



**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI METANOL BIJI SAGA
(*Abrus precatorius*) DENGAN FRAKSI KLOOROFORM BIJI PEPAYA (*Carica
papaya*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS JANTAN**

SKRIPSI

Oleh

Fathimah Azzahrotul Maulidiyah

NIM.112210101067

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015



**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI METANOL BIJI SAGA
(*Abrus precatorius*) DENGAN FRAKSI KLOROFORM BIJI PEPAYA
(*Carica papaya*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS
JANTAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Sarjana Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Fathimah Azzahrotul Maulidiyah

NIM.112210101067

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk

1. Ayah dan Ummi saya, Akhmad Fudil dan Siti Khatijah yang telah menyayangi dan membesarkan saya dengan penuh kasih sayang, kesabaran, kerja keras dan berkat doa beliau, skripsi ini dapat diselesaikan;
2. Adik saya Ana Qoriah Masyuda dan Mohammad Ali Akbar, dengan kasih sayang, motivasi dan doa, skripsi ini dapat diselesaikan.
3. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi, yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya dengan rasa sabar;
4. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama
kesulitan ada kemudahan ”*

(terjemahan Surat Asy-syarh: 5-6)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Fathimah Azzahrotul Maulidiyah

NIM : 11221010107

menyatakan bahwa dalam skripsi saya yang berjudul: **“Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius*) dengan Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Histopatologi Hati pada Tikus Jantan”** adalah benar-benar hasil penelitian dan karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 15 April 2015

Yang Menyatakan,

Fathimah Azzahrotul

Maulidiyah

NIM 112210101067

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI METANOL BIJI SAGA
(*Abrus precatorius*) DENGAN FRAKSI KLOOROFORM BIJI PEPAYA (*Carica
papaya*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS JANTAN**

Oleh

Fathimah Azzahrotul Maulidiyah

NIM. 112210101067

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul **“Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius*) dengan Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Histopatologi Hati pada Tikus Jantan”** telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 7 Mei 2015

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt

NIP. 197305132005012001

Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt

NIP. 197812212005012002

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., Apt.,

M.Farm

NIP. 198204152006042002

Lusia Oktora Ruma Kumala Sari SF.,

M.Sc., Apt

NIP. 197910032003122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius*) dengan Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Histopatologi Hati pada Tikus Jantan; Fathimah Azzahrotul Maulidiyah, 112210101067, 2015 : 68 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki jumlah penduduk terbesar di dunia. Hal ini karena tingginya laju pertumbuhan penduduk di Indonesia. Laju pertumbuhan penduduk warga Indonesia sebesar 1,49 % setiap tahun. Bila saat ini jumlah penduduk di Indonesia 240 juta jiwa, diperkirakan terjadi penambahan 10.000 bayi lahir setiap hari. Laju pertumbuhan penduduk yang tinggi tersebut akan mempengaruhi tingkat kehidupan dan kesejahteraan penduduk. Hal ini yang memicu pemerintah Indonesia mencanangkan program untuk membatasi pertumbuhan penduduk. Salah satunya dengan KB dan kontrasepsi. Kontrasepsi pria yang umum digunakan saat ini adalah kondom dan vasektomi. Kedua kontrasepsi tersebut memiliki kelemahan antara lain, kontrasepsi kondom memberikan ketidaknyamanan pada pasangan, vasektomi menyebabkan terjadinya gangguan pada imunoglobulin. Oleh karena itu diperlukan alat kontrasepsi yang memenuhi syarat-syarat antara lain: dapat menimbulkan keadaan azoospermia total, mudah digunakan, tidak menimbulkan efek samping dan efek toksik, tidak mengganggu libido maupun perilaku seksual serta bersifat *reversible*. Berdasarkan alasan tersebut maka dikembangkan alternatif kontrasepsi pria dari bahan herbal. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa tanaman yang dapat digunakan sebagai kontrasepsi adalah biji pepaya (*Carica papaya* Linn) dan biji saga (*Abrus precatorius*).

Pada penelitian ini kedua tanaman tersebut dikombinasikan dan diteliti bagaimana pengaruhnya terhadap histopatologi hati. Hati merupakan organ penting dalam tubuh manusia. Terkait dengan penggunaan tanaman tersebut, harus diperhatikan juga ada tidaknya pengaruh toksik di dalamnya. Kedua tanaman tersebut dikombinasikan dan diberikan pada tikus berkelamin jantan galur

Wistar, berat badan 200-250 gram berumur 2-3 bulan yang terbagi atas 1 kelompok kontrol yang diberi perlakuan dengan suspensi Na-CMC 1 % dan 4 kelompok perlakuan dengan kombinasi dosis fraksi metanol biji saga : fraksi kloroform biji pepaya masing-masing adalah 75 mg/kg BB : 100 mg/kg BB; 50 mg/kg BB : 100 mg/kg BB; 75 mg/kg BB : 50 mg/kg BB; 50 mg/kg BB : 50 mg/kg BB, masing masing sebanyak 5 ekor tikus. Perlakuan dilakukan selama 28 hari kemudian 5 ekor tikus dari masing-masing kelompok dibedah untuk pengambilan organ hati untuk memperoleh hasil gambaran histopatologi, yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dengan fraksi kloroform biji pepaya terhadap histopatologi hati pada tikus jantan.

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji statistik non-parametrik menggunakan uji *Kruskall-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui efek kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dengan perbandingan dosis yang telah ditentukan terhadap gambaran histopatologi hati tikus jantan. Kemudian digunakan uji Mann-whitney untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan. Gambaran histopatologi hati dianalisis secara deskriptif kemudian diklasifikasikan menurut Metode *Knodell score*.

Hasil skor kerusakan hati tiap kelompok diketahui skor kelompok P0, P1, P2, P3 dan P4 berturut-turut adalah 1, 2, 1, 1 dan 1. Hasil uji *Kruskall-Wallis* memperlihatkan nilai signifikansi pada total kerusakan hati $p = 0,045$ ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil uji Mann Whitney diperoleh nilai $p < 0,05$ untuk kelompok P1 terhadap P0 dengan signifikansi 0,014. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan kombinasi fraksi metanol biji saga dengan fraksi kloroform biji pepaya tidak terjadi kerusakan yang bersifat *irreversible*, dan kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB memiliki kerusakan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain.

PRAKATA

Alhamdulillah Robbil'alamin, Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius*) dengan Fraksi Kloroform Biji Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Histopatologi Hati pada Tikus Jantan”**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan selesai tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Allah Yang Maha Esa atas semua karunia yang telah diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Diana Holiday S.F., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktunya, selalu sabar memberikan arahan dan bimbingan serta motivasi dalam membimbing penulis selama menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Penguji I dan Ibu Lusya Oktora Ruma Kumala Sari SF., M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan masukan untuk perbaikan skripsi ini.
5. Bapak Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mengajarkan ilmu pengetahuan yang berguna dalam menyelesaikan skripsi.
6. Kepala Laboratorium Biologi dan Biomedik Universitas Jember beserta staf atas bantuan dan kerjasamanya
7. Kedua orang tua penulis tersayang, Akhmad Fudil dan Siti Khatijah serta adik Ana Qoriah Masyhuda dan Mohammad Ali Akbar dan tante Ummu Aisyah yang selalu memberikan kasih sayang, doa, nasehat, serta atas kesabarannya yang luar

biasa dalam setiap langkah hidup penulis, yang merupakan anugrah terbesar dalam hidup.

8. Sahabat terbaik Ulfatin Mufarrihah, Raehana Astriani, Ani Mubayyinah, Liyas Atika P, Dhitya Sagita R, Rahmah Pravitasari, Liza Fairus, Nurul Aini, Dewi Citrasari P, Elly Febri T, yang selalu mendampingi dan menghibur penulis hingga skripsi ini diselesaikan, terima kasih atas doa dan *support*-nya. Semoga segala jejak citamu tercapai nyata semoga persahabatan kita tetap ada selamanya;
9. Tim Antifertilitas Rahmah Pravitasari, Zaenah Rajab, Ratih Iman S, Sekar Arum P, yang selalu mendampingi penulis selama penelitian hingga skripsi ini diselesaikan.
10. Teman-teman putri melati Yuniar Wahyu R, Lita Rachmawati, Dwi Betari K, Eria Latifa I, Intan Permata, Diyah Natalia A, Tria Pitoyo, Prisma, Anggar, Nora, Tryas, Dyas, Lely yang terus memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
11. Keluarga Asmef (Farmasi UJ 2011) terima kasih atas kebersamaan dan bantuan selama saya menempuh kuliah sampai akhirnya selesai mengerjakan skripsi.
12. Teman-teman KKN kelompok 10 Yuliatin, Rahma Nadia, Debby Yolanda S, Rian Renata, Herwin Apri A, Nopian Tryambodo, Rizky Bagus P, Ivan Dwiki R, Arum Seto P, terimakasih atas kebersamaan dan canda tawa selama ini.
13. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 15 April 2015

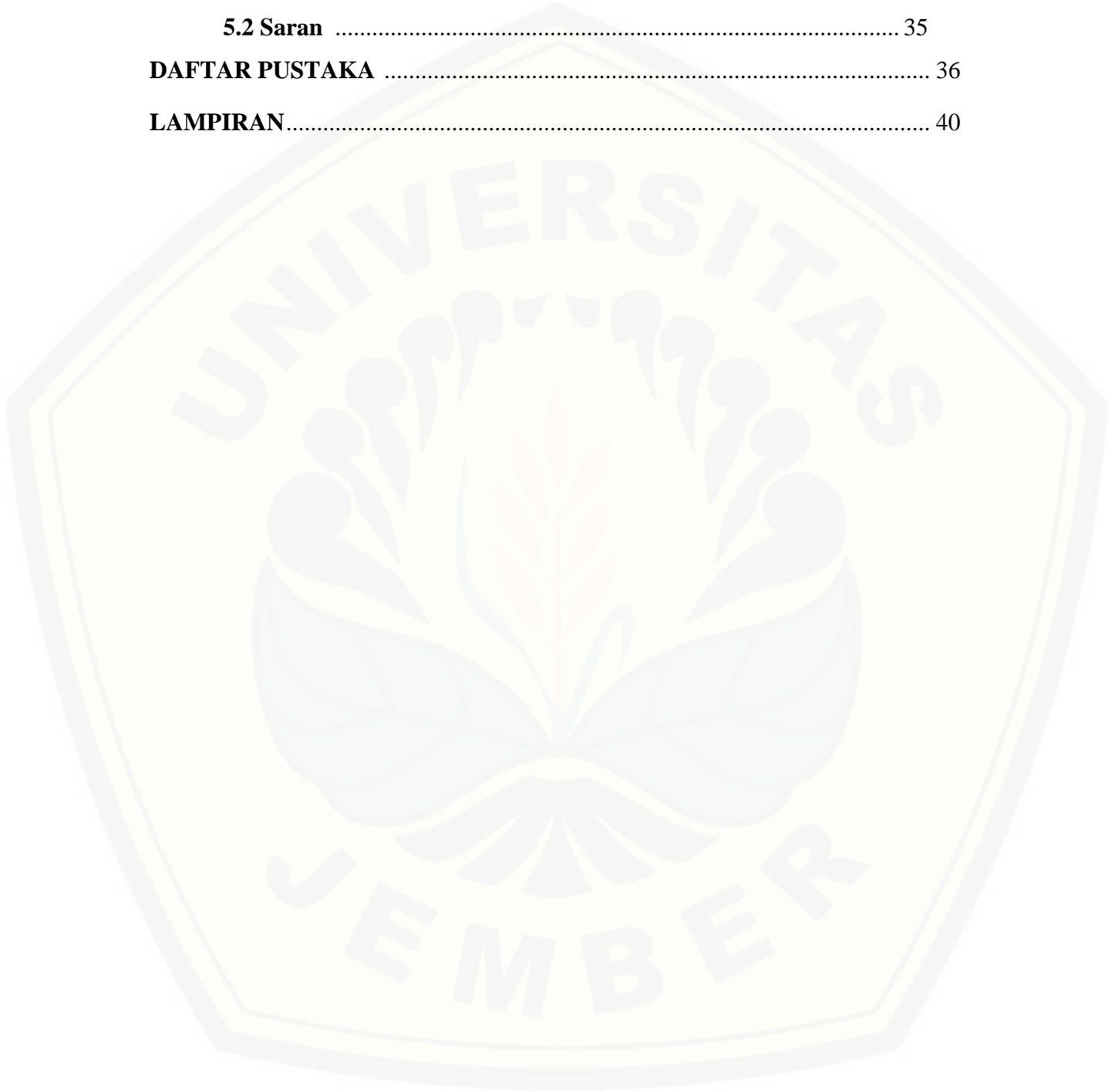
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pepaya	5
2.1.1 Deskripsi Pepaya	5
2.1.2 Kandungan Aktif Biji Pepaya	6
2.2 Saga	6
2.2.1 Deskripsi Saga	6
2.2.2 Kandungan Kimia Saga	7
2.3 Toksisitas	8
2.4 Histopatologi	10
2.5 Hati	11

2.5.1 Anatomi Hati	11
2.5.2 Fisiologi Hati	12
BAB 3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Jenis Penelitian	15
3.2 Rancangan Penelitian	15
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.4 Variabel yang Digunakan	16
3.4.1 Variabel Bebas	16
3.4.2 Variabel Terikat	16
3.4.3 Variabel Terkendali	17
3.5 Definisi Operasional	17
3.6 Alat dan Bahan yang Digunakan	17
3.6.1 Alat Penelitian	17
3.6.2 Bahan Penelitian	18
3.6.3 Subjek Uji	18
3.7 Prosedur Penelitian	18
3.7.1 Tahapan Persiapan Fraksi Metanol Biji Saga	18
3.7.2 Tahapan Persiapan Fraksi Kloroform Biji Pepaya	19
3.7.3 Persiapan Hewan Coba	20
3.7.4 Pembuatan Suspensi	20
3.7.5 Pemberian Suspensi Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga dan Fraksi Kloroform Biji Pepaya pada Tikus	20
3.7.6 Pemeriksaan Histopatologi Hati Tikus	21
3.8 Analisis Data	23
3.9 Skema Penelitian	24
3.9.1 Skema Pembuatan Ekstrak Metanol	24
3.9.2 Skema Pembuatan Fraksi	25
3.9.3 Skema Perlakuan Hewan Coba	26
BAB 4. HASIL DAN PEMHASAN	27
4.1 Hasil	27

4.2 Pembahasan	31
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN.....	40



DAFTAR TABEL

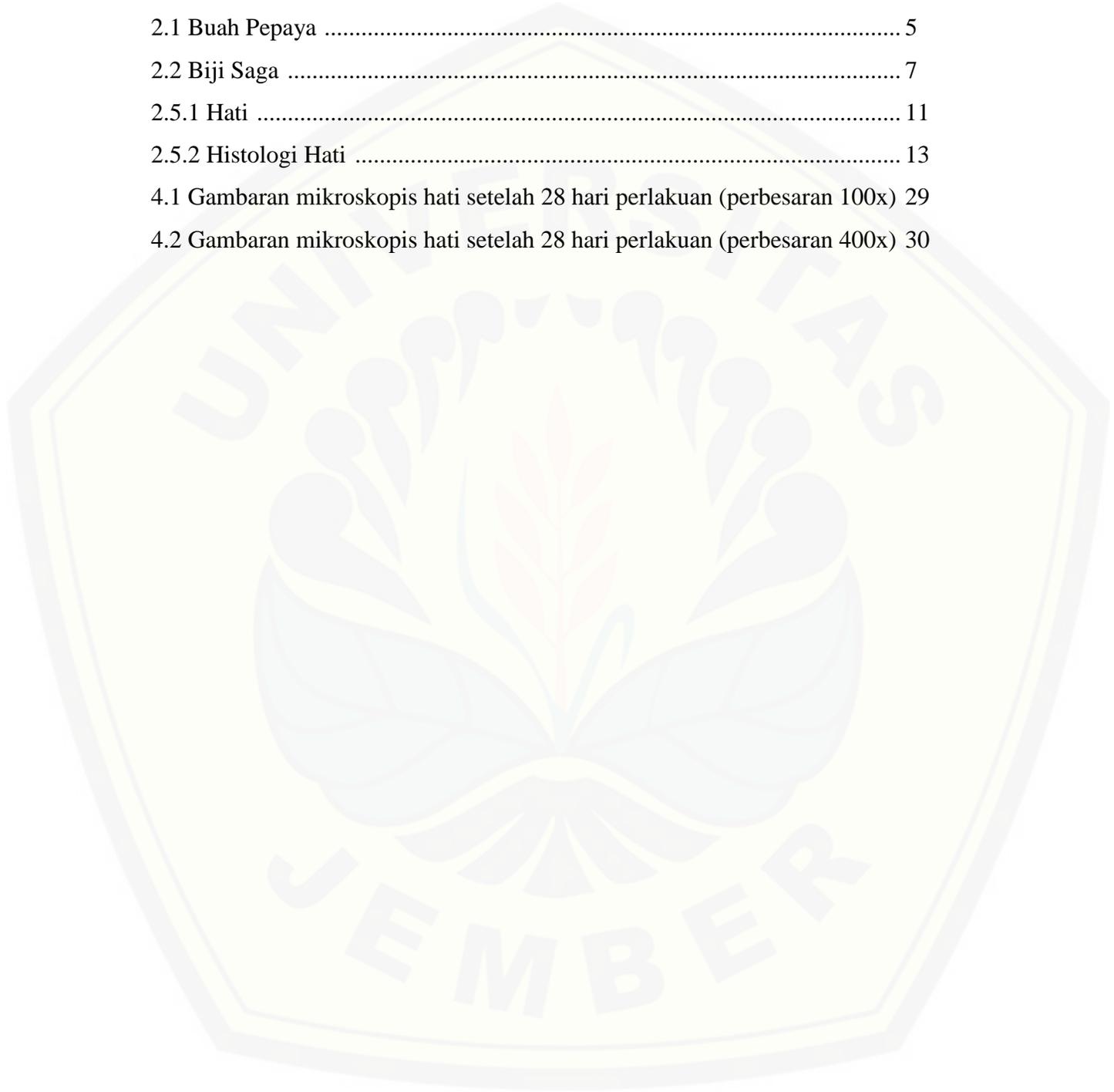
Halaman

4.1 Skor kerusakan hati tiap kelompok setelah perlakuan selama 28 hari	27
--	----



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Buah Pepaya	5
2.2 Biji Saga	7
2.5.1 Hati	11
2.5.2 Histologi Hati	13
4.1 Gambaran mikroskopis hati setelah 28 hari perlakuan (perbesaran 100x)	29
4.2 Gambaran mikroskopis hati setelah 28 hari perlakuan (perbesaran 400x)	30



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi	40
A1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kloroform Biji Pepaya	40
A2. Perhitungan Rendemen Fraksi Kloroform Biji Pepaya	40
A3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Biji Saga	40
A4. Perhitungan Rendemen Fraksi Metanol Biji Saga	40
B. Perhitungan volume dan dosis pemberian sediaan Uji	40
B1. Sediaan Kontrol	40
B2. Dosis Sediaan Uji Perlakuan 1	40
B3. Dosis Sediaan Uji Perlakuan 2	41
B4. Dosis Sediaan Uji Perlakuan 3	41
B5. Dosis Sediaan Uji Perlakuan 4	42
C. Tabel Hasil Skoring Kerusakan Hati berdasarkan <i>Knodell Score</i>	42
D. Hasil Analisis Statistik	43
E. Dokumentasi Penelitian	49

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki jumlah penduduk terbesar di dunia. Hal ini karena tingginya laju pertumbuhan penduduk di Indonesia. Data yang dimiliki oleh BKKBN pada tahun 2013 menyatakan bahwa Indonesia merupakan negara yang memiliki jumlah penduduk terbesar keempat di dunia setelah China, India, dan Amerika Serikat. Laju pertumbuhan penduduk warga Indonesia sebesar 1,49 % setiap tahun. Bila saat ini jumlah penduduk di Indonesia 240 juta jiwa, diperkirakan terjadi penambahan 10.000 bayi lahir setiap hari. Laju pertumbuhan penduduk yang tinggi tersebut akan mempengaruhi tingkat kehidupan dan kesejahteraan penduduk (BKKBN, 2013).

Dalam upaya mengurangi kepadatan penduduk, pemerintah mengadakan program Keluarga Berencana (KB). Agar program keluarga berencana tersebut berhasil, maka program keluarga berencana harus dilakukan oleh semua pihak baik laki-laki maupun perempuan. Pada kenyataannya, program keluarga berencana masih didominasi oleh perempuan sedangkan laki-laki belum banyak berpartisipasi. Peranan laki-laki dalam program KB sangat penting karena biasanya laki-laki lebih dominan sebagai penentu kebijakan dalam keluarga (Satriyasa, 2008).

Salah satu alasan rendahnya partisipasi laki-laki dalam keluarga berencana karena kontrasepsi laki-laki yang tersedia sangat terbatas jenisnya. Masalah tersebutlah yang menjadi landasan mengapa perkembangan teknologi kontrasepsi perlu lebih mengarah pada laki-laki (Sumaryati, 2004).

Beberapa alat kontrasepsi laki-laki belum bisa diterima oleh masyarakat, karena memberikan efek samping yang tidak dapat diabaikan (penyuntikan hormon), kelemahan alat kontrasepsi kondom memberikan ketidaknyamanan pada pasangan, vasektomi (sterilisasi) menyebabkan terjadinya gangguan pada imunoglobulin. Oleh karena itu diperlukan alat kontrasepsi yang memenuhi syarat-syarat antara lain: dapat menimbulkan keadaan azoospermia total, mudah digunakan, tidak menimbulkan efek

samping dan efek toksik, tidak mengganggu libido maupun perilaku seksual serta bersifat *reversible* (Herrera *et al.*, 1984).

Pemanfaatan tanaman obat sebagai alat kontrasepsi sangat diperlukan, karena selain mudah didapatkan, murah juga aman untuk di konsumsi. Contoh tanaman tersebut adalah biji pepaya dan biji saga. Biji pepaya diduga mengandung senyawa aktif yang bersifat antifertilitas dan dapat digunakan sebagai bahan kontrasepsi laki-laki. Ini dibuktikan dari hasil penelitian Lohiya *et al* (1992), Chinoy *et al* (1994) dan Chinoy & George (1983), bahwa ekstrak biji pepaya efektif digunakan sebagai bahan kontrasepsi laki-laki. Menurut Kothari *et.al.*, (2003) menyatakan bahwa ekstrak biji pepaya dapat mempengaruhi fertilitas sperma tikus putih jantan. Ekstrak biji pepaya juga mempengaruhi respons kontraksi kauda tubulus epididimis dan menyebabkan terjadinya infertilitas. Sedangkan kandungan dari biji saga yang telah diketahui adalah lektin, minyak atsiri, steroid, alkaloid, flavonoid, anthocyanin, sapogenol, abrisapogenol, sophoradiol, sitosterol, stigmeasterol, dan hederagenin metil ester. Lektin merupakan kandungan utama dari biji saga yang salah satunya adalah abrin (Abu *et al.*, 2011). Ditinjau dari agen antifertilitasnya, abrin merupakan salah satu senyawa yang bertanggung jawab sebagai senyawa yang memiliki mekanisme antifertilitas dengan menghambat sintesis DNA pada sel dan menyebabkan kematian sel (Narayanan *et al.*, 2004; Bagaria *et al.*, 2006).

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak kloroform biji pepaya dapat menyebabkan degenerasi sel leydig, sel sertoli, serta menghambat pematangan sel germinal dalam testis (Lohiya *et al.*, 2002). Ekstrak metanol biji saga dapat memberikan efek antifertilitas yang dilihat dari parameter jumlah sperma dan kualitas sperma yang terdiri dari morfologi, viabilitas, dan motilitas spermatozoa (Bhatt *et al.*, 2007). Penelitian aktivitas antifertilitas dengan menggunakan fraksi-fraksi dari biji pepaya dan biji saga juga telah dilakukan, yang hasilnya terbukti bahwa fraksi aktif dari biji saga yang memberikan efek optimal adalah fraksi methanol dosis 75 mg/kg bb, sedangkan fraksi yang paling aktif dari biji pepaya adalah fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kg bb (Muslichah dan Wiratmo, 2014). Ditinjau dari data praklinis tentang khasiat dari masing – masing

tanaman, kedua tanaman tersebut dapat dikombinasikan sebagai alternatif untuk meningkatkan aktivitas dari antifertilitas. Namun, tidak jarang adanya peningkatan aktivitas pada konsentrasi tertentu dapat pula meningkatkan efek toksik. Dalam hal ini karena kandungan abrin dari biji saga dapat berefek toksik di hati, yaitu dapat menghambat biosintesis protein di hati (Lin *et al.*, 1972). Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi dosis fraksi metanol biji saga dengan fraksi kloroform biji pepaya terhadap histopatologi hati.

Hati merupakan organ penting dalam tubuh manusia, karena merupakan pabrik kimia terbesar dalam tubuh yaitu sebagai pengantara metabolisme yang dapat mengubah zat makanan yang diabsorpsi dari usus dan yang disimpan di suatu tempat di dalam tubuh, guna dibuat sesuai untuk pemakaiannya di dalam jaringan. Hati juga mengubah zat buangan dan bahan racun untuk mudah di ekskresi ke dalam empedu dan urine (Pearce, 2009). Penggunaan kombinasi dari kedua tanaman tersebut harus diperhatikan juga ada tidaknya pengaruh toksik di dalamnya.

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 zat kimia lain yang diberikan bersamaan. Efek toksik dapat berubah karena berbagai hal seperti perubahan absorpsi, distribusi, dan ekskresi zat kimia, peningkatan atau pengurangan biotransformasi, serta perubahan kepekaan reseptor pada organ sasaran (Lu, 1995).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang di atas maka dapat disusun rumusan masalah yaitu bagaimana pengaruh pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dengan fraksi kloroform biji pepaya terhadap histopatologi hati pada tikus jantan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dengan fraksi kloroform biji pepaya terhadap histopatologi hati pada tikus jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

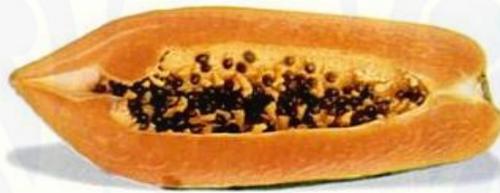
Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah mengembangkan penggunaan kombinasi fraksi metanol biji saga dengan fraksi kloroform biji pepaya sebagai agen antifertilitas untuk alternatif dalam metode kontrasepsi sekaligus memberikan informasi mengenai potensi keamanannya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pepaya (*Carica papaya L.*)

2.1.1 Deskripsi Pepaya

Tanaman pepaya berbentuk perdu yang tingginya mencapai 3 m. Daunnya bercangap (berlekuk) menjari dengan tangkai daun yang panjang dan berlubang. Batangnya berongga karena intinya berupa sel gabus. Bunga keluar dari ketiak daun, tunggal atau dalam rangkaian. Bungannya adalah monodioecious (berumah tunggal sekaligus berumah dua) dengan tiga kelamin yaitu : tumbuhan jantan, betina dan banci (Sunarjono, 2006).



Gambar 2.1. Buah pepaya (Sunarjono, 2006)

Seperti yang terlihat pada gambar 2.1, bentuk buah bulat hingga memanjang, dengan ujung biasanya meruncing. Buah pepaya berbiji banyak dalam rongga buah yang lebar. Biji-biji tersebut ada yang berwarna hitam (fertil) dan ada yang berwarna putih (abortus, tidak tumbuh). Bila biji hitam ditanam akan menghasilkan 25-50 % jenis pepaya sempurna, tergantung asal pohonnya (Sunarjono, 2006).

Sistematika tumbuhan pepaya (*Carica papaya L.*) berdasarkan taksonominya adalah sebagai berikut (USDA, 2014) :

Kingdom : Plantae
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Violales
Suku : Caricaceae

Marga : Carica
Jenis : *Carica papaya* L.

2.1.2 Kandungan Aktif Biji Pepaya

Apabila dikaitkan dengan senyawa aktif dari tanaman ini ternyata banyak diantaranya mengandung alkaloid, steroid, tanin dan minyak atsiri. Dalam biji pepaya mengandung senyawa-senyawa steroid. Kandungan biji dalam buah pepaya kira-kira 14,3 % dari keseluruhan buah pepaya. Kandungannya berupa asam lemak tak jenuh yang tinggi, yaitu asam oleat dan palmitat. Selain mengandung asam-asam lemak, biji pepaya diketahui mengandung senyawa kimia lain seperti golongan fenol, alkaloid, terpenoid dan saponin. Zat-zat aktif yang terkandung dalam biji pepaya tersebut bisa berefek sitotoksik, anti androgen atau berefek estrogenik. Alkaloid salah satunya yang terkandung dalam biji pepaya dapat berefek sitotoksik. Efek sitotoksik tersebut akan menyebabkan gangguan metabolisme sel spermatogenik (Lohiya *et al.*, 2002 dalam Satriyasa *et al.*, 2008).

Adanya kandungan flavonoid atau alkaloid dalam biji pepaya diketahui juga dapat berefek sebagai hepatoprotektif. Kandungan alkaloid dan flavonoid tersebut merupakan antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas penyebab adanya kerusakan sel (Adeneye *et al.*, 2009).

2.2 Saga (*Abrus precatorius* Linn.)

2.2.1 Deskripsi Saga

Saga (*Abrus precatorius* Linn.) termasuk tanaman obat dari famili Leguminosae. Tumbuhan merambat ini membutuhkan pokok batang lain sebagai inang tempat merambat. Panjangnya mencapai 6-9 m dengan diameter batang hingga 1,5 cm membelit-belit ke arah kiri. Daun majemuk dengan anak daun 8-15 pasang berbentuk bulat telur, pangkal membundar, tepi rata, permukaan atas gundul dan permukaan bawah berambut. Perbungaan muncul di ketiak atau di ujung daun 5-7 bunga setiap tandan, warna ungu muda dengan bentuk seperti kupu-kupu. Buah

polong, lonjong, agak pipih, 2,5 x 1,2 cm. Biji lonjong agak pipih, warna merah mengilat dengan hitam dibagian pangkal biji, panjang 6-8 mm (Hidayat, 2009), seperti yang terlihat pada gambar 2.2 .



Gambar 2.2. Biji saga (Hidayat, 2009)

Daun dari tanaman saga merupakan daun majemuk, duduk berselang-seling dan bersirip ganjil. Anak daun bersirip 8-17 daun kecil dengan bentuk bundar telur. Daunnya memiliki panjang 5-25 mm dengan lebar 3-8 mm. Bagian bawah daun berambut halus. Daun saga menyerupai daun *Tamarindus indica* yaitu bersirip ganjil dan memiliki rasa agak manis, karena itu saga tipe ini biasa juga disebut saga manis. Daun saga memiliki bentuk bulat pada ujungnya dengan tepi rata dan berwarna hijau muda sampai hijau tua (Ross, 2003).

2.2.2 Kandungan Kimia Saga

Saga merupakan tanaman yang seringkali digunakan sebagai obat tradisional di banyak negara. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, aktivitas terapi yang ditunjukkan oleh tanaman saga antara lain antibakteri, anti diabetes, antikonvulsan, anthelmintik, antidiare, sitotoksik, depresan pada sistem saraf pusat, dan anti spermatogenesis atau kontrasepsi (Ross, 2003).

Saga diketahui mengandung beberapa senyawa antara lain flavonoid, alkaloid, steroid, lektin, sapogenol, flavon, dan senyawa kimia lainnya. Berdasarkan sejumlah penelitian diketahui ada beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman saga, beberapa diantaranya adalah abrin (0,85%), abraquinon A (0,025-0,45%), abrus aglutinin (0,1%), asam linoleat (0,5%), asam palmitat (15,8%), glisirizin (1,25%),

prekatorin (11%), dan hederagenin (7,3%) (Ross, 2003). Dalam tanaman saga juga terkandung beberapa mineral antara lain potasium, kalsium, fosfor, magnesium, dan natrium (Prathyusha *et al.*, 2010).

Kandungan abrin pada biji saga yang diketahui memiliki aktivitas sitotoksik juga dapat digunakan sebagai terapi pada tumor karena abrin lebih toksik pada sel tumor dibanding pada sel normal. Abrin bekerja secara efektif dalam menghambat peningkatan massa sel tumor padat yang disebabkan oleh sel *Dalton's Lymphoma Ascites* (DLA) dan *Ehrlich's Ascites Carcinoma* (EAC) (Sivakumar dan Alagesabooopathi, 2008). Dan menyebabkan degradasi polyribosome dari hati. Namun abrin tidak memiliki efek langsung pada integritas struktural dan fungsional polyribosome tetapi bertindak secara tidak langsung dengan meningkatkan aktivitas RNAase di fraksi post mikrosomal supernatan dari hati atau sel tumor *Ehrlich's Ascites Carcinoma* (EAC) (Lin *et al.*, 1972).

2.3 Toksisitas

Toksisitas merupakan kemampuan suatu molekul atau senyawa kimia yang dapat menimbulkan kerusakan pada bagian yang peka didalam maupun dibagian luar tubuh mahluk hidup (Durham, 1975). Suatu senyawa kimia dapat dikatakan sebagai racun jika senyawa tersebut dapat menimbulkan efek yang merusak. Efek yang ditimbulkan sangat tergantung dengan kadar racun (toksin) yang diberikan dengan dilakukan pengukuran besarnya kadar atau konsentrasi bahan yang dapat menimbulkan pengaruh pada organisme uji (Loomis, 1978).

Uji toksisitas secara kuantitatif dapat ditinjau dari lamanya waktu, yang dapat diklasifikasikan menjadi toksisitas akut, subakut, subkronis dan kronis.

a. Toksisitas akut

Toksisitas akut adalah efek total yang didapat pada dosis tunggal dalam 24 jam setelah pemaparan. Toksisitas akut bersifat mendadak, waktu singkat, biasanya *reversibel*. Uji toksisitas atas dasar dosis dan waktu spesifik toksisitas akut. Dosis merupakan jumlah racun yang masuk ke dalam tubuh. Besar kecilnya dosis menentukan efek secara biologi (BPOM, 2000). Penentuan nilai LD50 pada

pengujian toksisitas akut merupakan tahap awal untuk mengetahui keamanan suatu bahan obat yang akan digunakan manusia berdasarkan besarnya dosis yang dapat menyebabkan kematian 50% pada hewan uji dengan satuan berat badan setelah pemberian dosis secara tunggal (Angelina, 2008). Pengujian ini dilakukan untuk mendeteksi tingkat toksisitas suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaannya, serta memperoleh data kematiannya setelah pemberian suatu zat secara akut. Informasi yang diperoleh tersebut dapat digunakan dalam penetapan kisaran dosis yang diperlukan untuk uji toksisitas selanjutnya. Pengujian tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan hewan uji seperti mencit, tikus, kelinci, monyet dan anjing. Data kematian hewan uji yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan nilai LD50 (Ariens, 1986). Nilai LD50 suatu bahan obat mutlak harus ditentukan, karena nilai tersebut digunakan dalam penilaian rasio manfaat (khasiat) dan daya racun yang dinyatakan sebagai indeks terapi obat sehingga semakin besar indeks terapi maka semakin aman obat tersebut digunakan (Wahyono, 2007).

b. Uji Toksisitas Subakut

Penelitian toksisitas subakut umumnya dilakukan selama 14-28 hari, bertujuan untuk memperluas uji toksisitas dengan menentukan : (1) dosis toksik minimal dan dosis maksimal yang dapat ditoleransi, dan (2) kemungkinan adanya toleransi dan akumulasi. Dosis toksik minimal ialah dosis terkecil yang masih memberikan efek terapi. Dosis maksimal ialah dosis terbesar yang tidak menimbulkan gejala toksik. Cara pemberian obat dan besarnya dosis yang diberikan bergantung pada kebutuhan uji klinik. Umumnya, obat-obat diberikan secara oral dengan dosis bertingkat dengan variasi yang diduga efektif pada manusia, dan sebagian lagi dengan variasi dosis sekitar dosis toksik (UNSRI, 2009).

c. Uji Toksisitas Subkronis

Uji toksisitas subkronis dilakukan untuk mengevaluasi efek senyawa, apabila diberikan kepada hewan uji secara berulang-ulang. Biasanya diberikan senyawa uji setiap hari selama kurang lebih 10% dari masa hidup hewan, yaitu 3 bulan untuk tikus dan 1-2 tahun untuk anjing (Hendriani, 2007).

Uji toksisitas subkronis menyangkut evaluasi seluruh hewan untuk mengetahui efek patologi kasar dan efek histologi. Uji ini dapat menghasilkan informasi toksisitas zat uji yang berkaitan dengan organ sasaran, efek pada organ itu, dan hubungan dosis efek dan dosis respons. Informasi tersebut dapat memberi petunjuk jenis penelitian khusus lainnya yang perlu dilakukan (Hendriani, 2007).

d. Uji Toksisitas Kronis

Uji toksisitas kronis dilakukan dengan memberikan senyawa uji berulang-ulang selama masa hidup hewan uji atau sebagian besar masa hidupnya, misalnya 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet. Pada uji toksisitas kronis ini dilakukan evaluasi patologi lengkap (Hendriani, 2007).

2.4 Histopatologi

Histopatologi berasal dari dua kata yaitu histo yang berarti jaringan dan patologi yang berarti ilmu yang mempelajari tentang penyakit. Histopatologi merupakan ilmu yang mempelajari kerusakan jaringan secara mikroskopis. Analisis kondisi histologi organ/jaringan dengan pengamatan terhadap perubahan morfologi, struktur dan indikasi kerusakan/infeksi/mutasi lainnya akibat pengaruh penyakit, bahan toksik atau proses-proses mutagenesis lainnya (Spector, 1993).

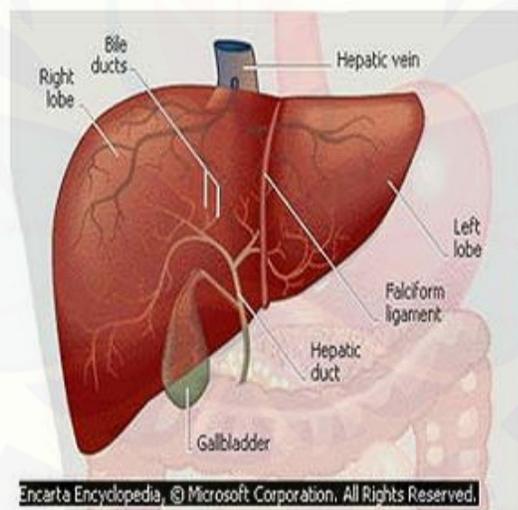
Pemeriksaan histopatologi dilakukan melalui pemeriksaan terhadap perubahan-perubahan abnormal pada tingkat jaringan. Histopatologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel atau dengan mengamati jaringan setelah kematian terjadi. Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk memeriksa penyakit berdasarkan pada reaksi perubahan jaringan. Pemeriksaan ini hendaknya disertai dengan pengetahuan tentang gambaran histologi normal jaringan sehingga dapat dilakukan perbandingan antara kondisi jaringan normal terhadap jaringan sampel (abnormal). Aplikasi histopatologi merupakan suatu cara membuat preparat dengan menipiskan sel jaringan dari organ-organ tubuh. Untuk itu jaringan halus dapat ditanam pada parafin dengan pembekuan, selanjutnya jaringan dipotong. Prasyarat untuk mendapatkan

histopatologi dan histokimia yang tepat dapat diperoleh dengan mengamati preparat dibawah mikroskop elektron. Preparat dari histopat mempunyai tanda spesifik yang terlihat dari jaringan sel dan struktur jaringan akibat serangan patogenisitas (Spector, 1993).

2.5 Hati

2.5.1 Anatomi Hati

Hati adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh yang terletak di sebelah kanan atas rongga perut di bawah diafragma. Beratnya 1.500 gr atau 2,5 % dari berat badan orang dewasa normal. Pada kondisi hidup berwarna merah tua karena kaya akan persediaan darah. Hati terbagi menjadi lobus kiri dan lobus kanan yang dipisahkan oleh ligamentum falciforme. Lobus kanan hati lebih besar dari lobus kirinya dan mempunyai 3 bagian utama yaitu : lobus kanan atas, lobus caudatus, dan lobus quadratus (Lu, 1995). Dapat dilihat seperti pada gambar 2.5 (Pearce, 2009)



Gambar 2.5. Anatomi Hati (Pearce, 2009)

Organ hati terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Secara struktural organ hati tersusun oleh hepatosit (sel parenkim hati). Hepatosit bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Sel-sel

tersebut terletak di antara sinusoid yang terisi darah dan saluran empedu. Sel Kuffer melapisi sinusoid hati dan merupakan bagian penting dari sistem retikuloendotelial tubuh. Darah dipasok melalui vena porta dan arteri hepatica, dan disalurkan melalui vena sentral dan kemudian vena hepatica ke dalam vena kava. Saluran empedu mulai berperan sebagai kanalikuli yang kecil sekali yang dibentuk oleh sel parenkim yang berdekatan. Kanalikuli bersatu menjadi duktula, saluran empedu interlobular, dan saluran hati yang lebih besar. Saluran hati utama menghubungkan duktus kistik dari kandung empedu dan membentuk saluran empedu biasa, yang mengalir ke dalam duodenum (Lu, 1995)

Cabang-cabang pembuluh darah vena porta hepatica dan arteri hepatica mengalirkan darahnya ke sinusoid. Hematosit menyerap nutrisi, oksigen, dan zat racun dari darah sinusoid. Di dalam hematosit zat racun akan dinetralkan sedangkan nutrisi akan ditimbun atau dibentuk zat baru, dimana zat tersebut akan disekresikan ke peredaran darah tubuh (Lu, 1995).

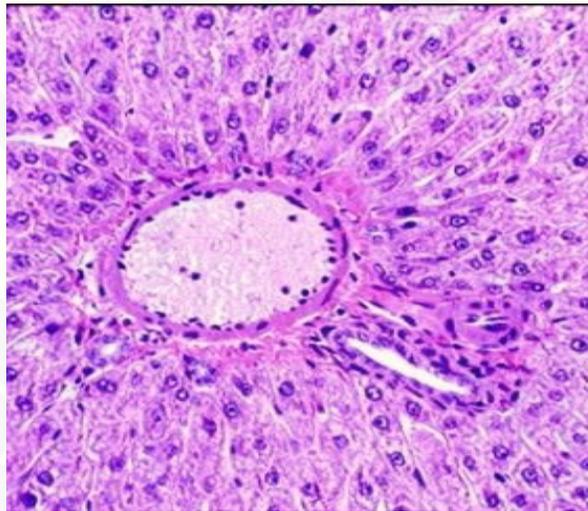
2.5.2 Fisiologi Hati

Hati merupakan pintu gerbang semua bahan yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna. Zat makanan, sebagian besar obat-obatan serta toksikan yang masuk ke tubuh melalui saluran cerna setelah diserap oleh epitel usus akan dibawa oleh vena porta ke hati. Hati juga merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh yang fungsi-fungsinya dapat mempengaruhi semua sistem tubuh, yaitu diantaranya :

- a. Untuk metabolisme protein, lemak, dan karbohidrat. Bergantung kepada kebutuhan tubuh, ketiganya dapat saling dibentuk.
- b. Untuk tempat penyimpanan berbagai zat seperti mineral (Cu, Fe) serta vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A,D,E, dan K), glikogen dan berbagai racun yang tidak dapat dikeluarkan dari tubuh (contohnya : pestisida DDT).
- c. Untuk detoksifikasi dimana hati melakukan inaktivasi hormon dan detoksifikasi toksin dan obat.
- d. Untuk fagositosis mikroorganisme, eritrosit, dan leukosit yang sudah tua atau rusak.

- e. Untuk sekresi, dimana hati memproduksi empedu yang berperan dalam emulsifikasi dan absorpsi lemak

Salah satu konsekuensi dari kompleksitas ini adalah bahwa penyakit hati memiliki efek luas pada hampir semua sistem organ lain. Oleh sebab itu, hati menjadi organ yang sangat potensial menderita keracunan lebih dahulu sebelum organ lain (Bowen, 2001).



Gambar 2.5.2. Gambaran histologi hati normal (Bowen, 1998)

Gambar tersebut menunjukkan pusat dari lobulus hati. Dalam kasus hati, saluran septae pada jaringan ikat yang menghubungkan pembuluh darah dan saluran empedu, dan kumpulan-kumpulan sel seperti hepatosit, sel parenkim hati. Hepatosit adalah sel-sel fungsional hati dan ada dalam jumlah yang sangat banyak dari metabolik, endokrin dan fungsi sekresi. Sekitar 80% dari massa hati adalah hepatosit (Bowen, 1998).

Toksikologi hati dipersulit oleh berbagai kerusakan hati dan berbagai mekanisme yang menyebabkan kerusakan tersebut. Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, setelah diserap, toksikan dibawa vena porta ke hati. Hati mempunyai banyak tempat pengikatan. Kadar enzim yang memetabolisme xenobiotik dalam hati juga tinggi (terutama sitokrom P-450). 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 hati bersifat sentrilobuler banyak dihubungkan dengan kadar sitokrom P-450 yang lebih tinggi. Selain itu kadar glutathion yang relatif rendah, dibandingkan dengan kadar glutathion di bagian lain dari hati, dapat juga berperan mengaktifkan toksikan (Lu, 1995).

Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel dalam sel hati, seperti perlemakan hati (steatosis), nekrosis, kolestasis, dan sirosis. Steatosis adalah hati yang mengandung berat lipid lebih dari 5%. Mekanisme terjadinya penimbunan lemak pada hati secara umum yaitu rusaknya pelepasan trigliserid hati ke plasma. Nekrosis hati adalah kematian hepatosit. Biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Beberapa zat kimia telah dibuktikan atau dilaporkan menyebabkan nekrosis pada hati. Kolestasis merupakan jenis kerusakan hati yang biasanya bersifat akut. Beberapa steroid anabolik dan kontraseptif di samping taurokolat, klorpromazin, dan eritromisin laktobionat telah terbukti menyebabkan kolestasis dan hiperbilirubinemia karena tersumbatnya kanalikuli empedu. Sirosis ditandai oleh adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian besar hati. Serosis diduga berasal dari nekrosis sel-sel tunggal karena kurangnya mekanisme perbaikan yang menyebabkan meningkatnya aktivitas fibroblastik dan pembentukan jaringan parut (Lu, 1995).

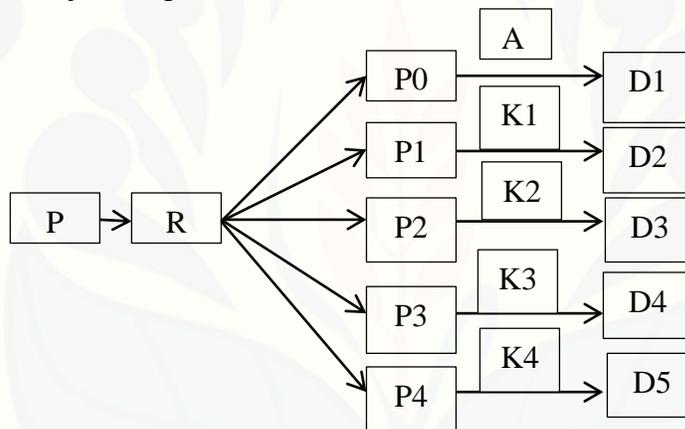
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *True Experimental Laboratories*. Penelitian *True Experimental Laboratories* ini bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tertentu yang nantinya akan diberikan kelompok kontrol sebagai pembanding (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terbagi atas 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan dosis. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

P : Populasi

R : Randomisasi

P0 : Kelompok perlakuan dengan mucilago *Carboxy Methyl Cellulose* Na (CMC-Na) 1 % selama 28 hari

P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari

P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari

P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji papaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari

- P4 : Kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- A : Pemberian mucilago Na-CMC 1% selama 28 hari
- K1 : Pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- K2 : Pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- K3 : Pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- K4 : Pemberian suspensi kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari selama 28 hari
- D₁₋₅ : Data kelompok P0, P1, P2, P3, P4 setelah diberikan perlakuan pada 5 ekor tikus masing-masing kelompok

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember dimulai dari bulan Mei – Juli 2014.

3.4 Variabel yang Digunakan

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya. Perbandingan dosis sebagai berikut:

- 1) Kelompok P1 fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari
- 2) Kelompok P2 fraksi kloroform biji pepaya dosis 100 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari
- 3) Kelompok P3 fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 75 mg/kgBB/hari
- 4) Kelompok P4 fraksi kloroform biji pepaya dosis 50 mg/kgBB/hari dengan fraksi metanol biji saga dosis 50 mg/kgBB/hari

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah gambaran histopatologis hati tikus jantan.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi dan fraksinasi, jenis kelamin hewan coba (jantan), umur hewan coba (2-3 bulan), berat badan tikus (200-250 gram), pemeliharaan hewan coba, waktu dan lama perlakuan, cara pemberian (per-oral), frekuensi dan volume pemberian.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional yang terdapat dalam penelitian kali ini antara lain sebagai berikut :

1. Fraksi metanol biji saga yang diperoleh dari hasil partisi ekstrak metanol biji saga menggunakan corong pisah dengan pelarut metanol
2. Fraksi kloroform biji pepaya yang diperoleh dari hasil partisi ekstrak metanol biji pepaya menggunakan corong pisah dengan pelarut kloroform.
3. Perlakuan uji pada tikus menggunakan waktu selama 28 hari
4. Gambaran histopatologi hati dianalisis secara deskriptif kemudian diklasifikasikan menurut *Knodell score* yang dimodifikasi. Hasil skor dari semua parameter tiap tikus pada semua kelompok perlakuan dijumlah dan dirata-rata.

3.6 Alat dan Bahan yang Digunakan

3.6.1 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop, rotaevaporator, timbangan digital, corong pisah, corong bucher, *glassware*, maserator, *chamber* pembiusan, papan fiksasi dan jarum, gunting bedah, pinset, *object glass*, *cover glass*, spuit injeksi, sonde, kertas saring, dan pipet tetes.

3.6.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji pepaya (*Carica papaya* L.) yang berasal dari petani di daerah Sukorejo Kecamatan Bangsalsari Kabupaten Jember, biji saga yang diperoleh dari Andongrejo Kab. Jember, metanol 70%, n-

heksana, aquades, suspensi CMC Na 1%, eosin 1%, formalin, garam fisiologis, kloroform, alkohol, parafin dan xylol.

3.6.3 Subjek Uji

Pada penelitian ini digunakan subjek uji yaitu tikus jantan galur wistar dengan berat 200-250 gram dan umur 2-3 bulan.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahapan Persiapan Fraksi Metanol Biji Saga

a) Persiapan dan preparasi fraksi metanol biji saga

Biji saga diperoleh dari petani saga. Biji saga dikeringkan dibawah sinar matahari, kulitnya dipisahkan dari biji dengan cara menghancurkan biji, biji dihaluskan dengan cara diblender, diayak, dan ditimbang untuk proses selanjutnya.

b) Pembuatan fraksi metanol biji saga

Serbuk simplisia diekstraksi dengan cara remaserasi dengan pelarut metanol (1:7). Serbuk simplisia sebanyak 500 gram direndam dalam metanol sebanyak 7 kali dari berat serbuk simplisia (3,5 liter). Dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali. Maserat disaring dengan kertas saring dengan bantuan corong buchner. Filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* 45 °C sampai diperoleh ekstrak metanol. Ekstrak metanol tersebut selanjutnya ditambah air dengan perbandingan 7:3, dimasukan kedalam corong pisah. Kemudian ditambahkan pelarut N-heksana kedalam corong pisah dengan perbandingan pelarut 1:1, dikocok, campuran dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yang terpisah. Lapisan atas merupakan fraksi N-heksana dan lapisan bawah merupakan metanol. Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fraksi metanol yang didapat ditambah pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1. Lapisan atas merupakan fraksi metanol dan lapisan bawah merupakan kloroform. Fraksinasi dilakukan pengulangan

sebanyak 3 kali. Fraksi metanol yang telah terambil kemudian dipekatkan diatas penangas air pada suhu dibawah titik didih metanol hingga semua pelarut menguap dan didapatkan hasil akhir berupa fraksi metanol biji saga kental. Fraksi metanol biji saga kental yang diperoleh kemudian ditimbang.

3.7.2 Tahapan Persiapan Fraksi Kloroform Biji Pepaya

a) Persiapan dan preparasi fraksi kloroform biji pepaya

Biji pepaya diperoleh dari petani pepaya. Biji pepaya dikeringkan dibawah sinar matahari, biji dihaluskan dengan cara diblender, diayak, dan ditimbang untuk proses selanjutnya.

b) Pembuatan fraksi kloroform biji pepaya

Serbuk simplisia diekstraksi dengan cara remaserasi dengan pelarut metanol (1:6). Serbuk simplisia sebanyak 500 gram direndam dalam metanol sebanyak 6 kali dari berat serbuk simplisia (3 liter). Dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali. Maserat disaring dengan kertas saring dengan bantuan corong buchner. Filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* 45 °C sampai diperoleh ekstrak metanol. Ekstrak metanol tersebut selanjutnya ditambah air dengan perbandingan 7:3, dimasukan kedalam corong pisah. Kemudian ditambahkan pelarut N-heksana kedalam corong pisah dengan perbandingan pelarut 1:1, dikocok, campuran dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yang terpisah. Lapisan atas merupakan fraksi N-heksana dan lapisan bawah merupakan metanol. Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fraksi metanol yang didapat ditambah pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1. Lapisan atas merupakan fraksi metanol dan lapisan bawah merupakan kloroform. Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Fraksi kloroform yang terambil kemudian dipekatkan diatas penangas air pada suhu dibawah titik didih kloroform hingga semua pelarut menguap dan didapatkan hasil akhir berupa fraksi kloroform biji pepaya kental. Fraksi kloroform biji pepaya kental yang diperoleh kemudian ditimbang.

3.7.3 Persiapan Hewan Coba

Sebelum penelitian dilakukan disiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yang meliputi kandang (bak plastik) berbentuk segi empat, sekam, tempat makan dan minum tikus.

3.7.4 Pembuatan Suspensi

Sebanyak 1 gram CMC-Na ditimbang. CMC-Na tersebut ditaburkan pada 20 ml air panas (20 kali berat CMC-Na) hingga mengembang, Kemudian diaduk kuat hingga terbentuk massa yang kental. Tambahkan dengan aquades hingga volume 100 ml. Kemudian sebanyak x gram dari fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya dilarutkan dalam x ml CMC-Na. CMC-Na digunakan sebagai agen pensuspensi untuk menghomogenkan fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya.

3.7.5 Pemberian Suspensi Kombinasi Fraksi Metanol Biji Saga dan Fraksi Kloroform Biji Pepaya pada Tikus

Hewan uji tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar sebanyak 25 ekor disiapkan dengan pemberian makan dan minum *ad libitum*. Setelah diadaptasikan, tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus yang dipilih secara acak. Tikus ditimbang dan diberi tanda pengenal pada bagian ekor.

Kelompok 0 (P0) : kelompok kontrol yang diberi larutan suspensi CMC Na 1% per oral

Kelompok I (P1) : kelompok perlakuan yang diberi suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga 75 mg/kg BB dengan fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kg BB per oral.

Kelompok II (P2) : kelompok perlakuan yang diberi suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga 50 mg/kg BB dengan fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kg BB per oral.

Kelompok III (P3): kelompok perlakuan yang diberi suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga 75 mg/kg BB dengan fraksi klorofom biji pepaya 50 mg/kg BB per oral.

Kelompok IV (P4): kelompok perlakuan yang diberi suspensi kombinasi fraksi metanol biji saga 50 mg/kg BB dengan fraksi klorofom biji pepaya 50 mg/kg BB per oral.

Masing-masing kelompok diberi perlakuan sekali sehari selama 28 hari. Masing-masing kelompok ditimbang setiap satu minggu sekali untuk melihat adanya penurunan berat badan yang berpengaruh pada volume pemberian dan mungkin berpengaruh pada pengamatan histopatologi hati.

3.7.6 Pemeriksaan Histopatologi Hati Tikus

Pembuatan preparat mikroanatomi hati dilakukan dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoxylin Eosin.

- a. Organ hati yang didapat difiksasi dengan larutan formalin 10% untuk dibuat preparat histopatologik. Kondisi organ dalam larutan formalin harus terendam seluruhnya dan waktu perendaman tidak kurang dari 24 jam. Tujuan dari fiksasi mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi seperti sewaktu hidup, mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak agar memudahkan pembuatan irisan tipis, mencegah terjadinya pembusukan, dan autolisis dari sel.
- b. Dehidrasi dan pembedahan organ dilakukan dengan memasukkan organ hati ke dalam alkohol dengan konsentrasi 70%, 95%, 100%, alkohol absolut dan xylol yang diberikan sebanyak 3 kali secara bertahap, masing-masing selama 15 menit. Dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga jaringan nantinya dapat diisi dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Hal ini perlu dilakukan karena air tidak dapat bercampur dengan cairan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat.

- c. Kemudian dilakukan proses pelekatan organ dengan parafin (*embedding*) yaitu dengan memasukkan organ ke dalam parafin yang masih cair, kemudian dimasukkan ke dalam oven suhu $55 - 56^{\circ} \text{C}$ selama 30 menit dan diulangi lagi dengan parafin yang sama dengan suhu oven 60°C . Pembenaan (*impregnasi*) bertujuan untuk mengeluarkan cairan pembening dari jaringan dan diganti dengan parafin. Hal ini karena sisa cairan pembening dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek.
- d. Hasil *embedding* kemudian dibuat balok parafin (*blocking*) dengan menggunakan cetakan besi. Pengecoran (*blocking*) adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom. Prosesnya dilakukan dengan cara histoplate dari plastik diletakkan di atas piringan logam (seperti cetakan membuat es batu). Tuangkan sedikit cairan parafin ke dalam cetakan tersebut. Secepatnya masukkan jaringan dengan menggunakan pinset yang telah dipanaskan (agar parafin tak beku) dan diatur posisinya di dalam cetakan. Parafin cair kemudian dituangkan kembali hingga menutupi seluruh cetakan tersebut.
- e. Setelah parafin membeku dilakukan pemotongan blok parafin dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan $4 - 7 \mu\text{m}$.
- f. Hasil potongan dimasukkan ke dalam water bath dengan suhu $42-45^{\circ} \text{C}$ sampai jaringan mengembang kemudian dikeringkan dalam hot plate.
- g. Pewarnaan organ hati menggunakan Hematoxylin Eosin (HE) yang bertujuan untuk memberi warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat dikenali atau diamati dengan mikroskop. Pada pulasan HE digunakan 2 macam zat warna yaitu hematoksilin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta eosin yang merupakan *counterstaining* hematoksilin, digunakan untuk memulas sitoplasma sel. Tahapannya yaitu jaringan dimasukkan ke dalam zat warna Hematoxylin Eosin (HE) selama 4-10 menit kemudian dicuci dengan

air kran mengalir selama 10 menit, jaringan dimasukkan ke dalam eosin selama 3-8 menit.

- h. Kemudian dimasukkan berturut-turut ke dalam alkohol 70% (1 menit), 80% (2 menit), 90% (3 menit) dan alkohol absolut I (3 menit), alkohol absolut II (3 menit) dan alkohol absolut III (3 menit).
- i. Selanjutnya jaringan dimasukkan kedalam xylol I (3 menit), xylol II (4 menit) dan xylol III (5 menit).
- j. Proses terakhir adalah *mounting* yaitu penutupan gelas obyek dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi menggunakan entellan atau kanada balsem.
- k. Pengkajian Histopatologi dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10 x 40.

3.8 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji statistik non-parametrik menggunakan uji *Kruskall-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui efek kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dengan perbandingan dosis yang telah ditentukan terhadap gambaran histopatologi hati tikus jantan, dan dilanjutkan dengan uji Mann-whitney untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan. Gambaran histopatologi hati dianalisis secara deskriptif kemudian diklasifikasikan menurut *Knodell score* (Knodell, 1981). Tingkat kepercayaan yang digunakan adalah 95%.

0 = Normal hingga kerusakan hepatosit mencapai <25%

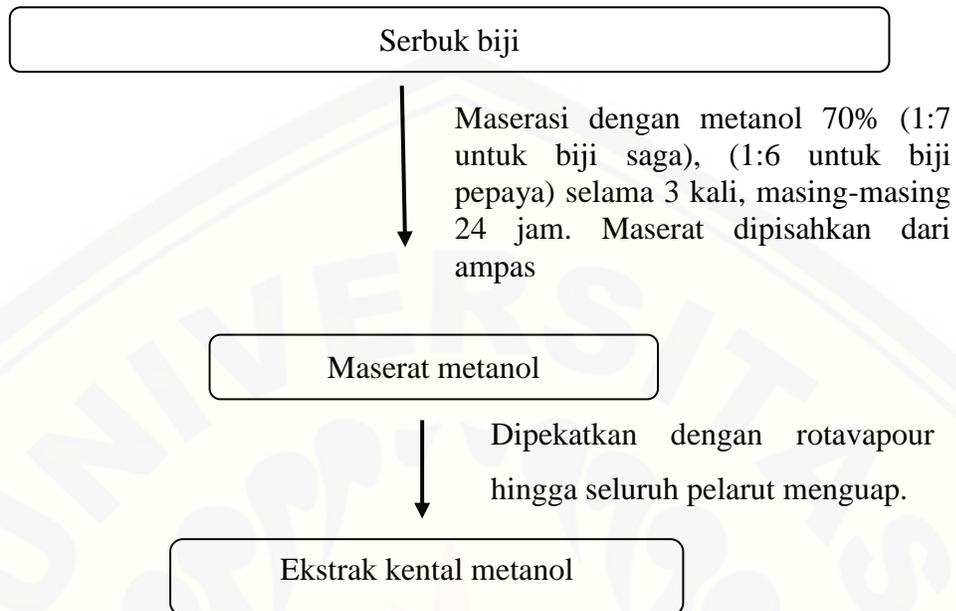
1 = Kerusakan hepatosit mencapai >25% - 50%

2 = Kerusakan hepatosit mencapai >50% - 75%

3 = Kerusakan hepatosit mencapai >75%

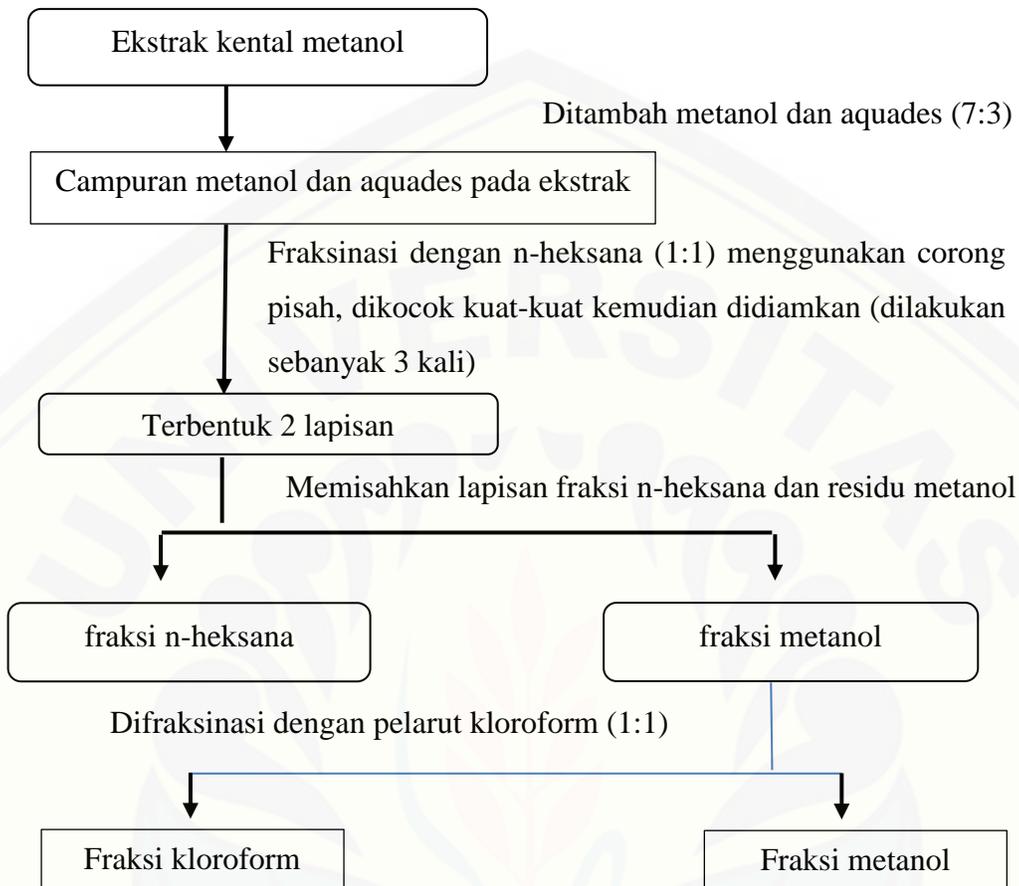
3.9 Skema Penelitian

3.9.1 Skema Pembuatan Ekstrak Metanol (biji saga / biji pepaya)



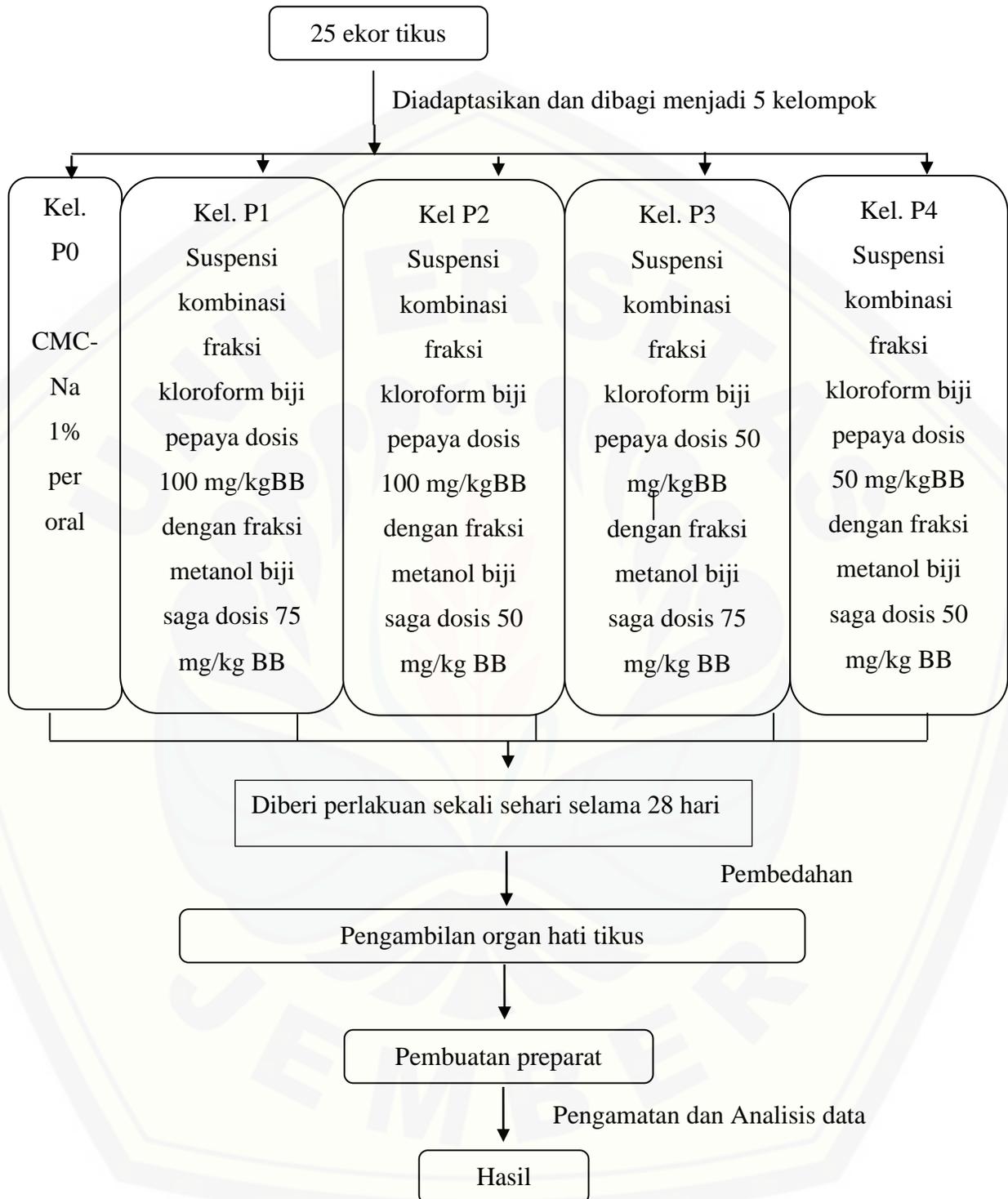
Gambar 3.2 Skema pembuatan Ekstrak Metanol Biji Saga / Biji Pepaya

3.9.2 Skema Pembuatan Fraksi Metanol Biji Saga dan Fraksi Kloroform Biji Pepaya



Gambar 3.3 Skema Pembuatan Fraksi Metanol Biji Saga dan Fraksi Kloroform Biji Pepaya

3.9.3 Skema Perlakuan Hewan Coba



Gambar 3.6 Skema Perlakuan Hewan Coba

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses awal penelitian ini dimulai dengan membuat ekstrak biji saga dan biji pepaya dari serbuk kering biji saga dan biji pepaya, kemudian dilanjutkan membuat fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya dengan menambahkan air pada ekstrak yang dihasilkan, setelah itu dipartisi menggunakan corong pisah berturut-turut dengan pelarut n-heksana dan kloroform sehingga dihasilkan fraksi kental. Fraksi kental yang diperoleh kemudian ditimbang. Berdasarkan hasil penimbangan, rendemen fraksi kloroform biji pepaya adalah sebesar 3,812 % sedangkan rendemen fraksi metanol biji saga adalah sebesar 3,254 %. Kombinasi dari kedua fraksi ini yang selanjutnya diberikan pada 4 kelompok perlakuan tikus jantan selama 28 hari untuk mengetahui pengaruhnya terhadap histopatologi hati pada tikus jantan.

4.1 Hasil

Hasil pengamatan mikroskopis diklasifikasikan tingkat kerusakan hepatositnya menurut *Knodell score* (Knodell, 1981) yang telah dimodifikasi, yang disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Skor kerusakan hati tiap kelompok setelah perlakuan selama 28 hari

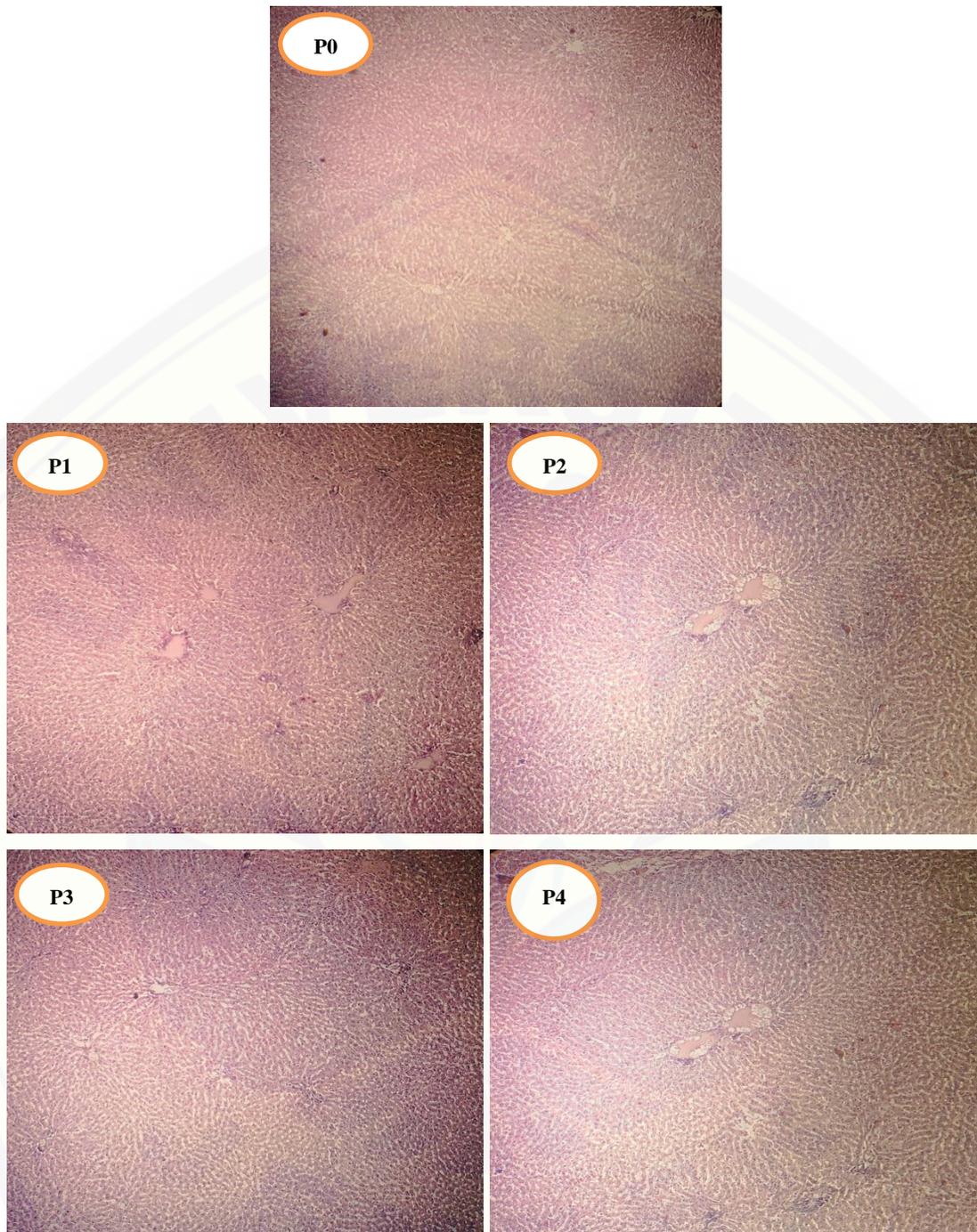
kelompok	N	Perlakuan	Skor
P0	5	Kontrol	1 ^a
P1	5	Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB	2 ^b
P2	4	Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB	1 ^a
P3	4	Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB	1 ^a
P4	4	Kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB	1 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda bermakna (p<0,005) dengan tingkat kepercayaan 95 %

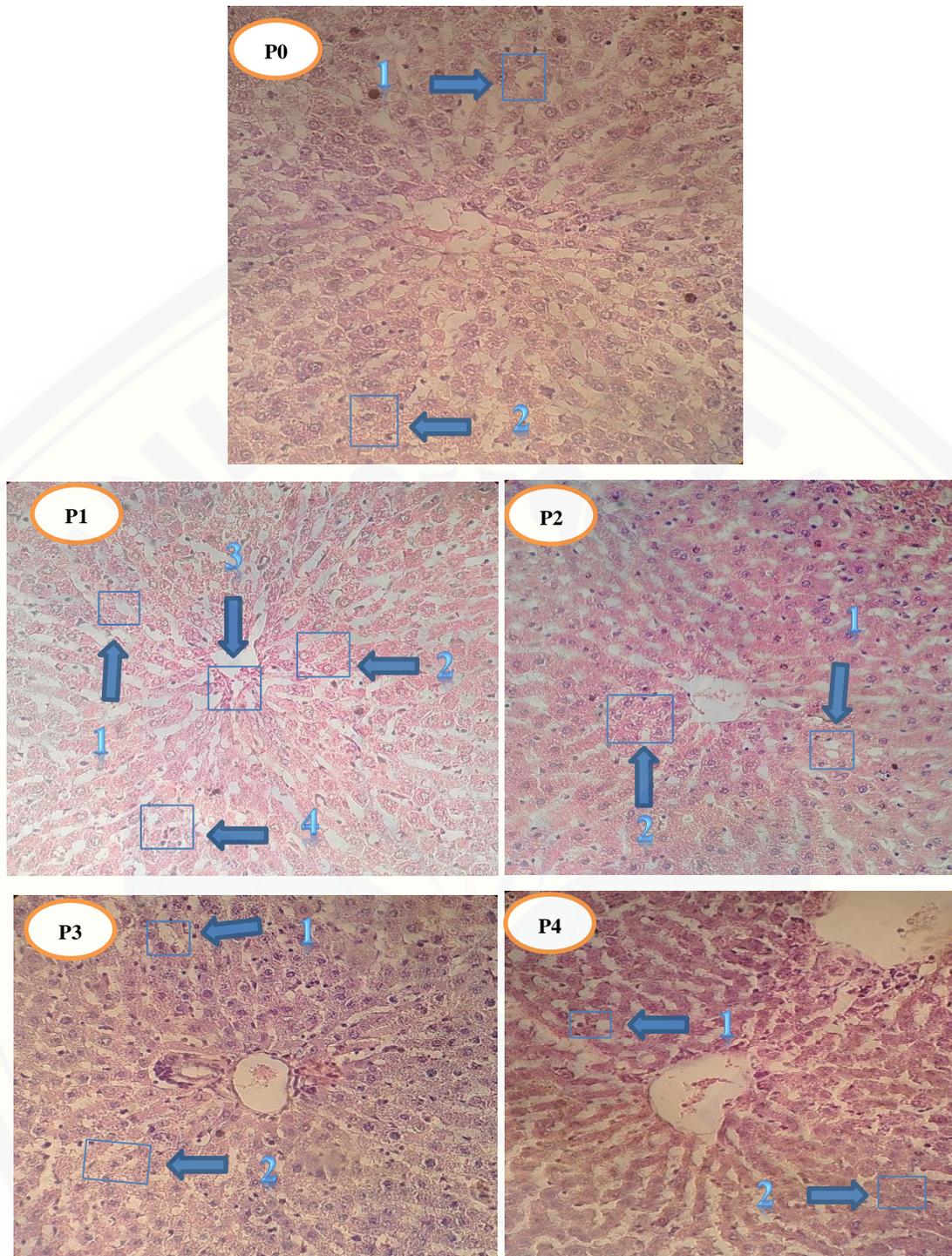
Uji statistik dilakukan menggunakan uji *Kruskall-Wallis* dengan tingkat kepercayaan 95%. Uji *Kruskall-Wallis* ini digunakan untuk mengetahui efek kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga dengan perbandingan dosis yang telah ditentukan terhadap skor histopatologi hati menurut kriteria *Knodell score* yang telah dimodifikasi. Hasil uji *Kruskall-Wallis* memperlihatkan nilai signifikansi pada total kerusakan hati $p = 0,045$ ($p < 0,05$), memiliki arti bahwa paling tidak terdapat perbedaan kerusakan secara bermakna pada dua kelompok perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna maka dilakukan uji Mann Whitney. Berdasarkan hasil uji Mann Whitney diperoleh nilai $p < 0,05$ untuk kelompok P1 (perlakuan 100 mg/kg BB fraksi kloroform biji pepaya : 75 mg/kg BB fraksi metanol biji saga) terhadap P0 (kontrol CMC Na 1%) dengan signifikansi 0,014. Hasil pengamatan preparat secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar 4.1 dan gambar 4.2.

Pada gambaran mikroskopis dengan perbesaran 100x (gambar 4.1) bertujuan untuk melihat letak struktur lobulus dalam keadaan normal atau tidak. Menurut Price dan Wilson (2005), setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hepar berbentuk kubus, tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Apabila terjadi kerusakan, maka letak sel hepar tidak tersusun secara radial lagi.

Pada gambaran mikroskopis dengan perbesaran 400x (gambar 4.2) bertujuan untuk melihat adanya perubahan struktur mikroanatomi berupa degenerasi hidrofik, degenerasi lemak, nekrosis dan apoptosis. Hal ini untuk mengetahui apakah organ hati tikus yang telah diberi perlakuan selama 28 hari terjadi kerusakan atau tidak, dan bersifat *reversible* atau *irreversible*.



Gambar 4.1. Gambaran mikroskopis hati potongan melintang setelah 28 hari perlakuan dengan pewarnaan HE (perbesaran 100x); P0. Kontrol (CMC Na 1%); P1. Fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kgBB : fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB; P2. Fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kgBB : fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB; P3. Fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB : fraksi metanol biji pepaya 75 mg/kgBB; P4. Fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB : fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB



Gambar 4.2. Gambaran mikroskopis hati potongan melintang setelah 28 hari perlakuan dengan pewarnaan HE (perbesaran 400x); P0. Kontrol (CMC Na 1%); P1. Fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kgBB : fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB; P2. Fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kgBB : fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB; P3. Fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB : fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB; P4. Fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB : fraksi metanol biji saga 80 mg/kgBB; 1. Degenerasi hidrofik; 2. Degenerasi lemak; 3. Nekrosis; 4. Apoptosis

4.2 Pembahasan

Hasil analisis uji Kruskal-Wallis untuk skoring kerusakan hati diperoleh nilai yang menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) antar kelompok yaitu dengan signifikansi $p = 0,045$. Untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Hasilnya menunjukkan bahwa kelompok P1 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok P0. Hal ini menandakan bahwa adanya pemberian kombinasi fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya dapat mempengaruhi histopatologi hati pada tikus jantan yaitu pada dosis 100 mg/kg BB fraksi kloroform biji pepaya : 75 mg/kg BB fraksi metanol biji saga.

Pengamatan preparat mikroanatomi hati menunjukkan perubahan struktur mikroanatominya. Perubahan struktur mikroanatomi yang diamati berupa degenerasi hidrofik, degenerasi lemak, nekrosis dan apoptosis (Wulandari *et al.*, 2007). Degenerasi hidrofik terjadi akibat adanya gangguan transport aktif yang mengakibatkan sel tidak mampu memompa ion Na^+ keluar sehingga konsentrasi ion Na^+ di dalam sel naik. Hal tersebut berpengaruh pada proses osmosis yang menyebabkan influks air ke dalam sel sehingga mengakibatkan sel menjadi membengkak seperti vakuola dan nukleus membesar, juga terlihat jelas granular-granular di dalam nukleus (Januar, 2014).

Degenerasi lemak dapat terjadi karena terganggunya metabolisme lemak, seperti adanya gangguan terhadap fungsi mitokondria, hipoksia yang menghambat oksidasi asam lemak yang masuk ke dalam sel atau dapat pula disebabkan malnutrisi protein sehingga mengganggu sintesis *lipid acceptor protein* yang membawa lipid keluar dari sel. Jika degenerasi lemak terus berlangsung, maka hepatosit dapat mengalami nekrosis (Wulandari *et al.*, 2007).

Nekrosis merupakan salah satu pola dasar kematian sel. Nekrosis terjadi setelah suplai darah hilang atau setelah terpajan toksin dan ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organel. Hal ini dapat menyebabkan disfungsi berat jaringan. Nekrosis dapat dikenali karena sel atau jaringan menunjukkan perubahan-perubahan tertentu baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Secara makroskopis jaringan nekrotik akan tampak keruh

(*opaque*), tidak cerah lagi, berwarna putih abu-abu. Secara mikroskopis, jaringan nekrotik seluruhnya berwarna kemerahan, tidak mengambil zat warna hematoxilin, sering pucat (Kumar *et al.*, 2007).

Apoptosis adalah mekanisme kematian sel yang terprogram yang penting dalam berbagai proses biologi. Berbeda dengan nekrosis, yang merupakan bentuk kematian sel sebagai akibat sel yang terluka akut, apoptosis terjadi dalam proses yang diatur sedemikian rupa yang secara umum memberi keuntungan selama siklus kehidupan suatu organisme. Pada apoptosis terjadi kematian sel yang terprogram dan membran inti tidak ruptur, dan inti mengalami fragmentasi yang kemudian mengirimkan sinyal kepada sel yang berada di dekatnya untuk difagosit (Winkler, 1999).

Seperti yang terlihat pada gambar 4.1, semua kelompok perlakuan masih mempunyai struktur lobulus yang normal, karena letak sel hepar tersusun secara radial. Pada gambar 4.2 memperlihatkan bahwa semua kelompok perlakuan mengalami perubahan-perubahan seperti degenerasi hidrofik, degenerasi lemak, nekrosis dan apoptosis, namun dalam tingkat yang berbeda. Tingkat kerusakan dinilai dengan skoring, semakin tinggi skor artinya semakin besar pula kerusakan yang terjadi. Pada P0 terlihat adanya perubahan berupa degenerasi hidrofik dan degenerasi lemak, namun masih dalam tingkat yang rendah (skor 0-1) dan tidak sampai terjadi nekrosis dan apoptosis. Hal ini terlihat sangat berbeda dengan gambaran pada P1, yang menunjukkan perubahan degenerasi lemak dan degenerasi hidrofik dalam tingkat yang tinggi (skor 1-3) dan terjadi nekrosis dalam tingkat rendah (skor 0-1). Untuk kelompok P2 dan P4 perubahan yang terjadi tidak jauh berbeda dengan kelompok P0, karena perubahan yang terjadi masih dalam tingkat yang rendah. Pada P3 terjadi perubahan degenerasi lemak dan degenerasi hidrofik yang cukup tinggi (1-3), namun belum sampai terjadi nekrosis dan apoptosis. Berdasarkan gambaran secara mikroskopis tersebut dapat dikatakan bahwa kelompok yang mengalami perubahan yang paling besar terjadi pada P1 yaitu kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 75 mg/kgBB, dan yang paling baik adalah

kelompok P0 yaitu kontrol dan kelompok P4 yaitu kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB.

Ekstrak kloroform pada biji pepaya mengandung alkaloid, tanin, dan antraquinon, sehingga diduga pada fraksi kloroform biji pepaya mengandung semua senyawa tersebut (Eke *et al.*, 2014). Ekstrak metanol pada biji saga ditemukan mengandung abrin. Pelarut metanol merupakan pelarut polar dan pelarut tersebut digunakan untuk mendapatkan senyawa polar seperti asam amino dan derivatnya yaitu abrin (Ratnasooriya *et al.*, 1991). Berdasarkan kandungannya, kombinasi ini mengandung saponin, abrin, flavonoid, steroid, dan tannin pada biji saga dan kandungan enzim, alkaloid, protein, dan senyawa lain pada biji pepaya (Muslichah dan Wiratmo, 2014). Kandungan abrin pada biji saga diketahui dapat menyebabkan degradasi polyribosome dari hati. Namun abrin tidak memiliki efek langsung pada integritas struktural dan fungsional polyribosome tetapi bertindak secara tidak langsung dengan meningkatkan aktivitas RNAase di fraksi post mikrosomal supernatan dari hati atau sel tumor *Ehrlich's Ascites Carcinoma* (EAC) (Lin *et al.*, 1972). Menurut Bagaria *et al* (2006), selain menghambat sintesis protein, abrin juga dapat menginduksi terjadinya apoptosis melalui jalur kematian sel dari mitokondria. Pada biji pepaya juga terdapat kandungan yang bersifat toksik, yaitu karpain. Menurut Ayotunde dan Ofem (2008), zat beracun yang disebut karpain ada dalam biji hitam pepaya. Hal ini yang menyebabkan kelompok P1 terjadi kerusakan yang paling besar dibanding kelompok perlakuan yang lain, karena P1 merupakan kombinasi dengan dosis tertinggi dari fraksi kloroform biji pepaya dan fraksi metanol biji saga.

Perubahan mikroanatomi dari semua preparat tidak terjadi kerusakan yang parah yang bersifat *irreversibel*. Kerusakan yang bersifat *irreversibel* terjadi pada sel yang mengalami nekrosis, kerusakan ini tidak dapat lagi kembali seperti semula. Pada titik akhir nekrosis, sel akan mengalami kematian. Perubahan degeneratif adalah perubahan yang prosesnya bersifat reversibel yaitu dapat kembali seperti semula, artinya jika rangsangan yang menyebabkan kerusakan sel dihentikan, maka sel akan kembali sehat seperti saat sebelum diberi rangsangan (Majno *et al.*, 1960). Seperti yang terjadi pada kelompok P1, meskipun pada kelompok P1 terjadi perubahan

degenerasi hidrofik dan degenerasi lemak yang paling besar namun kerusakan selnya masih termasuk dalam kerusakan yang rendah dan bersifat *reversibel*. Hal ini karena menurut Adeneye *et al* (2009), adanya kandungan flavonoid atau alkaloid dalam biji pepaya dapat berefek sebagai hepatoprotektif, karena merupakan antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas penyebab adanya kerusakan sel. Hal ini sesuai dengan tujuan awal dari dilakukannya kombinasi antara fraksi kloroform biji pepaya dan fraksi metanol biji saga yaitu untuk meningkatkan aktivitasnya sebagai agen antifertilitas sekaligus dapat menurunkan efek toksisitasnya.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh maka dapat diambil kesimpulan bahwa kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dengan fraksi metanol biji saga mempengaruhi histopatologi hati pada tikus jantan, dan pada kombinasi fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kgBB dengan fraksi metanol biji saga 50 mg/kgBB mempunyai tingkat kerusakan yang paling rendah dibanding kelompok perlakuan lain.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil dan kesimpulan yang diperoleh, penulis menyarankan perlu dilakukan skrining atau isolasi untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam fraksi kloroform biji pepaya dan fraksi metanol biji saga yang berkaitan dengan terjadinya kerusakan jaringan pada hati.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu, S.M., Manirul, H.A., Majid, M.A., dan Anwarul, I.M. 2010. Antifertility Studies on Ethanolic Extract of *Abrus precatorius* L on Swiss Male Albino Mice. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 3(11): 288-292.
- Adeneye, A.A., Olagunju, J.A., Banjo, A.F., Abdul, S.F., Sanusi, O.A., Sanni, O.O., Osarodion, B.A., dan Shonoiki, O.E. 2009. The aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. prevents carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *International Jurnal Appl. Res. Nat. Prod.* 2, 19–32.
- Angelina, M., Hartati, S., Dewijanti, I.D., Banjarnahor, S.D.S., dan Meilawati, L. 2008. Penentuan LD50 Daun Cinco (*Cyclea barbata* Miers.) pada Mencit. *Makara Sains*. Vol 12(1): 23-26.
- Ayotunde, E.O dan Ofem, B.O. 2008. Acute and chronic toxicity of pawpaw (*Carica papaya*) seed powder to adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linne 1757). *Afr. J. Biotechnol.* 7.
- Ariens, E.J. 1986. *Toksikologi Umum Pengantar*. Diterjemahkan oleh: Wattimena, J.R. Gadjah Mada Univ. Press, Yogyakarta.
- Bagaria, A., Surendranath, K., Ramagopal, U.A., Ramakumar, S., dan Karande, A.A. 2006. Structure-Function Analysis and Insights Into The Reduced Toxicity of *Abrus precatorius* Agglutinin I in Relation to Abrin. *The Journal of Biological Chemistry*. 281(45):34465–34474.
- Bhatt, N., S.L. Chawla., dan M.V. Rao. 2007. Contraceptive Evaluation of Seed Extract of *Abrus Precatorius* (L.) in Male Mice (*Mus Musculus*). *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. Vol 1 (1) : 47-50.
- BKKBN, 2013. <http://www.bkkbn.go.id/ViewBerita.aspx?BeritaID=829> [20 September 2014]
- Bowen, R. 1998. Hepatic Histology: Hepatocytes. URL http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/liver/histo_hcytes.html., Tanggal akses 3 April 2015.
- Bowen, R. 2001. The Liver: Introduction and Index. URL <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/liver/index.htm>., Tanggal akses 3 April 2015).

- BPOM, 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, BPOM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.
- Chinoy dan George. 1983. *Induction of functional sterility in male rats by low dose Carica papaya seeds extract treatment*. Dep. of spesial Assistance and Consistsin Zoology, School of Science, Gujarat University, Ahmedabad., India.
- Chinoy, Souza, dan Padman. 1994. Effect of crude aqueous extract of Carica papayaseeds in male albino mice. *Indian J.Exp.*
- Durham, W.F. 1975. *Toxicity in N.I. Sax (ed): Dangerous Properties of Industrial Materials*. Van Nostrand Reinhold Co. New York.
- Eke, O.N., Augustine, A.U., dan Ibrahim, H.F. 2014. Qualitative Analysis of Phytochemicals and Antibacterial Screening of Extracts of *Carica papaya* Fruits and Seeds. *International Journal of Modern Chemistry*. 2014;6(1):48–56.
- Hanifah, L. 2008. *Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (Carica Papaya. L) Terhadap Tingkat Nekrosis Epitel Glomerulus dan Tubulus Ginjal Mencit (Mus Musculus) yang Diinduksi CCl4 (Karbon Tetraklorida)*. Universitas Islam Negeri Malang.
- Hendriani, R. 2007. *Uji Toksisitas Subkronis Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia Linn.) Dan Rimpang Jahe Gajah (Zingiber officinale Rosc.) Pada Tikus Wistar*. Universitas Padjadjaran, Jatinagor.
- Herrera CL., Ramos EV., dan Villanueva BA. 1984. Philippine Plants as Possible Sources of Antifertility Agents. *Philippine J Sci*; 91-129.
- Hidayat, S. 2009. *Seri Tumbuhan Obat Berpotensi Hias 2*. Elex Media Komputindo.
- Januar, R. 2014. Struktur Mikroskopis Hati Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Akibat Pemberian Ekstrak Tanaman *Tristaniopsis whiteana* Griff. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam* 1, 10.
- Knodell RG., Ishak KG., dan Black WC. 1981. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in symptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-5.
- Kothari., Lohiya M., Mishra dan Pathak. 2003. *Human Sperm Immobilization Effect of Carica papaya Seed Extrac: an invitro study*, <http://www.ansci.cornell.edu/plants/medicinal/papaya>., Tanggal akses 23 September 2014).

- Kumar, V., Ramzi S. C., dan Stanley L. R. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins, Ed.7, Vol.1*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lin, J.Y., Pao, C.C., Ju, S.T., dan Tung, T.C. 1972. Polyribosome Disaggregation in Rat Liver following Administration of the Phytotoxic Proteins, Abrin and Ricin. *Cancer Res.* 32, 943–947.
- Lohiya, N.K., Goyal, R.B., Jayaprakash, D., Sharma, S., Kumar, M., dan Ansari, A.S. 1992. Induction of Reversible Antifertility with a Crude Ethanol Extract of *Carica papaya* Seeds in Albino Male Rats. *International Journal of Pharmacognosy*. Vol. 30 (4): 308- 320.
- Lohiya, N.K., Manivanan, B., Mishra, P.K., Pathak, N., Bhande, S.S., dan Panneerdoss, S. 2002. Chloroform Extract of *Carica papaya* Seeds Induces Long-term Reversible Azoospermia in Langur Monkey. *Asian Journal of Andrology*. Vol. 4 (1): 17- 26.
- Loomis, T.A. 1978. *Toksikologi Dasar*. Diterjemahkan oleh : Donatus, I.A., Edisi III. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Lu, F.C. 1995. *Patologi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Narayanan, S., Surolia, A., dan Karande, A.A. 2004. Ribosome-inactivating Protein and Apoptosis : Abrin Causes Cell Death Via Mitochondrial Pathway in Jurkat Cells. *Journal of Biochemical*. Vol (377) : 233-240.
- Pearce, E.C. 2009. *Anatomi Dan Fisiologi Untuk Paramedis*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Prathyusha, P., Subramanian M.S., dan Sivakumar R. 2010. Pharmacognostical Studies on White and Red Forms of *Abrus precatorius* Linn. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. Vol 1 (4) : 476-480.
- Ratnasooriya, W.D., Amarasekera, A.S., dan Ananda, U. 1991. Effect of Methanolic Extract of *Abrus precatorius* Seeds on Fertility of Female Rats. *Vidyodaya Journal Science*. 3(2): 41-46.
- Ross, I. A. 2003. Chemical Constituents, Traditional and Modern Uses. *Medicinal Plants of the World*. Vol 1 (15) : 15-31.
- Satriyasa, B.K. 2008. Fractions of The Hexane Extract of Young *Carica papaya* Seeds can Inhibit Spermatogenesis in Male Mice More Than Fraction of The Methanol Extract of Young *Carica papaya* seeds. *Indonesian Journal Biomedical Science*. 2.

- Spector, W. G. 1993. *Pengantar Patologi Umum*. Terjemahan. Cetakan Ketiga. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sumaryati, A. 2004. *Tahun Ini KB Pria Mulai Digalakkan*. Badan Koordinator Keluarga Berencana Nasional. Available from: http://www.bkkbn.go.id/article_detail.php., Tanggal akses 20 September 2014.
- Sunarjono, H. 2006. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Niaga Swadaya.
- UNSRI, Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran. 2009. *Kumpulan Kuliah Farmakologi*. EGC.
- USDA, NRCS. 2014. The PLANTS Database (<http://plants.usda.gov>, 12 November 2014). National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA.
- Wahyono, Hakim, L., Nurlaila, Sulistio, M., dan Ilyas, R. 2007. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanolik Terstandar dari Kulit Akar Senggugu (*Clerodendru serratum* L. Moon). *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol 18(1): 1 -7.
- Winkler, J. 1999. *Apoptosis and Inflammation*. Springer Science & Business Media.
- Wulandari, T., Harini, M., dan Listyawati, S. 2007. *Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Diazinon*.

LAMPIRAN**Lampiran A. Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi****A1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kloroform Biji Pepaya**

Bobot simplisia biji pepaya = 750 gram

Volume metanol yang digunakan = $\frac{6 \text{ ml}}{1 \text{ g}} \times 750 \text{ g} = 4,5 \text{ liter}$

Berat ekstrak yang diperoleh = 67,64 gram

Rendemen yang diperoleh = $\frac{67,64}{750} \text{ g} \times 100 \% = 9,02 \%$

A.2. Perhitungan Rendemen Fraksi Kloroform Biji Pepaya

Berat ekstrak metanol = 62,64 gram

Berat fraksi kloroform = 28,59 gram

Rendemen fraksi Kloroform = $\frac{28,59}{750} \text{ gram} \times 100 \% = 3,812\%$

A.3. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Biji Saga

Bobot simplisia biji saga = 500 gram

Volume metanol yang digunakan = $\frac{7 \text{ ml}}{1 \text{ g}} \times 500 \text{ g} = 3,5 \text{ liter}$

Berat ekstrak yang diperoleh = 78,87 gram

Rendemen yang diperoleh = $\frac{78,87}{500} \text{ g} \times 100 \% = 7 \%$

A.4. Perhitungan Rendemen Fraksi Metanol Biji Saga

Berat ekstrak metanol = 78,87 gram

Berat fraksi kloroform = 35,21 gram

Rendemen fraksi Kloroform = $\frac{35,21}{500} \text{ g} \times 100 \% = 7,042\%$

Lampiran B. Perhitungan volume dan dosis pemberian sediaan Uji**B.1 Sediaan Kontrol**

Menggunakan Suspensi CMC Na 1 % b/v

B.2 Dosis sediaan uji perlakuan 1

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram

Volume fraksi yang diberikan 2 ml

Fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kg BB : Fraksi metanol biji Saga 75 mg/kgBB

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah

$$\text{Fraksi kloroform biji pepaya} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ gram} = 20 \text{ mg dalam 2 ml suspensi}$$

Jadi untuk 50 ml = 500 mg

$$\text{Fraksi Metanol biji saga} = \frac{75 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ gram} = 15 \text{ mg dalam 2 ml suspensi}$$

Jadi untuk 50 ml = 375 mg

B.3 Dosis sediaan uji perlakuan 2

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram

Volume fraksi yang diberikan 2 ml

Fraksi kloroform biji pepaya 100 mg/kg BB : Fraksi metanol biji Saga 50 mg/kgBB

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah

$$\text{Fraksi kloroform biji pepaya} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ gram} = 20 \text{ mg dalam 2 ml suspensi}$$

Jadi untuk 50 ml = 500 mg

$$\text{Fraksi Metanol biji saga} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ mg dalam 2 ml suspensi}$$

Jadi untuk 50 ml = 250 mg

B.4 Dosis sediaan uji perlakuan 3

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram

Volume fraksi yang diberikan 2 ml

Fraksi kloroform biji pepaya 50 mg/kg BB : Fraksi metanol biji Saga 75 mg/kgBB

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah

$$\text{Fraksi kloroform biji pepaya} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ mg dalam 2 ml suspensi}$$

Jadi untuk 50 ml = 250 mg

$$\text{Fraksi Metanol biji saga} = \frac{75 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ gram} = 15 \text{ mg dalam 2 ml suspensi}$$

Jadi untuk 50 ml = 375 mg

B.5 Dosis sediaan uji perlakuan 4

Misal volume pemberian pada tikus 200 gram

Volume fraksi yang diberikan 2 ml

Fraksi klorofom biji pepaya 50 mg/kg BB : Fraksi metanol biji Saga 50 mg/kgBB

Jadi untuk tikus dengan bobot 200 gram, berat sediaan yang diberikan adalah

Fraksi kloroform biji pepaya = $\frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ mg}$ dalam 2 ml suspensi

Jadi untuk 50 ml = 250 mg

Fraksi Metanol biji saga = $\frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ mg}$ dalam 2 ml suspensi

Jadi untuk 50 ml = 250 mg

Lampiran C. Tabel hasil skoring kerusakan hati berdasarkan *Knodell score*

Kelompok	Degenerasi Hidrofik	Degenerasi lemak	Nekrosis	Apoptosis	Rata-rata skor
P0	2	0	1	0	1
P0	1	0	0	0	0
P0	1	0	0	0	0
P0	1	2	0	0	1
P0	0	2	0	0	1
P1	3	3	0	0	2
P1	1	2	0	0	1
P1	3	2	1	0	2
P1	3	3	0	0	2
P1	2	2	1	0	2
P2	1	1	0	0	0
P2	1	0	0	0	0
P2	2	2	1	0	2
P2	1	2	0	0	1
P3	3	0	0	0	1

P3	1	1	0	0	1
P3	3	2	0	0	1
P3	2	2	0	0	1
P4	1	2	0	0	1
P4	0	2	0	0	1
P4	0	2	0	0	1
P4	1	2	0	0	1
P4	1	0	0	0	0

Lampiran D. Hasil analisis statistik

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1,00	,674	0	2
kelompok	22	2,05	1,463	0	4

Kruskal-Wallis

Ranks

kel...	N	Mean Rank
skor 0	4	7.25
1	5	18.30
2	4	9.38
3	4	11.50
4	5	9.80
Total	22	

Test Statistics^{a,b}

	skor
Chi-Square	9,765
df	4
Asymp. Sig.	,045

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 0	5	3.30	16.50
1	5	7.70	38.50
Total	10		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 0	5	4.90	24.50
2	4	5.12	20.50
Total	9		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	9.500
Wilcoxon W	24.500
Z	-.134
Asymp. Sig. (2-tailed)	.893
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.905 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 0	5	4.20	21.00
3	4	6.00	24.00
Total	9		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.352
Asymp. Sig. (2-tailed)	.176
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.413 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 0	5	5.00	25.00
4	5	6.00	30.00
Total	10		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 1	5	6.30	31.50
2	4	3.38	13.50
Total	9		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	13.500
Z	-1.762
Asymp. Sig. (2-tailed)	.078
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.111 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 1	5	6.60	33.00
3	4	3.00	12.00
Total	9		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-2.263
Asymp. Sig. (2-tailed)	.024
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.063 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 1	5	7.60	38.00
4	5	3.40	17.00
Total	10		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-2.425
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 2	4	4.00	16.00
3	4	5.00	20.00
Total	8		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.667
Asymp. Sig. (2-tailed)	.505
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 2	4	4.75	19.00
4	5	5.20	26.00
Total	9		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-.274
Asymp. Sig. (2-tailed)	.784
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.905 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	23	1.00	.674	0	2
kelompok	23	1.96	1.492	0	4

Mann-Whitney

Ranks

kel...	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 3	4	5.50	22.00
4	5	4.60	23.00
Total	9		

Test Statistics^b

	skor
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-.894
Asymp. Sig. (2-tailed)	.371
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.730 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

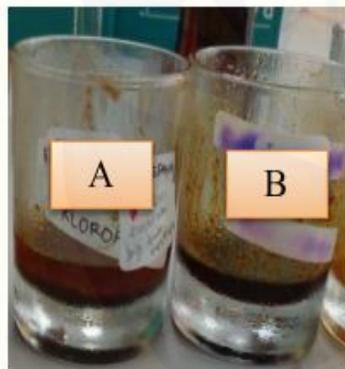
Lampiran E. Dokumentasi penelitian



Biji Saga



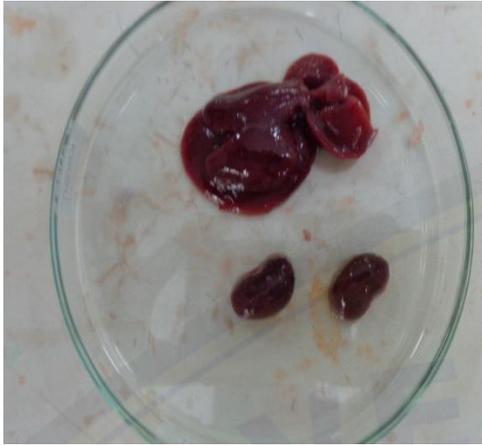
Biji Pepaya



a. Fraksi Kloroform Biji Pepapaya
b. Fraksi Metanol Biji Saga



Proses Pembedahan Tikus



Organ hati



Proses fiksasi



Proses pembenangan dan pembedaan



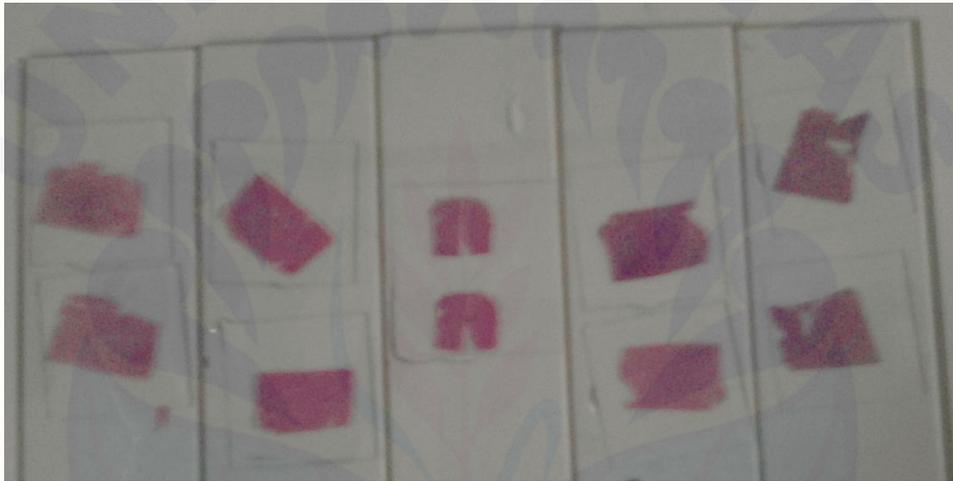
Proses pengecoran



Proses pemotongan jaringan



Proses pewarnaan



Preparat hati

