

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL
HEPATOPROTEKTOR (HEPARMIN®) TERHADAP
HEMOGLOBIN, ERITROSIT, DAN LEUKOSIT DARAH
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF
HEPATOPROTECTOR HERBAL PRODUCT
(HEPARMIN®) ON HEMOGLOBIN, ERYTHROCYTES
AND LEUKOCYTES BLOOD OF WHITE RATS
(*Rattus norvegicus*)**

**FITRIANI
N011191106**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL
HEPATOPROTEKTOR (HEPARMIN®) TERHADAP
HEMOGLOBIN, ERITROSIT, DAN LEUKOSIT DARAH
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF
HEPATOPROTECTOR HERBAL PRODUCT
(HEPARMIN®) ON HEMOGLOBIN, ERYTHROCYTES,
AND LEUKOCYTES BLOOD OF WHITE RATS
(*Rattus norvegicus*)**

**FITRIANI
N011191106**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL
HEPATOPROTEKTOR (HEPARMIN®) TERHADAP HEMOGLOBIN,
ERITROSIT, DAN LEUKOSIT DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*)**

**SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF HEPATOPROTECTOR HERBAL
PRODUCT (HEPARMIN®) ON HEMOGLOBIN, ERYTHROCYTES AND
LEUKOCYTES BLOOD OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**FITRIANI
N011191106**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL
HEPATOPROTEKTOR (HEPARMIN®) TERHADAP HEMOGLOBIN,
ERITROSIT, DAN LEUKOSIT DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

FITRIANI

N011191106

Disetujui oleh

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19861111 204504 1001



Prof. Dr. Elly Wahyudin, D.E.A., Apt.
NIP. 19560114 198601 2001

Pada tanggal, 13 Maret 2023

SKRIPSI
UJI TOKSISITAS SUBKRONIK PRODUK HERBAL HEPATOPROTEKTOR
(HEPARMIN®) TERHADAP HEMOGLOBIN, ERITROSIT, DAN LEUKOSIT
DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF HEPATOPROTECTOR HERBAL
PRODUCT (HEPARMIN®) ON HEMOGLOBIN, ERYTHROCYTES AND
LEUKOCYTES BLOOD OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

Disusun dan diajukan oleh :

FITRIANI
N011191106

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 08 Maret 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

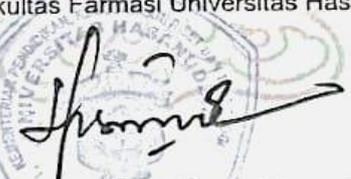
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19861111 201504 1001


Prof. Dr. Elly Wahyudin, D.E.A., Apt.
NIP. 19560114 198601 2001

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasah, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc, Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fitriani
Nim : N011 19 1106
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya dengan judul "Uji Toksisitas Subkronik Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®) terhadap Hemoglobin, Eritrosit, dan Leukosit Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)" adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 13 Maret 2023

Yang menyatakan,


Fitriani

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah subhanahu wa ta'ala atas berkat dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Toksisitas Subkronik Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin[®]) terhadap Hemoglobin, Eritrosit, dan Leukosit Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)" dengan baik.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari terdapat berbagai hambatan dan rintangan, namun berkat bantuan dari berbagai pihak atas segala doa, dukungan moril, materil, serta selalu memberikan semangat kepada penulis, skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Prof. Dr. Elly Wahyudin, D.E.A., Apt. selaku pembimbing pendamping dengan ikhlas dan sabar telah meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu dan arahan dalam penelitian dan membimbing penulis dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. dan Ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran yang membangun dalam penyusunan skripsi ini.

3. Ibu Sumarheni, S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing akademik penulis atas segala ilmu dan arahan selama penulis menempuh menjalani studi.
4. Dekan dan para Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, motivasi, bantuan, dan segala fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.
5. Teman-teman Korps Asisten Biofarmasi dan Farmakologi-Toksikologi, atas segala support, ilmu, dan bantuan yang telah banyak diberikan kepada penulis. Terkhusus laboran tercinta Ibu Syamsiah atas nasihat, arahan, serta support yang diberikan kepada penulis selama melakukan penelitian dan menempuh studi di Fakultas Farmasi.
6. Teman-teman seperjuangan, sehati, sejiwaku, yakni Mufliha Khaerani, Rizky Chaeratunnisa, Venturini Vernanda Kombong Kila, Shabrina Vasthinia Tryanda Putri, Devhy Mega Utami, Annisa Salsabila, Andi Siti Fahriza Mahardhika, Ummu Athiyyah, Bethania Octaresya Mustamu, Mutiara Alvionita Tumanan, Mutiara Fatimah Ar-Rozan, Kania Meliani, Destia Risnovianti, Julianti Citra Rahayu, Wa Ode Andini Putri Sukma Laudia yang selalu memberikan dukungan dan semangat, serta tempat meluangkan berbagi keluh-kesah, suka maupun duka selama proses perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Teman-teman pejuang penelitian "Royal", Zalwa Nurul Safira, Venturini Vernanda Kombong Kila, Nurfadilla Wafiah, Muhammad Fadel

Rahmansyah, dan Hikmat Al-Hakim yang telah memberikan dukungan dan membantu penulis selama proses penelitian serta dalam penyusunan skripsi ini.

8. Teman-teman angkatan 2019 (DEX19EN), Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, atas dukungan, ilmu, serta kebersamaan selama penulis menempuh studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Ucapan terima kasih tak hentinya penulis kepada Ayahanda luar biasa, Bapak Nurdin dan wanita tangguh, Ibunda Uma untuk semua doa, dukungan, energi positif, dan hangatnya kasih sayang kepada penulis. Kepada semua saudara-saudaraku yang juga menjadi pendukung setia penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan adanya saran maupun tanggapan dari berbagai pihak sehingga dapat menjadikan skripsi ini ke arah yang lebih baik.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat demi pengembangan ilmu pengetahuan dan dipergunakan sebaik-baiknya.

Makassar, 13 Maret 2023

ABSTRAK

FITRIANI. *Uji Toksisitas Subkronik Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin[®]) Terhadap Hemoglobin, Eritrosit, Dan Leukosit Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)* (dibimbing oleh Muhammad Nur Amir dan Elly Wahyudin).

Heparmin[®] merupakan salah satu produk jamu yang diindikasikan untuk menjaga fungsi hati atau hepatoprotektor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan mengetahui dosis suspensi isi kapsul Heparmin[®] yang menyebabkan toksisitas subkronik terhadap hemoglobin, eritrosit dan leukosit darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sebanyak 40 ekor hewan uji tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok 1 kontrol sehat (natrium CMC 0,5%), kelompok 2 dosis rendah produk herbal hepatoprotektor (Heparmin[®]) (128,25 mg/kgBB), kelompok 3 dosis tengah produk herbal hepatoprotektor (Heparmin[®]) (359 mg/kgBB), dan kelompok 4 dosis tinggi produk herbal hepatoprotektor (Heparmin[®]) (1000 mg/kgBB). Analisis data menggunakan aplikasi statistik SPSS 26 dengan uji *one way Anova*. Hasil yang diperoleh menunjukkan produk herbal hepatoprotektor (Heparmin[®]) tidak menyebabkan perubahan nilai dari hemoglobin, eritrosit, dan leukosit serta tidak menimbulkan efek toksik tertunda (subkronik oral 90 hari).

Kata kunci: Heparmin[®], Toksisitas Subkronis, Hemoglobin, Eritrosit, Leukosit.

ABSTRACT

FITRIANI. Subchronic Toxicity Test of Hepatoprotector Herbal Product (Heparmin®) on Hemoglobin, Erythrocytes and Leukocytes Blood of White Rats (*Rattus norvegicus*) (supervised by Muhammad Nur Amir and Elly Wahyudin).

Heparmin® is one of the herbal products indicated to maintain liver function or as a hepatoprotector. This study aims to determine the effect and determine the dose of Heparmin® capsule suspension, which causes subchronic toxicity on the hemoglobin, erythrocyte, and blood leukocyte of white rats (*Rattus norvegicus*). 40 test rats were divided into four treatment groups, namely group 1, healthy control (0.5% CMC sodium), group 2, low dose of the hepatoprotector herbal product (Heparmin®) (128.25 mg/kg BW), group 3, doses middle of the herbal hepatoprotector product (Heparmin®) (359 mg/kgBB), and group 4 high dose of herbal hepatoprotector product (Heparmin®) (1000 mg/kgBB). Data analysis used the SPSS® 26 statistical application with the one way Anova test. The results obtained showed that the hepatoprotector herbal product (Heparmin®) did not cause changes in the values of the hemoglobin, erythrocyte, and leukocyte blood and did not cause delayed toxic effects (90 days oral subchronic).

Keywords: Heparmin®, Subchronic Toxicity, Hemoglobin, Erythrocyte, Leukocyte.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1 Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®)	6
II.2 Uji Toksisitas	7
II. 2. 1. Uji Toksisitas Subkronik Oral	8
II.3 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	9
II.4 Darah	10
II.4.1 Plasma Darah	12
II.4.2 Sel Darah	13
II.4.2.1 Eritrosit	13
II.4.2.2 Leukosit	15

II.4.2.3 Trombosit	17
II.5 Analisis Hematologi	18
II.5.1 Sysmex-XS 800i <i>Hematology Analyzer</i>	18
II.5.2 Spesifikasi Alat	19
BAB III METODE PENELITIAN	21
III.1 Penyiapan Alat dan Bahan	21
III.2 Metode Kerja	21
III.2.1 Penyiapan Hewan Uji	21
III.2.2 Pembuatan Sediaan Uji	22
III.2.2.1 Pembuatan Larutan Koloidal Natrium CMC 0,5%	22
III.2.2.2 Pembuatan Suspensi Isi Kapsul Heparmin®	22
III.2.3 Perlakuan Hewan Uji	23
III.2.4 Pengambilan Darah	24
III.2.5 Pemeriksaan Darah	24
III.2.6 Pembahasan dan Analisis	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
IV.1 Hasil Pengukuran Jumlah Leukosit	25
IV.2 Hasil Pengukuran Jumlah Eritrosit	27
IV.3 Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin	29
BAB V PENUTUP	32
V.1 Kesimpulan	32
V.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil pengukuran Jumlah sel darah putih (Leukosit)	26
2. Hasil pengukuran Jumlah sel darah merah (Eritrosit)	27
3. Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Sampel kapsul Heparmin®	7
2. <i>Rattus norvegicus</i>	10
3. Komponen Darah	12
4. Eritrosit	14
5. Molekul Hemoglobin	15
6. Lima Jenis Leukosit	17
7. Megakariosit yang sedang membentuk trombosit	17
8. Sysmex-XS 800i Hematology Analyzer	19
9. Histogram nilai rata-rata jumlah Leukosit	26
10. Histogram nilai rata-rata jumlah Eritrosit	27
11. Histogram nilai rata-rata kadar Hemoglobin	29
12. Proses penyiapan hewan uji	52
13. Proses penyiapan Heparmin®	52
14. Proses penimbangan bahan	52
15. Proses pembuatan larutan koloidal natrium CMC 0,5%	52
16. Proses pembuatan suspensi isi kapsul Heparmin®	53
17. Pemberian secara oral pada hewan uji	53
18. Pengambilan sampel darah	53
19. Sampel darah	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema pembuatan suspensi isi kapsul Heparmin®	37
2. Skema kerja umum	38
3. Perhitungan	39
4. Data analisis statistika	41
5. Dokumentasi penelitian	48
6. Surat Persetujuan Kode Etik	50

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Obat tradisional sudah sejak lama dimanfaatkan dan dipercayai secara turun temurun oleh masyarakat untuk kepentingan kesehatan. Obat tradisional merupakan ramuan yang terdiri dari bahan-bahan yang diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, bahan hewani, mineral, sari yang dicampur, dan diracik untuk dikonsumsi (Adiyasa & Meiyanti, 2021). Penggunaan obat tradisional mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan jumlah penduduk, pola hidup, dan berbagai kasus penyakit degeneratif (Triratnawati, 2016). Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, obat tradisional dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka. Salah satu yang membedakan dari ketiga jenis obat tersebut adalah pada tahap pengujiannya (PerBPOM 32/2019). Jamu merupakan salah satu pengobatan kearifan lokal yang berkembang sampai saat ini karena masyarakat masih percaya bahwa jamu dapat menyembuhkan berbagai penyakit tanpa menimbulkan efek samping (Isnawati, 2021). Menurut Balitbangkes (2018) melaporkan hasil riset kesehatan dasar menunjukkan bahwa persentase penduduk Indonesia mengonsumsi jamu sebanyak 48% dan sebesar 98,5% penduduk Indonesia yang mengonsumsi jamu merasakan manfaatnya. Bentuk sediaan jamu yang paling banyak

digunakan oleh masyarakat adalah cairan, diikuti berturut-turut serbuk, rajangan, dan bentuk kapsul/pil/tablet. Peningkatan derajat kesehatan masyarakat perlu memanfaatkan upaya pelayanan kesehatan, termasuk kesehatan tradisional yang merupakan salah satu kegiatan dalam upaya kesehatan (SE Ditjen Yankes 2243/020).

Heparmin[®] adalah merek sebuah produk jamu dalam sediaan kapsul, yang diproduksi oleh PT Royal Medicalink Pharmed. Produk ini mengandung 4 macam ekstrak bahan alam, yaitu rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Rhizoma*), 75 mg; daun paliasa (*Kleinhovia hospita Folium*), 100 mg; jintan hitam (*Nigella sativa Semen*), 100 mg; dan ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*), 100 mg dan diindikasikan sebagai hepatoprotektor, antiinflamasi, antioksidan, dan antivirus (Ibrahim et al., 2012).

Suatu produk herbal dikatakan aman apabila telah melalui uji toksisitas menggunakan hewan coba yang terdiri dari uji toksisitas akut, toksisitas subkronik, toksisitas kronis dan uji mutagenis serta terbukti aman untuk dikonsumsi (Wahdaningsih et al., 2020). Menurut hasil penelitian Ibrahim et al. (2012), menyatakan bahwa sediaan kapsul Heparmin[®] telah melewati tahap uji toksisitas akut oral pada hewan uji mencit (*Mus musculus*) dan terbukti sediaan kapsul Heparmin[®] tidak menyebabkan efek toksik. Namun hingga saat ini belum ada penelitian terkait uji toksisitas subkronik oral kapsul Heparmin[®]. Uji toksisitas subkronik oral bertujuan untuk mendapatkan informasi terkait efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji

toksisitas akut yang kemungkinan muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tertentu. Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral yaitu sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan dan diamati setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis selama 90 hari untuk mempertimbangkan bahwa terdapat organ yang generasinya cepat, sehingga perlu pengambilan uji yang 90 hari untuk mempertahankan konsentrasi sediaan uji dalam tubuh dan dapat diamati efek toksik yang terjadi serta diperuntukkan untuk sediaan dengan penggunaan 1-4 minggu (PerBPOM 10/2022).

Berdasarkan Peraturan Badan POM (PerBPOM 10/2022), bahwa pada uji toksisitas subkronik oral dilakukan pengamatan dan pemeriksaan beberapa parameter, salah satu diantaranya adalah pemeriksaan profil darah. Darah berfungsi sebagai penyebar berbagai zat yang masuk ke dalam tubuh maupun yang dihasilkan tubuh dari proses metabolisme dan merupakan komponen penting dalam penilaian kondisi fisiologis. Kondisi fisiologis tubuh yang baik ditandai dengan profil darah yang baik dan komponen darah yang berada dalam angka normal (Christianty, 2017). Pemeriksaan profil darah memberikan informasi penting pada uji praklinis dan klinis (Rosidah et al., 2020). Profil darah bertujuan untuk menilai kondisi kesehatan sebagai acuan nilai awal atau kontrol. Selain itu dari profil darah dapat diketahui adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan

struktur dan fungsi organ yang disebabkan oleh pengaruh agen atau obat dengan melihat adanya perubahan dari profil tersebut. Profil hematologi diantaranya profil eritrosit (jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan persentase hematokrit), profil leukosit (jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, jumlah limfosit, dan gabungan jumlah monosit, eosinofil dan basofil), serta profil trombosit (Fitria & Sarto, 2014).

Berdasarkan dari uraian tersebut maka perlu dilakukan uji toksisitas subkronik oral dengan parameter pemeriksaan profil darah berupa jumlah eritrosit, hemoglobin dan leukosit darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian Heparmin®.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah penggunaan produk Heparmin® secara berulang selama 90 hari menyebabkan perubahan kadar hemoglobin, eritrosit, dan leukosit pada darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
2. Pada dosis berapa produk Heparmin® menyebabkan efek toksik terhadap kadar hemoglobin, eritrosit, dan leukosit darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pada dosis berapa produk Heparmin[®] menyebabkan perubahan kadar hemoglobin, eritrosit, dan leukosit darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)
2. Untuk mengetahui efek toksik produk Heparmin[®] terhadap kadar hemoglobin, eritrosit, dan leukosit darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan secara berulang selama 90 hari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Produk Herbal Hepatoprotektor (Heparmin®)

Heparmin® adalah merek sebuah produk jamu dalam sediaan kapsul, yang diproduksi oleh PT Royal Medicalink Pharmed. Produk ini mengandung 4 macam ekstrak bahan alam, yaitu rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Rhizoma*), 75 mg; daun paliasa (*Kleinhovia hospita Folium*), 100 mg; jintan hitam (*Nigella sativa Semen*), 100 mg; dan ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*), 100 mg dan diindikasikan sebagai hepatoprotektor, antiinflamasi, antioksidan, dan antivirus (Ibrahim et al., 2012).

Sediaan kapsul Heparmin® memiliki beberapa manfaat karena kombinasi dari bahan alam yang terkandung didalamnya yaitu kukuminoid yang terdapat pada *Curcuma xanthorrhiza Rhizoma* yang memiliki efek biologis sebagai hepatoprotektor, antibakteri dan antiinflamasi, timokuinon yang terdapat pada *Nigella sativa Semen* berfungsi sebagai hepatoprotektor, antioksidan, antimikroba, dan antivirus, protein, asam amino, vitamin di dalam *Ophiocephalus striatus* sebagai sumber energi, proses metabolisme, regenerasi sel-sel tubuh yang rusak dan meningkatkan sistem pertahanan tubuh, serta kandungan flavonoid dan saponin yang terdapat pada *Kleinhovia hospita Folium* sebagai antioksidan hepatoprotektor, dan antimikroba (Ibrahim et al., 2012).



Gambar. 1 Contoh kapsul Heparmin® (Dokumentasi pribadi)

Berdasarkan hasil Uji toksisitas akut oral Heparmin® pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang dilakukan oleh Ibrahim et al. (2012), menyatakan bahwa pada perlakuan selama 24 jam menunjukkan tidak adanya hewan coba yang mati melebihi 50% setelah pemberian dosis secara oral sediaan Heparmin® sampai dengan dosis maksimum. Dari hal tersebut dikatakan bahwa pemberian kombinasi antara *Curcuma xanthorrhiza Rhizoma*, *Kleinhovia hospita Folium*, *Nigella sativa Semen*, dan *Ophiocephalus striatus* yang terkandung dalam sediaan Heparmin® tidak menimbulkan efek toksik terhadap hewan coba.

II.2 Uji Toksisitas

Pada umumnya suatu zat yang diberikan pada manusia sangat diperlukan mengetahui informasi terkait efek kumulatif, dosis yang menimbulkan efek toksik, efek karsinogenik, teratogenik, metagenik, dan lain-lain. Informasi tersebut berasal dari eksperimen yang menggunakan model hewan laboratorium untuk serangkaian uji toksisitas yang mencakup toksisitas akut oral, toksisitas subkronik oral, toksisitas kronis oral. Uji

toksisitas bertujuan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat terhadap sistem biologi (PerBPOM 10/2022).

informasi yang diperoleh dari uji toksisitas memberikan data tentang bahaya produk uji bila terjadi paparan pada manusia, sehingga dosis dapat ditentukan untuk membuktikan secara mutlak keamanan suatu bahan/sediaan bagi manusia. Namun, hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan untuk membuktikan secara mutlak keamanan suatu bahan/sediaan pada manusia, tetapi dapat memberikan indikasi toksisitas dan membantu mengidentifikasi efek toksik pada manusia setelah terpapar. Pada uji toksisitas terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi validasi hasil uji toksisitas secara *in vivo* yaitu pemilihan spesies hewan uji, jumlah hewan, umur hewan, bobot hewan, jenis kelamin, metode, pemilihan dosis uji, efek samping sediaan uji, teknik dan prosedur percobaan, termasuk penanganan hewan selama percobaan (PerBPOM 10/2022).

II.2.1 Uji Toksisitas Subkronik Oral

Berdasarkan dari PerBPOM (10/2022) uji toksisitas subkronik oral adalah pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang terjadi setelah pemberian sediaan uji secara oral dengan berulang kali terhadap hewan uji. Tujuan uji ini yaitu untuk mendapatkan informasi tentang toksisitas suatu zat yang tidak diamati dalam uji toksisitas akut, informasi tentang potensi efek toksik setelah paparan berulang terhadap sediaan uji selama jangka waktu tertentu, dan diketahui dosis yang aman serta mempelajari adanya efek kumulatif dan efek pemulihan zat tertentu.

Uji toksisitas subkronik oral menggunakan dosis berulang setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji per kelompok dosis tunggal. Uji toksisitas subkronik oral memiliki beberapa hari uji yaitu selama 14, 28, atau 90 hari dan hewan uji dipantau setiap hari dan dilakukan karena terdapat organ yang regenerasinya cepat dan dalam rangka mempertahankan konsentrasi bahan uji dalam tubuh tetap/ *Steady state* sehingga efek toksik bisa diamati. Jika terdapat hewan uji yang mati selama periode pemberian sediaan uji dan belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera dinekropsi, dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir perlakuan sediaan uji, semua hewan yang masih hidup dinekropsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi, pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi (PerBPOM 10/2022).

II.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Penggunaan hewan percobaan pada berbagai penelitian kesehatan telah banyak dilakukan untuk kelayakan atau keamanan suatu obat dan penelitian terkait penyakit. Hewan coba ini sengaja dijadikan hewan model yang berkaitan untuk kajian dan pengembangan berbagai disiplin ilmu dalam skala penelitian atau observasi laboratorium dan dapat digunakan untuk mendukung penelitian kedokteran, vaksin, atau biologi. Hewan laboratorium yang sering digunakan adalah mencit (*Mus musculus*), Tikus putih (*Rattus norvegicus*), kelinci (*Oryctolagus cuniculus*), dan hamster (Tolistiawaty et al., 2014).

Menurut Wati et al. (2014), taksonomi dari tikus putih dapat diklasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Subfamili : Murinae

Genus : *Rattus*



Gambar 2. *Rattus norvegicus* (Dokumentasi Pribadi)

Spesies : *Rattus norvegicus*

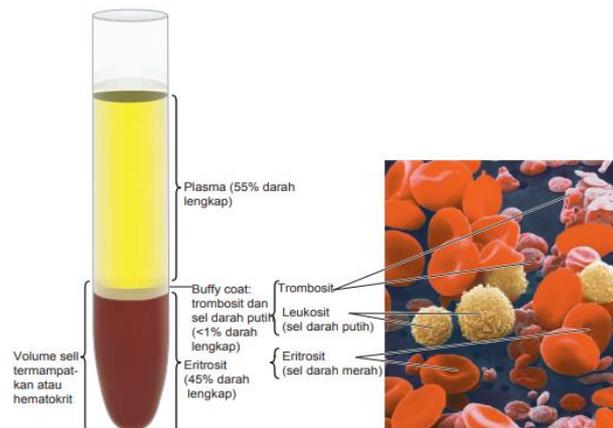
Tikus putih merupakan hewan percobaan yang sering digunakan dalam penelitian karena memiliki beberapa keunggulan yaitu kemampuan reproduksi yang tinggi (sekitar 10-12 keturunan/kelahiran), biaya pemeliharaan yang relatif murah, serta hemat waktu karena pewarisan genetik dibandingkan dengan hewan ternak besar seperti sapi, dan babi (Kartika et al., 2013). Tikus wistar (albino) dikembangkan pertama kali di wistar Institue (Philadelphia, PA) pada tahun 1906 dengan nama katalog WISTARAT® (Fitria & Sarto, 2014).

II.4 Darah

Darah adalah salah satu bagian tubuh yang sangat penting, yang beredar di dalam jantung dan pembuluh darah. Darah memiliki fungsi yang berbeda di dalam tubuh, yaitu mengangkut dan mendistribusikan zat yang berbeda, termasuk oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan oleh sel,

mengangkut produk limbah metabolisme, mengirimkan sinyal yang membawa berbagai hormon ke organ target, dan mengandung berbagai bahan penyusun sistem imun yang bertujuan melindungi tubuh terhadap berbagai penyakit (Mallo et al., 2012). Orang sehat atau dewasa memiliki volume darah sebesar 7% dari berat badan (Aliviameita & Puspitasari, 2019). Suhu darah normal adalah 38°C dan pH yang berkisar antara 7.35-7.45 dan berperan penting sebagai sistem *buffer* dalam mempertahankan status asam-basa darah (Rosita et al., 2019). Warna darah dipengaruhi oleh jumlah oksigen (O₂) dan karbondioksida (CO₂). Darah arteri berwarna merah muda karena banyaknya O₂ yang mengikat hemoglobin. sedangkan, darah vena berwarna merah tua/gelap karena mengandung O₂ yang lebih sedikit (Aliviameita & Puspitasari, 2019).

Volume darah pada manusia bervariasi karena perbedaan pada jenis kelamin, yang menentukan proporsi ukuran tubuh. Laki-laki dewasa berkisar antara 5-6 L, sedangkan pada Wanita dewasa dalam kisaran 4-5 L (Rosita et al., 2019). Darah mengandung sel dan cairan yang disebut plasma darah, yang mengandung berbagai nutrisi dan zat lainnya. Sekitar 55% merupakan komponen sel darah, yang terdiri dari eritrosit, leukosit, dan trombosit. Sedangkan plasma darah merupakan komponen cair yang mengandung berbagai nutrisi yang diperlukan oleh tubuh (Firani, 2018).



Gambar 3. Komponen darah (Sherwood, 2013)

II.4.1 Plasma Darah

Plasma adalah komponen darah yang paling banyak dan merupakan cairan matriks ekstraseluler transparan yang berwarna agak kekuningan dan mengandung 91% air, dan 10% zat terlarut, sebagian besar adalah protein (peate, 2017). Plasma darah berperan dalam menjaga keseimbangan yang terjadi didalam darah yaitu dengan menjaga tekanan darah dan volume darah tetap normal, mengangkut produk samping metabolisme yang tidak diperlukan (Rosita et al., 2019).

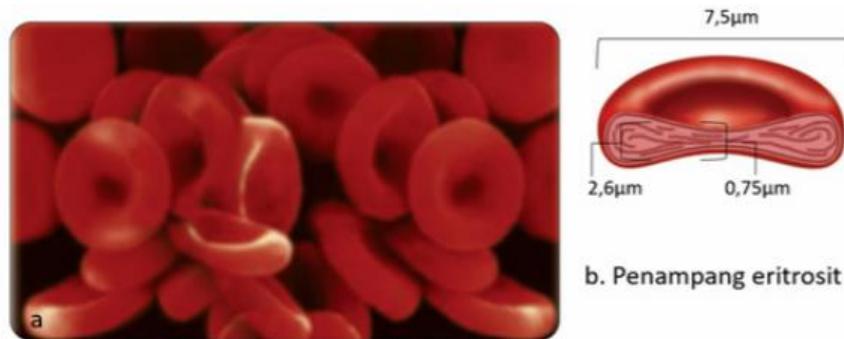
Bahan anorganik dan organik dalam jumlah besar larut di plasma. Zat anorganik membentuk sekitar 1% berat plasma. Sedangkan zat organik yaitu protein plasma membentuk hingga 6%-8% dari berat plasma. Protein plasma memiliki beberapa fungsi yaitu mempertahankan tekanan osmotik antara darah dan cairan interstitial, mempertahankan volume plasma yang berlebihan dari kapiler ke dalam cairan interstitial, dan kemampuan plasma untuk menyangga perubahan pH. Protein plasma terdiri dari albumin, alfa-

dan beta-globulin dan gamma-fibrinogen. Albumin mengangkut banyak bahan, memainkan peran penting dalam menentukan tekanan osmotik koloid, globulin alfa dan beta dapat mengangkut bahan yang tak larut dalam air, mencakup faktor koagulasi dan molekul prekursor yang tidak aktif, dan gamma-fibrinogen yang merupakan antibodi dan prekursor tidak aktif dari jaringan antibodi dan fibrin dalam trombus (Sherwood, 2013).

II.4.2 Sel Darah

II.4.2.1 Eritrosit

Sel darah merah (eritrosit) adalah seluler terbesar dari darah dan bertindak sebagai pengatur utama metabolisme dan mendistribusikan oksigen ke sel dan jaringan di seluruh tubuh untuk perkembangan, fisiologis dan regenerasi (Aliviameita & Puspitasari, 2019). Selain itu, eritrosit juga berperan dalam pengaturan pH darah, karena ion bikarbonat dan hemoglobin yang terkandung dalam eritrosit merupakan penyangga asam-basa (Sloane, 2003). Eritrosit berbentuk cakram bikonkaf, berdiameter sekitar $7,5 \mu\text{m}$, tebal sekitar $2,6 \mu\text{m}$ di bagian tepi dan $0,75 \mu\text{m}$ dibagian tengah. Struktur bikonkaf eritrosit membuat rasio permukaan volume menjadi besar dan memaksimalkan proses pertukaran gas (Rosita et al., 2019). Bentuk bikonkaf ini memberikan luas permukaan yang lebih besar untuk difusi oksigen dari plasma melintasi membran ke dalam eritrosit dibandingkan dengan bentuk sel bulat dengan volume yang sama (Sherwood, 2012)



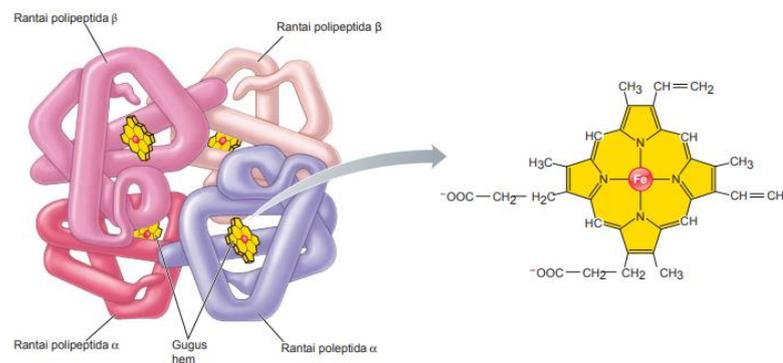
Gambar 4. Eritrosit (Rosita et al, 2019)

Membran plasma eritrosit bersifat kuat tetapi fleksibel, membran ini terdiri 40% lipid, 10% karbohidrat, dan 50% protein (Rosita et al., 2019). Perubahan komposisi lipid membran dapat menyebabkan bentuk eritrosit yang tidak normal. Jumlah eritrosit sering digunakan untuk mendiagnosis jenis anemia berdasarkan penyebabnya (Aliviameita & Puspitasari, 2019). Umur Eritrosit sekitar 74-154 hari, pada usia tersebut sistem enzim eritrosit gagal, membran sel berhenti berfungsi secara adekuat, dan sel-sel sistem retikuloendotelial menghancurkan sel eritrosit. Jumlah normal eritrosit pada orang dewasa adalah sekitar 11.5-15 gram dalam 100 cc darah (Handayani & Haribowo, 2008).

Eritrosit tidak memiliki nukleus dan organel sel lain untuk meningkatkan transportasi oksigen. Sitoplasmanya dipenuhi dengan molekul hemoglobin yang disintesis sebelum eritrosit kehilangan nukleusnya dan hemoglobin yang merupakan komponen utama dari eritrosit. Hemoglobin mengikat oksigen dalam aliran darah dan membawa sekitar 23% dari jumlah karbondioksida yang dibawa oleh darah (Rosita et al., 2019). Eritrosit dapat mengonsentrasikan hemoglobin dalam cairan sel

hingga sekitar 34 gram per 100 mililiter sel dan setiap gram hemoglobin dapat mengikat 1,34 mL oksigen (Irsyadi et al., 2013).

Hemoglobin terdiri dari heme dan globin. Heme tersusun cincin porfirin dengan satu atom besi, sedangkan globin tersusun empat polipeptida ($\alpha_2\beta_2$) (Aliviameita & Puspitasari, 2019). Hemoglobin berwarna merah saat mengikat oksigen dan kebiruan ketika kekurangan oksigen (Sherwood, 2013). Kadar normal dari hemoglobin sekitar 13,0-17,5 g/dl untuk pria dan sekitar 12,0-15,5 g/dl pada Wanita (Aliviameita & Puspitasari, 2019).



Gambar 5. Molekul hemoglobin (Sherwood, 2013)

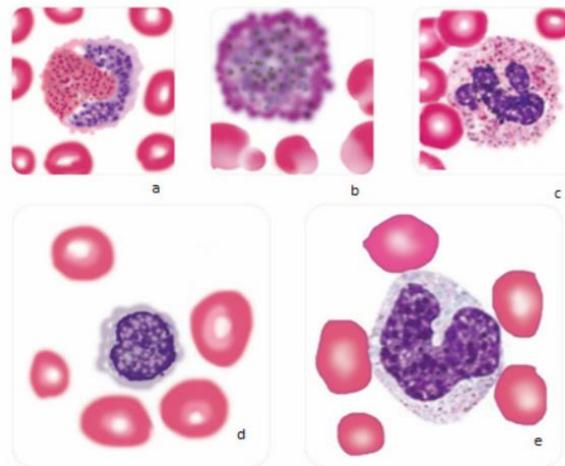
II.4.2.2 Leukosit

Leukosit merupakan sel darah berinti yang mengandung hemoglobin dan berperan sebagai pengangkut oksigen. Selain itu, leukosit juga berperan dalam sistem pertahanan tubuh untuk mencegah masuknya benda asing yang menyebabkan berbagai penyakit pada tubuh serta mampu menghancurkan dan membersihkan sel-sel tubuh yang telah mati (Aliviameita & Puspitasari, 2019). Leukosit dan turunannya bersama dengan berbagai protein plasma membentuk sistem kekebalan, suatu sistem pertahanan internal yang mengenali dan menghancurkan zat asing

dalam tubuh. Dalam menjalankan fungsinya, leukosit berpindah kebagian dimana terjadi kerusakan jaringan melalui dua acara yaitu fagositosis dan aktivasi respon kekebalan tubuh (Sherwood, 2013).

Jumlah leukosit normal adalah sekitar 5.000-10.000 sel/ μ l. Peningkatan jumlah leukosit dapat disebabkan oleh adanya infeksi atau kerusakan jaringan. Sedangkan leukopenia adalah penurunan jumlah leukosit yang disebabkan karena stres berkepanjangan, infeksi virus, penyakit atau kerusakan pada sumsum tulang, kemoterapi, penyakit sistemik parah seperti lupus, eritematosus, penyakit tiroid, dan Sindrom Cushing (Aliviameita & Puspitasari, 2019).

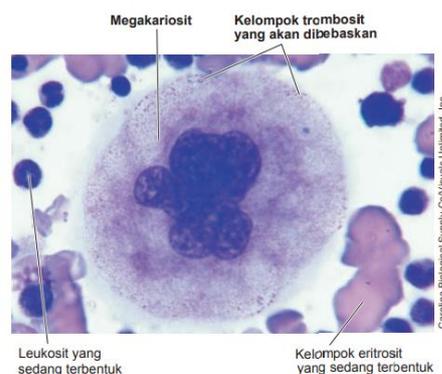
Menurut Purnomo et al. (2015), leukosit terdiri dari dua kelompok yaitu granulosit yang terdiri dari eosinofil, basofil, neutrofil dan kelompok agranulosit yang terdiri atas limfosit dan monosit. Neutrofil dan limfosit merupakan persentase terbesar dari komposisi leukosit, masing-masing 45-74% hingga 16-45%. Sisanya, monosit membentuk 4-10%, eosinofil 0-7%, dan basofil 0-2% dari total leukosit. Namun, dapat terjadi variasi dalam jumlah maupun persentase di antara individu dan kelompok etnis yang berbeda (Rosita et al., 2019)



Gambar 6. Lima jenis Leukosit: (a) eosinofil, (b) basofil, (c) neutrofil, (d) limfosit, dan (e) monosit (Rosita et al., 2019)

II.4.2.3 Trombosit

Trombosit merupakan fragmen sitoplasma megakariosit yang terbentuk di sumsum tulang, menghasilkan sekitar 2000-3000 fragmen sel. Setiap fragmen sel ini memasuki aliran darah sebagai trombosit dengan densitas 150.000-400.000 keping per μL (mm^3) darah. Sel dengan ukuran yang sangat kecil, berbentuk kepingan berdiameter sekitar 2-4 μm , berbentuk cakram bulat, lonjong, bikonveks, tidak berinti. Pengatur utama produksi trombosit adalah hormon trombopoietin (TPO) yang disintesis di hati dan ginjal (Rosita et al., 2019).



Gambar 7. Megakariosit yang sedang membentuk trombosit (Sherwood, 2013)

Trombosit berperan penting dalam sistem homeostatis dalam pembekuan darah dan memperbaiki kerusakan ringan pada pembuluh darah (Aliviameita & Puspitasari, 2019). Selain itu, trombosit dapat berubah bentuk dan kualitasnya saat berikatan dengan pembuluh darah yang rusak. Trombosit menjadi lengket dan saling menggumpal membentuk benang fibrin yang akan membentuk sumbat trombosit yang secara efektif memperbesar daerah yang luka (Handayani & Haribowo, 2008). Trombosit hanya dapat bertahan berkisar sampai 10 hari, setelah itu dikeluarkan dari sirkulasi oleh makrofag jaringan, terutama yang terdapat di limpa dan limpa setelah itu digantikan oleh trombosit baru yang dilepaskan dari sumsum tulang (Sherwood, 2013).

II.5 Analisis Hematologi

II.5.1 Sysmex-XS 800i hematology analyzer

Sysmex-XS 800i hematology analyzer merupakan alat analisis hematologi dari seri XS terbaru untuk analisis hematologi X-class Sysmex dan alat ini menggunakan sitometri aliran fluoresensi yang sangat canggih. Teknologi sitometri aliran fluoresensinya memberikan kualitas yang sangat tinggi dan hanya membutuhkan sekitar 20 μ L volume aspirasi untuk pemeriksaan hematologi sehingga sangat bermanfaat karena tidak membutuhkan sampel darah yang dalam jumlah besar. Alat ini dapat menghitung darah diferensial lengkap untuk semua jenis sel darah putih, penentuan sel darah merah dan trombosit yang sangat baik dengan pemfokusan hidrodinamik serta pengukuran hemoglobin juga sangat baik

karena seri XS mempertahankan saluran hemoglobin khusus. Alat analisis *X-class* dibuat secara khusus untuk penggunaan mudah di laboratorium, perawatan yang mudah dan dapat memberikan hasil yang detail serta sangat akurat (Nagai & Tanaka, 2006).



Gambar 8. Sysmex-XS 800i hematology analyzer

II.5.2 Spesifikasi Alat

Sysmex-XS 800i hematology analyzer memiliki spesifikasi sebagai berikut: (Nagai & Tanaka, 2006).

Teknologi	: sitometri aliran fluoresensi: leukosit diferensial IG metode aliran selubung DC : eritrosit, hematokrit, PLT, dan Metode SLS bebas sianida : Hemoglobin
Parameter diagnostik	: leukosit, eritrosit, Hemoglobin, Hematokrit, MCV, MCH, MCHC, PLT
Parameter penelitian	: IG% dan lain-lainnya
<i>Throughput</i>	: 60 sampel/jam
Volume aspirasi	: sekitar 20 μ L (mode buku/tutup manual, mode kapiler, mode sampler)

Penyimpanan data	: dapat menyimpan data hingga 10.000, 5.000 informasi pasien, dan 10 file kontrol kualitas
Kontrol kualitas	: Xbar, Levey-Jennings, XbarM
Dimensi/berat	:w×h×d [mm]/[kg] 320×503×413 / approx..24