

**UJI TOKSISITAS AKUT DOSIS TUNGGAL EKSTRAK ETANOL DAUN
PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium Walp*) TERHADAP
FUNGSI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR
*Sprague-Dawley***

(Skripsi)

Oleh :

Tito Purwanto



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2023

**UJI TOKSISITAS AKUT DOSIS TUNGGAL EKSTRAK ETANOL DAUN
PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium Walp*) TERHADAP
FUNGSI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR**

Sprague-Dawley

Oleh :

Tito Purwanto

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG**


2023

Judul Skripsi : Uji Toksisitas Akut Dosis Tunggal
Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah
(*Syzygium Myrtifolium Walp*) Terhadap
Fungsi Hepar Tikus Putih (*Rattus
Norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley*

Nama : Tito Purwanto
No. Pokok Mahasiswa : 1918011054
Program Studi : Pendidikan Dokter
Fakultas : Kedokteran




dr. Putu Ristyaning Ayu Sangging,
S.Ked., M.Kes., Sp.PK(K)
NIP 231401760222201


dr. Tri Umiana Soleha, S. Ked.,
M.Kes.
NIP 197609032005012001

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Dyah Wulan SRW., S.K.M., M. Kes.
NIP 197206281997022001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **dr. Putu Ristyaning Ayu Sangging, S.Ked.,
M.Kes., Sp.PK(K)**

Sekretaris : **dr. Tri Umiana Soleha, S. Ked., M.Kes.**

Penguji

Bukan Pembimbing : **dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA.**

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, SKM., M.Kes.

NIP. 197206281997022001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **10 Februari 2023**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa :

Skripsi dengan judul “**Uji Toksisitas Akut Dosis Tunggal Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium Walp*) Terhadap Fungsi Hepar Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 7 Maret 2023

Pembuat Pernyataan



Tito Purwanto

NPM. 1918011054

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Jakarta pada tanggal 05 November 2000, sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Didik Purwanto dan Ibu Diah Eko Ermawanti.

Penulis mulai menempuh Pendidikan dari sekolah dasar (SD) diselesaikan di SDS Al-Kautsar pada tahun 2012, sekolah menengah pertama (SMP) diselesaikan di SMPS Al-Kautsar pada tahun 2015, dan sekolah menengah atas (SMA) diselesaikan di SMAS Al-Kautsar pada tahun 2018.

Tahun 2019 penulis meneruskan Pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) Angkatan 2019. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah berkontribusi menjadi Ketua Pelaksana dalam acara *Medical Gathering* 2019 dan mengikuti organisasi di internal kampus yaitu CIMSA FK Unila, Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) FK Unila, dan Forum Studi Islam Ibnu Sina (FSI) FK Unila.

SANWACANA

Alhamdulillahirrabbi lalamin, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah menciptakan langit tanpa tiang, laut tanpa pondasi, serta bumi tujuh lapis tanpa gantungan. Berkat-Nya penulis mampu melewati proses dan menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam kita sanjung agungkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari kegelapan jahiliyyah menuju terang benderang Islamiyyah. Semoga kita termasuk umat yang mendapat syafaat di hari akhir kelak.

Alhamdulillah, skripsi dengan judul “Uji Toksisitas Akut Dosis Tunggal Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium Walp*) Terhadap Fungsi Hepar Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley*” dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, dorongan, kritik dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada diri sendiri yang sudah bertahan dan berjuang. Kepada keluarga penulis, untuk orang tua yaitu mama Ema dan papa Didik dan adik penulis Salwa terima kasih atas doa, dukungan, semangat, nasihat, serta perhatian yang sangat berarti dalam proses penyusunan skripsi dan selama menjalani masa studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung ini. Terima kasih telah selalu menjadi keluarga yang baik dan selalu menyemangati penulis.

Terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung. Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, S.K.M., M.Kes. selaku Dekan

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Dr. dr. Khairun Nisa Berawi, M.Kes., AIFO. selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan dr Oktafany, S.Ked., M.Pd.Ked selaku Pembimbing Akademik yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran dan tenaganya untuk membimbing penulis serta memberikan masukan untuk penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Terima kasih kepada dr. Putu Ristyning Ayu Sangging, M.Kes., Sp.PK(K). selaku Pembimbing Utama, dr. Tri Umiana Soleha, S. Ked., M.Kes., selaku Pembimbing Kedua, dan dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA. selaku Pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terima kasih atas arahan serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini.

Terima kasih kepada seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan serta seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi dan membantu penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Terima kasih kepada Tua-tua Keladi (Ipan, Aang, Kanda, Ano, Zhalif, Dika, dan Nando) sebagai teman senasib seperjuangan yang selalu memberikan motivasi dan bantuan yang tiada hentinya dan telah sudah menjadi support system selama di perkuliahan ini. Terima kasih kepada Aswan, Sema, Rojak, Naya, Tetew, GD, Fathur. terima kasih sudah memberikan dukungan dan motivasi dan membantu dan menemani penulis melewati suka, duka, dan berproses bersama selama di perkuliahan ini.

Terima kasih kepada seluruh teman-teman seperjuangan L19AMENTUM L19AND, terima kasih telah menjadi keluarga dan bersama mengukir kenangan yang tak terlupakan. Semoga kita bisa terus bertahan sampai menjadi teman sejawat kelak.

Penulis berdoa dan berharap semoga Allah SWT membalas kebaikan semua pihak yang telah banyak membantu. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Penulis mohon maaf atas segala kesalahan baik kata maupun perilaku selama pembuatan skripsi. Segala saran dan masukan akan penulis terima dengan senang hati.

Bandar Lampung, 7 Maret 2023

Penulis,

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and vertical strokes, positioned above the printed name.

Tito Purwanto

Man Jadda Wajada

Dengan Izin Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, ku persembahkan karya ini untuk Orang Tua, Adik, Keluarga Besar, guru, sahabat, teman, dan semua pihak yang terlibat dan selalu mendukung serta mendoakan.

ABSTRACT

Acute Toxicity Test of Ethanol Extract of Red Shoots Leaves (*Syzygium Myrtifolium* Walp) Single Dose Against Liver Function In White Rats (*Rattus Norvegicus*) Sprague-Dawley Strain

By

Tito Purwanto

Background: One of Indonesia's natural potentials that can be developed for medicine is *Syzygium myrtifolium* Walp. In developing a medicine from plants, it is necessary to know the effect of using these herbs on body safety. The liver is responsible for detoxification and breaking down chemicals or poisons that enter our body. This is the main factor affecting the sensitivity of the liver to toxic substances that enter the body. This study aims to determine whether a single dose of *Syzygium myrtifolium* Walp extract has a toxic effect on SGOT and SGPT enzyme levels in male white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley.

Method: *Syzygium myrtifolium* Walp extract was given once to the test animals at a predetermined dose based on the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) guideline No.423, that is 5, 50, 300 and 2000 mg/kgBB and observed for 14 days. Then on the 14th day, samples were taken and blood tests were carried out.

Result: The LD50 (lethal dose) value of red shoots leaf extract was obtained at > 5000 mg/kg BW based on the OECD guideline No. 423 because there was 0-1 death in rats given a dose of 5000 mg/kgBB. The average results of SGOT serum levels in the control group, 2000 mg/kg, and 5000 mg/kg, were 169,3; 210,6; 247 while at SGPT 54,3;54,3; 137,3 An analytical test was carried out with One Way Anova and Post-Hoc LSD, the results obtained were $p < 0.005$ between groups.

Conclusion There was an effect of the oral acute toxicity test of red shoots (*Syzygium myrtifolium* Walp) leaf extract on SGOT and SGPT enzyme levels in male white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley strain.

Keyword: Acute Toxicity Test, OECD No.423, Red Shoots Leaf Extract, SGOT SGPT

ABSTRAK

UJI TOKSISITAS AKUT DOSIS TUNGGAL EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium Walp*) TERHADAP FUNGSI HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague-Dawley*

Oleh

Tito Purwanto

Latar Belakang: Potensi alam Indonesia yang bisa dikembangkan untuk obat salah satunya adalah *Syzygium myrtifolium Walp.* Dalam mengembangkan suatu obat dari tumbuhan perlu diketahui efek penggunaan herbal tersebut terhadap keamanan tubuh. Hepar bertugas untuk detoksifikasi dan memecah bahan kimia atau racun yang masuk ke dalam tubuh kita. Hal ini menjadi faktor utama yang mempengaruhi kepekaan hepar terhadap zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan mengetahui apakah pemberian ekstrak *Syzygium myrtifolium Walp* dosis tunggal memiliki efek toksik terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Metode: Ekstrak *Syzygium myrtifolium Walp* diberikan sebanyak satu kali terhadap hewan uji dengan dosis yang telah ditentukan berdasarkan *guideline* OECD No.423 yaitu 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB dan diamati selama 14 hari. Selanjutnya pada hari ke 14 dilakukan pengambilan sampel dan pemeriksaan darah.

Hasil: Didapatkan nilai LD50 (*lethal dose*) ekstrak daun pucuk merah sebesar >5000 mg/kgBB berdasarkan *guideline* OECD No. 423 dikarenakan adanya 0-1 kematian pada tikus yang diberikan perlakuan dosis 5000 mg/kgBB. Hasil rerata kadar serum SGOT pada kelompok kontrol, 2000 mg/kgBB, dan 5000 mg/kgBB adalah 169,3; 210,6; 247 sedangkan pada SGPT 54,3; 54,3; 137,3 Dilakukan Uji analisis dengan One Way Anova dan Post-Hoc LSD, didapatkan hasil $p < 0,005$ antara kelompok.

Kesimpulan: Terdapat pengaruh uji toksisitas akut oral ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Kata Kunci: Ekstrak Daun Pucuk Merah, OECD No.423, SGOT SGPT, Uji Toksisitas Akut

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| DAFTAR ISI | i |
| DAFTAR GAMBAR | v |
| DAFTAR TABEL | vi |
| DAFTAR LAMPIRAN | vii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| | |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Daun Pucuk Merah (<i>Syzygium myrtifolium Walp</i>)..... | 4 |
| 2.1.1 Morfologi Dan Taksonomi..... | 4 |
| 2.1.2 Kandungan Pada Daun Pucuk Merah | 6 |
| 2.2 Hepar | 10 |
| 2.2.1 Anatomi Hepar | 10 |
| 2.2.2 Fisiologi Hepar..... | 12 |

| | |
|--|----|
| 2.2.3 Enzim Aminotransferase (SGPT dan SGOT) | 13 |
| 2.2.4 Pengaruh Daun Pucuk Merah Terhadap Hepar..... | 14 |
| 2.3 Uji Toksisitas | 16 |
| 2.3.1 Uji Toksisitas Akut | 16 |
| 2.3.2 Definisi <i>Guideline</i> Uji OECD No. 423 | 17 |
| 2.4 Kerangka Teori..... | 19 |
| 2.5 Kerangka Konsep..... | 20 |
| 2.6 Hipotesis..... | 20 |

BAB 3 METODE PENELITIAN

| | |
|--|----|
| 3.1 Desain Penelitian..... | 21 |
| 3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian | 21 |
| 3.3 Populasi dan Sampel | 21 |
| 3.3.1 Populasi Penelitian..... | 21 |
| 3.3.2 Sampel Penelitian..... | 22 |
| 3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi..... | 22 |
| 3.4.1 Kriteria Inklusi | 22 |
| 3.4.2 Kriteria Eksklusi..... | 22 |
| 3.5 Variabel Penelitian | 23 |
| 3.5.1 Variabel bebas..... | 23 |
| 3.5.2 Variabel Terikat | 23 |
| 3.6 Definisi Operasional..... | 23 |
| 3.7 Alat dan Bahan Penelitian..... | 24 |
| 3.7.1 Alat Penelitian..... | 24 |

| | |
|--|----|
| 3.7.2 Bahan Penelitian..... | 25 |
| 3.8 Prosedur Penelitian..... | 26 |
| 3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Pucuk Merah..... | 26 |
| 3.8.2 Pemeliharaan Hewan Coba | 31 |
| 3.8.3 Prosedur Pemberian Perlakuan | 32 |
| 3.8.4 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian | 33 |
| 3.8.5 Prosedur Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT Tikus | 34 |
| 3.8.6 Mekanisme Pengukuran Kadar SGOT dan SGPT Tikus | 35 |
| 3.9 Alur Penelitian | 35 |
| 3.10 Analisis Data | 38 |
| 3.11 Etika Penelitian | 38 |

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

| | |
|--|----|
| 4.1 Hasil Penelitian | 39 |
| 4.1.1 Gambaran Umum Penelitian..... | 39 |
| 4.1.2 Hasil <i>Screening</i> Fitokimia..... | 41 |
| 4.1.3 Hasil Rerata Kadar SGOT dan SGPT | 41 |
| 4.2 Analisis Data SGOT..... | 42 |
| 4.2.1 Uji Normalitas Data SGOT | 42 |
| 4.2.2 Uji Homogenitas Data SGOT | 43 |
| 4.2.3 Uji Hipotesis Komparatif Data SGOT | 43 |
| 4.2.4 Uji Lanjut SGOT..... | 43 |
| 4.3 Analisis Data SGPT | 44 |
| 4.3.1 Uji Normalitas Data SGPT | 44 |

| | | |
|--|----|-----------|
| 4.3.2 Uji Homogenitas Data SGPT | 44 | |
| 4.3.3 Uji Hipotesis Komparatif Data SGPT | 45 | |
| 4.3.4 Uji Lanjut SGOT | 45 | |
| 4.4 Pembahasan penelitian | 46 | |
| 4.5 Keterbatasan Penelitian | 48 | |
| BAB V SIMPULAN DAN SARAN | | |
| 5.1 Simpulan | 49 | |
| 5.2 Saran..... | 49 | |
| DAFTAR PUSTAKA | | 50 |
| LAMPIRAN..... | | 54 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp | 6 |
| 2. Struktur Flavonoid..... | 7 |
| 3. Struktur Tanin..... | 8 |
| 4. Struktur Saponin..... | 9 |
| 5. Anatomi Hepar Dilihat dari Ventral..... | 11 |
| 6. Anatomi Hepar dilihat dari Dorsal Caudal..... | 11 |
| 7. Kerangka Teori..... | 19 |
| 8. Kerangka Konsep..... | 20 |
| 9. Alur Penelitian Berdasarkan <i>Guideline</i> OECD No.423..... | 36 |
| 10. Diagram Alur..... | 37 |
| 11. Rerata SGOT dan SGPT..... | 42 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 1. Taksonomi <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp | 5 |
| 2. Definisi Operasional..... | 23 |
| 3. Hasil Data Respon Hewan Uji Terhadap Perlakuan..... | 40 |
| 4. Hasil <i>Screening</i> Fitokimia..... | 41 |
| 5. Hasil Rerata SGOT dan SGPT..... | 41 |
| 6. Uji Normalitas Data SGOT..... | 42 |
| 7. Uji Homogenitas Data SGOT..... | 43 |
| 8. Uji Hipotesis Komparatif Data SGOT..... | 43 |
| 9. Uji Lanjut Data SGOT..... | 44 |
| 10. Uji Normalitas Data SGPT..... | 44 |
| 11. Uji Homogenitas data SGPT..... | 44 |
| 12. Uji Hipotesis Komparatif Data SGPT..... | 45 |
| 13. Uji Lanjut Data SGOT..... | 45 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Dasar Penggunaan Annex 2 Sebagai Limit Test Dan Observasi Perlakuan..... | 54 |
| 2. Surat Izin Penelitian..... | 55 |
| 3. Surat Hasil Uji Fitokimia..... | 56 |
| 4. Surat Hasil Determinasi..... | 57 |
| 5. Klasifikasi Daun Pucuk Merah..... | 58 |
| 6. Surat Etik Penelitian..... | 59 |
| 7. Surat Hasil Kadar SGOT SGPT..... | 60 |
| 8. Uji Analisis..... | 61 |
| 9. Dokumentasi..... | 63 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu Negara dengan kekayaan hayati terbesar di dunia yang memiliki 29.375 jenis tumbuhan yang membuat Indonesia menduduki peringkat ke-4 untuk spesies tumbuhan didunia. Hingga saat ini, tercatat 7000 spesies tanaman telah diketahui khasiatnya, namun kurang dari 300 tanaman yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi secara regular. Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasarkan pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Selain itu, obat tradisional telah diterima secara luas di hampir seluruh negara di dunia (Muchtaromah, 2019).

Potensi alam Indonesia yang bisa dikembangkan untuk obat salah satunya adalah tanaman daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) yang termasuk kedalam dalam family *myrtaceae*, memiliki ciri khas berupa daun yang berwarna merah menyala pada bagian pucuk daun yang baru tumbuh dan kemudian akan berubah warna menjadi hijau saat daun semakin tua. Biasa dimanfaatkan sebagai tanaman hias, ekstrak daun pucuk merah ternyata dapat digunakan dalam pengobatan. (Hasti, 2022).

Ekstrak daun pucuk merah mengandung senyawa asam betulinat, fenolik, flavanoid, juga terpenoid yang digunakan sebagai penghambat angiogenesis dan antitumor. Tingginya total fenolik dan flavonoid dari ekstrak daun pucuk merah menunjukkan aktifitas antioksidan. Kandungan senyawa alkaloid, saponin, triterpenoid, dan terdapat aktifitas antihiperurisemia juga aktifitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* yang disebutkan pada penelitian (Hasti *et al.*, 2022; Juwita *et al.*, 2017; Sundhani *et al.*, 2016; Salsabila, 2020).

Sebelum dijadikan obat dan diproduksi secara komersial, ada beberapa tahapan uji yang harus dilalui yaitu, uji praklinik dan uji klinik. Uji praklinik terdiri atas uji aktifitas senyawa yang dikandung dan uji toksisitas baik akut, maupun sub akut. Data farmakodinamik yang harus dipenuhi sebelum dilanjutkan pada uji klinik yang nantinya diujikan kepada manusia (BPOM, 2014). Selain sebagai salah satu prasyarat uji praklinik, uji toksisitas akut bertujuan untuk mengetahui adanya efek toksik suatu senyawa terhadap beberapa organ spesifik yang terpapar obat, misalnya pada hati yang dalam kerjanya berhubungan dengan proses penyaringan darah. Berdasarkan fungsinya, hati merupakan kelenjar terbesar yang paling sensitif dalam mendeteksi adanya senyawa toksik yang masuk kedalam tubuh. Penentuan kadar ketoksikan ini dilakukan dengan mengukur kadar *glutamate pyruvate transaminase* (SGPT) dan *glutamate oksaloacetate transaminase* (SGOT) sebagai tolak ukur adanya hepatoseluler akut (Syaharuddin, 2013).

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk melakukan uji toksisitas akut dosis tunggal ekstrak daun pucuk merah terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* dengan berbagai tingkatan dosis berdasarkan kepada guideline uji OECD (*Organization of Economic Co-operation and Development*) No. 423 *Acute Oral Toxicity Class Method*, dengan harapan penelitian ini dapat digunakan untuk mengetahui dosis toksik ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dan tingkat

keamanan konsumsi ekstrak daun pucuk merah pada hepar yang dilihat dari nilai SGOT maupun SGPT.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak daun pucuk merah dosis tunggal (*Syzygium myrtifolium Walp*) memiliki efek toksik terhadap kadar SGOT (*Serum Glutamic Piruvic Transaminase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* berdasarkan uji OECD guideline No.423?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui apakah pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis tunggal memiliki efek toksik terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi penulis, dapat mengetahui pengaruh uji toksisitas ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis tunggal terhadap kadar SGPT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) dan SGOT (*Serum Glutamic Piruvic Transaminase*) tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.
2. Bagi peneliti lain, hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan referensi untuk penelitian selanjutnya.
3. Bagi masyarakat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi daun pucuk merah sebagai fitofarmaka yang efektif, murah, dan tidak menimbulkan efek samping berbahaya bagi tubuh.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp*)

2.1.1 Morfologi Dan Taksonomi

Tanaman daun pucuk merah merupakan jenis tanaman hias yang memiliki ciri khas mempunyai daun yang berwarna merah menyala pada bagian tunas daun yang baru tumbuh. Daunnya berupa daun tunggal berbentuk oval, bertangkai sangat pendek, warna daun mengalami perubahan, ketika baru tumbuh berwarna merah menyala, kemudian berubah menjadi coklat, lalu berubah lagi menjadi warna hijau. Ukuran daun memiliki panjang \pm 6cm dan lebar \pm 2 cm dan memiliki pertulangan daun menyirip. Tanaman pucuk merah dapat tumbuh hingga setinggi 7 meter dengan diameter mencapai 30 cm. Tanaman daun pucuk merah adalah spesies tumbuhan yang dikenal sebagai tanaman hias yang berasal dari genus *Syzygium* (Gambar 1):

Tabel 1. Taksonomi *Syzygium myrtifolium Walp*

| Taksonomi <i>Syzygium myrtifolium Walp</i> | |
|--|----------------------------------|
| Kingdom | Plantae |
| Divisi | Spermatophyta |
| Sub-divisi | Angiospermae |
| Kelas | Dicotyledonae |
| Ordo | Myrtales |
| Famili | Myrtaceae |
| Genus | <i>Syzygium</i> |
| Spesies | <i>Syzygium myrtifolium Walp</i> |

(Sunarti, 2021).



Gambar 1. *Syzygium myrtifolium Walp* (Sunarti, 2021).

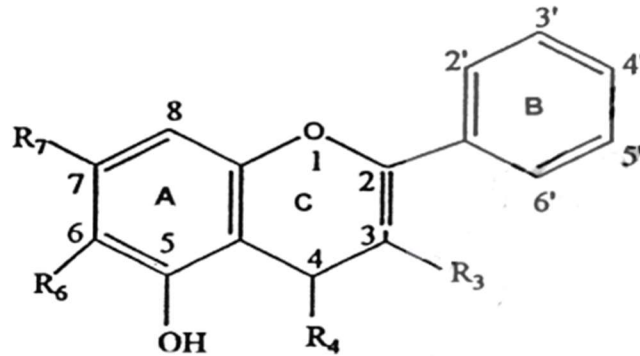
2.1.2 Kandungan Pada Daun Pucuk Merah

Secara umum daun merah dan daun hijau pada genus *Syzygium* mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenolik, dan terpenoid. Penelitian aktifitas farmakologi pada daun merah tanaman pucuk merah diteliti terdapat kandungan senyawa *dimethyl cardamonin* (DMC) dan adanya aktifitas antikanker pada sel kanker kolon manusia (HT-29), aktifitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Adanya aktifitas antibakteri, aktifitas antidiabetes, dan aktifitas hepaprotektor. Pada daun hijau tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) menunjukkan adanya aktifitas antihiperurisemia. (Haryati *et al.*, 2015; Hasti *et al.*, 2016; Juwita *et al.*, 2017; Memon *et al.* 2014; Zulfikar *et al.*, 2017).

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan bagian dari senyawa fenolik yang merupakan turunan dari 2-fenilbenzopiren yang mengandung 3 cincin (A,B,C). Struktur dasar ini merupakan 2 cincin benzena (A dan B) yang dihubungkan dengan cincin heterosiklik piran di tengah (C) (Gambar 2). Golongan ini memberikan warna pada buah dan bunga dimana terdapat 7 sub kelas flavonoid yaitu, flavon, flavanon, flavonon, flavanol, khalkon, antosianin, dan isoflavon. Terdapat 3 subkelas utama dalam flavonoid yaitu flavonol, flavon, dan isoflavon. Pembagian ini

berdasarkan ada tidaknya gugus keton pada posisi empat dari ikatan rangkap antara C2 dan C3 atau gugus hidroksil pada posisi 3 di cincin C (Sunarti, 2021; Simanjuntak, 2012).



Gambar 2. Struktur Flavonoid (Simanjuntak, 2012).

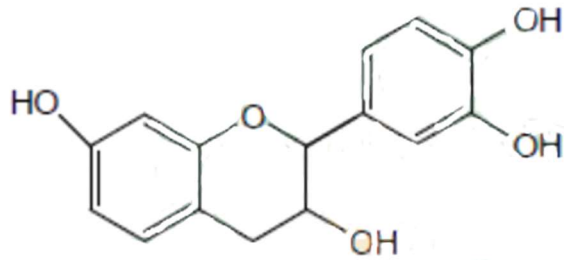
2. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang mudah larut dalam alkohol dan sedikit larut dalam air dan memiliki sifat basa lemah disebabkan karena adanya atom N (Nitrogen) dalam molekul senyawa tersebut pada struktur lingkaran heterosiklik atau aromatis. Tidak ada klasifikasi struktur yang seragam untuk alkaloid, klasifikasi alkaloid berdasarkan pada kerangka karbonnya meliputi, alkaloid sebenarnya (*true alkaloid*), *protoalkaloid*, *pseudoalkaloid*. Senyawa alkaloid apabila pada dosis yang rendah akan menimbulkan efek farmakologis pada hewan ataupun manusia, seperti, morfin untuk meredakan rasa sakit, reserpina sebagai obat untuk menenangkan pasien, kokain untuk digunakan sebagai anastesi lokal, dan strisina digunakan untuk stimulasi pada syaraf (Julianto, 2019).

3. Tanin

Tanin terdiri atas senyawa polifenol larut air yang dapat memiliki bobot molekul tinggi. Kadar tanin yang tinggi pada tumbuhan memiliki arti

fungsi sebagai pertahanan bagi tumbuhan dan mengusir hama atau hewan yang memakan tumbuhan. Tanin memiliki struktur yang terdiri cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH) (gambar 3).



Gambar 3. Struktur Tanin (Sholikhah, 2016).

Tanin merupakan salah satu dari antioksidan eksogen yang banyak terkandung pada buah-buahan. Tanin memiliki kemampuan menstabilkan radikal bebas, hal ini dikarenakan strukturnya yang memiliki banyak gugus hidroksil (-OH), tanin mampu melakukan polimerisasi hingga 7 kali. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Beberapa tanin terbukti mempunyai aktifitas antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor (Sholikhah, 2016; Malangngi *et al.*, 2012).

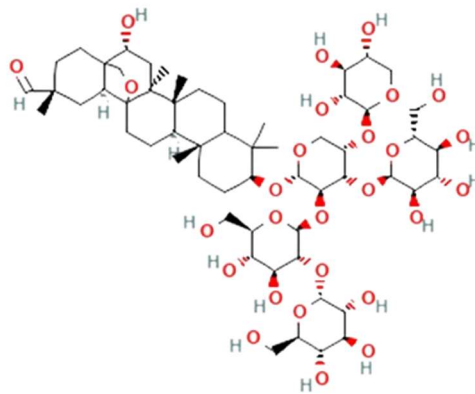
4. Triterpenoid

Triterpenoid ialah suatu senyawa metabolik sekunder yang dimana kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena (2-metilbuta-1,3-diene) dimana kerangka ini dibentuk oleh enam satuan C5 dan diturunkan dari hidrokarbo C30 asiklik. Senyawa ini dapat berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Pada senyawa triterpenoid dapat menunjukkan

aktivitas farmakologis yang signifikan, seperti antibakteri, antiviral dan antiinflamasi (Balafifi et al., 2013).

5. Saponin

Saponin adalah glikosida dengan berat molekul tinggi. *saponin* memiliki Struktur kimia berupa *glikosida* yang tersusun atas *glikon* dan *aglikon* (Gambar 4). Saponin memiliki sifat deterjen, memberikan busa stabil dalam air, menunjukkan aktifitas hemolitik, dan memiliki rasa yang pahit. Saponin dapat digunakan pada berbagai bidang diantaranya perikanan, tekstil, kosmetik, dan kesehatan. Di bidang perikanan saponin digunakan sebagai pembasmi hama udang, dalam industri tekstil sebagai deterjen, dalam bidang kosmetik digunakan sebagai pembentuk busa pada sampo. Di bidang kesehatan saponin dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker (Santosa, 2018; Sudarmi *et al.*, 2017).



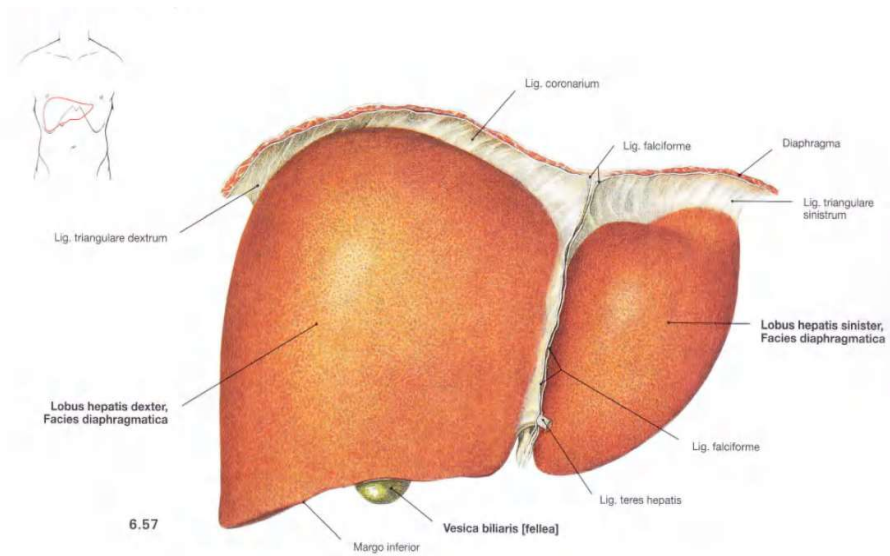
Gambar 4. Struktur Saponin (Sudarmi *et al.*, 2017).

2.2 Hepar

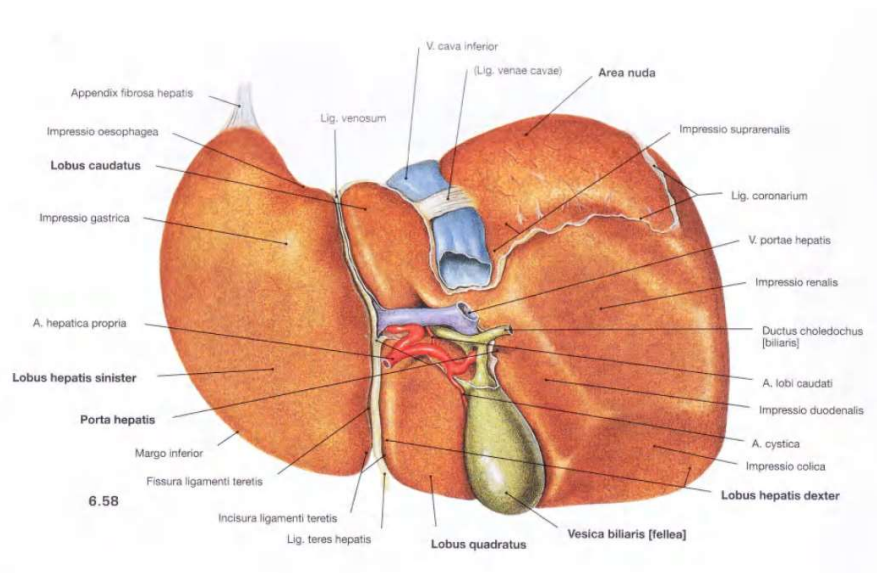
2.2.1 Anatomi Hepar

Hepar hampir seluruhnya ditutupi oleh peritoneum visceral dan sepenuhnya ditutupi oleh lapisan jaringan ikat padat tidak teratur yang terletak jauh di dalam peritoneum. Hepar dibagi menjadi dua lobus utama—lobus kanan yang besar dan lobus kiri yang lebih kecil—oleh ligamentum falciformis, lipatan mesenterium (Tortora *et al.*, 2017). Lobus dextra memiliki 2 lobus kecil tambahan yaitu lobus kaudatus dan lobus kuadratus. Diantara lobus kaudatus dan kuadratus terdapat daerah penting yang dinamakan Area Porta Hepatika. Area ini mempunyai 3 saluran utama diantaranya vena porta, arteri hepatica, dan ductus koledokus (Widigdo, 2014).

Permukaan luar hepar dilapisi oleh suatu kapsul yang dinamakan kapsul Glisson yang melanjut sebagai jaringan ikat interlobularis di dalam hepar. Selain lobus, organ berkonsistensi kenyal dan berwarna coklat kemerahan ini memiliki 5 permukaan yaitu facies superior, inferior, dekstra, anterior, dan posterior. Peritoneum hampir menyelubungi seluruh permukaan hepar kecuali suatu daerah telanjang (*bare area*) pada facies posterior hepatic dan pada tempat terjadi duplikatur yang menjadi ikat hepar, seperti ligamentum falsiforme hepatis yang menggantungkan hepar ke diafragma dan dinding perut depan; ligamentum koronari hepatis yang menggantungkan hepar ke puncak diafragma; ligamentum triangularis hepatis yang menggantungkan hepar ke diafragma kanan dan kiri dan omentum minus yang menghubungkan porta hepatis, fisura sagitalis sinistra bagian belakang dengan kurvatura minor ventrikuli dan pars superior duodeni (Widigdo, 2014).



Gambar 5. Anatomi Hepar Dilihat dari Ventral (Paulsen *et al.*, 2019).



Gambar 6. Anatomi Hepar Dilihat dari Dorsal Caudal (Paulsen *et al.*, 2019).

2.2.2 Fisiologi Hepar

Hepar adalah organ metabolik yang paling besar dan penting di tubuh. Peran hepar dalam sistem pencernaan adalah sebagai tempat absorpsi dan sekresi garam empedu. Fungsi hepar adalah sebagai berikut:

- a. Sebagai tempat pemrosesan hasil penyerapan zat metabolik (karbohidrat, protein, dan lemak) dari usus.
- b. Sebagai organ yang membantu dalam proses detoksifikasi dan penguraian zat sisa tubuh dan hormon serta obat dan senyawa asing lainnya.
- c. Sebagai tempat pembentukan protein plasma salah satunya adalah yang berperan pada proses pembekuan darah.
- d. Sebagai tempat metabolisme karbohidrat dimana monosakarida yang merupakan cadangan karbohidrat akan disimpan pada hepar dalam bentuk glikogen.
- e. Sebagai tempat penyimpanan dan mensekresikan garam empedu, kolesterol dan bilirubin (Sherwood, 2014).

Hati terdiri dari berbagai macam unit fungsional yang dikenal sebagai lobulus. Lobulus adalah susunan jaringan berbentuk heksagonal yang mengelilingi vena sentralis dan pada setiap sudutnya terdapat sistem porta yang terdiri dari arteri hepatis, vena porta hepatis, dan duktus biliaris. Selain itu, terdapat sinusoid yang merupakan pembuluh kapiler percabangan dari arteri hepatis dan vena porta hepatis. Pada bagian dalam sinusoid akan ditemukan sel kupffer yang memiliki fungsi sebagai fagosit sel darah merah usang serta bakteri yang terdapat dalam aliran darah. Pada lobulus hati terdapat vena sentralis yang merupakan percabangan dari vena hepatis dan akan mengalirkan darah keluar dari hepar melalui vena cava inferior (Sherwood, 2014).

Hepar mensekresikan empedu secara terus menerus sepanjang hari. Empedu yang terdiri dari garam empedu, kolesterol, lesitin, bilirubin, serta zat organik lainnya akan disekresikan oleh sel hepatosit menuju kanalikulus biliaris yang

akan berjalan diantara sel didalam lempeng hati. Kanalikulus biliaris akan menuju septum interlobularis lalu kemudian akan menuju duktus biliaris hingga akhirnya mencapai duktus hepaticus dan duktus biliaris komunis. Bila akan terjadi proses pencernaan makanan maka empedu akan dialirkan menuju duodenum melalui duktus koledokus dan keluar pada ampula veteri atau papilla duodenali mayor. Pada saat tidak terjadi pencernaan maka empedu akan dialirkan menuju duktus sistikus dan akan berakhir pada kandung empedu untuk disimpan (Guyton *et al.*, 2014). Pada lubang-lubang antara duktus biliaris dan duodenum dijaga oleh sfingter oddi sehingga ketika tidak terjadi proses pencernaan makanan, empedu yang dihasilkan dan disimpan tidak dapat mengalir menuju duodenum (Sherwood, 2014).

Garam empedu merupakan salah satu zat penyusun empedu. Garam empedu memiliki fungsi dalam metabolisme lemak melalui proses emulsifikasi dan mempermudah penyerapan lemak. Garam empedu ini merupakan turunan kolesterol dan disekresikan kedalam empedu kemudian akan menuju duodenum bersama zat lainnya. Garam empedu pada akhir proses pencernaan di usus, akan diserap kembali kedalam darah oleh mekanisme transport aktif yang terdapat pada ileum terminalis. Proses ini akan dinamakan sebagai proses enterohepatik dikarenakan melibatkan usus serta hepar (Sherwood, 2014).

2.2.3 Enzim Aminotransferase (SGPT dan SGOT)

Transaminase adalah proses katabolisme asam amino yang melibatkan pemindahan gugus amino dari suatu asam amino kepada asam amino yang lain. Dalam reaksi transaminase ini gugus amino dari suatu asam amino dipindahkan kepada salah satu dari tiga senyawa keto, yaitu asam piruvat, oksaloasetat dan a-ketoglutarat, sehingga senyawa keto ini diubah menjadi asam amino, sedangkan asam amino semula diubah menjadi asam keto. Enzim transaminase di dalam serum tidak mempunyai fungsi, karena di dalam serum tidak terdapat koenzim

serta substrat yang tepat. Pengukuran aktifitas SGPT dan SGOT serum dapat menunjukkan adanya kelainan sel hati tertentu. Kadar normal SGOT 5–40 μ /L dan SGPT: 7–56 μ /L, sedangkan kadar normal SGOT tikus adalah 45,7 – 80,8 μ /L dan kadar normal SGPT tikus 17,5 -30,2 μ /L.

Tingginya kadar SGOT berhubungan langsung dengan jumlah kerusakan sel. Kerusakan sel akan diikuti peningkatan kadar SGOT dalam waktu 12 jam dan tetap bertahan dalam darah selama 5 hari. Peningkatan SGPT atau SGOT disebabkan perubahan permeabilitas atau kerusakan dinding sel hati sehingga digunakan sebagai penanda gangguan integritas sel hati (hepatoseluler). Peningkatan enzim SGPT dan SGOT sampai 300 U/L tidak spesifik untuk kelainan hati saja, tetapi jika didapatkan peningkatan lebih dari 1000 U/L dapat dijumpai pada penyakit hati akibat virus, iskemik hati yang disebabkan hipotensi lama atau gagal jantung akut, dan kerusakan hati akibat obat atau zat toksin. *Rasio De Ritis* SGOT/SGPT dapat digunakan untuk membantu melihat beratnya kerusakan sel hati. Pada peradangan dan kerusakan akut hepatoseluler akan terjadi kebocoran membran sel sehingga isi sitoplasma keluar menyebabkan SGPT meningkat lebih tinggi dibandingkan SGOT dengan rasio SGOT/SGPT < 0,8 yang menandakan kerusakan ringan. Pada peradangan dan kerusakan kronis atau berat maka kerusakan sel hati mencapai mitokondria menyebabkan peningkatan kadar SGOT lebih tinggi dibandingkan SGPT sehingga rasio SGOT/SGPT > 0,8 yang menandakan kerusakan hati berat atau kronis (Rosida, 2016).

2.2.4 Pengaruh Daun Pucuk Merah Terhadap Hepar

Daun pucuk merah memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder. Ekstrak total daun pucuk merah memiliki kandungan senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, fenolik, dan flavonoid. Telah dilaporkan bahwa ekstrak metanol daun pucuk merah mengandung senyawa fenolat, antioksidan flavonoid, dan betunilic

acid dan digunakan sebagai penghambat angiogenesis dan antitumor pada tikus (Aisha, *et al.*, 2013). Tingginya total fenolik dan flavonoid dari ekstrak etanol dan etil asetat daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) menunjukkan adanya aktivitas antoksidan (Anggaraini, 2015).

Sementara itu dalam penelien Indriani, *et al.* (2021) ditemukan adanya lesi putih dan pembengkakan pada organ dalam mencit diduga disebabkan oleh kerusakan jaringan nekrotik. Sel yang mengalami nekrosis tidak dapat kembali ke keadaan sehat dan akan terus mati (Kumar, *et al.*, 2015). Efek toksik muncul ketika toksin yang diserap ditransfer melalui sistem peredaran darah ke reseptor. Pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah secara oral menyebabkan adanya zat aktif dalam daun pucuk merah untuk diserap melalui saluran pencernaan, dan zat aktif ini kemudian mengalami distribusi dan metabolisme (Katzung, 2002). Daun pucuk merah juga mengandung senyawa tanin yang diketahui menyebabkan efek toksik seperti nekrosis dan pendarahan. Semakin tinggi dosis ekstrak diberikan, semakin besar kerusakan yang terjadi pada organ hewan percobaan (Marlinda, 2012).

Dalam penelitian Hasti, *et al.* (2016) ekstrak etanol daun pucuk merah menunjukkan tanda ketoksikkan pada hepar melalui pemeriksaan kadar bilirubin total serum pada kelompok dosis 600 mg/kgBB dan 900 mg/kgBB. Sehingga dapat dikatakan bahwa semakin meningkatnya dosis maka persentase kerusakan juga meningkat. Ketoksikan diduga karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, serta steroid yang kadarnya sudah melebihi dosis sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel hepatosit. Dosis merupakan salah satu yang dapat menyebabkan efek toksik jika diberikan secara berlebihan sehingga sel-sel pada hepar akan mengalami lisis, karena adanya senyawa tersebut (Ahmad, *et al.*, 2022).

2.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah uji untuk mendeteksi efek toksik yang dapat ditimbulkan oleh suatu zat pada sistem biologi. Pada uji toksisitas akan dihasilkan data berupa dosis respon dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM, 2014).

Pemeriksaan uji toksisitas terdiri atas dua mekanisme yakni uji secara umum dan uji secara khusus. Pada uji toksistas umum peneliti akan melihat secara keseluruhan mengenai efek yang aka timbul oleh obat yang diberikan pada hewan uji. Toksisitas umum dibagi berdasarkan waktu menjari akut, subkronis dan kronis. Sedangkan pada uji toksisitas khusus dibagi menjadi tipe toksistas secara khusus yang mencakup uji teratogenik, mutagenik dan karsinogenik (Ningrum, 2012).

2.3.1 Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas ialah pemeriksaan atau uji praklinik yang digunakan untuk mengetahui efek toksik suatu zat tertentu serta mengetahui data dosis-respon yang sesuai dengan sediaan uji. Dari hasil uji toksisitas maka dapat memberikan informasi kepada manusia sehingga dapat ditentukan dosis penggunaan yang sesuai dan dicapainya tingkat keamanan pada manusia. Uji toksisitas umumnya menggunakan hewan coba yang kemudian akan dinilai mengenai reaksi biokimia, fisiologi, dan patologinya (BPOM RI, 2020).

Pada uji toksisitas akut oral ialah suatu metode untuk mengetahui efek toksik yang muncul secara akut atau dalam waktu singkat setelah diberikan sediaan uji secara oral dalam dosis tunggal (single dose) atau dosis berulang (repeated dose) dalam kurun waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas oral adalah dengan memberikan sediaan uji dalam dosis tunggal ataupun dosis bertingkat kepada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per

kelompok dan selanjutnya dilakukan pengamatan hewan uji mengenai gejala-gejala toksik ataupun kematian (Najah, 2019).

Tujuan uji toksisitas akut oral adalah mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis yang aman hingga menimbulkan efek toksik, serta diharapkan dapat merancang uji toksisitas berikutnya serta memperoleh nilai LD50 (*Lethal dose*) suatu bahan terhadap hewan uji (BPOM RI, 2020). LD50 merupakan efek mematikan yang timbul pada 50% hewan uji. LD50 akan digunakan sebagai standar kuantitatif dalam uji toksisitas akut (Najah, 2019).

2.3.2 Definisi *Guideline* Uji OECD No. 423

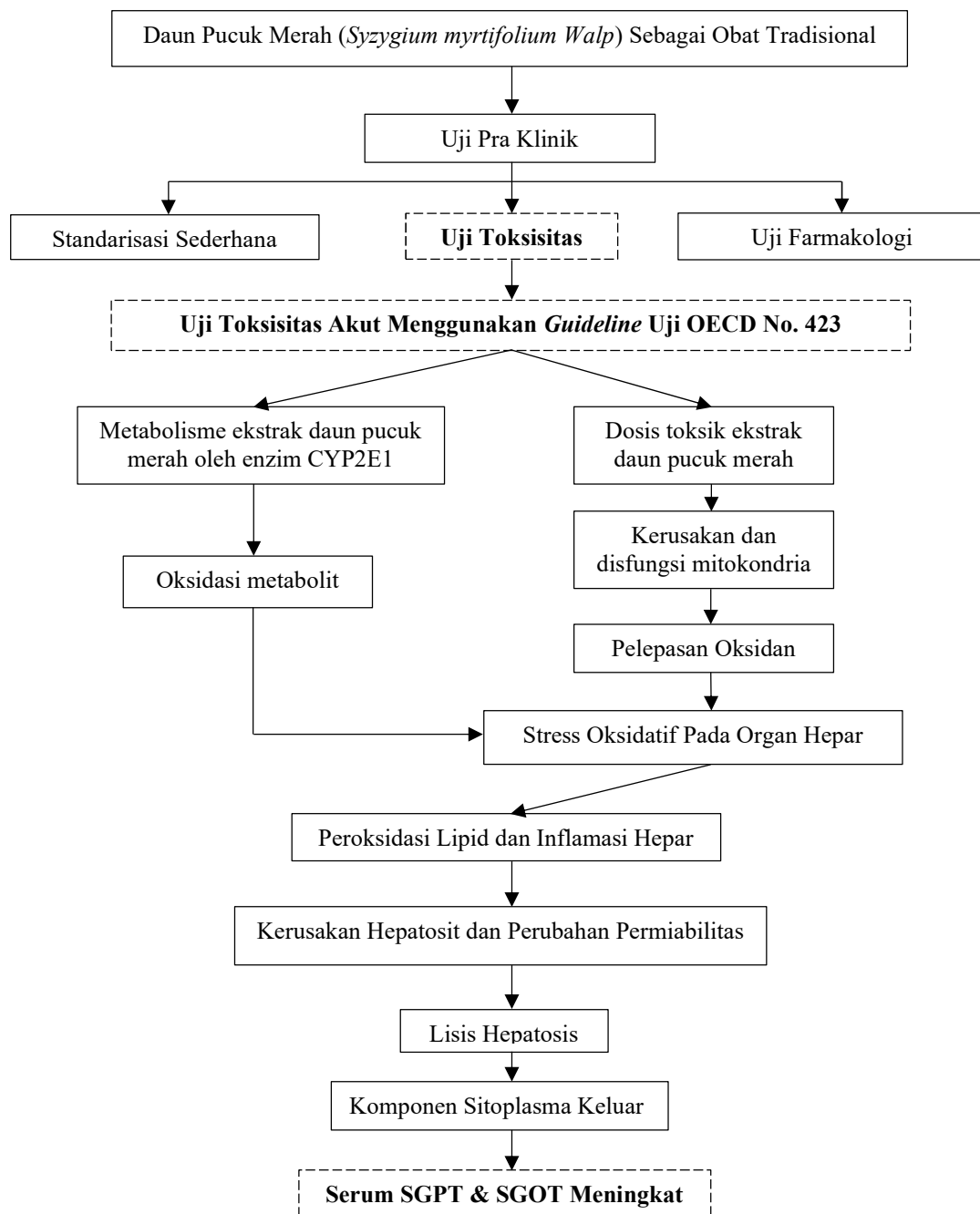
The OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (OECD, 2004) merupakan standar yang diterima secara internasional untuk menguji keamanan produk, meliputi bahan kimiawi, pestisida, perawatan dan lain-lain.

Guideline Uji OECD No.423 *Acute Oral Toxicity Class Method* adalah uji toksisitas akut secara per oral dengan menggunakan tiga hewan coba berjenis kelamin sama dalam tiap tahapan. Kematian hewan coba atau tidak terdapat kematian akan dievaluasi sebelum melanjutkan ke tahap berikutnya untuk menentukan dosis pemberian selanjutnya. Prinsip kerja *guideline* OECD No. 423 adalah dengan melakukan pengujian secara bertahap dan menggunakan hewan coba yang sangat minimal dalam setiap tahapnya sehingga akan dihasilkan dosis toksik. Selain itu metode OECD sudah disesuaikan dengan kriteria toksisitas berdasarkan *Global Harmonized System* (GHS) yang berlaku internasional (OECD, 2001).

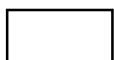
Metode OECD 423 terdiri dari *limit test* dan *main test*. Pada *limit test* dilakukan penentuan dosis awal dengan menggunakan satu hewan uji pada tiap dosis. Dosis awal yang diberikan merupakan dosis dibawah estimasi nilai LD50, namun menimbulkan gejala toksisitas pada hewan uji. Dalam penelitian Hasti, *et al.* (2016) ekstrak etanol daun pucuk merah menunjukkan tanda ketoksikan pada hepar melalui pemeriksaan kadar bilirubin total serum pada kelompok dosis 600 mg/kgBB dan 900 mg/kgBB, sehingga penelitian ini menggunakan annex 2 sebagai *limit test*. Pada *main test* dosis diberikan secara bertahap dengan menggunakan 3 hewan uji untuk masing-masing kelompok dosis. Pemberian dosis berikutnya pada hewan uji didasarkan pada respon fisiologi hewan uji terhadap dosis awal. Jika jumlah hewan uji yang mati lebih dari satu, maka dosis untuk uji berikutnya diturunkan, begitupun sebaliknya (OECD, 2001).

Dalam penentuan dosis letal tengah (LD50) menggunakan metode ketoksikan akut OECD 423. Keunggulan metode ini yaitu menggunakan hewan uji lebih sedikit sehingga lebih manusiawi karena dapat meminimalkan penggunaan hewan uji dan juga lebih ekonomis dalam segi ekonomi, serta waktu perlakuan cenderung cepat (OECD, 2001).

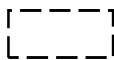
2.4 Kerangka Teori



Keterangan



: Tidak Diteliti

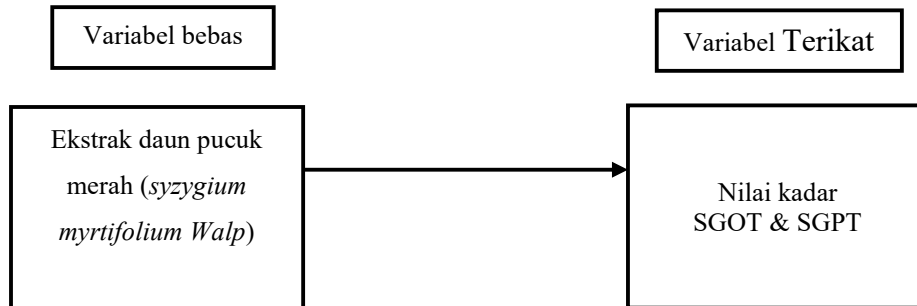


: Diteliti

Gambar 7. Kerangka Teori (Stephens *et al.*, 2018).

2.5 Kerangka Konsep

Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep.

2.6 Hipotesis

H0: Tidak terdapat efek toksik pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis tunggal terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* berdasarkan uji OECD guideline No.423 *Acute Oral Toxicity Class Method*.

H1: Terdapat efek toksik pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis tunggal terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* berdasarkan uji OECD guideline No.423 *Acute Oral Toxicity Class Method*.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan *true experimental* dengan menggunakan metode rancangan penelitian berupa *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan menggunakan 18 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* berumur 8-12 minggu yang dipilih secara acak dan dibagi menjadi 6 kelompok.

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini bertempat di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Lampung, Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin yang dilakukan pada bulan November – Desember 2022.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley*, berumur 8-12 minggu dengan berat 200-300 gram yang diperoleh dari Palembang Tikus Center (PTC) Sumatera Selatan. Penentuan jumlah sampel berdasarkan kepada *Guideline Uji OECD No. 423 Acute Oral Toxicity Class Method*.

3.3.2 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 18 tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* yang dibagi ke dalam 6 kelompok hewan coba yaitu 1 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan berdasarkan kepada *guideline* uji OECD No. 423 *Acute Oral Toxicity Class Method*. Penelitian menggunakan metode *probability sampling* dengan pengambilan sampel secara acak sederhana (*simple random sampling*).

3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.4.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Tikus sehat (bulu tidak rontok dan tidak kusam, aktivitas aktif)
- b. Berjenis kelamin jantan
- c. Berusia 2,5-3 bulan
- d. Berat badan 200-300 gram

3.4.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini sebagai berikut:

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di *animal house*.
- b. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* yang mati selama masa adaptasi.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*).

3.5.2 Variabel Terikat

Variable terikat pada penelitian adalah kadar nilai SGOT dan SGPT pada Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley*.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional.

| Variabel | Definisi Operasional | Cara Ukur | Alat Ukur | Hasil Ukur | Skala |
|---|---|--|--|--|-------------------|
| Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (<i>Syzygium myrtifolium Walp</i>) | Ekstrak etanol daun pucuk merah (<i>Syzygium myrtifolium Walp</i>) dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. | Menimbang ekstrak dan menghitung pengenceran | Sprit 3 cc, sonde, dan tabung ukur untuk takaran dosis | K = Kontrol P1 = 2000 mg /kgBB P2 = 300 mg/kgBB P3 = 50 mg/kgBB P4 = 5 mg/kgBB P5* = 5000 mg/kgBB *Dilakukan apabila ditemukan sebanyak 0-1 hewan coba yang mengalami kematian pada kelompok P1. | Kategorik Ordinal |

| | | | | | |
|-------------------|---|---|------------------|----------------------------------|---------|
| Kadar SGOT | Enzim hati yang digunakan untuk menilai adanya kerusakan hati | Darah tikus sebanyak 3 ml diambil secara pungsi transkardial, darah di sentrifugasi selama 10 menit kemudian diambil serumnya sebanyak 100 μ l dan dicampurkan dengan reagen SGPT sebanyak 1ml | Spektrofotometer | Normal pada tikus 45,7-80,8 IU/L | Numerik |
| Kadar SGPT | Enzim hati yang digunakan untuk menilai adanya kerusakan hati | Darah tikus sebanyak 2-3 ml diambil secara pungsi transkardial darah di sentrifugasi selama 10 menit kemudian diambil serumnya sebanyak 100 μ l dan dicampurkan dengan reagen SGOT sebanyak 1 ml. | Spektrofotometer | Normal pada tikus 17,5-30,2 IU/L | Numerik |

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

- a. Kandang tikus dan perlengkapannya
- b. Ayakan mesh 40
- c. Sonde lambung
- d. Seperangkat alat bedah minor
- e. Sarung tangan

- f. Masker tisu
- g. Timbangan analitik (AND GH-202)
- h. *Beaker glass*
- i. Tabung reaksi
- j. Rak tabung reaksi
- k. Mikro pipet
- l. *Cool box*
- m. Rotary Evaporator
- n. Sentrifugasi
- o. Spektrofotometer
- p. Kuvet
- q. Mikropipet
- r. Homogenizer strirrer
- s. Sduit 3 cc
- t. Sampel cup 2 ml
- u. Vacuitainer yang mengandung separator gel (tutup kuning)
- v. GOT dan GPT IFCC mod Test Kit

3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Tikus putih jantan galur *Sprague dawley*
- b. Ekstrak etanol daun pucuk merah
- c. Pakan standar tikus
- d. Kloroform 0,5 %
- e. Aquades
- f. Serum darah tikus
- g. Reagen pemeriksaan SGOT dan SGPT

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Pucuk Merah

Bagian yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) adalah daun pucuk merah urutan pucuk 1-5 yang dihitung dari pucuk, selanjutnya disortasi basah untuk membersihkan daun dari pengotor seperti bagian daun yang sudah tua bersama tangkainya, atau bagian lain yang tidak termasuk dalam deskripsi. Kemudian daun dilakukan pencucian dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50-60° C. Simplisia disortasi kembali dari pengotor yang tidak memenuhi syarat seperti bagian daun yang hangus atau belum cukup kering, selanjutnya simplisia dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan Mesh 40. Selanjutnya dilakukan maserasi dalam larutan etanol 96% sebanyak 2.000 ml selama 24 jam dengan menggunakan *shaker bath*. Setelah itu, disangrai dengan pompa vakum dan dilakukan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 41°C selama 3-6 jam sehingga didapatkan ekstrak daun pucuk merah yang pekat dengan konsentrasi 100% (Indriani *et al.*, 2020).

Berdasarkan *guideline* OECD No.423 dosis pemberian ekstrak daun pucuk merah kepada hewan coba terbagi menjadi 4 tingkatan dosis yaitu: 2000 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 5 mg/kgBB. Ekstrak daun pucuk merah dilarutkan ke dalam CMC-Na 1% dan diberikan kepada tikus dengan volume pemberian maksimal lambung tikus adalah 5 ml dan volume ideal pemberian adalah sebanyak 2,5 ml. Oleh karena itu, maka dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* dengan berat 250 mg sebagai berikut:

a. Perhitungan CMC-Na 1%

Pada satu kelompok tikus dibuatkan larutan stok CMC-Na 1% sebanyak 25 mL. Larutan CMC-Na 1% dilarutkan ke dalam aquades. Jumlah CMC-Na yang dibutuhkan didapat dari perhitungan rumus berikut.

$$\text{Jumlah CMC - Na 1\%} = \frac{1 \text{ gr}}{100 \text{ mL}} \times 25 \text{ mL} = 0,25 \text{ gram}$$

Jadi sebanyak 0,25mg CMC-Na dilarutkan kedalam 25mL aquades.

b. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis 2.000 mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dengan dosis 2000 mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{2000\text{mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ mg} = 500 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 500 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{500\text{mg}}{2,5\text{mL}} = 200 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 200\text{mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 5.000 \text{ mg} = 5 \text{ gram.}$$

Jadi sebanyak 5 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquades hingga mencapai 25 mL.

- c. Perhitungan daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis 300 mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dengan dosis 300mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{300\text{mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ mg} = 75 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 75 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{75\text{mg}}{2,5\text{mL}} = 30 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 30\text{mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 750 \text{ mg} = 0,75 \text{ gram.}$$

Jadi sebanyak 0,75 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquades hingga mencapai 25 mL.

- d. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis 50mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dengan dosis 50mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{50\text{mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ mg} = 12,5 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 12,5 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{12,5\text{mg}}{2,5\text{mL}} = 5 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 5 \text{ mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 125 \text{ mg} = 0,125 \text{ gram.}$$

Jadi sebanyak 0,125 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquades hingga mencapai 25mL.

- e. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis 5 mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dengan dosis 5 mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{5\text{mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ mg} = 1,25 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 12,5 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{1,25\text{mg}}{2,5\text{mL}} = 0,5 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 0.5 \text{ mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 12,5 \text{ mg} = 0,0125 \text{ gram.}$$

Jadi sebanyak 0,0125 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquades hingga mencapai 25 mL.

- f. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis 5.000 mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dengan dosis 5000 mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{5000\text{mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ mg} = 1.250 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 1.250 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{1250\text{mg}}{2,5\text{mL}} = 500 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 500 \text{ mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 12.500 \text{ mg} = 12,5 \text{ gram.}$$

Jadi sebanyak 12,5 gram daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquades hingga mencapai 25mL.

3.8.2 Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* sebanyak 18 ekor sebelum dilakukan penelitian diadaptasikan selama satu minggu di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk

menyeragamkan makanan dan cara hidup. Pada tahap awal kesehatan hewan coba diperhatikan setiap hari. Kesehatan yang dinilai seperti gerakan yang aktif, keadaan rambut, keadaan umum tikus, proses defekasi, tremor, kejang, laju pernafasan, kebersihan kandang, frekuensi pemberian makanan, dan tidak ada kerusakan pada tubuh hewan coba.

Hewan coba pada *animal house* dikelompokkan menjadi 6 kelompok dengan setiap kelompok terdapat 3 hewan coba. Dasar kandang hewan coba dilapisi dengan serbuk kayu setebal 0.5-1 cm dan diganti satu kali setiap dua hari untuk mencegah terjadinya infeksi akibat kotoran tikus tersebut. Penutup dari kandang tikus terbuat dari kawat dan pada bagian pinggirnya terdapat kayu sehingga sirkulasi udara pada tikus tetap terjaga. Selain itu, makanan dan minuman diberikan *ad libitum* dalam wadah terpisah yang diganti setiap harinya. Makanan yang diberikan pada tikus berupa pakan standar, sedangkan air minum yang diberikan berupa aquades yang diletakkan dalam botol plastik yang disumbat pipa aluminium serta diletakkan diatas tutup dari kandang tikus. Pemberian ekstrak daun pucuk merah dilakukan sebanyak satu kali (*single dose*).

3.8.3 Prosedur Pemberian Perlakuan

Pada penelitian ini digunakan 18 tikus putih galur *Sprague-Dawley* yang dikelompokkan ke dalam 6 kelompok dengan kriteria setiap kelompok perlakuan yaitu:

- a. Kontrol (K): tikus diberi CMC-Na1% dengan volume 2,5 mL dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali pada awal penelitian yang kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari.
- b. Perlakuan 1 (P1): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 2000 mg/KgBB dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral

- yang kemudian dilakukan pengamatan awal 30 menit, 4 jam, 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari.
- c. Perlakuan 2 (P2): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 300 mg/KgBB dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral yang kemudian dilakukan pengamatan awal 30 menit, 4 jam, 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari.
 - d. Perlakuan 3 (P3): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 50 mg/KgBB dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral yang kemudian dilakukan pengamatan awal 30 menit, 4 jam, 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari.
 - e. Perlakuan 4 (P4): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 5 mg/KgBB dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral yang kemudian dilakukan pengamatan awal 30 menit, 4 jam, 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari.
 - f. Perlakuan 5 (P5): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 5000 mg/KgBB dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral yang kemudian dilakukan pengamatan awal 30 menit, 4 jam, 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari.

3.8.4 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan terminasi pada tikus yang menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas setelah diberikan perlakuan atau bila selama dilakukan pengamatan menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas atau setelah dilakukannya pengamatan selama 14 hari tidak menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas. Tikus diterminasi dengan menggunakan larutan eter yang kemudian dilanjutkan dengan *cervical dislocation*. Cara melakukan *cervical dislocation* terhadap tikus yaitu dengan meletakkan ibu jari dan jari telunjuk di setiap sisi leher pada dasar tengkorak untuk memberi tekanan ke bagian posterior dasar tulang tengkorak dan sumsum tulang belakang, sementara

tangan lainnya pada bagian ekor lalu ditarik dengan cepat sehingga terjadi pemisahan vertebra servikal dari tengkorak dan terjadi pemisahan sumsum tulang belakang dari otak. Pada *cervical dislocation* menyebabkan refleks kedip dan rangsangan rasa sakit menghilang segera sehingga hewan coba tak peka rasa sakit. Setelah tikus mati, dilakukan pengambilan sampel darah untuk diperiksa kadar SGOT dan SGPT darah. Darah diambil sekitar 2-3 ml dari bagian jantung dengan menggunakan spuit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung vacuum venojact. Bangkai tikus dikumpulkan dan dikremasi di *animal house* FK Unila yang selanjutnya akan dijadikan kompos untuk tanaman.

3.8.5 Prosedur Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT Tikus

Darah tikus dibawa ke laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin untuk dilakukan pemeriksaan nilai SGOT dan SGPT. Berikut prosedur pemeriksaan enzim SGOT dan SGPT dengan metode kinetik dari IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*):

1. Pengambilan darah sampel sebanyak 3cc dengan metode pungsi transkardial.
2. Darah tikus dimasukan ke dalam Vacutainer yang mengandung separator gel (tutup kuning).
3. Vacutainer disentrifugasi selama 10 menit.
4. Serum diambil menggunakan micropipet sebanyak 100 μ l dan dimasukkan ke dalam kuvet A.
5. Reagen sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam kuvet A dan biarkan selama 5 menit agar mengalami reaksi.
6. Buat blanko yang diisi reagen saja pada kuvet B.
7. Masukkan kuvet A dan B yang berisi blanko dan yang berisi sampel ke dalam spektrofotometer.
8. Nilai absorbansinya pada menit ke 1,2, dan 3 dalam frekuensi 340 nm.

3.8.6 Mekanisme Pengukuran Kadar SGOT dan SGPT Tikus

3.8.6.1 SGOT

Setelah mendapatkan nilai absorbansi, hitung nilai SGOT dengan rumus:

$$\text{ASAT [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min. Sample}}{\Delta A/\text{min. Cal}} \times \text{Conc. Cal [U/L]}$$

Keterangan:

$\Delta A/\text{min. Sample}$: Selisih absorbansi sample menit 1,2, dan 3

$\Delta A/\text{min. Cal}$: Selisih absorbansi calibrator menit 1,2, dan 3

Conc. Cal : Konsentrasi calibrator

3.8.6.2 SGPT

Setelah mendapatkan nilai absorbansi, hitung nilai SGPT dengan rumus:

$$\text{ASAT [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min. Sample}}{\Delta A/\text{min. Cal}} \times \text{Conc. Cal [U/L]}$$

Keterangan:

$\Delta A/\text{min. Sample}$: Selisih absorbansi sample menit 1,2, dan 3

$\Delta A/\text{min. Cal}$: Selisih absorbansi calibrator menit 1,2, dan 3

Conc. Cal : Konsentrasi calibrator

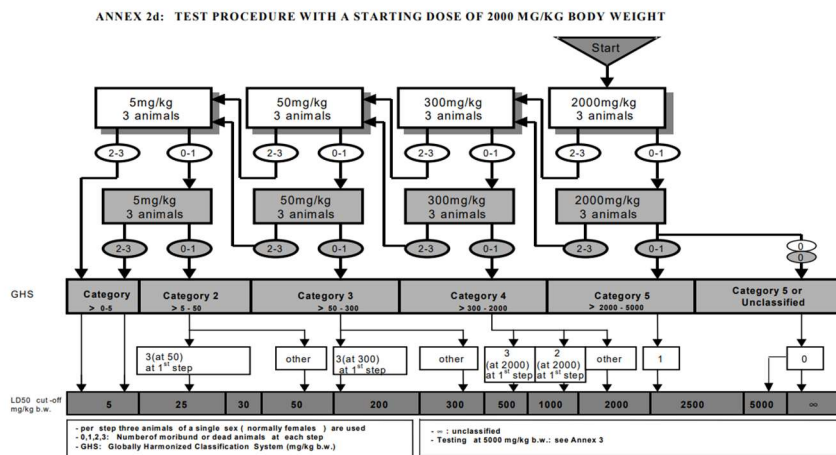
3.9 Alur Penelitian

Pada penelitian uji toksisitas, hewan coba diberikan ekstrak daun pucuk merah secara *single dose* per oral berdasarkan kepada OECD *guideline* No. 423 dengan dosis adalah 2000 mg/KgBB, 300 mg/KgBB, 50 mg/KgBB, dan 5 mg/KgBB. Pada setiap pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) kepada hewan coba adalah sebanyak 2,5 ml. Sebelum dilakukan pemberian hewan coba

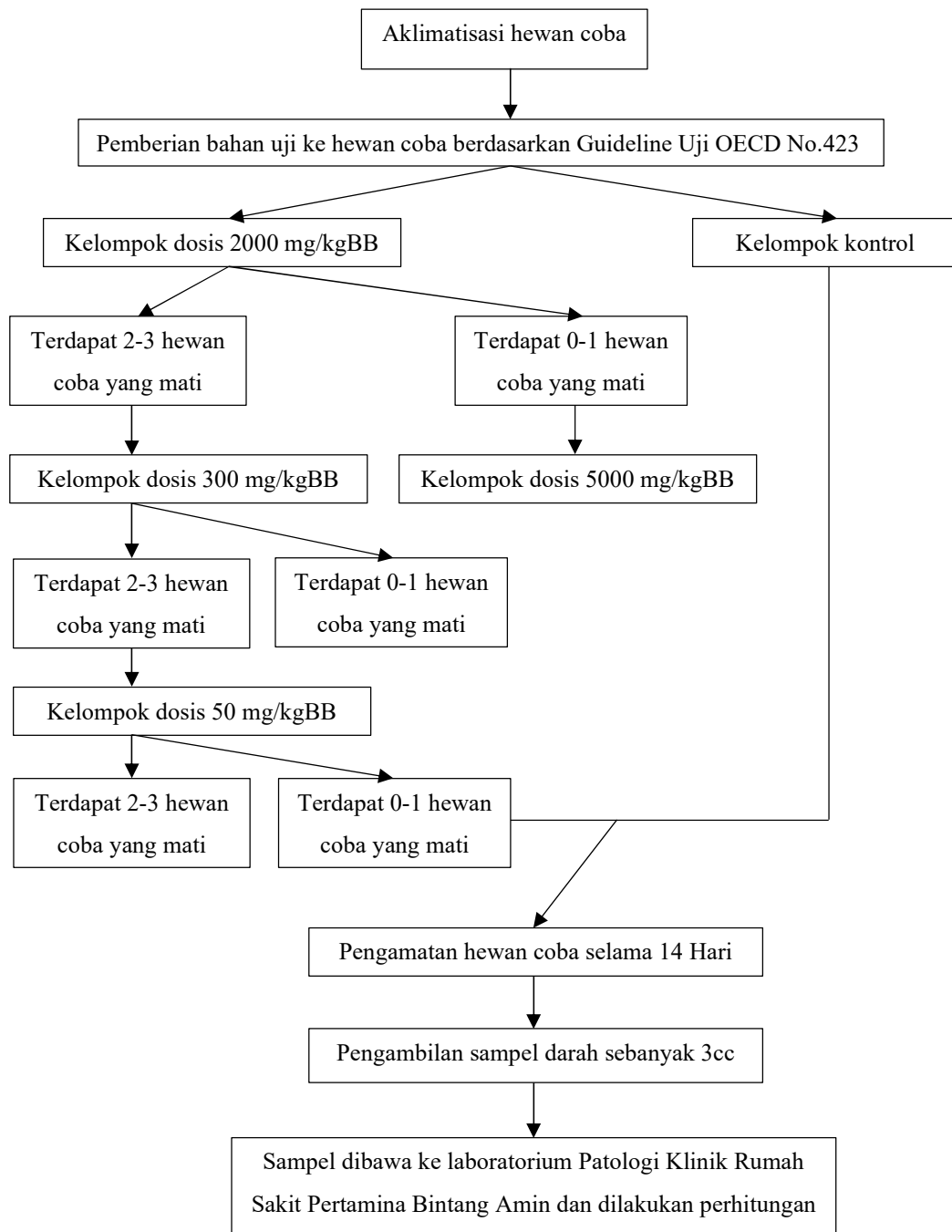
dipuaskan selama 6 jam dan setelah diberikan perlakuan hewan coba dipuaskan selama 4 jam. Pada tikus kelompok kontrol diberikan aquades sebanyak 2,5ml.

Berdasarkan *guideline* uji OECD No.423 tahapan pertama pada penelitian adalah kelompok pertama hewan coba diberikan ekstrak daun pucuk merah dengan dosis 2000 mg/kgBB secara *single dose*. Selanjutnya dilakukan pengamatan secara berkala selama 24 jam pertama setelah dilakukan pemberian perlakuan dengan tahapan yaitu: 30 menit kemudian, 4 jam kemudian, 8 jam kemudian, dan 24 jam kemudian.

Pada tahapan awal ini, apabila tidak ditemukan hewan coba yang mati atau hanya ditemukan 1 ekor saja hewan coba yang mati, maka berdasarkan kepada OECD *guideline* No.423 uji toksisitas dilanjutkan dengan dosis 5000 mg/KgBB. Pengujian dosis 5000 mg/kg BB hanya dilakukan apabila bahan uji memiliki relevansi untuk kesehatan atau potensi terapeutik dikarenakan pada dosis ini tidak *animal welfare*. Lain halnya pada saat dosis 2000 mg/kg BB ditemukan 2-3 ekor hewan coba yang mati, maka dilanjutkan pengujian pada kelompok dosis 300 mg/kgBB. Keseluruhan hewan uji yang tetap hidup setelah 24 jam pertama pada tiap tahapan maka dilakukan observasi selama 14 hari untuk melihat adanya kemungkinan *delayed death*. Alur penelitian dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Alur Penelitian Berdasarkan Guideline OECD No.423 (OECD, 2001).



Gambar 10. Diagram Alur.

3.10 Analisis Data

Data yang sudah didapatkan dari penelitian, selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel dan diolah menggunakan program pengolahan data. Analisis statistika untuk mengolah data yang diperoleh akan menggunakan program komputer. Hasil penelitian kemudian dianalisis apakah berdistribusi normal ($p > 0,05$) dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah dari sampel penelitian < 50 dan dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Hasil analisis menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen maka pengolahan data dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*, kemudian didapatkan hasil yang signifikan sehingga dilakukan analisis *Post Hoc LSD* untuk melihat antar kelompok perlakuan.

3.11 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 96/UN26.18/PP.05.02.00/2023.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pada pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) dosis tunggal terhadap kadar nilai SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* kelompok dosis 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB berdasarkan *guideline* uji OECD No. 423.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah

1. Penelitian ini perlu dilanjutkan untuk mengetahui efek toksisitas dari daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) terhadap parameter pendukung kerusakan hepar lainnya seperti TNF α , juga *gamma- glutamil transferase* (GGT).
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) pada organ lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad MA., Lim YH., Chan YS., Hsu CY., Wu TY., Sit NW. 2022. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiviral activities of the leaf extracts of *Syzygium myrtifolium*. *Acta Pharmaceutica*. 72(2) : 600-50.
- Aisha AFA., Ismail Z., Salah KMA., Shiddiqui JM., Gafar G., Majid AMSA. 2013. *Syzygium campanulatum* Korth methanolic extract inhiits angiogenesis and tumor growth in nude mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13:168-78.
- Anggraini D. 2015. Uji aktivitas antioksidan, total flavonoid dan total fenolik dari ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) [Skripsi]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. Jakarta: BPOM RI.
- Balafif RAR, Andayani Y, Gunawan ER. 2013. Analisis Senyawa Triterpenoid Dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris* Linn). *Chem. Prog.* 6 (2): 56-61.
- Eiska RL. 2021. Minyak Atsiri: Potensi dalam Bidang Kesehatan. *Wellness And Healthy Magazine*. 3(1): 43-50.
- Haryati NA, Saleh C, Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktifitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 13(1): 35-40.
- Hasti S, Emrizal, Susilawati F. 2016. Uji Aktifitas Antidiabetes Ekstrak N-Heksana Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Mencit Putih Diabetes. *PHARMACY*. 13(2): 172-81.
- Hasti S, Musdalifah, Asnila, Renita L, Santi F, Anggraini *et. Al.* 2022. Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 20(1): 30-7.
- Indriani L., Effendi EM., Fadillah KC. 2021. Acute toxicity testof 96% ethanol extract of *Syzygium myrtifolium* leaves in white mice (*Mus musculus*). *Pharmacy Education*. 21(2) : 201 – 04.

- Julianto TS. 2019. Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Juwita R, Saleh C, Sitorus S. 2017. Uji Aktifitas Antihiperurisemia Dari Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) Terhadap Mencit Jantan (*Mus Musculus*). Jurnal Atomik. 2(1): 162-8.
- Kumar V., Cotran RS., Robbins SL. 2019. Buku Ajar Patologi. Edisi 10 Alih Bahasa, Brahm U Pendt; editor Bahasa Indonesia, Huriawati Hartanto, Nurwany Darmaniah, Nanda Wulandari. Jakarta: EGC.
- Malangngi LP, Sangi MS, Paendong JJE. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill*). J MIPA UNSRAT. 2012;1(1):5–10
- Marlinda M, Meiske SS, and Audy DW, 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea Americana Mill.*). Jurnal MIPA UNSRAT. Vol1(1): 24-8.
- Memon AH., Ismail Z., Al-Suede FSR., Aisha AFA., Hamil MSR., Hashim S., et al. 2014. Isolation, Characterization, Crystal Structure Elucidation, and Anticancer Study of Dimethyl Cardamonin, Isolated from *Syzygium campanulatum* Korth. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : 1-11
- Muchtaromah B, Annisa R, Sofiya S. 2019. Pengaruh Polih herbal Ekstrak Jeringau, Temu Mangga Dan Bawang Putih Pada Fungsi Hepar Tikus (*Rattus norwegicus*). *Biosel: Biology Science and Education*, 8(1):71-81.
- Najah AN. 2019. Ketoksikan akut produksi soludia menggunakan metode Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) 425 Pada Tikus Wistar Betina Dan Gambaran Histopatologis Hati Dan Ginjal [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Novrita S, Hasti S. 2022. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) Terhadap Kadar Bilirubin Total Serum Mencit Putih (*Mus musculus L*) Jantan. Jurnal Pusat Penelitian Farmasi Indonesia. 1(1): 14-8. OECD Guidelines for The Testing of Chemicals. 2004. Section 4. Test N0 423: Acute toxicity Acute Toxic Class Method. OECD iLibrary. 2- 14
- Paulsen F., Waschake J. 2019. Sobotta Atlas Anatomi Manusia Organ-Organ Dalam Jilid 2. Jakarta: EGC
- Priska M, Peni N, Carvallo L, Ngapa YD. 2018. Review: Antosianin Dan Pemanfaatannya. Cakra Kimia (*Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*). 6(2): 79-97.

- Rifzian MCD, Rudianto W, Wintoko R, Rahmawati S. 2021. Uji Toksisitas Akut Oral Dosis Tunggal Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung Terhadap Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley* Menggunakan *Guideline* Uji OECD No.423. Jurnal Agromedicine Unila.
- Rosida A. 2016. Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati. Berkala Kedokteran. 12(1): 123-31.
- Salsabila FS. 2020. Efektivitas Ekstrak Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Salmonella Typhi*. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Santosa H, Sari W, Handayani NA. 2018. Ekstraksi Saponin Dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik Suatu Usaha Untuk Mendapatkan Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker. Inovasi Teknik Kimia. 3(2): 12-6.
- Sasmito WA, Wijayanti AD, Fitriana I, Sari PW. 2015. Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Jurnal Sain Veteriner. 33 (2): 234-9.
- Sherwood, L. 2014. Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem. Edisi VIII. Jakarta: EGC.
- Simanjuntak K. 2012. Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan. Bina Widya. 23(3): 135-40.
- Stephens C, Lucena MI, Andrade RJ. 2018. Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury: Mechanisms and Susceptibility Factors. Comprehensive Toxicology. 625–50.
- Sudarmi K, Darmayasa IBG, Muksin IK. 2017. Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium Cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* ATCC. Jurnal Symbiosis. 5(2): 47-51.
- Sunarti. 2021. Daun Pucuk Merah: Inovasi dan Pengembangan Obat Herbal sebagai Terapi Antidiabetes. Malang: Literasi Nusantara.
- Sundhani E, Syarifah DCN, Zumrohani LR, Nurulita NA. 2016. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Adam Hawa (*Rhoeo Discolor*) Dan Daun Pucuk Merah (*Syzygium campanulatum korth.*) Dalam Menurunkan Kadar Gula Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Dengan Pembebanan Glukosa. Pharmacy. 13(2): 137-49.
- Syahrudin. 2013. Penentuan Aktivitas Enzim SGOT dan SGPT pada Hewan Uji Kelinci yang Telah Diberi Ekstrak Tiram *Crassostrea iredalei* Asal Pantai

Takalar Sulawesi Selatan. Seminar Nasional Kefarmasian II oleh STIF A Makassar.

Teke GN, Kuete V. 2014. Acute and Subacute Toxicities of African Medicinal Plants. Cameroon: Elsevier.

The Organization of Economic Co-operation and Development (OECD). 2001. The OECD Guideline for Testing of Chemical : 423 Acute Oral Toxicity. France.

Tortora GJ, Direckson B. 2017. Principles of Anatomy and Physiology. Edisi 13. New York : John Willey.

Triana A. 2017. Efek Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Aktivitas SGOT dan SGPT Hepar. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

Widigdo AP, Witjahyo RB, Wijayahadi N. 2014. Pengaruh Pemberian Dosis Bertingkat Madu Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar Pada Mencit Strain Balb/C Jantan Yang Diberi Paparan Asap Rokok. Skripsi Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Zulfikar E, Wiendarlina IY, Wardatun S. 2017 Penelusuran Potensi Antikanker Daun Pucuk Merah (*Syzygium campanulatum Korth*) Dengan Metode Brine Shrimps Lethality Test (BSLT). FMIPA Universitas Pakuan.