



UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK VALERIAN (*Valeriana officinalis*)

TERHADAP HEPAR MENCIT BALB/C

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

Nurika Amalina

G2A005144

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO

SEMARANG

2009

HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH
UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK VALERIAN (*Valeriana officinalis*)
TERHADAP HEPAR MENCIT BALB/C

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

NURIKA AMALINA
NIM. G2A 005 144

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian
Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
pada tanggal 19 Agustus 2009
dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

TIM PENGUJI

Ketua Penguji,

Penguji,

dr. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA

dr. Awal Prasetyo, M.Kes, Sp.THT-KL

NIP. 131 967 650

NIP. 132 163 893

Pembimbing

dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, Ph.D

NIP. 132 149 104

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Valerian (<i>Valeriana officinalis</i>).....	4
2.2 Hepar.....	7
2.3 Proses Biotransformasi Obat di Hepar.....	9
2.4 Kerusakan Hepar Akibat Obat	10
2.4.1 Mekanisme Kerusakan Hepar Akibat Obat.....	10
2.4.2 Pola Morfologi Kerusakan Hepar.....	11
2.5 Kerangka Teori.....	14

2.6	Kerangka Konsep.....	14
2.7	Hipotesis Penelitian.....	15
BAB 3	METODOLOGI PENELITIAN	
3.1	Ruang Lingkup Penelitian.....	16
3.2	Jenis Penelitian.....	16
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	17
3.4	Variabel Penelitian.....	18
3.5	Bahan dan Alat Penelitian.....	18
3.6	Cara Pengumpulan Data.....	19
3.7	Alur Penelitian.....	22
3.8	Data yang Dikumpulkan.....	23
3.9	Definisi Operasional.....	23
3.10	Pengolahan dan Analisis Data.....	24
BAB 4	HASIL PENELITIAN	
4.1	Analisis Sampel.....	25
4.2	Analisis Deskriptif.....	25
4.2.1	Gambaran Makroskopis Hepar.....	25
4.2.2	Gambaran Mikroskopis Hepar.....	27
4.3	Analisa Analitik.....	31
4.3.1	Gambaran Makroskopis Hepar.....	31
4.3.2	Gambaran Mikroskopis Hepar.....	31
BAB 5	PEMBAHASAN.....	33

BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1	Kesimpulan.....	38
6.2	Saran.....	39
	DAFTAR PUSTAKA.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Skor penilaian morfologi makroskopis hepar.....	20
Tabel 2. Skor penilaian derajat histopatologi sel hepar.....	20
Tabel 3. Hasil pengamatan gambaran makroskopis hepar.....	26
Tabel 4. Median hasil pengukuran volume hepar.....	27
Tabel 5. Skoring pembacaan preparat histopatologi hepar.....	30
Tabel 6. Rerata nilai skor perubahan gambaran histopatologi sel hepar.....	31
Tabel 7. Nilai p pada uji <i>Post Hoc</i> antar kelompok.....	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok K.....	27
Gambar 2. Gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok P1.....	28
Gambar 3. Gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok P2.....	28
Gambar 4. Gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok P3.....	29
Gambar 5. Gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok P4.....	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel konversi perhitungan dosis (Laurence & Bacharach, 1964)

Lampiran 2. Perhitungan dosis konversi

Lampiran 3. Analisis SPSS morfologi makroskopis hepar

Lampiran 4. Analisis SPSS volume hepar

Lampiran 5. Analisis SPSS skor histopatologi hepar

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) terhadap Hepar Mencit Balb/c

Nurika Amalina¹⁾, Noor Wijayahadi²⁾

ABSTRAK

Latar belakang: Valerian (*Valeriana officinalis*) merupakan salah satu bahan alami yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional. Akarnya digunakan sebagai obat insomnia dan antiansietas. Metabolisme obat terutama terjadi dalam hepar, sehingga kemungkinan terjadinya kerusakan organ ini menjadi sangat besar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas akut ekstrak valerian terhadap hepar mencit Balb/c.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only controlled group design*. Sampel berupa 25 ekor mencit Balb/c yang dibagi secara acak menjadi lima kelompok. K merupakan kelompok kontrol yang hanya diberi akuades. P1, P2, P3, dan P4 adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak valerian 5mg/kgBB, 50mg/kgBB, 500mg/kgBB, dan 2000mg/kgBB. Pemberian ekstrak dilakukan per oral melalui sonde pada hari ke-1. Pada hari ke-8 dilakukan terminasi, hepar diambil dan diamati gambaran makroskopis dan histopatologi hepar.

Hasil: Uji *Kruskall Wallis* menunjukkan tidak didapatkan perbedaan morfologi makroskopis hepar yang bermakna ($p=1,00$) dan tidak didapatkan perbedaan volume hepar yang bermakna ($p=0,363$). Rerata skor histopatologi hepar tertinggi pada P4. Skor yang dinilai meliputi perubahan berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis. Uji *Anova* didapatkan perbedaan yang bermakna ($p=0,000$). Dilanjutkan uji *Post Hoc* didapatkan perbedaan bermakna pada K-P2($p=0,000$), K-P3($p=0,000$), K-P4($p=0,000$), P1-P2($p=0,000$), P1-P3($p=0,000$), P1-P4($p=0,000$), P2-P3($p=0,000$), P2-P4($p=0,000$), dan P3-P4($p=0,029$).

Kesimpulan: Pemberian ekstrak valerian secara akut tidak mempengaruhi gambaran makroskopis (morfologi dan volume) hepar, tetapi menunjukkan adanya kerusakan histopatologi hepar bila diberikan pada dosis 50mg/kgBB atau lebih.

Kata Kunci: Valerian, makroskopis hepar, histopatologi hepar.

**Valerian (*Valeriana officinalis*) Acute Toxicity Test
on Liver of Balb/c Mice**

Nurika Amalina¹⁾, Noor Wijayahadi²⁾

ABSTRACT

Background: Valerian (*Valeriana officinalis*) is one of natural substances, used by people as a traditional medicine. The roots of this plant are used to treat insomnia and anxiety. Because the metabolism of this herbal is mainly taken place in the liver, thus the chance of this organ getting damage is very high. The objective of this study was to know the acute toxicity effects of valerian extract on liver of Balb/c mice.

Method: This research was an experimental study using the post test only controlled group design. The samples were 25 Balb/c mice, randomly divided into 5 groups. K was control group which was only given aquadest. P1, P2, P3, and P4 were treatment groups which were given valerian extract 5 mg/kgBW, 50mg/kgBW, 500mg.kgBW, and 2000mg/kgBW. The extract was orally given with sonde on the first day. At 8th day, the Balb/c mice were terminated, and the livers were observed the macroscopic appearance and histopathological of liver.

Result: The Kruskall Wallis test showed there were not significantly difference in macroscopic morphology ($p=1,00$) and in liver volume ($p=0,363$). The highest liver histopathological score was in P4. The score evaluated parenchymatous degeneration, hydropic degeneration, and necrosis. The Anova test showed significant difference ($p=0,000$). Continued with Post Hoc test that showed significant difference in K-P2($p=0,000$), K-P3($p=0,000$), K-P4($p=0,000$), P1-P2($p=0,000$), P1-P3($p=0,000$), P1-P4($p=0,000$), P2-P3($p=0,000$), P2-P4($p=0,000$), and P3-P4($p=0,029$).

Conclusion: The acute treatment of valerian extract did not affect the macroscopis appearance (morphology and volume) of liver, but it showed the damage on liver histopathological when be given in doses 50mg/kgBW or more.

Keywords: Valerian, liver macroscopis, liver histopathological

¹⁾Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

²⁾Staf Pengajar Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Pengobatan tradisional di Indonesia telah berlangsung sejak dahulu dan obat tradisional telah digunakan meluas secara turun-temurun. Umumnya obat tradisional digunakan untuk memelihara kesehatan, mencegah penyakit, mengobati penyakit, maupun memulihkan kesehatan.¹ Salah satu tanaman yang terdapat di Indonesia adalah valerian (*Valeriana officinalis*). Akar tanaman ini secara tradisi digunakan masyarakat untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti nyeri otot dan sendi, gelisah, depresi, asma, kejang, hipokondria, sakit kepala, migren, sakit perut termasuk nyeri haid dan lain-lain.^{2,3} Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Valeriana officinalis* terbukti mempunyai khasiat untuk obat insomnia, dapat memperbaiki kualitas tidur, dan mengurangi waktu induksi tidur (*sleep latency*). Valerian juga digunakan sebagai antiansietas, tetapi belum ada penelitian yang jelas.^{2,3,4}

Penelitian mengenai toksisitas valerian perlu dilakukan untuk melindungi masyarakat dari efek yang mungkin merugikan. Efek toksik obat-obatan sering terlihat dalam hepar, dikarenakan hepar berperan sentral dalam memetabolisme semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk tubuh. Hepar akan mengubah struktur obat yang lipofilik menjadi hidrofilik sehingga mudah dikeluarkan dari tubuh melalui urin atau empedu.⁵ Ekskresi melalui empedu memungkinkan

terjadinya penumpukan xenobiotik di hepar sehingga menimbulkan efek hepatotoksik.⁶

Sebuah penelitian pemakain obat multi-herbal yang mengandung valerian pernah dilaporkan kasus hepatotoksik. Namun, tidak diketahui dengan jelas potensi hepatotoksik tersebut karena valerian atau kemungkinan kombinasi dengan herbal lain.^{2,7} Penelitian mengenai toksisitas dan efek samping valerian sebagai obat herbal tunggal belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keamanan dan efek toksik akut ekstrak valerian terhadap hepar sebagai organ metabolisme obat.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perumusan masalah penelitian ini adalah: Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak valerian (*Valeriana officinalis*) secara akut terhadap gambaran makroskopis dan mikroskopis hepar?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas akut ekstrak valerian (*Valeriana officinalis*) terhadap hepar mencit Balb/c.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1) Mengamati gambaran morfologi makroskopis hepar mencit Balb/c berdasarkan kriteria peneliti pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

- 2) Membandingkan gambaran morfologi makroskopis mencit Balb/c antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol berdasarkan kriteria peneliti.
- 3) Mengukur volume hepar mencit Balb/c pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
- 4) Membandingkan volume hepar mencit Balb/c antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.
- 5) Menghitung rerata skor gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c berdasarkan skoring penelitian *Uji Toksisitas Akut dan Subakut* oleh Maretnowati N., et al pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
- 6) Membandingkan rerata skor gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol berdasarkan skoring penelitian *Uji Toksisitas Akut dan Subakut* oleh Maretnowati N., et al.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat:

- 1) Memberikan informasi mengenai gambaran makroskopis dan mikroskopis hepar mencit Balb/c setelah pemberian ekstrak *Valerian officinalis*.
- 2) Menjadi informasi dalam penggunaan *Valerian officinalis* sebagai obat tradisional.
- 3) Bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Valerian (*Valeriana officinalis*)

Valerian termasuk divisi *Magnoliophyta*, kelas *Magnoliopsida*, ordo *Dipsacales*, famili *Valerianaceae*, genus *Valeriana*, dan spesies *Valeriana officinalis*.⁸ Valerian adalah tanaman asli Eropa dan Asia. Nama Valerian diambil dari bahasa latin *valarae* yang berarti ‘menjadi sehat’.² Nama lain valerian adalah *all-heal*, *setwall* (Inggris), *Baldrianwurzel* (Jerman), *phu* (Yunani), *garden valerian* dan lain-lain.^{2,3,4}

Valerian telah dikenal sejak jaman Romawi dan Yunani, Hippocrates telah mendiskripsikan khasiatnya. Pada abad kedua, Galen menuliskan resep valerian sebagai obat untuk insomnia. Di Amerika dan Eropa, valerian dikenal sebagai ‘valium abad ke-19’. Valerian pun semakin luas digunakan sebagai obat insomnia hingga ke Amerika Utara, Eropa, dan Jepang.^{2,4,7}

Valerian umumnya dapat tumbuh di Indonesia dan tidak membutuhkan persyaratan yang spesifik untuk tumbuhnya. Valerian dapat tumbuh di berbagai tanah, tetapi lebih suka pada tanah basah. Valerian dapat tumbuh dengan sinar matahari penuh maupun sebagian teduh, dan pada pH 6-7.⁹ Valerian dapat tumbuh mencapai tinggi ± 60 cm. Daunnya majemuk, lonjong, permukaan berkerut, warna hijau. Bunganya putih, majemuk. Akarnya tunggang berwarna coklat muda.¹⁰ Tanaman ini mengeluarkan bau yang aneh.⁹

Bagian tanaman yang digunakan untuk pengobatan adalah rhizoma.^{4,7,9,10} Kandungan aktif yang terdapat di dalamnya dipengaruhi oleh subspecies, variasi, umur tanaman, kondisi pertumbuhan, tipe dan umur ekstrak.³ Kandungan aktif yang dimiliki valerian antara lain *Valepotriates* dan derivatnya seperti *valeriana-epoxy-triacylates*, *iridoide monoterpenes* (50 – 80%), *isovaltrate* (46%), *isovaleroxyhydroxy didrovaltrate* (10-20%), serta *Volatile oil* (0,2 – 1,0%) termasuk *valerenic acid* dan derivatnya (*isovalerenic acid* dan *bornyl isovalerate*).^{3,4} Beberapa literatur menyebutkan kandungan lainnya adalah asam amino seperti *gamma-aminobutyric acid* (GABA), tirosin, arginin, dan glutamin, *flavanones* (*hesperidin*, *6-methylapigenin*, *linarin*) dan alkaloid (*actinide*, *catinine*, *isovaleramide*, *valeriannine*, dan *valerine*).⁸ Interaksi sinergistik keseluruhan komponen yang terdapat dalam valerian yang menghasilkan efek klinis.

Ekstrak valerian berikatan dengan reseptor GABA, ikatan ini tidak stabil dan dengan cepat terurai pada lingkungan yang asam atau basa dan temperatur tinggi. *Valeporiates* dengan cepat dimetabolisme menjadi metabolit yang kurang toksik. Secara *in vitro*, ekstrak valerian dapat menyebabkan GABA dilepaskan dari saraf terminal otak. Selain itu, *Valerenic acid* dapat menghambat enzim penghancur GABA.^{3,4} Mekanisme lain adalah adanya glutamin dalam konsentrasi tinggi. Glutamin lebih efektif melewati *blood brain barrier* yang dapat diambil oleh saraf terminal dan diubah menjadi GABA.⁴ Konsentrasi GABA pada celah sinaps meningkat sehingga aktifitas sistem saraf pusat menurun merupakan efek sedasi dari ekstrak valerian.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Valeriana officinalis* efektif untuk mengobati insomnia.^{2,3,4,7,8} Valerian mampu mengurangi waktu induksi tidur (*sleep latency*), meningkatkan kualitas tidur yang dinilai secara subjektif,^{2,3,4} dan menurunkan gejala-gejala insomnia.⁴ Valerian juga digunakan sebagai antiansietas, tetapi belum ada penelitian yang mendukung keefektifannya.^{2,7} Khasiat lain valerian yang digunakan berdasarkan tradisi adalah untuk mengobati nyeri otot dan sendi, gelisah, depresi, asma, kejang, hipokondria, sakit kepala, migren, sakit perut termasuk nyeri haid. Namun, belum ada penelitian untuk uji khasiat tersebut.^{2,3}

Valerian dapat berinteraksi dengan obat lain, seperti alkohol, barbiturat, dan benzodiazepam sehingga menimbulkan efek adiktif.^{2,3,7} Pada penelitian *in vitro*, ekstrak valerian dapat menghambat enzim CYP450 3A4.¹¹ Sehingga dapat meningkatkan kadar obat yang dimetabolit oleh CYP450 3A4 (lovastatin, ketoconazole, fenofenadine, triazolam) bila diberikan bersamaan.^{2,3,7,11} Sedangkan penelitian pada orang sehat, valerian memiliki efek yang minimal terhadap aktifitas enzim CYP450 3A4.¹²

Efek samping valerian sangat jarang dilaporkan. Efek samping valerian adalah sakit kepala, eksitabiliti, sakit perut, gelisah, pusing, tidak tenang, dan hipotermi.^{2,3} Pada beberapa penelitian dilaporkan efek samping valerian sama dengan plasebo.⁴ Efek *hangover* dilaporkan pada pemakaian dosis lebih dari 900mg. *Valerian withdrawal* dapat terjadi karena penghentian tiba-tiba setelah pemakaian kronik.² Efek samping kronik berupa hepatotoksik dapat terjadi karena reaksi idiosinkrasi.³ Hepatotoksik juga dapat terjadi pada pemakain obat multi-

herbal. Namun, tidak diketahui dengan jelas potensi hepatotoksik tersebut karena valerian atau kemungkinan kombinasi dengan herbal lain.^{2,7}

2.2. Hepar

Hepar merupakan organ parenkim yang berukuran terbesar dan memegang peranan penting dalam proses metabolisme tubuh. Selain itu, hepar memiliki banyak fungsi antara lain untuk menyimpan dan menyaring darah, membentuk protein plasma seperti albumin, menghasilkan cairan empedu, sebagai tempat penyimpanan vitamin A dan besi, dan mampu mendetoksikasi berbagai obat dan toksik menjadi inaktif atau larut air.¹³

Hepar tampak berpola heksagonal dengan ukuran bervariasi pada potongan melintang. Sel-sel parenkimnya tersusun radier terhadap vena sentral dan dipisahkan oleh sinusoid. Dinding sinusoid dilapisi selapis endotel yang tidak kontinyu sehingga memungkinkan plasma darah langsung berhubungan dengan sel-sel hepar, sehingga terjadi pertukaran metabolit antara darah dan parenkim hepar.^{14,15} Selain endotel, pada sinusoid juga terdapat sel Kupffer yang merupakan sel makrofag fagositik. Sel ini berfungsi memfagositosis eritrosit tua dan membersihkan darah dari basilus kolon.^{13,14}

Celah yang memisahkan sel-sel endotel dengan hepatosit disebut ruang perisinusoidal (ruang Disse), yang berisi mikrovili dari hepatosit. Ruang Disse ini terdapat sel stelata atau sel penimbun lemak (sel Ito) yang mampu menyimpan vitamin A yang diberikan dari luar.¹⁴ Sel Ito diduga berperan dalam pembentukan fibrosis hepar dengan cara sintesis kolagen.¹⁵

Konsep terbaru dari unit fungsional hepar terkecil adalah asinus hepar yang terdiri atas sel-sel parenkim sekitar arteriol, venul dan duktus biliaris terminal serta terletak di antara dua vena sentralis.¹⁴ Konsep asiner ini dapat menjelaskan gangguan patofisiologis penyakit hepar.¹⁵ Tiga zona dalam asinus hepar adalah zona-1, daerah elipsoid yang mengelilingi arteriol hepatica dan venul porta terminal; zona-2 di tengah; zona-3, dekat vena sentral. Aktivitas metabolik sel-sel tersebut juga berbeda. Zona-1 banyak dijumpai enzim metabolisme oksidatif dan glukoneogenesis, zona-3 banyak terdapat enzim glikolisis, metabolisme obat dan lipid. Sedangkan pada zona-2 memiliki zona campuran. Sel-sel hepatosit dalam ketiga zona secara intrinsik memiliki potensi yang sama untuk mengubah struktur dan fungsinya sebagai respons atas perubahan lingkungan-mikronya. Susunan zona ini bertanggung jawab dalam kerusakan selektif hepatosit akibat berbagai agen toksik atau berbagai keadaan penyakit. Pada keadaan toksik, penimbunan lipid dimulai dari sel-sel hepatosit zona-3.¹⁴ Zona-3 juga merupakan daerah yang paling mudah terkena cedera akibat insufisiensi vaskuler sehingga terjadi nekrosis sel hepar.¹⁵

Walaupun merupakan organ yang sel-selnya mengalami pembaharuan yang lambat, hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang mengagumkan. Kehilangan jaringan akibat zat-zat toksik atau pembedahan memacu suatu mekanisme dimana sel-sel hepar mulai membelah dan hal ini terus berlangsung sampai perbaikan massa jaringan semula tercapai.¹⁶

2.3. Proses Biotransformasi Obat di Hepar

Tujuan metabolisme obat adalah mengubah obat yang non-polar (larut lemak) menjadi polar (larut air) agar dapat diekskresi melalui ginjal atau empedu. Reaksi metabolisme terdiri dari reaksi fase I dan reaksi fase II. Reaksi fase I terdiri dari oksidasi, reduksi, dan hidrolisis, yang mengubah obat menjadi lebih polar, dengan akibat menjadi inaktif, lebih aktif atau kurang aktif. Sedangkan reaksi fase II merupakan reaksi konyugasi dengan substrat endogen seperti asam glukoronat, asam sulfat, asam asetat, atau asam amino, dan akibatnya hampir selalu menjadi tidak aktif. Obat dapat mengalami reaksi fase I saja, atau reaksi fase II saja, atau reaksi fase I diikuti reaksi fase II.⁵

Reaksi metabolisme yang terpenting adalah oksidasi oleh enzim sitokrom P₄₅₀ (CYP) dalam retikulum endoplasmik (mikrosom) hepar. Ada sekitar 50 jenis isoenzim CYP yang aktif pada manusia, tetapi hanya beberapa yang penting untuk metabolisme obat, diantaranya CYP3A4/5, CYP2D6, CYP2C8/9, CYP2C19, CYP1A1/2, dan CYP2E1.⁵

CYP450 3A4/5 merupakan enzim sitokrom P₄₅₀ yang paling banyak (30%) di hepar dan memetabolisme sebagian besar (50%) obat. Isoenzim ini juga terdapat di epitel usus halus dan di ginjal. Jadi CYP450 3A4/5 berperan sangat penting dalam metabolisme dan eliminasi lintas pertama berbagai obat. Dengan demikian induksi dan inhibisinya membawa dampak yang besar dalam menurunkan atau meningkatkan efek dari banyak obat akibat penurunan atau peningkatan bioavailabilitas dan kadarnya dalam darah.⁵

Selanjutnya, reaksi fase II yang terpenting adalah glukuronidasi melalui enzim UDP-glukuronil-transferase (UGT), yang terutama terjadi dalam mikrosom hepar, tetapi juga di jaringan ekstrahepatik (usus halus, ginjal, paru, kulit). Reaksi konyugasi yang lain (asetilasi, sulfasi, konyugasi dengan glutation) terjadi dalam sitosol.⁵

2.4. Kerusakan Hepar Akibat Obat

2.4.1. Mekanisme Kerusakan Hepar Akibat Obat

Kerusakan hepar karena zat toksik dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis zat kimia yang terlibat, dosis yang diberikan, dan lamanya paparan zat tersebut.^{17,18} Kerusakan hepar dapat terjadi segera atau setelah beberapa minggu sampai beberapa bulan. Kerusakan dapat berbentuk nekrosis hepatosit, kolestasis, atau timbulnya disfungsi hepar secara perlahan-lahan.¹⁹ Obat-obatan yang menyebabkan kerusakan hepar pada umumnya diklasifikasikan sebagai hepatotoksik yang dapat diduga dan yang tak dapat diduga, tergantung dari mekanisme dengan cara mana mereka menyebabkan kerusakan hepar.^{19,20}

Kerusakan hepar oleh obat yang dapat diduga, menyebabkan reaksi hepar yang berulang-ulang. Kriterianya adalah setiap individu mengalami kerusakan hepar bila diberikan dalam dosis tertentu, beratnya kerusakan hepar bergantung dosis, kerusakan biasanya dapat diadakan pada hewan percobaan, lesi hepatic yang terjadi biasanya jelas, mempunyai interval waktu yang singkat antara pencernaan obat dan reaksi melawan. Banyak reaksi obat yang toksik terjadi karena konversi oleh hepar terhadap obat menjadi metabolit berupa kimia reaktif yang konvalen yang mengikat protein nukleofilik pada hepatosit hingga terjadi nekrosis.²⁰ Selain

itu, pada reaksi oksidasi sitokrom P₄₅₀ juga dihasilkan metabolit dengan rantai bebas yang dapat terikat kovalen ke protein dan ke asam lemak tak jenuh membran sel, sehingga menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran dan akhirnya terjadi kematian hepatosit.²¹

Kerusakan hepar oleh obat yang tidak dapat diduga disebut juga idiosinkrasi. Meskipun jarang, kadang-kadang hal ini timbul karena reaksi hipersensitivitas yang disertai demam, bercak kulit, eosinofilia. Agaknya agen atau metabolitnya berlaku sebagai haptan untuk membentuk antigen yang sensitif. Beberapa tandanya adalah insidens yang sangat rendah (lebih kecil dari 1%) pada individu yang menggunakan obat, kerusakan tidak tergantung dari dosis, berminggu-minggu sampai berbulan-bulan berlalu antara pencernaan obat dan reaksi melawan. Lesi ini tidak dapat dibuat pada binatang percobaan sehingga lesi ini sering tidak dapat diketahui pada penelitian toksikologi dan percobaan klinik awal.²⁰

2.4.2. Pola Morfologi Kerusakan Hepar

Perubahan struktur hepar yang terjadi pada kerusakan hepar dapat berupa:

1. Inflamasi (hepatitis), yaitu jejas pada hepar karena masuknya sel radang akut atau kronik. Reaksi granuloma dapat dicetuskan oleh benda asing, organisme, atau obat-obatan (akibat langsung toksin).¹⁹
2. Degenerasi dan penimbunan intraseluler.

Cedera karena toksik dapat menyebabkan pembengkakan dan edema hepatosit. Pada degenerasi hidropik tampak sel-sel yang sitoplasmanya pucat, bengkak dan timbul vakuola-vakuola di dalam sitoplasma, karena penimbunan

cairan. Hepatotoksik dan obat juga dapat menyebabkan penimbunan tetesan lipid (steatosis). Hepar secara mikroskopis terlihat gambaran vakuol lemak kecil dalam sitoplasma di sekitar inti (mikrovesikular steatosis), yang dapat berlanjut membentuk vakuol besar yang mendesak inti ke tepi sel (makrovesikular steatosis).¹⁹

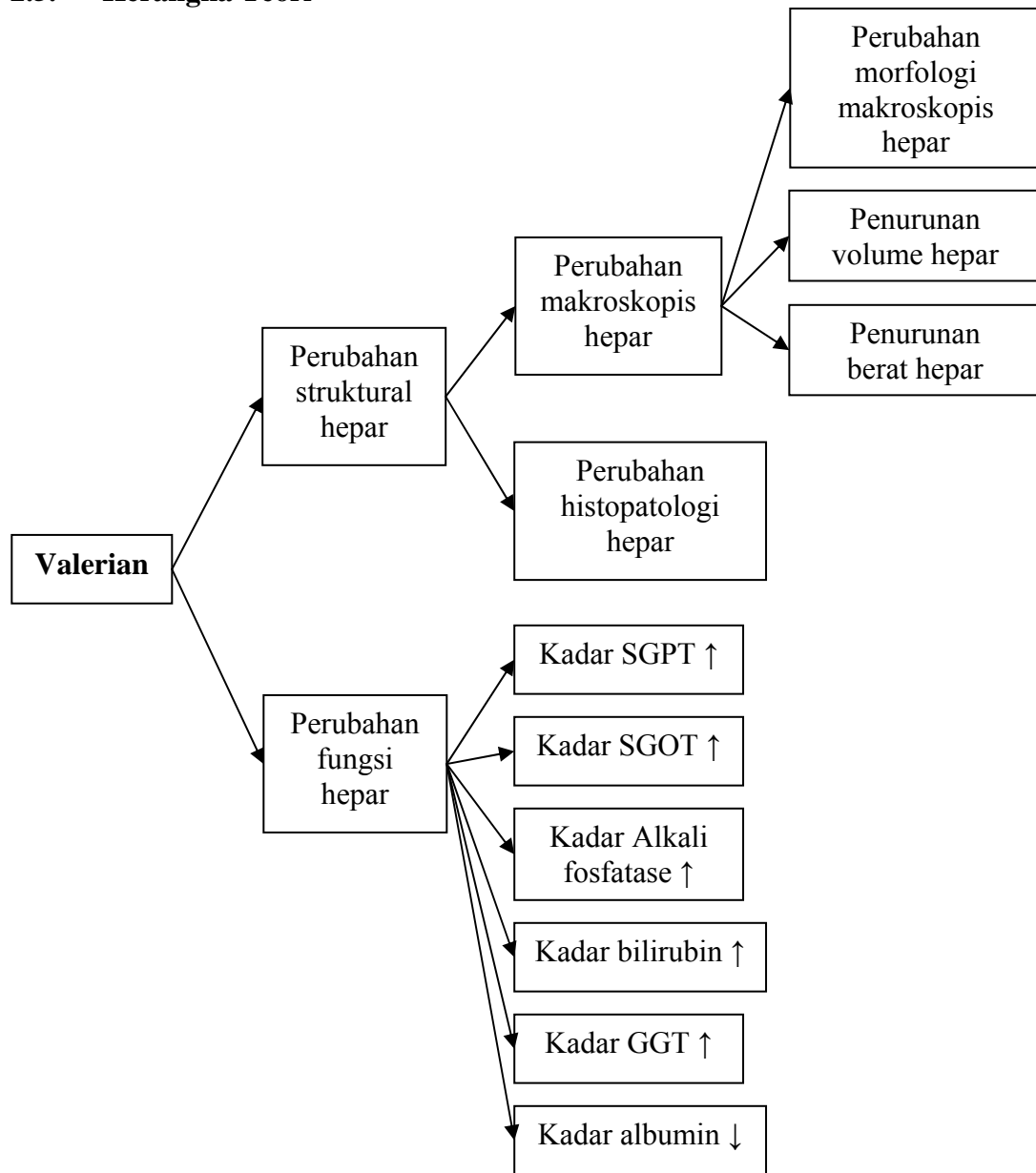
Dalam hepar, penimbunan lemak ringan dapat tidak berpengaruh pada penampakan makro. Bila penimbunan progresif, hepar membesar dan bertambah kuning, pada keadaan ekstrim, hepar dapat seberat tiga sampai enam kg dan berubah menjadi hepar yang kuning, lunak, dan berminyak.²²

3. Nekrosis, adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup. Inti menjadi lebih padat (piknotik) yang dapat hancur bersegmen-segmen (karioreksis) dan kemudian sel menjadi eosinofilik. Lesi mungkin bersifat:
 - a. Nekrosis fokal, adalah kematian sebuah sel atau kelompok kecil sel dalam satu lobus.
 - b. Nekrosis zonal, adalah kerusakan sel hepar pada satu lobus. Nekrosis zonal dapat dibedakan menjadi nekrosis sentral, midzonal, dan perifer.
 - c. Nekrosis masif, yaitu nekrosis yang terjadi pada daerah yang luas.
 - d. Nekrosis pembentukan jembatan (*bridging necrosis*), yaitu dengan jejas inflamasi yang lebih berat, nekrosis hepatosit dapat menjangkau lobus yang berdekatan dengan cara porta ke porta, porta ke central, atau central ke central.¹⁹
4. Fibrosis, terjadi sebagai respons terhadap radang atau akibat langsung toksin. Fibrosis yang berkepanjangan menyebabkan sirosis.¹⁹ Pada sirosis, morfologi

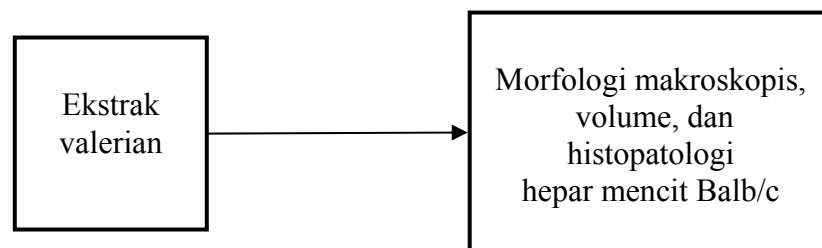
hepar tampak makronoduler, mikronoduler, atau campuran. Bila berlangsung progresif, hepar menjadi berwarna coklat, tidak berlemak, mengecil, terkadang berat hepar kurang dari satu kg.^{19,22}

Gambaran klinis hepatotoksisitas imbas obat sulit dibedakan secara klinis dengan penyakit hepatitis atau kolestasis dengan etiologi lain. Diagnosis hepatotoksisitas imbas obat menurut *Common Toxicity Criteria*, meliputi grade 0-4 dari peningkatan alkali fosfatase, peningkatan bilirubin, peningkatan GGT, hepatomegali, hipoalbuminemia, tanda klinis disfungsi hati, aliran vena porta yang menurun atau retrograd, peningkatan SGOT, dan peningkatan SGPT.²³

2.5. Kerangka Teori



2.6. Kerangka Konsep



2.7. Hipotesis Penelitian

- 1) Gambaran morfologi makroskopis hepar mencit Balb/c berdasarkan kriteria peneliti pada kelompok kontrol adalah normal, sedangkan pada kelompok perlakuan berupa abnormal.
- 2) Pemberian ekstrak valerian mengakibatkan gambaran morfologi makroskopis hepar mencit Balb/c yang lebih buruk dibandingkan kelompok kontrol, berdasarkan kriteria peneliti.
- 3) Volume hepar mencit Balb/c pada kelompok kontrol dalam batas normal, sedangkan pada kelompok perlakuan adalah di bawah batas normal.
- 4) Pemberian ekstrak valerian mengakibatkan volume hepar mencit Balb/c yang lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol.
- 5) Rerata skor gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c berdasarkan skoring penelitian *Uji Toksisitas Akut dan Subakut* oleh Maretnowati N., et al semakin meningkat sesuai dengan kenaikan dosis ekstrak valerian yang diberikan.
- 6) Pemberian ekstrak valerian mengakibatkan rerata skor histopatologi hepar mencit Balb/c yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, berdasarkan skoring penelitian *Uji Toksisitas Akut dan Subakut* oleh Maretnowati N., et al.

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Ruang Lingkup Penelitian

3.1.1. Ruang Lingkup Keilmuan

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini meliputi bidang farmakologi, histologi, dan patologi anatomi.

3.1.2. Ruang Lingkup Waktu

Penelitian dan pengumpulan data berlangsung selama kurang lebih tiga minggu.

3.1.3. Ruang Lingkup Tempat

Penelitian dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, di Laboratorium Farmakologi dan Terapi untuk pemeliharaan, pemberian perlakuan, pengamatan, dan di Laboratorium Histologi untuk pemeriksaan gambaran makroskopis dan mikroskopis hepar.

3.2. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorik dengan *post test only controlled group design* yang menggunakan mencit Balb/c sebagai hewan percobaan.

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah mencit Balb/c yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Penelitian (UPHP) Universitas Gajah Mada (UGM) Yogyakarta.

3.3.2. Sampel

a. Cara Pengambilan sampel

Sampel penelitian diambil secara random dari populasi yang ada dengan kriteria sebagai berikut :

1. Kriteria inklusi :

- i) Mencit Balb/c jantan
- ii) Dewasa (umur 2-3 bulan)
- iii) Berat badan 25-35 gram
- iv) Kondisi fisik sehat
- v) Tidak ada abnormalitas anatomi yang tampak

2. Kriteria eksklusi:

Timbul kecacatan selama masa percobaan

b. Besar sampel

Besar sampel ditentukan menurut WHO, yaitu minimal lima ekor untuk setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit Balb/c yang dibagi lima kelompok.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel bebas

Sebagai variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak valerian.

3.4.2. Variabel tergantung

Sebagai variabel tergantung pada penelitian ini adalah gambaran morfologi makroskopis, volume, dan histopatologi hepar mencit Balb/c.

3.5. Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1. Bahan-bahan yang diperlukan untuk penelitian ini adalah:

- a. Mencit Balb/c
- b. Ekstrak valerian
- c. Pakan standar mencit
- d. Aquadest
- e. Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi

3.5.2. Alat-alat yang diperlukan untuk penelitian ini adalah:

- a. Kandang mencit dan perlengkapannya
- b. Sonde lambung
- c. Seperangkat alat bedah minor untuk mengambil organ
- d. Gelas ukur
- e. Alat untuk pembuatan preparat histopatologi (mikrotom, inkubator, cetakan, *object glass*, *deck glass*)
- f. Mikroskop cahaya
- g. Kamera digital

3.6. Cara Pengumpulan Data

Sebelum mendapat perlakuan, 25 ekor mencit Balb/c diaklimatisasi di laboratorium dengan dikandangkan secara individual dan diberi ransum pakan standar dan minum selama dua minggu secara *ad libitum*.

Mencit-mencit tersebut kemudian dibagi menjadi lima kelompok, yang masing-masing terdiri dari lima ekor mencit yang ditentukan secara acak. Masing-masing kelompok dikandangkan secara individual. Pada hari ke-1 diberikan perlakuan pemberian ekstrak valerian secara peroral menggunakan sonde lambung dengan *single dose* yang ditentukan pada tiap-tiap kelompok berdasarkan *OCDE Guideline Acute Oral Toxicity-Fixed Dose Procedure*,²⁴ kemudian diamati selama tujuh hari.

Kontrol (K) : diberi pelarut (*aquadestilata*)

Kelompok Perlakuan 1 (P1) : diberi ekstrak valerian 5 mg/kgBB

Kelompok Perlakuan 2 (P2) : diberi ekstrak valerian 50 mg/kgBB

Kelompok Perlakuan 3 (P3) : diberi ekstrak valerian 500 mg/kgBB

Kelompok Perlakuan 4 (P4) : diberi ekstrak valerian 2000 mg/kgBB

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

1. Gambaran makroskopis

- 1) Mengamati gambaran morfologi makroskopis hepar. Sasaran yang diamati adalah permukaan luar hepar. Pengamatan dilakukan oleh peneliti sendiri.

Penilaian morfologi makroskopis hepar berdasarkan buku *Robins and*

*Cotran pathologic basis of disease*¹⁹ yang dibuat kriteria skoring sendiri, sebagai berikut:

Tabel 1. Skor penilaian morfologi makroskopis hepar

Luas daerah	Skor
Normal	0
Abnormal < 25%	1
Abnormal 26% - 50%	2
Abnormal 51% - 75%	3
Abnormal 76% - 100%	4

- 2) Mengukur volume hepar dengan cara memasukkan organ hepar ke dalam gelas ukur yang telah diisi aquadest. Volume hepar yang diukur adalah kenaikan permukaan aquadest pada gelas ukur.

2. Gambaran mikroskopis

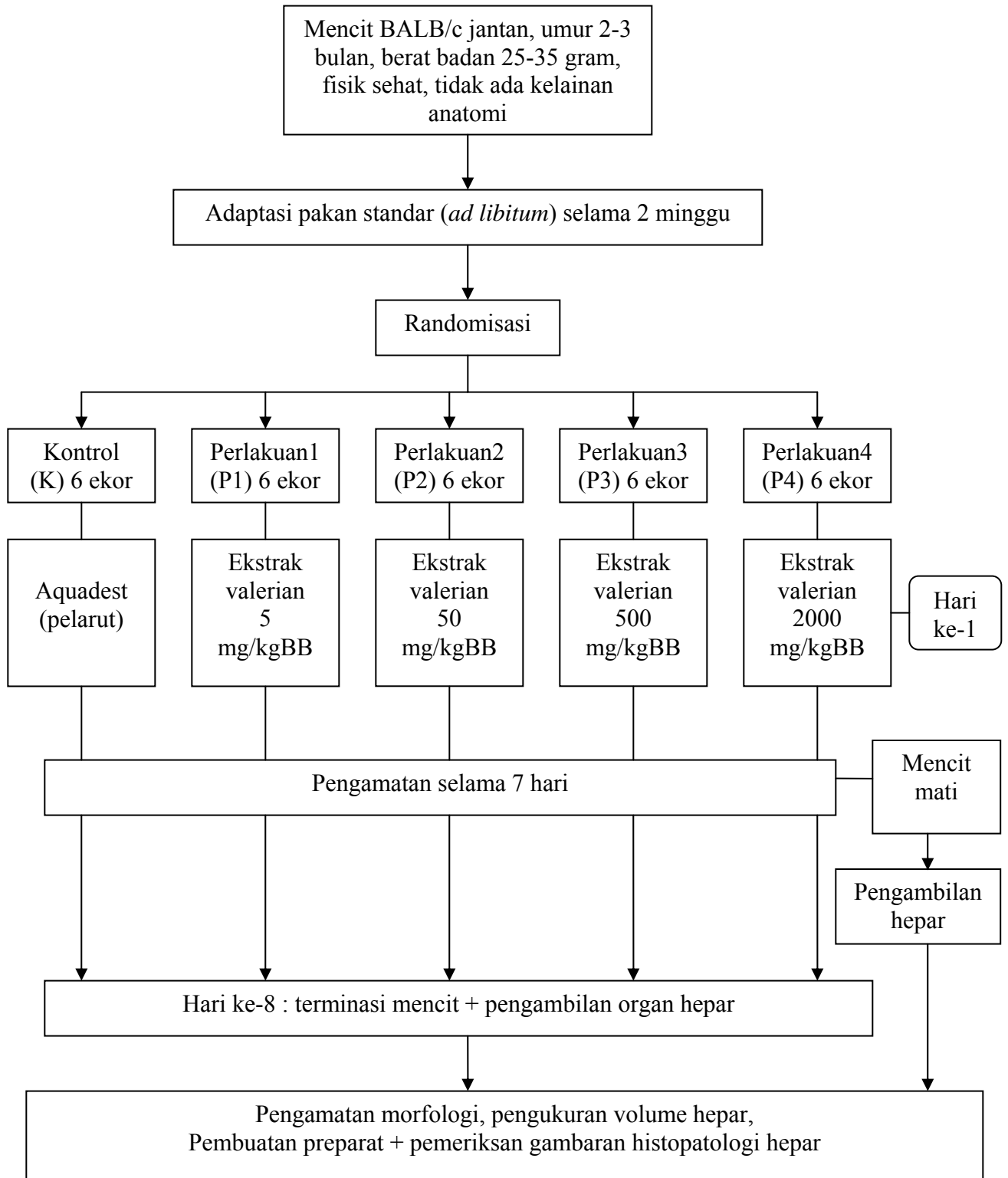
Setelah selesai dilakukan pengamatan makroskopis, organ hepar dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Kemudian preparat histopatologi dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi untuk dikonsultasikan dengan ahli patologi anatomi. Pengamatan mikroskopis dilakukan oleh peneliti sendiri. Skoring derajat histopatologi hepar yang digunakan berdasarkan penelitian Uji Toksisitas Akut dan Subakut yang dilakukan Marenowati N., et al yang telah dipublikasikan dalam Majalah Farmasi Airlangga (2005),²⁵ sebagai berikut:

Tabel 2. Skor penilaian derajat histopatologi sel hepar

Tingkat Perubahan	Skor
Normal	1
Degenerasi parenkimatosa	2
Degenerasi hidropik	3
Nekrosis	4

Preparat histopatologi hepar diamati di bawah mikroskop cahaya dalam lima lapangan pandang yang berbeda, dengan perbesaran 400 kali. Setiap lapangan pandang dihitung 40 sel hepatosit dan dinilai skor tiap sel. Kemudian dihitung rerata bobot skor perubahan histopatologi hepar dari lima lapangan pandang dari masing-masing mencit.

3.7. Alur Penelitian



3.8. Data yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan adalah data primer hasil pemeriksaan gambaran morfologi makroskopis, volume, dan histopatologi hepar mencit Balb/c.

3.9. Definisi Operasional

1. Pemberian ekstrak valerian yaitu berupa ekstrak alkohol 70% akar valerian yang telah distandardisasi, dengan menggunakan sonde lambung dengan dosis bertingkat yaitu 5, 50, 500, dan 2000 mg/kgBB, dan diberikan pada hari ke-1.

Skala : numerik (rasio).

2. Gambaran makroskopis hepar yaitu penilaian organ hepar secara makroskopis meliputi:

1) Morfologi makroskopis hepar yaitu gambaran permukaan luar hepar. Penilaian disebut normal jika permukaan rata dan halus,¹⁵ sedangkan abnormal jika permukaan berupa jaringan ikat, kista kecil, permukaan yang berbenjol-benjol, atau abses.^{19,21}

Skala : kategorikal (ordinal).

2) Volume hepar yaitu kenaikan permukaan aquadest pada gelas ukur dengan satuan ml.

Skala : numerik (rasio).

3. Gambaran mikroskopis hepar yaitu rerata skor histopatologi hepar yang dihitung berdasarkan skor derajat perubahan struktur histopatologi sel hepar sebagai berikut¹⁹:

a. Normal : tampak sel berbentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah homogen dan dinding sel berbatas tegas

- b. Degenerasi parenkimatososa : tampak sitoplasma keruh karena terdapat endapan protein.
 - c. Degenerasi hidropik : tampak vakuola pada sitoplasma sel maupun di sekeliling inti sel.
 - d. Nekrosis : tampak inti sel piknotik dan sitoplasma sel menggumpal.
- Skala : numerik(interval).

3.10. Pengolahan dan Analisa Data

Data yang diperoleh dari semua kelompok sampel diolah dengan program komputer *SPSS for windows*.

- a. Untuk data dengan skala kategorikal, dilakukan uji beda menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan jika didapatkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.
- b. Untuk data dengan skala numerik, dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*. Apabila didapatkan distribusi data yang normal, maka dilakukan uji beda menggunakan uji *One Way Anova* dan jika didapatkan nilai $p < 0,05$, dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc*. Apabila didapatkan distribusi data yang tidak normal, maka dilakukan uji beda menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan jika didapatkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1. Analisis Sampel

Selama penelitian, didapatkan sample sebanyak 25 ekor mencit Balb/c jantan dari populasi mencit Balb/c dari Unit Pemeliharaan Hewan Penelitian (UPHP) Universitas Gajah Mada (UGM) Yogyakarta dan tidak ada sample yang dieksklusi ataupun *drop out*. Kemudian sample dibagi menjadi lima kelompok secara acak. Selama berlangsungnya penelitian, tidak terdapat satu ekor mencit pun yang mati sehingga terminasi seluruh mencit dan pengambilan organ hepar dilakukan pada hari ke-8 penelitian.

4.2. Analisis Deskriptif

4.2.1. Gambaran Makroskopis Hepar

Hasil pengamatan secara makroskopis pada hari ke-8 setelah mencit diterminasi dan diambil organ heparnya, dapat dilihat pada tabel 3. Tabel 3 menunjukkan bahwa morfologi makroskopis hepar seluruh sampel dari tiap kelompok memperoleh skor 0 (morfologi normal).

Tabel 3. Hasil pengamatan gambaran makroskopis hepar

Kelompok	Mencit Ke-	Morfologi Makroskopis Hepar (skor) *	Volume Hepar (ml)
K	1	0	1,50
	2	0	2,00
	3	0	2,00
	4	0	1,50
	5	0	2,00
P1	1	0	3,00
	2	0	2,50
	3	0	1,50
	4	0	1,50
	5	0	1,50
P2	1	0	2,00
	2	0	3,00
	3	0	2,00
	4	0	2,00
	5	0	2,00
P3	1	0	1,50
	2	0	3,00
	3	0	2,50
	4	0	2,00
	5	0	2,00
P4	1	0	2,50
	2	0	2,00
	3	0	2,50
	4	0	2,00
	5	0	2,50

Keterangan :

- *) Normal : 0
- Abnormal < 25% : 1
- Abnormal 26% - 50% : 2
- Abnormal 51% - 75% : 3
- Abnormal 76% - 100% : 4

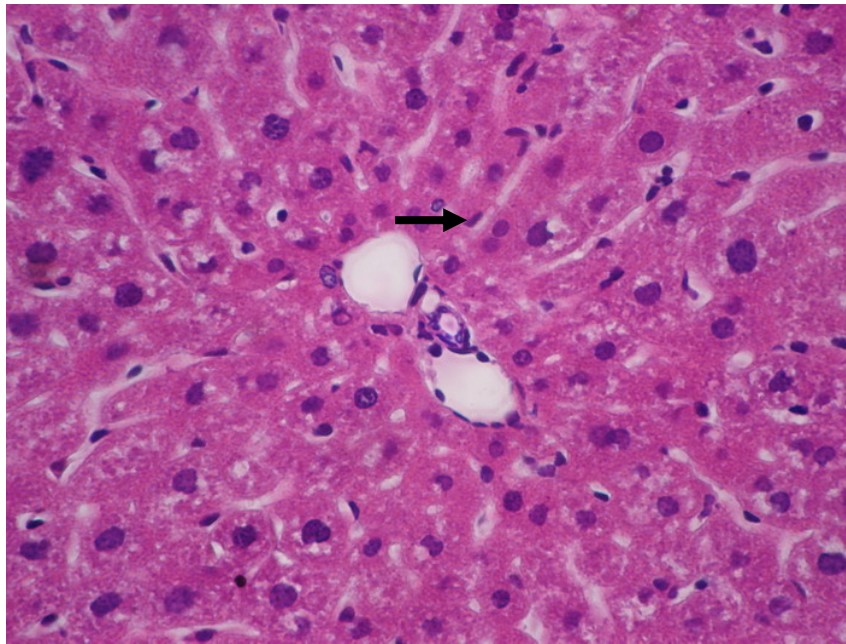
Data yang diperoleh dari hasil pengukuran volume hepar, diolah dengan program komputer *SPSS for Windows*, dan diperoleh sebagai berikut:

Tabel 4. Median hasil pengukuran volume hepar

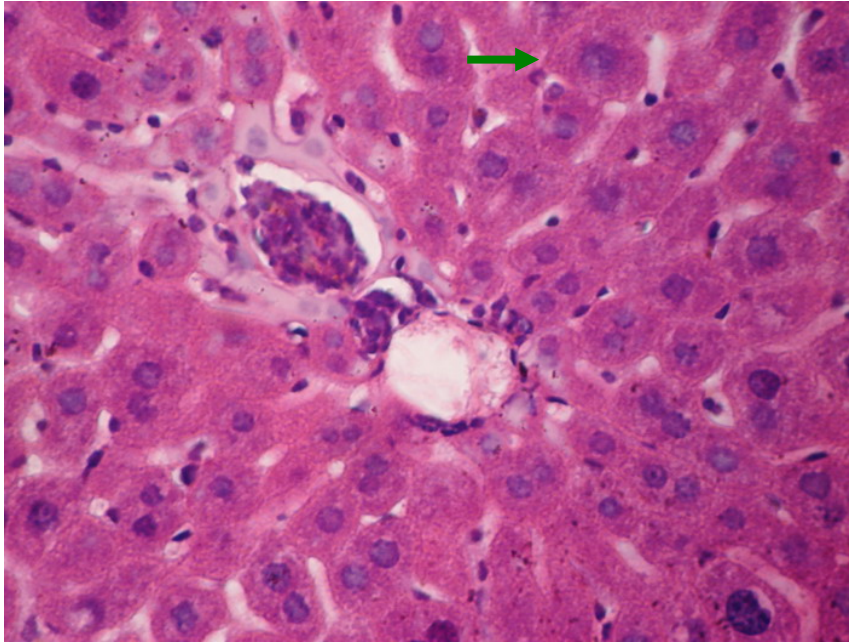
Kelompok Perlakuan	Median	Volume Hepar (ml)	
		Minimum	Maksimum
Kontrol	2,00	1,50	2,00
Perlakuan 1	1,50	1,50	3,00
Perlakuan 2	2,00	2,00	3,00
Perlakuan 3	2,00	1,50	3,00
Perlakuan 4	2,50	2,00	2,50

4.2.2. Gambaran Mikroskopis Hepar

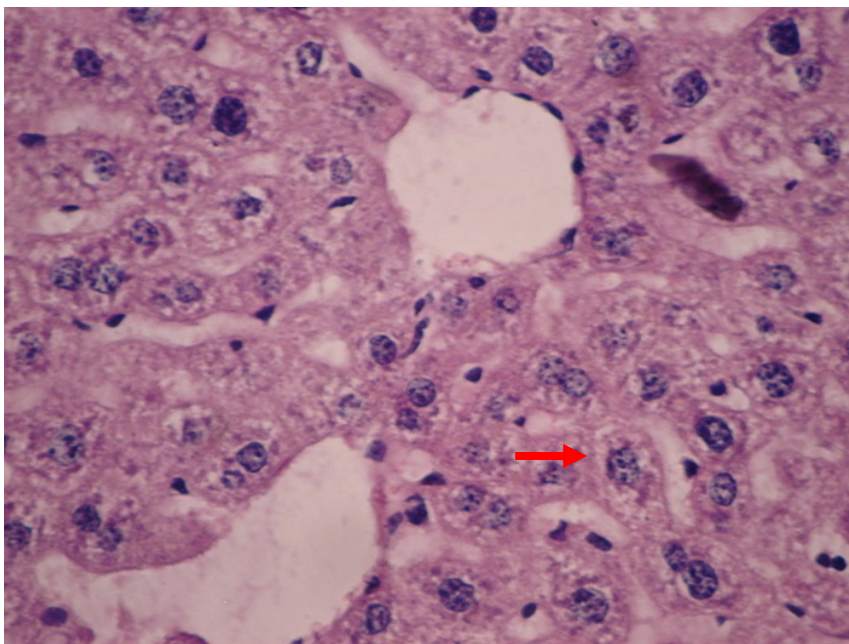
Hasil pengamatan mikroskopis yang mewakili masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 1-5 dan tabel 5.



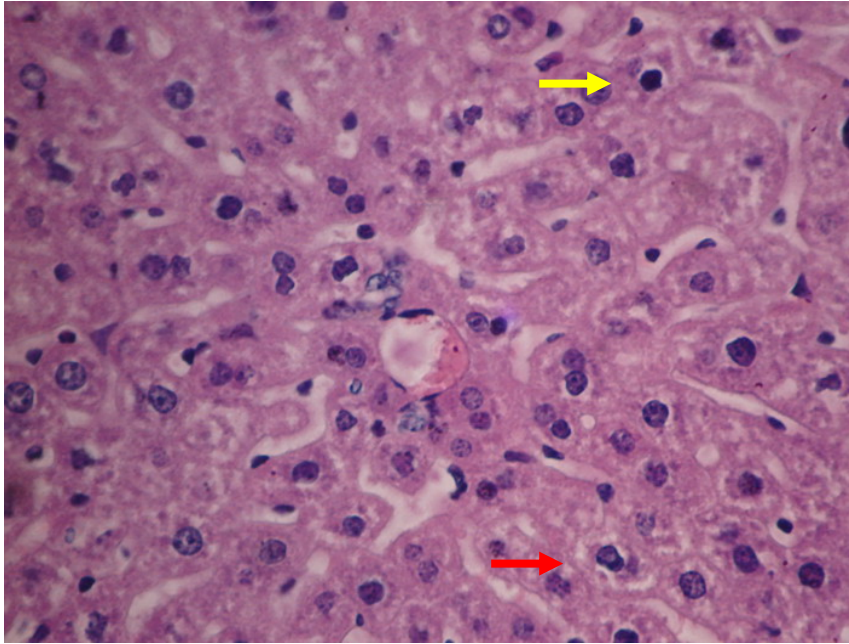
Gambar 1. Gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok K dengan perbesaran 400x. (→) : sel normal (skor1).



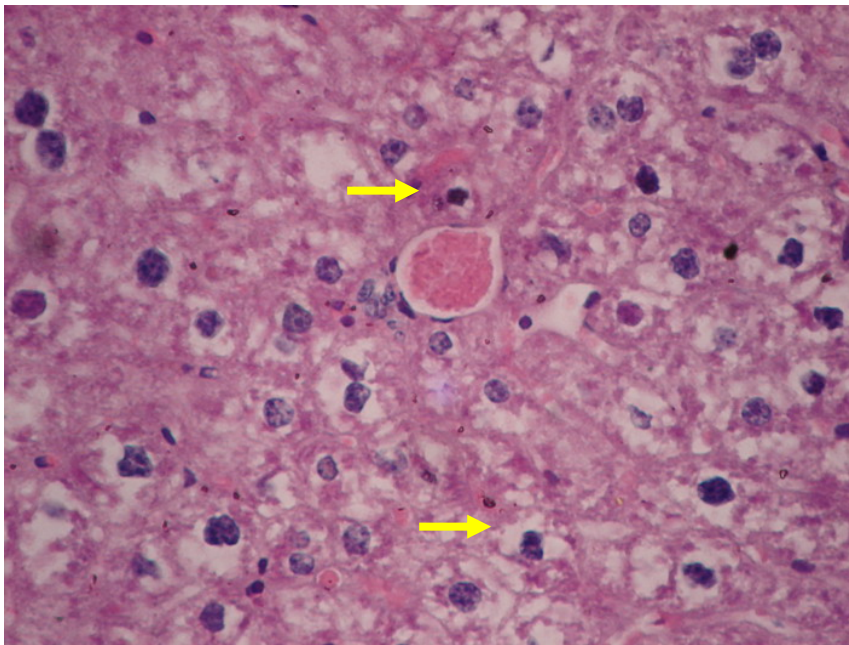
Gambar 2. Gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok P1 dengan perbesaran 400x. (→) : degenerasi parenkimatosa (skor 2).



Gambar 3. Gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok P2 dengan perbesaran 400x. (→) : degenerasi hidropik (skor 3).



Gambar 4. Gambaran histopatologi sel hepar menci pada kelompok P3 dengan perbesaran 400x. (→) : degenerasi hidropik (skor 3). (→) : nekrosis hepatosit (skor 4).



Gambar 5. Gambaran histopatologi sel hepar menci pada kelompok P4 dengan perbesaran 400x. (→) : nekrosis hepatosit (skor 4).

Tabel 5. Skoring pembacaan preparat histopatologi hepar

Kelompok	Sel Normal		Degenerasi parenkimatososa		Degenerasi hidropik		Nekrosis		Total			
	N	Skor	N	Skor	N	Skor	N	Skor	N	Skor	Nilai	
K	1	24	24	147	294	28	84	1	4	200	406	2,030
K	2	13	13	153	306	34	102	0	0	200	421	2,105
K	3	9	9	161	322	30	90	0	0	200	421	2,105
K	4	17	17	148	296	35	105	0	0	200	418	2,090
K	5	11	11	173	346	16	48	0	0	200	405	2,025
P1	1	5	5	136	272	44	132	15	60	200	469	2,345
P1	2	23	23	148	296	16	48	13	52	200	419	2,095
P1	3	11	11	139	278	43	129	7	28	200	446	2,230
P1	4	1	1	97	194	90	270	12	48	200	513	2,565
P1	5	2	2	191	382	4	12	3	12	200	408	2,040
P2	1	0	0	40	80	116	348	44	176	200	604	3,020
P2	2	0	0	12	24	142	426	46	184	200	634	3,170
P2	3	3	3	56	112	96	288	45	180	200	583	2,915
P2	4	0	0	49	98	118	354	33	132	200	584	2,920
P2	5	1	1	61	122	125	375	13	52	200	550	2,750
P3	1	0	0	1	2	115	345	84	336	200	683	3,415
P3	2	0	0	1	2	108	324	91	364	200	690	3,450
P3	3	0	0	2	4	67	201	131	524	200	729	3,645
P3	4	0	0	3	6	98	294	99	396	200	696	3,480
P3	5	0	0	6	12	42	126	152	608	200	746	3,730
P4	1	0	0	0	0	26	78	174	696	200	774	3,870
P4	2	0	0	0	0	13	39	187	749	200	787	3,935
P4	3	0	0	0	0	12	36	188	752	200	788	3,940
P4	4	0	0	0	0	63	189	137	548	200	737	3,685
P4	5	0	0	0	0	49	147	151	604	200	751	3,755

Keterangan :

- *) Sel Normal : 1
 Degenerasi parenkimatososa : 2
 Degenerasi hidropik : 3
 Nekrosis : 4

Rerata nilai perubahan struktur histopatologi hepar mencit yang diperoleh dari pengamatan mikroskopik melalui lima lapang pandang yang berbeda terhadap seluruh kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rerata nilai skor perubahan gambaran histopatologi sel hepar

Kelompok Perlakuan	Nilai skor perubahan histopatologi sel hepar	
	Mean	SD
Kontrol	2,071	0,040218
Perlakuan 1	2,255	0,210149
Perlakuan 2	2,955	0,154353
Perlakuan 3	3,544	0,136354
Perlakuan 4	3,837	0,113060

Tabel 6 menunjukkan rerata nilai skor perubahan struktur histopatologi hepar mencit semakin meningkat sesuai dengan kenaikan dosis ekstrak valerian yang diberikan.

4.3. Analisis Analitik

4.3.1. Gambaran Makroskopis Hepar

Morfologi makroskopis hepar merupakan skala ordinal, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasilnya tidak didapatkan perbedaan morfologi makroskopis hepar yang bermakna ($p=1,00$).

Volume hepar dilakukan uji distribusi data dengan *Shapiro-Wilk* dan didapatkan hasil yaitu data untuk kelompok P3 mempunyai sebaran data normal ($p>0,05$), sedangkan untuk kelompok K, P1, P2 dan P4 mempunyai sebaran tidak normal ($p<0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan uji beda non parametrik *Kruskal-Wallis* dan hasilnya didapatkan nilai $p=0,363$ ($p>0,05$), artinya tidak terdapat perbedaan volume hepar yang bermakna.

4.3.2. Gambaran Mikroskopis Hepar

Rerata skor histopatologi hepar dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan didapatkan distribusi data normal. *Test homogeneity of variances*

rerata skor histopatologi hepar didapatkan varians data yang sama, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Uji *One Way Anova* didapatkan nilai $p=0,000$ yang berarti paling tidak terdapat perbedaan perubahan struktur histopatologi sel hepar secara bermakna pada dua kelompok. Hasil uji *Post Hoc* untuk menilai perbedaan antar kelompok dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Nilai p pada uji *Post Hoc* antar kelompok

Kelompok	K	P1	P2	P3
P1	0,281			
P2	0,000*	0,000*		
P3	0,000*	0,000*	0,000*	
P4	0,000*	0,000*	0,000*	0,029*

*ada perbedaan yang bermakna ($p<0,05$)

Hasil uji beda antara kelompok kontrol dan perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna yaitu antara kontrol yang hanya diberi aquadest dengan P2 yang diberi ekstrak valerian sebesar 0,55x dosis lazim, antara kontrol dengan P3 yang diberi dosis 5,54x dosis lazim, dan antara kontrol dengan P4 yang diberi dosis 22,17x dosis lazim. Sedangkan antara kontrol dengan P1 yang diberi dosis 0,06x dosis lazim tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

BAB 5

PEMBAHASAN

Sebagian besar obat, termasuk valerian, masuk melalui saluran cerna, dan hepar terletak di antara permukaan absorptif dari saluran cerna dan organ target obat dimana hepar berperan sentral dalam metabolisme obat. Hepatotoksisitas imbas obat merupakan komplikasi potensial yang hampir selalu ada pada setiap obat yang diberikan, karena hepar merupakan pusat disposisi metabolik dari semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk tubuh, termasuk valerian.²³

Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak valerian secara akut tidak berpengaruh terhadap gambaran makroskopis hepar (morfologi makroskopis dan volume hepar). Kerusakan hepar karena zat toksik dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis zat kimia yang terlibat, dosis yang diberikan, dan lamanya paparan zat tersebut seperti akut, subkronik atau kronik.^{17,18} Umumnya perubahan makroskopis terjadi pada keadaan kronis. Dalam hepar, degenerasi ringan dapat tidak berpengaruh pada penampakan makroskopisnya.²² Selain itu, hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang tinggi. Kehilangan jaringan akibat zat-zat toksik memacu mekanisme dimana sel-sel hepar mulai membelah dan terus berlangsung sampai perbaikan massa jaringan tercapai.¹⁶

Nilai skor perubahan struktur histopatologi sel hepar semakin meningkat sesuai dengan kenaikan dosis ekstrak valerian yang diberikan. Hal ini sesuai dengan konsep hubungan antara konsentrasi dan respon yaitu. pada rentang dosis tertentu, konsentrasi obat pada reseptor dapat menimbulkan efek terapi, tetapi dapat juga

menimbulkan efek toksik. Dimana semakin tinggi konsentrasi, maka respon yang ditimbulkan semakin besar (respon terapi dan respon toksik).²⁶

Hasil penelitian mikroskopis menunjukkan bahwa jika valerian dikonsumsi pada dosis P2 (0,55x dosis lazim) atau lebih, maka gambaran histopatologi hepar berbeda bermakna dibandingkan dengan tidak mengonsumsi valerian. Hal ini sesuai dengan tinjauan pustaka yang menyebutkan bahwa efek samping kronik valerian berupa hepatotoksik dapat terjadi karena reaksi idiosinkrasi.³ Selain itu, hepatotoksik juga pernah dilaporkan terjadi pada pemakai obat multi-herbal yang mengandung valerian. Namun, tidak diketahui dengan jelas potensi hepatotoksik tersebut karena valerian atau kemungkinan kombinasi dengan herbal lain.^{2,7} Sebab penelitian *in vitro* sebelumnya telah terbukti bahwa ekstrak valerian dapat menghambat enzim CYP450 3A4.¹¹ Sehingga dapat meningkatkan kadar obat yang dimetabolit oleh CYP450 3A4 bila diberikan bersamaan.^{2,3,7,11}

Kemungkinan hasil penelitian ini yaitu pada dosis yang setara dengan 0,55x dosis lazim telah menimbulkan perubahan histopatologi sel hepar karena valerian yang masuk ke dalam tubuh mengandung zat-zat dan senyawa-senyawa kimia yang merupakan zat asing (xenobiotik). Zat-zat tersebut dapat menyebabkan kerusakan hepar melalui tiga mekanisme,¹⁹ yaitu:

1. Toksisitas langsung (*direct toxicity*).

Hasil analitik kandungan logam dalam akar valerian menggunakan spektrometri atom didapatkan kandungan untuk Fe, Al, Ca, dan V sebesar 100-1000 mg/kg, dan untuk Mn, Zn, dan Pb sebesar 10-100 mg/kg. Cadmium sebesar 0.0125 mg/kg. Jika dalam jumlah yang berlebihan, logam-logam

tersebut dapat bersifat toksik.²⁷ Zat toksik dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas selaput, homeostatis osmosa, keutuhan enzim dan kofaktor yang selanjutnya akan membebani sel tersebut dan menyebabkan jejas sel dan disfungsi.²²

2. Konversi hepar suatu xenobiotik menjadi toksin aktif.

Umumnya hasil biotransformasi obat berupa metabolit inaktif, tetapi ada obat yang metabolitnya sama aktif, lebih aktif, atau lebih toksik. Oksidasi obat-obat tertentu oleh enzim sitokrom P₄₅₀ menghasilkan senyawa yang reaktif, yang dalam keadaan normal segera diubah menjadi metabolit yang lebih stabil. Namun, bila enzimnya diinduksi atau kadar obatnya tinggi sekali, maka metabolit antara yang terbentuk juga banyak sekali. Karena inaktivasinya tidak cukup cepat, senyawa tersebut sempat bereaksi dengan komponen sel dan menyebabkan kerusakan jaringan.⁵ Reaksi tersebut dapat berupa ikatan kovalen antara rantai bebas senyawa reaktif dengan protein dan dengan asam lemak tak jenuh membran sel, sehingga menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran dan akhirnya terjadi kematian hepatosit akibat kegagalan memompa kalsium dari sitosol dan menekan fungsi mitokondria.²¹ Hal ini mungkin juga terjadi pada hasil metabolit valerian yang reaktif dan toksik.

3. Mekanisme imun.

Biasanya oleh obat atau metabolit yang berperan sebagai haptan untuk mengubah protein selular menjadi suatu imonogen.¹⁹

Selain itu, hasil sebuah penelitian metabolisme valerian pada hepar tikus wistar didapatkan kesimpulan bahwa di dalam hepar, *valerian acid* dimetabolisme menjadi beberapa bentuk konyugasi, dimana transporter membran MRP2 di kanalikulum sel hati mensekresi aktif obat-obat dan metabolit glukuronidnya ke dalam empedu.²⁸ Eksresi melalui empedu memiliki makna toksikologi, yaitu memungkinkan xenobiotik yang ada di sirkulasi kembali ke hepar sebelum diekskresi, penumpukan xenobiotik di hepar, peningkatan paparan zat toksik dalam hepar melalui siklus enterohepatik, sehingga memungkinkan timbulnya efek toksik yang tidak diinginkan di hepar.⁶

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak valerian secara akut tidak mempengaruhi gambaran makroskopis hepar, yaitu morfologi makroskopis dan volume hepar. Namun, secara patologi organ, pemberian ekstrak valerian memiliki risiko toksik terhadap hepar yaitu perubahan struktur histopatologi sel hepar berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Hal ini tidak sesuai dengan opini masyarakat selama ini yang beranggapan obat tradisional praktis aman dan tidak memberikan efek samping. Oleh karena itu, masyarakat perlu bersikap hati-hati dalam mengkonsumsi ekstrak valerian.

Keterbatasan yang ada dalam penelitian ini adalah tidak dilakukan *second observer* oleh ahli patologi anatomi sehingga memungkinkan terjadi bias pada pengamatan. Selain itu, sebelum pengambilan sampel tidak dilakukan pemeriksaan terhadap hepar mencit, sehingga terdapat kemungkinan ketika mencit diambil sebagai sampel telah mengalami kerusakan sebelumnya. Hal ini terlihat pada kelompok kontrol juga ditemukan gambaran degenerasi parenkimatososa dan

degenerasi hidropik sel hepar. Hal ini bisa terjadi juga karena faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian seperti pemberian pakan dan minum yang kurang sesuai standar dan kurang bervariasi, kondisi kandang yang kurang ideal, faktor stress mencit, pengaruh zat atau penyakit lain, serta faktor internal lain seperti daya tahan dan kerentanan mencit.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- 1) Gambaran morfologi makroskopis hepar mencit Balb/c berdasarkan kriteria peneliti, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, berupa morfologi normal.
- 2) Pemberian ekstrak valerian tidak memberikan perbedaan gambaran morfologi makroskopis hepar mencit Balb/c antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol berdasarkan kriteria peneliti.
- 3) Volume hepar mencit Balb/c, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, dalam variasi yang normal.
- 4) Pemberian ekstrak valerian tidak memberikan perbedaan volume hepar mencit Balb/c antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.
- 5) Rerata skor gambaran histopatologi hepar mencit Balb/c berdasarkan skoring penelitian *Uji Toksisitas Akut dan Subakut* oleh Maretnowati N., et al semakin meningkat sesuai dengan kenaikan dosis ekstrak valerian yang diberikan.
- 6) Pemberian ekstrak valerian mengakibatkan rerata skor histopatologi hepar mencit Balb/c yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, berdasarkan skoring penelitian *Uji Toksisitas Akut dan Subakut* oleh Maretnowati N., et al.

6.2. Saran

Penelitian yang sama perlu dilakukan untuk meneliti potensi toksisitas ekstrak valerian dengan hewan coba tikus wistar dan dilakukan *second observer* oleh ahli patologi anatomi, serta menggunakan skor penilaian derajat kerusakan hepar menurut standart internasional.

DAFTAR PUSTAKA

1. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Pedoman pelaksanaan uji klinik obat tradisional. 1st ed. Jakarta: Departemen Kesehatan; 2000. 1-12.
2. Valerian (*Valeriana officinalis L.*). Medline Plus [online] 2008 Jan 1 [cited on 2008 Dec 6]. Available from: URL: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/natural/patient-valerian.html>
3. Adeyemi, Fummy. Valerian monograph [online] 2003 May 8 [cited on 2008 Dec 6]. Available from: URL: <http://www.uchsc.edu/sop/pharmd/8.ExperimentalProgram/downloads/valerian.pdf>
4. Fact Sheet Questions and answers about valerian for insomnia and other sleep disorders. Office of Dietary Supplements, National Institutes of Health [online] 2008 Jan 16 [cited on 2008 Dec 6]. Available from: URL: <http://ods.od.nih.gov/factsheets/Valerian.asp>
5. Setiawati A, Suyatna FD, Gan S. Pengantar farmakologi. In: Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. Farmakologi dan terapi. 5th ed. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2007. 1-11.
6. Donatus IO. Toksikologi dasar. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada; 2001. 100-2.

7. Cramer K, Charrois TL, Vohra S. Valerian practical management of adverse effects and drug interactions. *Canadian Pharmaceutical Journal* 2006 May/Jun [cited on 2008 Dec 16]; 139(3):39-41.
8. Valerian (herb). Wikipedia [online] 2008 Jan 30 [cited on 2008 Dec 6]. Available from : URL: [http://en.wikipedia.org/wiki/valerian_\(herb\)](http://en.wikipedia.org/wiki/valerian_(herb))
9. Superb herbs: Valerian (*Valeriana officinalis* L.). The North Carolina Arboretum [online] [cited on 2009 Jan 30]. Available from : URL: http://www.ncarboretum.org/Superb_Herbs/valerian.pdf
10. *Valeriana officinalis* L. [online] [cited on 2009 Jan 30]. Available from: URL: http://bebas.vslm.org/v12/artikel/ttg_tanaman_obat/depkes/buku3/3-155.pdf
11. Lefebvre T, Foster BC, Drouin CE, Krantis A, Livesey JF, Jordan SA. In vitro activity of commercial valerian root extracts against human cytochrome P450 3A4. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2004 Aug 12 [cited on 2009 Jan 29]; 7(2):265-73.
12. Donovan JL, DeVane CL, Chavin KD, Wang JS, Gibson BB, Gefroh HA, et al. Multiple night-time doses of valerian (*Valeriana officinalis*) had minimal effects on CYP3A4 activity and no effect on CYP2D6 activity in healthy volunteers. *Drug Metabolism and Disposition* 2004 Aug 24 [cited on 2009 Jan 23]; 32:1333-6.
13. Guyton AC, Hall JE. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Edisi 9. Jakarta: EGC; 1997. 1103-7.
14. Fawcett, Don W. *Buku ajar histologi*. 12th ed. Jakarta: EGC; 2002. 583-97.

15. Underwood, JCE. Patologi umum dan sistemik vol 2. 2nd ed. Jakarta: EGC; 1999. 470-1, 483.
16. Junqueira LC, Carneiro J. Histologi dasar. 3th ed. Jakarta: EGC; 1997. 354.
17. Darmansjah I, Wiria MSS. Dasar toksikologi. In: Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. Farmakologi dan terapi. 5th ed. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2007. 820-5.
18. Moslen, MT. Toxic responses of the liver. In: Klaassen, CD, editor. Casarett and Doull's toxicology the basic science of poisons. 6th ed. New York: McGraw Hill; 2001. 476-8.
19. Crawford, JM. Liver and biliary tract. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. 880-1,903.
20. Robins SL, Kumar V. Buku ajar patologi II. 4th ed. Jakarta: EGC; 1995. 318.
21. Sherlock, Sheila. Penyakit hati dan sistem saluran empedu. Jakarta: Widya Medika; 1990. 384-7.
22. Robins SL, Kumar V. Buku ajar patologi I. 4th ed. Jakarta: EGC; 1995. 3, 18.
23. Bayupurnama Putut. Hepatotoksisitas imbas obat. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata KM, Setiati S. Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid I. 4th ed. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen ilmu Penyakit dalam FK UI; 2006. 471-2.
24. OECD guideline for testing of chemicals acut oral toxicity - fixed dose procedure. OECD/OCDE [online] 2001 Dec 17

[cited on 2009 Jan 30]. Available from: URL:
http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD_GL420.pdf

25. Maretnowati N, Widyawaruyanti A, Santosa MH. Uji toksisitas akut dan subakut ekstrak etanol dan ekstrak air kulit batang *Artocarpus champeden* spreng dengan parameter histopatologi hati mencit. *Majalah Farmasi Airlangga* 2005 Dec [cited on 2009 Jan 30]; 5(3):91-5.
26. Mycek Mj, Harvey RA, Champe PC. *Farmakologi ulasan bergambar*. 2nd ed. Jakarta: Widya Medika; 2001. 21.
27. Arce S, Cerutti S, Olsina R, Gomez MR, Martinez LD. Determination of metal content in valerian root phytopharmaceutical derivatives by atomic spectrometry. *Journal of AOAC Internasional* [online] 2005 Jan 1 [cited on 2009 Aug 7]. Available from: URL:
<http://www.articlearchives.com/environment-natural-resources/toxic-hazardous/1028394-1.html>
28. Salamon AM, Trauner G, Hiltcher R, Reznicek G, Kopp B, Thalhammer T, et al. Hepatic metabolism and biliary excretion of valerenic acid in isolated perfused rat livers: Role of Mrp2 (Abcc2). *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online] 2008 Nov 22 [cited on 2009 Jan 29]. Available from: URL:
<http://www3.interscience.wiley.com/journal/121645173.html>

LAMPIRAN 1

TABEL KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS

(LAURENCE & BACHARACH, 1964)

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

LAMPIRAN 2

PERHITUNGAN DOSIS KONVERSI

Faktor konversi dari mencit (20 gram) ke manusia (70 kg) adalah 387,9

1. Kelompok Perlakuan 1 (5 mg/kgBB)

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk 20 gram mencit} &= 0,02 \text{ kg BB} \times 5 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,10 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis konversi untuk manusia (70kg)} &= 0,10 \text{ mg} \times 387,9 \\ &= 38,79 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk manusia (50kg)} &= 50 / 70 \times 38,79 \text{ mg} \\ &= 27,707 \text{ mg}\end{aligned}$$

2. Kelompok Perlakuan 2 (50 mg/kgBB)

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk 20 gram mencit} &= 0,02 \text{ kg BB} \times 50 \text{ mg/kgBB} \\ &= 1 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis konversi untuk manusia (70kg)} &= 1 \text{ mg} \times 387,9 \\ &= 387,9 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk manusia (50kg)} &= 50 / 70 \times 387,9 \text{ mg} \\ &= 277,071 \text{ mg}\end{aligned}$$

3. Kelompok Perlakuan 3 (500 mg/kgBB)

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk 20 gram mencit} &= 0,02 \text{ kg BB} \times 500 \text{ mg/kgBB} \\ &= 10 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis konversi untuk manusia (70kg)} &= 10 \text{ mg} \times 387,9 \\ &= 3879 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk manusia (50kg)} &= 50 / 70 \times 3879 \text{ mg} \\ &= 2770,714 \text{ mg} \end{aligned}$$

4. Kelompok Perlakuan 4 (2000 mg/kgBB)

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk 20 gram mencit} &= 0,02 \text{ kg BB} \times 2000 \text{ mg/kgBB} \\ &= 40 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis konversi untuk manusia (70kg)} &= 40 \text{ mg} \times 387,9 \\ &= 15516 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk manusia (50kg)} &= 50 / 70 \times 15516 \text{ mg} \\ &= 11082,857 \text{ mg} \end{aligned}$$

Berdasarkan pada sediaan yang digunakan di masyarakat, dosis valerian untuk manusia (50kg) adalah 500 mg – 1000 mg.

Perbandingan dosis perlakuan dibanding dengan dosis lazim

Kelompok	Dosis untuk Manusia (50kg)	Dosis Lazim	Perbandingan	
			Dosis terhadap Dosis Lazim	
P1	5 mg/kgBB	27,707 mg	500 mg	0,06 x DL
P2	50 mg/kgBB	277,071 mg	500 mg	0,55 x DL
P3	500 mg/kgBB	2770,714 mg	500 mg	5,54 x DL
P4	2000 mg /kgBB	11082,857 mg	500 mg	22,17 x DL

LAMPIRAN 3

Explore

Morfologi Makroskopis Hepar (skor)

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Morfologi Permukaan Luar Hepar (skor)	Kelompok K	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P1	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P2	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P3	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P4	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%

Descriptives a,b,c,d,e

- Morfologi Permukaan Luar Hepar (skor) is constant when Kelompok = K. It has been omitted.
- Morfologi Permukaan Luar Hepar (skor) is constant when Kelompok = P1. It has been omitted.
- Morfologi Permukaan Luar Hepar (skor) is constant when Kelompok = P2. It has been omitted.
- Morfologi Permukaan Luar Hepar (skor) is constant when Kelompok = P3. It has been omitted.
- Morfologi Permukaan Luar Hepar (skor) is constant when Kelompok = P4. It has been omitted.

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

		Kelompok	N	Mean Rank
Morfologi Permukaan Luar Hepar (skor)	K		5	13,00
	P1		5	13,00
	P2		5	13,00
	P3		5	13,00
	P4		5	13,00
		Total	25	

Test Statistics^{a,b}

		Morfologi Permukaan Luar Hepar (skor)
Chi-Square		,000
df		4
Asymp. Sig.		1,000

- Kruskal Wallis Test
- Grouping Variable: Kelompok

LAMPIRAN 4

Explore

Volume Hepar (ml)

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Volume Hepar (ml)	K	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P1	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P2	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P3	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P4	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%

Descriptives

Volume Hepar (ml)		Kelompok	Statistic	Std. Error
Volume Hepar (ml)	K	Mean	1,8000	,12247
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 1,4600	
			Upper Bound 2,1400	
		5% Trimmed Mean	1,8056	
		Median	2,0000	
		Variance	,075	
		Std. Deviation	,27386	
		Minimum	1,50	
		Maximum	2,00	
		Range	,50	
		Interquartile Range	,50	
		Skewness	-,609	,913
		Kurtosis	-3,333	2,000
		Volume Hepar (ml)	P1	Mean
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 1,1220			
	Upper Bound 2,8780			
5% Trimmed Mean	1,9722			
Median	1,5000			
Variance	,500			
Std. Deviation	,70711			
Minimum	1,50			
Maximum	3,00			
Range	1,50			
Interquartile Range	1,25			
Skewness	,884			,913
Kurtosis	-1,750			2,000
Volume Hepar (ml)	P2			Mean

	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,6447	
		Upper Bound	2,7553	
	5% Trimmed Mean		2,1667	
	Median		2,0000	
	Variance		,200	
	Std. Deviation		,44721	
	Minimum		2,00	
	Maximum		3,00	
	Range		1,00	
	Interquartile Range		,50	
	Skewness		2,236	,913
	Kurtosis		5,000	2,000
P3	Mean		2,2000	,25495
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,4921	
		Upper Bound	2,9079	
	5% Trimmed Mean		2,1944	
	Median		2,0000	
	Variance		,325	
	Std. Deviation		,57009	
	Minimum		1,50	
	Maximum		3,00	
	Range		1,50	
	Interquartile Range		1,00	
	Skewness		,405	,913
	Kurtosis		-,178	2,000
P4	Mean		2,3000	,12247
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,9600	
		Upper Bound	2,6400	
	5% Trimmed Mean		2,3056	
	Median		2,5000	
	Variance		,075	
	Std. Deviation		,27386	
	Minimum		2,00	
	Maximum		2,50	
	Range		,50	
	Interquartile Range		,50	
	Skewness		-,609	,913
	Kurtosis		-3,333	2,000

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Volume Hepar (ml) K	,367	5	,026	,684	5	,006
P1	,360	5	,033	,767	5	,042
P2	,473	5	,001	,552	5	,000
P3	,237	5	,200*	,961	5	,814
P4	,367	5	,026	,684	5	,006

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

a. Lilliefors Significance Correction

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank
Volume Hepar (ml) K	5	8,60
P1	5	10,90
P2	5	14,40
P3	5	14,30
P4	5	16,80
Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Volume Hepar (ml)
Chi-Square	4,328
df	4
Asymp. Sig.	,363

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

LAMPIRAN 5

Explore

Skor Histopatologi Hepar

Case Processing Summary

	Kelompok	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Skor Histopatologi Hepar	K	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P1	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P2	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P3	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%
	P4	5	100,0%	0	,0%	5	100,0%

Descriptives

Kelompok		Statistic	Std. Error		
Skor Histopatologi Hepar	K	Mean	2,07100	,017986	
		95% Confidence Interval for Mean	2,02106		
		Lower Bound	2,12094		
		Upper Bound	2,07167		
		5% Trimmed Mean	2,09000		
		Median	,002		
		Variance	,040218		
		Std. Deviation	2,025		
		Minimum	2,105		
		Maximum	,080		
		Range	,078		
		Interquartile Range	-,517		,913
		Skewness	-3,172		2,000
		Kurtosis			
	P1	Mean	2,25500	,093981	
		95% Confidence Interval for Mean	1,99407		
		Lower Bound	2,51593		
		Upper Bound	2,24972		
		5% Trimmed Mean	2,23000		
		Median	,044		
		Variance	,210149		
		Std. Deviation	2,040		
		Minimum	2,565		
		Maximum	,525		
		Range	,388		
		Interquartile Range	,739		,913
		Skewness	-,249		2,000
		Kurtosis			
	P2	Mean	2,95500	,069029	

	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,76334	
		Upper Bound	3,14666	
	5% Trimmed Mean		2,95444	
	Median		2,92000	
	Variance		,024	
	Std. Deviation		,154353	
	Minimum		2,750	
	Maximum		3,170	
	Range		,420	
	Interquartile Range		,263	
	Skewness		,169	,913
	Kurtosis		,643	2,000
P3	Mean		3,54400	,060980
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,37469	
		Upper Bound	3,71331	
	5% Trimmed Mean		3,54083	
	Median		3,48000	
	Variance		,019	
	Std. Deviation		,136354	
	Minimum		3,415	
	Maximum		3,730	
	Range		,315	
	Interquartile Range		,255	
	Skewness		,695	,913
	Kurtosis		-1,951	2,000
P4	Mean		3,83700	,050562
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3,69662	
		Upper Bound	3,97738	
	5% Trimmed Mean		3,83972	
	Median		3,87000	
	Variance		,013	
	Std. Deviation		,113060	
	Minimum		3,685	
	Maximum		3,940	
	Range		,255	
	Interquartile Range		,218	
	Skewness		-,575	,913
	Kurtosis		-1,995	2,000

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Skor Histopatologi Hepar	K	,282	5	,200*	,785	5	,061
	P1	,177	5	,200*	,948	5	,725
	P2	,198	5	,200*	,973	5	,893
	P3	,281	5	,200*	,884	5	,329
	P4	,215	5	,200*	,887	5	,341

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

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Skor Histopatologi Hepar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,106	4	20	,118

ANOVA

Skor Histopatologi Hepar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11,969	4	2,992	148,157	,000
Within Groups	,404	20	,020		
Total	12,373	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Skor Histopatologi Hepar

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	P1	-,184000	,089880	,281	-,45295	,08495
	P2	-,884000*	,089880	,000	-1,15295	-,61505
	P3	-1,473000*	,089880	,000	-1,74195	-1,20405
	P4	-1,766000*	,089880	,000	-2,03495	-1,49705
P1	K	,184000	,089880	,281	-,08495	,45295
	P2	-,700000*	,089880	,000	-,96895	-,43105
	P3	-1,289000*	,089880	,000	-1,55795	-1,02005
	P4	-1,582000*	,089880	,000	-1,85095	-1,31305
P2	K	,884000*	,089880	,000	,61505	1,15295
	P1	,700000*	,089880	,000	,43105	,96895
	P3	-,589000*	,089880	,000	-,85795	-,32005
	P4	-,882000*	,089880	,000	-1,15095	-,61305
P3	K	1,473000*	,089880	,000	1,20405	1,74195
	P1	1,289000*	,089880	,000	1,02005	1,55795
	P2	,589000*	,089880	,000	,32005	,85795
	P4	-,293000*	,089880	,029	-,56195	-,02405
P4	K	1,766000*	,089880	,000	1,49705	2,03495
	P1	1,582000*	,089880	,000	1,31305	1,85095
	P2	,882000*	,089880	,000	,61305	1,15095
	P3	,293000*	,089880	,029	,02405	,56195

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Skor Histopatologi Hepar

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
K	5	2,07100			
P1	5	2,25500			
P2	5		2,95500		
P3	5			3,54400	
P4	5				3,83700
Sig.		,281	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.