj Kedokt Indon, Vol: 61, No:3, 113-118*.
- Winarsi, Hery. 2005. *Isoflavon: Berbagai Sumber, Sifat, Dan Manfaatnya Pada Penyakit Degeneratif*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Wiradimadja, Rachmat. 2010. *Potensi Tanaman Katuk (Sauropus androgynus l. Merr) Untuk Meningkatkan Kualitas Intensitas Warna Kuning Telur*. Padjajaran. Lokakarya Nasional Pengembangan Jejaring Litkaji Sistem Integrasi Tanaman – Ternak.

Wulandari, Tri, Marti Harini, dan Shanti Listyawati. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Diazinon. *Bioteknologi 4 (2)*: 53-58.

Qurthubi, Syaikh Imam. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.

Yakubu, Toyin Musa dan Isah Fakai Musa. 2012. Liver and Kidney Functional Indices of Pregnant Rats Following the Administration of the Crude Alkaloids from *Senna alata* (Linn. Roxb) Leaves. *Iranian Journal of Toxicology. Volume 6, No 16*.

Yatim, Wildan. 1996. *Biologi Modern Histologi*. Bandung: Tarsito.



## LAMPIRAN

### LAMPIRAN 1. Dokumentasi Penelitian

#### 1. Aklimatisasi dan Penimbangan Tikus



## 2. Pengenceran Ekstrak Air Daun Katuk



### 3. Penyondean dan Pembedahan Tikus



**Lampiran 2: Perhitungan Luas Vena Sentralis Hepar**

P0.1			P0.2			P0.3		
Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis
270.2	135.1	57311.31	270.4	135.2	57396.18	263.5	131.75	54504.31
137.3	68.65	14798.26	127.5	63.75	12761.15	263.9	131.95	54669.91
219.3	109.65	37752.60	133.1	66.55	13906.75	266.2	133.1	55627.01
427.9	213.95	143732.25	186.6	93.3	27333.35	275.5	137.75	59581.69
390.8	195.4	119888.84	293.4	146.7	67575.59	287.5	143.75	64885.15
180.5	90.25	25575.49	144.8	72.4	16459.12	215.5	107.75	36455.59
293.9	146.95	67806.10	143.7	71.85	16210	227.2	113.6	40521.57
564.5	282.25	250148.29	110.3	55.15	9550.38	142.1	71.05	15851.04
196	98	30156.56	268.7	134.35	56676.75	241.3	120.65	45707.16
237.8	118.9	44390.83	298.8	149.4	70085.93	163.8	81.9	21061.89
<b>Rerata</b>		79156.05	<b>Rerata</b>		34795.52	<b>Rerata</b>		44886.53

P0.4			P0.5			P0.6		
Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis
235.2	117.6	43425.44	283.5	141.75	63092.21	190.6	95.3	28517.76
200.4	100.2	31525.72	195.6	97.8	30033.59	182.1	91.05	26030.92
228.4	114.2	40950.74	266.9	133.45	55919.95	319.3	159.65	80032.70
235.4	117.7	43499.33	272.3	136.15	58205.62	197.5	98.75	30619.90
328.1	164.05	84504.94	177.7	88.85	24788.17	237.4	118.7	44241.62
179.2	89.6	25208.42	170.9	85.45	22927.34	191.1	95.55	28667.57
448.5	224.25	157904.51	190.1	95.05	28368.33	249.6	124.8	48905.62
287.5	143.75	64885.15	287	143.5	64659.66	190.4	95.2	28457.94
214.6	107.3	36151.73	274.5	137.25	59149.94	163.1	81.55	20882.26
234	117	42983.46	159.2	79.6	19895.54	310.6	155.3	75730.80
<b>Rerata</b>		57103.94	<b>Rerata</b>		42704.04	<b>Rerata</b>		41208.71
P1.1			P1.2			P1.3		
Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis
106.8	53.4	8953.89	271.1	135.55	39115.12	150.4	75.2	17756.82
124	62	12070.16	182	91	41603.74	286.4	143.2	64389.59
218.1	109.05	37340.57	327.1	163.55	59109.26	181.4	90.7	25831.17
209.5	104.75	34453.84	264.3	132.15	58789.56	186.2	93.1	27216.29
127.7	63.85	12801.22	261.7	130.85	42583.64	187.3	93.65	27538.81
206.8	103.4	33571.49	149.3	74.65	12938.94	92.3	46.15	6687.64
235.4	117.7	43499.33	277.5	138.75	40779.18	149.8	74.9	17615.43
206.3	103.15	33409.35	343.6	171.8	71153.72	214.6	107.3	36151.73
665.8	332.9	347982.36	127.7	63.85	11367.73	227.7	113.85	40700.12
226.1	113.05	40130.14	188.6	94.3	25672.04	225.6	112.8	39952.85
<b>Rerata</b>		60421.24	<b>Rerata</b>		40339.19	<b>Rerata</b>		30384.04

P1.4			P1.5			P1.6		
Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis
436.2	218.1	149362.29	153.3	76.65	18448.19	188.6	94.3	27922.41
363.2	181.6	103552.67	210.6	105.3	34816.60	206.8	103.4	33571.49
392.4	196.2	120872.54	222.3	111.15	38792.57	218.4	109.2	37443.36
402.6	201.3	127238.10	114.5	57.25	10291.54	201.9	100.95	31999.43
346.1	173.05	94031.38	324	162	82406.16	165.6	82.8	21527.33
398.2	199.1	124472.14	201.9	100.95	31999.43	189.1	94.55	28070.66
189.1	94.55	28070.66	165.6	82.8	21527.3	186.2	93.1	27216.29
135.7	67.85	14455.37	228.3	114.15	40914.89	261.7	130.85	53762.20
220.3	110.15	38097.69	208	104	33962.24	127.7	63.85	12801.22
382.5	191.25	114850.40	227.4	113.7	40592.94	206.2	103.1	33376.97
<b>Rerata</b>		91500.32	<b>Rerata</b>		35375.19	<b>Rerata</b>		30769.14
P2.1			P2.2			P2.3		
Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis
151.3	75.65	17969.97	143.1	71.55	16074.92	192.7	96.35	29149.63
312.3	156.15	76562.06	249.5	124.75	48866.44	126.7	63.35	12601.51
167.7	83.85	22076.78	171	85.5	22954.18	197	98.5	30465.06
165	82.5	21371.62	201.5	100.75	31872.76	197.3	98.65	30557.92
318.8	159.4	79782.25	298.7	149.35	70039.02	143.1	71.55	16074.92
323.7	161.85	82253.62	191.6	95.8	28817.78	205.7	102.85	33215.30
325.3	162.65	83068.77	105.6	52.8	8753.81	190.9	95.45	28607.60
165.2	82.6	21423.46	240.3	120.15	45329.11	181.2	90.6	25774.25
237.6	118.8	44316.20	297.9	148.95	69664.36	107	53.5	8987.46
165.2	82.6	21423.46	148.6	74.3	17334.33	766.5	383.25	461204.96
<b>Rerata</b>		47024.82	<b>Rerata</b>		35970.67	<b>Rerata</b>		67663.86

P2.4			P2.5			P2.6		
Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis
194.5	97.25	29696.74	392.3	196.15	75325.6	144.6	72.3	16413.69
338.6	169.3	90000.21	168	84	190382	288.8	144.4	65473.27
263.6	131.8	54545.69	725.4	362.7	98298.72	539.8	269.9	228736.47
228.9	114.45	41130.23	412.3	206.15	103310.8	134.7	67.35	14243.11
318	159	79382.34	382.5	191.25	71342.37	110.3	55.15	9550.38
107.1	53.55	9004.27	373.8	186.9	73710.37	106.5	53.25	8903.66
174.6	87.3	23930.85	146.7	73.35	24598.07	227.9	113.95	40771.65
400.2	200.1	125725.63	417.9	208.95	83784.35	156.4	78.2	19201.85
388.8	194.4	118664.87	328.4	164.2	68418.53	144.6	72.3	16413.69
148.9	74.45	17404.39	401.2	200.6	81569.98	134.7	67.35	14243.11
<b>Rerata</b>		58948.52	<b>Rerata</b>		87074.11	<b>Rerata</b>		43395.08
P3.1			P3.2			P3.3		
Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis
259.2	129.6	52739.94	281.6	140.8	74805.35	288.9	144.45	71392.39
292.7	146.35	67253.53	179.9	89.95	30475.6	282.7	141.35	54769.73
174.5	87.25	23903.44	319	159.5	57445.2	514.9	257.45	228451.9
236.2	118.1	43795.49	308.9	154.45	53201.54	331.1	165.55	91905.41
230.3	115.15	41634.9	232.3	116.15	53758.4	266.9	133.45	71151.8
278.2	139.1	60755.26	174.5	87.25	58601.11	137.9	68.95	17839.85
157.3	78.65	19423.48	230.3	115.15	71337.96	229.6	114.8	46825.31
211.4	105.7	35081.61	216.7	108.35	68554.13	137.9	68.95	17839.85
230.3	115.15	41634.9	170.1	85.05	24622.66	266.9	133.45	71151.8
174.5	87.25	23903.44	156.4	78.2	29490.31	282.7	141.35	54749.73
		41012.6			52229.23			72609.77

<b>P3.4</b>			<b>P3.5</b>			<b>P3.6</b>		
Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis	Diameter (D)	Jari-jari (r)	Luas vena sentralis
235.8	117.9	43647.28	231.9	115.95	42215.42	235.8	117.9	43647.28
200.6	100.3	31588.68	265.6	132.8	55376.53	428.6	214.3	144202.89
428.6	214.3	144202.89	214.1	107.05	35983.46	282.7	141.35	62736.64
209.1	104.55	34322.4	265.3	132.65	55251.51	185.8	92.9	27099.48
216.7	108.35	36862.72	258.9	129.45	52617.92	170.1	85.05	22713.19
778	389	475147.94	438	219	150597.54	798	399	499891.14
151.9	75.95	18112.78	257.1	128.55	51888.82	173.6	86.8	23657.51
150.5	75.25	17780.44	274.8	137.4	59279.3	494.6	247.3	192033.89
140.8	70.4	15562.34	223	111.5	39037.26	159.7	79.85	20020.71
137.9	68.95	14927.88	197.3	98.65	30557.92	151.1	75.55	17922.49
Rerata		83215.53	Rerata		57280.57	Rerata		105392.52



**Lampiran 3.** Hasil Analisis Statistik tentang Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Histologi Luas Vena Sentralis Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

**I. Analisis Statistik Seluruh Kelompok**

**A. Uji Normalitas dengan Kolmogrov Smirnov Test**

		Perlakuan	Ulangan	Vena
N		24	24	24
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.50	3.50	5.5238E4
	Std. Deviation	1.142	1.745	2.0335E4
Most Extreme Differences	Absolute	.169	.138	.157
	Positive	.169	.138	.157
	Negative	-.169	-.138	-.111
Kolmogorov-Smirnov Z		.829	.678	.768
Asymp. Sig. (2-tailed)		.498	.748	.596

a. Test distribution is Normal.

**B. Uji Homogenitas Lavene**

**Test of Homogeneity of Variances**

Vena

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.300	3	20	.825

**C. One Way Anova**

Vena

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.140E9	3	3.800E8	.908	.455
Within Groups	8.371E9	20	4.186E8		
Total	9.511E9	23			

**Lampiran 4.** Hasil Analisis Statistik tentang Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Persentase Kerusakan Sel Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

**I. Analisis Statistik Seluruh Kelompok**

**A. Uji Normalitas dengan Kolmogrov Smirnov Test**

		Perlakuan	Ulangan	H.normal	D.parenkim
N		24	24	24	24
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.50	3.50	74.25	3.8008
	Std. Deviation	1.142	1.745	12.116	3.22599
Most Extreme Differences	Absolute	.169	.138	.194	.184
	Positive	.169	.138	.097	.184
	Negative	-.169	-.138	-.194	-.167
Kolmogorov-Smirnov Z		.829	.678	.951	.900
Asymp. Sig. (2-tailed)		.498	.748	.326	.393

a. Test distribution is Normal.

**B. Uji Homogenitas Lavene**

**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
H.normal	1.265	3	20	.313
D.parenkim	1.129	3	20	.361
D.hidropik	2.057	3	20	.138
Nekrosis	2.570	3	20	.083

**C. One Way Anova**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
H.normal	Between Groups	2184.833	3	728.278	12.223	.000
	Within Groups	1191.667	20	59.583		
	Total	3376.500	23			
D.parenkim	Between Groups	2.927	3	.976	.083	.969
	Within Groups	236.434	20	11.822		
	Total	239.361	23			
D.hidropik	Between Groups	203.017	3	67.672	3.781	.027
	Within Groups	357.949	20	17.897		
	Total	560.966	23			
Nekrosis	Between Groups	1065.745	3	355.248	4.897	.010
	Within Groups	1450.886	20	72.544		
	Total	2516.631	23			

### D. Post Hoc Test

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
H.normal	Kontrol	6	84.67	4.546	1.856	79.90	89.44	79	90
	Dosis 45mg/KgBB	6	81.83	3.869	1.579	77.77	85.89	76	87
	Dosis 60mg/KgBB	6	69.50	7.791	3.181	61.32	77.68	62	83
	Dosis 75mg/kgBB	6	61.00	11.916	4.865	48.49	73.51	44	80
	Total	24	74.25	12.116	2.473	69.13	79.37	44	90
D.parenkim	Kontrol	6	3.3933	1.89186	.77235	1.4079	5.3787	.86	6.28
	Dosis 45mg/KgBB	6	3.5317	1.88787	.77072	1.5505	5.5129	1.41	5.86
	Dosis 60mg/KgBB	6	4.0383	3.58319	1.46283	.2780	7.7987	.69	10.70
	Dosis 75mg/kgBB	6	4.2400	5.22537	2.13325	-1.2437	9.7237	.86	14.67
	Total	24	3.8008	3.22599	.65850	2.4386	5.1630	.69	14.67
D.hidropik	Kontrol	6	1.2733	1.16395	.47518	.0518	2.4948	.00	2.95
	Dosis 45mg/KgBB	6	4.7683	3.02246	1.23391	1.5965	7.9402	1.45	9.00
	Dosis 60mg/KgBB	6	8.1200	5.40427	2.20628	2.4486	13.7914	.87	17.00
	Dosis 75mg/kgBB	6	8.4433	5.64744	2.30556	2.5167	14.3700	3.79	18.96
	Total	24	5.6512	4.93860	1.00809	3.5659	7.7366	.00	18.96
Nekrosis	Kontrol	6	10.6667	5.50151	2.24598	4.8932	16.4402	4.00	19.00
	Dosis 45mg/KgBB	6	9.8667	2.98105	1.21701	6.7382	12.9951	5.00	12.70
	Dosis 60mg/KgBB	6	18.3417	5.61909	2.29398	12.4448	24.2385	9.99	25.70
	Dosis 75mg/kgBB	6	26.3167	14.81383	6.04772	10.7705	41.8628	2.00	46.30
	Total	24	16.2979	10.46034	2.13521	11.8809	20.7149	2.00	46.30

### E. Homogenous Subsets

#### H.normal

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Dosis 75mg/kgBB	6	61.00	
Dosis 60mg/KgBB	6	69.50	
Dosis 45mg/KgBB	6		81.83
Kontrol	6		84.67
Sig.		.071	.532

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

#### D.hidropik

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol	6	1.2733	
Dosis 45mg/KgBB	6	4.7683	4.7683
Dosis 60mg/KgBB	6		8.1200
Dosis 75mg/kgBB	6		8.4433
Sig.		.168	.169

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### Nekrosis

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Dosis 45mg/KgBB	6	9.8667	
Kontrol	6	10.6667	
Dosis 60mg/KgBB	6	18.3417	18.3417
Dosis 75mg/kgBB	6		26.3167
Sig.		.118	.121

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



**Lampiran 5.** Hasil Analisis Statistik tentang Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin *Direct* Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

**I. Analisis Statistik Seluruh Kelompok**

**A. Uji Normalitas dengan Kolmogorov Smirnov Test**

		Perlakuan	Ulangan	Direct Bilirubin
N		24	24	24
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.50	3.50	.3258
	Std. Deviation	1.142	1.745	.10240
Most Extreme Differences	Absolute	.169	.138	.100
	Positive	.169	.138	.079
	Negative	-.169	-.138	-.100
Kolmogorov-Smirnov Z		.829	.678	.488
Asymp. Sig. (2-tailed)		.498	.748	.971

a. Test distribution is Normal.

**B. Uji Homogenitas Lavene**

**Test of Homogeneity of Variances**

Direct Bilirubin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.884	3	20	.466

**C. One Way Anova**

Direct Bilirubin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.105	3	.035	5.173	.008
Within Groups	.136	20	.007		
Total	.241	23			

### D. Post Hoc Test

Direct Bilirubin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	6	.2600	.05441	.02221	.2029	.3171
Dosis 45mg/KgBB	6	.2633	.07789	.03180	.1816	.3451
Dosis 60mg/KgBB	6	.3667	.09913	.04047	.2626	.4707
Dosis 75mg/kgBB	6	.4133	.09114	.03721	.3177	.5090
Total	24	.3258	.10240	.02090	.2826	.3691

### E. Homogenous Subset

Direct Bilirubin

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01	
		1	2
Kontrol	6	.2600	
Dosis 45mg/KgBB	6	.2633	
Dosis 60mg/KgBB	6	.3667	.3667
Dosis 75mg/kgBB	6		.4133
Sig.		.045	.338

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**JURUSAN BIOLOGI**  
Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341)558933, Fax. (0341) 558933 Malang

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Ariek Difa Rofiqoh  
NIM : 11620020  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil TA 2014/2015  
Pembimbing : Dr. Retno Susilowati, M. Si  
Judul Skripsi : Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin Serum Dan Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	15 Januari 2015	Konsultasi Topik	1.
2.	22 Januari 2015	Konsultasi Topik dan Judul	2.
3.	5 Februari 2015	Konsultasi Latar Belakang	3.
4.	12 Februari 2015	Konsultasi Latar Belakang	4.
5.	19 Februari 2015	Konsultasi Bab I	5.
6.	26 Februari 2015	Konsultasi Bab I	6.
7.	5 Maret 2015	Konsultasi Bab II	7.
8.	12 Maret 2015	Konsultasi Bab I, II	8.
9.	19 Maret 2015	Konsultasi Bab III	9.
10.	26 Maret 2015	Konsultasi Bab III	10.
11.	09 April 2015	Konsultasi Bab I,II,III	11.
12.	21 April 2015	Acc Bab I,II,III	12.
13.	30 Mei 2015	Perhitungan Dosis EDK	12.
14.	07 Mei 2015	Konsultasi Metode Uji Toksisitas Subkronik	13.
15.	04 Juni 2015	Penelitian	14.
16.	11 Juli 2015	Pembedahan	15.
17.	10 September 2015	Konsultasi Data Bilirubin direct Serum dan Histologi Hepar	16.



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341)558933, Fax. (0341) 558933 Malang

18.	17 September 2015	Konsultasi Pembahasan	18. <i>[Signature]</i>
19.	24 September 2015	Konsultasi Pembahasan	19. <i>[Signature]</i>
20.	01 September 2015	Konsultasi Pembahasan	20. <i>[Signature]</i>
21.	21 Oktober 2015	Acc Bab IV, V dan Abstrak	21. <i>[Signature]</i>
22.	27 Oktober 2015	Acc Skripsi	22. <i>[Signature]</i>

Malang, 6 November 2015  
Ketua Jurusan,



*[Signature]*  
**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P**  
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341)558933, Fax. (0341) 558933 Malang

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Ariek Difa Rofiqoh  
NIM : 11620020  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil TA 2014/2015  
Pembimbing : Umayyatus Syarifah, M. A  
Judul Skripsi : Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Saoropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin Serum Dan Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	26 Maret 2015	Konsultasi Bab I, II, III	1. /
2.	09 April 2015	Konsultasi Bab I, II, III	2. /
3.	15 Oktober 2015	Konsultasi Bab I, II, III, IV	3. /
4.	27 Oktober 2015	Acc Skripsi	4. /

Pembimbing Skripsi,

**Umayyatus Syarifah, M. A**  
NIP. 19820925 200901 2 005

Malang, 6 November 2015  
Ketua Jurusan,



**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P**  
NIP. 19741018 200312 2 002