



**UJI HEPATOTOKSISITAS KRONIK
EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot utilissima* Pohl.)
PADA TIKUS WISTAR**

Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi

oleh
Taufiqur Rohman
4411414017

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2018**

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya dengan judul “Uji Hapatotoksisitas Kronik Ekstrak Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) pada Tikus Wistar” merupakan hasil karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya ilmiah orang lain baik sebagian atau secara keseluruhan. Bilamana dikemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

Semarang, 21 September 2018

Yang menyatakan



Taufiqur Rohman

NIM. 4411414017

PENGESAHAN

Skripsi dengan judul

“Uji Hepatotoksisitas Kronik Ekstrak Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.)
pada Tikus Wistar”

disusun oleh

Taufiqur Rohman

4411414017


telah dipertahankan dihadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang pada tanggal 28
September 2018.

Panitian Ujian




Ketua
Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt.
NIP. 196412231988031001

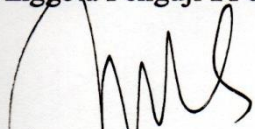
Sekretaris


Dra. Endah Peniati, M.Si.
NIP. 196511161991031001

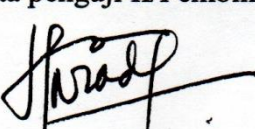
Penguji Utama


Dr. drh. R. Susanti, M.P.
NIP. 196903231997032001

Anggota Penguji I/Pembimbing 1


Dr. dr. Nugrahaningsih W.H., M.Kes.
NIP. 196907091998032001

Anggota penguji II/Pembimbing 2


Dra. Endah Peniati, M.Si.
NIP. 196511161991031001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto:

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal.”

(Q.S. Ali Imran: 190)

Persembahan untuk:

1. Keluarga tercinta Ibu Suripah, Bapak Suyadi, Adik Ahmad Khasanudin atas doa dan restu sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini.
2. Dr. dr. Nugrahaningsih, W.H., M.Kes. atas kesempatan yang diberikan.
3. Program BIDIKMISI Kemenristekdikti atas bantuan beasiswa penuh selama 4 tahun.
4. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.
5. Almamater Universitas Negeri Semarang

ABSTRAK

Rohman, Taufiqur. 2018. Uji Hepatotoksisitas Kronik Ekstrak Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) pada Tikus Wistar. Skripsi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Dr. dr. Nugrahaningsih W.H., M.Kes. dan Dra. Endah Peniati, M.Si. serta Dr. drh. R. Susanti, M.P.

Daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) berpotensi dikembangkan menjadi fitofarmaka hipotensi ortostatik karena kandungan mineral natrium, kalium, dan besi. Namun keamanan konsumsi jangka panjang daun singkong belum diketahui secara ilmiah, oleh karena itu perlu dilakukan uji toksisitas kronik secara *in vivo*. Pengujian difokuskan pada organ hati (hepatotoksisitas) karena hati merupakan organ pertama terpapar xenobiotik. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *time-series design*. Sebanyak 36 ekor tikus wistar dibagi dalam empat kelompok perlakuan, masing-masing diberikan dosis ekstrak daun singkong 0, 80, 400, dan 2000 mg/kg berat badan selama 90 hari. Prosedur penelitian meliputi ekstraksi daun singkong menggunakan metode maserasi dengan air sebagai pelarut, perlakuan dengan pemberian ekstrak daun singkong secara oral selama 90 hari, serta pengukuran parameter hepatotoksisitas yaitu kadar SGOT SGPT dengan metode spektrofotometri dan berat badan setiap 30 hari. Gejala toksik klinik diamati setiap hari selama perlakuan. Di akhir penelitian organ hati diambil untuk diamati morfologi dan diukur berat relatif hati. Analisis data menggunakan teknik *linear regression* dan *one way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun singkong berpengaruh signifikan pada kadar SGOT setelah 60 hari perlakuan. Kadar SGPT, berat badan, dan berat relatif hati menunjukkan pengaruh tidak signifikan. Gejala toksik klinik tikus wistar terjadi pada kelompok dosis 400 dan 2000 mg/kg berupa pendarahan hidung dan mulut. Pendarahan kelompok dosis 400 berlangsung selama 18 hari, sedangkan kelompok dosis 2000 mg/kg terus berlanjut hingga menyebabkan infeksi parah. Kasus mortalitas dialami kelompok dosis 2000 mg/kg pada hari ke-27 dan 41. Pemberian ekstrak daun singkong secara oral selama 90 hari pada tikus wistar tidak memberikan pengaruh pada kadar SGPT, berat badan, dan berat relatif hati. Kadar SGOT dan gejala toksik klinik menunjukkan pengaruh signifikan.

Kata kunci: daun singkong, fitofarmaka, hepatotoksisitas, toksisitas kronik

PRAKATA

Puji syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga skripsi dengan judul “*Uji Hepatotoksisitas Kronik Ekstrak Daun Singkong (Manihot utilissima Pohl.) pada Tikus Wistar*” dapat terselesaikan. Skripsi ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keamanan dan kemungkinan efek samping yang diberikan ekstrak daun singkong jika dikonsumsi secara kronik kepada masyarakat luas.

Penyusunan skripsi ini bisa diselesaikan tidak terlepas dari bantuan banyak pihak, oleh karena itu rasa hormat dan ucapan terimakasih disampaikan sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberi kesempatan untuk dapat studi di Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang yang telah memberi ijin sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Ketua Jurusan Biologi yang memberikan kemudahan administrasi selama proses penyusunan skripsi.
4. Dr. dr. Nugrahaningsih W.H., M.Kes. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi, serta kesempatan untuk bergabung dalam tim penelitian payung pengujian toksisitas kronik ekstrak daun singkong.

5. Dra, Endah Peniati, M.Si. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, arahan dan motivasi selama penulisan skripsi.
6. Dr. drh. R. Susanti, M.P. selaku dosen pembimbing ketiga yang telah memberikan bimbingan, kritik, saran demi kesempurnaan skripsi ini
7. Tim peneliti pengujian toksisitas kronik ekstrak daun singkong: Ikhtiar Bangkit Wulandari, Raharja Kuncara, dan Addina Nur Luthfiani yang bersama-sama telah menyukseskan penelitian ini.
8. Kartika Widyaningrum, S.Pd. selaku teknisi laboratorium fisiologi hewan atas bantuan, pelatihan dan ilmu yang diberikan selama penelitian berlangsung.
9. Keluarga tercinta Ibu Suripah, Bapak Suyadi, dan Adik Ahmad Khasanudin yang telah memberikan dukungan, motivasi dan cinta kasihnya.
10. Teman-teman Prodi Biologi angkatan 2014 yang telah kebersamai dan memberi kenangan indah selama 4 tahun menempuh studi ini.
11. Sahabat dan teman-teman seperjuangan Kos Ruhul Jadid Gang Pete Raya 28B, Sekaran, Gunungpati yang telah memberikan dukungan dan motivasi.
12. drh. Ilyas Fathoni, Fatimah Rofikoh, S.Pd., Mega Salfia, S.Si., Endang Tris Haryanti, S.Si., Adninta Husnu Amalia, S.Si., Rizka Saputri, S.Si., Aan Priyanto, S.Pd., dan Catur Supriyanto, S.Si. yang telah memberikan bantuan moril, dukungan dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.

13. Seluruh saudara, sahabat dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu atas sumbangan baik moral maupun spiritual demi terwujudnya skripsi ini.

Skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk sangat diharapkan kritik saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi pembaca.

Semarang, 21 September 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Sampul	i
Pernyataan	ii
Pengesahan	iii
Motto dan Persembahan	iv
Abstrak	v
Prakata	vi
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.5. Penegasan Istilah	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Kajian Teori	6
2.1.1. Hipotensi Ortostatik	6
2.1.2. Singkong (<i>Manihot utilissima</i> Pohl.)	10

2.1.3. Hati (<i>Hepar</i>)	16
2.1.4. Hepatotoksisitas	21
2.1.5. Uji Toksisitas Kronik	23
2.2. Kerangka Berpikir	26
2.3. Hipotesis	26
BAB 3. METODE PENELITIAN	27
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	27
3.2. Subjek Penelitian	27
3.3. Teknik Sampling	27
3.4. Rancangan Penelitian	28
3.5. Variabel Penelitian	29
3.6. Definisi Operasional Variabel	30
3.7. Alat dan Bahan Penelitian	31
3.8. Prosedur Penelitian	32
3.9. Teknik Analisis Data	35
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1. Hasil Penelitian	36
4.1.1. Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar	36
4.1.2. Berat Badan Tikus Wistar	38
4.1.3. Berat Relatif hati Tikus Wistar	39
4.1.4. Gejala Toksik Klinik Tikus Wistar	40
4.2. Pembahasan	41
4.2.1. Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar	41

4.2.2. Berat Badan Tikus Wistar	44
4.2.3. Berat Relatif Hati Tikus Wistar	45
4.2.4. Gejala Toksik Klinik	46
4.3. Keterbatasan Penelitian	48
BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN	49
5.1. Simpulan	49
5.2. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Kandungan nutrisi setiap 100 gram daun singkong	12
2.2. Kandungan mineral dan elektrolit setiap 100 g daun singkong	13
3.1. Alat yang digunakan dalam penelitian	31
3.2. Bahan yang digunakan dalam penelitian	32
3.3. Kelompok perlakuan dalam penelitian	33
3.4. Gejala toksik klinik pada uji ketoksikan tikus wistar	34
4.1. Kadar SGOT tikus wistar	36
4.2. Kadar SGPT tikus wistar	37
4.3. Pertumbuhan berat badan tikus wistar	38
4.4. Berat relatif dan morfologi hati tikus wistar	39
4.5. Gejala toksik klinik tikus wistar	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Teori hubungan antara hipotensi ortostatik dan kejadian gagal jantung	9
2.2. Singkong (<i>Manihot utilissima</i> Pohl.) varietas marsinah	10
2.3. Proses sianogenesis CNglcs hingga menghasilkan senyawa HCN toksik dalam tanaman singkong	15
2.4. Rumus struktur CNglcs linamarin	15
2.5. Anatomi hati (<i>hepar</i>)	17
2.6. Mekanisme hepatotoksisitas	22
2.7. Kerangka berpikir penelitian uji hepatotoksisitas kronik ekstrak daun singkong pada tikus wistar	26
3.1. Rancangan penelitian uji hepatotoksisitas kronik ekstrak daun singkong pada tikus wistar	29
4.1. Benjolan putih yang diperkirakan sebagai kista lemak pada organ hati tikus wistar	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Contoh perhitungan volume sonde per tikus	57
2. Tabel konversi dosis hewan percobaan dengan manusia	58
3. Data kadar SGOT dan SGPT tikus wistar selama 90 hari perlakuan	59
4. Data pertumbuhan berat badan tikus wistar selama 90 hari perlakuan	61
5. Data berat relatif hati tikus wistar	62
6. Hasil analisis statistik uji hepatotoksisitas ekstrak daun singkong pada tikus wistar	63
7. Dokumentasi penelitian	80
8. Surat izin penelitian Laboratorium Kesehatan Daerah Kota Semarang, Jawa Tengah	82
9. Surat izin di Laboratorium Biologi, FMIPA, UNNES	83

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hipotensi ortostatik atau juga dikenal sebagai hipotensi postural merupakan kelainan kardiovaskuler umum, dengan atau tanpa tanda-tanda dari penyakit neurodegeneratif yang mendasarinya (Ricci *et al.*, 2015). Hipotensi ortostatik terjadi ketika tekanan darah sistolik turun ≥ 20 mmHg atau tekanan darah diastolik meningkat ≥ 10 mmHg dalam waktu tiga menit saat tubuh berubah posisi menjadi berdiri dengan kemiringan setidaknya 60° (Freeman *et al.*, 2011). Dampak jangka panjang hipotensi ortostatik jika tidak segera ditangani dapat berakibat pada gagal jantung. Kajian yang dilakukan oleh Jones *et al.* (2012) telah membuktikan bahwa hipotensi ortostatik dapat meningkatkan faktor resiko *diabetes mellitus*, hipertensi, dan jantung koroner yang merupakan penyebab utama terjadinya gagal jantung. Agar hipotensi ortostatik tidak menyebabkan dampak lebih buruk bagi kesehatan tubuh diperlukan upaya pengobatan yang tepat dan efektif.

Indonesia sebagai negara tropis dengan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi memiliki jutaan spesies tanaman potensial sebagai bahan baku obat, sehingga fitofarmaka menjadi suatu pilihan menarik dan dapat terus dikembangkan untuk mengatasi permasalahan hipotensi ortostatik. Fitofarmaka dapat didefinisikan sebagai obat dari bahan alam terutama dari alam nabati, yang khasiatnya jelas dan terbuat dari bahan baku baik berupa simplisia atau sediaan

galenik yang telah memenuhi persyaratan minimal, sehingga terjamin keseragaman komponen aktif, keamanan, dan kegunaannya (Dewoto, 2007). Salah satu bahan alam yang potensial dikembangkan menjadi fitofarmaka hipotensi ortostatik adalah daun dari tanaman singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) (Nugrahaningsih *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Nugrahaningsih *et al.* (2017) menyatakan bahwa kandungan kimia yang terdapat di dalam daun singkong dapat berperan sebagai agen anti hipotensi. Hal ini dikarenakan daun singkong mengandung natrium (Na), kalium (K), dan besi (Fe) yang mampu meningkatkan tekanan darah tubuh.

Namun demikian, di dalam daun singkong juga terkandung senyawa hidrogen sianida (HCN) yang pada dosis tertentu dapat bersifat toksik pada makhluk hidup (Ferraro *et al.*, 2016). Toksisitas ini disebabkan karena kemampuannya dalam menghambat aktivitas metalloenzim, terutama *cytochrome c oxidase* yang merupakan enzim akhir dari respirasi rantai transpor elektron (Gleadow & Moller, 2014). Glukosida sianogenik yang terkandung dalam daun singkong digolongkan dalam sianogen linamarin. Kasus keracunan sianogen linamarin dari tanaman singkong tercatat pernah terjadi di Venezuela pada tahun 1992 yang menyebabkan keracunan serius terhadap delapan anak (umur 8-11 tahun) (Espinoza, 1992). Selain itu, laporan terbaru dari Tshala-Katumbay *et al.* (2013) menyatakan bahwa ketergantungan kronik terhadap bahan makanan yang mengandung singkong telah menyebabkan wabah konzo pada penduduk Afrika yang bermukim di pinggiran Sahara.

Karena kandungan senyawa toksik ini, maka dalam upaya mengembangkan daun singkong menjadi fitofarmaka hipotensi ortostatik yang berstandar BPOM perlu didukung dengan data praklinik seperti data toksisitas agar diketahui informasi keamanan dan kemungkinan efek samping yang akan ditimbulkan (PerKB POM Nomor 13 Tahun 2014). Oleh karena itu penelitian ini bermaksud melakukan uji toksisitas kronik ekstrak daun singkong pada tikus wistar (*Rattus norvegicus* L.).

Toksisitas yang dipelajari difokuskan pada organ hati (hepatotoksisitas) karena tiga alasan utama yaitu (1) hati merupakan organ pertama yang terpapar xenobiotik yang masuk ke tubuh melalui saluran pencernaan; (2) dalam proses detoksifikasi oleh enzim di hati seringkali dihasilkan metabolit yang justru dapat merusak hati; (3) xenobiotik yang terakumulasi di empedu akan dilepaskan di usus dan diangkut kembali ke hati sehingga meningkatkan konsentrasi xenobiotik di sel hapatosit hati (Hodgson & Levy, 2004; Wallace & Meyer, 2010). Parameter yang digunakan untuk menilai toksisitas kronik ekstrak daun singkong terhadap organ hati adalah gejala toksik klinik tikus wistar selama 90 hari perlakuan, berat badan, berat relatif hati, dan biokimia darah yang berkaitan dengan hati.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka permasalahan yang dikaji dalam penelitian adalah bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun singkong secara kronik selama 90 hari terhadap hepatotoksisitas tikus wistar.

1.3. Tujuan Penelitian

Sesuai dengan rumusan masalah yang telah dikemukakan di atas, maka tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun singkong secara kronik selama 90 hari terhadap hepatotoksisitas tikus wistar.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Aspek Teoritis

- 1) Diketahui dosis aman/toksik ekstrak daun singkong bagi tubuh jika dikonsumsi dalam jangka panjang.
- 2) Memberikan informasi tentang efek hepatotoksisitas kronik konsumsi ekstrak daun singkong dalam jangka panjang.
- 3) Memberikan sumbangan pengetahuan bagi kemajuan dibidang kesehatan yang berhubungan dengan pengembangan daun singkong menjadi fitofarmaka untuk pengobatan hipertensi ortostatik.

1.4.2. Aspek Praktis

- 1) Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi daun singkong sebagai fitofarmaka dalam pengobatan hipertensi ortostatik yang efektif, murah, dan tidak menimbulkan efek samping berbahaya bagi tubuh.
- 2) Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bahan kajian agar dilakukan penelitian lebih lanjut pada tingkat yang lebih tinggi.

1.5. Penegasan Istilah

- 1) Uji hepatotoksisitas kronik adalah uji praklinik untuk mengkarakterisasi efek toksik suatu senyawa pada organ hati dalam jangka waktu 90 hari atau lebih. Penelitian ini menguji efek toksik ekstrak daun singkong pada tikus wistar. Lama pengujian 90 hari dengan indikator hepatotoksisitas yang diamati adalah kadar SGOT dan SGPT, berat badan, berat relatif hati, serta gejala toksik klinik.
- 2) Daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) dalam penelitian ini menggunakan varietas marsinah karena terbukti memiliki kandungan mineral natrium, kalium, dan besi yang tinggi. Ciri morfologi khusus singkong varietas ini adalah warna petiolus yang kemerahan dan garis kemerahan pada batangnya. Daun singkong diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan akuades sebagai pelarutnya. Dosis ekstrak daun singkong yang digunakan adalah 0, 80, 400, dan 2000 mg/kg berat badan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kajian Teori

2.1.1. Hipotensi Ortostatik

Hipotensi ortostatik adalah kelainan kardiovaskuler umum dimana terjadi penurunan tekanan darah sistolik ≥ 20 mmHg atau peningkatan tekanan darah diastolik ≥ 10 mmHg dalam waktu tiga menit saat tubuh berubah posisi menjadi berdiri dengan kemiringan setidaknya 60° (Freeman *et al.*, 2011). Hipotensi ortostatik merupakan bentuk klasik kegagalan vasokonstriktor simpatik (otonom) yang biasanya teramati saat terjadi kegagalan pada mekanisme adaptif kardiovaskuler dalam mengimbangi pengurangan darah karena pengembalian aliran darah ke vena ketika posisi tubuh berdiri (Ricci *et al.*, 2015). Pada saat perubahan posisi tubuh ini, respon tekanan darah normal yang seharusnya terjadi yaitu sedikit penurunan tekanan darah sistolik ≥ 10 mmHg dan sedikit peningkatan tekanan darah diastolik 2,5 mmHg, sedangkan stabilisasi ortostatik dicapai dalam satu menit berdiri (Low & Singer, 2008).

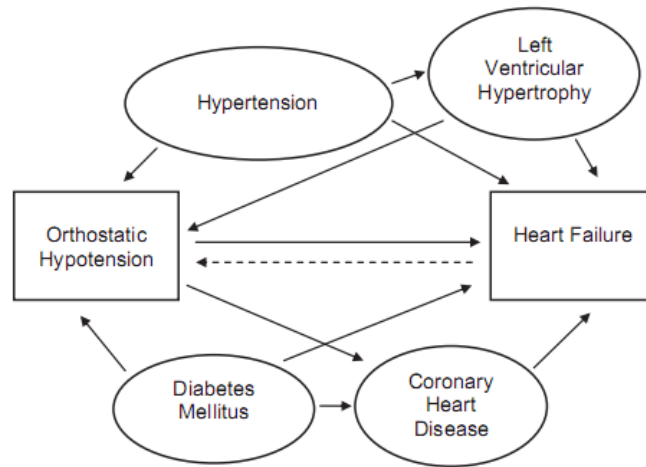
Ketika terjadi perubahan posisi menjadi berdiri, tubuh akan berupaya untuk melakukan penyesuaian agar tetap dalam kondisi yang seimbang. Salah satu bentuk penyesuaian yang dilakukan adalah dengan mengalirkan darah ke otak untuk menjaga pasokan oksigen di organ tersebut. Namun karena adanya pengaruh gaya gravitasi menyebabkan sebagian besar volume darah mengalir ke pembuluh vena di ekstremitas bawah dan sirkulasi splanknikus. Akibatnya pengisian atrium

kanan jantung akan berkurang, dengan sendirinya curah jantung juga berkurang sehingga pada posisi berdiri akan terjadi penurunan sementara tekanan darah sistolik hingga 25 mmHg, sedangkan tekanan darah diastolik tidak berubah atau meningkat ringan hingga 10 mmHg. Penurunan curah jantung akibat pengumpulan darah pada organ tubuh di ekstremitas bawah akan cenderung mengurangi pasokan darah ke otak (Mosnaim *et al.*, 2010).

Pada saat posisi berdiri, tekanan arteri kepala akan mengalami penurunan hingga mencapai 20-30 mmHg, yang mana seharusnya tekanan arteri tersebut 60-75 mmHg. Penurunan tekanan arteri ini akan diikuti kenaikan tekanan parsial CO₂ (pCO₂), penurunan tekanan parsial O₂ (pO₂), dan pH jaringan otak. Secara reflektoris, hal ini akan merangsang baroreseptor yang terdapat di hampir setiap bagian dalam dinding arteri besar di daerah dada dan leher; namun dalam jumlah banyak didapatkan dalam dinding arteri karotis interna, sedikit di atas *bifurcatio carotis*, daerah yang dikenal sebagai sinus karotikus dan dinding arkus aorta. Respon yang ditimbulkan baroreseptor berupa peningkatan tahanan pembuluh darah perifer, peningkatan tekanan jaringan pada otot kaki dan abdomen, peningkatan frekuensi respirasi, kenaikan frekuensi denyut jantung serta sekresi zat-zat vasoaktif. Sekresi zat vasoaktif berupa katekolamin, pengaktifan sistem Renin–Angiotensin–Aldosteron, pelepasan ADH dan neuro-hipofisis. Kegagalan fungsi refleks otonom inilah yang menjadi penyebab timbulnya hipotensi ortostatik, selain oleh faktor penurunan curah jantung akibat berbagai sebab dan kontraksi volume intravaskular baik yang relatif maupun absolut (Low & Singer, 2008).

Hipotensi ortostatik umumnya diderita oleh usia lanjut dan penderita penyakit neurodegeneratif, *diabetes mellitus*, atau hipertensi (Freeman, 2008). Prevalensi kejadian hipotensi ortostatik meningkat seiring dengan pertambahan usia, hal ini terjadi karena penuaan berkaitan erat dengan penurunan kemampuan respon barorefleks, penurunan kontrol jantung, dan atenuasi refleksi vestibulosimpatis (Freeman, 2008). Prevalensi hipotensi ortostatik 5-11% diderita oleh usia paruh baya dan 15-25% oleh usia 65 tahun atau lebih. Prevalensi tertinggi tercatat diderita oleh usia lanjut penderita hipertensi (15-30%), *diabetes mellitus* (15-25%), atau parkinson (~50%). Hipotensi ortostatik dapat bersifat *symptomatic* maupun *asymptomatic*. Pada hipotensi ortostatik *symptomatic* gejala umum yang dialami penderita berupa pusing dan pandangan kabur ketika perubahan posisi tubuh menjadi berdiri, sedangkan hipotensi ortostatik *asymptomatic* penderita tidak mengalami gejala klinis khusus, sehingga tidak terlalu mengganggu aktivitas keseharian. Namun demikian, hipotensi ortostatik sangat berpotensi meningkatkan resiko terjatuh, morbiditas, dan mortalitas (Feldstein & Weder, 2012; Mosnaim *et al.*, 2010).

Hipotensi ortostatik dapat dipicu oleh beberapa faktor diantaranya adalah dehidrasi, *deconditioning syndrome*, gizi buruk, penuaan, dan beberapa kelainan neurodegeneratif. Beberapa jenis produk farmaka seperti *tricyclic antidepressant*, *antihypertensives* dan *diuretics*, golongan vasodilator (*nitroglycerine*, *hydralazine*, *calcium channel blocker*), serta *tizanidine (zanaflex)* yang dikonsumsi secara kronik juga mampu menimbulkan efek samping berupa hipotensi ortostatik (Robertson, 2008).



Gambar 2.1. Teori hubungan antara hipotensi ortostatik dan kejadian gagal jantung (Sumber: Jones *et al.*, 2012).

Hipotensi ortostatik jika tidak segera ditangani secara serius dapat berakibat pada gagal jantung. Berdasarkan kajian Jones *et al.* (2012), hipotensi ortostatik meningkatkan faktor resiko *diabetes mellitus*, jantung koroner, dan hipertensi yang merupakan penyebab utama terjadinya gagal jantung. Hipotensi ortostatik pada penderita *diabetes mellitus* disebabkan oleh terganggunya neuropati otonom subtype *diabetic autonomic neuropathy*. Terganggunya sistem neuropati otonom ini berakibat pada disfungsi saraf otonom yang mengatur fungsi jantung dan respon vaskuler ketika terjadi perubahan posisi tubuh. Kenaikan kadar glukosa darah yang berkepanjangan pada penderita *diabetes mellitus* dapat memicu terjadinya jantung koroner. Hal ini dikarenakan kadar glukosa darah yang tinggi dapat mengalami pemekatan dan terjadinya pengendapan aterosclerosis pada arteri koroner. Sedangkan hipotensi ortostatik pada penderita hipertensi umumnya disebabkan karena gangguan pada respon baroreseptor, kekakuan pada jaringan vaskuler, hipertrofi ventrikel kiri, serta pengaruh obat-obatan

antihipertensi dan diuretik. Teori hubungan antara hipotensi ortostatik dan kejadian gagal jantung disajikan dalam Tabel 2.1.

2.1.2. Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.)



Gambar 2.2. Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) varietas marsinah.

Singkong merupakan tanaman pertanian yang bagian umbinya dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat sebagai sumber karbohidrat. Singkong diklasifikasikan pertama kali oleh Crantz pada tahun 1766 dengan nama ilmiah *Manihot esculenta* Crantz. Pada tahun 1876, Pohl mengklasifikasikan ulang tanaman ini dengan nama ilmiah *Manihot utilissima* Pohl. Secara taksonomi singkong masuk dalam anggota famili Euphorbiaceae, genus *Manihot* (Ceballos & Cruz, 2012).

Karakteristik genus *Manihot* yang membedakannya dengan genus lain yaitu adanya pembuluh *lactiflorus* yang tersusun atas sel-sel sekretori yang disebut *laticifer*. Genus ini memiliki anggota sejumlah 98 spesies, namun hanya singkong yang dibudidayakan dan memiliki nilai ekonomi. Singkong adalah tanaman asli dari daratan Amerika, dan menyebar ke seluruh penjuru dunia

melalui jalur perdagangan oleh saudagar-saudagar yang datang ke daratan Amerika (Cebaloz & Cruz, 2012). Pada penelitian ini digunakan jenis singkong varietas marsinah karena telah terbukti memiliki kandungan antioksidan lebih tinggi dibandingkan varietas singkong lainnya. Varietas marsinah (Gambar 2.2) memiliki karakteristik morfologi berupa petiolus daun berwarna kemerahan dengan garis merah pada bagian batangnya.

Kandungan Nutrisi Daun Singkong

Selain bagian umbinya, daun singkong juga dikonsumsi oleh sebagian masyarakat Afrika dan Asia (Latif & Muller, 2015). Umumnya daun singkong dikonsumsi sebagai sayur, bahkan masyarakat Indonesia khususnya etnis Jawa mengolah daun singkong menjadi jamu dengan berbagai khasiat. Dibandingkan dengan umbi singkong, daun singkong mengandung protein, vitamin, dan mineral yang lebih rendah. Kandungan nutrisi daun singkong disajikan dalam Tabel 2. Kandungan protein dalam daun singkong jauh lebih tinggi dibandingkan asupan protein harian yang direkomendasikan oleh *Food and Agriculture Organization* (FAO) dan lebih tinggi daripada protein kedelai, daun bayam, oat, dan beras (Latif & Muller, 2015).

Daun singkong mengandung mineral seperti natrium, kalium, besi, zinc, aluminium, rubidium, barium, dan tembaga. Kandungan mineral tertinggi dalam daun singkong adalah kalium (3220 mg/100 g), sedangkan kandungan mineral terendah adalah natrium dan besi (Dickson *et al.*, 2012). Natrium, kalium, dan besi merupakan unsur mineral utama yang mampu mempengaruhi tekanan darah.

Tabel 2.1. Kandungan nutrisi setiap 100 gram daun singkong.

Zat Nutrisi	Jumlah
Kalori (Kcal)	90
Air (g)	65-89
Protein (g)	1-10
Lipid (g)	0,2-2,9
Karbohidrat (g)	7-18
Serat (g)	0,5-10
Abu (g)	0,7-4,5
Asam Askorbat (mg)	60-370
Niacin (mg)	1,3-2,8
Riboflavin (mg)	0,21-0,74
Thiamin (mg)	0,06-0,31
Vitamin A (μ g)	8300-11800

Sumber: Ferraro *et al.*, 2016

Asupan natrium yang tinggi dapat meningkatkan tekanan darah pada pembuluh arteri (Dickson *et al.*, 2012). Hal ini dipengaruhi oleh kurangnya kemampuan ginjal manusia untuk mengekskresikan natrium secara keseluruhan. Natrium meningkatkan tekanan darah dengan mempertahankan dan meningkatkan volume plasma darah. Ketika volume plasma darah meningkat maka darah yang terpompa ke jantung menjadi semakin banyak sehingga diameter pembuluh darah arteri akan semakin sempit dan menghasilkan tekanan darah yang semakin tinggi (Ferraro *et al.*, 2016).

Pengaruh asupan kalium terhadap tekanan darah telah banyak diteliti pada tikus dan manusia. Defisiensi kalium pada tubuh menyebabkan penurunan tekanan darah pada tikus. Penurunan ini diduga disebabkan karena menurunnya resistensi vaskuler perifer dan gangguan respon tekanan terhadap angiotensin II. Kalium juga dapat mengubah aktivitas simpatik, namun belum diketahui secara pasti apakah perubahan tersebut berkaitan dengan perubahan tekanan darah (Dickson *et al.*, 2012).

Jumlah sel darah merah yang rendah menyebabkan penurunan viskositas darah dan penurunan pengeluaran darah dari jantung. Ketika pengeluaran darah dari jantung menurun maka tekanan darah juga akan ikut menurun. Besi sebagai komponen utama penyusun sel darah merah secara tidak langsung dapat berpengaruh pada tekanan darah (Nugrahaningsih *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian Nugrahaningsih *et al.*, (2017) unsur mineral paling tinggi dalam daun singkong adalah kalium dan besi, sedangkan unsur mineral paling rendah adalah natrium dan tembaga. Daun singkong dalam bentuk ekstrak, simplisia, dan daun segar mengandung jumlah mineral yang berbeda-beda. Dalam bentuk ekstrak, daun singkong memiliki kandungan mineral lebih tinggi dibandingkan bentuk simplisia dan daun segar (Tabel 2.2).

Tabel 2.2. Kandungan mineral dan elektrolit setiap 100 g daun singkong.

Mineral	Kandungan Mineral		
	Ekstrak	Simplisia	Daun Segar
Na (mg)	14,75 ± 0,148	14,48 ± 0,062	1,52 ± 0,152
K (mg)	1112 ± 9,5	854,4 ± 11,75	72,28 ± 1,497
Fe (mg)	63,37 ± 0,348	22,82 ± 0,128	0,73 ± 0,010
Zn (mg)	40,24 ± 0,205	13,11 ± 0,032	0,15 ± 0,006
Al (mg)	46,67 ± 0,418	9,09 ± 0,132	0
Rb (mg)	16,87 ± 0,151	31,49 ± 0,195	12,84 ± 0,665
Ba (mg)	16,25 ± 0,181	40,70 ± 0,222	0,17 ± 0,004
Cu (mg)	8,38 ± 0,032	2,26 ± 0,002	0

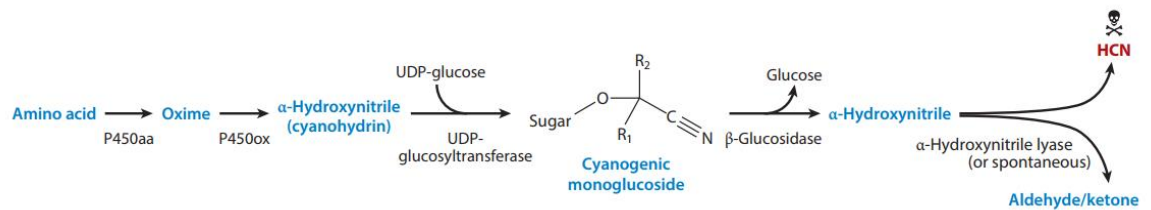
Sumber: Nugrahaningsih *et al.*, 2017

Daun singkong juga mengandung zat antinutrisi yang bersifat racun serta dapat menghambat proses penyerapan dan pengolahan zat makanan dalam tubuh. Zat antinutrisi daun singkong diantaranya hidrogen sianida, fitat, serat, nitrat,

polifenol, oksalat, dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut dalam dosis yang tepat dapat berperan sebagai antioksidan dan antikanker, namun jika dosisnya tidak sesuai dapat mengganggu penyerapan dan pemanfaatan nutrisi oleh tubuh (Ferraro *et al.*, 2016).

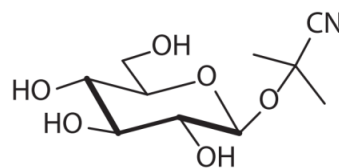
Kandungan Toksik Daun Singkong

Daun singkong mengandung senyawa toksik hidrogen sianida (HCN) yang dapat menyebabkan keracunan serius apabila masuk ke dalam tubuh makhluk hidup. HCN diproduksi melalui proses biosintesis etilen dan proses sianogenesis, akan tetapi HCN dalam jumlah besar dihasilkan melalui proses sianogenesis oleh senyawa glukosida sianogenik (CNglcs). CNglcs merupakan senyawa metabolit sekunder yang terbentuk dari asam amino dengan oksim dan sianohidrin (α -*hydroxynitriles*) dalam suatu reaksi antara. CNglcs adalah senyawa yang stabil, dan akan menjadi tidak stabil ketika ikatan β -glikosidik terhidrolisis oleh enzim β -glikosidase yang menghasilkan HCN toksik, selain sianohidrin labil dan keton sebagai produk dari reaksi antara yang tidak stabil dalam proses sianogenesis (Gambar 2.3). Sifat toksik HCN disebabkan karena kemampuannya dalam menghambat aktivitas metalloenzim, terutama *cytochrome c oxidase* yang merupakan enzim akhir dari respirasi rantai transpor elektron. Hidrolisis CNglcs yang melepaskan beberapa gugus karbonil secara bersamaan juga mampu meningkatkan efek racun dari HCN (Gleadow & Moller, 2014).



Gambar 2.3. Proses sianogenesis CNglcs hingga menghasilkan senyawa HCN toksik dalam tanaman singkong (Sumber: Gleadow & Moller, 2014).

Tanaman singkong mengandung kadar racun potensial glukosida sianogenik dalam bentuk linamarin (95% dari total kandungan sianogen) dan lotaustralin (5%). Rumus molekul linamarin adalah $C_{10}H_{17}O_6N$, sedangkan rumus struktur disajikan pada Gambar 2.4. Linamarin disintesis oleh asam amino valin dan terdapat pada daun, batang, kulit akar, serta parenkim akar (kulit yang telah terkelupas). Daun singkong memiliki potensi sianogenik 5-20 kali lebih tinggi dibandingkan kulit yang telah terkelupas. Kandungan sianida berkisar 53-1300 mg HCN per berat kering daun, dan 10-500 HCN per berat kering akar yang telah terkelupas. Konsumsi sianida 50-100 mg/hari dapat menyebabkan keracunan akut dan dapat berakibat kematian pada manusia dewasa (Ferraro *et al.*, 2016).



Gambar 2.4. Rumus struktur CNglcs linamarin (*2-hydroxyisobutyronitrile-β-D-glucopyranoside*) (Sumber: Gleadow & Moller, 2014).

Kasus keracunan HCN dari tanaman singkong pernah terjadi di Venezuela pada tahun 1992 yang mengakibatkan delapan anak pada rentang usia 8-11 tahun mengalami keracunan serius (Espinoza, 1992). Tshala-Katumbay *et al.* (2013)

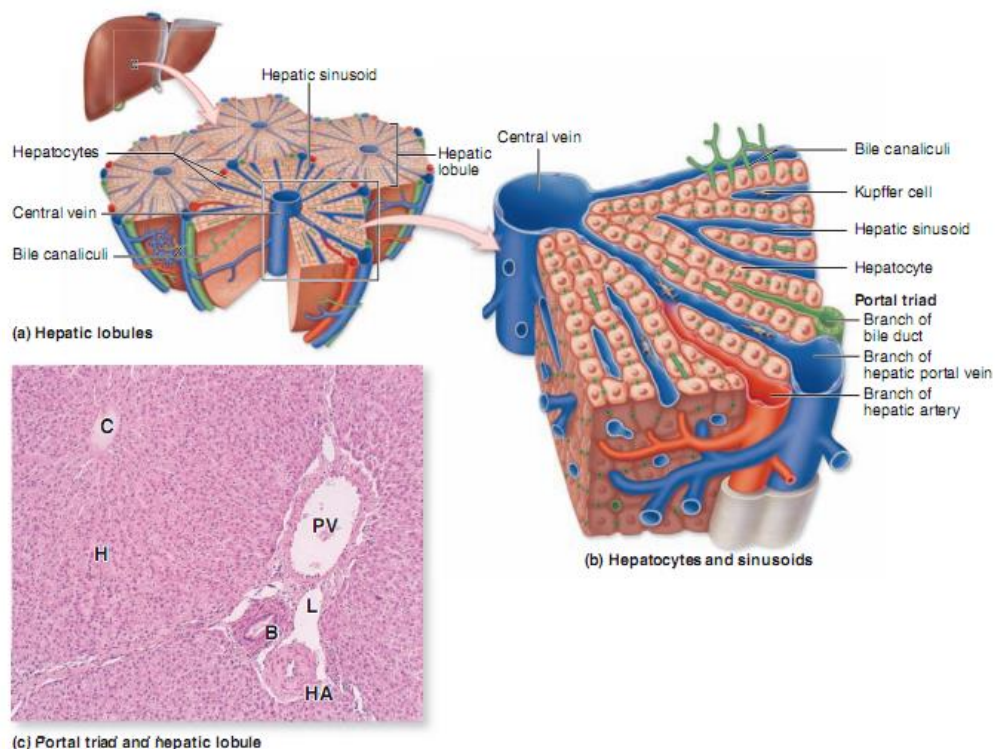
juga melaporkan bahwa ketergantungan kronik terhadap bahan pangan dari singkong menjadi penyebab utama terjadinya wabah konzo pada penduduk Afrika yang bermukim di pinggiran Gurun Sahara. Osweiler *et al.* (1976) telah melakukan identifikasi gejala keracunan HCN diantaranya adalah kesulitan bernafas, peningkatan laju denyut nadi, tubuh terasa lemah, tremor, mata terbelalak, kembung, kejang, salivasi disertai muntah, dan lapisan mukosa berwarna merah terang.

2.1.3. Hati (*Hepar*)

Hati (*hepar*) adalah organ internal terbesar dengan berat 2% dari total berat badan. Letak hati berada di bagian kanan atas perut tepat dibawah diafragma. Hati memiliki lobus kiri dan kanan yang besar dengan dua lobus inferior yang lebih kecil, sebagian besar tertutup oleh kapsul tipis dan peritoneum viseral yang tersusun atas sel-sel mesothelium. Lapisan kapsul yang melapisi hati menebal pada bagian hilum (atau portal hepatis) pada sisi inferior, dimana suplai darah ganda dari vena portal hepatis dan arteri hepatis memasuki organ, serta vena hepatis, limfatik, saluran hepatis (empedu) mengarah keluar organ (Mescher, 2013).

Anatomi hati yang tersaji pada Gambar 2.5 menunjukkan susunan yang terdiri atas vena central (C), sel hepatosit (H), limfatik (L), venule portal (PV) arteriol hati (HA), dan duktus empedu (B). Sel hepatosit merupakan sel parenkim penyusun utama hati yang diperforasi oleh kapiler darah terspesialisasi yang disebut sinusoid. Darah mengalir ke hati menuju ruang sinusoid melalui vena portal hepatis dari saluran gastrointestinal, khusus untuk darah yang mengangkut

oksigen akan dialirkan ke hati melalui arteri hepatic. Setelah darah mengalami metabolisme, selanjutnya darah akan dialirkan keluar hati melalui *terminal hepar venule* (THV) atau vena sentral. Darah yang mengalir keluar hati akan bermuara di vena cava inferior dan dikembalikan ke jantung. Sel hepatosit yang terletak di sekitar THV disebut centrilobular, sedangkan yang terletak di sekitar vena portal disebut hepatosit periporta. Sel non-hepatosit merupakan sel nonparenkim yang menyusun hati dalam jumlah kecil, meliputi sel endotelial (~50%), sel kupffer (~20%), limfosit (~25%), sel empedu (~5%), dan sel stellat (>1%) (Racanelli & Reherrmann, 2006; Wallace & Meyer, 2010).



Gambar 2.5. Anatomi hati (*hepar*). (a) Diagram anatomi hati menunjukkan vena central yang berada di tengah lobulus hati dan beberapa pembuluh perifer disekitarnya. (b) Sinusoid adalah rongga diantara sel-sel hepatosit yang bermuara ke pusat pembuluh darah. (c) Preparat embedding jaringan hati dengan metode pewarnaan H&E (Sumber: Mescher, 2013).

Fungsi utama hati adalah detoksifikasi racun yang masuk ke dalam tubuh melalui sistem pencernaan. Selain fungsi utama tersebut, hati juga memiliki sekitar 500 fungsi lain diantaranya metabolisme karbohidrat, metabolisme lipid, metabolisme protein, fungsi haematologi, sekresi dan ekskresi empedu, dan fungsi penghancuran (Robin *et al.*, 2012).

Hati adalah organ yang paling sering menjadi target efek dari xenobiotik yang masuk ke tubuh melalui saluran pencernaan. Terdapat tiga faktor utama yang mendasari hal tersebut yaitu sebagai berikut. *Pertama*, sebagian besar xenobiotik masuk ke tubuh melalui saluran pencernaan, dan setelah proses absorpsi oleh usus berlangsung kemudian diangkut oleh vena portal hepatic menuju hati sehingga hati menjadi organ pertama yang menyerap xenobiotik dari usus. *Kedua*, hati banyak mengandung enzim untuk metabolisme xenobiotik. Meskipun sebagian besar biotransformasi dimaksudkan sebagai reaksi detoksifikasi, terkadang dihasilkan sejumlah metabolit yang justru dapat merusak hati. *Ketiga*, xenobiotik yang terakumulasi di empedu ketika proses pembentukan empedu dan pergerakan empedu di saluran gastrointestinal akan dilepaskan di usus. Xenobiotik kemudian direabsorpsi oleh usus dan diangkut kembali ke hati oleh vena portal hepatic. Hal ini meningkatkan konsentrasi xenobiotik di sel hapatosit hati (Hodgson & Levy, 2004; Wallace & Meyer, 2010).

Uji Fungsi Hati

Hati sangat rentan terhadap senyawa toksik yang masuk ke tubuh melalui pencernaan maupun pernapasan. Oleh karena itu kondisi hati perlu dilakukan pemeriksaan secara berkala agar hati tetap bisa menjalankan fungsinya secara

optimal. Pemeriksaan fungsi hati biasanya dilakukan dengan analisis kimia darah, tujuannya untuk mendeteksi kelainan hati, menentukan diagnosis, mengetahui tingkat keparahan penyakit, mengikuti perjalanan penyakit, dan penilaian hasil pengobatan. Menurut Amirudin (2006) pemeriksaan fungsi hati dapat dikategorikan dalam tiga kelompok, yaitu sebagai berikut.

- 1) Peningkatan enzim aminotransferase/transaminase dengan indikator kadar SGOT dan SGPT di dalam darah. Pemeriksaan ini mengarahkan pada perlukaan hepatoseluler atau inflamasi.
- 2) Peningkatan alkali fosfatase dan gamma GT. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui keadaan patologis yang mempengaruhi sistem empedu intra dan ekstra hepatis.
- 3) Produksi albumin, urea, dan faktor pembekuan. Pemeriksaan ini mewakili kemampuan fungsi sintesis hati.

Enzim Transaminase Hati

Hati mampu mensekresikan enzim-enzim kelompok transaminase ketika sel-selnya mengalami kerusakan. Tingginya kadar transaminase biasanya menjadi indikator terjadinya kelainan dan nekrosis pada sel-sel hati (Husadha, 1996). Kelompok enzim transaminase ini adalah *Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT)/Aspartat Aminotransferase (AST)* dan *Serum Glutamat Pyruvic Transaminase (SGPT)/Alanin Aminotransferase (ALT)*.

SGOT dan SGPT adalah enzim mitokondria yang ditemukan dalam jumlah tinggi terkonsentrasi di hati, sedangkan dalam jumlah kecil ditemukan di ginjal, otot skelet, jantung, dan otak. Letak SGOT dan SGPT didalam hati berada

dalam sel parenkim hati. SGOT menjalankan reaksi antara asam aspartat dan asam alfa-ketoglutamat, sedangkan SGPT melakukan katalisis pemindahan satu gugus amino alanin dan asam alfa ketoglutarat (Widmann, 1995). Peningkatan kadar enzim-enzim ini mengindikasikan adanya kerusakan pada sel-sel hepatosit hati, baik disebabkan oleh infeksi virus, cacing parasit atau paparan zat toksik. Kadar yang sangat meningkat terjadi ketika nekrosis hepatoseluler atau infark miokard (Hadi, 1995).

Kadar SGOT dan SGPT serum darah meningkat pada hampir semua penyakit hati seperti hepatitis dan *cirrhosis* (Kumar & Keerthana, 2016). Hasil penelitian Karim *et al.* (2015) yang menggunakan 44 subjek pasien hepatitis dengan rentang usia antara 20 dan 50 tahun setelah diuji memiliki kadar SGOT dan SGPT diatas ambang normal yaitu $174,15 \pm 155,03$ U/L dan $245,20 \pm 170,25$ U/L. Dass *et al.* (2018) dalam penelitiannya yang menggunakan subjek 18 pasien yang menderita *cirrhosis*, ditemukan peningkatan kadar SGOT pada 13 pasien dan peningkatan kadar SGPT pada 15 pasien.

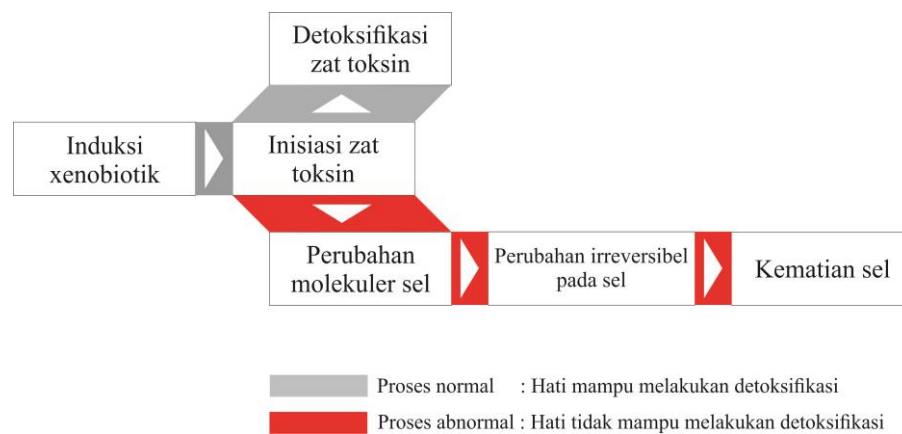
Kadar SGOT dan SGPT serum darah juga dapat meningkat signifikan akibat masuknya senyawa xenobiotik yang masuk ke tubuh. Dalam penelitian Patel *et al.* (2011) pemberian senyawa kimia asing nimesulide (4-nitro-2-phenoxy-methanesulphonamide) pada tikus wistar selama 7 hari menyebabkan peningkatan signifikan kadar SGOT dan SGPT. Farmaka seperti *Polyherbal Formulation* (PHF) dan senyawa kimia seperti CCl_4 juga terbukti mampu meningkatkan kadar SGOT dan SGPT tikus coba (Sreshta & Babu, 2018).

2.1.4. Hepatotoksisitas

Hepatotoksisitas adalah suatu kondisi dimana hati mengalami kerusakan akibat terpapar xenobiotik yang bersifat toksik seperti senyawa industri, pestisida, dan produk farmaka (Jaeschke, 2008). Pembagian hepatotoksisitas didasarkan atas jenis agen toksik, tingkat keseriusan intoksikasi, lamanya pajanan (akut atau kronis) dan morfologi kerusakan histopatologis. Secara umum hepatotoksisitas dibagi menjadi dua kategori besar yaitu hepatotoksisitas intrinsik dan idiosinkratik. Hepatotoksisitas intrinsik merupakan hepatotoksisitas yang dapat diprediksi dengan masa inkubasi toksin berkisar dari beberapa jam sampai beberapa minggu, biasanya disebabkan oleh pajanan zat kimia atau toksin, seperti karbon tetraklorida, fosfor, atau beberapa jenis jamur yang menyebabkan jejas hati. Sebaliknya, hepatotoksisitas idiosinkratik merupakan hepatotoksisitas yang tidak dapat diprediksi dengan masa inkubasi toksin dari beberapa minggu sampai beberapa bulan, biasanya disebabkan oleh obat-obat konvensional dan produk herbal (Loho & Hasan, 2014; Correia *et al.*, 2017).

Kerusakan sel-sel hati oleh paparan xenobiotik dapat disebabkan oleh sejumlah mekanisme seperti inhibisi enzim, depleksi kofaktor atau metabolit, depleksi penyimpanan energi (ATP), interaksi dengan reseptor, peningkatan kalsium bebas intraseluler, pembentukan metabolit reaktif, dan perubahan membran sel. Berdasarkan ilustrasi Gambar 2.6 ketika xenobiotik menginduksi hati dan mulai menginisiasi terbentuknya zat toksin, hati sesegera mungkin melakukan detoksifikasi pada zat toksin tersebut. Namun jika xenobiotik yang menginduksi hati menghasilkan zat toksin kuat dan hati tidak mampu melakukan

detoksifikasi atau detoksifikasi belum cukup untuk menetralkan zat toksin tersebut maka akan menyebabkan perubahan terhadap molekul sel yang berujung pada kematian sel-sel hati (Wallace & Meyer, 2010).



Gambar 2.6. Mekanisme hepatotoksisitas.

Beberapa jenis hepatotoksisitas menurut Bischoff *et al.* (2018) diantaranya adalah apoptosis, *hepatic steatosis*, steatohepatitis, *hepatic fibrosis*, *cirrhosis*, akumulasi pigmen abnormal, neoplasia, nekrosis, dan *megalocytosis*. Hepatotoksisitas yang sering muncul adalah nekrosis, umumnya ditandai dengan perubahan morfologi sel hati berupa edema sitoplasmik, pembengkakan retikulum endoplasma, disagregasi polisom, akumulasi trigliserida, serta pembengkakan mitokondria dengan kerusakan pada bagian kista, organel dan nukleus. Hal ini berujung pada pecahnya membran plasma sel-sel hati. Nekrosis dapat dipicu oleh perubahan biokimia sel seperti pengikatan metabolit reaktif pada protein dan lemak tidak jenuh (memicu pro-oksidasi lipid dan penghancuran membran subsekuen), gangguan homeostasis seluler Ca^{2+} , gangguan jalur biokimia, pergeseran keseimbangan Na^+ dan K^+ , serta penghambatan sintesis protein (Jaeschke, 2008; Hodgson & Levy, 2004).

2.1.5. Uji Toksisitas Kronik

Uji toksisitas merupakan uji praklinik untuk mengkarakterisasi efek toksik suatu senyawa pada tubuh makhluk hidup. Metode pengujian ini digunakan pada semua penelitian biologi dan farmasi. Terdapat dua prinsip utama pengujian toksisitas pada penelitian eksperimental. Prinsip pertama adalah efek yang dihasilkan senyawa pada hewan coba di laboratorium digunakan untuk memperkirakan bahayanya bagi manusia melalui berbagai teknik ekstrapolasi. Pada dosis per unit permukaan tubuh, efek toksik pada manusia biasanya ada pada rentang yang sama dengan hewan coba. Pada dosis per unit berat tubuh, manusia biasanya lebih rentan dibandingkan hewan coba. Prinsip kedua adalah bahwa paparan senyawa pada hewan coba dalam dosis tinggi merupakan metode yang valid untuk menemukan kemungkinan bahayanya pada manusia. Prinsip kedua ini didasarkan atas konsep *dose-response*, dimana kemungkinan kejadian efek toksik pada populasi lebih besar karena dosis atau paparan ditingkatkan (Hodgson & Cunny, 2010)

Berdasarkan waktu dan frekuensi paparannya, uji toksisitas dibedakan menjadi empat kategori: akut, subakut, subkronik, dan kronik. Uji toksisitas akut didefinisikan sebagai pengujian efek toksik dimana senyawa dipaparkan dalam dosis tunggal dengan waktu kurang dari 24 jam. Jalur paparan uji toksisitas akut diberikan melalui injeksi subkutan, intravena, dan intraperitoneal; intubasi oral; serta aplikasi dermal. Senyawa dalam pengujian toksisitas subakut, subkronik, dan kronik dipaparkan dalam dosis berulang. Pada uji toksisitas subakut pemaparan senyawa dilakukan kurang dari satu bulan, uji toksisitas subkronik selama satu

hingga tiga bulan, dan toksisitas kronik selama tiga bulan atau lebih. Ketiga pengujian toksisitas ini dapat dipaparkan melalui berbagai jalur, namun umumnya diberikan secara oral dengan cara ditambahkan pada makanan atau dimasukkan langsung ke lambung menggunakan sonde lambung (Eaton & Gilbert, 2008).

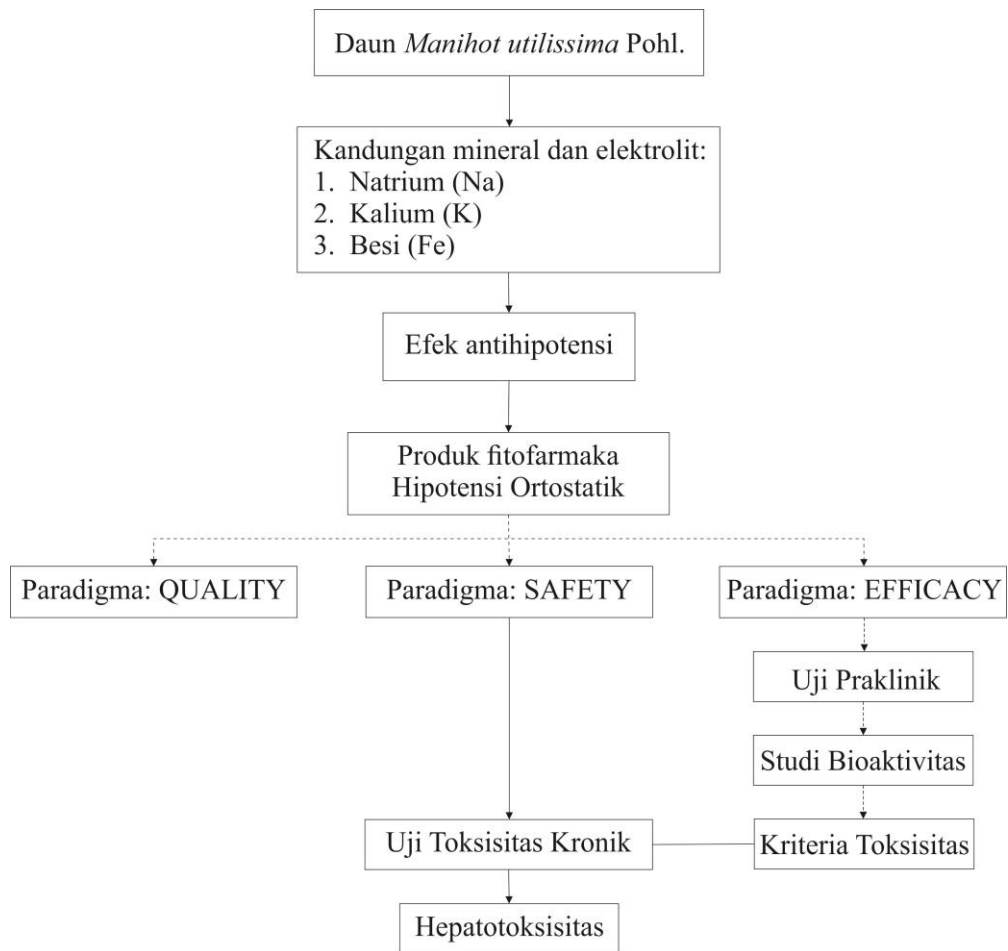
Penelitian ini berfokus pada uji toksisitas secara kronik, ekstrak daun singkong dipaparkan pada tikus wistar selama 90 hari. Toksisitas kronik merupakan suatu pengujian efek toksik suatu senyawa yang ditimbulkan akibat paparan jangka panjang (Leblanc, 2004). Subjek penelitian yang digunakan dalam pengujian toksisitas kronik biasanya berupa tikus atau anjing, namun dalam kasus tertentu juga digunakan monyet. Pemilihan hewan-hewan tersebut pada pengujian toksisitas kronik dikarenakan beberapa alasan, diantaranya data anatomi, fisiologi, dan morfologi spesies ini telah tersedia lengkap; mudah ditangani; serta tersedia secara komersial (Gupta, 2012).

Toksisitas kronik diukur dengan titik akhir level tertinggi suatu senyawa dimana tidak menimbulkan efek toksik selama paparan jangka panjang yang terus menerus (*no observed effect level*, NOEL), titik akhir level terendah suatu senyawa dimana tidak menimbulkan efek toksik selama paparan jangka panjang yang terus menerus (*lowest observed effect level*, LOEL), atau nilai kronik (*chronic value*, CV) yang merupakan rata-rata geometrik dari NOEL dan LOEL. Toksisitas kronik suatu senyawa dinilai dari *Acute: Chronic Ratio* (ACR). Nilai ACR berasal dari pembagian antara nilai akut LC50 dan CV. Senyawa dengan nilai ACR kurang dari 10 biasanya memiliki toksisitas kronik yang rendah, tidak

menimbulkan efek toksik jangka panjang pada tubuh makhluk hidup (Leblanc & Buchwalter, 2010).

Beberapa hal yang harus diperhatikan ketika melakukan pengujian toksisitas kronik suatu senyawa diantaranya: (1) Nilai *Acute: Chronic Ratio* (ACR) pada uji toksisitas kronik hanya sebagai indikator kotor dari toksisitas kronik potensial suatu senyawa. Paparan senyawa di laboratorium didesain untuk menetapkan nilai kronik secara umum yang digunakan untuk mengetahui ketahanan hidup, pertumbuhan, dan kapasitas reproduksi. Pada pemeriksaan yang lebih teliti hasil pengujian dapat menghasilkan nilai kronik yang berbeda. (2) Paparan di laboratorium dilakukan dengan beberapa jenis pengujian sesuai dengan spesies hewan coba yang digunakan. Nilai kronik yang diperoleh dari hasil pengujian bukanlah nilai mutlak, senyawa dapat menimbulkan efek toksik kronik pada suatu spesies dan tidak pada spesies lain. (3) Interaksi antara komponen biotik dan abiotik di lingkungan dapat meningkatkan toksisitas kronik suatu senyawa. Interaksi semacam ini mungkin tidak terjadi dalam pengujian di laboratorium (Leblanc, 2004).

2.2. Kerangka Berpikir



Gambar 2.7. Kerangka berpikir penelitian uji hepatotoksisitas kronik ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) pada tikus wistar (*Rattus norvegicus* L.).

2.3. Hipotesis

Pemberian ekstrak daun singkong berbagai dosis secara oral selama 90 hari tidak memberikan pengaruh hepatotoksisitas pada tikus wistar.

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Pemberian ekstrak daun singkong berbagai dosis secara oral selama 90 hari tidak memberikan pengaruh pada kadar SGPT, berat badan, dan berat relatif hati. Ekstrak daun singkong memberikan pengaruh pada kadar SGOT setelah 60 hari perlakuan. Gejala toksik klinik pendarahan hidung dan mulut muncul pada kelompok dosis 400 dan 2000 mg/kg pada hari ke-14.

5.2. Saran

Dianjurkan untuk melakukan penelitian lebih mendalam terhadap organ selain hati. Selain itu juga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terutama dalam kaitannya pemeriksaan histopatologi hati, serta penelitian lain terkait pengaruh ekstrak daun singkong terhadap kesehatan peredaran darah dan/atau saluran pernapasan tikus wistar.

Sebelum melakukan penelitian yang melibatkan hewan coba sebagai subjek, sebaiknya peneliti memeriksa terlebih dahulu kondisi kesehatan hewan coba yang digunakan. Selama pemeliharaan dan pemberian perlakuan, tikus wistar harus benar-benar dipantau agar saat terjadi kasus mortalitas diketahui secara jelas gejala klinis yang menyertainya.

DAFTAR PUSTAKA

- Afolabi, S.O., Akindele, A.J., Awoldele, O., Anunobi, C.C., & Adeyemi, O.O. 2012. A 90 Day Chronic Toxicity Study of Nigerian Herbal Preparation DAS-77 in Rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12: 1-18.
- Amida, M.B., Yemitan O.K., & Adeyemi, O.O. 2007. Toxicological Assesment of The Aqueous Root Extract of *Sansiviera liberica* Gerome and Labroy (Agavaceae). *J Ethnopharmacol* 113: 171-175.
- Anwar, S., Yulianty, E., Hakim, A., Fasya, A.G., Fauziyah, B., & Muti'ah, R. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Akuades (Suhu Kamar) dan Akuades Panas (70°C) Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Alchemy* 3(1): 84-92.
- Avais, M., Khan, M.S., Khan, M.K., Ashraf, K., Khan, J.A., & Hameed, S. 2014. Prolonged Oral Cyanide Effects on Feed Intake, Growth Rate and Blood Parameters in Rabbits. *Pak. J. Pharm* 27(4): 773-777.
- Bayard, M., Holt, J., & Boroughs, E. 2006. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *American Family Physician* 73(11): 1962-1968.
- Brunton, L.L., Parker, K.L., Blumenthal, D.K., & Buxton, L.O. 2008. *Goodman & Gillman's Manual of Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York, USA: McGraw-Hill Medical, -Goodman & Gilman's.
- Ceballos, H., & De la Cruz G. 2012. *Cassava Taxonomy and Morphology*. In: Ospina, B., & Ceballos H. (eds.). *Cassava in Third Millennium: Modern Production, Processing, Use, and Marketing Systems: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Latin American and Caribbean Consortium to Support Cassava Research and Development (CLAYUGA); Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation (CTA)*. Cali, Columbia: 15-28. (Publication CIAT No. 377).
- Charan, J., & Kantharia, N.D. 2013. How to Calculate Sample Size in Animal Studies?. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* 4(4): 303-306.
- Constable, P.D., Hinchcliff K.W., Done S.H., & Grunberg W. 2017. *Veterinary Medicine: A Textbook of The Deseases of Cattle, Horse, Sheep, Pigs, and Goats*. 11th Ed. Elsevier Ltd. Missouri, USA.
- Correia, D.T., Barbosa, A., Pinto., H.C., Campos, C., Rocha, N.B.F., & Machado, S. 2017. Psychotropic Drugs and Liver Disease: A Critical Review of

- Pharmacokinetics and Liver Toxicity. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics* 8(1): 26-38.
- Dass, E., Patel, M., Patel, S., Patel, D., Patel, G., & Pobaru, U. 2018. a Prospective Study of Liver Cirrhosis: an Overview, Prevalence, Clinical Manifestation & Investigations in Patients Admitted to The Medicine Ward in a Rural Teaching Hospital. *International Journal of Scientific Reserach* 7(2): 39-41.
- Dewoto, H.R. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57(7): 205-211.
- Dickson, R.A., Annan K., Fleischer T.C., Amponsah I.K., Nsiah K., & Oteng J.A., 2012. Phytochemical Investigations and Nutritive Potential of Eight Selected Plants from Ghana. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences* 2(2): 172-177.
- Donatus, I.A. 1998. *Petunjuk Praktikum Toksikologi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Eaton, D.L., & Gilbert S.G. 2008. *Principles of Toxicology*. In: Klaassen, C.D. (eds.). Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons. 7th Ed. Mc.Graw-Hill. New York, USA: 11-43.
- Espinoza, O.B., Perez M., & Ramirez M.S. 1992. Bitter Cassava Poisoning in Eight Children : A Case Report. *Vet. Hum. Toxicol.* 34(1): 65.
- Feldstein, C., & Weder A.B. 2012. Orthostatic Hypotension: a Common, Serious and Underrecognized Problem in Hospitalized Patients. *Journal of The American Society of Hypertension* 6(1): 27-39.
- Ferraro, V., Piccirillo C., Tomlins K., & Pintado M.E. 2016. Cassava (*Manihot esculenta* Cranz) and Yam (*Dioscorea* spp.) Crops and Their Derived Foodstuffs: Safety, Security and Nutritional Value. *Critical reviews in Food Science and Nutrition* 56(16): 2714-2727.
- Freeman, R. 2008. Neurogenic Orthostatic Hypotension. *The New England Journal of Medicine* 358(6): 615-624.
- Freeman, R., Wieling W., Axelrod F.D., Benditt D.G., Benarroch E., Biaggioni I., Cheshire W.P., Chelimsky T., Cortelli P., Gibbons C.H., Goldstein D.S., Hainsworth R., Hilz M.J., Jacob G., Kauffmann H., Jordan J., Lipsitz L.A., Levine B.D., Low P.A., Mathias C., Raj S.R., Robertson D., Sandroni P., Schatz I., Schondorf R., Stewart J.M., & Dijk J.G. 2011. Consensus

Statement on The Definition of Orthostatic Hypotension Neurally Mediated Syncope and Postural Tachycardia Syndrome. *Clin. Auton. Res.* 21: 69-72.

- Furtado, A.A., Torres-Reigo, M., Lima, M.C.J.S., Bitencourt, M.A.O., Estrela, A.B., Silva, N.S., Siqueira, E.M.S., Tomaz, J.C., Lopes, N.P., Junior, A.A.S., Zuncolotto, S.M., & Pedrosa, M.F.F. 2016. Aqueous Extract from *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) Leaves and its Phenolic Compounds Have Anti-Inflammatory Activity in Murine Models of Edema, Peritonitis and Air-Pouch Inflammation. *Journal of Ethnopharmacology* 192: 225-235.
- Gad, S.C. 2007. *The Rat: Pathology*. In: Gad, S.C. (eds.). *Animal Model in Toxicology*. 2nd Ed. CRC Press. New York, USA: 193-217.
- Gleadow, R.M., & Moller B.L. 2014. Cyanogenic Glycosides: Synthesis, Physiology, and Phenotypic Plasticity. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65:155-185.
- Gupta, B.S.D. 2012. Study of Acute, Subacute and Chronic Toxicity Test. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio Sciences (IJARPB)* 2(2): 103-129.
- Hadi, S. 1995. *Gastroenterologi*. Edisi 6. Bandung: Alumni.
- Hodgson, E., & Cunny, H. 2010. *Toxicity Testing*. In: Hodgson, E. (eds.). a Textbook of Modern Toxicology. 4th Ed: John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA: 409-455.
- Hodgson, E., & Levi P.E. 2004. *Hepatotoxicity*. In: Hodgson, E. (eds.). a Textbook of Modern Toxicology. 3rd Ed: John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey, USA: 263-272.
- Husadha, Y. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid I. Edisi 3. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Johnson, M.D. 2007. *The Rat: Toxicology*. In: Gad, S.C. (eds.). *Animal Model in Toxicology*. 2nd Ed: CRC Press. New York, USA: 150-193.
- Jaeschke, H. 2008. *Toxic Responses of The Liver*. In: Klaassen, C.D. (eds.). Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons. 7th Ed. McGraw-Hill. New York, USA: 557-582.
- Jones, C.D., Loehr L., Franceschini N., Rosamond W.D., Chang P.P., Shahar E., Couper D.J., & Rose K.M. 2012. Orthostatic Hypotension as a Risk Factor for Incident Heart Failure The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Hypertension* 59:913-918.

- Karim, S.M., Rahman, M.R., Shermin, S., & Sultana, R. 2015. Correlation between Aminotransferase Ratio (AST/ALT) and Other Biochemical Parameters in Chronic Liver Disease of Viral Origin. *Delta Med Col J. Jan.* 3(1): 13-17.
- Kee, J.L. 2008. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik*. Jakarta: EGC.
- Kumar, T.A., & Keerthana, B.L. 2016. Serum Cholinesterase as Biomarker in Liver Disorder. *International Journal of Applied Research* 2(7): 563-565.
- Kumar, V., Cotran R.S., & Robbins S.L. 2004. *Buku Ajar Patologi*. 7 Ed. Jakarta: EGC.
- Latif, S., & Muller J. 2015. Potential of Cassava Leaves in Human Nutrition: a Review. *Trends in Food Science & Technology*: 1-25.
- Leblanc, G.A. 2004. *Basics of Environmental Toxicology*. In: Hodgson, E. (eds.). a Textbook of Modern Toxicology. 3rd Ed: John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey, USA: 463-478.
- Leblanc, G.A., & Buchwalter, D.B. 2010. *Basic Enviromental Toxicology*. In: Hodgson, E. (eds.). a Textbook of Modern Toxicology. 4th Ed: John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA: 531-547.
- Loho, I.M., & Hasan, I. 2014. Drug-Induced Liver Injury-Tantangan dalam Diagnosis. *Continuing Medical Education* 41(3):167-170.
- Low, P.A., & Singer W. 2008. Management of Neurogenic Orthostatic Hypotension: an Update. *Lancet Neurol* 7: 451-458.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penialaian Resiko*. Penerjemah: Nugroho. Jakarta: UI Press.
- Mamone, G., Cortis, K., Sarah, A., Caruso, S., & Miragila, R. 2017. Hepatic Morphology Abnormalities: Beyond Cirrhosis. *Abdom Radiol*: 1-15.
- Mescher, A.L. 2013. *Junqueira's Basic Hitology Text and Atlas*. 13th Ed: McGraw-Hill Education. New York, USA: 329-339.
- Mosnaim, A.D., Abiola R., Wolf E.D., & Perlmutter L.C. 2010. Etiology and Risk Factors for Developing Orthostatic Hypotension. *American Journal of Therapeutics* 17: 86-91.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

- Nugrahaningsih, W.H., Lisdiana, & Purwantoyo E. 2017. Mineral and Electrolyte Analysis of Manihot utilisissima and Carica papaya Leaves: a Prospect of Anti Hypotension Agent. *Proceedings Herbal and Traditional Medicine*. Bangkok, Thailand: 121-126.
- Okafor, P.N., Anyanwu, V.O., & Onyema, H.O. 2006. The Effects of Cassava Cyanide on The Antioxidant (Glutathione) Status and Some Clinically Important Enzymes of Rats. *J. Pharmacol. Toxicol.* 1(1): 40-46.
- Osweiler, G.D., Carson T.L., Buck W.B, & Van Gelder G.A. 1976. Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. *Kendall/Hunt. Pub. Co. IOWA*: 455-457.
- Patel, P.B., Patel, T.K., Patni, S., Baxi, S.N., Shurma, H.O., & Tripathi, C.B. 2011. Hepatotoxicity Studies of Nimesulide in Litters of Rat. *NJIRM* 2(1): 16-21.
- Racanelli, V., & Rehermann B. 2006. The Liver as an Immunological Organ. *Hepatology* 43(2): 54-62.
- Relle, S.S., Schauss, A.G., Financsek, I., Glavits, R., Varga, T., & Szucs Z.S. 2005. Acute and Subchronic Toxicity Studies of Cryogenically-frozen, Cryomilled, Pelodiscus sinensis (japanese soft-shelled turtle-suppon powder administered to the rat. *Food and Chemical Toxicology* (43): 575-580.
- Ricci, Caterina F.R.D., & Fedorowski A. 2015. Orthostatic Hypotension: Epidemiology, Prognosis, and Treatment. *Journal of The American College Cardiology* 66(7): 848-860.
- Robertson, D. 2008. The Pathophysiology and Diagnosis of Orthostatic Hypotension. *Clin Auton Res* 18: 2-7.
- Robin, S., Sunil K., Rana A.C., & Nidhi S. 2012. Different Models of Hepatotoxicity and Related Liver Diseases: a Review. *International Research Journal of Pharmacy* 3(7): 86-95.
- Sandy, S. 2014. Kajian Aspek Epidemiologi *Echinococcosis*. *CDK-215* 41(4): 264-267
- Shah, J.M., Qureshi, T.A., Shah, T., Shah, Q.A., Arain, M.S., Bhutto, Z.A., Saeed, M., & Siyal, F.A. 2016. Impact of Therapeutic and High Doses of Florfenicol on Kidney and Liver Functional Indicators in Goat. *Veterinary World* 9: 1135-1140.
- Tshala-Katumbay, D., Mumba N., Okitundu L., Kazadi K., Banea M., Tylleskar T., Boivin M., & Muyembe-Tamfun J.J. 2013. Cassava Food Toxins, Konzo

- Disease, and Neurodegeneration in Sub-Sahara Africans. *Neurology* 80: 949-951.
- Udeme, N., Okafor, P., & Eleazu, C. 2015. The Metabolic Effects of Consumption of Yellow Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) on Some Biochemical Parameters in Experimental Rats. *International Journal of Toxicology*: 1-6.
- Uhegbu, F.O., Akubugwo E.I., & Iweala E.E.J. 2012. Effect of Garri Processing Effluents [Waste Water] on The Cyanide Level of Some Root Tubers Commonly Consumed in The South East of Nigeria. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 12(6): 6748-6758.
- Wallace, A.D., & Meyer S.A. 2010. *Hepatotoxicity*. In: Hodgson, E. (eds.). a Textbook of Modern Toxicology. 4th Ed: John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA: 277-289.
- Widmann, F.K. 1995. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi 9. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Yemitan, O.K., & Adeyemi, O.O. 2004. Toxicity Studies of The Aqueous Root Extract of *Lecaniodiscus cupanioides*. *Nigerian J Helath Biomed Sci* 3: 20-23.
- Yuningsih. 2012. Keracunan Sianida pada Hewan dan Upaya Pencegahannya. *Jurnal Litbang Pertanian* 31(1): 21-26.
- Zhang, C., Wang, L., Ali, T., Li, L., Bi, X., Wang, J., Lu, G., Shao, Y., Vuitton, D., Wen, H., & Lin, R. 2016. Hydatid Cyst Fluid Promotes Peri-Cystic Fibrosis in Cystic Echinococcosis by Suppressing miR-19 Expression. *Parasites & Vector* 9 (278): 1-9.