



PENILAIAN FUNGSI HATI MENCIT PUTIH GALUR *DdY* (*Deutsch denken*. Yoken) YANG DIINDUKSI JAMU X

Mardalisa^{1*}, Nenden Sobarna², Ndaru Andri Damayanti³

Universitas Yarsi Jakarta 2023, Indonesia^{1,2,3}

Email: airinmuhmalik@gmail.com

Article Info	Abstrak
Submitted: 07-04-2025	<p>Jamu "X", obat herbal tradisional Indonesia, digunakan secara empiris untuk mengobati hipertensi, diabetes, dan kelelahan, tetapi profil keamanannya masih belum diverifikasi. Terlepas dari sifat antioksidan yang diketahui dari bahan-bahannya (misalnya, Arenga pinnata, Nigella sativa), tidak ada penelitian sebelumnya yang secara komprehensif menilai hepatotoksitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi keamanan hati Jamu "X" dengan menganalisis kadar ALT/AST dan perubahan histopatologis pada tikus strain <i>DdY</i>. Desain eksperimental sejati digunakan, dengan tikus diberikan Jamu "X" pada dosis 5-5000 mg/KgBB selama 14 hari. Fungsi hati dinilai melalui pewarnaan ELISA (ALT/AST) dan hematoxylin-eosin untuk histopatologi. Dosis ≥ 50 mg/KgBB secara signifikan meningkatkan ALT ($p < 0,05$) dan menyebabkan kerusakan hati sedang (6-50%), sedangkan ≥ 5000 mg/KgBB menginduksi nekrosis parah ($> 50\%$). Khususnya, potensi hepatotoksik Arenga pinnata pada dosis tinggi bertentangan dengan klaim hepatoprotektif sebelumnya. Studi ini menyoroti perlunya optimalisasi dosis dan penelitian lebih lanjut tentang efek jangka panjang dan interaksi Jamu "X" dengan obat hepatotoksik lainnya. Pedoman peraturan harus membahas penggunaannya yang aman.</p> <p>Kata Kunci: alanin aminotransferase, aspartat aminotransferase, jamu "x", sel hati.</p>
Final Revised: 23-04-2025	
Accepted: 24-04-2025	
Published: 25-04-2025	

Abstract

*Jamu "X," a traditional Indonesian herbal remedy, is empirically used to treat hypertension, diabetes, and fatigue, but its safety profile remains unverified. Despite the known antioxidant properties of its ingredients (e.g., Arenga pinnata, Nigella sativa), no prior study has comprehensively assessed its hepatotoxicity. This study aimed to evaluate the liver safety of Jamu "X" by analyzing ALT/AST levels and histopathological changes in *DdY* strain mice. A true experimental design was employed, with mice administered Jamu "X" at doses of 5–5000 mg/KgBB for 14 days. Liver function was assessed via ELISA (ALT/AST) and hematoxylin-eosin staining for histopathology. Doses ≥ 50 mg/KgBB significantly elevated ALT ($p < 0.05$) and caused moderate liver damage (6–50%), while ≥ 5000 mg/KgBB induced severe necrosis ($> 50\%$). Notably, Arenga pinnata's hepatotoxic potential at high doses contradicted prior hepatoprotective claims. The study highlights the need for dose optimization and further research on Jamu "X"'s long-term effects and interactions with other hepatotoxic drugs. Regulatory guidelines should address its safe usage.*

Keywords: Alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, jamu "X", liver cells.

Corresponding Author: Mardalisa

Email: airinmuhmalik@gmail.com

This article is licensed under



PENDAHULUAN

Kemunculan virus baru dan penyebarannya yang sangat cepat menyebabkan tingginya angka kematian di berbagai belahan dunia, termasuk di Indonesia (Ilpaj & Nurwati, 2020). Salah satu cara yang dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk meningkatkan daya tahan tubuh dan mempercepat proses penyembuhan adalah dengan mengonsumsi bahan tradisional, diantaranya jamu (Mahawikan et al., 2022; Putri, 2021). Jamu merupakan ramuan tradisional yang sudah dimanfaatkan secara turun temurun yang bersumber dari beberapa tumbuhan obat (Sandy & Susilawati, 2021). Bangsa Indonesia membuat obat tradisional dengan memanfaatkan bahan alam yang mana telah terbukti dengan adanya naskah lama pada daun lontar Husodo (Jawa), dokumen Serat Primbon Jampi, dan relief candi Borobudur yang melukiskan orang sedang meracik obat (jamu) (Sumayyah & Salsabila, 2017).

Menurut hasil dari Riset Kesehatan Dasar tahun 2010, ditemukan bahwa prevalensi penduduk Indonesia di atas usia 15 tahun yang pernah mengonsumsi obat tradisional sebanyak 59,12%, tersebar di berbagai daerah di Indonesia (Adiyasa & Meiyanti, 2021; Syarippudin, 2013). Masyarakat memilih obat tradisional didasarkan pada ketidakmampuan obat kimia dalam mengatasi penyakit tertentu serta efek samping yang ditimbulkan pada pemakaiannya sehingga penggunaan obat tradisional menjadi semakin populer (Diniarti & Iljanto, 2017; Siboro, 2020). Di era modern, tanaman masih dipakai sebagai sumber terapi yang sangat menjanjikan untuk mengatasi komplikasi penyakit seperti nyeri, stres oksidatif, kanker, diare, depresi, demam, trombosis, dan penyakit menular (Jahan & Onay, 2020).

Beberapa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, lignin, kumarin, terpenoid, dan stilben dalam tanaman obat seperti dilaporkan berkhasiat dalam mengatasi infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen. Hal ini diduga karena kemampuannya sama dengan obat dalam menangkap protein virus dan aktivitas enzimatis, mencegah penetrasi virus, dan replikasi virus dalam sel inang (Jahan & Onay, 2020). Beberapa publikasi juga telah melaporkan bahwa beberapa senyawa bioaktif dari berasal dari tumbuhan seperti jahe, cengkeh, dan habatasaudah dapat menghambat perkembangan strain baru dari corona virus SARS-CoV-2 (Jahan & Onay, 2020; Mulyani, 2021).

Penggunaan bahan alami untuk meningkatkan imun tubuh harus aman, efektif, dan efisien. Salah satu produk yang sudah dimanfaatkan masyarakat untuk meningkatkan kebugaran dan derajat kesehatan adalah Jamu Gentong Emas. Ramuan ini terdiri dari beberapa bahan alam diantaranya *Piper retrofractum fruktus* (cabe jawa), *Illicium verum* (adas manis), *Cinnamomi burmanii cortex* (kulit kayu manis), *Syzygium aromatic flos* (cengkeh), *Nigella sativa* (jintan hitam), *Amomum compactum fruktus* (kapulaga), dan *Arenga pinnata* (gula aren). Beberapa testimoni yang dilaporkan oleh masyarakat yang mengonsumsi jamu “X” memberikan rasa hangat bagi tubuh setelah meminumnya. Jamu “X” secara empiris dapat mengurangi gejala hipertensi, menurunkan kolesterol darah, menurunkan asam urat, rematik, asma, maag kronis, batuk yang sudah menahun, dan meningkatkan gairah seksual (Andareto, 2015).

Produk jamu “X” sudah dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat, terutama di masa dan pasca pandemi. Meskipun penggunaan jamu “X” sudah dipercaya sebagai salah satu metode pengobatan oleh masyarakat Indonesia, tetapi belum pernah dilakukan penelitian untuk melihat khasiat dan keamanannya (Kristiana et al., 2020; Zahrotunnisa et al., 2021).

Hati sering menjadi sasaran toksikan karena sebagian besar zat aktif jamu dapat memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, lalu diserap tubuh, dan dibawa oleh vena porta ke hati. Meskipun hati memiliki aktivitas enzim melalui metabolisme yang merubah toksikan menjadi kurang toksik, namun apabila kadarnya terlalu tinggi, maka dapat menyebabkan kerusakan maupun kematian sel-sel hati (Huda et al., 2017; Sri, 2017).

Parameter yang digunakan dalam menilai fungsi hati meliputi uji kimia darah, menguji aktivitas *alanine aminotransferase*, *aspartate aminotransferase* plasma, dan melihat gambaran histologis hati setelah pemberian jamu "X". Percobaan ini dilakukan dengan pemberian variasi dosis yang bertujuan untuk mengetahui hubungan antara besaran variasi dosis yang diberikan dan pengaruhnya terhadap fungsi hati (Aji, 2022; Aprilia, 2020).

Penelitian ini bertujuan mempelajari keamanan jamu "X" pada organ hati dengan menganalisis aktivitas enzim Alanine Aminotransferase (ALT) dan Aspartate Aminotransferase (AST) dalam plasma serta gambaran histologis hati. Secara khusus, penelitian ini mengkaji pengaruh jamu "X" terhadap kadar ALT dan AST plasma serta perubahan histologis hati pada hewan uji. Manfaat akademis penelitian ini adalah sebagai referensi untuk studi lanjutan terkait obat herbal, khususnya jamu, sedangkan manfaat klinisnya adalah memberikan informasi akurat kepada masyarakat tentang dampak konsumsi jamu "X" terhadap kesehatan hati berdasarkan parameter enzim hati dan pemeriksaan histologis (Syukri, 2022).

Penelitian ini memperkenalkan temuan baru dengan menunjukkan bahwa Jamu "X" pada dosis ≥ 50 mg/KgBB secara signifikan meningkatkan kadar ALT dan menyebabkan kerusakan hati sedang (6–50%) pada mencit galur *DdY*, sementara dosis ≥ 5000 mg/KgBB menyebabkan kerusakan berat ($>50\%$), berbeda dengan studi sebelumnya yang berfokus pada sifat hepatoprotektif atau antioksidan dari komponen individualnya (misalnya, *Arenga pinnata* dan *Nigella sativa*) (Tarigan et al., 2020; Suoth et al., 2019). Berbeda dengan penelitian sebelumnya, studi ini mengevaluasi hepatotoksitas berbasis dosis melalui histopatologi dan uji enzim, mengungkap untuk pertama kalinya bahwa manfaat empiris Jamu "X" (misalnya, anti-hipertensi, anti-diabetes) mungkin terganggu oleh risiko hepatotoksik pada dosis tertentu. Selain itu, penelitian ini mengidentifikasi *Arenga pinnata* (bahan utama) sebagai agen hepatotoksik potensial pada konsentrasi tinggi, bertentangan dengan klaim keamanannya sebelumnya (Elly et al., 2019; Alqahtani et al., 2023).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental* dengan rancangan *post test only control group design*. Kelompok kontrol diberikan aquades dan CCl_4 dan kelompok perlakuan diberikan ekstrak jamu "X" dengan dosis bertingkat menggunakan metode alternatif yaitu *fixed doses method* yang merupakan revisi dari metode *Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD)* tahun 1984. Pada metode alternatif ini hanya menggunakan satu jenis hewan uji. Metode alternatif *fixed dose method* digunakan untuk bahan uji dengan derajat toksisitas sedang dan dosis yang dipilih adalah dosis yang tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat atau iritatif / korotif (BPPOM 2022). Penelitian ini dilakukan di laboratorium Herbal terpadu dan animal laboratorium Pascasarjana Biomedis Universitas YARSI. Penelitian ini ditujukan untuk penilaian fungsi hati dan gambaran histopatologi hati pada mencit dengan perlakuan menggunakan ekstrak jamu "X" dengan dosis bertingkat.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Herbal Universitas YARSI pada bulan Juli 2023. Penelitian dilakukan dengan melakukan penilaian fungsi hati dan gambaran histopatologi hati yang diberikan ekstrak jamu "X" terhadap hewan mencit galur *Deutsch denken Yoken* yang dijadikan sebagai bahan penilaian uji keamanan ekstrak jamu "X".

Populasi: Hewan coba yang digunakan adalah mencit galur *Deutsch denken Yoken*

Kriteria:

1. Kriteria inklusi:

Sehat ditandai dengan gerak aktif dan mau makan. Mencit galur *Deutsch denken Yoken* untuk mencit betina belum pernah beranak dan tidak sedang hamil. Usia dewasa 8–12

minggu. Berat badan 25–30 gram (BPOM, 2020). Sebelum percobaan dimulai, hewan diaklimatisasi di ruang percobaan selama 5–7 hari.

Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi.

Berat badan tidak boleh lebih dari 20% dari rata-rata berat badan (BPOM, 2022).

2. Pengelompokkan hewan uji antara lain:

Pada penelitian ini menggunakan mencit jantan, karena mencit jantan aktif dalam beraktivitas, tidak dipengaruhi oleh hormonal sebagaimana mencit betina, dan tidak mempunyai hormon estrogen, sehingga mencit jantan lebih stabil daripada mencit betina. Mencit betina mengalami perubahan kondisi hormonal pada masa tertentu, yang dapat memengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut (Yusuf *et al*, 2022).

3. Kriteria eklusi

Mencit sakit selama masa adaptasi. Mencit mati selama perlakuan berlangsung. Sampel penelitian yang digunakan adalah mencit galur *Deutsch denken Yoken* yang dipilih secara acak dengan berat badan antara 25–30 gram, usia 8–12 minggu. Penentuan besar sampel minimal dengan rumus Federer, yaitu:

$(n-1)(t-1) > 15$, dimana n adalah besar sampel dan t adalah jumlah kelompok. Sehingga didapatkan sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) > 15$$

$$(n-1)(6-1) > 15$$

$$(n-1)5 > 15$$

$$n-1 > 15/5$$

$$n-1 > 3$$

$$n > 3+1$$

$n > 4$ ekor tiap kelompok pada penelitian ini menggunakan 7 kelompok, berdasarkan perhitungan di atas didapatkan 4 ekor mencit tiap kelompok, ditambah 1 ekor untuk cadangan, jadi total ada 5 ekor dalam tiap kelompok, sehingga jumlah sampel secara keseluruhan adalah 35 ekor. Dua kelompok kontrol masing-masing diberikan aquades, CCl_4 , dan lima kelompok perlakuan. Dua kelompok kontrol diberikan aquades, dan CCl_4 dan kelompok perlakuan diberikan ekstrak jamu “X” dengan dosis bertingkat berdasarkan *Method alternative Fixed Dose Methode*. Dosis ekstrak yang diberikan menggunakan metode *fixed doses* yaitu 5 mg/kgBB, 50mg/kgBB, 300mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, dan 5000 mg/kgBB, satu kali pemberian oral dalam dosis tunggal. Dosis awal diberikan mulai dari dosis yang terkecil yaitu 5 mg/kgBB kemudian ditingkatkan secara bertahap sampai dosis tertinggi yaitu 5000 mg/kgBB.

a) K₁: 5 ekor mencit, kelompok kontrol 1 hanya diberikan aquades

b) K₂: 5 ekor mencit, kelompok kontrol 2 diberikan CCl_4 0,5 mg/kgBB

c) K₃: 5 ekor mencit, kelompok perlakuan, diberikan ekstrak jamu “X” dosis 5 mg/kgBB

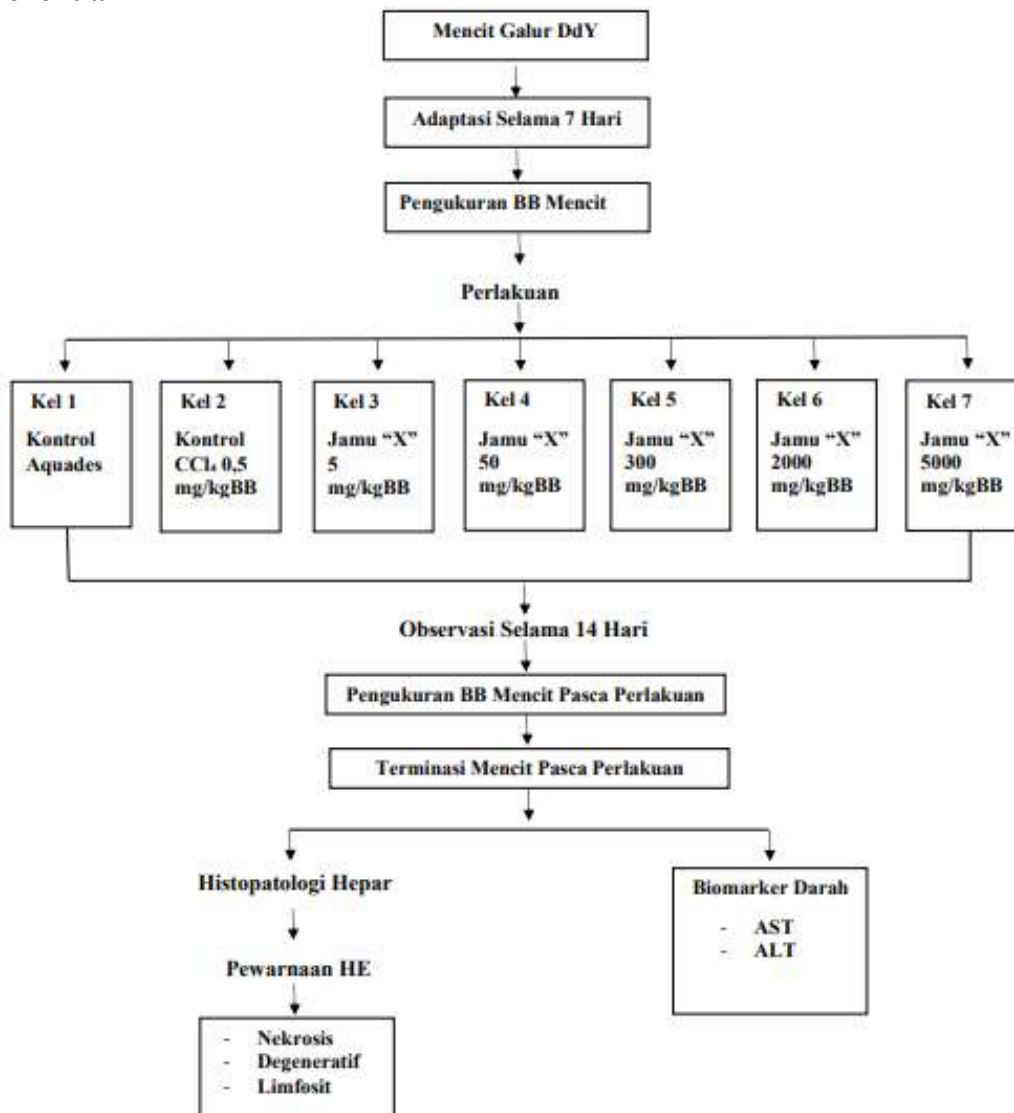
d) K₄: 5 ekor mencit, kelompok perlakuan, diberikan ekstrak jamu “X” dosis 50 mg/kg BB

e) K₅: 5 ekor mencit, kelompok perlakuan, diberikan ekstrak jamu “X” dosis 300 mg/kg BB

f) K₆: 5 ekor mencit, kelompok perlakuan, diberikan ekstrak jamu “X” dosis 2000 mg/kg BB

g) K₇: 5 ekor mencit, kelompok perlakuan, diberikan ekstrak jamu “X” dosis 5000 mg/kg BB

Alur Penelitian



Gambar 1. Alur Penelitian

Pemberian Jamu “X”

Kriteria penggolongan sediaan uji OECD berlaku pada mencit

Tabel 1. Kriteria Penggolongan Sediaan Uji OECD Pada Mencit

Dosis (mg/Kg BB)	KEMATIAN	KATEGORI
5	≥ 2 Dari 5 Ekor Mati	1
5	≥ 1 Dari 5 Ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	2
50	≥ 2 Dari 5 ekor mati	2
50	≥ 1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	3
300	≥ 2 dari 5 ekor mati	4
300	≥ 1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau < 1 mati	
2000	≥ 2 dari 5 ekor mati	5
2000	≥ 1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau tidak ada kematian	
	Tidak ada gejala toksisitas	5/UNCLASI FIELD

Tabel 2. Pemantauan Gejala Tingkah Laku Hewan Coba

Tingkah Laku Hewan Coba	Waktu Pemantauan				
Kejang					
Diare					
Gemetar					
Salivasi	30 menit	1 jam	4 jam	24 jam	14 hari
Tidur					
Koma					
Keaktifan					

Tabel 3. Observasi Hewan Coba Pasca Perlakuan

Pengamatan	Waktu Pemantauan				
Bulu					
Mata	30 menit	1 jam	4 jam	24 jam	14 hari
Pernapasan					

Pemantauan berat badan hewan coba

Tabel 4. Pemantauan Berat Badan Hewan Coba

Kelompok	Mencit	Waktu Pemantauan	
1	Mencit 1	Berat Badan Sebelum Perlakuan	Berat Badan Setelah Perlakuan
	Mencit 2		
	Mencit 3		
2	Mencit 1		
	Mencit 2		
	Mencit 3		
3	Mencit 1		
	Mencit 2		
	Mencit 3		
4	Mencit 1		
	Mencit 2		
	Mencit 3		
5	Mencit 1		
	Mencit 2		
	Mencit 3		
6	Mencit 1		
	Mencit 2		
	Mencit 3		
7	Mencit 1		
	Mencit 2		
	Mencit 3		

Pemeriksaan histopatologi hati

Tabel 5. Pemeriksaan Histopatologi Hati

Kelompok	Mencit	Kondisi Histopatologi
Kontrol Aquades	1	Normal/ Kerusakan Sedang/ Kerusakan Berat
	2	
	3	
Kontrol CCL4	1	

Kelompok	Mencit	Kondisi Histopatologi
	2	
	3	
Perlakuan Jamu "X" 5 mg/kgBB	1	
	2	
	3	
Perlakuan Jamu "X" 50 mg/kgBB	1	
	2	
	3	
Perlakuan Jamu "X" 300 mg/kgBB	1	
	2	
	3	
Perlakuan Jamu "X" 2000 mg/kgBB	1	
	2	
	3	
Perlakuan Jamu "X" 5000 mg/kgBB	1	
	2	
	3	

Prosedur Kerja

Prosedur:

a. Tahap Persiapan

Untuk menjamin bahwa semua prosedur yang dilakukan pada penelitian ini laik etik, maka sebelum dilakukan penelitian proposal diajukan terlebih dahulu pada Komisi Etik Sekolah Pascasarjana Universitas YARSI untuk mendapatkan penilaian dan pengesahan kelaikan etik

b. Adaptasi Hewan Coba

Mencit Galur *Deutsch denken*. Yoken sebanyak 35 ekor mencit didapat dari institusi penyedia yang memiliki kualifikasi standar. Sebelum digunakan sebagai subyek penelitian mencit-mencit diadaptasi selama 7 hari di Laboratorium Animal Reseach, Fakultas Kedokteran, Universitas YARSI. Pemeliharaan didalam kandang mencit dengan suhu, kelembaban, sirkulasi udara, dan kebersihan terjaga baik. Pencahayaan dengan sumber cahaya alami bergantian 12 jam terang dan 12 jam gelap. Mencit diberi air dan pakan standar secara *ad libitum*.

Perlakuan penelitian ekstrak jamu

Alat Penelitian

Alat yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah kandang mencit, tempat minum, timbangan digital, sarung tangan, masker, labu ukur, sonde oral panjang, corong gelas, pengaduk, beaker glass, spuit 1cc dan 3 cc, gunting medis, pinset, pipet, dan chamber pengamatan.

Bahan Penelitian

- Mencit galur *Deutsch denken*. Yoken yang memenuhi syarat inklusi dan eksklusi
- Jamu "X" dengan dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/ kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, dan 5000 mg/kgBB
- Alkohol 70 %
- NaCl 0,9%
- Pakan standar mencit
- Sekam
- Aquades
- CCl₄ 0,5 mg/kgBB
- Ketamin dosis 0,1 mg/kgBB

Pengamatan gejala klinis

- a) Pengamatan gejala klinis setelah pemberian jamu "X", dilakukan selama \pm 30 menit, 4 jam dan seterusnya selama 24 jam pertama, lalu diamati setiap hari selama 14 hari.
- b) Kematian hewan diamati 24 jam setelah pemberian jamu "X", kemudian pengamatan dilanjutkan selama 14 hari.
- c) Pada hari terakhir penelitian, pada hari ke 14 dilakukan pemeriksaan histopatologi hati dan darah hewan coba (mencit *Deutsch denken Yoken*) diambil dan dilakukan pengukuran kadar *aspartate aminotransferase* dan *alanine aminotransferase*.

Perlakuan penelitian Aspartat aminotransferase dan alanine aminotransferase

Alat yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah kandang mencit, tempat minum, timbangan digital, sarung tangan, masker, labu ukur, sonde oral panjang, corong gelas, pengaduk, beaker glass, spuit 1cc dan 3 cc, gunting medis, pinset, pipet, dan chamber pengamatan,

Bahan Penelitian:

- a) Mencit galur *Deutsch denken. Yoken* yang memenuhi syarat inklusi dan eksklusi
- b) Alkohol 70%
- c) Aquades
- d) NaCl 0,9 %
- e) CCl₄ 0,5 mg/kgBB
- f) Pakan standar mencit
- g) Sekam
- h) Jamu "X"
- i) Ketamin 0,1 mg/KgBB
- j) Kain kasa

Pengamatan gejala klinis:

- a) Pengamatan gejala klinis setelah pemberian kelompok kontrol dengan aquades, dan CCl₄ 0,5 mg/ KgBB, dilakukan selama \pm 30 menit, 4 jam dan seterusnya selama 24 jam pertama, lalu diamati setiap hari selama 14 hari.
- b) Hewan diamati kematiannya selama 24 jam setelah pemberian untuk kelompok kontrol aquades, dan CCl₄ 0,5 mg/kgBB, kemudian pengamatan dilanjutkan selama 14 hari.

Pada hari terakhir penelitian, pada hari ke 14 dilakukan pemeriksaan histopatologi hati dan darah hewan coba (mencit *Deutsch denken. Yoken*) diambil dan dilakukan pengukuran kadar aspartat aminotransferase dan alanine aminotransferase. Pengambilan darah hewan coba atau jantung. Pengambilan darah mencit pada penelitian ini lokasinya pada sinus retro-orbitalis mata mencit dengan menggunakan pipit Pasteur atau tabung hematokrit. Aplikasi dapat dilakukan dengan memasukkan pipet dengan sudut kemiringan 45°. Sampel dapat diperoleh dari kedua mata secara bergantian. Metode ini dapat menghasilkan jumlah darah dalam volume besar.

Pemeriksaan ALT dan AST diawali dengan pengambilan darah melalui jantung hewan coba dengan menggunakan spuit 1cc dan dimasukkan kedalam tabung berisi antikoagulan EDTA. Pemeriksaan AST dan ALT dilakukan dengan metode ELISA di Pusat Studi Satwa Primata, Institut Pertanian Bogor pada tanggal 16 Agustus 2023.

Perlakuan Penelitian Pembuatan Preparat Histopatologi Hati Hewan Coba

Alat yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah sarung tangan, masker, pinset, spuit, gelas objek, pisau, mikrotom, dan tissue.

3.6.3.1 Bahan Penelitian

- a) Organ hati hewan coba yang sudah diambil dan dibersihkan dengan larutan NaCl 0,9 %
- b) Formalin buffer 10 %

- c) Alkohol 70%, Alkohol 80%, Alkohol 90%, Alkohol 96% dan Alkohol 100%
- d) Parafin blok
- e) Benzil benzoate
- f) Xylol I, II, dan III
- g) Pewarnaan Hematoxyline dan Eosin

Proses Pembuatan Sediaan Histopatologi

- 1) Proses pembuatan sediaan histopatologi jaringan hepar mencit setelah dilakukan terminasi pada hari ke 14 dilakukan fiksasi, dehidrasi, cleaning, dan embedding di lab hewan FK YARSI. Proses pembuatan sediaan histopatologi dengan mengambil jaringan hati yang sudah dibersihkan dengan larutan NaCl 0,9 %
- 2) Dilakukan fiksasi hati dengan larutan BOUIN selama 48 jam.
- 3) Dehidrasi dilakukan dengan merendam jaringan hati dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat, dimulai dari Alkohol konsentrasi 70%, Alkohol 80%, Alkohol 90%, alkohol 96%, dan alkohol 100%. Selama 1 jam, dilakukan penjernihan dengan *benzyl benzoate* selama 24 jam.
- 4) Infiltrasi, setelah melalui tahapan dehidrasi, jaringan infiltrasi dengan cara direndam dalam paraffin cair. Proses perendaman dengan paraffin cair dibagi dua tahap, direndam dalam paraffin 1, selama 1 jam, dan kemudian direndam dalam paraffin ke 2 selama 1 jam dalam incubator dalam suhu 60°C.
- 5) Penanaman, hati yang sudah diinfiltrasi, dimasukkan ke dalam kotak kotak berisi cairan paraffin cair dan dibiarkan sampai membeku dalam suhu kamar.
- 6) Penyayatan, parafin yang berisi jaringan hati dipasang di mikrotom dan diatur pisau mikrotom agar mendapat sayatan pita tipis, dengan ketebalan 4 nanomicrometer.
- 7) Penempatan pada gelas objek hasil sayatan dan diolesi albumin Meyers serta ditetesi aquades, selanjutnya gelas objek akan diletakkan pada pemanas atau hot plate dengan 40°C selama 1 jam atau didiamkan dalam suhu ruang minimal selama 2 sampai 4 jam.
- 8) Proses selanjutnya adalah proses deparafinisasi yaitu melarutkan parafin dengan cara merendam gelas objek pada xylol selama 10 menit.
- 9) Hidrasi. Gelas objek yang sudah dibersihkan dari sisa sisa parafin dimasukkan kedalam larutan Xylol I, Xylol II, dan Xylol III masing masing selama 10 menit, kemudian gelas objek dimasukkan ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat, mulai dari alkohol kadar 100%, alkohol 96%, alkohol 90%, alkohol 80%, dan alkohol 70%, masing masing selama 5 menit, kemudian gelas objek dicuci dengan air mengalir selama 5 menit.
- 10) Pewarnaan. Gelas objek yang sudah dihidrasi, direndam dalam larutan Hemaktosilin selama 5-10 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 5 menit, selanjutnya direndam dalam larutan Eosin selama 1 menit.
- 11) Dehidrasi. Gelas objek yang sudah diwarnai, direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat, yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, dan alkohol 100%, masing masing selama 5 menit. Kemudian dikeringkan dengan diangin anginkan/ditiriskan.
- 12) Penjernihan. Dilakukan dengan dicelupkan ke dalam larutan xylol III, II, dan I, masing masing selama 10 menit.
- 13) Sebelum xylol mengering, ditetaskan 1 tetes entelan ke dalam preparat dan ditutup perlahan lahan dengan kaca penutup, dan dijaga agar tidak ada gelembung udara. Tahap terakhir preparat diberi label dan keterangan, kemudian diamati di bawah mikroskop.
- 14) Pengamatan dilakukan untuk membandingkan kelompok kontrol normal, kelompok kontrol perlakuan, dan kelompok perlakuan dengan jamu "X". Diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya.

Perubahan sel-sel hati (degenerasi dan nekrosis) diamati di mikroskop pada perbesaran 400 kali. Perubahan sel-sel hati dilihat dengan cara membagi lobus hati menjadi tiga zona yang terdiri dari zona 1, zona 2, dan zona 3. Zona zona tersebut sama dengan area periportal, midzona, dan centrilobular. Perubahan sel-sel hati yang terlihat dihitung dalam satu lapang pandang dengan jumlah 100 sel. Rata-rata jumlah kerusakan sel dihitung pada lima lapang pandang per slide pada zona 3. Derajat kerusakan dikuantitatifkan berdasarkan, Skoring *Histopathology Manja Roenigk* terhadap gambaran preparat hati mencit, dengan menilai degenerasi dan nekrosis dari sel hati. Didapatkan:

- 15) Skor 1 apabila tidak terjadi perubahan struktur histologi hepar,
- 16) Skor 2 apabila terdapat perubahan berupa degenerasi parenkimatososa ataupun perdarahan 1–5%
- 17) Skor 3 apabila terdapat perubahan berupa degenerasi hidrofik atau perlemakan 6–50%
- 18) Skor 4 diberikan apabila tampak adanya nekrosis pada sel-sel hepar, kerusakan > 50% (Muhartono *et al.*, 2019)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil Pengamatan Gejala Tingkah Laku Hewan Coba

Setelah dilakukan adaptasi selama 7 hari, hewan coba kemudian diberikan perlakuan secara oral selama 14 hari sesuai dengan kelompoknya dan dilakukan pengamatan dengan melihat tingkah laku, bulu, mata dan pernapasan juga berat badan.

Pada Tabel 4.1. menunjukkan bahwa terdapat perubahan tingkah laku pada mencit setelah pemberian jamu “X” yang menunjukkan adanya gejala toksisitas, seperti tubuh yang gemetar dan gerakan tidak aktif, yang terjadi pada setiap kelompok perlakuan, yang sudah timbul pada 30 menit pengamatan pada mencit yang diberi jamu “X” 5000 mg/KgBB. Sedangkan pada kelompok kontrol dengan CCl₄, gejala toksisitas seperti gerakan mencit yang tidak aktif dan tubuh yang gemetar muncul hingga hari ke 14 perlakuan, dan pada kelompok kontrol aquadest tidak memberikan gejala toksisitas.

Tabel 6. Pengamatan Gejala Tingkah Laku Hewan Coba Pasca Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Sampel	Gejala Toksisitas	Keterangan
K1	Aquadest	5	Tidak ada	-
K2	CCl ₄	5	++	30 menit: mencit tidur dan tidak aktif 1 jam hingga 14 hari: tubuh mencit gemetar dan tidak aktif Mati 2
K3	5 mg/kgBB	5	-	30 menit: mencit tidur dan tidak aktif Mati -
K4	50 mg/KgBB	5	++	30 menit: mencit tidur dan tidak aktif 1 dan 4 jam: tubuh mencit gemetar dan tidak aktif Mati 2
K5	300 mg/KgBB	5	++	30 menit: mencit tidur dan tidak aktif 1 dan 4 jam: tubuh mencit gemetar dan tidak aktif Mati 2
K6	2000 mg/KgBB	5	++	30 menit: mencit tidur dan tidak aktif Mati 2

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Sampel	Gejala Toksisitas	Keterangan
K7	5000 mg/KgBB	5	++	30 menit: mencit tidur, gemetar dan tidak aktif 1 jam: tubuh mencit gemetar dan tidak aktif 4 jam–14 hari: tubuh mencit gemetar namun masih aktif Mati 2

Hasil Pengamatan Hewan Coba Pasca Perlakuan

Pengamatan dilanjutkan terhadap mata, bulu serta pernapasan pada mencit. Dari hasil pengujian didapatkan gejala toksisitas pada masing-masing kelompok perlakuan hingga 24 jam pengamatan, yang ditandai dengan bulu mencit yang berdiri, mata terpejam dan pernapasan *irregular*. Pada kelompok kontrol CCl₄ menunjukkan gejala toksisitas mulai dari 30 menit pengamatan hingga hari ke 14, sedangkan pada kontrol Aquadest tidak ditemukan gejala toksisitas pada mencit hingga hari ke 14 pengamatan. Hal ini sesuai dengan tabel 4.2. dibawah,

Tabel 7. Observasi Hewan Coba Pasca Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Sampel	Gejala Toksisitas	Keterangan
K1	AquaDest	5	Tidak ada	-
K2	CCl ₄	5	++	30 menit–14 hari: bulu berdiri, mata terpejam dan pernapasan 140-170x/menit Mati 2
K3	5 mg/kgBB	5	-	30 menit: mata terpejam, pernapasan 130x/menit, irregular 24 jam: bulu berdiri dan pernapasan 134x/menit, irregular Mati –
K4	50 mg/KgBB	5	++	30 menit: mata terpejam dan pernapasan 140x/menit, irregular 24 jam: bulu berdiri dan dan pernapasan 136x/menit, irregular Mati 1
K5	300 mg/KgBB	5	++	30 menit: mata terpejam dan pernapasan 140x/menit, irregular 24 jam: bulu berdiri dan dan pernapasan 140x/menit, irregular Mati 2
K6	2000 mg/KgBB	5	++	30 menit: mata terpejam dan pernapasan 142x/menit, irregular 24 jam: bulu berdiri dan dan pernapasan 152x/menit, irregular Mati 2
K7	5000 mg/KgBB	5	++	30 menit: mata terpejam dan 140x/menit, irregular 24 jam: bulu berdiri dan pernapasan 160x/menit irregular Mati 2

Hasil uji toksisitas pada tabel 1. dan 2. dievaluasi berdasarkan kriteria penggolongan sediaan uji dari (Hodge dan Sterner, 1995 dengan modifikasi) berdasarkan nilai LD₅₀ suatu zat

pada jamu “X”. Berdasarkan kriteria tersebut didapatkan bahwa pemberian Jamu “X” secara oral menyebabkan toksisitas akut pada mencit, terjadi pada dosis **50 mg/KgBB**. Dosis ini menimbulkan gejala toksisitas pada 3 hingga 4 mencit pada 1 dan 4 jam perlakuan dan pada 24 jam menimbulkan gejala bulu berdiri dan pernapasan 136x/menit, irregular dengan 1 mencit yang mati.

Hasil Pengamatan Berat Badan Hewan Coba

Pengamatan terhadap berat badan mencit dilakukan, dengan menghitung rata-rata berat badan mencit pada minggu pertama sebelum perlakuan dan pada minggu kedua setelah perlakuan. Dari tabel 4.3. menunjukkan terdapat peningkatan BB mencit di semua kelompok pada minggu setelah perlakuan bila dibandingkan dengan sebelum perlakuan dan terdapat perbedaan BB mencit antar masing-masing kelompok perlakuan. Dilakukan uji statistik untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing kelompok. Didapatkan uji normalitas pada persentase pertumbuhan berat badan (BB) mencit menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* yang menunjukkan data pada masing-masing kelompok berdistribusi normal ($p>0.05$), kemudian dilakukan uji lanjutan non parametrik *Kruskal-Wallis*. Didapatkan kelompok perlakuan K2, K4 dan K6 menunjukkan peningkatan berat badan yang tinggi pada mencit namun tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p>0.05$) bila dibandingkan dengan Kelompok Kontrol K1 (berupa akuades). Pemeriksaan BB setelah perlakuan didapatkan peningkatan BB mencit terbesar pada kelompok K6, namun tidak signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol Aquadest K1, sedangkan pada kelompok K3, BB mencit mengalami kenaikan terendah dengan perbedaan yang tidak signifikan ($p>0.05$) bila dibandingkan dengan kelompok K1 (Tabel 4.3).

Tabel 8. Perbandingan Rata-rata Berat Badan Mencit Sebelum dan Setelah Perlakuan Jamu “X”

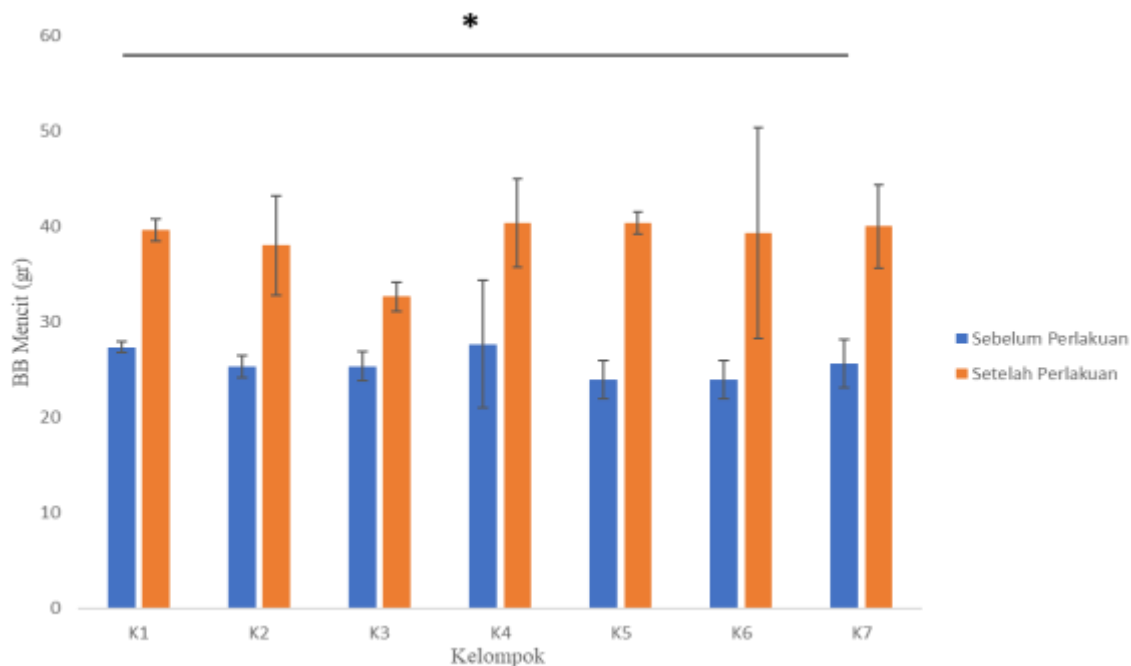
Kelompok	Jumlah Sampel	Sebelum Perlakuan (gram)	Setelah Perlakuan (gram)	Persentase Kenaikan (%)
K1	3	27.33 ± 0.57	39.67 ± 1.16	42.72 ± 2.98 ^a
K2	3	25.33 ± 1.15	38.00 ± 5.19	56.52 ± 2.04 ^a
K3	3	25.33 ± 1.53	32.67 ± 1.53	26.48 ± 10.76 ^a
K4	3	27.67 ± 6.66	40.33 ± 4.62	69.00 ± 31.18 ^a
K5	3	24.00 ± 2.00	40.33 ± 1.16	53.54 ± 31.21 ^a
K6	3	24.00 ± 2.00	39.33 ± 11.01	82.83 ± 16.70 ^a
K7	3	25.67 ± 2.52	40.00 ± 4.36	44.60 ± 15.10 ^a

Keterangan:

Uji *Kruskal-Wallis*.

Angka yang diikuti dengan superskrip yang berbeda (^{a,b,c}) pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0.05$). K1: Kelompok Kontrol Aquadest; K2: Kelompok Kontrol CCl₄; K3: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 5 mg/kgBB; K4: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 50 mg/kgBB; K5: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 300 mg/kgBB; K6: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 2000 mg/kgBB; Kelompok Perlakuan Jamu “X” 5000 mg/kgBB.

Dari data pada tabel diatas diketahui terdapat peningkatan rata-rata pada Berat Badan mencit pada minggu kedua setelah perlakuan bila dibandingkan dengan Berat Badan mencit pada minggu pertama sebelum perlakuan. Hasil uji normalitas pada peningkatan BB mencit tersebut, menunjukkan data tidak terdistribusi normal ($p<0.05$), sehingga dilakukan uji lanjutan *Kruskal wallis*. Didapatkan hasil $p=0.000$. maka, dapat disimpulkan terdapat perbedaan peningkatan yang signifikan ($p<0.05$) pada BB mencit setelah perlakuan bila dibandingkan dengan BB mencit sebelum perlakuan. Hal ini dapat dilihat pada gambar 4.1 dibawah.



Gambar 2. Perbandingan Berat Badan mencit sebelum dan setelah perlakuan.
* $p < 0.05$.

Hasil Pemeriksaan *Aspartate aminotransferase* (AST) dan *Alanine aminotransferase* (ALT)

Pengaruh pemberian Jamu “X” pada mencit dilihat juga berdasarkan kadar enzim hati AST dan ALT. Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar AST dan ALT pada mencit setelah 14 hari perlakuan, tidak terlihat adanya peningkatan rata-rata kadar AST dan ALT pada setiap kelompok perlakuan, kecuali pada kelompok K4, yang mengalami peningkatan kadar ALT.

Analisis statistic dilakukan terhadap kadar enzim hati dengan membandingkan kadar AST dan ALT pada kelompok yang diberi perlakuan jamu “X” dengan kelompok kontrol aquadest. Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-smirnov* menunjukkan kadar AST terdistribusi normal, kemudian dilakukan analisis menggunakan *one way ANOVA*. Dari hasil didapatkan perbedaan kadar AST yang tidak signifikan ($p > 0.05$) antar masing-masing kelompok perlakuan jamu “X” bila dibandingkan dengan kelompok kontrol aquadest K1.

Pada kadar ALT, uji normalitas menunjukkan data yang terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan analisis *one way ANOVA* dengan uji *post hoc* LSD, dan didapatkan perbedaan kadar ALT yang signifikan ($p < 0.05$) pada kelompok perlakuan jamu “X” (K2, K3, K4, K6) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol aquadest K1, dengan peningkatan rata-rata terbesar kadar ALT pada kelompok K4. Hal ini dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Nilai Kadar AST dan ALT pada mencit setelah perlakuan jamu “X”

Kelompok	Jumlah Sampel	Kadar AST* (U/L)	Kadar ALT** (U/L)
K1	3	60.33 ± 7.50 ^a	26.33 ± 14.74 ^a
K2	3	58.33 ± 7.50 ^a	63.33 ± 13.58 ^{bc}
K3	3	54.67 ± 30.92 ^a	56.33 ± 20.03 ^{bc}
K4	3	85.33 ± 24.66 ^a	77.67 ± 23.24 ^c
K5	3	62.33 ± 16.92 ^a	42.67 ± 11.15 ^{ab}
K6	3	67.00 ± 19.69 ^a	57.67 ± 14.57 ^{bc}
K7	3	50.33 ± 15.18 ^a	52.33 ± 12.66 ^{abc}

Keterangan:

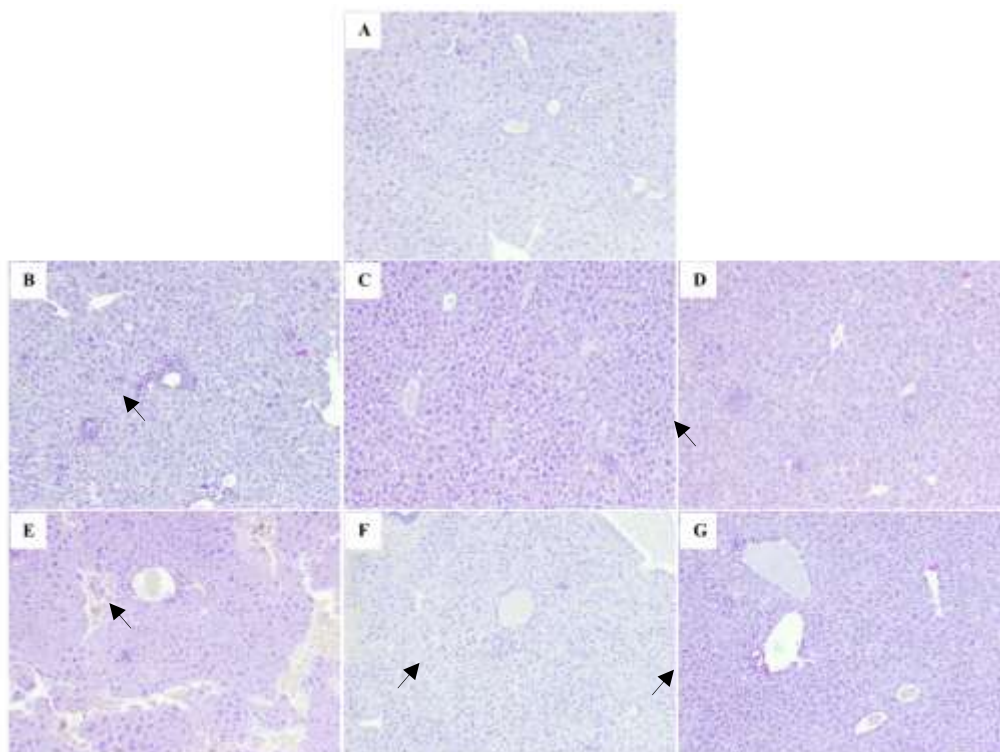
*Uji Anova; **Uji Anova dengan *post-hoc* LSD

Angka yang diikuti dengan superskrip yang berbeda (^{a,b,c}) pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). K1: Kelompok Kontrol Aquadest; K2: Kelompok Kontrol CCl₄; K3: Kelompok Perlakuan Jamu "X" 5 mg/kgBB; K4: Kelompok Perlakuan Jamu "X" 50 mg/kgBB; K5: Kelompok Perlakuan Jamu "X" 300 mg/kgBB; K6: Kelompok Perlakuan Jamu "X" 2000 mg/kgBB; K7: Kelompok Perlakuan Jamu "X" 5000 mg/kgBB.

Dari data diatas dapat diketahui bahwa jamu "X" dapat meningkatkan kadar ALT pada dosis 50 mg/KgBB (K4) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol K1 juga kontrol CCl₄ (K2). Kelompok K4 yaitu mencit dengan pemberian jamu "X" pada dosis 50 mg/KgBB menunjukkan kadar ALT yang berbeda signifikan dengan kontrol negatif (K1) yang berupa pemberian aquadest.

Hasil Pemeriksaan Histopatologi Hati

Hewan yang masih hidup sampai hari ke-14 dianastesi terlebih dahulu kemudian dilakukan pembedahan. Hepar mencit diambil dan diawetkan dalam buffer formalin 10%. Pengamatan histopatologi dilakukan dibawah mikroskop dengan menggunakan preparat hepar dengan ketebalan 5 mikron dan menggunakan pewarnaan haematoxylin. Pada kelompok kontrol aquadest didapatkan struktur sel dan jaringan yang normal, tidak ditemukan adanya gambaran degeneratif maupun nekrosis pada sel, sedangkan pada kelompok kontrol CCl₄ ditemukan gambaran degeneratif lebih dari 50% dan nekrosis sekitar 6%. Pada kelompok yang diberi perlakuan Jamu "X", gambaran degerasi dan nekrosis sel sudah tampak pada konsentrasi 50 mg/KgBB dan gambaran hati ini makin rusak seiring dengan peningkatan konsentrasi jamu "X" yang diberikan. Hal ini dapat dilihat dari gambar 4.2 dibawah.



Gambar 3. Gambaran histopatologi sel hati

A. Kelompok kontrol aquadest (K1); B. Kelompok kontrol CCl₄ (K2); C. Kelompok Perlakuan Jamu "X" 5 mg/kgBB (K3); D. Kelompok Perlakuan Jamu "X" 50 mg/kgBB (K4); E. Kelompok Perlakuan Jamu "X" 300 mg/kgBB (K5); F. Kelompok Perlakuan Jamu "X" 2000 mg/kgBB (K6); G. Kelompok Perlakuan Jamu "X" 5000 mg/kgBB (K7). (HE, 100X).

Selanjutnya, dilakukan pengamatan dibawah mikroskop, diberikan skoring menggunakan Skoring *Histopathology Manja Roenigk* terhadap gambaran preparat hati mencit, dengan menilai degenerasi dan nekrosis dari sel hati, sesuai dengan Tabel 4.5. Didapatkan nilai 0 pada kelompok kontrol K1 karena sel hati tidak mengalami degenerasi ataupun nekrosis. Kerusakan ringan pada sel hati terjadi pada kelompok K3, dengan kerusakan sebesar 1–5%, pada kelompok K4 terjadi kerusakan sedang sebesar 6–50%, sedangkan kerusakan berat terjadi pada kelompok K7 dengan kerusakan sebesar >50%. Kelompok kontrol CCl₄ menunjukkan kerusakan berat sel hepar dengan sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis terbanyak (>50%).

Tabel 10. Skor Rata-rata Sel Hati Setelah Perlakuan Jamu “X”

Kelompok	Degenerasi*	Nekrosis*
K1	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
K2	3.00 ± 0.00 ^c	2.00 ± 0.00 ^a
K3	0.67 ± 0.57 ^{ab}	0.67 ± 0.57 ^a
K4	2.00 ± 1.73 ^{abc}	1.00 ± 1.00 ^a
K5	1.00 ± 1.00 ^{ab}	1.00 ± 0.00 ^a
K6	2.33 ± 1.15 ^{bc}	0.67 ± 1.15 ^a
K7	3.00 ± 0.00 ^c	1.33 ± 0.33 ^a

*Uji Mann-Whitney

Angka yang diikuti dengan superskrip yang berbeda (^{a,b,c}) pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). K1: Kelompok Kontrol Aquadest; K2: Kelompok Kontrol CCL₄; K3: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 5 mg/kgBB; K4: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 50 mg/kgBB; K5: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 300 mg/kgBB; K6: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 2000 mg/kgBB; K7: Kelompok Perlakuan Jamu “X” 5000 mg/kgBB.

Hasil skoring yang diperoleh dilanjutkan dengan analisis menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, didapatkan perbedaan antara ketujuh kelompok dengan nilai signifikan $p > 0,05$, maka dinyatakan bahwa data terdistribusi normal, sehingga dilanjutkan dengan uji non parametrik *Mann-Whitney*, didapatkan adanya perbedaan degenerasi sel hati yang signifikan ($p < 0.05$) pada kelompok K2, K6, K7 bila dibandingkan dengan kelompok kontrol K1 berupa aquadest. Perbedaan nekrosis sel hati yang tinggi juga ditunjukkan pada kelompok K2 dan K7, namun tidak signifikan. Sehingga dapat diketahui bahwa dosis tinggi jamu “X” (5000 mg/KgBB) dapat menyebabkan kerusakan sel hati yang cukup berat namun tidak signifikan bila dibandingkan dengan kontrol.

Pembahasan

Pengamatan Gejala Tingkah Laku Hewan Coba

Jamu “X” dipercaya dapat mengurangi gejala hipertensi, menurunkan kolesterol darah, menurunkan asam urat, rematik, asma, *maag* kronis, batuk yang sudah menahun, dan meningkatkan gairah seksual (*link* UMKM, 2021). Namun sejauh ini belum ada penelitian yang membahas efek jamu “X” yang sudah di publikasikan.

Pengujian jamu “X” dilakukan secara *in vivo* pada mencit galur Deutsch denken Yoken, dengan mengamati tingkah laku mencit selama 14 hari perlakuan, untuk mengetahui gejala toksisitasnya. Jamu “X” memiliki komposisi *Piper retrofactum fruktus* (cabe jawa) 0,3 gram, *Illicium verum* (adas manis) 2 gram, *Cinnamomi burmanii cortex* (kulit kayu manis) 0,3 gram, *Syzihium aromatic flos* (cengkeh) 0,5gram, *Nigella sativa* (jintan hitam) 0,6 gram, *Amomum compactum fructus* (kapulaga) 0,6gram, dan Arenga pinnata (gula aren) 22,3 gram.

Hasil pengamatan gejala klinis setiap hari menunjukkan adanya gejala toksisitas pada mencit dimulai pada dosis 50 mg/KgBB yang termasuk kategori toksik dengan tingkat toksisitas 3, karena berada dalam rentang nilai 50–500 mg. Penilaian ini berdasarkan Kriteria penggolongan sediaan uji (BPOM, 2022). Gejala toksisitas yang ditunjukkan, yaitu tubuh mencit yang gemetar, bulu berdiri, pernapasan yang irregular, namun terdapat pula mencit yang aktif hingga sangat aktif, yang berdasarkan penelitian hal ini dapat terjadi karena jamu “X” banyak mengandung *Arenga pinnata* (gula aren) yang dapat menambah stamina mencit (Sidrotullah *et al.*, 2019).

Toksisitas berhubungan dengan adanya stress oksidatif serta peran anti oksidan (Jomova *et al.*, 2023), dan salah satu kandungan jamu “X” terbanyak adalah *Arenga pinnata* (gula aren) yang memiliki efek antioksidan (Martgrita *et al.*, 2023), begitu juga dengan kandungan lainnya yang memiliki efek antioksidan (Benmalek *et al.*, 2013; Jomova *et al.*, 2023; Kacaniova *et al.*, 2021), hingga berperan sebagai antidiabetik, antidislipidemia, dan antihiperurisemia.

Penelitian yang kami lakukan menunjukkan gejala toksisitas pada mencit dengan dosis 50mg/KgBB, dan semakin tinggi dosis efek toksisitas semakin terlihat. Dengan melihat kandungan zat aktifnya yang terbanyak maka, hal ini bertentangan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tarigan *et al.*, 2020, yang menunjukkan efek *Arenga pinnata* (gula aren) sebagai antioksidan dan antidiabetik pada dosis 20 dan 200mg (Tarigan *et al.*, 2020). Namun penelitian ini sejalan dengan pengujian Swstini *et al.*, 2018 yang tidak menemukan efek antioksidan dan antidiabetik pada dosis rendah (Swastini *et al.*, 2018). *Piper retrofactum fruktus* gram, *Illicium verum*, *Cinnamomi burmanii cortex*, *Syzihium aromatic flos*, *Amomum compactum fructus*, juga memiliki efek antibakterial, antiviral, yang dapat menghindarkan diri dari timbulnya gejala toksisitas berupa kesakitan (Kacaniova *et al.*, 2021; Patra *et al.*, 2020; Yunilawati *et al.*, 2021).

Pengamatan Berat Bada Hewan Coba

Selain tingkah laku mencit, penilaian terhadap berat badan juga dilakukan. Dari penelitian ini didapatkan peningkatan berat badan yang signifikan pada mencit setelah diberi perlakuan jamu “X” pada semua dosis selama 14 hari. Pada dosis 5 mg/KgBB menunjukkan peningkatan berat badan yang signifikan bila dibandingkan dengan berat badan pada kelompok kontrol aquadest, namun tidak pada dosis lainnya.

Menurut Campbell & Lasley (1975), dari sudut kimiawi pertumbuhan merupakan penambahan jumlah protein dan zat-zat mineral yang diakumulasikan dalam tubuh. Ada tiga proses utama di dalam pertumbuhan: 1) Proses dasar pertumbuhan seluler yang meliputi perbanyakan sel atau produksi sel-sel baru (hiperplasia) yang diikuti oleh pembesaran sel dan akresi atau penambahan material struktural nonseluler (hipertropi); 2) Diferensiasi sel-sel induk di dalam embrio menjadi ektoderm, mesoderm dan endoderm; 3) Kontrol pertumbuhan dan diferensiasi yang melibatkan banyak proses (Soeparno, 1992). Henderson & Reaves (1969) menyatakan bahwa proses ketiga dalam pertumbuhan di atas merupakan penimbunan substansi interseluler. Pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh zat-zat makanan yang terkandung dalam makanan (nutrisi). Hal ini terbukti bahwa apabila seekor hewan kekurangan nutrisi atau mengalami defisiensi suatu zat makanan maka laju pertumbuhan hewan tersebut akan terhambat (Dawes, 1952). Pertumbuhan berjalan normal apabila ransum yang diberikan mengandung zat-zat makanan dalam kualitas dan kuantitas yang baik (Rasyaf, 1990)

Dari penelitian kami, peningkatan berat badan dapat terjadi karena pemberian pangan yang banyak mengandung protein juga kandungan jintan hitam yang sebagian besarnya mengandung protein (Limargo & Aprinica, 2023) dan sebagian besarnya mengandung gula aren. Hasil penelitian kami ini berbeda dengan penelitian Ariantari *et al.*, 2015 yang menunjukkan bahwa terdapat penurunan berat badan mencit yang signifikan setelah diberi *Arenga pinnata* (gula aren) pada dosis 200 dan 500 mg/KgBB (Ariantari *et al.*, 2015).

Sedangkan efek jintan hitam yang menjadi salah satu kandungan jamu “X”, dapat meningkatkan berat badan pada dosis 150 mg/KgBB (Yagi *et al.*, 2021). Gula aren yang terkandung dalam jamu “X” juga perlu dipikirkan dapat meningkatkan berat badan karena kadar glukosa terbanyak didalamnya (66%), yang dapat meningkatkan kadar gula darah, dan menimbulkan gejala peningkatan nafsu makan (Sarkar *et al.*, 2023) hingga kemungkinan meningkatkan berat badan mencit. Namun hal ini masih harus di teliti lebih lanjut.

Pemeriksaan *Aspartate aminotransferase* (AST) dan *Alanine aminotransferase* (ALT)

Adanya perlakuan jamu “X” yang diberikan kepada mencit, maka penting sekali untuk melihat adanya tanda-tanda toksisitas baik secara fisik maupun melihat efeknya terhadap kadar enzim hati hingga terhadap jaringan hati mencitnya. Sel hati yang rusak akan mengeluarkan enzim penanda kerusakan antara lain ALT, AST, dan bilirubin total serum. Peningkatan penanda kerusakan hati menandakan adanya kerusakan hati akibat penggunaan obat-obatan (Anindyaguna & Mustofa, 2022). Asam organik sebagai acidifier akan merubah protein menjadi asam amino dan perubahan posisi gugus amino melalui proses transaminasi. Aspartat aminotransferase (AST) dan alanin aminotransferase (ALT) merupakan enzim yang berperan dalam metabolisme asam amino (Tampubolon *et al.*, 2014).

Metode yang dilakukan dalam pemeriksaan ini adalah ELISA dengan prinsip kolorimetrik. Pada penelitian ini, tidak didapatkan peningkatan rata-rata kadar AST dan ALT kecuali pada kelompok dosis 50 mg/KgBB setelah 14 hari diberi perlakuan. Perbedaan rata-rata kadar AST mencit yang diberi perlakuan jamu “X” tidak signifikan ($p > 0.05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol aquadest, sedangkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) kadar rata-rata ALT dapat diamati pada kelompok mencit yang diberi perlakuan jamu “X” apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol aquadest. Penelitian kami menunjukkan pemberian jamu “X” tidak memengaruhi perubahan kadar AST, namun mempengaruhi perubahan kadar ALT secara signifikan. Pemberian jamu “X” dosis 50 mg/KgBB pada mencit sudah mulai menunjukkan peningkatan kadar ALT secara signifikan, dan meningkat seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Hal ini menunjukkan bahwa jamu “X” dosis 50 mg/KgBB mulai memberikan efek toksik terhadap sel hati, karena peningkatan kadar ALT lebih spesifik menunjukkan adanya kerusakan hati akibat obat-obatan (Giannini, 2005). Hasil penelitian ini bertolak belakang dengan kandungannya yang mengandung cengkeh, kapulaga, jintan hitam dan lainnya yang memiliki efek antioksidan yang dapat mencegah kerusakan sel hati (Rashwan *et al.*, 2023).

Pemeriksaan Histopatologi Hati

Toksitas dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel di dalam sel hati, yang menyebabkan berbagai jenis kerusakan seperti perlemakan hati, nekrosis hati, degenerasi sel hati, kolestasis, hingga sirosis. Dari hasil skoring gambaran histopatologi hati ditemukan adanya *spotty necrosis*, ditandai adanya gambaran limfosit yang menunjukkan nekrosis hati (Krishna, 2017), pada hasil pemberian jamu “X” dosis 50 mg/Kg, 300 mg/Kg, 2000 mg/Kg hingga 5000 mg/KgBB.

Secara histopatologi hasil penelitian ini menunjukkan gambaran kerusakan hati sudah dimulai pada kelompok konsentrasi 50 mg/KgBB. Sedangkan pada konsentrasi 5000 mg/KgBB terjadi kerusakan berat yang signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa kerusakan jaringan hati mulai terjadi pada pemberian jamu “X” pada konsentrasi 50 mg/Kg/BB sampai 5000 mg/KgBB. Hal ini sejalan dengan pemeriksaan kadar ALT yang mendapatkan peningkatan signifikan. Dengan melihat kandungan terbesar dalam jamu “X” ini adalah gula aren, maka toksitas gula aren terhadap sel hati pada penelitian ini masih harus di teliti lebih lanjut, karena Elly *et al.* (2019), menyatakan dalam penelitiannya bahwa konsentrasi gula aren 400 mg/KgBB bersifat sebagai *hepatoprotector* (Suoth *et al.*, 2019), begitu juga pada penelitian Alqahtani *et al.* (2023) yang menyatakan sifat gula aren sebagai *hepatoprotector*. Sedangkan

CCl₄ menginduksi kerusakan hati secara akut (Alqahtani *et al.*, 2023), dan hal ini sejalan dengan penelitian kami.

KESIMPULAN

Pemberian Jamu "X" dengan dosis ≥ 50 mg/KgBB secara signifikan meningkatkan kadar ALT (tetapi tidak AST) dan menyebabkan kerusakan hati sedang (6–50%) pada mencit, sedangkan dosis ≥ 5000 mg/KgBB memicu kerusakan berat ($>50\%$ sel hati). Untuk penelitian selanjutnya, disarankan: (1) mengeksplorasi mekanisme hepatotoksik senyawa aktif Jamu "X", (2) uji toksisitas jangka panjang pada model hewan lain dengan pemantauan parameter hati tambahan, (3) studi interaksi dengan obat hepatotoksik lain, (4) modifikasi dosis atau formulasi untuk mengurangi efek samping, (5) penelitian klinis terbatas pada manusia, serta (6) evaluasi kemampuan regenerasi hati pasca-penghentian konsumsi. Langkah ini penting untuk memahami risiko dan strategi mitigasi efek hepatotoksik Jamu "X".

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyasa, M. R., & Meiyanti, M. (2021). Pemanfaatan obat tradisional di Indonesia: distribusi dan faktor demografis yang berpengaruh. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*, 4(3), 130–138. <https://doi.org/10.18051/jbiomedkes.2021.v4.130-138>
- Aji, M. (2022). *Pengaruh pemberian air kelapa muda (cocos nucifera l.) Terhadap kadar hemoglobin (Studi Eksperimen Pada Tikus Bunting (Rattus Norvegicus) Yang Dipapar Pestisida)*. Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- Andareto, O. (2015). *Apotik Herbal di Sekitar Anda: buku yang memuat jenis-jenis daun herbal, serta jenis penyakit apa saja yang dapat disembuhkannya*. Lembar Langit Indonesia.
- Aprilia, H. (2020). *Pengaruh Pemberian Fibroblast Growth Factor dengan Morinda citrifolia L. dan Abelmoschus esculentus (L.) Moench Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Putih*. Upertis.
- Diniarti, I., & Iljanto, S. (2017). Strategi Peningkatan Daya Saing Industri Obat Tradisional (IOT) Tahun 2017. In *Journal Kebijakan Kesehatan Indonesia* (Vol. 6, Nomor 4, hal. 184–192).
- Huda, M. N., Holidah, D., & Fajrin, F. A. (2017). Uji Toksisitas Subkronik Jamu Asam Urat pada Hati Mencit Galur Balb-C (Subchronic Toxicity Study of Jamu Asam Urat in Liver of Balb-C Mice). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 5(1), 66.
- Ilpaj, S. M., & Nurwati, N. (2020). Analisis pengaruh tingkat kematian akibat COVID-19 terhadap kesehatan mental masyarakat di Indonesia. *Focus: Jurnal Pekerjaan Sosial*, 3(1), 16–28.
- Jahan, I., & Onay, A. (2020). Potentials of plant-based substance to inhabit and probable cure for the covid-19. *Turkish Journal of Biology*, 44(Special issue 1), 228–241. <https://doi.org/10.3906/biy-2005-114>
- Kristiana, L., Paramita, A., Andarwati, P., Maryani, H., & Izza, N. (2020). Posisi relatif provinsi di Indonesia berdasarkan penggunaan pengobatan tradisional: Analisis komponen utama biplot. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 23(3), 178–187.
- Mahawikan, S. S. A. R., Abdul, A., & Ariastuti, R. (2022). Persepsi Masyarakat Terhadap Efektivitas Penggunaan Jamu Dalam Meningkatkan Imunitas Selama Pandemi Covid-19. *Jurnal Farmasetis*, 11(1), 77–86.
- Muhartono, Oktarlina, R. Z., & Purohita, N. S. (2019). Pengaruh Pemberian Minuman Ringan Berkarbonasi terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague dawley The Effects of Carbonated Soft Drink Administration on Liver Histopathological Changes in Male Rats (*Rattus. Majority*, 8(maret), 71–77.

- Mulyani, S. (2021). *Minyak Atsiri Tumbuhan Obat*. UGM PRESS.
- Putri, N. W. M. A. (2021). *Uji antioksidan dan hedonik jamu peningkat daya tahan tubuh dalam bentuk serbuk instan dengan metode dpph*. Universitas Mahasaraswati Denpasar.
- Sandy, P. M., & Susilawati, Y. (2021). Review artikel: manfaat empiris dan aktivitas farmakologi jahe merah (*zingiber officinale roscoe*), kunyit (*curcuma domestica val.*) Dan kencur (*Kaempferia galanga L.*). *Farmaka*, 19(2), 36–47.
- Siboro, P. A. (2020). *Arang Aktif: Penyembuh Ajaib Berbagai Penyakit*. The Siboro Institute.
- Sri, W. (2017). *Biokimia enzim dan karbohidrat*. Unimal Press.
- Sumayyah, S., & Salsabila, N. (2017). Obat Tradisional: Antara Khasiat dan Efek Sampingnya. *Farmasetika.com (Online)*, 2(5), 1. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v2i5.16780>
- Syarippudin, M. (2013). *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013 Provinsi Bengkulu: Buku 2 (Riskesdas dalam Angka)*. Lembaga Penerbitan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Syukri, Y. (2022). *Pengobatan Islam serta Teknologi Terkini yang digunakan untuk Pengembangan Tanaman Obat yang Disebutkan dalam Al-Quran dan Hadis Rasulullah SAW*. Penerbit Universitas Islam Indonesia.
- Zahrotunnisa, Z., Kusnadi, K., & Susiyarti, S. (2021). Gambaran dan tingkat pengetahuan penggunaan obat tradisional sebagai alternatif pengobatan pada masyarakat desa mangli kecamatan randudongkal. Politeknik Harapan Bersama Tegal.