



**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL BATANG KAYU
KUNING (*Arcangelisia flava* L Merr) TERHADAP SGOT, SGPT dan
HISTOPATOLOGI HATI PADA HEWAN UJI MENCIT BETINA GALUR
Balb/c**

SKRIPSI

**Oleh
Nur Marlinah
NIM 132210101078**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL BATANG KAYU
KUNING (*Arcangelisia flava* L Merr) TERHADAP SGOT, SGPT dan
HISTOPATOLOGI HATI PADA HEWAN UJI MENCIT BETINA GALUR
Balb/c**

SKRIPSI

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

Oleh
Nur Marlinah
NIM 132210101078

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Maha Besar Allah S.W.T atas segala berkah yang dilimpahkan dalam setiap langkah;
2. Bangsa Indonesia atas segala kenyamanan dan keindahan yang diberikan;
3. Ibu. Selalu dan selamanya;
4. Segenap keluarga besar yang senantiasa memberikan semangat, dukungan dan motivasi;
5. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bapak/Ibu Guru SMAN 1 Majenang, SMP Negeri 2 Majenang, SD Negeri 04 Mulyasari dan TK Rodlotussibyan;
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTTO

Allah does not force anyone beyond what is within his capacity. Everyone will get the reward he earns and will be responsible for the evil he does.

(terjemahan Qur'an surat Al Baqarah 2:286)

To Him belongs the dominion; to Him belong [all] praise; and He has power over all things competent.

(terjemahan Qur'an surat At-Taghabun 64:11)

You Only Live Once

RINGKASAN

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia Flava* (*L*) *Merr*) terhadap SGOT, SGPT, dan Histopatologi Hati Mencit Betina Galur Balb/c.

Nur Marlinah, 132210101078; 2017; 73 halaman Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Pengobatan herbal tradisional merupakan pengobatan yang berasal dari alam, zat yang diperoleh dari tumbuhan tanpa mengalami proses pengolahan industri atau hanya mengalami proses pengolahan industri sederhana. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat herbal tradisional adalah tanaman kayu kuning. Tanaman kayu kuning merupakan salah satu tanaman herbal yang potensial, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai kadar toksisitasnya. Salah satu tahapan dalam pengujian toksisitas adalah uji toksisitas akut oral. Berkaitan dengan tujuan uji toksisitas akut oral yakni menentukan organ sasaran, salah satu organ yang berpotensi mengalami ketoksikan adalah organ hati, dimana sebagian besar obat akan mengalami metabolisme di dalam hati khususnya obat – obat yang rute pemberiannya oral. Terdapat berbagai macam metode yang dapat diterapkan dalam melaksanakan uji toksisitas akut oral, salah satu metode uji toksisitas adalah uji toksisitas dengan metode OECD 423.

Telah dilakukan penelitian uji toksisitas akut pada tanaman kayu kuning namun dalam bentuk ekstrak air rebusannya. Pelarut ekstrak yang berbeda akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan senyawa kimia yang berbeda pula. Oleh sebab itu, untuk mengetahui keamanan penggunaan dan sebagai dasar pemilihan dosis pada uji aktivitas dilakukan uji toksisitas akut ekstrak metanol batang kayu kuning menggunakan metode OECD 423. Pengamatan ketoksikan dilakukan dengan melihat hasil histopatologi organ hati dan peningkatan aktivitas SGOT dan SGPT.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental laboratory*. Sampel yang digunakan adalah mencit putih betina (*Mus musculus*) galur Balb/c dengan jumlah sampel 9 ekor mencit yang terbagi dalam 3 kelompok yakni kelompok kontrol normal, kelompok perlakuan dosis 2.000 mg/kg BB dan kelompok perlakuan dosis 5.000 mg/kg BB. Pada penelitian ini digunakan dosis awal 2.000 mg/kg BB ekstrak metanol batang kayu kuning. Ekstrak diberikan pada kelompok perlakuan, sedangkan kelompok kontrol normal diberikan CMC Na 1%. Keseluruhan kelompok diamati selama 14 hari. Pada hari pertama dilakukan pengambilan sampel darah setelah 24 jam pemaparan untuk melihat nilai SGPT dan SGOT. Selain itu, setelah 14 hari pengamatan hewan uji di ambil sampel darahnya dan di bedah untuk diambil organ heparnya. Pengamatan histopatologi hepar dilakukan dengan metode *scoring Manja Roenigk*. Analisis data yang digunakan untuk nilai SGPT-SGOT adalah *One way ANOVA* sedangkan analisis data yang digunakan untuk hasil skoring histopatologi dianalisis dengan Mann Whitney. Dari hasil penelitian diperoleh kisaran nilai potensi ketoksikan akut oral (*LD₅₀ cut-off*) ekstrak metanol batang kayu kuning adalah lebih besar dari 5.000 mg/kg BB yang merupakan kategori 5 atau tidak terklasifikasi menurut *Globally Harmonised Classification System* (GHS). Berdasarkan hasil analisis statistik tidak terdapat adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol normal dan kelompok

dosis 2.000 mg/kg BB baik dalam SGOT, SGPT, maupun histopatologi. Perbedaan yang signifikan terdapat pada nilai SGPT antara kelompok kontrol dan kelompok dosis 5.000 mg/kg BB baik pada pengukuran 24 jam maupun 14 hari. Pengukuran kadar SGPT menunjukkan perbedaan yang signifikan pada hari ke 14 antara kelompok normal dan kelompok dosis 5.000 mg/kg BB. Hasil analisis histopatologi kerusakan hepar tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan untuk semua kelompok, namun kerusakan sel hepatosit mengalami peningkatan sejalan dengan peningkatan dosis.



PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia Flava* (L) Merr) terhadap SGOT, SGPT, dan Histopatologi Hati Mencit Betina Galur Balb/c . Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Si selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Nia Kristiningrum S.Farm., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ema Rachmawati S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dewi Dianasari, S.Farm.,M.Farm.,Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang senantiasa sabar dalam membimbing serta meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini;
4. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bimbingan serta bantuannya selama ini;
5. Ibunda Nurjayanti tercinta yang menjadi motivasi utama penulis menyelesaikan tugas akhir, yang senantiasa berada di setiap jejak langkah penulis, dan yang namanya selalu menjadi daftar pertama dalam setiap doa;
6. Ayahanda Parlan tercinta yang belum sempat dibahagiakan oleh penulis;
7. Eko Wahyu Hidayat, Ganjar Dwi Nugroho ,kakak yang menggantikan sosok ayah bagi penulis dan senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan motivasi dalam setiap langkah penulis;
8. Atik Widiastuti, Aprilia Swastiana, kakak perempuan yang selalu menjadi rujukan penulis dalam setiap langkah pengambilan keputusan hidup penulis dan senantiasa memberikan dukungan, motivasi, serta kasih sayang untuk penulis;

9. Bapak Yanto Haryanto dan Ibu Ruswati yang selalu menjadi tokoh inspiratif untuk penulis dan senantiasa membimbing, memotivasi, dan memberikan banyak dukungan serta kasih sayang untuk penulis;
10. Eti Tri Y, Gilang Pranaja S, Shafira Azzahra, Dinda Sekar M yang membuat masa kecil penulis penuh kenangan dan yang senantiasa memberi dukungan bagi penulis baik dalam keadaan senang maupun sedih;
11. Ayah Nanang dan Bunda Oetari serta Bapak Budhi dan Ibu Margawati yang menjadi sosok orangtua bagi penulis di tempat penulis menempuh pendidikan dan senantiasa memberikan dukungan dan motivasi untuk penulis selama penulis menempuh pendidikan di Jember;
12. Rekan kerja penelitian Raras Puspa Wicitra yang senantiasa mendampingi penulis selama penulis menempuh pendidikan di Universitas Jember.
13. Rekan – rekan *biomedic squad* meliputi : Mba Indri, Mba Dini, socorrex (ayunda, fara, edwin, sugi), porstex (nila, fergi, andra, risti), olympus (zulfiyah, wulan, wilda), biolyzer (PE dan laily), nina dan chita.
14. Keluarga Besar Kosan Ulmiah mba eka, mba sendi, mba siska, mba eli, mba dinda, mba aulia, mba nurika, diyah, dan nabila.
15. Seluruh anggota Majelis Permusyawaratan Mahasiswa, Badan Perwakilan Mahasiswa Fakultas Farmasi, UKM Asy-Syifa, KSR PMI Unit Universitas Jember dan UKM Karisma yang senantiasa memberikan pembelajaran yang sangat bermakna tentang organisasi.
16. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 19 Juli 2017

Penulis

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Nur Marlinah

NIM : 132210101078

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr) terhadap SGOT, SGPT, dan Histopatologi Hati Mencit Betina Galur Balb/c” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia menerima sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Juli 2017
Yang menyatakan

Nur Marlinah
132210101078

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr) terhadap SGOT, SGPT, dan Histopatologi Hati Mencit Betina Galur Balb/c Mencit Betina Galur Balb/c” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jumat, 19 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Ema Rachmawati S.Farm.,M.Sc.,Apt
NIP 198403082008012003

Dewi Dianasari S.Farm.,M.Farm.,Apt
NIP 198712082014042002

Tim Penguji

Penguji II

Penguji I

Endah Puspitasari S.Farm.,M.Sc.,Apt
NIP 198107232006042002

Diana Holiday S.F.,M.Sc.,Apt
NIP 197812212005012002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lesty Wulandari S.Si.,Apt.,M.Sc
NIP 197812212005012002

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
MOTTO	iv
RINGKASAN	v
PENGESAHAN	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	xvi
1.1. Latar Belakang	xvi
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Tumbuhan Kayu Kuning.....	4
2.1.1. Klasifikasi Tumbuhan.....	4
2.1.2. Persebaran Kayu Kuning	4
2.1.3. Morfologi Kayu Kuning	6
2.1.4. Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologis	7
2.2. Tinjauan Tentang Toksikologi	8
2.2.1. Uji toksisitas	8
2.2.2. Uji Toksisitas Akut	9
2.2.3. Uji Toksisitas Akut Oral Metode OECD 423.....	9
2.3. Tinjauan tentang Hati (Hepar)	12
2.4. Pola Morfologi Kerusakan Hepar.....	14
2.7. SGOT dan SGPT	14

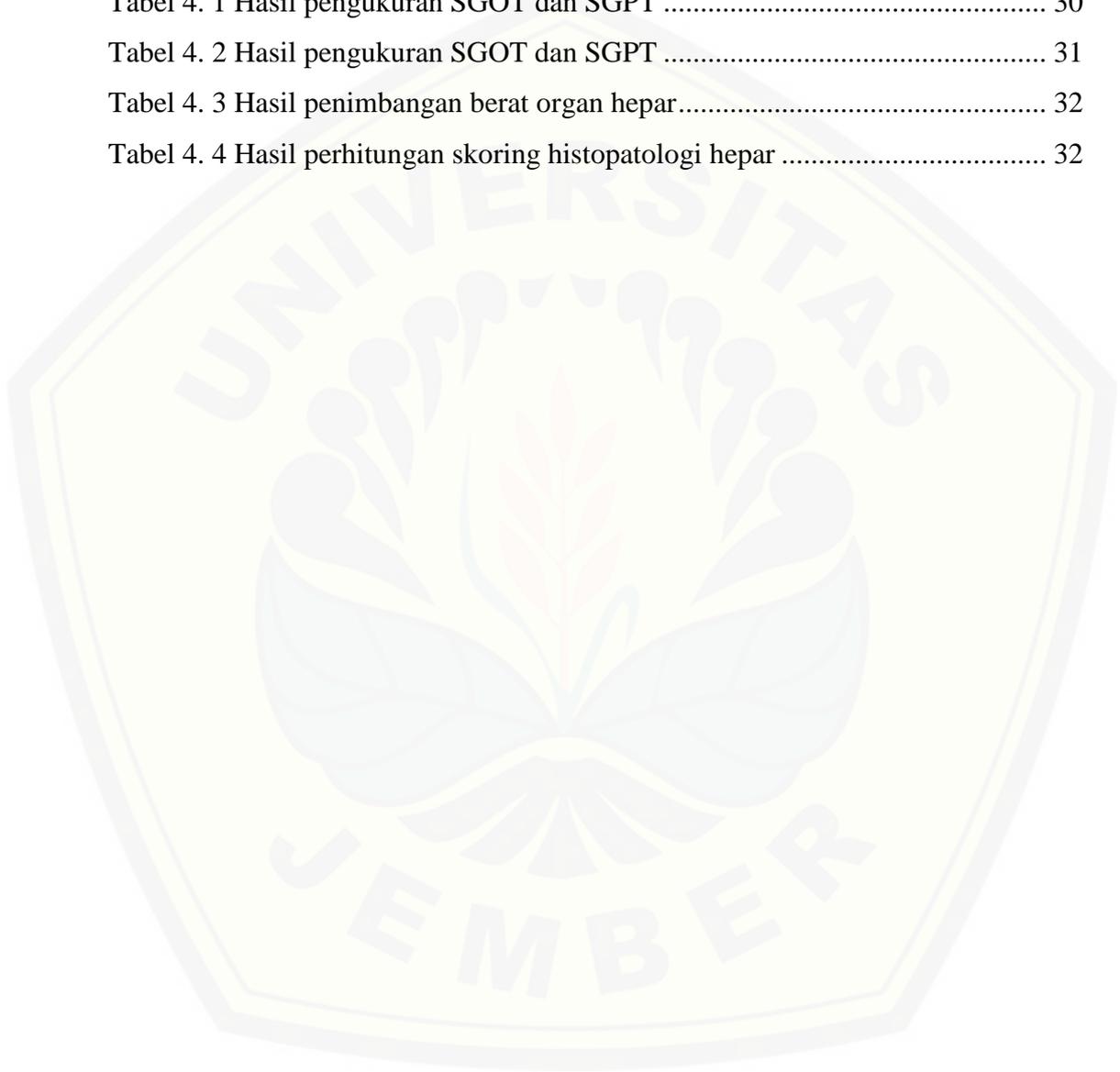
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	17
3.1. Jenis Penelitian	17
3.2. Rancangan Penelitian.....	17
3.3. Variabel Penelitian	18
3.4 Definisi Operasional	18
3.5. Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.6. Alat dan Bahan Penelitian	19
3.7. Prosedur Penelitian	19
3.8. Pengamatan Histopatologi Hepar	26
3.8. Pengukuran SGOT dan SGPT	24
3.10. Analisis Data	27
3.11. Alur Penelitian	27
BAB IV . HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1. Hasil	29
4.1.2. Penentuan LD ₅₀ Menggunakan Metode OECD 423	29
4.1.3. Pengukuran SGOT dan SGPT	30
4.1.4 Pengamatan Histopatologi Hepar	31
4.2. Pembahasan	34
BAB V . KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 Kayu kuning (<i>Arcangelisia flava</i> (L) Merr.).....	6
Gambar 2. 3 Gambaran mikroskopis kerusakan sel hepar.....	16
Gambar 3. 1 Skema rancangan penelitian.....	17
Gambar 3. 3 Skema proses ekstraksi	27
Gambar 3. 5 Skema perlakuan uji toksisitas akut	28
Gambar 4.1. Skema uji toksisitas akut yang dilakukan.....	34
Gambar 4.2. Penampang histopatologi organ hepar.....	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1. Tabel pengamatan histopatologi hati.....	27
Tabel 4. 1 Hasil pengukuran SGOT dan SGPT	30
Tabel 4. 2 Hasil pengukuran SGOT dan SGPT	31
Tabel 4. 3 Hasil penimbangan berat organ hepar.....	32
Tabel 4. 4 Hasil perhitungan skoring histopatologi hepar	32



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 4.1. Hasil Rendemen Ekstrak.....	44
Lampiran 4.2. Perhitungan Dosis Pemberian.....	45
Lampiran 4.3. Penimbangan Berat Konstan.....	47
Lampiran 4.4. Hasil Pengukuran Kadar SGOT Dan SGPT.....	48
Lampiran 4.5. Hasil Analisis Statistik SGOT 24 Jam.....	49
Lampiran 4.6. Hasil Analisis Statistik SGOT 14 Hari.....	50
Lampiran 4.7. Hasil Analisis Statistik SGPT 24 Jam.....	52
Lampiran 4.8. Hasil Analisis Statistik SGPT 14 Hari.....	54
Lampiran 4.9. Hasil Analisis Statistik Berat Organ.....	56
Lampiran 4.10. Hasil Penimbangan Berat Organ.....	57
Lampiran 4.10. Hasil Perhitungan Skoring Histopatologi Hati.....	58
Lampiran 4.11. Hasil Perhitungan Skoring Histopatologi Hati.....	5

BAB I. PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Obat tradisional merupakan warisan dari nenek moyang berakar kuat dalam budaya bangsa, oleh karena itu baik dalam ramuan maupun dalam penggunaannya sebagai obat tradisional masih berdasarkan pengalaman yang diturunkan dari generasi ke generasi baik secara lisan maupun tulisan (Ditjen PEN, 2014). Pengobatan herbal tradisional merupakan pengobatan yang berasal dari alam, zat yang diperoleh dari tumbuhan tanpa mengalami proses pengolahan industri atau hanya mengalami proses pengolahan industri sederhana. Penelitian lebih lanjut mengenai pengobatan herbal tradisional memainkan peran penting dalam pengobatan secara global (*Bulletin of the WHO*, 2008). Sebagian besar penduduk di negara-negara yang sedang berkembang masih terus menggunakan obat tradisional, terutama untuk pemenuhan kebutuhan kesehatan dasarnya. Indonesia merupakan negara tropis yang sudah dikenal sebagai penghasil berbagai macam komoditas hasil pertanian, termasuk di antaranya tanaman obat. Sekitar 80% sumber tanaman obat di dunia terdapat di hutan tropis Indonesia (Handa *et al.*, 2006). Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat herbal tradisional adalah tanaman kayu kuning.

Tanaman kayu kuning termasuk ke dalam marga *Arcangelisia* yang merupakan suku Menispermaceae. Bagian tanaman yang sering digunakan sebagai obat adalah batang dalam keadaan segar atau setelah dikeringkan. Tanaman kayu kuning memiliki kandungan kimia antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid (Maryani *et al.*, 2013). Secara empiris, masyarakat Indonesia memanfaatkan batang kayu kuning untuk pengobatan pasca persalinan, obat sakit kuning, penyakit dalam, dan sesak nafas (Mulyati *et al.*, 2006).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, tanaman kayu kuning dapat menurunkan indeks aterogenik, yang artinya tanaman tersebut memiliki potensi yang bagus untuk menjadi agen antiarteriosklerosis (Rahmawati *et al.*, 2016). Selain itu, kayu kuning juga memiliki aktivitas menurunkan kadar kolesterol total, antimikroba, dan antikanker (Maryani, 2015; Maryani *et al.*, 2013; Utami, 2016).

Tanaman kayu kuning merupakan salah satu tanaman herbal yang potensial, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai kadar toksisitasnya. Hal itu sesuai dengan ketentuan dalam Permenkes RI No. 88 Tahun 2013 yang mengharuskan adanya data uji keamanan bahan baku obat tradisional agar obat tradisional lebih mampu bersaing dengan obat modern dan secara medik lebih dapat dipertanggungjawabkan penggunaannya. Uji toksisitas bertujuan untuk memaparkan adanya efek toksik dan atau menilai batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan suatu senyawa (BPOM, 2014).

Salah satu tahapan dalam pengujian toksisitas adalah uji toksisitas akut oral. Tujuan uji toksisitas akut oral adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD₅₀ suatu bahan/sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/sediaan dan pelabelan (BPOM, 2014). Salah satu organ yang memiliki peran penting dalam perjalanan obat yang diberikan secara oral adalah organ hati, di mana sebagian besar obat akan mengalami metabolisme di dalam hati (Farmakologi dan Terapi, 2007). Terdapat berbagai macam metode yang dapat diterapkan dalam melaksanakan uji toksisitas akut oral, salah satu metode uji toksisitas yang adalah uji toksisitas dengan metode OECD 423. Metode tersebut banyak direkomendasikan karena membutuhkan jumlah hewan uji yang paling sedikit, yakni 3 ekor untuk setiap pengujian.

Sebuah penelitian uji toksisitas akut telah dilakukan terhadap ekstrak air rebusan kayu kuning untuk mengetahui nilai LD₅₀-nya. Pelarut ekstrak yang berbeda akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan senyawa kimia yang berbeda pula (Ijeoma *et al.*, 2015). Penelitian mengenai ekstrak metanol pada

batang kayu kuning belum pernah dilakukan, sehingga penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas akut ekstrak metanol kayu kuning terhadap histopatologi hati, SGOT dan SGPT mencit.

1.2.Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan dengan permasalahan sebagai berikut:

- a. Berapakah nilai kisaran LD₅₀ ekstrak metanol batang kayu kuning yang diinduksikan pada mencit betina galur Balb/c?
- b. Bagaimana pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak metanol batang kayu kuning terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit betina galur Balb/c?
- c. Bagaimana pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak metanol batang kayu kuning terhadap histopatologi organ hati mencit betina galur Balb/c ?

1.3.Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui nilai LD₅₀ ekstrak metanol batang kayu kuning yang diinduksikan pada mencit betina galur Balb/c.
- b. Mengetahui pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak metanol batang kayu kuning terhadap SGOT dan SGPT mencit betina galur Balb/c.
- c. Mengetahui pengaruh pemberian dosis tunggal ekstrak metanol batang kayu kuning terhadap histopatologi organ hati mencit betina galur Balb/c.

1.4.Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Dari hasil penelitian ini diharapkan memperoleh data ilmiah mengenai nilai LD₅₀ ekstrak metanol batang kayu kuning terhadap mencit.
- b. Memperkirakan risiko penggunaan ekstrak metanol batang kayu kuning pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis aman penggunaan ekstrak.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Kayu Kuning

2.1.1. Klasifikasi Tumbuhan

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Ranunculales
Suku	: Menispermaceae
Marga	: Arcangelisia
Jenis	: <i>Arcangelisia flava</i> Merr. (Tjitrosoepomo, 1998)

2.1.2. Persebaran Kayu Kuning

Kayu kuning atau *Arcangelisia flava* (L) Merr menyebar mulai dari Hainan, Indocina, Semenanjung Thailand Selatan, Malaysia, Sumatra Utara, Jawa Tengah, Kalimantan, Sulawesi Utara, dan Irian. Akar kuning tumbuh di dalam hutan pada daerah dengan ketinggian hingga 1000 mdpl dan kadang-kadang tumbuh di tepian sungai. Di dataran rendah Sulawesi, akar kuning tumbuh pada bukit berkapur (Kinho, 2011). Terdapat empat suku atau etnis di Indonesia yang menggunakan akar kuning sebagai obat penyakit kuning. Keempat etnis tersebut adalah Talang Mamak (Riau-Jambi), Anak Dalam (Jambi), Menado (Sulawesi Utara), dan Saluan (Sulawesi Tengah). Terdapat nama lokal yang berbeda untuk tumbuhan akar kuning. Pada etnis Talang Mamak akar kuning disebut dengan akar kuning, Anak Dalam menyebutnya akar kunyit, Menado menamainya tali kuning, dan Saluan memberinya nama mongko luwak (Kinho, 2011).

2.1.3. Morfologi Kayu Kuning



Gambar 2. 1 Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr.) (sumber : Kinho,2011)

Tumbuhan kayu kuning merupakan tumbuhan liana, dengan panjang dapat mencapai \pm 10 meter. Batang utama sebelum bercabang dua, batang tersebut mengandung air, bulat, membelit, kasar, berwarna coklat kehitaman, kayu berwarna kuning cerah, batang dan cabangnya liat, dalam batang berwarna kuning dan rasanya pahit (Kinho, 2011). Bentuk daun bulat telur sampai lonjong/elips yang meruncing di bagian ujung, tunggal, tersebar, berseling, tangkai silindris, pangkal membulat, panjang 10 – 20 cm, bentuk oval, ujung runcing, pangkal tumpul tepi rata, panjang 15 – 20 cm, lebar 10 – 16 cm, pertulangan menjari, permukaan licin, kaku, hijau cerah, permukaan daun hijau mengkilat (Forman, 1978). Perbungaan malai, terdapat pada batang tua atau ketiak daun dengan warna kuning pucat, Majemuk, terletak di ketiak daun, bentuk malai dengan daun penumpu, bunga sempurna, berkelamin ganda, kelopak berlepasan, bentuk segitiga, panjang 2 – 8 mm, hijau, benang sari jumlah 6, kepala sari bulat, kepala putik beruang 3, kuning, mahkota berlepasan, bentuk asimetris, 6 helai, halus, kuning (Ferguson, 1978).

Pada batang atau cabang–cabang yang besar terdapat tandan buah yang menggantung, buah berwarna kuning, kotak, berusuk 3, bulat, permukaan berbulu, hijau, terdiri atas daging buah yang berlendir dan biji besar pipih. Berbunga pada bulan Juli – September, pengumpulan bahan sebaiknya dilakukan pada musim kemarau. Sistem perakaran tumbuhan ini adalah akar tunggang berwarna kecoklatan (Jewvachdamrongkul, 1993).

2.1.4. Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologis

Tanaman kayu kuning mengandung beberapa senyawa kimia seperti alkaloid berberin dan terpenoid yang terdapat pada bagian batang, tangkai, daun, dan akar tanaman. Selain itu, dalam tanaman ini juga terdapat zat saponin dan flavonoid (Maryani, *et al.*, 2013). Ekstrak metanol daun kayu kuning diketahui memiliki kemampuan cukup efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida yang dapat dilihat dari besarnya persentase penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida yang dihasilkan. Pada setiap peningkatan dosis ekstrak, persentase penurunan kadar kolesterol total yang dihasilkan juga semakin meningkat, di mana dosis 750 mg/kg BB menunjukkan penurunan yang paling baik, yaitu sebesar 26,53% untuk kadar kolesterol total dan 24,00% untuk kadar trigliserida, dibandingkan dengan kontrol (-) masing-masing sebesar 36,85% dan 26,76% (Maryani, 2015).

Penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida ini disebabkan karena adanya kandungan berberin, saponin dan flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak metanol kayu kuning. Berberin bekerja sebagai agen hipolipidemik dengan jalan up-regulasi ekspresi *low-density lipoprotein receptor* (LDLR). LDLR merupakan reseptor yang bertugas untuk mengatur keseimbangan (homeostatis) kolesterol-LDL pada plasma yang terletak pada sel hepatosit manusia. Selain itu, signifikan menurunkan kadar kolesterol darah, trigliserida, LDL-kolesterol pada pasien hiperlipidemia, dan juga dapat menurunkan ekspresi gen *HMG-koA reduktase* (Maryani, 2015).

Flavonoid dapat menurunkan sintesis kolesterol dengan cara menghambat kerja dari HMG-KoA reduktase, yang merupakan enzim yang berperan dalam

pembentukan kolesterol di hati. Selain itu, flavonoid juga dapat menurunkan aktivitas enzim *acyl-coA cholesterol acyltransferase* (ACAT), yang merupakan enzim yang berperan dalam pengaturan absorpsi kolesterol di usus dan produksi lipoprotein di hati. Sedangkan mekanisme kerja saponin dalam menurunkan kadar kolesterol yaitu berikatan dengan asam empedu dan kolesterol (dari makanan) membentuk misel yang tidak dapat diserap oleh usus dan juga menghambat kerja dari enzim lipase (Maryani, 2015).

Penelitian lain menunjukkan batang kayu kuning memiliki aktivitas antifungal dalam bentuk ekstrak air nya. Pada penelitian tersebut, ekstrak air batang kayu kuning mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan nilai MIC 10mg/mL dan MCF 40mg/mL (Setyowati, *et al.*, 2014). Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan, tanaman kayu kuning terbukti memiliki banyak aktivitas, sehingga perlu dilakukan adanya penelitian mengenai pengujian toksisitas kayu kuning untuk mengetahui dosis aman penggunaannya.

2.2. Tinjauan Tentang Toksikologi

2.2.1. Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji.

Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia. Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* adalah: pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan; cara pemberian sediaan uji; pemilihan dosis uji; efek samping sediaan uji;

teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan (BPOM, 2014).

2.2.2. Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut dimulai melalui dosis tunggal senyawa uji pada hewan uji yang diberikan melalui jalur yang akan digunakan oleh manusia atau jalur yang memungkinkan manusia terpejani senyawa tersebut. Pengamatan dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus tertentu yakni 7 sampai 14 hari. Tolak ukur dari uji ini adalah tolak ukur kuantitatif dan kualitatif. Tolak ukur kualitatif meliputi penampakan klinis dan jumlah hewan yang mati (Donatus, 2001). Sedangkan, tolak ukur kuantitatif yakni berupa nilai LD_{50} yang dapat digunakan untuk potensi ketoksikan akut senyawa relatif terhadap senyawa lain, selain itu digunakan untuk memperkirakan takaran dosis uji toksikologi lainnya (Lu, 1995). LD_{50} adalah besaran yang diturunkan secara statistik dari senyawa kimia yang dapat menimbulkan atau menyebabkan kematian pada 50% hewan uji.

2.2.3. Uji Toksisitas Akut Oral Metode OECD 423

Metode yang pertama kali dikeluarkan oleh OECD adalah pedoman nomor 401 (*Acute Oral Toxicity*) yang merupakan metode tradisional. Metode ini menggunakan hewan uji rodensia baik tikus atau mencit dengan mengelompokkannya berdasarkan jenis kelamin yang sama ke dalam beberapa kelompok dosis yang telah ditetapkan. Tiap kelompok terdiri dari 5 hewan uji yang dipejani senyawa uji secara oral dan dengan dosis yang bertingkat. Untuk memperbaiki dan menggantikan metode OECD 401, OECD mengeluarkan pedoman nomor 420 (*Fixed Dose Procedure*), 423 (*Acute Toxic Class Method*), dan 425 (*Up and Down Procedure*). Semua metode tersebut menggunakan tikus atau mencit sebagai hewan uji dengan jenis kelamin betina. Hal ini karena hewan uji betina lebih sensitif dan untuk mengurangi jumlah hewan uji yang digunakan (OECD, 2001b).

Metode OECD 423 merupakan metode pengujian toksisitas yang dapat menentukan kisaran nilai dari LD_{50} . Untuk mengklasifikasikan tingkat toksisitas

dari senyawa yang diuji maka digunakan satu tingkat dosis tetap. Dengan menggunakan metode ini senyawa dapat dikategorikan menurut *Globally Harmonised Classification System* (GHS). Klasifikasi LD₅₀ pada *Globally Harmonized Classification System* (GHS) adalah sebagai berikut :

Kategori 1 Nilai LD₅₀ pada kisaran 0-5 mg/kg BB hewan uji

Kategori 2 Nilai LD₅₀ pada kisaran >25-50 mg/kg BB hewan uji

Kategori 3 Nilai LD₅₀ pada kisaran >200-300 mg/kg BB hewan uji

Kategori 4 Nilai LD₅₀ pada kisaran >500-2.000 mg/kg BB hewan uji

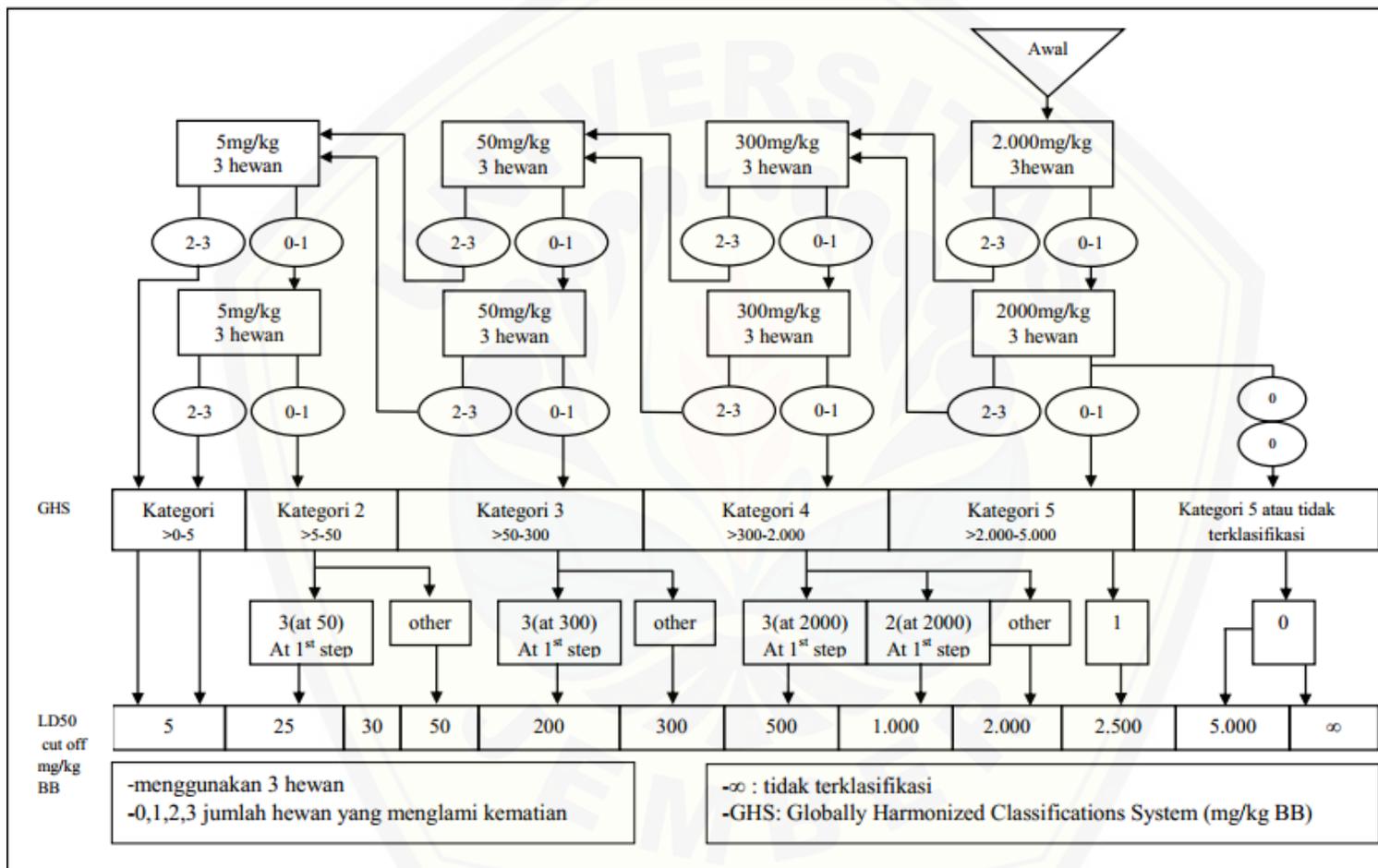
Kategori 5 Nilai LD₅₀ pada kisaran >2.500-5.000 mg/kg BB hewan uji

Kategori 5 atau tidak terklasifikasi Nilai LD₅₀ > 5.000 mg/kg BB hewan uji

(Sumber: United Nations, 2011)

Hewan uji yang sering digunakan adalah tikus, tapi dapat juga digunakan mencit. Hewan ini dipilih karena murah, mudah didapat, dan mudah ditangani. Selain itu juga terdapat banyak data toksikologi mengenai jenis hewan ini, sehingga lebih mudah dalam melakukan perbandingan toksisitas zat-zat kimia (Lu, 1995). Menurut OECD 423 hewan uji yang biasanya digunakan adalah betina karena betina umumnya lebih sensitif. Setiap hewan uji yang digunakan harus berusia antara 8 dan 12 minggu (OECD, 2001b). Aklimatisasi atau penyesuaian hewan uji terhadap lingkungan minimal dilakukan selama 5 hari.

Hewan uji seharusnya dipuasakan sebelum dilakukan pemejanaan dengan tidak diberikan makan namun tetap diberikan minum selama semalam (untuk tikus) atau 3-4 jam (untuk mencit). Makanan dapat diberikan kembali 3-4 jam setelah pemejanaan untuk tikus dan 1-2 jam setelah pemejanaan untuk mencit (OECD, 2001b). Dosis yang diberikan sama dengan dosis pada metode OECD 423 yaitu 5, 50, 300, dan 2.000 mg/kg BB. Dosis awal dipilih berdasarkan studi pengamatan dosis yang diharapkan menimbulkan kematian pada beberapa hewan uji. Jika informasi tersebut tidak tersedia maka digunakan dosis awal 300 mg/kg BB. Sedangkan jika informasi yang ada menunjukkan pada dosis tertinggi yaitu 2.000 mg/kg BB tidak mungkin ada kematian, maka uji batas harus dilakukan dan diberikan dosis 5.000 mg/kg BB jika masih memungkinkan untuk diberikan dengan hanya 1 kelompok saja (3 hewan uji) (OECD, 2001b).



Gambar 2. 2 Skema pengujian toksisitas akut berdasarkan *guideline* OECD 423

Hewan uji diamati secara individual setelah pemberian dosis pada 30 menit pertama dilanjutkan secara periodik selama 24 jam pertama dengan pengamatan secara intensif selama 4 jam setelah pemejanan dan dilanjutkan pengamatan setiap hari sesering mungkin selama 14 hari. Pengamatan tersebut dilakukan pada semua hewan uji yang hidup setelah pemejanan untuk melihat kondisi toksik yang terjadi. Kematian yang diamati adalah kematian yang terjadi dalam rentang 24 jam. Pengamatan 14 hari dilakukan terhadap hewan uji yang masih bertahan pada 24 jam pertama, dan melihat tanda-tanda ketoksikan yang tertunda (OECD, 2001b). Kondisi toksik pada tubuh akan menyebabkan kerusakan pada organ hati. Adanya kerusakan akibat paparan ekstrak pada organ hati akan memicu adanya perubahan histologi pada organ hati dan peningkatan pada enzim transaminase yaitu SGOT dan SGPT. Karenanya, pengamatan histopatologi dan tes fungsi hati berupa pemeriksaan SGOT dan SGPT perlu dilakukan.

2.3. Tinjauan tentang Hati (Hepar)

Hati (hepar) merupakan organ intestinal terbesar dengan berat antara 1,2-1,8 kg atau kurang lebih 25% berat badan orang dewasa yang menempati sebagian besar kuadran kanan atas abdomen dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks (Sudoyo, 2009). Di dalam hati mengandung trigliserida yang beberapa berasal dari sintesa endogen, kolesterol, garam empedu, dan lipid. Hati menyimpan berbagai senyawa, termasuk besi dan vitamin¹² serta vitamin A. Hati mendetoksifikasi banyak produk metabolik serta obat dan toksin, sebelum diekresikan ke dalam urine. Proses detoksifikasi melibatkan perubahan kimia atau konjugasi terutama dengan asam glukuronat dan glisin (Singh, *et.al.*, 2011). Hati mempunyai fungsi yang sangat banyak dan kompleks yang penting untuk mempertahankan hidup, yaitu:

a. Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu

Hati mengekresikan empedu sebanyak satu liter per hari ke dalam usus halus. Unsur utama empedu adalah air, elektrolit, dan garam empedu. Walaupun

bilirubin merupakan hasil akhir metabolisme dan secara fisiologis tidak mempunyai peranan penting, akan tetapi penting untuk indikator penyakit hati dan saluran empedu, karena bilirubin dapat memberikan warna pada jaringan dan cairan yang berhubungan dengannya (Sudoyo, 2009).

b. Fungsi metabolik

Hati berperan penting dalam metabolisme protein untuk menghasilkan protein plasma berupa albumin yang diperlukan untuk mempertahankan tekanan osmotik, protrombin, fibrinogen, dan faktor pembekuan lainnya (Sudoyo, 2009).

c. Fungsi regenerasi hati

Hati orang dewasa memiliki kemampuan untuk beregenerasi. Ketika kemampuan hepatosit untuk beregenerasi sudah terbatas maka sekelompok sel yang berasal dari duktulus-duktulus empedu akan berfoliferasi sehingga terbentuk kembali sel-sel hepatosit dan sel-sel bilier yang tetap mempunyai kemampuan untuk beregenerasi (Sudoyo, 2009).

d. Fungsi imunologi

Hati merupakan komponen sentral sistem imun. Sel kupffer merupakan sel yang sangat penting dalam menanggulangi antigen yang berasal dari luar tubuh dan mempresentasikan antigen tersebut kepada limfosit (Sudoyo, 2009). Hepar tampak berpola heksagonal dengan ukuran bervariasi pada potongan melintang. Sel-sel parenkimnya tersusun radier terhadap vena sentral dan dipisahkan oleh sinusoid. Dinding sinusoid dilapisi selapis endotel yang tidak kontinyu sehingga memungkinkan plasma darah langsung berhubungan dengan sel-sel hepar, sehingga terjadi pertukaran metabolit antara darah dan parenkim hepar.

Selain endotel, pada sinusoid juga terdapat sel kupffer yang merupakan sel makrofag fagositik. Sel ini berfungsi memfagositosis eritrosit tua dan membersihkan darah dari basilus kolon. Celah yang memisahkan sel-sel endotel dengan hepatosit disebut ruang perisinusoidal (ruang disse), yang berisi mikrovili dari hepatosit. Ruang Disse ini terdapat sel stelata atau sel penimbun lemak (sel ito) yang mampu menyimpan vitamin A yang diberikan dari luar. Sel ito diduga berperan dalam pembentukan fibrosis hepar dengan cara sintesis kolagen (Sudoyo, 2009).

2.4. SGOT dan SGPT

Serum *glutamate oxaloacetate transminase* (SGOT) adalah enzim transminase, yang merupakan katalisator perubahan dari asam amino aspartat dan 2-oksoglutarat menjadi oksaloasetat dan glutamat (*Department of Medical Biochemistry*, 2014). Enzim ini berada pada serum menunjukkan adanya kerusakan terutama pada jaringan jantung dan hati, nilai normal SGOT pada manusia berada dalam rentang 7-40 unit per liter (U/L) (Singh *et al.*, 2011). Berdasarkan Yuh *et.al.*, (2013), nilai normal SGOT mencit adalah 50 – 100 U/L.

Serum *glutamate pyruvate transaminase* (SGPT) merupakan enzim yang ditemukan pada jaringan tubuh dalam jumlah yang kecil, akan tetapi sangat terkonsentrasi di hati. Apabila terjadi kerusakan pada hati maka enzim ini akan dilepaskan. Nilai normal SGPT mencit adalah 30 – 60 U/L (Yuh *et.al.*, 2013). Pada orang dewasa nilai SGPT yang normal berada dalam rentang 5-50 unit per liter (U/L) (Singh *et al.*, 2011). Apabila terjadi kenaikan sampai 50 kali dari batas normal, kemungkinan terjadi kerusakan hati yang disebabkan oleh virus ataupun penggunaan obat-obatan (Richards, 2006).

SGOT dan SGPT merupakan enzim transminase yang berperan dalam katalis reaksi enzimatik dalam metabolisme protein (Sudoyo, 2009). SGPT hati lebih tinggi dari ginjal (Richards, 2006), sedangkan SGOT ada dalam jantung, otot skeletal, dan hati hampir sama besarnya (*Department of Medical Biochemistry*, 2014). Ketika hepatosit rusak, maka SGPT dan SGOT akan dilepaskan ke dalam serum. Hal ini menyebabkan peningkatan aktivitas enzim SGOT dan SGPT dalam serum darah (Sudoyo, 2009).

2. 5. Pola Morfologi Kerusakan Hepar

Perubahan struktur hepar yang terjadi pada kerusakan hepar dapat berupa:

a. inflamasi (hepatitis)

Inflamasi merupakan luka pada hepar karena masuknya sel radang akut atau kronik. Reaksi granuloma dapat dicetuskan oleh benda asing, organisme, atau obat-obatan (akibat langsung toksin).

b. degenerasi dan penimbunan intraseluler.

Cedera karena toksik dapat menyebabkan pembengkakan dan edema hepatosit. Pada degenerasi hidropik tampak sel-sel yang sitoplasmanya pucat, bengkak dan timbul vakuola-vakuola di dalam sitoplasma, karena penimbunan cairan. Hepatotoksik dan obat juga dapat menyebabkan penimbunan tetesan lipid (steatosis). Hepar secara mikroskopis terlihat gambaran vakuola lemak kecil dalam sitoplasma di sekitar inti (mikrovesikular steatosis), yang dapat berlanjut membentuk vakuola besar yang mendesak inti ke tepi sel (makrovesikular steatosis). Dalam hepar, penimbunan lemak ringan dapat tidak berpengaruh pada penampakan makro. Bila penimbunan progresif, hepar membesar dan bertambah kuning, pada keadaan ekstrim, hepar dapat seberat tiga sampai enam kilogram dan berubah menjadi hepar yang kuning, lunak, dan berminyak.

c. nekrosis

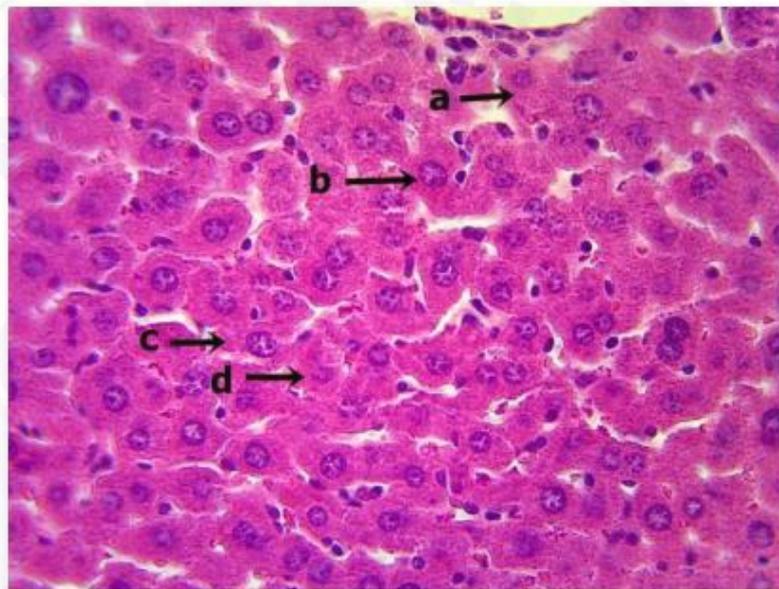
Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup. Inti menjadi lebih padat (piknotik) yang dapat hancur bersegmen-segmen (karioreksis) dan kemudian sel menjadi eosinofilik. Nekrosis memiliki beberapa jenis, yakni :

1. Nekrosis fokal, adalah kematian sebuah sel atau kelompok kecil sel dalam satu lobus.
2. Nekrosis zonal, adalah kerusakan sel hepar pada satu lobus. Nekrosis zonal dapat dibedakan menjadi nekrosis sentral, midzonal, dan perifer.
3. Nekrosis masif, yaitu nekrosis yang terjadi pada daerah yang luas.
4. Nekrosis pembentukan jembatan (*bridging necrosis*), yaitu dengan jejas inflamasi yang lebih berat, nekrosis hepatosit dapat menjangkau lobus yang berdekatan dengan cara porta ke porta, porta ke sentral, atau sentral ke sentral.

d. fibrosis

Fibrosis, terjadi sebagai respon terhadap radang atau akibat langsung toksin. Fibrosis yang berkepanjangan menyebabkan sirosis. Pada sirosis, morfologi hepar tampak makronoduler, mikronoduler, atau campuran. Bila berlangsung progresif, hepar menjadi berwarna coklat, tidak berlemak,

mengecil, terkadang berat hepar kurang dari satu kilogram. Diagnosis hepatotoksitas imbas obat menurut *Common Toxicity Criteria*, meliputi *grade* 0-4 dari peningkatan alkali fosfatase, peningkatan bilirubin, peningkatan GGT, hepatomegali, hipoalbuminemia, tanda klinis disfungsi hati, aliran vena porta yang menurun atau *retrograd*, peningkatan SGOT, dan peningkatan SGPT (Sudoyo, 2009). Contoh gambaran mikroskopis kerusakan hepar dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Gambaran mikroskopis kerusakan sel hepar. a. sel hepatosit normal, b. degenerasi parenkimatosa, c. degenerasi hidropik, d. nekrosis (Sumber : Afifah, 2015)

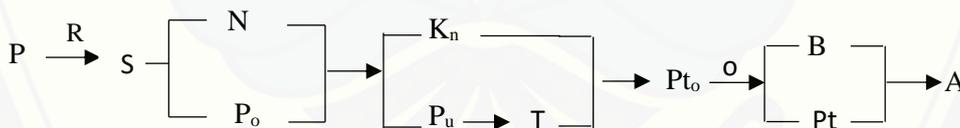
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *true experimental*. Penelitian *true experimental* adalah penelitian yang memberikan manipulasi terhadap variabel bebas, melakukan randomisasi untuk memisahkan sampel penelitian, serta terdapat dua atau lebih kelompok sampel (Swarjana, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh yang timbul akibat adanya suatu perlakuan tertentu.

3.2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah *posttest only with control group*. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pengelompokan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan berdasarkan acak atau *random*. Setelah beberapa waktu dilakukan *posttest* pada kedua kelompok tersebut. Skema rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3. 1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

P = Populasi mencit betina secara keseluruhan

R = Randomisasi

S = sampel

N = Kelompok normal yang diambil dari populasi mencit keseluruhan secara acak

P_o = Kelompok perlakuan yang diambil dari populasi mencit keseluruhan secara acak

K_n = Kelompok normal yang diberi CMC Na 1%

P_u = kelompok perlakuan uji toksisitas sesuai *guideline* OECD 423 (Gambar 3.2)

T = perlakuan uji toksisitas akut OECD 423

P_{to} = pengukuran kadar SGOT dan SGPT setelah 24 jam

O = pengamatan hewan uji yang bertahan hidup selama 14 hari

B = Pembedahan hewan uji secara keseluruhan

P_t = pengukuran kadar SGOT dan SGPT pada hari ke 14

A = Analisis data

3.3. Variabel Penelitian

Jenis variabel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini meliputi variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkontrol.

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah peringkat dosis ekstrak metanol batang kayu kuning dalam mg/kg BB.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SGPT dan SGOT mencit pada pengukuran sampel darah, jumlah kematian hewan coba, serta hasil histopatologi hati.

3.3.3 Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara pemberian, jenis (galur) mencit, berat badan mencit, umur mencit dan lamanya pengkondisian sebelum pengujian.

3.4 Definisi Operasional

Pada penelitian ini yang mencakup definisi operasional yakni:

- a) Batang kayu kuning diperoleh dari Taman Nasional Meru Betiri Kabupaten Jember, batang yang diambil adalah keseluruhan bagian batang berwarna coklat yang merambat dengan diameter $\pm 0,5 - 1$ cm. Tanaman diambil pada bulan April 2016.
- b) Dosis yang dipilih sebagai dosis awal (*starting dose*) pemberian uji toksisitas adalah 2.000 mg/kg BB yang diambil berdasarkan data toksisitas ekstrak air batang kayu kuning.
- c) Pemeriksaan SGOT dan SGPT dilakukan kepada seluruh hewan uji yang tidak mati selama proses penelitian berjalan dengan metode kinetik.
- d) Pemeriksaan histopatologi hati dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x sebanyak 5 lapang pandang. Pemeriksaan dilakukan bersama dengan konsultan ahli mengenai histopatologi dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

- e) Metode skoring histpatologi hati dilakukan dengan menggunakan metode *Manja Roenigk*, dimana skoring dilakukan terhadap sel hepatosit hati.

3.5. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Januari – Juni tahun 2017.

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1. Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang hewan coba, alat sonde, pisau bedah, gunting batang, alat penghalus simplisia, maserator, *rotary evaporator*, mikroskop, timbangan analitik, timbangan hewan, cawan porselen, tempat penyimpanan ekstrak, spatula, dan alat – alat gelas.

3.6.2. Bahan

Batang kayu kuning, pelarut metanol, pakan hewan, minum hewan, CMC Na 1%, larutan NBF, reagen analisis SGOT dan SGPT, Cat utama *Harris Hematoxyllin*, Eosin 1%, Alkohol 70%, Alkohol 80%, Alkohol 96%, Alkohol Absolut, *xylol*.

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Persiapan dan Pembuatan Simplisia Batang Kayu Kuning

Bahan tanaman kayu kuning didapatkan dari Balai Taman Nasional Meru Betiri di Jember, Jawa Timur. Tanaman kemudian di determinasi di Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

Tanaman yang diperoleh kemudian dicuci dengan air bersih untuk membersihkan bahan dari kontaminan. Setelah itu tanaman mengalami proses pemotongan batang dengan panjang ± 1 cm. Batang yang memiliki diameter yang tidak seragam dibelah menjadi dua bagian. Tahapan selanjutnya yakni proses pengeringan. Proses pengeringan melalui dua tahap yakni pengeringan dengan

panas matahari tidak langsung dan pengeringan menggunakan oven. Proses pengeringan pertama yakni dengan panas matahari tidak langsung, bahan tidak melalui sinar matahari langsung sehingga tanaman ditempatkan di tempat terbuka yang beratap. Proses pengeringan berikutnya menggunakan oven dengan suhu pemanasan 50°C. Proses pengeringan berlangsung selama 2 minggu sampai simplisia batang kayu kuning yang terbentuk benar – benar kering. Tahapan selanjutnya adalah sortasi kering, di mana simplisia yang sudah mengalami proses pengeringan kembali dipilah untuk memisahkan simplisia dan kotoran maupun serangga yang mungkin ikut selama proses pengeringan. Selanjutnya simplisia di serbukkan dengan mesin penyerbuk. Tahap penyerbukan simplisia dilakukan sebanyak dua kali dengan nomor alat penyerbuk yang berbeda. Tahapan akhir dari proses ini adalah penimbangan hasil serbuk simplisia batang kayu kuning yang diperoleh.

3.7.2. Pembuatan Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning

Metode ekstraksi adalah maserasi. Serbuk simplisia halus dibagi menjadi 3 bagian dengan berat setiap simplisia \pm 300 gram. Larutan metanol 96% dan simplisia dimasukkan ke dalam masing–masing maserator dengan perbandingan antara simplisia halus banding pelarut (1 : 10) kemudian diaduk sampai seluruh simplisia halus bercampur dengan pelarut. Didiamkan selama 3 hari, dengan dilakukan pengadukan satu kali pada setiap harinya. Setelah 3 hari, maserat yang diperoleh diambil dan dipisahkan dari ampasnya. Kemudian ampas hasil maserasi pertama di maserasi kembali dengan pelarut yang baru dengan perbandingan yang sama. Didiamkan selama 3 hari, dengan pengadukan satu kali setiap harinya. Pelarut yang diperoleh kemudian dipisahkan dari ampas simplisia. Kemudian ditambahkan lagi pelarut dengan perbandingan dan proses yang sama. Setelah 3 hari, pelarut diambil dengan penambahan proses pemerasan simplisia halus untuk mengoptimalkan hasil maserasi yang diperoleh.

Setelah seluruh hasil maserat diperoleh, tahapan berikutnya yakni pembuatan ekstrak kental batang kayu kuning. Ekstrak cair batang kayu kuning dipekatan dengan alat *rotary evaporator* yang memiliki kapasitas tabung evaporator sebanyak 1000 ml. Proses pemekatan dilakukan dalam suhu penguapan

senyawa metanol, yakni 50° C. Ekstrak kental yang diperoleh dari penguapan alat *rotary evaporator* kemudian dipekatkan lagi dengan oven pada suhu 50° C selama 24 jam untuk masing–masing cawan.

3.7.3. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina galur Balb/c dengan usia 8 - 12 minggu dengan variasi berkisar antara 20–30 gram. Mencit di adaptasi terlebih dahulu selama 7 hari. Selama proses adaptasi hewan uji diberi pakan konsentrat dan minum *ad libitum*. Setelah 7 hari dilakukan penimbangan, kemudian mencit dibagi menjadi 2 kelompok secara acak, yakni kelompok normal dan kelompok perlakuan uji toksisitas.

Hewan uji harus dipuaskan selama 3–4 jam sebelum diberikan perlakuan, dengan tetap diberi air minum jika diperlukan. Setelah dipuaskan, hewan ditimbang dan diberikan sediaan uji. Setelah diberikan perlakuan, pakan diberikan kembali setelah 1-2 jam.

3.7.4. Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning

Ekstrak metanol batang kayu kuning disuspensikan dengan CMC Na 1%. Nilai LD₅₀ dari air rebusan kayu kuning adalah >31 gram/kg BB atau >31000 mg/kg BB (LIPI, 2010). Berdasarkan penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahan memiliki nilai toksisitas rendah, sehingga pada uji pendahuluan dapat dimulai dengan dosis paparan 2.000mg/kg BB.

1. Pembuatan mucilago suspensi CMC Na 1%

Sebanyak 1 gram CMC Na 1% ditaburkan di atas 10ml air panas (20kali lipat berat CMC Na) dibiarkan ± 15menit hingga CMC Na mengembang, kemudian diaduk kuat sampai terbentuk massa yang kental dan ditambahkan air hingga volume 100ml.

2. Pembuatan stok suspensi ekstrak batang kayu kuning

Dosis yang digunakan dalam uji toksisitas adalah 2.000 mg/kg BB, sehingga larutan stok dibuat dengan konsentrasi 20%. Hewan uji yang digunakan sebanyak 3 ekor, sehingga banyak nya larutan stok yang dipilih sebanyak

10 ml. 2 gram ekstrak dimasukkan ke dalam 10 mL CMC Na 1%. Aduk hingga terbentuk massa suspensi yang baik.

3.7.5. Perlakuan Uji Toksisitas Akut

Perlakuan uji toksisitas dilakukan berdasarkan skema menurut *guideline* uji toksisitas akut OECD 423 yang dapat dilihat pada Gambar 3.2. Sebelum dilakukan uji toksisitas, dilakukan aklimatisasi dan dilakukan pengelompokan hewan uji secara acak. Sebelum dipejankan, hewan uji ditimbang terlebih dahulu dan dihitung volume pemberian untuk masing-masing hewan uji untuk dosis awal 2.000 mg/kg BB. Pemejangan dilakukan pada 1 kelompok perlakuan yaitu ekstrak metanol batang kayu kuning yang masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor tikus. Setelah itu dilakukan pengamatan secara intensif selama 4 jam pertama. Kemudian dilakukan pengamatan selama 30 menit sekali selama 24 jam. Hewan uji yang mati pada 24 jam pertama langsung dilakukan pembedahan, hewan uji yang masih hidup akan dilanjutkan pengamatan selama 14 hari. Jika terdapat 2-3 hewan uji yang mati, maka dosis diturunkan menjadi 300 mg/kg BB dengan dilakukan pemejangan pada 3 hewan uji yang baru. Jika terdapat satu atau tidak ada sama sekali kematian hewan uji, maka dilakukan pengulangan dosis, yaitu dilakukan pemejangan dengan dosis 2.000 mg/kg BB kembali dengan 3 hewan uji yang baru. Jika tidak ada sama sekali kematian hewan uji, setelah dilakukan pengulangan dosis 2.000 mg/kg BB, maka dosis dinaikan menjadi 5.000 mg/kg BB dengan dilakukan pemejangan pada 3 hewan uji yang baru. Hingga ditemukan nilai LD_{50} *cut off* yang telah dikategorikan oleh GHS (*Globally Harmonised Classification System*).

Kelompok kontrol normal uji toksisitas ini adalah tiga ekor tikus yang diberi CMC Na 1% dari sediaan yang dibuat. Kelompok kontrol normal ini diuji untuk mengetahui pengaruh CMC Na terhadap hewan uji setelah pemejangan, karena CMC Na digunakan sebagai pelarut sediaan uji ekstrak batang kayu kuning. Skema alur pengujian ketoksikan oral akut metode OECD 423 dengan dosis awal 2.000 mg/kg BB dapat dilihat pada Gambar 3.2.

3.7.6. Pembedahan dan Pembuatan Preparat

Proses pengerjaan preparat histopatologi organ hati dengan pewarnaan HE menurut Muntha (2001), meliputi: proses pemotongan jaringan berupa makross, pengeblokan & pemotongan jaringan, proses deparafinisasi, proses pewarnaan (HE), dehidrasi, penjernihan (*clearring*), *mounting* dengan entelan dan *deckglass*.

a. Proses pemotongan jaringan berupa makros

Gross hasil bedah dimasukkan ke dalam larutan formalin 10 % (fiksasi) semalam. Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang akan diteliti. Jaringan dipotong kurang lebih ketebalan 2-3 mm. Dimasukkan kedalam kaset dan diberi kode sesuai dengan kode *gross* peneliti. Kemudian *gross* dimasukkan kedalam larutan formalin 10 % sebelum di proses menggunakan alat *Tissue Tex Prosesor*. Selanjutnya diproses menggunakan alat/mesin *Tissue Tex Prosesor* selama 90 Menit. Alarm bunyi tanda selesai.

b. Proses pengeblokan dan pemotongan jaringan

Jaringan di angkat dari mesin *Tissue Tex Prosesor*. Jaringan diblok dengan parafin sesuai kode jaringan. Jaringan dipotong menggunakan alat *microtome* dengan ketebalan 3-5 mikron.

c. Proses deparafinisasi

Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron, preparat ditaruh dalam oven selama 30 menit dengan suhu panas 70-80 °C, kemudian dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan *xylol* masing-masing 20 menit, setelah itu dimasukkan kedalam 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (hidrasi), dan yang terakhir dialiri air selama 15 menit.

d. Proses pewarnaan (HE)

Tahapan pertama dalam proses pewarnaan adalah pengecatan utama *Harris Hematoksilin* selama 10-15 menit, kemudian preparat di cuci dengan air mengalir selama 15 menit. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celup dan dimasukkan ke dalam amonia air sebanyak 3-5 celup. Kemudian dilakukan pengecatan dengan cat pembanding Eosin 1% selama 10-15 menit. Tahapan berikutnya adalah dehidrasi dengan menggunakan alkohol

dengan konsentrasi yang berbeda-beda, yakni alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, dan alkohol absolut. Pencucian pada masing – masing larutan dilakukan selama 3 menit. Preparat kemudian dilakukan penjernihan (*clearring*) dengan larutan xylol selama 60 menit dan dilakukan sebanyak dua kali. Tahapan terakhir dalam proses pembuatan preparat adalah *mounting* dengan entelan dan *deckglass*.

3.7.7. Pengamatan

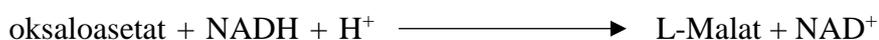
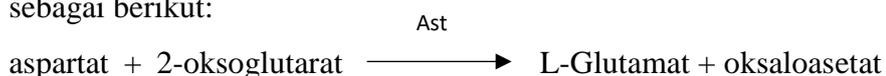
Pengamatan tingkah laku hewan coba sebagai gejala toksik dilakukan selama 14 hari. Waktu timbul dan hilangnya gejala toksisitas (khususnya jika ada kecenderungan tanda-tanda toksik yang tertunda) juga diamati dalam catatan individual yang dilakukan untuk setiap hewan. Gejala toksisitas yang diamati meliputi kejang, tremor, diare, koma, dan salivasi.

Pada jam ke-24 hewan uji di ambil darah melalui mata untuk pengujian SGOT dan SGPT. Hewan uji yang bertahan setelah 24 jam dilanjutkan pengamatan selama 14 hari. Pada hari ke-14 hewan coba diambil darah melalui mata untuk dilakukan pengukuran SGOT dan SGPT kemudian dibedah dan diambil organ hepar untuk dilakukan penimbangan terhadap berat organ dan pengamatan secara mikroskopis.

3.8. Pengukuran SGOT dan SGPT

a. Pengukuran aktivitas SGOT

Prinsip pengukuran aktivitas SGOT juga sama dengan prinsip pengukuran aktivitas SGPT yakni menggunakan metode kinetik yang direkomendasikan oleh *International Federation of Clinical Chemistry* (1985). Perbedaannya hanya terletak pada substrat dan enzim yang terlibat. Reaksi pembentukannya adalah sebagai berikut:



Oksaloasetat yang terbentuk akan dijadikan substrat oleh enzim malat dehidrogenase dan akan direduksi menjadi malat dengan adanya NADH yang juga akan teroksidasi menjadi NAD⁺. Oksidasi NADH menjadi NAD⁺ diukur sebagai penurunan absorbansi yang sebanding dengan dengan aktivitas SGOT sampel.

Prosedur kerja pengukuran aktivitas SGOT dalam serum darah sampel memiliki kesamaan dengan pengukuran aktivitas SGPT yang telah dijelaskan sebelumnya kecuali pada reagen yang digunakan. Sampel darah hewan coba diambil melalui vena mata sebanyak 1 mL kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 10 menit. Setelah itu, serum darah dipipet sebanyak 50 µl untuk dianalisis. Reagensia reaksi GOT dibuat dengan cara mencampurkan R1 buffer dan R2 substrat dengan perbandingan 5:1 kedalam tabung reaksi. Serum sampel sebanyak 50 µl direaksikan dengan 500 µl reagensia GOT dalam tabung reaksi.

b. Pengukuran aktivitas SGPT

Adanya enzim SGPT dalam serum yang diperiksa akan mengubah Lalanin dan 2-oksoglutarat menjadi glutamat dan piruvat. Piruvat yang terbentuk akan dijadikan substrat oleh enzim laktat dehidrogenase yang akan direduksi menjadi laktat dengan adanya NADH yang akan teroksidasi menjadi NAD⁺. Oksidasi NADH menjadi NAD⁺ diukur sebagai penurunan absorbansi yang sebanding dengan dengan aktivitas SGPT sampel. Reaksi pembentukannya adalah sebagai berikut:



Metode pengukuran aktivitas yang digunakan yaitu metode kinetik yang direkomendasikan oleh *International Federation of Clinical Chemistry* (1985). Sampel darah hewan coba diambil melalui mata sebanyak 1 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 3. 500 rpm selama 10 menit. Setelah itu, serum darah dipipet sebanyak 50 µl untuk dianalisis.

Reagensia reaksi GPT dibuat dengan cara mencampurkan R1 *buffer* dan R2 substrat dengan perbandingan 5:1 ke dalam tabung reaksi. Serum sampel sebanyak 50 µl direaksikan dengan 500 µl reagensia GPT dalam tabung reaksi. Setelah itu

aktivitas SGPT diukur dengan spektrofotometer dan menggunakan akuades sebagai blanko. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 340 nm. Data SGPT dinyatakan dalam satuan Unit/Liter (U/L).

3.9. Pengamatan Histopatologi Hepar

Pada akhir pengamatan, mencit diterminasi kemudian diambil organ heparnya. Sedangkan mencit yang mati selama pengamatan langsung diambil organ heparnya. Organ hepar kemudian dilakukan pengamatan meliputi:

a. Penimbangan berat organ

Penimbangan berat organ dilakukan dengan cara memasukkan organ hepar ke dalam timbangan analitik menggunakan kaca arloji yang telah di tara sebelumnya.

b. Gambaran mikroskopis

Setelah selesai dilakukan pengamatan makroskopis, organ hepar dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan hematoksin-eosin di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr Soetomo Surabaya. Metode skoring derajat kerusakan hati dilakukan menurut metode *Manja Roenigk*. Derajat kerusakan dari setiap sampel ditentukan dengan cara menjumlah seluruh skor dari empat jenis lesi histopatologik seperti pada tabel 3.1.

Tabel 3. 1 Scoring histopatologi hati metode *Manja Roenigk* (Afifah, 2015)

Tingkat Kerusakan	Skor
Normal	1
Degenerasi parenkimatososa	2
Degenarasi hidropik	3
Nekrosis	4

Pengamatan dilakukan terhadap 100 sel hepatosit secara acak yang dibagi dalam 5 lapang pandang untuk setiap preparat. Pada masing-masing lapang pandang diamati 20 sel hepatosit secara acak. Rentang skor pengamatan adalah 100 – 400 (Afifah, 2015). Pemeriksaan dilakukan bersama dengan konsultan ahli mengenai histopatologi dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.10. Analisis Data

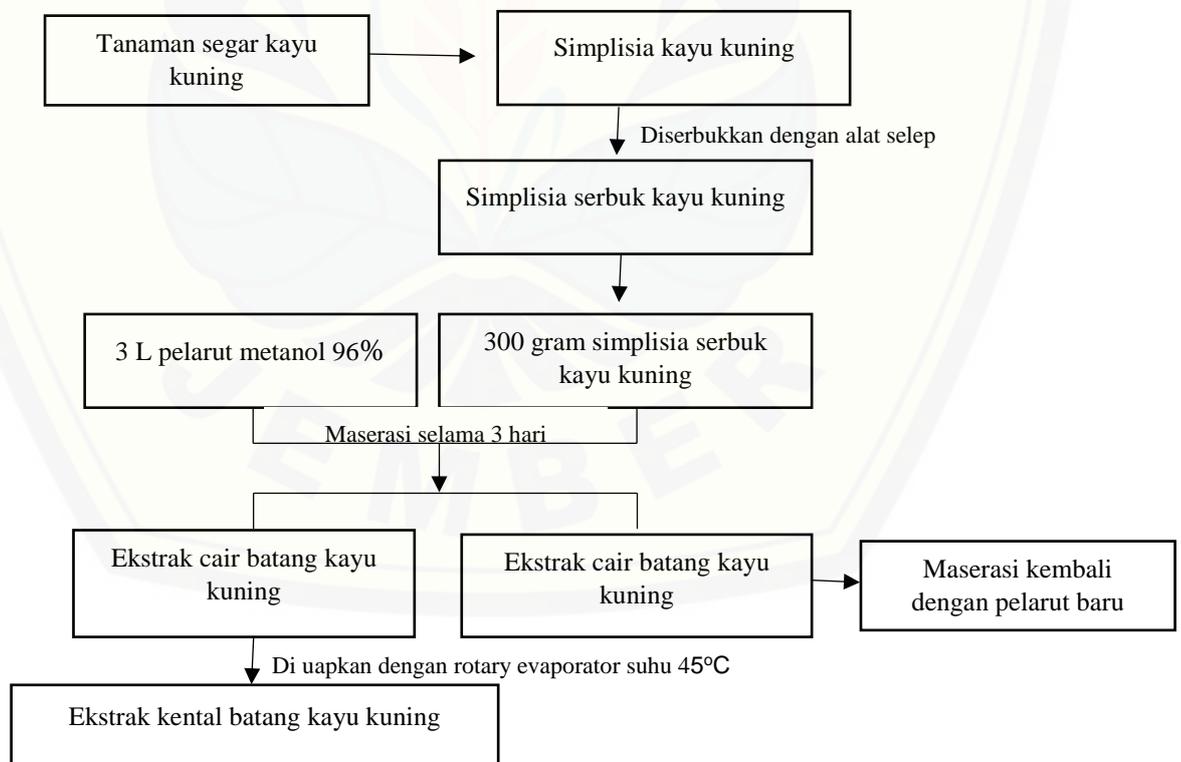
Analisis dilakukan dengan menentukan kisaran nilai LD₅₀ (LD_{50 cutt-off}) dari hasil uji ketoksikan akut dengan metode OECD 423. Nilai LD_{50 cut off} ditentukan berdasarkan kategori dari GHS (*Globally Harmonised Classification System*). Gejala toksik juga dilihat dari data SGOT, SGPT dan histopatologi hati.

Data hasil penimbangan berat organ, pengukuran SGOT dan SGPT dianalisis menggunakan uji *One way* ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%. Data hasil skoring histopatologi hati dianalisis menggunakan analisis non parametrik *Kruskal Wallis* dengan taraf kepercayaan 95%.

3.11. Alur Penelitian

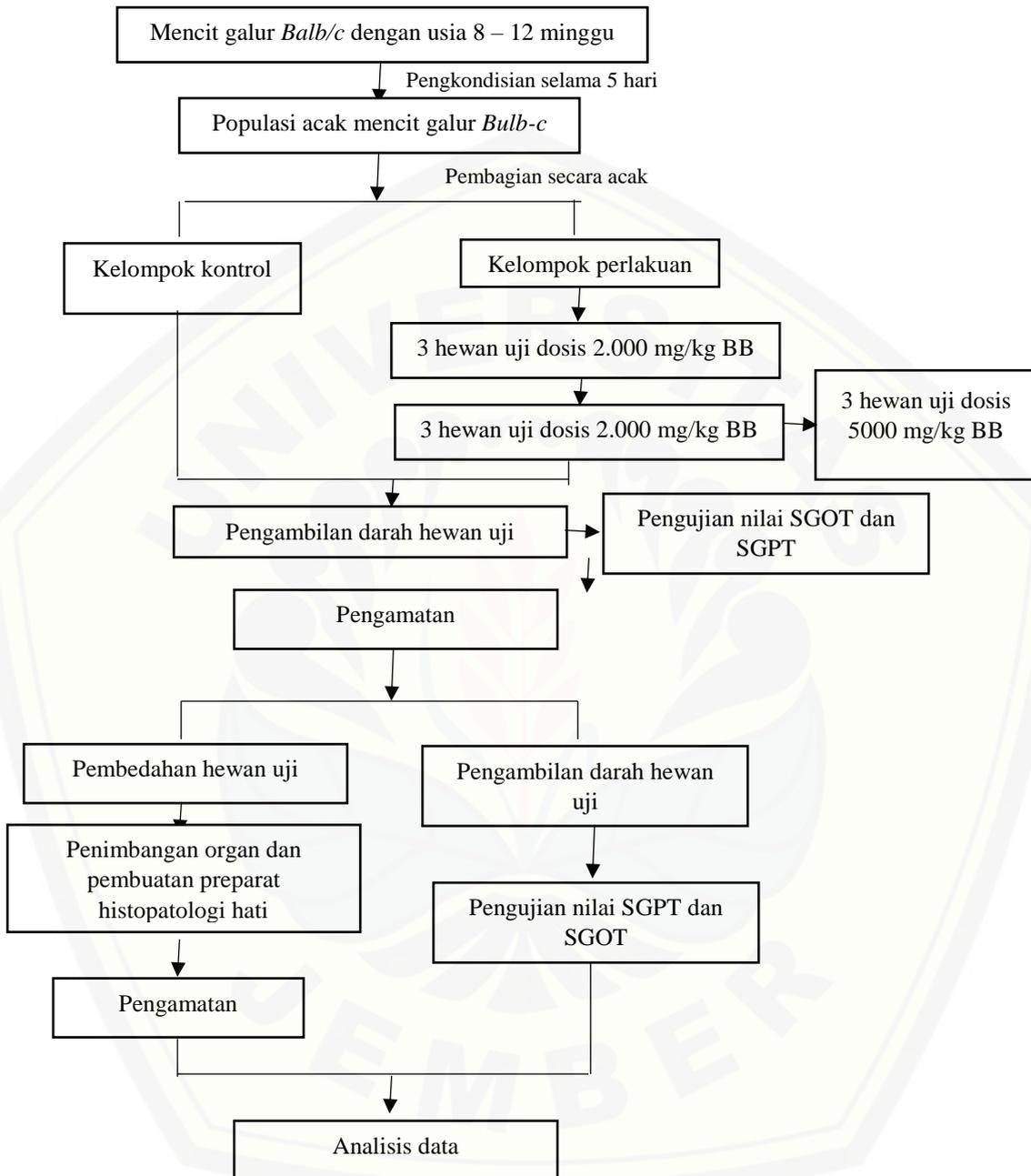
Skema alur penelitian dapat dilihat dari Gambar 3.3.

1. Proses Ekstraksi



Gambar 3. 2 Skema Proses Ekstraksi

2. Perlakuan Uji Toksisitas Pada Hewan Uji



Gambar 3. 3 Skema perlakuan uji toksisitas akut

BAB V . KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uraian pembahasan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- a. Kisaran nilai potensi ketoksikan akut oral (LD_{50}) ekstrak metanol batang kayu kuning pada mencit betina galur adalah lebih besar dari 5.000 mg/kg BB yang merupakan kategori 5 atau tidak terklasifikasi menurut *Globally Harmonised Classification System (GHS)*.
- b. Ekstrak metanol batang kayu kuning memberikan pengaruh yang signifikan pada hasil pengukuran nilai SGOT dan SGPT. Nilai SGOT dan SGPT mencit yang di induksi ekstrak metanol batang kayu kuning mengalami peningkatan, sedangkan nilai SGOT dan SGPT mencit kontrol mengalami penurunan.
- c. Tidak ada pengaruh yang signifikan pada hasil pengamatan histopatologi hepar mencit yang dipaparkan ekstrak metanol batang kayu kuning. Terdapat peningkatan kerusakan seiring dengan peningkatan dosis.

5.2 Saran

Adapun saran yang ditujukan kepada peneliti selanjutnya guna untuk mengembangkan penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian pada uji toksisitas subkronis dan kronis pada ekstrak metanol batang kayu kuning.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, Nurseha. 2015. *Pengaruh Ekstrak Daun Cincau Hijau (Cyclea Barbata Miers.) terhadap Gambaran Histopatologik Hepar Mencit (Mus Musculus) yang Diinduksi MSG sebagai Sumber Belajar Biologi SMA Kelas XI*. 1(2):198-203
- Ansel, H. c. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Terjemahan Farida Ibrahim. Edisi Keempat. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Aru W, Sudoyo. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam jilid II*. Edisi V. Jakarta: Interna Publishing.
- Barile. 2008. *Principle of Toxicology Testing*. London: CRC Press.
- BPOM, 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secar a In Vivo*. Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Bulletin of the World Health Organization. 2008. Herbal medicine research and global health: an ethical analysis. <http://www.who.int/bulletin/volumes/86/8/07-042820/en/>. [Diakses pada 10 Maret 2017]
- Department of Medical Biochemistry. 2014. *Transaminase Enzyme Activities*. http://semmelweis.hu/biokemia/files/2014/01/EN_lab_TRANSAMINASE.pdf [Diakses pada 30 Maret 2017].
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2.000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ditjen PEN., 2014. *Warta Ekspor : Obat Herbal Tradisioal*. September penyunt. Jakarta: Kementerian Perdagangan Republik Indonesia.
- Donatus, I.A. 2001. *Toksikologi Dasar*. Yogyakarta: Laboratotium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Dewoto, H. R. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Vol. 57 (7): 01-07.

- Donatus, I. A. 2001. *Toksikologi Dasar*. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi UGM.
- Ferguson I. K. 1978. *Pollen Morphology of the Tribe Coscinieae of the Menispermaceae in Relation to Its Taxonomy*. Kew Bulletin. 32(2):339-346
- Forman L. L. 1978. A Revision of the Tribe Coscinieae Hook. f. & Thoms. (Menispermaceae): The Menispermaceae of Malesia and Adjacent Areas: IX. Kew Bulletin. 32(2):323-338.
- Gad, S.C. 2007. *Animal Models in Toxicology*. New York: Taylor & Francis Group Boca Raton.
- Handa, S.S., Rakesh, Vasishst. 2006. Compendium of Medicinal and Aromatic Plants ASIA. Italy: ICS-UNIDO [Diakses pada : 18 Maret 2017]
- Ijeoma H. Ogbuehi., O.O. Ebong, dan A.W. Obianime. 2015. *Oral acute toxicity (LD50) study of different solvent extracts of Abrus precatorius Linn leaves in wistar rats*. European Journal of Experimental Biology. 5(1):18-25
- Jewvachdamrongkul Y., dan W. Jirawattanapong. *Quality Control Study of Arcangelisia flava Stem*. 1993. Bulletin of The Departemen Science. Vol 35(4):227-24
- Joyce, L. 1997. *Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik*. EGC: Jakarta
- Kinho, J. 2011. *Tumbuhan Obat Tradisional Di Sulawesi Utara Jilid II*. Manado: Balai Penelitian Kehutanan Manado.
- Larisu, M.A ., Sudarsono, S. Irvati, A. Nurrochmad. 2011. Kajian ilmiah air rebusan katola (*Arcangelisia flava* L. Merr) obat diare berdarah masyarakat kabupaten muna sulawesi tenggara. *Majalah Farmasi Indonesia*. 21(4): 283 – 389.
- Liu, Y. T., Hao, H. P., Xie, H. G., Lv, H., Liu, C. X., and Wang, G. J. 2009. *Oxidative demethylenation and subsequent glucuronidation are the major metabolic pathways of berberine in rats*. J. Pharm. Sci. 98: 4391-4401.
- Loomis, T.A. 1978. *Toksikologi Dasar, Edisi terjemahan, Alih Bahasa Donatus, I.A., Edisi III*. Semarang: IKIP Press.
- Lu F.C. 1995. *Toksikologi Dasar Edisi II*. Jakarta :UI-Press
- Maryani., M. d. M., 2013. The Phytochemistry and The Anti-Bacterial Activity of Yellow Root (*Arcangelisia flava* Merr.) against *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Biology and Life Science*. 4: 180-190.

- Maryani, P. E., 2015. *Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (Arcangelisia flava (L.) Merr.) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Tikus Hiperlipidemia*. Jember: Fakultas Farmasi Uiversitas Jember.
- Mulyati,. S. Sunarti, D. Sulistiarini, dan R. Prawiroatmodjo. Pemanfaatan Tumbuhan Obat secara Tradisional oleh Masyarakat Lokal di Pulau Wawonii, Sulawesi Tenggara. *B I O D I V E R S I T A S*. 7(3): 245 – 250.
- Muntha, Mohamad. *Teknink Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin*. Bogor: Temu Teknis Fungsional Non Peneliti.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2001a. *OECD Guideline for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity Fixed Dose Procedure No. 420*. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2001b. *OECD Guideline for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method No. 423*. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 2001c. *OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity: Up-and Down Procedure No. 425*. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development.
- Panil. Zulbadar. 2007. *Memahami Teori Dan Praktik Biokimia Dasar Medis*. Jakarta : EGC.
- Peraturan Menteri Kesehatan Indonesia Nomor 88 Tahun 2013. *Rencana Induk Pengembangan Bahan Baku Obat Tradisional*. 24 Desember 2013. Lembaran Negara Republik Indonesia. Jakarta.
- Rahmawati, Y. W., E.U. Ulfa. 2016. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) terhadap Histopatologi Aorta Tikus Wistar Hiperlipidemia. e-Jurnal Pustaka Kesehatan. 4(2): 241 – 248.
- Ren, Y.G. 2012. Bioactivities of Berberine: An Update. *International Journal of Modern Biology and Medicine*. 1(1): 48-81
- Richards, T. 2006. *Blood (Serum) Glutamate Pyruvate Transminase (SGPT) Test*. [https://www.jcmg.org/jcmg.nsf/healthTopicSearch/285E33173BF2435986257845004F3897/\\$file/Blood%20\(Serum\)%20Glutamate%20Pyruvate%20OTransaminase%20\(SGPT\)%20Test.pdf](https://www.jcmg.org/jcmg.nsf/healthTopicSearch/285E33173BF2435986257845004F3897/$file/Blood%20(Serum)%20Glutamate%20Pyruvate%20OTransaminase%20(SGPT)%20Test.pdf) [Diakses pada 30 Maret 2017].
- Riswan, S. d. D. A., 2008. Keanekaragaman Tumbuhan obat Yang Digunakan Dalam Pengobatan Tradisional Masyarakat Sasak Lombok Barat. *Jural Farmasi Indonesia*. 4: 96-103.

- Robbins, S. L dan Kumar V.1992.Buku ajar patologi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran .p.1-27.
- Setiawati, A., Suyatna, F.D., dan Gan, Sulistia. 2007. Farmakologi Dan Terapi. Jakarta:Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI.
- Setyowati, Rini., Sudarsono, Setyowati E.P. 2014. The effect of water-soluble steam extract Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* L. Merr) on the growth inhibition of *Candida albicans* ATCC 10231 and Trichophyton mentagrophytes In Vitro. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*. 31(4): 15 – 19.
- Sitzel, K. & G. Carr. 1999. Statistical Basis for Estimating Acute Oral Toxicity Comparison of OECD Guidelines 401, 420, 423, and 425. *Up-and Down Procedure Peer Panel Report* .3(18): 3 – 12
- Singh R, Sunil K, Rana AC, Sharma N. 2012. *Different models of hepatotoxicity and related liver diseases: a review*. Internasional research journal of Pharmacy. 3(7):86-96
- Singh, A., Bhat, T. K., dan Sharma, O. P. 2011. Clinical Biochemistry of Hepatotoxic. *Journal of Clinical Toxicology*. Vol. 4: 01-19.
- Speicher, C.E., dan Smith, J.W. 1993. *Pemilihan Uji laboratorium Yang Efektif, diterjemahkan oleh Dr. Joko Suyono*. Jakarta: Penerbit Buku kedokteran EGC.
- Spencer, N. D. 1988. Direct oxidation of methane. *Journal of Catalysis*. 109, 187
- Sudoyo, A.W. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi V*. Jakarta: Interna Publishing.
- Swarjana, I Ketut. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Penerbit ANDI.
- Tjitrosoepomo, G. 1998. *Taksonomi Umum: Dasar- Dasar Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, Phagwara, dan Punjab. 2011. *Phytochemical screening and Extraction: A Review*. Internationale Pharmaceutica Scientia. 1(1): 98 – 106.
- Tribut, J.C, Kaptchuk. Herbal medicine research and global health: an ethical analysis. [Diakses pada : 18 Maret 2017]

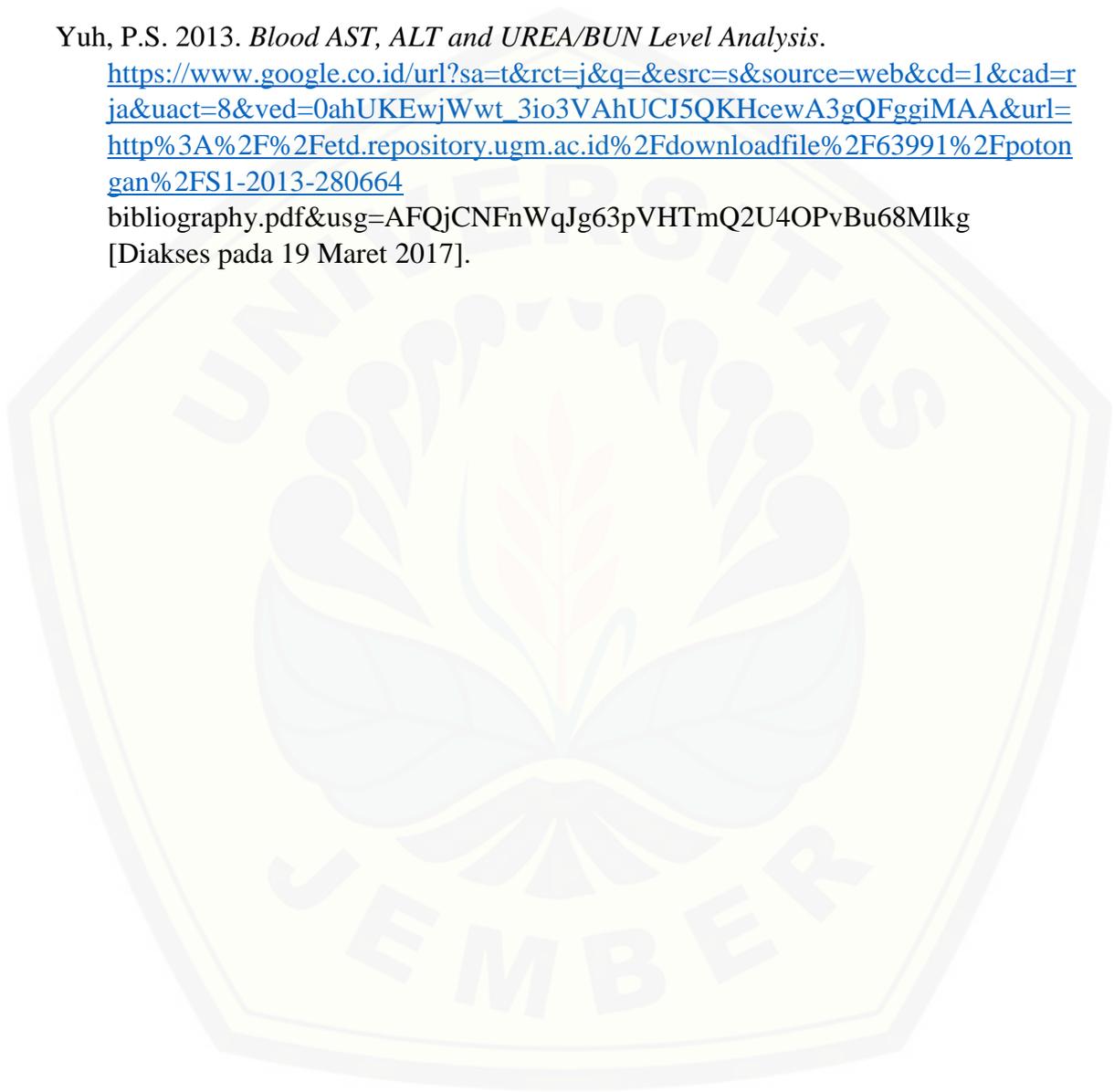
Utami, Yora. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Terpurifikasi Daun Arcangelisia Flava pada Sel Kanker Payudara MCF-7 (Cytotoxicity Assay of Purified Ethanol Extract of Arcangelisia flava Leaves on Breast Cancer Cells Mcf-7). *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Yuh, P.S. 2013. *Blood AST, ALT and UREA/BUN Level Analysis*.

https://www.google.co.id/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjWwt_3io3VAhUCJ5QKHcewA3gQFggiMAA&url=http%3A%2F%2Fetd.repository.ugm.ac.id%2Fdownloadfile%2F63991%2Fpotongan%2FS1-2013-280664

bibliography.pdf&usg=AFQjCNFnWqJg63pVHTmQ2U4OPvBu68Mlkg

[Diakses pada 19 Maret 2017].



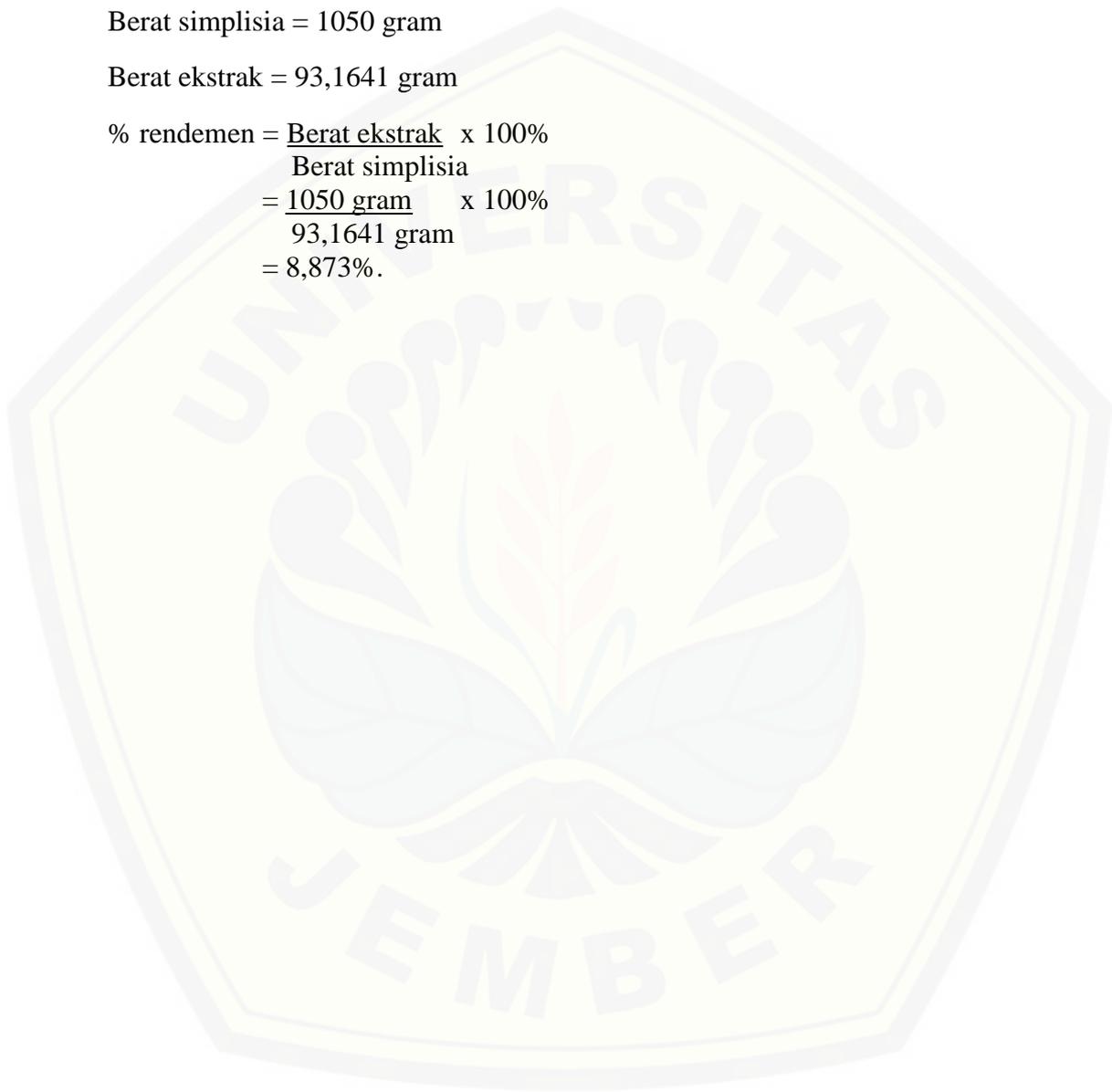
LAMPIRAN**4.1. Hasil Rendemen Ekstrak**

Hasil Persen Rendemen Ekstrak Metanol Batang Kayu Kuning

Berat simplisia = 1050 gram

Berat ekstrak = 93,1641 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{93,1641 \text{ gram}}{1050 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 8,873\%. \end{aligned}$$



Lampiran 4.2 Perhitungan Dosis Pemberian

Pembuatan larutan stok sediaan uji dosis 2.000 mg/kg BB (berat badan \pm 20 g)

$$\frac{2.000\text{mg}}{1000\text{g}} = \frac{x}{20\text{ g}}$$

$$x = 40\text{ mg}$$

$$40\text{mg} \rightarrow 0,2\text{ ml}$$

$$\frac{40\text{mg}}{0,2\text{ml}} = \frac{x}{1\text{ml}}$$

$$x = 200\text{ mg}/1\text{ml} \rightarrow 20\% , \text{ konsentrasi dosis sediaan uji}$$

Pembuatan larutan stok sediaan uji

Pembuatan larutan stok 5 ml

Dosis 2.000 mg/kg BB

$$\frac{200\text{ mg}}{1\text{ml}} = \frac{x}{5\text{ml}}$$

$$x = 1\text{ gram ekstrak dalam } 5\text{ ml CMC Na}$$

Dosis 5.000 mg/kg BB

$$\frac{500\text{ mg}}{1\text{ml}} = \frac{x}{5\text{ml}}$$

$$x = 2.5\text{ gram ekstrak dalam } 5\text{ ml CMC Na}$$

Pemberian sediaan uji dosis 2.000 mg/kg BB

Mencit 1: 27 gram

$$\frac{0.027\text{ kg} \times 2.000\text{mg}/\text{kg BB}}{200\text{ mg}/\text{ml}} = 0.27\text{ ml}$$

Mencit 2: 26 gram

$$\frac{0.026\text{ kg} \times 2.000\text{mg}/\text{kg BB}}{200\text{ mg}/\text{ml}} = 0.26\text{ ml}$$

Mencit 3: 23.5

$$\frac{0.0235\text{ kg} \times 2.000\text{mg}/\text{kg BB}}{200\text{ mg}/\text{ml}} = 0.23\text{ ml}$$

Pembuatan larutan stok sediaan uji dosis 5.000 mg/kg BB (berat badan ± 20 g)

$$\frac{5.000\text{mg}}{1000\text{g}} = \frac{x}{20\text{ g}}$$

$$x = 100\text{ mg}$$

100mg \rightarrow 0,2 ml

$$\frac{100\text{mg}}{0,2\text{ml}} = \frac{x}{1\text{ml}}$$

$x = 500\text{ mg}/1\text{ml} \rightarrow 50\%$, konsentrasi dosis sediaan uji

Pemberian sediaan uji dosis 2.000 mg/kg BB

Mencit 1: 25 gram

$$\frac{0.025\text{ kg} \times 5.000\text{mg}/\text{kg BB}}{500\text{ mg}/\text{ml}} = 0.25\text{ ml}$$

Mencit 2: 20 gram

$$\frac{0.020\text{ kg} \times 5.000\text{mg}/\text{kg BB}}{500\text{ mg}/\text{ml}} = 0.2\text{ ml}$$

Mencit 3: 21 gram

$$\frac{0.021\text{ kg} \times 5.000\text{mg}/\text{kg BB}}{500\text{ mg}/\text{ml}} = 0.21\text{ ml}$$

Lampiran 4.3. Penimbangan Bobot Konstan**A. Cawan 75 ml**

Bobot cawan : 45,7339 gram

Bobot ekstrak + cawan : 47,2058 gram

Jam ke-	bobot ekstrak + cawan (gram)
1	47,1928
2	47,1806
3	47,1698
4	47,1546
5	47,1458
6	47,1389
7	47,1387
8	47,1385

Bobot ekstrak $47,1385 - 45,7339 = 1,405$

B. Cawan 100 ml

Bobot cawan : 59,3398 gram

Bobot ekstrak + cawan : 61,2938 gram

Penimbangan Jam ke- Cawan 75 m

Jam Ke-	Bobot ekstrak + cawan (gram)
1	61,2337
2	61,2094
3	61,1974
4	61,1888
5	61,2168
6	61,1948
7	61,1822
8	61,175
9	61,1746
10	61,1744

Bobot ekstrak $61,1744 - 59,3398 = 1,835$

Lampiran 4.4. Data Hasil Pengukuran SGOT dan SGPT

Kelompok		SGOT (U/L)		SGPT (U/L)	
		24 jam	14 hari	24 jam	14 hari
Kontrol	K1	143,4	95,4	38,45	40,74
	K2	146,95	92,67	40,88	38,31
	K3	140,26	114,86	43,55	34,7
Dosis 2.000 mg/kg BB	2K1	141,9	134,09	34	47,94
	2K2	141,61	140,48	37,16	53,84
	2K3	143,48	162,26	34,19	54,59
Dosis 5.000 mg/kg BB	5K1	149,82	296,23	43,48	61,87
	5K2	144,32	219,68	57,21	67,92
	5K3	145,39	216,39	64,14	56,63

Lampiran 4.5 Hasil Analisis Statistik SGOT 24 jam**Tests of Normality**

Perlakuan	<u>Kolmogorov-Smirnov^a</u>			<u>Shapiro-Wilk</u>		
	<u>Statistic</u>	<u>df</u>	<u>Sig.</u>	<u>Statistic</u>	<u>df</u>	<u>Sig.</u>
Hasil K	.183	3	.	.999	3	.932
2000	.322	3	.	.881	3	.327
5000	.316	3	.	.889	3	.352

a. Lilliefors Significance Correction

Makna : Nilai sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat diambil kesimpulan bahwa data sampel terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

<u>Levene Statistic</u>	<u>df1</u>	<u>df2</u>	<u>Sig.</u>
1.390	2	6	.319

Makna : Nilai sig. > 0,05 yang berarti data memiliki varian yang sama atau tidak ada perbedaan (homogen)

ANOVA

Hasil	<u>Sum of Squares</u>	<u>df</u>	<u>Mean Square</u>	<u>F</u>	<u>Sig.</u>
<u>Between Groups</u>	27.587	2	13.793	1.999	.216
<u>Within Groups</u>	41.396	6	6.899		
<u>Total</u>	68.982	8			

Makna : Nilai sig. = 0,216 atau sig > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar SGOT darah secara signifikan.

Lampiran 4. 6 Hasil Analisis Statistik SGOT 14 Hari

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil K	.344	3	.	.841	3	.216
2000	.303	3	.	.910	3	.416
5000	.372	3	.	.781	3	.069

a. Lilliefors Significance Correction

Makna : Nilai sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat diambil kesimpulan bahwa data sampel terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.842	1	4	.059

Makna : Nilai sig. > 0,05 yang berarti data memiliki varian yang sama atau tidak ada perbedaan (homogen)

ANOVA

Hasil	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32273.428	2	16136.714	19.866	.002
Within Groups	4873.610	6	812.268		
Total	37147.038	8			

Makna : Nilai sig. = 0,002 atau sig > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar SGOT darah secara signifikan.

Multiple Comparisons

Hasil

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	2000	-44.63333	23.27042	.104	-101.5740	12.3073
	5000	-143.32333*	23.27042	.001	-200.2640	-86.3827
2000	K	44.63333	23.27042	.104	-12.3073	101.5740
	5000	-98.69000*	23.27042	.005	-155.6307	-41.7493
5000	K	143.32333*	23.27042	.001	86.3827	200.2640
	2000	98.69000*	23.27042	.005	41.7493	155.6307

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

Lampiran 4.7 Hasil Analisis Statistik SGPT 24 Jam

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil K	.179	3	.	.999	3	.948
2000	.218	3	.	.988	3	.786
5000	.186	3	.	.998	3	.921

a. Lilliefors Significance Correction

Makna : Nilai sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat diambil kesimpulan bahwa data sampel terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.084	2	6	.396

Makna : Nilai sig. > 0,05 yang berarti data memiliki varian yang sama atau tidak ada perbedaan (homogen)

2)

ANOVA

Hasil	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	714.476	2	357.238	11.554	.009
Within Groups	185.521	6	30.920		
Total	899.997	8			

Makna : Nilai sig. = 0,009 atau sig > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar SGPT darah secara signifikan.

Multiple Comparisons

LSD

(I) Perlaku an	(J) Perlaku an	<u>Mean Difference</u> (I-J)	<u>Std. Error</u>	<u>Sig.</u>	<u>95% Confidence Interval</u>	
					<u>Lower Bound</u>	<u>Upper Bound</u>
K	2000	-6.03000	4.54020	.232	-17.1395	5.0795
	5000	-21.18000*	4.54020	.003	-32.2895	-10.0705
2000	K	6.03000	4.54020	.232	-5.0795	17.1395
	5000	-15.15000*	4.54020	.016	-26.2595	-4.0405
5000	K	21.18000*	4.54020	.003	10.0705	32.2895
	2000	15.15000*	4.54020	.016	4.0405	26.2595

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

Lampiran 4.8 Hasil Analisis Statistik SGPT 14 Hari**Tests of Normality**

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil K	.242	3	.	.973	3	.684
2000	.348	3	.	.833	3	.197
5000	.186	3	.	.998	3	.921

a. Lilliefors Significance Correction

Makna : Nilai sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat diambil kesimpulan bahwa data sampel terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.523	2	6	.618

Makna : Nilai sig. > 0,05 yang berarti data memiliki varian yang sama atau tidak ada perbedaan (homogen)

ANOVA

Hasil	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	901.798	2	450.899	25.128	.001
Within Groups	107.663	6	17.944		
Total	1009.462	8			

Makna : Nilai sig. = 0,001 atau sig > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar SGPT darah secara signifikan.

Multiple Comparisons

Hasil

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	2000	-14.37333*	3.45870	.006	-22.8365	-5.9102
	5000	-24.39000*	3.45870	.000	-32.8531	-15.9269
2000	K	14.37333*	3.45870	.006	5.9102	22.8365
	5000	-10.01667*	3.45870	.027	-18.4798	-1.5535
5000	K	24.39000*	3.45870	.000	15.9269	32.8531
	2000	10.01667*	3.45870	.027	1.5535	18.4798

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

Lampiran 4.9 Data Penimbangan Berat Organ Relatif Hati

Kelompok		Berat Organ	Berat Badan	Berat relatif	Berat Relatif (dalam %)
Kelompok kontrol	K1	1,542	26,5	0,058	5,8
	K2	1,403	25,5	0,055	5,5
	K3	1,495	20	0,0747	7,4
Kelompok dosis 2.000 mg/kg BB	2K1	1,483	27,5	0,054	5,4
	2K2	1,594	24,5	0,065	6,5
	2K3	1,452	26	0,055	5,5
Kelompok dosis 5.000 mg/kg BB	5K1	1,255	21,5	0,584	5,8
	5K2	1,375	21	0,065	6,5
	5K3	1,403	26,5	0,053	5,3

Lampiran 4.10 Data Hasil Analisis Penimbangan Berat Organ Hati Relatif**Tests of Normality**

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Kontrol	.299	3	.	.915	3	.434
dosis 2000	.307	3	.	.903	3	.394
dosis 5000	.321	3	.	.882	3	.331

a. Lilliefors Significance Correction

Makna : Nilai sig.> 0,05 pada semua kelompok, maka dapat diambil kesimpulan bahwa data sampel terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

<u>Levene</u> <u>Statistic</u>	df1	df2	<u>Sig.</u>
5.469	2	6	.044

Makna : Nilai sig.>0,05 yang berarti data memiliki varian yang sama atau tidak ada perbedaan (homogen)

ANOVA

Hasil

	<u>Sum</u> <u>Squares</u>	<u>of</u> <u>df</u>	<u>Mean Square</u>	<u>F</u>	<u>Sig.</u>
<u>Between Groups</u>	.137	2	.069	1.910	.228
<u>Within Groups</u>	.215	6	.036		
<u>Total</u>	.353	8			

Makna : Nilai sig. = 0,228 atau sig>0,05. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan berat organ relatif yang signifikan.

Lampiran 4.11 Data Skoring Histopatologi Hati

Kelompok		Skoring Sel Hepatosit								Total
		Normal		Degenerasi Parenkimatososa		Degenerasi Hidropik		Nekrosis		
		Jumlah sel	Skor	Jumlah sel	Skor	Jumlah sel	Skor	Jumlah sel	Skor	
Kontrol	K 1	82	80	15	30	3	9	0	0	121
	K2	55	55	34	68	10	30	0	0	155
	K3	79	79	20	40	4	12	0	0	131
Dosis 2.000 mg/kg	2K1	70	70	27	54	3	9	0	0	133
	2K2	80	80	19	38	1	3	0	0	121
	2K3	48	48	36	72	15	45	1	4	169
Dosis 5.000 mg/Kg	5K1	47	47	35	70	33	99	12	48	264
	5K2	25	25	30	60	33	99	12	48	232
	5K3	37	37	22	44	27	85	14	56	222

Lampiran 4.12 Data Skoring Histopatologi Hati**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hasil	9	1.6756E2	54.76110	112.00	265.00
kelompok	9	2.3333	2.17945	.00	5.00

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
Hasil Kontrol normal	3	3.33
Dosis 2.000	3	3.67
Dosis 5.000	3	8.00
Total	9	

Test Statistics^{a,b}

	Hasil
Chi-Square	5.422
df	2
Asymp. Sig.	.066

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompok

Makna : Nilai sig. = 0,066 atau sig>0,05. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada data skoring histopatologi hati