



**EFEK TOKSISITAS PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN  
SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT  
PADA TIKUS WISTAR BETINA**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Akbar Maulida A.**  
**NIM 142010101092**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas rahmat dan hidayahnya yang telah diberikan kepada saya;
2. Nabi Muhammad SAW beserta sahabatnya yang telah memberikan pedoman kepada saya berupa agama Islam;
3. Ayahanda M. Iqbal Sugandhie dan juga ibunda Kusyati Rokhim yang telah memberikan do'anya, dukungan, pengorbanan, kasih sayang dan didikannya kepada saya;
4. Adik kandung Anissa Trihita Karana dan Robby Sulthany Guevara yang selalu mendukung perjalanan kuliah saya;
5. Guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
6. dr. Rena Normasari, M.Biomed dan dr. Ida Srisurani, M.Kes yang sudah banyak membimbing dan memberikan motivasi baik moril dan materil dalam penelitian saya
7. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

**MOTO**

Jangan membuat keputusan yang kamu tahu akan kamu sesali.  
(terjemahan dari serial TV Jepang “Hibike! Euphonium!”<sup>\*)</sup>)



---

<sup>\*)</sup> Kumiko, Oumae. 2016. *Hibike! Euphonium!* S2 ep. 10. Kyoto Animation : Jepang. 24 menit.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Akbar Maulida Arissadewa

NIM :142010101092

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Toksisitas Pemberian Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot ezculenta*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT pada Tikus Wistar Betina” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2 Desember 2018

Yang menyatakan,

Akbar Maulida Arissadewa  
NIM.142010101092

**SKRIPSI**

**EFEK TOKSISITAS PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN  
SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT  
PADA TIKUS WISTAR BETINA**

Oleh

Akbar Maulida Arissadewa  
NIM 142010101092

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Rena Normasari, M. Biomed

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Ida Srisurani, M. Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Toksisitas Pemberian Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT pada Tikus Wistar Betina” karya Akbar Maulida Arissadewa telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 10 Desember 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

DR. dr. Diana Chusna M., M. Kes  
NIP 197203182003122001

Penguji III,

dr. Rena Normasari, M.Biomed  
NIP 198305122008122002

Penguji II,

dr. Cicih Komariah, Sp. M.  
NIP 197409282005012001

Penguji IV,

dr. Ida Srisurani, M.Kes.  
NIP 198209012008122001

Mengesahkan  
Dekan,

dr. Supangat, M. Kes., Ph. D., Sp.BA  
NIP 197304241999031002

## RINGKASAN

**Efek Toksisitas Pemberian Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT pada Tikus Wistar Betina;** Akbar Maulida A.; NIM 142010101092; 2018; 60 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Indonesia merupakan negara yang kaya akan flora dan fauna. Banyak tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat alami. Sumber alami yang juga banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah daun singkong (*Manihot esculenta*). Namun, selain memiliki manfaat sebagai antioksidan, tidak menutup kemungkinan terdapat efek toksik dari penggunaan daun singkong. Hidrogen sianida (HCN) atau asam sianida merupakan racun pada daun singkong. Asam sianida yang masuk ke dalam tubuh dengan cepat didistribusikan ke seluruh tubuh oleh darah, termasuk organ hati, sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada organ hati. Salah satu jenis pemeriksaan yang sering dilakukan untuk mengetahui adanya kerusakan pada hati adalah pemeriksaan enzim transaminase, yakni serum glutamat piruvat transaminase (SGPT) dan serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya efek toksisitas pemberian daun singkong terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus Wistar betina. Jenis penelitian ini adalah *true experimental design* dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Berdasarkan panduan dari OECD 420, metode penelitian yang digunakan adalah uji toksisitas dengan metode *fixed dosed*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 10 ekor tikus, dengan 2 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol (Kn) dan kelompok perlakuan 1 (P1). Kadar SGOT dan SGPT diukur dengan menggunakan metode *optimized UV test*. Data yang diperoleh diolah dan dianalisis dengan menggunakan uji *T-test*

Rata-rata kadar SGOT pada kelompok kontrol sebesar 110,4 IU/L dan rata-rata kadar pada kelompok perlakuan sebesar 111 IU/L. Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan memiliki rata-rata kadar SGOT yang normal karena kadar normal SGOT pada tikus betina sekitar 69 – 203 IU/L. Sedangkan rata - rata kadar SGPT pada kelompok kontrol sebesar 70,8 IU/L dan pada kelompok perlakuan

sebesar 67,6 IU/L. Kedua kelompok penelitian, kontrol dan perlakuan sama – sama mengalami peningkatan kadar SGPT diatas nilai normal karena kadar normal SGPT pada tikus betina sekitar 16 – 48 IU/L. Sesuai hasil uji independent t test pada kadar SGPT, diperoleh nilai *significancy* sebesar 0.59 ( $p>0.05$ ) sedangkan pada kadar SGOT diperoleh nilai 0.972 ( $p>0.05$ ), yang berarti tidak didapatkan perbedaan kadar SGOT dan SGPT antara kelompok kontrol dan perlakuan.

. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa pada dosis 2000 mg/kgBB, ekstrak daun singkong tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap kadar SGOT dan SGPT pada kelompok kontrol dan perlakuan.



## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Toksisitas Pemberian Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT pada Tikus Wistar Betina”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Supangat, Sp. BA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Ida Srisurani, M. Kes selaku Dosen Pembimbing akademik sekaligus Dosen Pembimbing II yang telah membimbing dan banyak memberi motivasi kepada saya selama menjadi mahasiswa;
3. dr. Rena Normasari, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak membantu penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
4. Ayah, Ibu dan saudaraku tercinta yang sudah memberikan banyak doa, kasih sayang, dan motivasi untuk menyelesaikan penulisan ini;
5. Keluarga Besar BPM FK UNEJ, SPARKA FK UNEJ, dan Elixir, yang sudah mewarnai semua hari-hari saya selama menjadi mahasiswa;
6. Partner penelitian saya, Sheillavi F. Alex dan I Nyoman K. Agratama yang telah menjadi rekan penelitian terbaik dan saling memberi semangat selama berlangsungnya proses skripsi;
7. Analis dan civitas Fakultas Kedokteran Universitas Jember; dan
8. Sahabat-sahabat saya, Azka Drajat, Ahmad Baihaqi, A.M. Fauzi, Bagus Aditya, Ferdian Nugroho, Sri Weli T.P., Syahrian Noer, dan Samuel Sampe yang sudah banyak memberikan dukungannya dan motivasinya untuk segera menyelesaikan penelitian ini;
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, 2 Desember 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	2
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Daun Singkong</b> .....	4
2.1.1 Klasifikasi Daun Singkong .....	4
2.1.2 Morfologi Daun Singkong .....	5
2.1.3 Manfaat Daun Singkong .....	5
2.1.4 Efek Toksik Daun Singkong .....	6
<b>2.2 Enzim Transaminase</b> .....	10
2.2.1 Definisi Enzim Transaminase .....	10
2.2.2 Pembentukan dan Fisiologi Enzim Transaminase .....	11
<b>2.3 Uji Toksisitas</b> .....	11
2.3.1 Uji Toksisitas Akut .....	13
2.3.2 Kriteria Penggolongan .....	13
<b>2.4 Kerangka Konseptual</b> .....	15
<b>2.5 Hipotesis</b> .....	16
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	17
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	17
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	17
<b>3.3 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	18
3.3.1 Populasi Penelitian .....	18
3.3.2 Sampel Penelitian.....	18

3.3.3	Besar Sampel.....	18
<b>3.4</b>	<b>Variabel Penelitian</b> .....	19
3.4.1	Variabel Bebas .....	19
3.4.2	Variabel Terikat .....	19
3.4.3	Variabel Terkendali.....	19
<b>3.5</b>	<b>Definisi Operasional</b> .....	19
3.5.1	Daun Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) .....	19
3.5.2	<i>Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT)</i> .....	19
3.5.3	<i>Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT)</i> .....	20
<b>3.6</b>	<b>Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	20
3.6.1	Alat Penelitian.....	20
3.6.2	Bahan Penelitian.....	20
<b>3.7</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	21
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian</b> .....	21
3.8.1	Uji Kelayakan Etik.....	21
3.8.2	Aklimatisasi Hewan Coba.....	21
3.8.3	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Singkong .....	22
3.8.4	Pembuatan Sediaan Uji .....	22
3.8.5	Pemberian Ekstrak Etanol Daun Singkong .....	22
3.8.6	Uji Pendahuluan .....	23
3.8.7	Uji Utama.....	25
3.8.8	Pengukuran Kadar SGPT dan SGOT.....	25
<b>3.9</b>	<b>Analisis Data</b> .....	26
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	27
<b>4.1</b>	<b>Hasil Penelitian</b> .....	27
4.1.1	Hasil Pemeriksaan Kadar Enzim Transaminase .....	27
<b>4.2</b>	<b>Analisis Data Enzim Transaminase</b> .....	29
<b>4.3</b>	<b>Pembahasan</b> .....	29
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	32
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan</b> .....	32
<b>5.2</b>	<b>Saran</b> .....	32
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	33
	<b>LAMPIRAN</b> .....	37

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD .....	14



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Daun singkong .....	4
2.2 Sianogenesis linamarin.....	7
2.3 Metabolisme asam sianida .....	8
2.4 Pembentukan SGPT .....	11
2.5 Kerangka konseptual .....	15
3.1 Rancangan penelitian .....	17
3.2 Skema alur uji pendahuluan .....	23
4.1 Grafik rata-rata kadar SGOT.....	27
4.2 Grafik rata-rata kadar SGPT .....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1.1 Persetujuan Etik Peneliti .....	37
2.1 Hasil Uji Determinasi.....	39
3.1 Tabel Pemberian Dosis .....	40
4.1 Hasil Penghitungan Kadar SGOT dan SGPT .....	41
5.1 Analisis Data Kadar SGOT dan SGPT .....	42
5.1.1 Uji Normalitas SGOT .....	42
5.1.2 Uji Normalitas SGPT .....	42
5.1.3 Uji Homogenitas SGOT .....	42
5.1.4 Uji Homogenitas SGPT .....	42
5.1.5 Uji Independent T-test SGOT .....	43
5.1.6 Uji Independent T-test SGPT .....	43
6.1 Gambar Penelitian.....	44
6.1.1 Pembuatan Ekstrak Daun Singkong .....	44
6.1.2 Pembuatan Sediaan Oral Daun Singkong.....	44
6.1.3 Induksi Oral Ekstrak Daun Singkong dan Pengamatan.....	44
6.1.4 Terminasi dan Pengambilan Darah Intrakardial .....	45
6.1.5 Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT .....	45



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman singkong (*Manihot esculenta*) dapat ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Badan Pusat Statistik pada tahun 2015 menyatakan bahwa luas area panen tanaman singkong di Indonesia mencapai 229.475 ha, terluas ketiga setelah padi dan jagung. Tanaman singkong menempati peringkat pertama dengan jumlah total produksi mencapai 229.51 kuintal/ha dalam hal produktifitas. Masyarakat juga memanfaatkan daun singkong untuk dikonsumsi sebagai sayur. Daun singkong, dikategorikan dalam sayur golongan C, yaitu sayur yang memiliki kandungan kalori, karbohidrat, serta protein yang lebih tinggi dibandingkan sayur golongan lain (Kemenkes RI, 2014). Daun singkong juga memiliki kandungan vitamin yang tinggi seperti B1, B2, C dan karotenoid (Latif, 2015), serta sudah terbukti memiliki efek sebagai antioksidan yang poten terhadap organ ginjal dan hepar (Normasari, 2017).

Manfaat daun singkong tersebut sedikit terlimitasi dengan keberadaan suatu zat bernama glukosida sianogenik. Glukosida sianogenik merupakan senyawa yang memiliki potensi toksik paling tinggi yang terkandung dalam daun singkong (Latif, 2015). Hal ini membuat manusia juga sering menjadi korban keracunan daun singkong, selain hewan ternak (Espinoza, 1992). Espinoza *et al.* (1992), mengutarakan bahwa tercatat 8 orang anak mengalami kasus keracunan daun singkong pada tahun 1992. Arifin *et al.* (1992), juga melaporkan ada 3 anak asal Malaysia yang keracunan daun singkong di tahun yang sama. Robert J. *et al.* (2006), memiliki data bahwa tingkat keracunan makanan berbasis singkong di daerah tropis masih cukup besar jika dibandingkan dengan negara maju, karena negara tropis masih menjadikan singkong sebagai bahan makanan utama, termasuk Indonesia.

Dinding sel daun singkong terdapat enzim linamarase dan hidrosinitril, yang akan terlepas ketika jaringan daun singkong ini rusak akibat suatu proses pengolahan, salah satunya mengunyah. Enzim – enzim ini akan mengkatalisis

proses hidrolisis glukosida sianogenik menjadi beberapa senyawa salah satunya yaitu hidrogen sianida (HCN) atau yang biasa disebut asam sianida (Fasuyi, 2005).

Asam sianida menginaktivasi enzim sitokrom oksidase dalam mitokondria sel. Hal ini menyebabkan penurunan pemanfaatan oksigen dalam jaringan dan akan berakibat fatal pada beberapa organ (Burns *et al.*, 2012). Tubuh manusia memiliki kemampuan melindungi diri terhadap asam sianida dengan cara detoksikasi asam sianida menjadi ion tiosianat yang relatif kurang toksik. Detoksikasi ini berlangsung dengan perantaraan enzim rodanase (transulfurase) yang terdapat di dalam jaringan, terutama hati. Sistem enzim rodanase ini bekerja sangat lambat sehingga keracunan masih dapat timbul dan menimbulkan kerusakan pada organ hati (FSANZ, 2004).

Salah satu jenis pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk mengetahui adanya kerusakan hati adalah enzim transaminase. Ada dua macam enzim transaminase yang berhubungan dengan kerusakan sel hati yaitu serum glutamat piruvat transaminase (SGPT) dan serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT). Pengukuran konsentrasi enzim di dalam darah dengan uji SGPT dan SGOT dapat memberikan informasi penting mengenai tingkat kerusakan sel hati (Hall, 2012).

Penelitian tentang efek toksisitas daun singkong masih terbatas. Oleh karena itu, untuk menjamin keamanan penggunaan daun singkong, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek toksisitas pemberian daun singkong terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus Wistar betina.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut: “Apakah terdapat efek toksisitas pemberian daun singkong terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus Wistar betina?”

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan permasalahan yang telah dirumuskan, tujuan penelitian ini adalah mengetahui adanya efek toksisitas pemberian daun singkong terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus Wistar betina.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

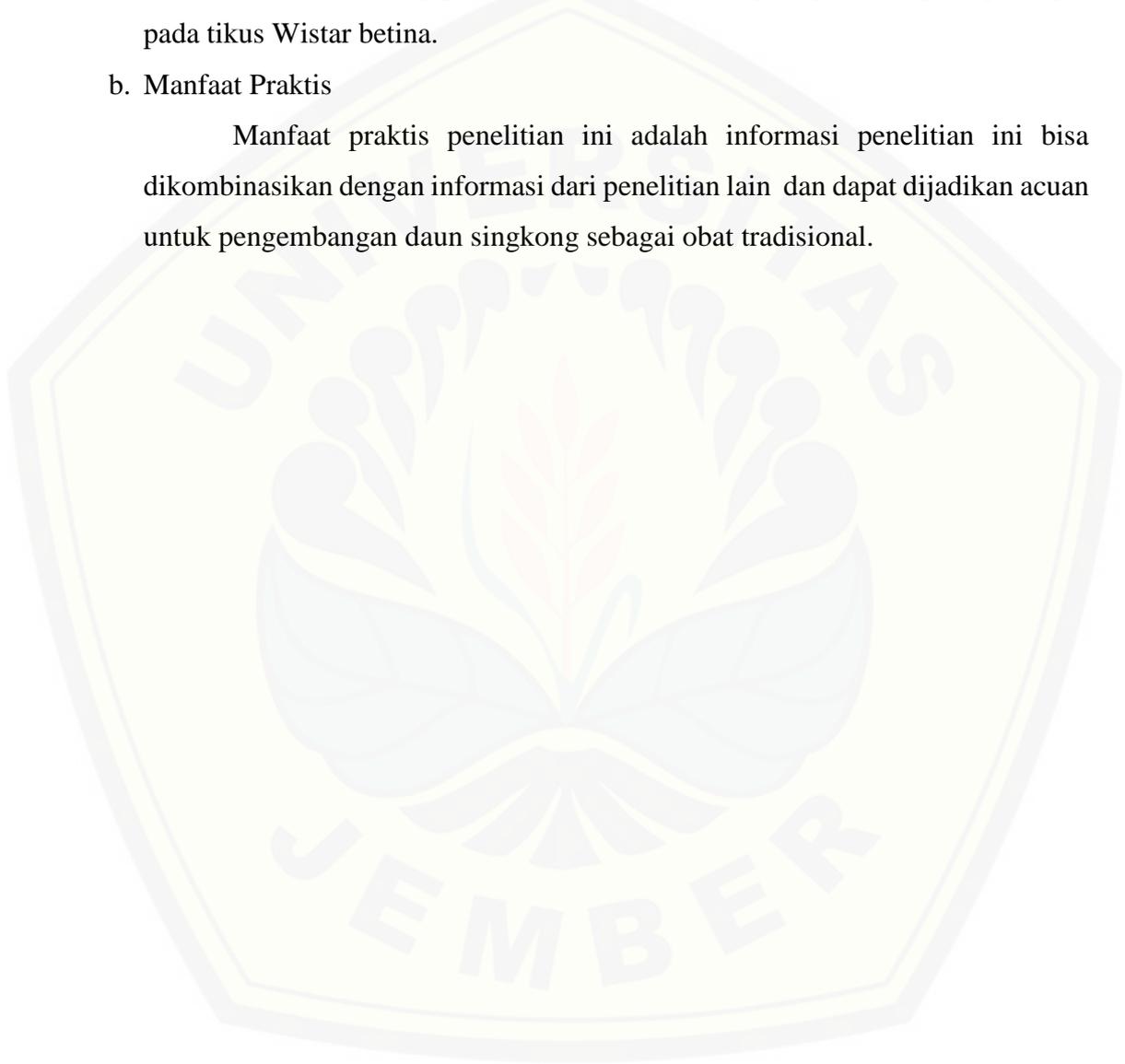
Manfaat penelitian ini adalah :

a. Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis penelitian ini adalah hasil penelitian ini bisa dijadikan informasi ilmiah tentang potensi toksisitas daun singkong terhadap fungsi hepar pada tikus Wistar betina.

b. Manfaat Praktis

Manfaat praktis penelitian ini adalah informasi penelitian ini bisa dikombinasikan dengan informasi dari penelitian lain dan dapat dijadikan acuan untuk pengembangan daun singkong sebagai obat tradisional.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Daun Singkong

#### 2.1.1 Klasifikasi Daun Singkong

Klasifikasi daun singkong menurut USDA (2000) dapat dijelaskan sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Manihot</i> Mill.
Spesies	: <i>Manihot esculenta</i> Crantz



Gambar 2.1 Daun singkong (Sumber : gruppoiga.com)

### 2.1.2 Morfologi Daun Singkong

Daun singkong termasuk daun yang tidak lengkap (*incompletes*) karena hanya terdiri atas helai daun dan tangkai daun. Daunnya memiliki pertulangan daun menjari dan jumlah belahan helai atau sirip daun pada satu tangkai terdiri dari 3-9 helai. Letak daun yang dekat dengan perbungaan biasanya berukuran lebih kecil dan belahan daunnya hanya terdiri atas 3 helai (Alves, 2002). Permukaan atas daun dilapisi kutikula yang mengkilap. Stomata terdapat pada bagian bawah (abaksial) daun dan memiliki bentuk parasitik. Tiap daun yang sudah dewasa akan dikelilingi dua stipula dengan panjang kira-kira 0,5–1,0 cm. Panjang tangkai daun biasanya bervariasi antara 5-30 cm (Alves, 2002).

### 2.1.3 Manfaat Daun Singkong

Daun singkong memiliki beberapa kandungan yang baik bagi tubuh, yaitu flavonoid, triterpenoid, saponin, dan tanin (Nurdiana, 2013) serta memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, berkisar antara 20 – 36 %, lemak 9,41 %, serat kasar 19,06 %, kalsium 1,91 % dan fosfor 0,46 % (Askar, 1996). Kandungan vitamin dalam daun singkong sangat tinggi terutama pada daun muda yang biasa dikonsumsi manusia. Vitamin yang paling penting dalam daun singkong antara lain asam askorbat, tiamin, riboflavin, dan niasin (Awoyinka *et al.*, 1995).

Selain itu, Rosmalina (2007) telah melakukan analisis betakaroten pada beberapa bahan makanan sumber karoten, hasil dari analisis tersebut, pada kelompok sayuran, terdapat beberapa sayuran yang mempunyai kadar betakaroten cukup tinggi, salah satu sayuran tersebut adalah daun singkong. Setiap 100 gr daun singkong mengandung 14.733 ug beta karoten (Almasyhuri, 2007).

Sayuran berwarna hijau, seperti daun singkong, kaya akan senyawa karotenoid, yang terbungkus dalam kantung pigmen hijau daun (klorofil). Makin pekat warna sayuran, makin tinggi kandungan karotenoidnya. Di dalam tubuh, karotenoid ini akan mengaktifkan enzim fase-2, yang berfungsi membersihkan bahan-bahan kimia dalam tubuh pemicu kanker. Sayuran hijau sangat bermanfaat bagi tubuh, karena kandungan karotenoidnya bukan karotenoid tunggal. Namun

merupakan kumpulan dari beberapa karotenoid aktif, seperti betakaroten. Beta karoten dalam tubuh ini berfungsi sebagai antioksidan (Apriadi, 2001).

Sebelumnya sudah disebutkan bahwa salah satu vitamin yang terkandung pada daun singkong adalah asam askorbat. Asam askorbat mempunyai kemampuan untuk mereduksi suatu senyawa kimia, misalnya Fe(III) menjadi Fe<sup>2+</sup>. Selain itu asam askorbat juga dapat mereduksi senyawa reaktif seperti OH<sup>\*</sup>, O<sub>2</sub><sup>\*</sup>, dan radikal urat. Pemberian satu elektron oleh askorbat akan menjadi *semidehydroascorbate* (SDA) atau radikal askorbil. Radikal askorbil relatif tidak reaktif untuk dioksidasi atau direduksi. Reaktivitas yang buruk dari askorbil merupakan esensi dari efek antioksidan asam askorbat, sebuah radikal reaktif yang berinteraksi dengan asam askorbat akan terbentuk sebuah senyawa radikal (askorbil) yang kurang reaktif (Halliwell dan Gutteridge, 2008).

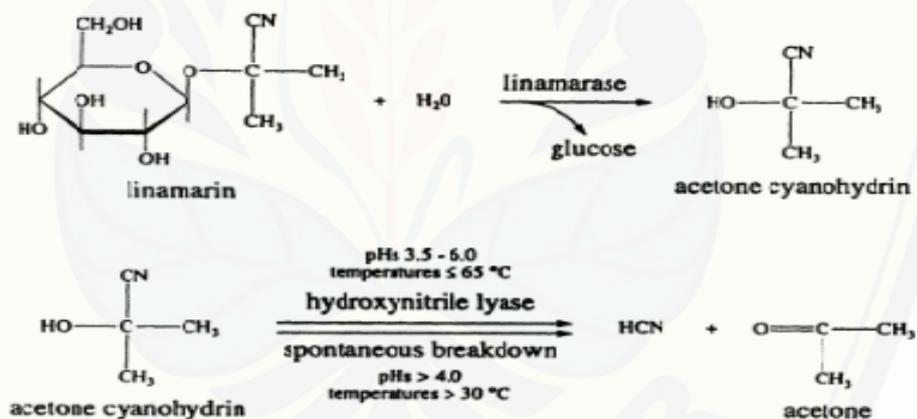
Peranan lain asam askorbat sebagai antioksidan adalah asam askorbat merupakan *scavenger* yang kuat terhadap O<sub>3</sub> dan NO<sub>2</sub><sup>\*</sup> dalam cairan tubuh manusia, yang kemungkinan dapat melindungi paru terhadap polusi udara yang terhirup oleh saluran nafas. Asam askorbat dapat mencegah kerusakan oleh radikal bebas yang ditimbulkan oleh serangan radikal OH<sup>\*</sup> dan RO<sub>2</sub><sup>\*</sup>, juga dapat menghambat peroksidasi lemak yang diinduksi oleh campuran hemoglobin atau mioglobin dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: askorbat akan mereduksi haem Fe(IV) kembali menjadi Fe<sup>2+</sup>. Selain itu juga dapat melindungi membran dan lipoprotein melawan peroksidasi lipid yang diinduksi oleh senyawa yang terdapat pada asap rokok (Halliwell dan Gutteridge, 2008).

Daun singkong juga memiliki beberapa manfaat untuk kesehatan dan sudah biasa digunakan sebagai obat tradisional. Penelitian yang dilakukan oleh Normasari (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun singkong dapat memperbaiki kerusakan ginjal akibat fibrosis ginjal pada mencit.

#### 2.1.4 Efek Toksik Daun Singkong

Selain mempunyai kandungan yang bermanfaat, daun singkong juga memiliki kandungan berbahaya bersifat sianogenik atau memiliki kandungan asam sianida yang berasal dari linamarin dan lotaustralin. Glukosida sianogenik

merupakan senyawa hidrokarbon yang terikat dengan gugus CN dan gula. Pada tanaman, glukosida sianogenik memiliki fungsi sebagai protektor terhadap gangguan hewan herbivora. Salah satu senyawa glikosida sianogenik yang terdapat pada daun singkong adalah linamarin (95%). Linamarin atau  $\beta$ -glukosidase dapat dijumpai di tanaman singkong dengan jumlah terbesar berada pada daun singkong (USDA, 2000). Sianogenesis dimulai ketika jaringan tanaman singkong mengalami kerusakan secara fisik (White *et al.*, 1994). Oleh karena itu, setelah jaringan tumbuhan ini dihaluskan dan dimaserasi, linamarin terlepas dari vakuola-vakuola dan terjadi hidrolisis linamarin oleh enzim linamarase menghasilkan aseton sianohidrin dan glukosa. Aseton secara spontan atau enzimatik (melalui *hydroxynitril lyase*) akan terurai menjadi sianida dan aseton yang dipengaruhi suhu dan pH (McMahon *et al.*, 1995), seperti pada Gambar 2.2.

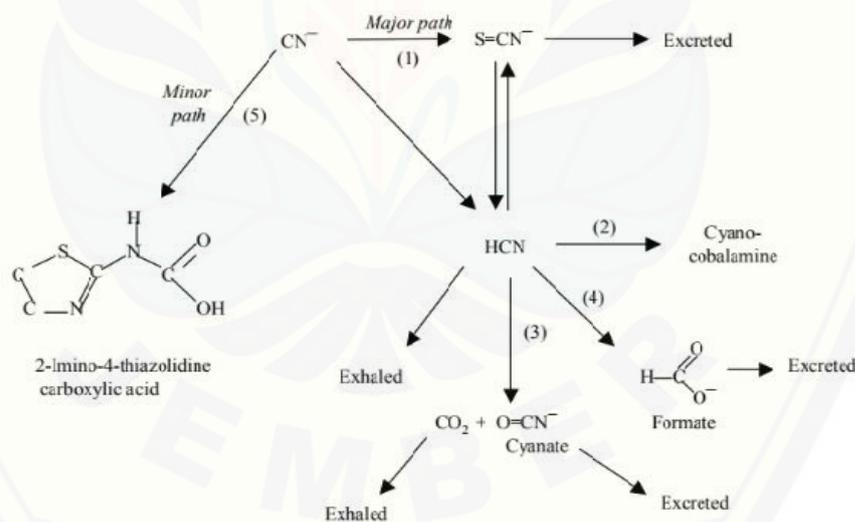


Gambar 2.2 Sianogenesis linamarin (Sumber : McMahon *et al.*, 1995)

Semua sianida yang tertelan akan ada di dalam tubuh dengan pH fisiologis lambung sebagai asam sianida. Asam sianida yang masuk ke dalam tubuh akan diabsorpsi oleh lambung dan usus halus. Sebelum masuk ke dalam aliran darah, asam sianida akan melewati hati untuk dimetabolisme. Dalam hati, asam sianida sebagian besar akan dinetralkan oleh enzim rhodanase. Konsentrasi sianida lebih banyak terdapat pada eritrosit daripada plasma darah. Hal ini merupakan wujud dari

kemampuan sianida yang akan berikatan dengan methemoglobin dan hemoglobin. Kadar asam sianida yang terakumulasi di dalam setiap organ berbeda-beda. Akumulasi asam sianida terbanyak terdapat pada organ darah, ginjal, hati, dan otak (ECETOC, 2007).

Sianida dapat dimetabolisme lewat beberapa jalur, salah satunya lewat proses transulfurasi melalui enzim rhodanase atau 3-mercaptopyruvat sulfotransferase. Sianida akan menerima sebuah atom sulfur dari tiosulfat dan dikonversi menjadi tiosianat dengan sifat toksis yang rendah. Jalur ini merupakan jalur utama dari metabolisme asam sianida. Selain itu, sianida juga bereaksi dengan hidroksokobalamin untuk diubah menjadi sianokobalamin (vitamin B12). Sianida juga melalui proses oksidasi menjadi sianat dan karbon dioksida, serta terhidrolisis menjadi format. Selanjutnya tiosianat, sianokobalamin, dan format diekskresikan melalui urin, sedangkan asam sianida dan  $\text{CO}_2$  diekskresikan melalui sistem pernafasan (ECETOC, 2007), untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Metabolisme asam sianida (Sumber : ECETOC, 2007)

Wangari (2013) mengutarakan pada umumnya konsumsi asam sianida dengan dosis normal tidak membahayakan tubuh, dikarenakan enzim-enzim di dalam tubuh dapat menetralkannya, lalu terekskresi lewat urin. Asam sianida yang masuk ke dalam tubuh melalui jalur oral langsung diabsorpsi oleh tubuh. Setelah

diabsorpsi, sianida dengan cepat didistribusikan di dalam tubuh melalui aliran darah. Namun hanya sebagian mencapai aliran darah karena melalui metabolisme di hepar terlebih dahulu (ECETOC, 2007). Keracunan asam sianida disebabkan karena terlalu banyak sianida yang masuk ke dalam tubuh. Keracunan asam sianida disebabkan oleh adanya formasi kompleks dengan ferri ( $\text{Fe}^{3+}$ ) pada sitokrom oksidase yang ada di dalam jaringan pada tingkatan sel. Formasi ini menyebabkan terhambatnya oksigen dalam menerima elektron dari sitokrom oksidase, sehingga timbulnya sitotoksis anoksia. Hal ini mengakitbatkan oksigen yang dibutuhkan oleh sel tersedia, namun tidak bisa digunakan oleh sel tersebut, sehingga menyebabkan gagalnya metabolisme secara aerobik (ECETOC, 2007).

Asam sianida selain dapat menghambat sitokrom oksidase, juga dapat menyebabkan deplesi ATP. Hal ini memicu terjadinya penghambatan metabolisme oksidatif glukosa yang mendukung jalur anaerobik untuk berlangsung. Karena jalur anaerobik berlangsung, akan menyebabkan kematian secara cepat akibat hipoksia jaringan (Kumar *et al.*, 2003).

Penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa sianida dapat meningkatkan kadar kalsium intrasel karena deplesi ATP dan penambahan dua jalur tambahan di dalamnya. Peningkatan kalsium sitosol memicu terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan nitrogen monoksida (NO) yang dimediasi oleh aktivasi *fosfokinase C* (PKC). PKC mengaktifkan *fosfolipase A2* (PLA2) dan mengaktifasi kaskade asam arakidonat, kedua jalur *cyclo-oxygebase* (COX) dan lipoksigenase. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar ROS dalam retikulum endoplasma. Peningkatan kadar ROS dan NO ini nantinya yang akan mendasari terbentuknya *malone dialdehyde* (MDA) dalam sitotoksisitas dan apoptosis sel (ECETOC, 2007).

Kandungan sianida yang dapat menyebabkan gangguan pada tiap organ berbeda-beda dosisnya. Di lambung sebesar 0,03; darah 0,5; hati 0,03; ginjal 0,11; otak 0,07; dan urin 0,2 (mg/100g) (FSANZ, 2004).

## 2.2 Enzim Transaminase

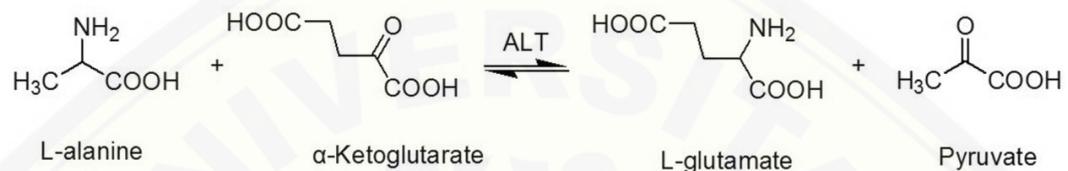
### 2.2.1 Definisi

Aminotransferase / transaminase merupakan suatu kelompok enzim yang mengkatalis proses interkonversi asam amino dan asam okso dengan mentransfer gugus amino. Ada 2 enzim transaminase pada manusia yaitu aspartat aminotransferase (AST), yang dulu dikenal dengan nama glutamat oksaloasetat transaminase (GOT), dan alanin aminotransferase (ALT), yang dulu dikenal dengan nama glutamat piruvat transaminase (GPT), Spesifikasi dari masing – masing enzim akan menentukan jenis asam amino yang berfungsi sebagai donor gugus amino lainnya. Dalam reaksi SGOT, asam aminonya berupa aspartat, sedangkan dalam reaksi SGPT, asam aminonya berupa alanin (David, 1990).

Aminotransferase mengkatalisis proses redistribusi nitrogen antara asam amino dan asam okso terkait yang berpartisipasi dalam metabolisme protein dan gluconeogenesis. Aminotransferase jumlahnya sangat banyak dalam distribusi selnya. Aktivitas jaringan pada SGOT secara berurutan akan menurun pada organ jantung, hati, otot skeletal, ginjal, pankreas, limfa, paru – paru, dan eritrosit. Telah teridentifikasi dua bentuk berbeda dari SGOT yaitu sitoplasmik dan isoform mitokondrial. Pengukuran secara selektif pada SGOT masih belum memberikan makna klinis yang signifikan. Pada SGPT, distribusi dan aktifitas jaringannya hampir sama dengan SGOT, namun memiliki perbedaan penting. Aktifitas tertinggi ditemukan di hati, diikuti oleh ginjal, miokard, otot skeletal, pankreas, limfa, paru – paru, dan eritrosit. SGPT ditemukan dalam bentuk sitoplasmik saja, karena bentuk isoform organel lainnya asih belum ditemukan. Jumlahnya dalam hati sebanding dengan jumlah SGOT, tetapi SGPT dalam bentuk isoform mitokondria belum ditemukan. Sedangkan di organ lain, jumlah dan aktivitas SGPT jauh lebih sedikit dibandingkan dengan SGOT. Aplikasi klinis utama dalam pemeriksaan serum SGOT dan SGPT adalah untuk membantu mendeteksi dan mengetahui etiologi serta diagnosis suatu penyakit yang berhubungan dengan organ hati (David, 1990).

### 2.2.2 Pembentukan dan Fisiologi Transaminase

SGPT adalah enzim yang terutama teragregasi di dalam sitosol hati. SGPT terdiri dari 496 asam amino dan memiliki waktu paruh  $47 \pm 10$  jam. Secara fisik, enzim SGPT mengkatalisasi transfer gusur amino L-alanin menjadi  $\alpha$ -ketoglutarate, dan mengkonversi produknya menjadi L-glutamat dan piruvat di dalam liver (David, 1990), dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Pembentukan SGPT (Sumber : David,1990)

Aktivitas SGPT dalam sel hepar hampir 3000 kali lebih tinggi dibandingkan aktivitasnya dalam serum. Ketika terjadi kerusakan hati, SGPT dikeluarkan dari sel hati dan menyebabkan peningkatan SGPT serum. SGPT juga terdapat pada sel otot, adiposit, usus, kolon, prostat, dan otak. Namun demikian, konsentrasi SGPT pada organ – organ ini lebih rendah daripada di hati (David, 1990).

SGOT merupakan enzim yang dijumpai dalam otot jantung dan hati, sementara dalam konsentrasi sedang dijumpai pada otot rangka, ginjal dan pankreas. Konsentrasi rendah dijumpai dalam darah, kecuali jika terjadi cedera seluler, kemudian dalam jumlah banyak dilepaskan ke dalam sirkulasi (David, 1990)

### 2.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah suatu uji yang digunakan untuk mendeteksi efek toksis suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan sebagai informasi untuk mengetahui derajat bahaya sediaan uji bila dipaparkan pada manusia, sehingga dapat menentukan jumlah dosis yang penggunaannya aman untuk manusia (BPOM, 2014).

Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model untuk mengetahui adanya reaksi biokimia, fisiologik, dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil dari uji toksisitas tidak dapat digunakan sepenuhnya untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan pada manusia, tetapi dapat digunakan sebagai petunjuk untuk mengetahui adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM, 2014).

Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* dapat dipercaya 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. Dalam uji toksisitas terdapat dua jenis uji, uji toksisitas umum dan uji toksisitas khusus. Dalam penelitian ini digunakan uji toksisitas umum. Uji toksisitas umum terdiri dari uji toksisitas akut, subkronis dan kronis. Uji toksisitas akut adalah suatu pengujian yang bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan oral dengan prinsip pemberian satu dosis perkelompok kemudian diamati efek toksik dan kematian. Uji toksisitas subkronis adalah suatu pengujian yang bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang selama sebagian umur hewan dengan prinsip pemberian beberapa dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari. Uji toksisitas kronis adalah suatu pengujian yang bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang selama seluruh umur hewan dengan prinsip pemberian dosis selama lebih dari 12 bulan. Langkah awal pada uji toksisitas umum, yang digunakan untuk penentuan keamanan suatu zat atau sediaan adalah uji toksisitas akut (BPOM, 2014).

### 2.3.1 Uji Toksisitas Akut

Tujuan dari uji toksisitas akut pedoman BPOM adalah untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat sehingga dapat menilai ada atau tidaknya suatu efek toksik pada sediaan. Dalam penelitian ini digunakan metode uji

toksistas akut menurut pedoman *organization for economic cooperation and development* (OECD) 420 *fixed dose procedure* (FDP). Metode ini memiliki prinsip uji toksistas akut dengan mengelompokkan hewan uji dengan jenis kelamin yang sama ke dalam beberapa kelompok dosis yang telah ditentukan oleh OECD 420, yaitu 5, 50, 300, dan 2000 mg/kg dengan menggunakan 5 hewan uji tiap kelompoknya (OECD, 2001).

Langkah pertama yang dilakukan pada uji toksistas akut OECD 420 adalah uji pendahuluan. Fungsi dari uji pendahuluan adalah untuk menentukan dosis awal dengan menggunakan satu hewan coba pada tiap dosisnya. Hewan uji yang digunakan adalah tikus dengan jenis kelamin betina. Uji toksistas akut OECD 420 ini digunakan untuk mengetahui senyawa berbahaya dan senyawa tersebut akan dimasukkan kedalam klasifikasi tingkat toksistas OECD (OECD, 2001).

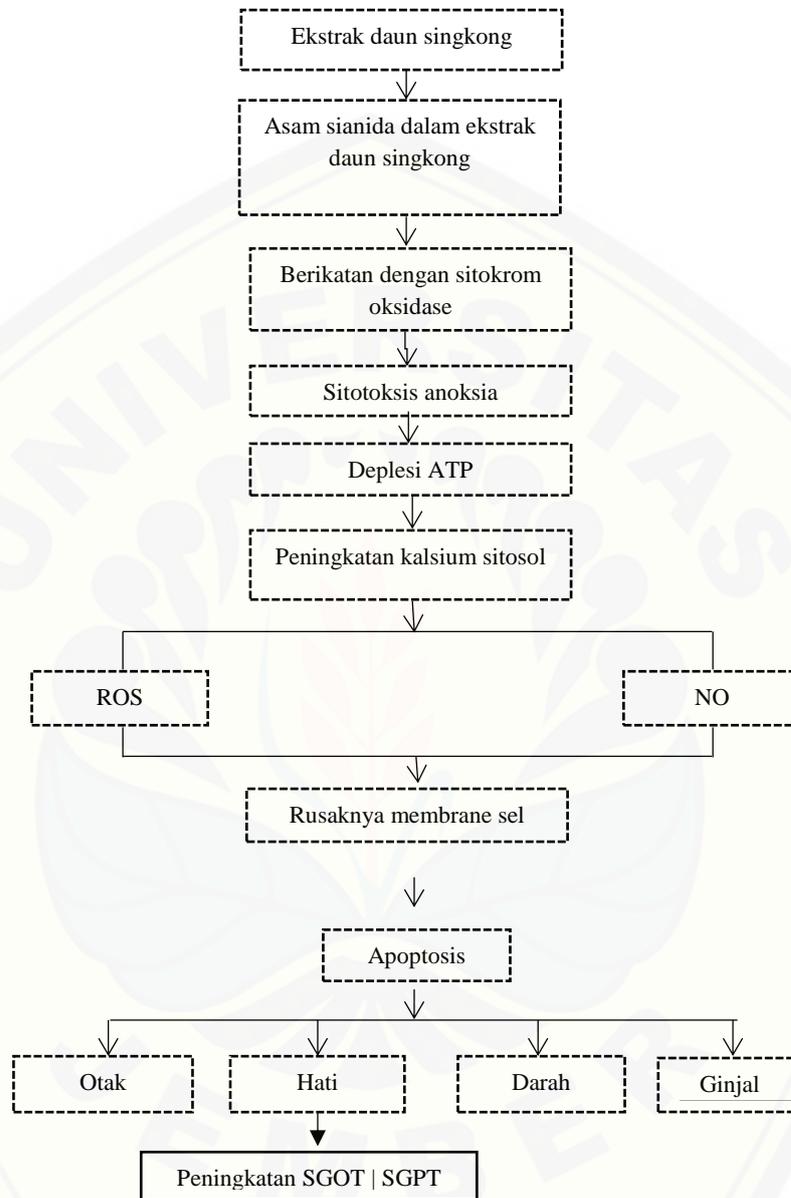
### 2.3.2 Kriteria Penggolongan

Penggolongan sediaan uji dapat digunakan untuk mengetahui senyawa atau zat yang berbahaya sesuai tingkatan dari dosis. Hasil toksistas akut dapat dievaluasi berdasarkan kriteria bahaya dari GHS (*Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures*) yang terdapat dalam *Thirteenth Addendum to The OECD Guidelines for The Testing of Chemicals* (2001). Kriteria penggolongan menurut OECD (2001) digunakan untuk penentuan kategori toksistas akut bahan kimia seperti pestisida serta untuk pelabelannya, seperti pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kriteria Penggolongan sedian uji pada tikus (Sumber : OECD, 2001)

Dosis (mg/kg BB)	Kematian	Kategori
5	$\geq 2$ dari 5 ekor mati	1
5	$\geq 1$ ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	
50	$\geq 2$ dari 5 ekor mati	2
50	$\geq 1$ ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	3
300	$\geq 2$ dari 5 ekor mati	
300	$\geq 1$ ekor dengan gejala toksisitas dan atau $< 1$ mati	4
2000	$\geq 2$ dari 5 ekor mati	
2000	$\geq 1$ ekor dengan gejala toksisitas dan atau tidak ada kematian	5
	Tidak ada gejala toksisitas	5/ <i>unclassified</i>

### 2.4 Kerangka Konseptual



Keterangan

- : Memicu
- ▭ : Parameter yang diuji
- - - - - : Parameter yang tidak diuji

Gambar 2.5 Kerangka konseptual

## 2.5 Hipotesis

Terdapat efek toksisitas pemberian ekstrak daun singkong terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus Wistar betina.



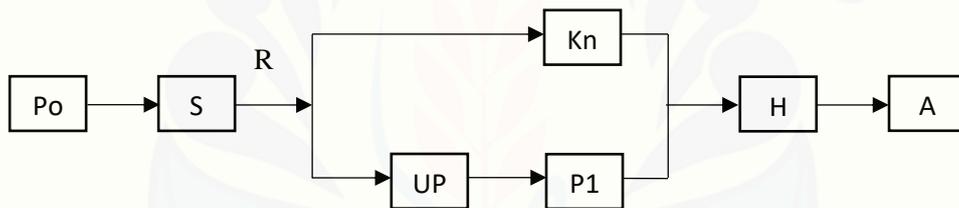
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental design* dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penilaian hanya dilakukan pada saat *post test*, dengan membandingkan hasil penelitian dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis rancangan penelitian dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

Keterangan:

- Po = populasi tikus
- S = sampel
- R = randomisasi
- Kn = kelompok kontrol normal dengan pemberian CMC Na
- UP = uji pendahuluan untuk menentukan dosis yang digunakan dalam uji utama.
- P<sub>1</sub> = kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun singkong. Kelompok ini menggunakan lima ekor tikus dengan satu tikus yang telah melalui uji pendahuluan (OECD, 2001).
- H = pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT tikus
- A = analisis data

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah seluruh tikus putih betina galur Wistar.

#### 3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil dengan teknik *quota sampling* dari populasi tikus putih galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebagai berikut :

a. Kriteria inklusi:

- 1) Jenis kelamin betina
- 2) Nulipara
- 3) Usia tikus 8 - 12 minggu
- 4) Keadaan tikus sehat atau normal, ditandai dengan gerakan-gerakan tikus seperti makan, minum, tidak terdapat luka atau cacat tubuh.
- 5) Bobot tikus antara 150-200 gram

b. Kriteria eksklusi:

- 1) Tikus yang memiliki cacat bawaan

#### 3.3.3 Besar Sampel

Menurut OECD (2001), penelitian ini menggunakan 5 ekor hewan coba dalam uji utama untuk setiap kelompoknya. Dalam penelitian ini digunakan 2 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol (Kn) dan kelompok perlakuan 1 (P<sub>1</sub>). Berdasarkan hal tersebut, maka besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 10 ekor tikus.

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak etanol daun singkong pada tikus Wistar betina.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah kadar SGOT dan SGPT pada tikus Wistar betina.

#### 3.4.3 Variabel Terkendali:

- a. Usia tikus Wistar
- b. Jenis kelamin (betina)
- c. Waktu dan lama perlakuan
- d. Pemeliharaan tikus Wistar

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Daun singkong

Daun singkong yang digunakan adalah bubuk daun singkong kering yang diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak etanol daun singkong diberikan secara peroral dengan dosis 2000mg/kg melalui sonde lambung sejumlah 1 kali pemberian (OECD, 2001). Skala datanya berupa rasio.

#### 3.5.2 *Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT)*

SGPT dikenal juga dengan sebutan ALT (*Alanin Aminotransferase*). Enzim ini juga ditemukan di bagian tubuh yang lain, namun paling banyak ditemukan di hati. Enzim ini sebagian besar terikat pada sitoplasma. Enzim ini dilepas ke darah jika terjadi kerusakan sel. Pengukuran kadar SGPT dalam darah biasanya digunakan untuk mengetahui apakah ada kerusakan pada hati (Hall, 2012). Pengukurannya menggunakan metode *optimized UV test* (BPOM, 2014). Skala datanya berupa rasio. Satuan yang digunakan IU/L.

### 3.5.3 Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT)

SGOT dikenal juga dengan sebutan AST (*Aspartat Aminotransferase*). Enzim ini banyak ditemukan terutama pada otot jantung, diikuti hati, otot skletal, ginjal, otak dan pankreas. Enzim ini memiliki 2 jenis isoform, ada yang terikat dengan organel dan ada yang terikat dengan sitoplasma. Peningkatan kadar SGOT isoenzim sitoplasma menunjukkan adanya kerusakan sel sedang. Sedangkan peningkatan kadar SGOT isoenzim organel menunjukkan adanya kerusakan sel yang berat. Pengukuran kadar SGOT pada darah juga digunakan untuk mendeteksi adanya kerusakan pada hati, namun kurang spesifik karena enzim ini juga banyak ditemukan di organ lainnya (Hall, 2012). Pengukurannya menggunakan metode *optimized UV test* (BPOM, 2014). Skala datanya berupa rasio. Satuan yang digunakan IU/L.

## 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.6.1 Alat Penelitian

- a. Alat untuk memberikan perlakuan
  - 1) Kandang tikus (termasuk tempat minum dan tempat makan)
  - 2) Sonde Lambung
  - 3) Spuit 6 cc
  - 4) Kawat kasa untuk tutup kandang
- b. Alat untuk pengukuran kadar SGOT dan SGPT
  - 1) Waterbath *Daihan Labtech*
  - 2) Spektrofotometri *LO*
  - 3) Tabung reaksi 5 ml
  - 4) Pipet Eppendorf *Research Plus* 100  $\mu$ l , 1000  $\mu$ l
  - 5) Tip Eppendorf Kuning, Biru

### 3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Bahan untuk perlakuan
  - 1) Tikus Wistar betina
  - 2) Ekstrak daun singkong

b. Bahan untuk pengukuran kadar SGOT dan SGPT

1) Pereaksi A :

- 80 mM TRIS pH 7,8
- 240 mM IL-aspartat
- > 600 U/I MDH
- > 600 U/I LDH

Pereaksi B :

- 12 mM 2-oksaloglutarat
- 0.18 mM NADH

### 3.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di tempat pemeliharaan dan perlakuan hewan coba, yaitu Laboratorium Fisiologi FK Universitas Jember. Sedangkan untuk pembuatan ekstrak daun singkong dan pengukuran kadar SGOT dan SGPT dilakukan di Laboratorium Biokimia FK Universitas Jember. Penelitian berlangsung selama 28 hari dengan rincian 14 hari uji pendahuluan dan 14 hari uji utama.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Uji kelayakan etik

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar yang dalam pelaksanaannya harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke Komisi Etik Kedokteran. Prosedur ini bertujuan untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

#### 3.8.2 Aklimatisasi hewan coba

Sebelum penelitian dimulai, tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama lima hari di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk menyesuaikan dengan lingkungan tempat penelitian berlangsung. Makanan *pellet* dan minuman diberikan secara *ad libitum* pada semua hewan. Pemeliharaan dan

perlakuan hewan coba berlangsung di kandang berukuran 45 x 30 x 20 cm dan beralaskan sekam kering. Setiap kandang berisi 1 hewan coba (OECD, 2001).

### 3.8.3 Pembuatan ekstrak etanol daun singkong

Daun singkong yang digunakan pada penelitian diperoleh di pasar Tanjung kabupaten Jember. Pembuatan ekstrak etanol daun singkong dimulai dengan penyortiran daun singkong untuk mendapatkan daun singkong yang baik. Daun yang telah disortasi dicuci, kemudian diangin-anginkan dan dikeringkan di bawah sinar matahari. Simplisia daun kering dihaluskan dengan blender dan diayak sehingga memperoleh serbuk halus. Serbuk halus yang dihasilkan kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi kemudian dibuat ekstrak menggunakan *rotary evaporator* (Marjoni, 2016).

### 3.8.4 Pembuatan sediaan uji

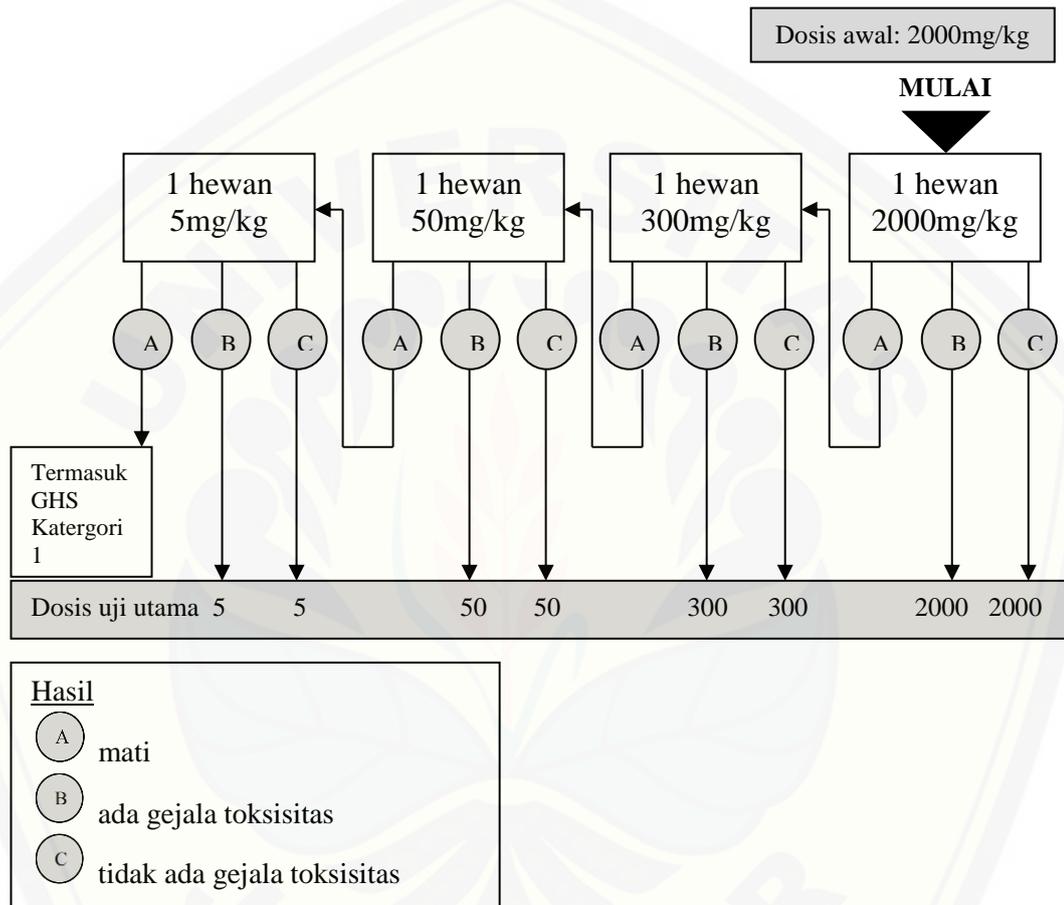
Pertama-tama dilakukan pembuatan larutan Na-CMC 0,5% terlebih dahulu. Larutan Na-CMC dibuat dengan melarutkan 0,5 bagian serbuk CMC-Na ke dalam 100 bagian akuades hangat. Senyawa uji pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun singkong. Sediaan uji dibuat dengan melarutkan senyawa uji dalam akuades. Perhitungan dosis hewan coba melalui empat tahap yaitu menentukan konsentrasi sediaan, berat ekstrak, volume sediaan, dan volume pemberian. Volume sediaan uji disesuaikan dengan berat badan masing-masing hewan coba dengan melakukan pengukuran berat badan setiap hewan coba sebelum diberikan perlakuan (Marjoni, 2016).

### 3.8.5 Pemberiaan ekstrak etanol daun singkong

Ekstrak etanol daun singkong diberikan peroral menggunakan sonde lambung. Sebelum sediaan uji diberikan, tikus dipuasakan selama satu malam. Sediaan uji diberikan satu kali pada awal uji (OECD, 2001).

### 3.8.6 Uji pendahuluan

Tujuan dilakukannya uji pendahuluan adalah untuk mengetahui dosis yang sesuai untuk uji utama (OECD, 2001). Uji pendahuluan dalam penelitian ini dilakukan sesuai dengan pedoman OECD tentang toksisitas oral akut dengan prosedur *fixed dose*. Skema alur pengujian dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema alur uji pendahuluan ketoksikan akut oral metode OECD 420 dengan dosis awal 2000 mg/kgBB.

Uji pendahuluan dalam penelitian ini menggunakan dosis awal 2000 mg/kgBB karena pada dari hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Pradini (2015) dengan menggunakan ekstrak air daun singkong diperoleh LD50 semu sebesar 11,08 gram/kgBB. Sediaan uji dalam uji pendahuluan diberikan pada satu ekor tikus. Uji ini berlangsung selama 14 hari. Apabila hewan coba pada uji pendahuluan tetap hidup selama 14 hari dan tidak menunjukkan gejala toksisitas,

maka dosis yang digunakan dalam uji utama sebesar 2000 mg/kgBB. Jika hewan coba pada uji pendahuluan tetap hidup selama 14 hari dan menunjukkan gejala toksisitas, maka dosis yang digunakan dalam uji utama sebesar 2000 mg/kgBB. Jika hewan coba pada uji pendahuluan mati selama uji berlangsung, maka uji pendahuluan dilanjutkan dengan dosis yang lebih rendah mulai dari 300 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 5 mg/kgBB masing-masing selama 14 hari hingga didapatkan dosis yang tidak menyebabkan kematian pada hewan coba.

Gejala toksisitas yang dimaksud merupakan respon hewan coba terhadap zat uji yang berasal dari interaksi antara zat tersebut dengan organ, jaringan, maupun sel dari hewan coba. Interaksi tersebut dapat menghasilkan efek samping, dalam hal ini adalah gejala toksisitas, yang bisa digambarkan melalui perubahan gejala klinis maupun perubahan psikis pada hewan coba. Ada beberapa gejala yang bisa dijadikan bahan evaluasi pada hewan coba untuk menentukan kondisi dan bisa menjadi bukti kuat ketika hewan coba sedang mengalami rasa sakit atau *distress* akibat efek dari toksisitas. Gejala – gejala tersebut antara lain perubahan pada penampilan fisik seperti kondisi bulu ataupun postur tubuh, perubahan pada gejala klinis seperti *respiration rate*, perubahan pada perilaku yang tidak diprovokasi seperti *self mutilation* ataupun perilaku kompulsif, perubahan pada perilaku yang distimulus dari luar seperti *righting reflex* ataupun eksitabilitas, perubahan pada berat badan yang berhubungan dengan perubahan pada pola makan ataupun minum, dan perubahan pada parameter klinis seperti denyut nadi ataupun aspek hematologi (OECD, 2011).

Sebenarnya masih banyak lagi gejala – gejala klinis yang bisa terjadi ketika hewan coba mengalami efek toksisitas. Namun, untuk mempermudah peneliti, OECD menyertakan tabel ringkasan dari gejala – gejala yang paling sering terjadi pada beberapa penelitian valid tentang uji toksisitas akut. Gejala – gejala tersebut adalah konvulsi, tremor, posisi lateral, nafas terengah – engah, dan vokalisasi (OECD, 2001).

### 3.8.7 Uji utama

Uji utama dilakukan setelah uji pendahuluan dilakukan. Uji ini terdiri dari dua kelompok yakni kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Lima ekor tikus kelompok perlakuan diberi ekstrak daun singkong dosis 2000 mg/KgBB secara peroral. Tikus hanya mendapatkan satu kali pemberian karena uji ini untuk mengetahui reaksi toksik dari suatu bahan secara akut. Pengamatan berlangsung selama 14 hari. Tikus yang mati selama uji utama berlangsung akan diambil darahnya sebagai sampel pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT. Tikus yang masih bertahan hidup hingga 14 hari uji utama berlangsung akan diterminasi untuk diambil darah melalui intrakardial dan dilakukan pengamatan.

### 3.8.8 Pengukuran kadar SGOT dan SGPT

#### a) Uji Kadar SGPT

Sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  reagen GPT dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  serum, dan dikocok selama 1 menit dalam pemanas air pada suhu 37 °C. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm dengan faktor konversi sebesar 1745 untuk mendapatkan kadar SGPT. Kadar SGPT dinyatakan dalam satuan unit/liter (IU/L) (BPOM, 2014).

#### b) Uji Kadar SGOT

Sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  reagen GOT dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  serum, dan dikocok selama 1 menit dalam pemanas air pada suhu 37 °C. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm dengan faktor konversi sebesar 1745 untuk mendapatkan kadar SGOT. Kadar SGOT dinyatakan dalam satuan unit/liter (IU/L) (BPOM, 2014).

### 3.9 Analisis Data

Setelah penelitian, data yang didapat kemudian dianalisis secara komputerisasi dan dibantu dengan perangkat lunak berupa program statistik. Data yang diperoleh diolah dengan program analisis data. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji beda. Sebelum dilakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel  $<50$  dan uji *Lavene* untuk mengetahui homogenitas terlebih dahulu. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *T* ( $p < 0,05$ ). Uji *T* digunakan sebagai uji komparasi antara kadar SGOT dan SGPT tikus kelompok kontrol dengan kadar SGOT dan SGPT tikus kelompok perlakuan, dan apabila data yang didapatkan terdistribusi tidak normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* ( $p > 0,05$ ).

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat efek toksisitas pemberian ekstrak daun singkong dengan dosis limit terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus Wistar betina.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat dilakukan pada penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut.

- a. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan dosis diatas 2000 mg/kgBB
- b. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan variabel terikat lain seperti pemeriksaan enzimatik yang lain maupun pemeriksaan secara histopatologi.
- c. Proses pengamatan hewan coba benar – benar dilakukan selama 24 jam sehingga perilaku hewan coba bisa tercatat dengan baik.
- d. Perlu dilakukan *pytochemical screening* sebelum dilakukan uji toksisitas guna memastikan bahwa daun singkong yang diteliti benar – benar mengandung glukosida sianogenik.
- e. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi toksisitas daun singkong baik uji toksisitas sub kronis maupun kronis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agratama, I. N. 2017. Efek Toksisitas Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Ginjal Tikus Dilihat dari Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN). *Skripsi*. Jember : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Almasyhuri. 2007. *Potensi Daun Singkong Kering Sebagai Sumber Vitamin Untuk Anak Pra Sekolah*. Abstrak PGMI.
- Alves, A.A.C. 2002. Cassava Botany and Physicology. In Cassava: Biology, Production and Utilization, eds Hillocks, R.J., Thresh, J.M. and Belloti, A.C., CAB International, pp. 67—89.
- Animal Research Review Panel (ARRP). 2000. *ARRP Guideline 20 : Guidelines for the Housing of Rats in Scientific Institutions*. Sydney : Animal Ethics
- Apriadi, W. Harry. 2001. Mengkudu Diantara Sayuran Lain. <http://www.ekafood.com/sayur.htm>. [Diakses tanggal 10 Juni 2018]
- Arifin, W.A , S.Karanedi. 1992. Cassava (Ubi Kayu) Poisoning in Children. *Med. J. Malaysia*. 47(3) : 231-232.
- Askar, S. 1996. *Daun Singkong dan Pemanfaatannya Terutama Sebagai Pakan Tambahan*. Bogor : Balai Penelitian Ternak.
- Awoyinka, A. F., V. O. Abegunde, dan S.R. Adewusi. 1995. Nutrient content of young cassava leaves and assessment of their acceptance as green vegetable in Nigeria. *Plant Foods for Human Nature* 47(1) : 21-28.
- Badan Pusat Statistik. 2015. Luas Panen dan Produktivitas Tanaman Pangan Menurut Provinsi. <https://www.bps.go.id/subject/53/tanaman-pangan.html>. [Diakses pada 13 Mei 2018]
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Klinik Secara In Vivo*. Jakarta: Tim Penyusun BPOM.

- Burns, A.E. , M.G. Roslyn. 2012. Variatiions in the Chemical Composition of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Leaves and Roots As Affected by Genotypic and Enviromental Variation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60 : 4946.
- David, H. 1990. *Aminotransferases*. Clinical Methods : The History, Physical, and Laboratory Examinations, ed. 3. Atlanta : Emory University School of Medicine.
- European Center for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). 2007. *Cyanides of Hydrogen, Sodium and Potassium, and Acetone Cyanohydrin*. JACC No.53, Brussels : ECETOC.
- Espanoza, O.B. , M.Perez, dan M.S. Ramirez. 1992. Bitter Cassava Poisoning in Eight Children : A Case Report. *Vet. Hum. Toxicol*. 34(1) : 65.
- Fasuyi, Ayodeji. 2005. Nutrient Composition and Processing Effects on Cassa Leaves (*Manihot esculenta*, Crantz) Antinutrients. *Journal of Nutrition*. 4(1) : 37 - 42
- Food Standarts Australia New Zealand (FSANZ). 2004. *Cyanogenic Glycosides in Cassava and Bamboo Shoots*. New Zealand : FSANZ.
- Ghaderi P., Schrabi M.R., dan Alishahi M. 2015. Effects of Noise Stress on Liver Function. Istanbul : ICSSMN
- Hall, P. 2012. What is the Real Function of the Liver Function Tests?. *Ulster Med. J*. 81(1) : 30-31.
- Halliwell, Barry. Gutteridge, John. 2008. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford : Oxford Science Publication.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI). 2014. *Pedoman Gizi Seimbang*. Jakarta : Kemenkes RI.

Kumar, V. Cotran, R. S., dan Robbins, S.L. 2003. *Robbins Basic Pathology, Seventh Edition*. New York: Elsevier, Inc. Terjemahan oleh M. Asrorudin 2013. *Buku Ajar Patologi Robbins, Edisi Ketujuh*. Jakarta: EGC.

Latif, Sajid. 2015. Potential of Cassava Leaves in Human Nutrition : A Review. *Trends of Food Science and Technology*. 15 : 104-115.

Marjoni, R. 2016. *Dasar – Dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta : Trans Info Media.

Mary, L.A, Charles B. 2008. *Clinical Laboratory Parameters for Wistar Rats*. California : Charles River Labs.

McMahon J. M., White, W. L. B., dan Sayre, R. T. 1995. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta Crantz*). *Journal of Experimental Botany*. 46 : 121.

Normasari, Rena. 2017. Efek Ekstrak Daun Singkong terhadap Perbaikan Struktur dan Fungsi Ginjal Mencit yang Diinduksi Gentamisin. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 3(1) : 3-5.

Nurdiana, A. R. 2013. Uji Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) Terhadap Jumlah Neutrofil Pada Proses Penyembuhan Luka Tikus (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Nurul, Akbar. 2009. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III ed. 5. *Kelainan Enzim pada Penyakit Hati*. 251 : 1941-1943. Jakarta : Interna Publishing

Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). 2001. *OECD Guideline for Testing of Chemicals. Test no: 420: Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure*. Paris: OECD.

Pradini, Y. S. 2015. Ketoksikan Akut Ekstrak Air Daun Singkong (*Manihot utilissima Pohl*) dan Gambaran Histopatologi Organ Hati pada Mencit Jantan Galur Swiss. *Skripsi*. Ungaran : Program Studi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ngudi Waluyo.

- Rifai, Amirudin. 2009. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III ed. 5. *Fisiologi dan Biokimia Hati*. 249 : 1931. Jakarta : Interna Publishing
- Robert, J.G , B. Claudia. 2006. Pediatric Cyanide Poisoning : Causes, Manifestations, Management, and Unmet Needs. *PEDIATRICS*. 118(5) : 2151-2152.
- Rosmalina. 2007. *Hasil Analisis Vitamin A dan Beta karoten Bahan Makanan Sumber Vitamin A dan Karoten dengan Metode HPLC*. Abstrak PGMI.
- Umathe S.N., Kale M.K., dan Bhusari K.P. 2006. Oxidative stress and thyroid positive health. *Porstmouth*. 119 : 24-25
- United States Department of Agriculture (USDA). 2000. *Manihot esculenta* Crantz. Natural Resources Conservation Service.  
<https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MAES>. [Diakses pada 13 Mei 2018].
- Wangari, M. F. 2013. Potential Toxic Levels Of Cyanide In Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Grown In some Parts Of Kenya. *Library Kenyatta University*.
- White, W. L. B, J. M. McMahon, dan R. T. Sayre. 1994. Regulation of cyanogenesis in cassava. *Acta Horticulturae* 375(4): 69-71.

## LAMPIRAN

## 1.1 Persetujuan Etik Peneliti



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :  
fk\_unej@telkom.net

**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVA*

Nomor : 1.169/H25.1.11/KE/2018

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**PERBEDAAN EFEK TOKSISITAS PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG (*Manihot ezculenta*) TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT PADA TIKUS WISTAR BETINA**

Nama Peneliti Utama : Akbar Maulida A.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 142010101092

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 30 Agustus 2018  
Ketua Komisi Etik Penelitian



*Rini Riyanti, Sp.PK*

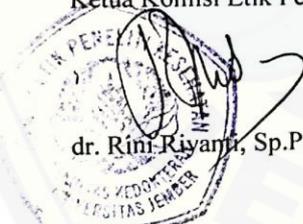
**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

*Review Proposal* :

1. Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan ( Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*).
2. Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak etanol daun singkong agar didapatkan kadar yang sesuai.
3. Mohon diperhatikan kalibrasi dan kontrol kualitas reagen pada pemeriksaan SGOT/SGPT.
4. Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui  
Ketua Komisi Etik Penelitian

  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 01 Agustus 2018

*Reviewer*

  
dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

## 2.1 Hasil Uji Determinasi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
 Jln. Kalimantan 37 Kampus Tegalboto Kotak Pos 159 Jember 68121  
 Telp. (0331) 334293 Fax (0331) 330225

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

No. 17 /2017

Ketua Laboratorium Botani Jurusan Biologi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh:

Nama : Akbar Maulida Arisadewa  
 NIP/NIM/NIK : 142010101092  
 Institusiasal : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

pada tanggal 13 November 2017, telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan Bakhuizen van den Brink Jr. adalah :

No.	Genus	Species	Family
1.	Manihot	<i>Manihot esculenta</i> Crantz.	Euphorbiaceae

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Jember, 18 November 2017

Ketua Laboratorium Botani

Dra. Dwi Setyati, M.Si.

NIP. 196404171991032001

Determined by Dra. Dwi Setyati, M.Si

**3.1 Tabel Pemberian Dosis 2000 mg/kgBB Ekstrak Daun Singkong**

Jenis	Berat Badan (g)	Dosis
Kontrol 1	190	380 mg/2ml
Kontrol 2	175	350 mg/2ml
Kontrol 3	172	344 mg/2ml
Kontrol 4	134	268 mg/2ml
Kontrol 5	136	272 mg/2ml
Perlakuan 1	170	340 mg/2ml
Perlakuan 2	150	300 mg/2ml
Perlakuan 3	167	334 mg/2ml
Perlakuan 4	144	288 mg/2ml
Perlakuan 5	127	254 mg/2ml

**4.1 Hasil Penghitungan Kadar SGOT dan SGPT**

Kelompok	SGOT (IU/L)	SGPT (IU/L)	Rata – Rata (IU/L)	
			SGOT	SGPT
Kontrol 1	93	72	110,4	70,8
Kontrol 2	104	84		
Kontrol 3	122	55		
Kontrol 4	89	67		
Kontrol 5	144	76		
Perlakuan 1	110	71	111	67,6
Perlakuan 2	113	65		
Perlakuan 3	79	65		
Perlakuan 4	96	60		
Perlakuan 5	157	77		

## 5.1 Analisis Data Kadar SGOT dan SGPT

### 5.1.1 Uji Normalitas SGOT

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.211	5	.200*	.919	5	.521
Perlakuan	.273	5	.200*	.929	5	.588

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

a. Lilliefors Significance Correction

### 5.1.2 Uji Normalitas SGPT

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.163	5	.200*	.985	5	.961
Perlakuan	.254	5	.200*	.949	5	.731

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

a. Lilliefors Significance Correction

### 5.1.3 Uji Homogenitas SGOT

**Test of Homogeneity of Variances**

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.013	1	8	.913

### 5.1.4 Uji Homogenitas SGPT

**Test of Homogeneity of Variances**

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.741	1	8	.414

## 5.1.5 Uji Independent T-test SGOT

## Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means		
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
SGOT	Equal variances assumed	.972	-.60000	16.48514
	Equal variances not assumed	.972	-.60000	16.48514

## 5.1.6 Uji Independent T-test SGPT

## Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means		
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
SGPT	Equal variances assumed	.587	3.20000	5.64801
	Equal variances not assumed	.590	3.20000	5.64801

## 6.1 Gambar Penelitian

### 6.1.1 Pembuatan Ekstrak Daun Singkong



### 6.1.2 Pembuatan Sediaan Oral Ekstrak Daun Singkong



### 6.1.3 Induksi Oral Ekstrak Daun Singkong dan Pengamatan



#### 6.1.4 Terminasi dan Pengambilan Darah Intrakardial



#### 6.1.5 Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT

