

**UJI TOKSISITAS AKUT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) dan JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.)  
PADA TIKUS PUTIH BETINA GALUR WISTAR**



**Oleh:**

**Hesty Riza Oktastika  
19133749 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI TOKSISITAS AKUT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) dan JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.)  
PADA TIKUS PUTIH BETINA GALUR WISTAR**

**SKRIPSI**

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Ilmu Farmasi Falkutas pada Falkutas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh:**

**Hesty Risa Oktastika  
19133749 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**HALAMAN PENGESAHAN**

Berjudul

**UJI TOKSISITAS AKUT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) dan JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.)  
PADA TIKUS PUTIH BETINA GALUR WISTAR**

Oleh:

**Hesty Riza Oktastika  
19133749 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal: 10 Juni 2017

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,

Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping,

Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt  
Penguji:

1. Wiwin Herdwiani M.Sc., Apt

1.....

2. Fransiska Leviana M.Sc., Apt

2.....

3. Iswandi S.Si., M.Farm., Apt

3.....

4. Ika Purwidyaningrum M.Sc., Apt

4.....

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Bismillahirrahmanirrahim...*

*"...Allah akan meninggikan derajat orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang mempunyai ilmu pengetahuan beberapa derajat..."*

*(QS Al-Mujadilah-11)*

*Alhamdulillah kupersembahkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan kesempatan untuk menyelesaikan skripsi ini dengan segala kekuranganku. Segala syukur ku ucapkan kepadaMu karena telah menghadirkan mereka yang selalu memberi semangat dan doa disaat ku tertatih. KarenaMu lah mereka ada, dan karenaMu lah skripsi ini terselesaikan.*

*Hanya padaMu tempat kumengadu dan mengucapkan syukur Sholawat dan salam selalu terlimpahkan keharibaan Rasulullah Muhammad SAW.*

*Setiap halaman, kalimat, kata dari skripsi ini saya persembahkan pada :  
Allah SWT, Ibunda dan Ayahanda tercinta dan tersayang dan keluarga besar  
yang terkasih,*

*Teman-teman seperjuangan yang selalu memberikan dukungan, doa dan  
semangat*

*Dosen pembimbing skripsiku dan seluruh dosen Universitas Setia Budi*

*Sahabat dan teman terbaikku*

*Almamater, bangsa, dan negara*

## **PERNYATAAN**

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2017



Hesty Riza Oktastika

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah hirabbil alamin, segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena dengan Rahmat, Ni'mat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "UJI TOKSISITAS AKUT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) dan JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.) PADA TIKUS PUTIH BETINA GALUR WISTAR" Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis dengan senang hati menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A Oetari, SU.,MM., M.Sc.,Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Ika Purwidyaningrum M.Sc.,Apt. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, memberi nasehat, petunjuk dan bimbingan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
4. Endang Sri Rejeki M.Si.,Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah waktu, memberi nasehat, petunjuk dan bimbingan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
5. Wiwin Herdwiani M.Sc.,Apt, Fransiska Leviana M.Sc.,Apt dan Iswandi S.Si.,M.Farm.,Apt sebagai tim penguji yang telah memberikan tambahan ilmu, petunjuk, kritik dan sarannya serta kesediannya dalam menelaah skripsi ini.
6. Segenap dosen, asisten & staff Laboratorium, serta karyawan perpustakaan yang telah banyak membantu dan menyediakan fasilitas demi kelancaran skripsi.

7. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi dan jauh dari kata sempurna, oleh karena itu kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dibidang obat tradisional kedepannya.

Surakarta, Juni 2017

Hesty Riza Oktastika

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Rimpang Kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.).....	5
1. Sistematika rimpang kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.) .....	5
2. Nama daerah.....	5
3. Morfologi tanaman .....	6
4. Kandungan kimia tanaman.....	6
5. Khasiat dan kegunaan.....	6
B. Rimpang Jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.).....	7
1. Sistematika rimpang jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.).....	7
2. Nama daerah.....	7
3. Morfologi tanaman .....	8
4. Kandungan kimia tanaman.....	8
5. Khasiat dan kegunaan.....	8
C. Simplisia .....	8
1. Pengertian simplisia .....	8
2. Cara pembuatan simplisia .....	9
D. Ekstraksi .....	9
1. Pengertian ekstraksi.....	9

2.	Soxhletasi .....	10
3.	Pelarut.....	10
E.	Tikus Putih.....	11
1.	Sistematika .....	11
2.	Karakteristik .....	11
3.	Perlakuan binatang percobaan.....	11
4.	Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji .....	12
5.	Jenis kelamin tikus .....	12
6.	Cara pengujian hewan .....	12
F.	Metode Uji Toksisitas Akut.....	12
1.	Metode konvensional .....	13
2.	<i>Fixed dose method</i> .....	14
G.	Uji Toksisitas.....	15
1.	Uji toksisitas .....	16
1.1	Uji toksisitas akut.....	16
1.2	Uji toksisitas subkronis .....	17
1.3	Uji toksisitas kronis.....	17
2.	Pengamatan gejala hewan percobaan .....	17
2.2	Perubahan pada <i>neurological profile</i> .....	18
2.3	Perubahan pada <i>autonomic profile</i> .....	18
H.	Landasan Teori .....	19
I.	Hipotesis .....	21
BAB III METODE PENELITIAN .....		22
A.	Populasi dan Sampel.....	22
B.	Variabel Penelitian .....	22
1.	Identifikasi variabel utama .....	22
2.	Klasifikasi variabel utama .....	22
3.	Definisi operasional variabel utama .....	23
C.	Bahan dan Alat .....	23
1.	Bahan.....	23
2.	Alat .....	24
D.	Jalannya Penelitian .....	24
1.	Determinasi tanaman.....	24
2.	Penyiapan simplisia.....	24
3.	Pembuatan serbuk rimpang kunyit dan jahe.....	24
4.	Penentuan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit dan jahe .....	24
5.	Pemeriksaan bebas alkohol .....	25
6.	Identifikasi senyawa kimia ekstrak rimpang kunyit dan jahe .....	25
6.1	Identifikasi flavonoid .....	25
6.2	Identifikasi alkaloid .....	25
6.3	Identifikasi saponin .....	25
6.4	Identifikasi tanin .....	25
7.	Pembuatan ekstrak.....	26

8.	Penentuan dosis .....	26
9.	Pembuatan sediaan uji .....	26
9.1	Larutan tween 80 2% .....	26
9.2	Larutan kombinasi ekstrak 0,04 g/ 100 mL .....	26
9.3	Larutan kombinasi ekstrak 0,4 g/ 100 mL .....	27
9.4	Larutan kombinasi ekstrak 2 g/ 100 mL .....	27
9.5	Larutan kombinasi ekstrak 15 g/ 100 mL .....	27
9.6	Larutan kombinasi ekstrak 40 g/ 100 mL .....	27
10.	Persiapan hewan uji .....	27
11.	Uji efek toksisitas akut .....	28
E.	Analisis Hasil .....	30
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>31</b>
A.	Hasil dan Pembahasan Penelitian .....	31
1.	Determinasi tanaman .....	31
2.	Hasil pengambilan bahan .....	31
3.	Hasil pembuatan serbuk tanaman .....	31
4.	Penetapan kadar kelembaban serbuk tanaman .....	32
5.	Penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan rimpang jahe .....	33
6.	Pembuatan ekstrak etanol rimpang kunyit dan rimpang jahe .....	33
7.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe .....	34
8.	Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang kunyit dan jahe .....	35
9.	Penetapan dosis .....	35
9.1	Dosis tween 80 2% .....	35
9.2	Dosis sediaan uji .....	35
10.	Hasil uji toksisitas akut sediaan uji kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe .....	36
11.	Hasil pengamatan gejala-gejala toksik .....	36
11.1	Hasil perubahan perilaku ( <i>behaviour profile</i> ) .....	36
11.2	Hasil perubahan <i>neurological profile</i> .....	38
11.3	Hasil perubahan <i>autonomic profile</i> .....	40
12.	Hasil perhitungan berat badan tikus putih betina .....	42
13.	Hasil perhitungan LD <sub>50</sub> .....	43
14.	Hasil penimbangan bobot organ .....	44
15.	Hasil pengamatan organ secara makroskopis .....	45
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>47</b>
A.	Kesimpulan .....	47
B.	Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>48</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>52</b>

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rimpang tanaman kunyit .....	5
Gambar 2. Rimpang tanaman jahe .....	7

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus) .....	16
Tabel 2. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ badan beserta sistem urat syaraf .....	19
Tabel 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang kunyit dan jahe. ....	32
Tabel 4. Hasil penetapan kadar kelembaban rimpang kunyit dan jahe .....	32
Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit .....	33
Tabel 6. Hasil perhitungan rendemen ekstrak rimpang kunyit dan jahe. ....	34
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe secara kualitatif. ....	34
Tabel 8. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang kunyit dan jahe .....	35
Tabel 9. Hasil persentase perubahan perilaku <i>grooming</i> tiap kelompok .....	37
Tabel 10. Hasil persentase perubahan perilaku <i>straub</i> tiap kelompok .....	38
Tabel 11. Hasil persentase perubahan perilaku tremor tiap kelompok .....	39
Tabel 12. Hasil persentase perubahan perilaku <i>ptosis</i> tiap kelompok .....	40
Tabel 13. Hasil persentase perubahan frekuensi defekasi tiap kelompok .....	40
Tabel 14. Hasil persentase perubahan frekuensi urinasi tiap kelompok .....	41
Tabel 15. Hasil persentase perubahan perilaku piloereksi tiap kelompok .....	41
Tabel 16. Rata-rata berat badan tikus .....	42
Tabel 17. Hasil persentase kematian hewan uji toksisitas kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe. ....	43
Tabel 18. Hasil rata-rata berat organ. ....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi rimpang kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.).....	53
Lampiran 2. Hasil determinasi rimpang jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.) .....	54
Lampiran 3. Sertifikasi hewan uji .....	55
Lampiran 4. Gambar rimpang kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.) dan rimpang jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.).....	56
Lampiran 5. Identifikasi senyawa ekstrak rimpang kunyit dan jahe.....	58
Lampiran 6. Perlakuan hewan uji .....	59
Lampiran 7. Pengamatan organ secara makroskopis .....	60
Lampiran 8. Skema pembuatan ekstrak rimpang kunyit.....	61
Lampiran 9. Skema pembuatan ekstrak rimpang jahe .....	62
Lampiran 10. Skema pembuatan sediaan uji.....	63
Lampiran 11. Hasil rendemen kering.....	64
Lampiran 12. Hasil rendemen ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe .....	65
Lampiran 13. Skema kerja toksisitas .....	67
Lampiran 14. Penentuan dosis uji .....	69
Lampiran 15. Perhitungan persentase analisa perilaku .....	73
Lampiran 16. Penimbangan berat badan tikus .....	75
Lampiran 17. Penimbangan berat organ tikus.....	79
Lampiran 18. Perhitungan indeks berat organ .....	80
Lampiran 19. Hasil uji statistik indeks organ tikus.....	81

## INTISARI

**OKTASTIKA, HR., 2017, UJI TOKSISITAS AKUT KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) dan JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.) PADA TIKUS PUTIH BETINA GALUR WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) merupakan tanaman tradisional yang banyak tersedia di alam. Tanaman tersebut digunakan sebagai obat-obatan tradisional salah satunya sebagai antiinflamasi, namun belum ada penelitian untuk meneliti standar keamanan ekstrak rimpang kunyit dan jahe. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek toksisitas akut terhadap tikus putih betina.

Kombinasi rimpang kunyit dan jahe disokhletasi dengan etanol 70%. Uji toksisitas akut dilakukan dengan metode *fixed dosed* menggunakan hewan uji tikus betina sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kontrol negatif, dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, dan 5000 mg/kgBB. Penelitian dilakukan selama 24 jam hingga 14 hari, indeks bobot organ tikus dilakukan uji statistik dengan ANAVA satu arah dan dilanjutkan Post-Hoc.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe sampai dosis 5000 mg/kgBB menimbulkan kematian hewan uji, dapat mempengaruhi perubahan syaraf otonom dan perubahan neurologi, dan dapat mempengaruhi bobot organ, indeks organ dan makroskopis organ. Dengan demikian LD<sub>50</sub> ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe pada tikus sebesar 707,945 mg/kgBB dengan tingkat letalitas sedikit toksik.

---

Kata kunci : Toksisitas akut, rimpang kunyit, dan rimpang jahe.

## ABSTRACT

**OKTASTIKA, HR., 2017, TEST OF ACUTE TOXICITY ETANOL EXTRACT COMBINATIONS RHIZOMESOF TURMERIC (*Curcuma domestica* Val.) AND GINGER(*Zingiber officinale* Rosc.) IN FEMALE WHITE RATS GALUR WISTAR, THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Turmeric rhizome (*Curcuma domestica* Val.) And ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) are traditional plants that widely available in nature. The plants are used as traditional medicines one of them as anti-inflammatory, but there is no research to examine the safety standard of turmeric rhizome and ginger extract. This study was aimed to examine the effects of acute toxicity on white female rat.

Combination of turmeric and ginger rhizome was soclethlet with ethanol 70% until obtained thick extract. Acute toxicity test was performed with fixed dosed method using female rat as much as 30 animals divided into 6 groups, namely negative control, dose 5 mg/kgBW, 50 mg/kgBW, 300 mg/kgBW, 2000 mg/kgBW, and 5000 mg/KgBW. The study was conducted for 24 hours to 14 days, index of rat organ weight was statistically tested with one way ANAVA and continued Post-Hoc.

The results showed that combination ethanolextracts of turmeric and ginger rhizome to dose of 5000 mg/kgBW is result in the death of test animals and no significant toxic effects, so it can be stated safe, may affect the autonomic nervous changes and neurological changes, and may affect the organ weight, and organ macroscopic. Thus LD<sub>50</sub> ethanol extract of turmeric and ginger rhizomes in rat greater is 707,945mg/KgBW with letalitas level is slightly toxic.

---

Keywords: Acute toxicity, turmeric rhizome, and ginger rhizome

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Keanekaragaman hayati yang terdapat di Indonesia lebih dari 25.000-30.000 spesies tanaman dan sekitar 6.000 di antara jenis tanaman tersebut memiliki potensi untuk dijadikan tanaman obat (Kardono *et al.* 2003). Penggunaan tanaman obat sebagai obat alternatif dalam pengobatan di masyarakat semakin meluas, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai uji keamanannya (Depkes 2000).

Beragam tanaman di Indonesia yang dapat dikembangkan menjadi obat tradisional, salah satunya adalah tanaman kunyit (*Curcuma domestica* Val.) (Syukur & Hernani 2011). Konsumsi kunyit dalam masyarakat sering kali tidak terkontrol terutama untuk kunyit dalam bentuk sediaan jamu tradisional, sehingga tidak dapat dipastikan penggunaan kunyit tersebut aman atau toksik terutama pada hati karena terdapat sebanyak 64 kandungan senyawa dalam kunyit yang diduga bersifat hepatotoksik (Balaji dan Chempakan, 2010), sehingga perlu adanya pengujian terkait toksisitas pada kunyit (Maharani *et al.* 2015).

Penelitian Winarsih *et al.* (2012) membuktikan bahwa pada pemberian dosis toksik fraksi etil asetat dan n-hexana ekstrak rimpang kunyit pada uji intoksikasi akut menimbulkan perubahan patologi anatomi pada beberapa organ yaitu lambung, hati, dan ginjal. Perubahan anatomi organ bertambah parah sejalan dengan pertambahan dosis. Nilai LD<sub>50</sub> fraksi n-hexana rimpang kunyit adalah 19,25 g/kgBB, pada fraksi etil asetat adalah 27,980 g/kgBB. Pada kelompok yang diberi fraksi n-hexana perubahan patologi anatomi paling parah terjadi pada kelompok yang diberi dosis tertinggi yaitu 60 g/kgBB.

Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) juga merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai ramuan obat-obatan, bahan makanan dan minuman. Rimpang jahe mengandung komponen minyak menguap, minyak tak menguap (*non volatile oil*) dan pati. Minyak menguap disebut minyak atsiri merupakan komponen pemberi bau yang khas, sedangkan minyak tak menguap yang disebut

oleoresin merupakan komponen pemberi rasa pedas dan pahit. Minyak atsiri sifatnya mudah menguap bermanfaat untuk menghilangkan nyeri, antiinflamasi dan bakteri (Djamal, 1982; Mahendra, 2005). Jahe dalam pengobatan tradisional digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan, diare, mual, arthritis, pilek, gejala flu, sakit kepala dan pra menstruasi (Azam *et al.* 2014).

Penelitian Mulyaningsih *et al.*(1999) membuktikan bahwa pada uji toksisitas akut dengan pemberian jahe pemeriksaan makroskopis pada mencit selalu menunjukkan gejala yang sama dengan hewan uji tikus yaitu mengalami kesulitan pernafasan dan tubuh secara keseluruhan kelihatan lemas, sedangkan pada hewan yang mati selalu terjadi urinasi. LD<sub>50</sub> minyak atsiri jahe pada mencit adalah 3,125 mg/kgBB. LD<sub>50</sub> jahe pada tikus lebih besar dari mencit yaitu 12,99 mg/kgBB. Pemberian obat dosis tinggi menyebabkan kematian yang relatif lebih cepat karena terjadi kontraksi pada organ tertentu, seperti trakhea atau saluran nafas juga pada kandung kemih. Mekanisme kontraksi ini dapat menyebabkan kematian pada hewan uji.

Penelitian obat tradisional di Indonesia mencakup penelitian obat tradisional tunggal maupun dalam bentuk kombinasi (Dewoto 2007). Penelitian Singh *et al.*(2014) membuktikan bahwa kombinasi rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) pada dosis 400 mg/kgBB dengan perbandingan 1:1 terbukti sebagai dosis yang efektif. Kombinasi kedua ekstrak ini menunjukkan efek antiinflamasi.

Data praklinis dari masing-masing tanaman kunyit dan jahe membuktikan bahwa kedua tanaman tersebut menghasilkan efek antiinflamasi (Meltyza *et al.* 2014; Wresdiyanti *et al.* 2003). Ditinjau dari penelitian sebelumnya kombinasi rimpang kunyit dan jahe pada dosis 400 mg/kgBB dengan perbandingan 1:1 terbukti memberikan dosis yang efektif sebagai antiinflamasi (Singh *et al.* 2014). Efek sinergis dapat dihasilkan jika kedua tanaman tersebut dikombinasi, sehingga kemungkinan toksisitas jika kedua tanaman tersebut dikombinasi semakin besar.

Obat tradisional cukup banyak digunakan oleh masyarakat (*self-medication*), tetapi profesi kesehatan masih ragu untuk meresepkan atau menggunakannya. Alasan utamanya adalah karena bukti ilmiah mengenai khasiat

dan keamanan obat tradisional pada masyarakat secara klinik masih kurang sehingga data khasiat dan keamanan obat tradisional pada manusia masih sangat jarang. Untuk dapat dilakukan uji klinik harus melalui uji praklinik, salah satunya adalah uji toksisitas (Dewoto 2007).

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Uji toksisitas secara kuantitatif dapat ditinjau dari lamanya waktu, yang dapat diklasifikasikan menjadi toksisitas akut, sub akut, dan kronis (BPOM 2014).

Uji toksisitas akut merupakan kejadian keracunan akibat pemaparan bahan toksik dalam waktu singkat, yang biasanya dihitung menggunakan LD<sub>50</sub>. Uji LD<sub>50</sub> adalah pengujian untuk menetapkan potensi toksisitas akut, menilai berbagai gejala toksik, spektrum efek toksik dan mekanisme kematian (Ibrahim *et al.* 2012). Gejala-gejala klinis yang dapat timbul akibat zat toksik antara lain gangguan pada syaraf otonom, syaraf otot, perilaku,perasa, urat darah pada jantung, mata, saluran pencernaan dan kulit (Harmita & Radji 2004).

Penelitian mengenai toksisitas dari kombinasi kedua tanaman ini belum ada sehingga perlu diteliti lebih lanjut agar diketahui batas keamanan dari kombinasi kedua tanaman tersebut untuk dapat dikonsumsi dan tidak menimbulkan efek berbahaya bagi konsumen dan diharapkan ke depannya dapat dikembangkan menjadi sebuah produk yang praktis untuk dikonsumsi oleh masyarakat.

## **B. Perumusan Masalah**

Permasalahan dalam penelitian ini adalah pertama, berapakah LD<sub>50</sub> dari kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe ?

Kedua, apakah pemberian kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat mempengaruhi perilaku, perubahan syaraf otonom, dan perubahan neurologi hewan uji tikus ?

Ketiga, apakah pemberian kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat mempengaruhi bobot organ dan makroskopis organ ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah pertama, mengetahui LD<sub>50</sub> dari kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe ?

Kedua, mengetahui apakah kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat mempengaruhi perilaku, perubahan syaraf otonom, dan perubahan neurologi hewan uji tikus.

Ketiga, mengetahui apakah kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat mempengaruhi bobot organ dan makroskopis organ.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan. Berkaitan dengan pengembangan dan penggunaan tanaman obat tradisional secara aman, tepat dan efisien, khususnya pada kombinasi rimpang jahe dan rimpang kunyit dalam membantu pengobatan.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.)



**Gambar 1. Rimpang tanaman kunyit**

#### 1. Sistematika rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.)

Menurut Said (2007) rimpang kunyit memiliki sistematika sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatopytha
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma domestica</i> Val.

#### 2. Nama daerah

Tanaman kunyit terdapat di berbagai wilayah di Indonesia dan dikenal dengan berbagai nama. Menurut Said (2007), nama daerah tanaman kunyit yaitu Sumatera (hunik, unik); Jawa (kunir, kunie bentis, temukuning; Kalimantan (kunit, janar, cahang); Nusa Tenggara (huni, wingurun, kuneh, guni); Sulawesi (uni kuni, kunyi, unyi); Maluku (kumino, uninum, kumine, guraci); Papua (rame, kandefaifu, nikwai).

### **3. Morfologi tanaman**

Tanaman kunyit mempunyai tinggi tanaman antara 40 sampai 100 cm. Batang berbentuk bulat memanjang dengan tinggi mencapai 0,75-1 meter. Daun kunyit berbentuk bulat telur memanjang tersusun secara berseling-seling dengan panjang helai daun 31-84 cm dan lebar daun 10-18 cm. Bunga kunyit berwarna putih atau kuning muda dengan pangkal berwarna putih. Rimpang berbentuk bulat panjang dan membentuk cabang rimpang berupa batang yang ada dalam tanah (Said 2007).

### **4. Kandungan kimia tanaman**

Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) mengandung protein (6,3%), minyak (13,1%), mineral (3,5%), karbohidrat (69,4%) dan lemak (5,1%). Minyak esensial yang didestilasi dari rimpangnya mengandung  $\alpha$ -phellandrene (1%), sabinene (0,6%), cineol (1%), borneol (0,5%), zingiberene (25%) dan sesquiterpen (5,3%). Dimethoxy dan bisdemethoxy merupakan derivat yang dapat diisolasi dari curcumin (Setiawan *et al.* 2011).

### **5. Khasiat dan kegunaan**

Kurkumin yang terkandung dalam tanaman kunyit digunakan sebagai analgesik, antibakteri, antioksidan dan ekspektoran. Secara empiris rimpang kunyit digunakan untuk antiinflamasi dan obat rumah tangga (Mujumdar *et al.* 2000). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa pada kelompok dosis I (ekstrak etanol kunyit putih 300 mg/kgBB), dosis II (ekstrak etanol kunyit putih 600 mg/kgBB), dan dosis III (ekstrak ekstrak etanol kunyit putih 900 mg/kgBB) terjadi penurunan volume edema telapak kaki tikus. Hal ini terjadi karena pada kelompok dosis I, II dan III seluruh tikus diberikan ekstrak etanol kunyit putih sesuai dosis, sehingga terbentuk respon protektif terhadap reaksi inflamasi berupa edema telapak kaki tikus (Meltyza *et al.* 2014).

## B. Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)



Gambar 2. Rimpang tanaman jahe

### 1. Sistematika rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)

Kedudukan rimpang jahe dalam sistematika tanaman (Harmono & Andoko 2005).

Divisi	: Spermatophyte
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Zingiber
Jenis	: <i>Zingiber officinale</i> Rosc.

### 2. Nama daerah

Halia (Aceh), bening (Gayo), bahing (Karo), pege (Toba), sipode (Mandailing), lahia (Nias), sipodeh (Minangkabau), page (Lubu), jahi (Lampung), jahe (Sunda), jae (Jawa), jhai (Madura), jae (Kangean), layu (Mongondow), moyuman (Poros), melito (Gorontalo), yuyo (Buol), siwei (Baree), laia (Makasara), pace (Bugis), jae (Bali), reja (Bima), alia (Sumba), dan lea (Flores), lai (Dayak), tipakan/hairalo (Amahai), pupu/seeia/sehi (Ambon), sehi (Hila), sehil (Nusalaut), siwei (Buns), garaka (Ternate), gora (Tidore), laian (Aru), tali (Kalanapat), marman (Kapaur) (Bermawie & Susi 2011).

### 3. Morfologi tanaman

Jahe adalah ramuan herbal dengan akar dibawah tanah dimana batang tumbuh dengan tinggi  $\pm 1$ m dan seluruh batang tertutup oleh daun. Daunnya memiliki panjang 8-12 inci dan berdiri jauh dari batang, meruncing dikedua ujungnya. Akarnya banyak, besar, silinder, berdaging tebal dan berwarna kuning (Azam *et al.* 2014).

### 4. Kandungan kimia tanaman

Rimpang jahe mengandung 0,6 - 3% minyak atsiri yang terdiri a-pinen,  $\beta$ -phellandren, borneol, camphene, limonene, linalool, citral, nonylaldehyde, dechylaldehyde, methelheptenon, cineol, bisabolen, 1- a- curcumen, farneen, humulen, 60% Zingiberene, dan zingiberole menguap (zat pedas gingerol yaitu : (6)-gingerol 60-85%;(4)-gingerol;(8)-gingerol 5-15% (10)-gingerol 6-22% (12)-gingerol; (6)-methylgingerdiol, diarylheptanoide, diaryl1-3-hydroxy-5-heptanone, aryl-curcumene,  $\beta$ -bisabolone, (E)-a-farnesene (Koswara 1995).Rimpang jahe juga memiliki potensi sebagai antiinflamasi (Sudarsono *et al.* 2002).

### 5. Khasiat dan kegunaan

Rimpang *Zingiber officinale* yang berasa pedas digunakan untuk meningkatkan nafus makan, peluruh keringat, batuk, gangguan pencernaan atau muntah-muntah, dan memiliki potensi sebagai antiinflamasi (Sudarsono *et al.* 2002). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa oleoresin jahe memberikan efek antiinflamasi pada jaringan ginjal tikus yang mengalami perlakuan stres. Efek antiinflamasi tersebut terlihat sangat nyata pada dosis 60 mg/kgBb/hari selama 7 hari perlakuan dan 80 mg/kgBB/hari selama 3 dan 7 hari perlakuan (Wresdiyati *et al.* 2003).

## C. Simplisia

### 1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh dan eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel

yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya. Bentuk serbuk dari simplisia nabati memiliki ukuran derajat kehalusan tertentu. Berdasarkan derajat kehalusannya, dapat berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus (Depkes 2008).

## **2. Cara pembuatan simplisia**

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Tahapan ini dimulai dari pengumpulan bahan baku untuk menentukan kualitas bahan baku. Langkah selanjutnya sortasi basah yaitu penilaian hasil panen ketika tanaman masih segar, lalu dilakukan pencucian untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar pestisida. Perubahan bentuk dilakukan untuk memperluas permukaan bahan baku. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, kemudian sortasi kering yaitu pemilihan bahan sesudah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengemasan dan penyimpanan (Sugiarto 2013).

## **D. Ekstraksi**

### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi adalah segala proses penarikan zat utama yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih berdasarkan zat yang ingin dilarutkan. Bahan-bahan tanaman terdiri atas campuran zat yang berbeda-beda, beberapa bahan ada yang mempunyai efek farmakologi yang dianggap sebagai zat yang dibutuhkan dan yang lainnya yang tidak aktif secara farmakologi dianggap sebagai zat *inert* (Ansel 2011). Ekstrak merupakan sediaan kering, kental, cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok dengan pengaruh cahaya matahari langsung (Anief 2000). Metode ekstraksi yang dipilih dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dengan cara soxhletasi.

## **2. Soxhletasi**

Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong, selanjutnya masuk kembali dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon. Proses ini berlangsung hingga penyarian zat aktif sempurna yang ditandai dengan beningnya cairan penyari yang melalui pipa sifon (Akhyar 2010).

Metode soxhletasi merupakan metode ekstraksi terbaik untuk memperoleh hasil ekstrak yang banyak dan juga pelarut yang digunakan lebih sedikit (efisien bahan), waktu yang digunakan lebih cepat, sampel yang diekstraksi secara sempurna karena dilakukan secara berulang-ulang. Aktivitas biologis juga tidak hilang saat dipanaskan. Teknik ini dapat digunakan dalam pencarian induk obat (Heinrich 2014).

## **3. Pelarut**

Pelarut adalah zat yang digunakan untuk melarutkan suatu zat dan biasanya jumlahnya lebih besar daripada zat terlarut. Hal-hal yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, kapasitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut tersebut. Prinsip kelarutan yaitu: pelarut polar akan melarutkan senyawa polar demikian juga sebaliknya pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar dan pelarut organik akan melarutkan senyawa organik (Yunita 2004).

Pemilihan pelarut yang akan digunakan dalam pengekstraksian dari bahan mentah obat atau simplisia tertentu didasarkan pada daya kelarutan terhadap suatu zat aktif dan zat tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan juga tergantung pada tipe preparat farmasi yang diperlukan. Penilaian lainnya adalah dapat melarutkan zat aktif semaksimal mungkin dan seminimal mungkin untuk zat-zat aktif yang tidak diperlukan (Ansel 2011).

Etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinin, flavonoid, steroid dan klorofil yang hanya dapat melarutkan tanin dan saponin dalam jumlah kecil.

Etanol dapat dipilih sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol lebih dari 20%, netral, tidak beracun, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan lebih sedikit. Penyarian biasanya ditingkatkan dengan campuran antara etanol dengan air (Depkes 1986).

## **E. Tikus Putih**

### **1. Sistematika**

Sistematika binatang percobaan dalam penelitian ini sebagai berikut :

Fillum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Sub Kelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Myomorpha
Marga	: Muridae
Sub family	: Murinae
Genus	: Ratus
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i> (Depkes 2009)

### **2. Karakteristik**

Tikus putih adalah satwa liar yang sering berisolasi dengan kehidupan manusia. Tikus putih memiliki ciri morfologi berbulu halus dan lembut, bentuk hidung kerucut, dan bentuk badan silindris. Di Asia habitatnya di hutan tepatnya daerah bersemak, dan ditenakkan (Priyambodo 2003).

### **3. Perlakuan binatang percobaan**

Tikus yang dipakai dalam penelitian ini adalah tikus putih betina galur wistar rentang 6-8 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Tikus harus diadaptasikan dengan kondisi laboratorium terlebih dahulu selama 7 hari agar tidak terjadi stres pada hewan uji saat perlakuan. Pada hari terakhir dipuaskan selama 12 jam tetapi tetap diberi minum, tujuannya adalah agar kondisi hewan uji tetap sama dan untuk mengurangi pengaruh perubahan cuaca terutama temperatur dan kelembapan (BPOM 2014).

#### **4. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji**

Ruangan yang digunakan untuk percobaan hendaknya memenuhi persyaratan suhu, kelembapan, cahaya dan kebisingan yang sesuai dengan kebutuhan hidup hewan uji, yaitu suhu ruangan diatur menjadi  $22^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ , dengan kelembapan relatif 30-70%, dan penanganan 12 jam terang 12 jam gelap. Ruangan harus selalu dijaga kebersihannya. Hewan diberi pakan yang sesuai standart laboratorium dan diberikan tanpa alas (*ad libitum*). Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material yang kedap air, kuat dan mudah dibersihkan, ruang pemeliharaan bebas dari kebisingan. Luas area kandang per ekor hewan untuk tikus (berat 150-200 g) luas alas kandang  $148,4 \text{ cm}^2$ , tinggi 17,8 cm (BPOM 2014).

#### **5. Jenis kelamin tikus**

Prinsip jenis hewan yang digunakan untuk uji toksisitas harus dipertimbangkan berdasarkan sensitivitas, cara metabolisme sediaan uji yang serupa dengan manusia, kecepatan tumbuh serta mudah-tidaknya cara penanganan sewaktu dilakukan percobaan. Hewan pengerat merupakan jenis hewan yang memenuhi persyaratan tersebut, sehingga paling banyak digunakan pada uji toksisitas. Hewan yang digunakan harus sehat; asal, jenis dan galur, jenis kelamin, usia, serta berat badan harus jelas. Hewan muda dewasa sering digunakan, dengan variasi bobot tidak lebih dari 20%. Pada umumnya untuk uji toksisitas digunakan tikus betina karena sedikit lebih sensitif dibandingkan tikus jantan karena sedikit lebih sensitif dibandingkan tikus jantan.

#### **6. Cara pengujian hewan**

Percobaan dengan menggunakan hewan tidak selalu diperoleh hasil yang tepat. Pengujian yang tidak wajar terhadap hewan percobaan dapat memperbesar penyimpangan hasil percobaan. Penanganan hewan percobaan adalah dengan cara memperlakukan hewan percobaan secara baik dan sopan selama masa pemeliharaan maupun selama masa percobaan (Harmita dan Radji 2005).

### **F. Metode Uji Toksisitas Akut**

Toksistas akut awalnya diuji menggunakan metode konvensional, namun metode ini mempunyai kelemahan yaitu hewan uji yang dibutuhkan dalam

menentukan parameter akhir cukup banyak, dimana bertentangan dengan *animal welfare*. Pada tahun 1984 telah dibuat metode alternatif dimana hewan yang digunakan jumlahnya lebih sedikit yaitu metode *Up and Down Procedure*, *Fixed Dose Method* dan *Toxic Class Method*. Jumlah hewan yang digunakan pada uji alternatif lebih sedikit dibandingkan dengan metode konvensional (BPOM 2014).

### **1. Metode konvensional**

Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lainnya). Syarat hewan uji adalah sehat, umur 5-6 minggu untuk mencit, 8-12 minggu untuk tikus. Sekurang-kurangnya 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor dengan jenis kelamin sama (jantan atau betina). Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak melebihi 20% dari rata-rata berat badan. Jika digunakan hewan uji berkelamin betina, maka hewan uji tersebut harus nullipara dan tidak sedang bunting (BPOM 2014).

Dosis uji yang digunakan sekurang-kurangnya adalah 3 dosis berbeda. Dosis terendah adalah dosis tertinggi yang sama sekali tidak menimbulkan kematian, sedangkan dosis tertinggi adalah dosis terendah yang menimbulkan kematian 100 % dengan interval dosis yang mampu menghasilkan rentang toksisitas dan angka kematian. Data ini akan diperoleh suatu kurva dosis-respon yang dapat digunakan untuk menghitung nilai  $LD_{50}$  (BPOM 2014).

Batas uji metode konvensional ini adalah bila hingga dosis 5000 mg/kg BB (pada tikus) tidak menimbulkan kematian, maka uji tidak perlu dilanjutkan dengan menggunakan dosis bahan uji yang lebih tinggi. Pengamatan dilakukan tiap hari selama sekurang-kurangnya 14 hari terhadap sistem kardiovaskuler, pernafasan, somatomotor, kulit dan bulu, mukosa, mata dsb. Perhatian khusus diberikan akan adanya tremor, kejang, salivasi, diare, letargi, lemah, tidur dan koma. Pengamatan meliputi waktu timbul dan hilangnya gejala toksik serta saat terjadinya kematian. Hewan uji yang sekarat dikorbankan dan dimasukkan dalam perhitungan sebagai hewan yang mati. Hewan ditimbang sedikitnya 2 kali dalam 1 minggu. Nilai  $LD_{50}$  dihitung dengan metode *Thompson & Weil*, *Litchfield &*

*Wilcoxon, Miller & Tainter*, regresi linear/probit atau metode statistik lainnya. Semua hewan yang mati, baik yang mati dengan sendirinya atau yang mati dalam keadaan moribund digabungkan jumlahnya untuk penghitungan nilai LD<sub>50</sub> (BPOM 2014).

## **2. Fixed dose method**

Metode ini digunakan untuk bahan uji dengan derajat toksisitas sedang dan dosis yang dipilih adalah yang tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat atau iritatif/ korosif. Prinsip dari metode *fixed dose* ini adalah sekelompok hewan uji dengan jenis kelamin yang sama diberikan dosis bertingkat menggunakan metode fixed doses antara lain: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kg). Dosis awal dipilih berdasarkan uji pendahuluan sebagai dosis yang dapat menimbulkan gejala toksisitas ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik yang berat atau kematian. Prosedur ini dilanjutkan hingga mencapai dosis yang menimbulkan efek toksik atau ditemukan tidak lebih dari 1 kematian, atau tidak tampak efek toksik hingga dosis yang tertinggi atau adanya kematian pada dosis yang lebih rendah (BPOM 2014).

Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lainnya). Kriteria hewan uji yaitu hewan sehat dan dewasa, hewan betina harus yang belum pernah beranak dan tidak sedang bunting, pada permulaan uji setiap hewan harus berumur 8-12 minggu dengan variasi berat badan tidak boleh melebihi 20% dari rata-rata berat badan (BPOM 2014).

Tujuan dari uji pendahuluan adalah mencari dosis awal yang sesuai untuk uji utama. Dosis awal pada uji pendahuluan dapat dipilih dari tingkatan *fixed dose*: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg BB sebagai dosis yang diharapkan dapat menimbulkan efek toksik. Pemeriksaan menggunakan dosis 5000 mg/kg hanya dilakukan bila benar-benar diperlukan. Diperlukan informasi tambahan yaitu data-data toksisitas *in vivo* dan *in vitro* dari zat-zat yang mempunyai kesamaan secara kimiawi dan struktur, jika informasi tersebut tidak ada, maka dosis awalnya ditentukan sebesar 300 mg/kg BB. Interval waktu pengamatan sekurang-kurangnya 24 jam pada setiap dosis dan semua hewan harus diamati sekurang-kurangnya selama 14 hari (BPOM 2014).

### G. Uji Toksisitas

Toksisitas merupakan efek yang tidak ingin ditimbulkan pada spesimen biologi oleh zat untuk meneliti batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan senyawa. Pengukuran toksisitas dapat ditentukan dengan suatu cara kuantitatif yang bermanfaat untuk menyatakan tingkat bahaya zat tersebut (Harmita dan Radji 2005).

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji (BPOM 2014).

Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia. Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* dapat dipercaya adalah pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan; cara pemberian sediaan uji; pemilihan dosis uji; efek samping sediaan uji; teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan (BPOM 2014).

Hasil toksisitas akut dievaluasi berdasarkan kriteria bahaya dari GHS (*Globally Harmonized Classification System for Chemical Substances and Mixture*) yang tercantum dalam *Thirteenth Addendum to the OECD Guidelines for the Testing of Chemical* (OECD 2001) untuk obat, obat tradisional bahan lainnya (Generally Recognized As Safe/GRAS) seperti bahan pangan, penentuan toksisitas akut menggunakan klasifikasi seperti pada Tabel 4 (BPOM 2014).

Tabel 1. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus)

Tingkat toksisitas	LD <sub>50</sub> oral (pada tikus)	Klasifikasi
1	≤1 mg/kg	Sangat toksik
2	1-50 mg	Toksik
3	50-500 mg	Toksik sedang
4	500-5000 mg	Toksik ringan
5	5-15 g	Praktis tidak toksik
6	≥15 g	Relatif tidak membahayakan

Uji toksisitas secara kuantitatif dapat ditinjau dari lamanya waktu, yang dapat diklasifikasikan menjadi toksisitas akut, sub akut, dan kronis. Toksisitas akut adalah efek total yang didapat pada dosis tunggal dalam 24 jam setelah pemaparan. Toksisitas akut bersifat mendadak, waktu singkat, biasanya reversibel. Uji toksisitas atas dasar dosis dan waktu spesifik toksisitas akut. Dosis merupakan jumlah racun yang masuk dalam tubuh. Besar kecilnya dosis menentukan efek secara biologi (BPOM 2000).

## 1. Uji toksisitas

**1.1 Uji toksisitas akut.** Uji toksisitas akut adalah uji untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji dalam dosis tunggal atau dosis berulang dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu sediaan uji dengan dosis bertingkat, diberikan pada masing-masing kelompok, dengan satu dosis berkelompok, dilakukan uji pengamatan terhadap efek toksisitas dan kematian (BPOM 2014).

Uji toksisitas akut oral adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD<sub>50</sub> suatu bahan atau sediaan, serta penentuan penggolongan bahan atau sediaan dan pelabelan. Tujuan dari uji toksisitas akut yaitu untuk menetapkan potensi ketoksikan akut, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, mendapatkan informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, untuk menetapkan kematian pada 50% hewan uji dan uji toksisitas selanjutnya (BPOM 2014).

**1.2 Uji toksisitas subkronis.** Uji toksisitas subkronik yaitu untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan. Prinsip dari uji toksisitas subkronik yaitu sediaan uji dengan dosis bertingkat diberikan dengan satu dosis pada masing-masing kelompok, setiap hari selama 28 atau 90 hari (BPOM 2014).

Uji toksisitas subkronik dilakukan untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, kemungkinan adanya efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang, memperoleh informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level/NOAEL*), melihat adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tertentu (BPOM 2014).

**1.3 Uji toksisitas kronis.** Uji toksisitas kronis oral adalah suatu pengujian untuk melihat efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang selama umur hidup hewan, pemberian sediaan uji tidak kurang dari 1 tahun. Uji toksisitas kronis bertujuan mengetahui profil efek toksisitas yang didapatkan pada uji toksisitas kronis yaitu efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis, dan histopatologi (BPOM 2014).

## **2. Pengamatan gejala hewan percobaan**

Hewan percobaan yang telah diberi perlakuan diamati gejala-gejala klinis yang timbul selama 24 jam tiap 30 menit pada jam ke-0, jam ke-0,5, jam ke-1, jam ke-2 & jam-4 dan pengamatan kematian dilanjutkan sampai hari ke-14. Gejala-gejala klinis secara luas dapat berupa gangguan pada sistem syaraf otonom, perilaku, perasa, syaraf otot, urat darah jantung, pernafasan, mata, pencernaan, dan kulit.

Penelitian hanya akan mengamati gejala-gejala tertentu yang mudah teramati pada saat pengujian sebagai berikut :

**2.1 Perubahan perilaku (*behaviour profile*).** Uji *grooming* yaitu melihat kebiasaan pada mencit menjilat tubuhnya bila frekuensi meningkat menunjukkan adanya stimulasi SSP atau saraf simpatik dan bila terjadi penurunan adanya depresi, gerakan spontan (*spontaneous activity*) terjadi bila mencit bergerak dengan

cepat dan bila mencit sampai tertidur adanya depresi SSP, reaksi sentuh (*touch respon*) apabila mencit disentuh dengan pensil bila mencit tidak merespon menunjukkan adanya anestesi dan reaksi (*pain respon*) yaitu saat ekor mencit dijepit sampai bersuara cicit bila tidak merespon menunjukkan adanya analgesik sedasi atau depresi mental.

**2.2 Perubahan pada *neurological profile*.** Perubahan pada central *excitansi* yang terdiri atas penilaian respon ketegangan (*straub respon*) terlihat pada ekor yang tegang terlihat kaku dan tegak lurus dengan lantai karena stimulasi SSP khususnya sum-sum tulang belakang, gemetar (tremor), kejang (*convulsion*). Perubahan pada motor incoordinator yang terdiri dari penilaian gejala abduksi yang dapat terlihat dari kaki hewan uji yang terbuka menunjukkan adanya depresi SSP atau fungsi neuromuskular, sempoyongan (*ataksia*) yang terlihat dari cara berjalan mencit, dan reaksi refleks (*righting refleks*) yaitu kemampuan mencit untuk membalikkan diri apabila mencit diletakkan terlentang dilantai. Perubahan pada refleks hewan uji dapat berupa pina refleks yaitu gerakan menghindari rangsangan pada telinga, refleks kornea yaitu gerakan menghindari rangsangan mekanis pada kornea mata, dan reflek epsilateral jika bantalan jari kaki yang dipijat dengan pinset maka terlihat usaha melipatnya jari kaki mencit.

**2.3 Perubahan pada *autonomic profile*.** Perubahan alat optik (*Optical sign*) seperti perbesaran pupil di mana melebarnya pupil atau biasa disebut midriasis dan jika terjadi penyempitan disebut miosis, perubahan posisi palpebra dilihat dari kelopak mata yang terbuka atau tidak jika mengecil berarti adanya efek sedasi bila sebaliknya adanya efek rangsangan simpatik, dan terjadinya *eksotalamus* karena adanya tanda efek stimulasi simpatik. Perubahan pada sistem sekresi berupa *urinasi* yaitu pengeluaran air liur yang berlebihan dan *lakrimasi* pengeluaran air mata yang berlebihan. Perubahan gejala umum seperti, menggeliat: tanda bahwa terjadinya iritasi peritoneal, dimana mencit akan merapatkan perutnya pada lantai, piloreksi dengan tanda berdirinya bulu mencit, perubahan warna kulit menjadi pucat.

**Tabel 2. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ badan beserta sistem urat syaraf (Harmita & Radji 2004)**

No.	Sistem	Tanda-tanda Keracunan
1.	Syaraf otonom	<i>Exophthalmos</i> (mata memerah), hidung berlendir, liur keluar, mencret, sering kencing, poliereksi dan <i>relaxed nictitating membrane</i> .
2.	Perilaku	Kurang tenang, gelisah, posisi duduk kepala mendongak, memandang kosong kedepan, kepala menunduk, depredi berat, kaki menggaruk-garuk, terengeh-enggeh, mudah terganggu, sikap bermusuhan agresif maupun defensif, ketakutan, bingung, dan aktivitas aneh.
3.	Perasa/Sensory	Sensitif terhadap rasa sakit, <i>rigthing</i> , kornea labirin (rongga telinga), refleks setempat dan kaki belakang, sensitif terhadap sura dan sentuhan, nistagmus, dan <i>ponation</i> .
4.	Syaraf otot	Aktivitas meningkat atau menurun, <i>fasciculation</i> , gemetar, kejang-kejang, tidak bisa digerakkan, <i>prostation</i> , ekor membengkok ke bawah kemuka, kaki belakang lemah, reflek jelek <i>ophisthotonus</i> , kedutan, dan kematian.
5.	Urat darah jantung	Detak jantung naik atau turun, sianosis, penyumbatan / gangguan urat darah jantung, pelebaran urat darah jantung, pendarahan.
6.	Respiratry/ Pernafasan	<i>Hypopnea</i> , <i>dyspnea</i> , megap-megap, dan <i>apnea</i> .
7.	Ocular/mata	Midriasis, misis, lakrimasi, ptosis, nistagmus, siklopledia, dan <i>pupillary light</i> reflek.
8.	Gastrointestinal/ gastrourinary	Air liur keluar terus, mencret, kotoran dan air seni berdarah, sembelit, <i>rhinorrhea</i> , kencing dan buang air besar tidak terkontrol.
9.	Cutaneous (kulit)	Alopesia, piloereksi, gemeter seperti anjing badannya basah, eritema, edema, nekrosis (bercak-bercak), dan bengkak.

## H. Landasan Teori

Toksisitas akut adalah perkiraan potensi bahaya suatu zat pada manusia maupun hewan. Parameter untuk menentukan dosis yang dapat menyebabkan ketoksikan akut adalah LD<sub>50</sub> yaitu dosis yang dapat menyebabkan kematian pada 50% hewan uji dan gejala-gejala klinik yang timbul akibat penggunaan kombinasi tersebut. Uji toksisitas akut dapat dilakukan sebagai langkah awal untuk mengetahui adanya sifat toksik yang dapat timbul dengan cepat pada penggunaan

kombinasi rimpang kunyit dan rimpang jahe. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa kombinasi rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dengan perbandingan 1:1 sebesar 400 mg/kgBB merupakan dosis efektif (Singh *et al.* 2014).

Pemberian dosis toksik ekstrak rimpang kunyit menimbulkan perubahan patologi anatomi pada beberapa organ yaitu lambung, hati dan ginjal. Nilai LD<sub>50</sub> fraksi n-hexana rimpang kunyit adalah 19,25 g/kgBB, pada fraksi etil asetat adalah 27,980 g/kgBB (Winarsih *et al.* 2012). Pada uji toksisitas akut dengan pemberian jahe pemeriksaan makroskopis hewan uji mencit selalu menunjukkan gejala yang sama dengan hewan uji tikus yaitu mengalami kesulitan pernafasan dan tubuh secara keseluruhan kelihatan lemas, sedangkan pada hewan yang mati selalu terjadi urinasi. LD<sub>50</sub> minyak atsiri jahe pada mencit adalah 3,125 mg/kgBB. LD<sub>50</sub> jahe pada tikus lebih besar dari mencit yaitu 12,99 mg/kgBB (Mulyaningsih *et al.* 1999).

Metode yang digunakan untuk menentukan dosis adalah *fixed dose*. Metode ini digunakan untuk bahan uji dengan derajat toksisitas sedang dan dosis yang dipilih adalah yang tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat atau iritatif/korosif. Prinsip dari metode *fixed dose* ini adalah sekelompok hewan uji dengan jenis kelamin yang sama diberikan dosis bertingkat menggunakan metode *fixed doses* antara lain: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kg) (BPOM 2014).

Prinsip dari metode toksisitas akut ini yaitu dilakukan pada hewan percobaan yang sehat diberikan kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB secara oral dengan dosis yang dapat menyebabkan kematian 50% kelompok hewan uji mati pada sekali pemberian dan diberi kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan sediaan uji. Pengamatan dilakukan untuk setiap gejala klinis yang timbul setelah perlakuan dan pencatatan jumlah hewan uji yang mengalami kematian. Data berupa kelompok dosis yang mengalami kematian akibat suatu zat yang dipejankan dan biasanya dinyatakan dalam LD<sub>50</sub> kemudian dosis tersebut dapat diklasifikasikan untuk menentukan peringkat letalitasnya.

## **I. Hipotesis**

Pertama, LD<sub>50</sub> dari kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe adalah <5000.

Kedua, pemberian kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe memberikan efek toksik terhadap perilaku, perubahan syaraf otonom dan perubahan neurologi hewan uji tikus.

Ketiga, kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat mempengaruhi bobot organ dan makroskopis organ.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit dan rimpang jahe yang diperoleh pada bulan Januari 2017 dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit dan rimpang jahe yang diambil dari tanaman *Curcuma domestica* Val. dan *Zingiber officinale* Rosc. dan diambil rimpang yang masih segar dan berbau khas yang diperoleh pada bulan Januari 2017 dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak rimpang kunyit dan jahe dalam berbagai variasi dosis. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah uji toksisitas akut ekstrak rimpang kunyit dan jahe pada tikus putih betina galur wistar. Variabel ketiga dalam penelitian ini adalah hewan uji dan kondisi percobaan.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama dapat diklasifikasikan dalam berbagai variabel yakni variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak rimpang kunyit dan jahe dalam berbagai dosis yang diberikan kepada tikus putih betina yang diperoleh dari ekstrak segar rimpang kunyit dan jahe.

Variabel tergantung adalah titik persoalan yang merupakan kriteria dalam penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek toksisitas akut kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe terhadap perilaku tikus putih betina.

Variabel terkontrol adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel terikat selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah berat badan, usia, lingkungan hidup dan perlakuan oleh peneliti.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, rimpang kunyit dan jahe adalah rimpang dari tanaman kunyit dan tanaman jahe yang diperoleh dari Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe adalah hasil ekstraksi rimpang kunyit dan rimpang jahe yang dibuat dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan sampai bebas etanol.

Ketiga, kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe adalah ekstrak etanol rimpang kunyit sebanyak 1 bagian dan ekstrak rimpang jahe sebanyak 1 bagian dicampurkan.

Keempat, dosis uji toksisitas akut yang digunakan adalah 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, 5000 mg/kgBB dan kelompok kontrol negatif.

Kelima, gejala-gejala klinis toksisitas adalah gejala yang dapat muncul antara lain gangguan pada syaraf otonom, syaraf otot, perilaku, perasa, urat darah pada jantung, mata, saluran pencernaan dan kulit.

Keenam, nilai *Lethal Dose*<sub>50</sub> adalah nilai yang dapat menunjukkan potensi ketoksikan suatu bahan terhadap 50% hewan percobaan serta peringkat letalitas dapat diperoleh dengan mengklasifikasikan nilai LD<sub>50</sub>.

Ketujuh, hewan uji yang digunakan adalah tikus putih betina galur wistar dengan berat 150-200 g dengan umur 6-8 minggu.

## **C. Bahan dan Alat**

### **1. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit dan rimpang jahe, etanol 70%, aquadest, tween 80. Bahan uji toksisitas yang

digunakan dalam penelitian ini adalah tikus betina galur wistar rentang umur 6-8 minggu dengan berat 150-200 gram.

## **2. Alat**

Peralatan yang digunakan terdiri dari kandang, soxhlet *extractor*, *moisture balance*, *vacum rotary evaporatory*, blender, oven, gelas ukur, beaker glass, labu didih leher dua, kertas saring, stopwatch, neraca analitik, batang pengaduk, spatel, ayakan, batu didih, wadah maserat, sonde lambung, spuit, *platform*, pinset, *cotton bud* dan tali.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel rimpang kunyit dan jahe berkaitan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). Determinasi tanaman bertujuan untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

### **2. Penyiapan simplisia**

Rimpang kunyit dan jahe dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian diangin-anginkan selama sehari. Rimpang diiris tipis-tipis dengan ukuran 1 - 4 mm dan dikeringkan dalam oven selama 5 hari dengan suhu 50° C. Rimpang yang telah kering kemudian diserbukkan.

### **3. Pembuatan serbuk rimpang kunyit dan jahe**

Rimpang kunyit dan jahe yang telah dicuci bersih dengan air lalu dipotong-potong kemudian dikeringkan dengan cara dioven bertujuan untuk mengurangi kadar air untuk mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri, mencegah bekerjanya enzim dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Bahan yang sudah dikeringkan segera diserbuk dengan mesin penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40.

### **4. Penentuan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit dan jahe**

Penentuan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit dan jahe dilakukan dengan menimbang masing-masing serbuk sebanyak 2 gram, lalu dimasukkan

dalam cawan yang ada pada alat *Moisture Balance*, kemudian diukur kelembabannya. Hasil pengukuran dilihat setelah 4 menit.

## 5. Pemeriksaan bebas alkohol

Larutan uji ditambahkan asam sulfanilat, HCl, NaNO<sub>2</sub> dan NaOH lalu dipanaskan dan diamati warnanya. Pereaksi kedua yaitu asam salisilat dan asam sulfat, kemudian tabung disumbat dengan kapas dan dipanaskan. Pereaksi ketiga yaitu asam asetat dan asam sulfat, tabung disumbat kapas dan dipanaskan (Kusumawati *et al.* 2015).

## 6. Identifikasi senyawa kimia ekstrak rimpang kunyit dan jahe

**6.1 Identifikasi flavonoid.** Sebanyak 10 ml filtrat ditambahkan serbuk magnesium, 0,2 ml HCl pekat lalu ditambahkan amil alkohol. Campuran dikocok dan dibiarkan memisah. Senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah kekuningan (Prasetyorini *et al.* 2011).

**6.2 Identifikasi alkaloid.** Uji alkaloid dilakukan dengan metode Mayer dan Wagner. Sampel sebanyak 3 mL diletakkan dalam cawan porselen kemudian ditambahkan 5 ml HCl 2 M dan 5 ml aquades, lalu dipanaskan di penangas air selama 2 menit. Sampel didinginkan pada temperatur kamar dan disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi 3 bagian A, B dan C. Filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambah pereaksi Mayer, reaksi positif jika terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Filtrat C ditambah reaksi Wagner, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat (Agustina *et al.* 2016).

**6.3 Identifikasi saponin.**Sebanyak 3 ml sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 M menunjukkan adanya saponin (Agustina *et al.* 2016).

**6.4 Identifikasi tanin.** Sebanyak 3 ml sampel ditambah dengan 2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Agustina *et al.* 2016).

## 7. Pembuatan ekstrak

Metode soxhletasi dilakukan dengan langkah sebagai berikut: dipasang alat soxhlet, serbuk jahe dan serbuk kunyit ditimbang masing-masing 20 g, kemudian masing-masing serbuk dibungkus kertas saring dan dimasukkan dalam tabung soxhlet secara terpisah. Pelarut etanol 70% dimasukkan sebanyak 200 mL (perbandingan 1;10 w/v) dalam labu soxhletasi. Alat soxhlet dirangkai dengan kondensor. Ekstraksi dilakukan sampai cairan tidak berwarna kurang lebih selama 8 jam. Ekstrak jahe dan ekstrak kunyit dikentalkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50<sup>0</sup>C dengan kecepatan putaran 75 rpm (Mokoginta *et al.* 2013). Hasil yang diperoleh ditimbang berat ekstraknya menggunakan timbangan analitik kemudian dihitung rendemen ekstraknya.

## 8. Penentuan dosis

Metode yang digunakan untuk menentukan dosis adalah *fixed dose* karena sebagai dosis awal yang dapat menimbulkan gejala toksisitas ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik yang berat atau kematian. Prinsip dari metode *fixed dose* ini adalah sekelompok hewan uji dengan jenis kelamin yang sama diberikan dosis bertingkat menggunakan metode *fixed doses* antara lain: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kg) (BPOM 2014).

Volume maksimal larutan uji yang dapat diberikan pada tikus dengan berat 150-200 gram adalah 5 mL. Tween 80 yang diberikan adalah sebesar 2% yaitu 2 ml dalam 100 ml air. Dosis sediaan kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan ekstrak jahe (1:1) yang diberikan yaitu dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB.

## 9. Pembuatan sediaan uji

**9.1 Larutan tween 80 2%.** Larutan dibuat dengan melarutkan 2 ml tween 80 dalam 100 mL air.

**9.2 Larutan kombinasi ekstrak 0,04 g/ 100 mL.** Larutan kombinasi ekstrak dibuat dengan melarutkan 0,04 gram ekstrak yang terdiri dari 0,02 gram ekstrak rimpang kunyit dan 0,02 gram ekstrak rimpang jahe yang disuspensikan dalam suspensi tween 80 sebanyak 100 mL untuk dosis 5 mg/kgBB.

**9.3 Larutan kombinasi ekstrak 0,4 g/ 100 mL.** Larutan kombinasi ekstrak dibuat dengan melarutkan 0,4 gram ekstrak yang terdiri atas 0,2 gram ekstrak rimpang kunyit dan 0,2 gram ekstrak rimpang jahe yang disuspensikan dalam suspensi tween 80 sebanyak 100 mL untuk dosis 50 mg/kgBB.

**9.4 Larutan kombinasi ekstrak 2 g/ 100 mL.** Larutan kombinasi ekstrak dibuat dengan melarutkan 2gram ekstrak yang terdiri atas 1 gram ekstrak rimpang kunyit dan 1 gram ekstrak rimpang jahe yang disuspensikan dalam suspensi tween 80 sebanyak 100 mL untuk dosis 300 mg/kgBB.

**9.5 Larutan kombinasi ekstrak 15 g/ 100 mL.** Larutan kombinasi ekstrak dibuat dengan melarutkan 15 gram ekstrak yang terdiri atas 7,5 gram ekstrak rimpang kunyit dan 7,5 gram ekstrak rimpang jahe yang disuspensikan dalam suspensi tween 80 sebanyak 100 mL untuk dosis 2000 mg/kgBB.

**9.6 Larutan kombinasi ekstrak 40 g/ 100 mL.** Larutan kombinasi ekstrak dibuat dengan melarutkan 40 gram ekstrak yang terdiri atas 20 gram ekstrak rimpang kunyit dan 20 gram ekstrak rimpang jahe yang disuspensikan dalam suspensi tween 80 sebanyak 100 mL untuk dosis 5000 mg/kgBB.

## **10. Persiapan hewan uji**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih betina dengan berat 150-200 gram, berumur 6-8 minggu sebanyak 30 ekor. Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok. Masing-masing kelompok kontrol dan kelompok dosis menggunakan 5 kelompok hewan uji yang terdiri atas 5 ekor setiap kelompok. Hewan uji diadaptasikan terhadap lingkungan selama satu minggu dan diperiksa kondisi kesehatannya. Sebelum digunakan dalam penelitian, hewan uji dipuaskan makan selama 8-24 jam dengan diberi air minum. Kelompok 1 diberikan tween 80 2% sebagai kontrol negatif. Kelompok 2 diberikan kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan dosis 5 mg/kgBB. Kelompok 3 diberikan kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan dosis 50 mg/kgBB. Kelompok 4 diberikan kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan dosis 300 mg/kgBB, kelompok 5 diberikan kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan dosis 2000

mg/kgBB dan kelompok 5 diberikan kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan dosis 5000 mg/kgBB.

Pengujian toksisitas akut kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dilakukan selama 1 hari untuk melihat LD<sub>50</sub> dan dilanjutkan selama 14 hari. Pada awal percobaan, berat badan hewan uji ditimbang kemudian diberikan larutan uji dan dihitung T<sub>0,5</sub> jam, T<sub>1</sub> jam, T<sub>2</sub> jam, T<sub>4</sub> jam dan T<sub>14</sub> hari sebelum tikus dimatikan.

### **11. Uji efek toksisitas akut**

Tikus yang telah diaklimatisasi selama kurang lebih satu minggu dalam laboratorium ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal pada ekornya. Tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor yang masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus. Jenis kelamin dipilih betina karena baik tikus maupun mencit betina sangat sensitif sehingga lebih menguntungkan dibandingkan hewan jantan.

Kelompok I : Diberi kontrol negatif tween 80 2%.

Kelompok II : Diberi kombinasi ekstrak rimpang kunyit 2,5 mg/kgBB dan ekstrak rimpang jahe 2,5 mg/kgBB (Selanjutnya disingkat ERK + ERJ 5 mg/kgBB).

Kelompok III : Diberi kombinasi ekstrak rimpang kunyit 25 mg/kgBB dan ekstrak rimpang jahe 25 mg/kgBB (Selanjutnya disingkat ERK + ERJ 50 mg/kgBB).

Kelompok IV : Diberi kombinasi ekstrak rimpang kunyit 150 mg/kgBB dan ekstrak rimpang jahe 150 mg/kgBB (Selanjutnya disingkat ERK + ERJ 300 mg/kgBB).

Kelompok V : Diberi kombinasi ekstrak rimpang kunyit 1000 mg/kgBB dan ekstrak rimpang jahe 1000 mg/kgBB (Selanjutnya disingkat ERK + ERJ 2000 mg/kgBB).

Kelompok VI : Diberi kombinasi ekstrak rimpang kunyit 2500 mg/kgBB dan ekstrak rimpang jahe 2500 mg/kgBB (Selanjutnya disingkat ERK + ERJ 5000 mg/kgBB).

Tikus yang telah ditimbang dan dikelompokkan kemudian diberikan sediaan uji sesuai dosis yang telah ditentukan, diamati gejala klinis yang timbul

pada jam ke-0, jam ke-0,5, jam ke-1, jam ke-2, jam ke-4 dan jam ke-24, jika tidak ada kematian percobaan dan dilanjutkan sampai 7-14 hari kedepan untuk memperoleh data berat badan tikus.

Gejala klinis diamati dari perubahan perilaku tikus yang abnormal dari biasanya seperti *grooming* dilihat dari frekuensi kebiasaan tikus dalam menjilat tubuhnya. Gerakan spontan dilihat dari cara tikus berjalan dengan cepat, normal atau tertidur. Reaksi sentuh dilakukan dengan tikus diberi sentuhan dengan pensil dan diamati perilaku tikus merespon atau tidak merespon. Reaksi sakit diamati dengan cara ekor tikus dijepit dengan pinset hingga tikus mengeluarkan suara.

Gejala klinis diamati dari perubahan sistem syaraf yang abnormal dari biasanya seperti adanya ketegangan saat tikus diletakkan di lantai dan ekornya terlihat kaku. Gemeteran dilihat dengan memegang tikus lalu diamati anggota tubuh tikus yang terlihat bergetar. Kejang dilihat dari tubuh tikus diletakkan di *plat form* dan terlihat menegang (kaku). Abduksi diamati dengan melihat perilaku tikus yang membuka kakinya saat di *plat form*. Ataksia refleks dapat dilakukan dengan meletakkan tikus dengan posisi terlentang di *plat form* kemudian dilihat kemampuan tikus untuk dapat membalikkan badannya. Pina refleks dilakukan dengan menyentuh telinga tikus dengan *cotton bud* dan ada respon dari tikus. Refleks cornea dilakukan dengan menusuk mata tikus dengan *cotton bud*. Refleks epsilateral dengan menjepit kaki tikus dengan pinset untuk melihat respon tikus melipat jari kakinya.

Gejala klinis diamati dari perubahan sistem otonom yang abnormal dari biasanya seperti perubahan alat optik diamati dengan adanya perbesaran atau penyempitan pupil mata. Uji posisi palpebra dilihat dari kelopak mata tikus menutup, membuka lebar atau normal. Urinasi dilihat dengan adanya volume urin yang berlebihan sehingga setiap mencit diletakkan dalam kandang tunggal. Menggeliat dilakukan dengan perilaku tikus yang merapatkan perutnya pada lantai. Piloreksi dilihat dari bulu tikus yang berdiri. Warna kulit tikus yang berubah menjadi pucat yang seharusnya kemerahan. Nilai LD<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan rumus Probit yaitu :

$$y = a + bx$$

$$y = \text{probit } 50$$

$$LD_{50} = \text{anti log } X$$

Indeks organ tikus dapat dihitung sebagai berikut :

$$\% \text{ Indeks organ : } \frac{\text{Berat organ tikus}}{\text{Berat badan tikus}}$$

Pengamatan dilanjutkan hingga hari ke-14, pada hari ke-14 tikus ditimbang lagi, kemudian dibedah. Setelah itu diambil organ tikus, organ tersebut lalu ditimbang untuk mendapatkan bobot organ.

### **E. Analisis Hasil**

Data yang diperoleh diolah secara statistik dengan menggunakan SPSS. Analisis yang dilakukan pertama adalah uji distribusi normal (Uji *Kolmogorov-Smirnov*), kemudian uji homogenitasnya dengan uji *Levene*. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan One Way Anova dan uji *Post Hoc Tukey*. Jika data tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji nonparametrik test yaitu uji *Kruskal-Wallis*.

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil dan Pembahasan Penelitian**

##### **1. Determinasi tanaman**

Determinasi rimpang kunyit dan jahe dilakukan di Laboratorium Biologi dan FMIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta pada 3 Januari 2017. Tujuan determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dengan tanaman lain yang sejenis. Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa sampel yang diambil adalah benar rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dengan family *zingiberaceae*. Hasil determinasi tanaman kunyit dapat dilihat pada lampiran 1 dan tanaman jahe pada lampiran 2.

##### **2. Hasil pengambilan bahan**

Rimpang kunyit dan jahe yang digunakan diambil dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017 yang dilakukan secara acak. Rimpang kunyit dan jahe yang telah dideterminasi kemudian disortasi dengan memilih kunyit yang masih segar dan tidak rusak, setelah disortasi kunyit dicuci bersih untuk menghilangkan pengotor yang menempel kemudian diangin-anginkan agar tidak terlalu basah. Kunyit diiris tipis-tipis untuk mempercepat proses pengeringan di oven. Hasil penimbangan rimpang kunyit segar yang diperoleh sebesar 16.500 gram. Hasil penimbangan rimpang jahe segar yang diperoleh sebesar 19.000 gram. Rimpang dikeringkan dalam oven pada suhu 50<sup>0</sup>C untuk menghilangkan kadar air yang terkandung dalam rimpang. Pengeringan ini dilakukan untuk mencegah tumbuhnya kuman, kapang dan khamir yang dapat menyebabkan pembusukan rimpang.

##### **3. Hasil pembuatan serbuk tanaman**

Rimpang kunyit dan jahe yang telah kering diayak dengan ayakan nomor 40 untuk menyeragamkan ukuran serbuk. Tujuan penyerbukan ini adalah untuk memperkecil ukuran rimpang kering sehingga luas permukaan yang kontak

dengan pelarut lebih luas agar senyawa yang diekstrak lebih maksimal. Hasil penimbangan rimpang kunyit kering sebesar 2.200 gram dan rimpang jahe kering sebesar 2.100 gram.

Penentuan rendemen bobot kering terhadap bobot basah dilakukan dengan cara menimbang rimpang kunyit dan rimpang jahe yang masih basah kemudian hasilnya dibandingkan dengan rimpang kunyit yang sudah kering. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang kunyit dan rimpang jahe dapat dilihat dalam tabel 3. Perhitungan rendemen serbuk terdapat pada lampiran 11.

**Tabel 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang kunyit dan jahe.**

Tanaman	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen %
Rimpang kunyit	16.500 g	2.200 g	13,34%
Rimpang jahe	19.000 g	2.100 g	11,05%

Dari data tersebut diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basahrimpang kunyit sebesar 13,34% dan rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang jahe sebesar 11,05% perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 11.

#### 4. Penetapan kadar kelembaban serbuk tanaman

Metode penetapan kelembaban serbuk rimpang kunyit dan jahe dengan cara ditimbang sebanyak 2 gram menggunakan alat *moisture balance* dimaksudkan agar mutu dan khasiat rimpang kunyit dan jahe tetap terjaga. Serbuk dipanaskan dalam *moisture balance* hingga diperoleh kadar kelembaban. Kadar kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan tanaman mudah ditumbuhi jamur dan bakteri akibat reaksi enzimatik. Kadar kelembaban serbuk rimpang kunyit dan jahe dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil penetapan kadar kelembaban rimpang kunyit dan jahe**

Bahan	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Kelembaban (%)
Rimpang kunyit	2,00	1,66	6%
	2,00	1,65	6,5%
	2,00	1,66	6%
	Rata-rata± SD		<b>6,16 ± 0,288</b>
Rimpang jahe	2,00	1,89	8,5%
	2,00	1,89	8,5%
	2,00	1,88	9%
	Rata-rata± SD		<b>8,7 ± 0,288</b>

Tabel 4 menunjukkan bahwa kadar kelembaban serbuk rimpang kunyit sebesar 6,16% dan rimpang jahe sebesar 8,7%. Kadar kelembaban serbuk dalam rimpang kunyit dan jahe memenuhi persyaratan kadar kelembaban dari serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%.

### 5. Penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan rimpang jahe

Kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe diukur menggunakan *Sterling-Bidwell*. Kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe tersebut telah memenuhi syarat yang tercantum dalam buku Departemen Kesehatan Republik Indonesia yaitu kurang dari 10% untuk tanaman jahe dan kurang dari 12% untuk tanaman kunyit.

**Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe**

Bahan	Bobot ekstrak (g)	Volume air (mL)	Persen
Rimpang kunyit	30	1,4	1,4%
	30	1,4	1,4%
	30	1,45	1,45%
		Rata-rata ± SD	1,416 ± 0,029
Rimpang jahe	30	1,8	1,8%
	30	1,82	1,82%
	30	1,85	1,85%
		Rata-rata ± SD	1,823 ± 0,025

Tabel 5 menunjukkan kadar air serbuk rimpang kunyit sebesar 1,416% dan serbuk rimpang jahe sebesar 1,823%. Kadar air dalam rimpang kunyit dan jahe memenuhi persyaratan yang tercantum dalam buku Departemen Kesehatan Republik Indonesia yaitu kurang dari 10% untuk tanaman jahe dan kurang dari 12% untuk tanaman kunyit.

### 6. Pembuatan ekstrak etanol rimpang kunyit dan rimpang jahe

Pembuatan ekstrak dalam penelitian ini menggunakan metode ekstraksi soxhletasi dengan pelarut etanol 70%. Metode soxhletasi dipilih karena merupakan metode ekstraksi terbaik untuk memperoleh hasil ekstrak yang banyak dan pelarut yang sedikit. Masing-masing serbuk dari rimpang kunyit dan jahe dibungkus dengan kertas saring, kemudian dimasukkan dalam alat soxhlet bagian *extraction thimble*. Alat soxhlet dirangkai dengan labu alas bulat yang diberi 3 batu didih kemudian ditambah etanol 70% ± 250 ml untuk mencapai 1,5 sirkulasi.

Penyarian dilakukan sampai pelarut yang terdapat dalam alat soxhlet berwarna bening atau ( $\pm$  30 kali sirkulasi).

Data hasil perhitungan ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe dapat dilihat pada tabel 6. Perhitungan persen rendemen ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat dilihat pada lampiran 12.

**Tabel 6. Hasil perhitungan rendemen ekstrak rimpang kunyit dan jahe.**

Bahan	Serbuk (g)	Ekstrak (g)	Rendemen %
Rimpang kunyit	830 g	145,100 g	17,48%
Rimpang jahe	790 g	159,390 g	20,17%

Tabel 6 menunjukkan persentase rendemen dari ekstrak rimpang kunyit sebesar 17,48% dan ekstrak rimpang jahe sebesar 20,17% dan perhitungan dapat dilihat pada lampiran 12.

#### 7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe

Identifikasi kandungan kimia ekstrak rimpang kunyit dan jahe bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa kimia dalam ekstrak. Hasil analisis kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe secara kualitatif berdasarkan pengamatan dan pustaka dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe secara kualitatif.**

Senyawa	Pustaka	Hasil		Hasil analisa
		Kunyit	Jahe	
Flavonoid	Merah kekuningan	+	+	Kuning
Alkaloid	Endapan coklat	+	-	Endapan berwarna coklat
Tanin	Biru kehitaman	-	+	Warna biru kehitaman
Saponin	Busa stabil	-	+	Busa stabil

Tabel 7 menunjukkan bahwa rimpang kunyit dan rimpang jahe positif mengandung senyawa flavonoid. Senyawa alkaloid positif terkandung dalam rimpang kunyit, tetapi negatif dalam rimpang jahe. Senyawa tanin negatif terkandung dalam rimpang kunyit, tetapi positif dalam rimpang jahe. Senyawa saponin negatif terkandung dalam rimpang kunyit dan positif dalam rimpang jahe. Senyawa minyak atsiri negatif tidak terkandung dalam ekstrak rimpang kunyit maupun jahe.

Penelitian Sastrawan I *et al.* (2013) uji fitokimia menggunakan metode ekstraksi soxhletasi dengan pelarut etanol positif mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin. Senyawa alkaloid negatif tidak terkandung dalam ekstrak. Penelitian ini tidak dilakukan identifikasi minyak atsiri, seharusnya perlu dilakukan identifikasi minyak atsiri.

### 8. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang kunyit dan jahe

Uji bebas etanol pada ekstrak rimpang kunyit dan jahe bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi uji toksisitas pada hewan uji.

**Tabel 8. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang kunyit dan jahe**

<b>Bahan</b>	<b>Test esterifikasi</b>	<b>Hasil</b>
Rimpang kunyit	Larutan uji + CH <sub>3</sub> COOH + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat dipanaskan	Negatif tidak berbau ester
Rimpang jahe	Larutan uji + CH <sub>3</sub> COOH + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat dipanaskan	Negatif tidak berbau ester

Tabel 8 menunjukkan bahwa ekstrak dari rimpang kunyit dan jahe bebas dari etanol 70% yang digunakan sebagai pelarutnya sehingga ekstrak dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.

### 9. Penetapan dosis

Pembuatan sediaan uji dilakukan dengan mencampurkan sediaan uji dengan suspensi tween 80 2%. Suspensi ini ditambahkan dengan tujuan untuk meningkatkan kelarutan dari masing-masing ekstrak dalam air. Volume maksimal larutan yang dapat diberikan pada hewan uji tikus dengan berat badan 150-200 gram secara oral adalah sebesar 5 ml.

**9.1 Dosis tween 80 2%.** Dosis tween 80 2% diberikan sebagai kontrol negatif untuk membandingkan dengan kelompok uji dan diberikan dengan volume 2ml / 100 ml.

**9.2 Dosis sediaan uji.** Dosis sediaan uji yang diberikan berdasarkan dosis yang tercantum dalam literatur BPOM yaitu 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB. Kombinasi sediaan uji yang digunakan berdasarkan uji farmakologi sebelumnya yaitu dengan perbandingan

1:1 yang berarti dalam setiap dosis yang digunakan terkandung 50% ekstrak kunyit dan 50% ekstrak jahe. Perhitungan dosis dapat dilihat pada lampiran 16.

## **10. Hasil uji toksisitas akut sediaan uji kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe**

Penelitian ini menggunakan tikus putih betina sebanyak 30 ekor sebagai hewan uji. Pemilihan jenis kelamin betina ini karena tingkat sensitivitas dari betina lebih baik daripada jantan sehingga lebih menguntungkan bila digunakan dalam uji toksisitas.

Tikus yang digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk beradaptasi terhadap lingkungan tempat uji. Tikus yang digunakan dalam pengujian adalah tikus dengan berat antara 150-200 gram dengan usia 6-8 minggu. Tikus yang telah diaklimatisasi dikelompokkan menjadi 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor. Sebelum diberi perlakuan tikus dipuasakan terlebih dahulu sehingga perut tikus dalam keadaan kosong dan tidak mempengaruhi pada proses pengamatan.

Tikus diberikan perlakuan sesuai kelompok yang telah ditentukan. Pemberian sediaan uji dengan menggunakan sonde. Pengamatan intensif dilakukan selama 24 jam pada waktu jam ke-0, jam ke-0,5, jam ke-1, jam ke-2, jam ke-4 dan 24 jam untuk melihat gejala-gejala toksik kemudian dilanjutkan sampai hari ke-14.

Gejala-gejala toksik yang umumnya terjadi yaitu *grooming*, defekasi, urinasi, ptosis, tremor, piroleksi, selain itu adanya perubahan berat badan, jumlah hewan yang mati pada masing-masing kelompok dalam waktu 24 jam, dan pengamatan organ meliputi jantung, hati, lambung, ginjal, paru-paru dan usus. Dalam penelitian ini tidak ada hewan uji yang mengalami kematian dalam waktu 24 jam sehingga dilanjutkan sampai hari ke-14 untuk mengetahui adanya gejala-gejala toksik yang tertunda.

## **11. Hasil pengamatan gejala-gejala toksik**

**11.1 Hasil perubahan perilaku (*behaviour profile*).** Pengamatan gejala klinis yang pertama diamati adalah perubahan perilaku yang terjadi selama 24 jam

pertama setelah pemberian sediaan uji pada semua kelompok tikus. Hal yang dinilai adalah *grooming*, aktifitas spontan dan *haffner*.

**Tabel 9. Persentase jumlah tikus yang mengalami perubahan perilaku *grooming* tiap kelompok**

	<i>Grooming</i> (%)					
	t <sub>0</sub> jam	t <sub>0,5</sub> jam	t <sub>1</sub> jam	t <sub>2</sub> jam	t <sub>4</sub> jam	t <sub>24</sub> jam
Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0
ERK+ERJ 5 mg/kgBB	0	40	20	20	20	20
ERK+ERJ 50 mg/kgBB	0	40	20	20	0	20
ERK+ERJ 300 mg/kgBB	0	0	20	20	0	20
ERK+ERJ 2000 mg/kgBB	0	40	20	20	20	20
ERK+ERJ 5000 mg/kgBB	0	40	20	0	0	0

**Keterangan:**

**ERK** : Ekstrak Rimpang Kunyit

**ERJ** : Ekstrak Rimpang Jahe

Tabel 9 menunjukkan perubahan perilaku tikus yaitu *grooming* atau menjilat tubuh. *Grooming* disebabkan adanya stimulasi saraf simpatik dan bila terjadi penurunan menunjukkan adanya depresi. Tikus kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan adanya perubahan perilaku *grooming* dari jam ke-1 hingga jam ke-24. Kelompok perlakuan dengan dosis 5 mg/kgBB hingga 5000 mg/kgBB selalu menunjukkan adanya *grooming* pada jam ke-0,5 hingga jam ke-24. Perhitungan persentase dapat dilihat pada lampiran 17.

Pengamatan yang kedua adanya perubahan perilaku tikus yaitu aktivitas spontan. Perubahan yang terjadi jika tikus bergerak dengan cepat dan berlari menunjukkan adanya stimulasi SSP atau ganglia, dan bila tikus sampai tertidur menunjukkan adanya depresi SSP. Tikus kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan mulai menunjukkan aktivitas spontan pada jam ke-2. Perubahan perilaku aktivitas spontan ini menunjukkan perilaku yang normal jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang juga menimbulkan aktivitas spontan sebelum diberikan perlakuan. Tabel pengamatan perilaku dapat dilihat pada lampiran 18.

Perubahan perilaku tikus yang ketiga adalah *haffner*. *Haffner* adalah reaksi tikus terhadap rasa sakit yang diberikan ketika ekor tikus dijepit dengan pinset. Semua kelompok termasuk kelompok kontrol negatif menunjukkan respon yang

sama yaitu tikus merasakan sakit saat ekor dijepit dengan pinset. Tabel pengamatan perilaku dapat dilihat pada lampiran 18.

**11.2 Hasil perubahan neurological profile.** Pengamatan gejala klinis yang kedua adalah pengamatan perubahan sistem syaraf selama 24 jam pertama setelah pemberian sediaan uji pada semua kelompok tikus. Gejala yang diamati adalah tremor, reflek telinga dan reflek kornea, *straub*. Pengamatan yang pertama dilakukan adalah *straub*. Parameter *straub* yang diamati adalah saat ekor tikus tegang atau kaku.

**Tabel 10. Persentase jumlah tikus yang mengalami perubahan perilaku *straub* tiap kelompok**

	<i>Straub</i> (%)					
	t <sub>0</sub> jam	t <sub>0,5</sub> jam	t <sub>1</sub> jam	t <sub>2</sub> jam	t <sub>4</sub> jam	t <sub>24</sub> jam
Kontrol negatif	0	0	20	0	20	20
ERK+ERJ 5 mg/kgBB	0	40	60	80	40	60
ERK+ERJ 50 mg/kgBB	0	40	60	60	20	60
ERK+ERJ 300 mg/kgBB	0	0	20	40	20	60
ERK+ERJ 2000 mg/kgBB	0	40	40	60	0	60
ERK+ERJ 5000 mg/kgBB	0	40	40	20	60	40

**Keterangan:**

**ERK** : Ekstrak Rimpang Kunyit

**ERJ** : Ekstrak Rimpang Jahe

Tabel 10 menunjukkan perubahan perilaku tikus yaitu *straub* atau ekor tikus kaku. Tikus kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya perubahan perilaku *straub* pada jam ke-1, jam ke-4 dan jam ke-24. Semua kelompok perlakuan dengan dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB selalu menunjukkan *straub* pada jam ke-0,5, jam ke-1, jam ke-2, jam ke-4 dan jam ke-24. Tikus kelompok kontrol negatif maupun kontrol perlakuan pada dosis 5 mg/kgBB hingga 5000 mg/kgBB pada jam ke-0 tidak menunjukkan adanya gejala *straub*. Tikus kelompok perlakuan dosis 300 mg/kgBB pada jam ke-0,5 dan tikus kelompok dosis 2000 mg/kgBB pada jam ke-4 tidak menunjukkan adanya gejala *straub*.

Perubahan pada sistem syaraf yang kedua diamati adalah tremor. Parameter tremor yang diamati saat tikus dalam keadaan diam maupun saat beraktivitas ada bagian tikus yang bergetar. Kelompok kontrol negatif menunjukkan hasil yang negatif atau tikus pada kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan gejala tremor.

**Tabel 11. Persentase jumlah tikus yang mengalami perubahan perilaku tremor tiap kelompok**

	Tremor (%)					
	t <sub>0</sub> jam	t <sub>0,5</sub> jam	t <sub>1</sub> jam	t <sub>2</sub> jam	t <sub>4</sub> jam	t <sub>24</sub> jam
Kontrol negatif	0	0	20	0	0	0
ERK+ERJ 5 mg/kgBB	0	60	40	60	40	0
ERK+ERJ 50 mg/kgBB	0	40	40	60	20	20
ERK+ERJ 300 mg/kgBB	0	40	40	60	0	20
ERK+ERJ 2000 mg/kgBB	0	60	60	80	0	40
ERK+ERJ 5000 mg/kgBB	0	0	20	80	0	0

**Keterangan:****ERK** : Ekstrak Rimpang Kunyit**ERJ** : Ekstrak Rimpang Jahe

Tabel 11 menunjukkan perubahan perilaku tikus yaitu tremor atau bergetarnya badan tikus baik dalam keadaan diam maupun saat beraktivitas. Tikus kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya perubahan perilaku tremor pada jam ke-1. Semua kelompok perlakuan dengan dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB selalu menunjukkan tremor pada jam ke-0,5, jam ke-1, jam ke-2, jam ke-4 dan jam ke-24.

Perubahan sistem syaraf pada tikus yang ketiga adalah adanya respon pada telinga tikus saat diberikan ransangan. Kelompok perlakuan tikus dengan dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB yang diinduksi dengan *cotton bud* pada bagian telinga tikus masih memberikan respon dengan baik. Hal ini menunjukkan bahwa tikus tidak mengalami gangguan pada SSP. Kelompok perlakuan dengan dosis 5000 mg/kgBB tidak memberikan respon saat telinga tikus diinduksi dengan *cotton bud*. Hal ini menunjukkan bahwa tikus mengalami gangguan pada SSP.

Perubahan sistem syaraf tikus yang diamati keempat adalah respon kornea. Parameter respon kornea diamati adanya respon tikus saat kornea tikus diberikan ransangan dengan bulu ayam. Gejala pada syaraf otonom ditunjukkan dengan adanya penyempitan pupil mata membesar yang merupakan tanda efek mata adrenergik. Semua kelompok perlakuan termasuk kelompok kontrol negatif selalu memberikan respon saat mata tikus diberikan ransangan dengan bulu ayam. Respon yang diberikan yaitu tikus langsung menutup mata. Hal ini menunjukkan bahwa tikus tidak mengalami gangguan pada SSP.

**11.3 Hasil perubahan *autonomic profile*.** Pengamatan gejala klinis yang keempat adalah perubahan sistem otonom selama 24 jam pertama setelah pemberian sediaan uji pada semua kelompok perlakuan. Hal yang diamati adalah posisi palpebral (*ptosis*), urinasi, defekasi dan piloereksi.

**Tabel 12. Persentase jumlah tikus yang mengalami perubahan perilaku ptosis tiap kelompok**

	<i>Ptosis (%)</i>					
	t <sub>0</sub> jam	t <sub>0,5</sub> jam	t <sub>1</sub> jam	t <sub>2</sub> jam	t <sub>4</sub> jam	t <sub>24</sub> jam
Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0
ERK+ERJ 5 mg/kgBB	0	20	0	20	0	40
ERK+ERJ 50 mg/kgBB	0	20	40	80	20	40
ERK+ERJ 300 mg/kgBB	0	60	20	20	0	40
ERK+ERJ 2000 mg/kgBB	0	40	20	40	20	20
ERK+ERJ 5000 mg/kgBB	0	80	40	20	20	40

**Keterangan:**

**ERK** : Ekstrak Rimpang Kunyit

**ERJ** : Ekstrak Rimpang Jahe

Tabel 12 menunjukkan perubahan perilaku tikus yaitu ptosis. Ptosis yaitu gejala menutupnya mata tikus, mengantuk. Hal ini bisa disebabkan karena adanya efek sedasi dari sediaan uji yang diberikan. Kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan adanya *ptosis* pada jam ke-0 hingga jam ke-24, sedangkan kelompok perlakuan dengan dosis 5 mg/kgBB hingga 5000 mg/kgBB menunjukkan adanya ptosis pada jam ke-0,5 hingga jam ke-24. Kelompok kontrol negatif maupun kelompok perlakuan pada dosis 5 mg/kgBB hingga dosis 5000 mg/kgBB tidak menunjukkan adanya *ptosis* pada jam ke-0.

**Tabel 13. Persentase jumlah tikus yang mengalami defekasi tiap kelompok**

	Defekasi (%)					
	t <sub>0</sub> jam	t <sub>0,5</sub> jam	t <sub>1</sub> jam	t <sub>2</sub> jam	t <sub>4</sub> jam	t <sub>24</sub> jam
Kontrol negatif	40	40	20	60	40	40
ERK+ERJ 5 mg/kgBB	20	80	40	60	40	80
ERK+ERJ 50 mg/kgBB	0	60	20	80	40	80
ERK+ERJ 300 mg/kgBB	20	60	40	60	40	60
ERK+ERJ 2000 mg/kgBB	40	80	20	40	80	60
ERK+ERJ 5000 mg/kgBB	40	60	40	40	60	80

**Keterangan:**

**ERK** : Ekstrak Rimpang Kunyit

**ERJ** : Ekstrak Rimpang Jahe

Tabel 13 menunjukkan perubahan perilaku tikus dalam defekasi. Parameter yang dilihat adalah frekuensi terjadinya defekasi dan konsistensi feses

yang dihasilkan. Adanya defekasi disebabkan adanya perubahan pada saluran cerna tikus. Defekasi sudah terlihat dari awal perlakuan tikus sebelum pemberian sediaan uji. Awal perlakuan terlihat semua tikus mengalami defekasi dengan frekuensi dan konsistensi yang normal yaitu sangat keras yang menunjukkan konstipasi atau pun sangat cair yang menunjukkan tikus diare. Defekasi tikus berkurang dalam waktu 24 jam dikarenakan tikus dipuaskan terlebih dahulu sebelum diberikan sediaan uji.

Berdasarkan uji statistik waktu pengujian gejala defekasi semua waktu sebelum perlakuan berbeda secara bermakna dengan waktu sebelum perlakuan ( $p \leq 0,05$ ) dan kelompok uji tidak berbeda secara bermakna antara kelompok uji bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ( $p \geq 0,05$ ).

**Tabel 14. Persentase jumlah tikus yang mengalami urinasi tiap kelompok**

	Urinasi (%)					
	t <sub>0</sub> jam	t <sub>0,5</sub> jam	t <sub>1</sub> jam	t <sub>2</sub> jam	t <sub>4</sub> jam	t <sub>24</sub> jam
Kontrol negatif	20	0	20	20	0	20
ERK+ERJ 5 mg/kgBB	0	40	40	40	20	60
ERK+ERJ 50 mg/kgBB	40	60	40	40	20	40
ERK+ERJ 300 mg/kgBB	20	20	40	40	20	20
ERK+ERJ 2000 mg/kgBB	0	60	40	20	20	60
ERK+ERJ 5000 mg/kgBB	40	60	20	60	40	40

**Keterangan:**

**ERK** : Ekstrak Rimpang Kunyit

**ERJ** : Ekstrak Rimpang Jahe

Tabel 14 menunjukkan perubahan perilaku tikus dalam urinasi. Urinasi menunjukkan adanya perubahan saluran kemih tikus yang mengarah pada syaraf otonom. Semua tikus sudah memperlihatkan adanya urinasi dari awal perlakuan sebelum pemberian sediaan uji yang menunjukkan bahwa semua kelompok tikus tidak mengalami gangguan pada saluran kemih. Berdasarkan uji statistik waktu pengujian gejala urinasi semua waktu sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna dengan waktu sebelum perlakuan ( $p \geq 0,05$ ) dan kelompok uji tidak berbeda secara bermakna antara kelompok uji bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ( $p \geq 0,05$ ).

**Tabel 15. Persentase jumlah tikus yang mengalami perubahan perilaku piloereksi tiap kelompok**

	Piloereksi (%)					
	t <sub>0</sub> jam	t <sub>0,5</sub> jam	t <sub>1</sub> jam	t <sub>2</sub> jam	t <sub>4</sub> jam	t <sub>24</sub> jam
Kontrol negatif	0	0	20	20	0	0
ERK+ERJ 5 mg/kgBB	0	20	60	60	60	20
ERK+ERJ 50 mg/kgBB	0	100	60	60	40	80
ERK+ERJ 300 mg/kgBB	0	60	40	100	60	100
ERK+ERJ 2000 mg/kgBB	0	80	60	100	60	80
ERK+ERJ 5000 mg/kgBB	0	60	60	80	60	60

**Keterangan:**

**ERK** : Ekstrak Rimpang Kunyit

**ERJ** : Ekstrak Rimpang Jahe

Tabel 15 menunjukkan perubahan perilaku tikus piloereksi. Piloereksi yaitu berdirinya bulu-bulu dibagian badan tikus yang disebabkan karena adanya reaksi sensitivitas. Kelompok kontrol negatif menunjukkan piloereksi pada jam ke-1 dan jam ke-2. Semua kelompok perlakuan tidak menunjukkan adanya piloereksi sebelum diberikan sediaan uji. Tikus kelompok dosis 5 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB menunjukkan piloereksi pada jam ke-0,5 hingga jam ke-24.

## 12. Hasil perhitungan berat badan tikus putih betina

Hewan uji yang diamati ditimbang berat badannya pada t<sub>0</sub>, t<sub>7</sub> hari dan t<sub>14</sub> hari sebelum pembedahan. Penimbangan berat badan pada t<sub>0</sub> dilakukan untuk menentukan volume pemberian pada setiap hewan uji, sedangkan penimbangan pada t<sub>7</sub> hari dan t<sub>14</sub> hari dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perubahan berat badan hewan uji yang dipengaruhi oleh ekstrak.

**Tabel 16. Rata-rata berat badan tikus**

Kelompok	Rata-rata berat badan (gram) ± SD		
	Hari-1	Hari-7	Hari-14
Kontrol negatif	182 ± 8,367	178 ± 13,038	170 ± 13,038
Dosis 5 mg/kgBB	176 ± 11,402	174 ± 5,477	176 ± 5,477
Dosis 50 mg/kgBB	184 ± 11,402	180 ± 12,247	176 ± 13,416
Dosis 300 mg/kgBB	182 ± 8,367	178 ± 8,367	176 ± 8,944
Dosis 2000 mg/kgBB	182 ± 8,367	178 ± 8,367	178 ± 14,832
Dosis 5000 mg/kgBB	180 ± 7,071	176 ± 8,944	176 ± 8,944

Tabel 16 menunjukkan rata-rata berat badan tikus. Tikus ditimbang pada hari ke-0 sebelum tikus diberikan sediaan uji, pada hari ke-7 dan pada hari ke-14.

Tikus ditimbang untuk mengetahui apakah sediaan uji yang diberikan tersebut dapat mempengaruhi berat badan tikus yaitu penurunan atau kenaikan berat badan tikus. Semua kelompok baik kelompok kontrol negatif maupun kelompok dosis 50 mg/kgBB, dosis 300 mg/kgBB, dosis 2000 mg/kgBB dan dosis 5000 mg/kgBB mengalami penurunan berat badan dari hari ke-1 hingga hari ke-14. Penurunan berat badan ini disebabkan karena tikus yang mengalami defekasi terus-menerus setelah pemberian sediaan uji.

### 13. Hasil perhitungan LD<sub>50</sub>

Berdasarkan hasil pengamatan hewan uji yang mati sampai hari ke-14 menunjukkan bahwa sediaan uji kombinasi kunyit dan jahe dengan dosis maksimal toksisitas akut yang dapat diberikan pada hewan uji yaitu 5000 mg/kgBB tidak menimbulkan kematian pada hewan uji, sehingga tidak dapat ditentukan ketoksikan akut pada penelitian ini. Berdasarkan pada penelitian sediaan tunggal kunyit dan jahe yang telah dilakukan sebelumnya dapat dikatakan bahwa sediaan tunggal kunyit memiliki LD<sub>50</sub> lebih dari 5000 mg/kgBB yaitu 19,25 g/kgBB pada fraksi n-hexana dan 27,980 g/kgBB pada fraksi etil asetat yang dapat diklasifikasikan praktis tidak toksik sesuai teori dan jahe memiliki LD<sub>50</sub> kurang dari 5000 mg/kgBB yaitu 3,125 mg/kgBB yang dapat diklasifikasikan toksik sesuai teori (BPOM 2014).

**Tabel 17. Hasil persentase kematian hewan uji toksisitas kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe.**

Kelompok	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah hewan uji	Jumlah hewan mati	Log Dosis	% Kematian	Probit
Kontrol negatif	2%	5	0	0	0	0
ERK + ERJ	5 mg/kgBB	5	0	0,699	0	0
ERK + ERJ	50 mg/kgBB	5	1	1,699	20%	4,16
ERK + ERJ	300 mg/kgBB	5	2	2,477	40%	4,75
ERK + ERJ	2000 mg/kgBB	5	2	3,301	40%	4,75
ERK + ERJ	5000 mg/kgBB	5	1	3,699	20%	4,16

**Keterangan:**

**ERK** : Ekstrak Rimpang Kunyit

**ERJ** : Ekstrak Rimpang Jahe

Tabel 17 menunjukkan kategori dari toksisitas kombinasi rimpang kunyit dan jahe. Tikus diuji selama 24 jam dan jika tidak ada kematian dalam 24 jam tersebut maka pengujian dilanjutkan hingga 14 hari. Pada penelitian ini tidak ada yang mengalami kematian dalam 24 jam, tetapi mengalami kematian pada hari ke-4 dengan jumlah 1 ekor yaitu kelompok dosis 300 mg/kgBB tikus 5. Pada hari ke-11 mengalami kematian tikus dengan jumlah 2 ekor yaitu kelompok dosis 50 mg/kgBB tikus 3 dan kelompok dosis 5000 mg/kgBB tikus 4. Pada hari ke 12 mengalami kematian tikus sebanyak 4 ekor yaitu kelompok dosis 300 mg/kgBB tikus 4, dan kelompok dosis 2000 mg/kgBB tikus 2 dan 5.

Nilai LD<sub>50</sub> fraksi n-hexana rimpang kunyit adalah 19,25 g/kgBB, pada fraksi etil asetat adalah 27,980 g/kgBB (Winarsih *et al.* 2012), sehingga termasuk dalam kategori relatif tidak membahayakan yaitu dengan rentang dosis  $\geq 15$  g. Nilai LD<sub>50</sub> minyak atsiri jahe pada mencit adalah 3,125 mg/kgBB. Nilai LD<sub>50</sub> jahe pada tikus lebih besar dari mencit yaitu 12,99 mg/kgBB (Mulyaningsih *et al.* 1999), sehingga termasuk dalam kategori toksik yaitu dengan rentang dosis 1-50 mg. Nilai LD<sub>50</sub> dari kombinasi kedua tanaman tersebut yaitu kombinasi rimpang kunyit dan jahe adalah sebesar 707,945 mg/kgBB, sehingga termasuk dalam kategori toksik ringan yaitu dalam rentang dosis 500-5000 mg. Perhitungan LD<sub>50</sub> dapat dilihat pada lampiran 19.

#### **14. Hasil penimbangan indeks organ**

Berdasarkan pengamatan setelah hari ke-14 hewan uji yang masih hidup dikorbankan dengan cara dibius dengan eter, kemudian dibedah untuk diambil organnya yaitu jantung, hati, lambung, ginjal, paru-paru dan usus. Organ yang telah diambil kemudian ditimbang dan dihitung indeks organnya. Analisa indeks organ ini digunakan untuk mengetahui perbedaan antar organ yang telah diberi sediaan uji dengan organ yang diberikan perlakuan kontrol negatif.

Data indeks organ tikus yang diperoleh dianalisis distribusinya menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui data terdistribusi

normal atau tidak dan dianalisis homogenitasnya menggunakan homogenitas *Levene*. Jika data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji ANAVA, tetapi jika data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* Hasil rata-rata indeks organ tikus dapat dilihat pada tabel 18.

**Tabel 18. Hasil rata-rata indeks organ.**

Kelompok	Rata-rata indeks organ (%) $\pm$ SD (n=5)					
	Jantung	Hati	Lambung	Ginjal	Paru-paru	Usus
Kontrol negatif	0,014 $\pm$ 0,002	0,021 $\pm$ 0,003	0,023 $\pm$ 0,003	0,019 $\pm$ 0,003	0,045 $\pm$ 0,004	0,045 $\pm$ 0,010
Dosis 5 mg/kgBB	0,015 $\pm$ 0,002	0,021 $\pm$ 0,003	0,020 $\pm$ 0,001	0,019 $\pm$ 0,001	0,018 $\pm$ 0,004	0,046 $\pm$ 0,009
Dosis 50 mg/kgBB	0,016 $\pm$ 0,003	0,029 $\pm$ 0,006	0,026 $\pm$ 0,005	0,022 $\pm$ 0,003	0,022 $\pm$ 0,004	0,044 $\pm$ 0,003
Dosis 300 mg/kgBB	0,016 $\pm$ 0,001	0,030 $\pm$ 0,007	0,030 $\pm$ 0,002	0,019 $\pm$ 0,001	0,019 $\pm$ 0,001	0,046 $\pm$ 0,011
Dosis 2000 mg/kgBB	0,016 $\pm$ 0,003	0,024 $\pm$ 0,005	0,023 $\pm$ 0,001	0,020 $\pm$ 0,002	0,019 $\pm$ 0,002	0,049 $\pm$ 0,008
Dosis 5000 mg/kgBB	0,016 $\pm$ 0,002	0,029 $\pm$ 0,005	0,024 $\pm$ 0,003	0,022 $\pm$ 0,003	0,024 $\pm$ 0,009	0,043 $\pm$ 0,009

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* adalah semua data indeks organ terdistribusi normal karena nilai signifikansinya adalah  $\geq 0,05$ . Pada uji homogenitas organ jantung, hati, ginjal dan usus homogen, sedangkan lambung dan paru-paru tidak homogen karena nilai signifikannya kurang dari 0,05 sehingga analisis data seluruhnya dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* data indeks organ hati dan lambung berbeda secara bermakna ( $p \leq 0,05$ ), sehingga dari uji statistik ini terdapat perbedaan bermakna pada organ hati dan lambung jika dibandingkan dengan kontrol negatif.

### 15. Hasil pengamatan organ secara makroskopis

Hasil pengamatan organ secara makroskopis yang secara jelas terlihat pada kelompok dosis 2000 mg/kgBB tikus 3 organ hati tidak normal dengan adanya benjolan berwarna kuning. Organ-organ yang lain seperti jantung, ginjal, paru-paru dan usus ketika diamati secara makroskopis warna, bentuk, ukuran dan baunya terlihat normal. Pada organ lambung kelompok dosis 300 mg/kgBB tikus 5 mengalami pembengkakan.

Dari hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa sediaan uji yaitu campuran ekstrak rimpang kunyit dan jahe memberi pengaruh pada organ hati dan lambung bila dilihat secara makroskopis.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

1. LD<sub>50</sub> dari kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dengan perbandingan 1:1 adalah 707,945 mg/kgBB dimana tingkat letalitas dosis tersebut termasuk kategori toksik ringan pada rentang 500-5000 mg/kgBB.
2. Kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat mempengaruhi perilaku, perubahan syaraf otonom, dan perubahan neurologi hewan uji tikus.
3. Kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat mempengaruhi bobot organ, dan makroskopis organ.

#### **B. Saran**

Demi kelanjutan perkembangan ilmu pengetahuan dibidang obat-obatan disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas subkronik 90 hari bahkan kronik untuk mengetahui efek jangka panjang dari kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe ini melihat penggunaannya sebagai antiinflamasi, dan juga dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas akut ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe ini menggunakan metode ekstraksi yang selain soxhletasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 2006. *Knowledge Antomi*. Program Animasi Anatomi.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. hlm: 3-5, 10-11.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- [Depkes] Departemen Kesehatan 1986. *Sediaan Galenik*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 2-23.
- [Depkes] Departemen Kesehatan 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] Departemen Kesehatan 2009. *Pusat Riset Obat dan Makanan*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Agustina S, Ruslan, Wiraningtyas A . 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry* 4(1):71-76
- Anief M. 2000. Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 169-171.
- Anisa BP, Prasetyorini P, Wiendarlina IY. 2011. Toksisitas Beberapa Ekstrak Rimpang Cabang Temulawak (*Curcumaxanthorrhiza* Roxb.) pada Larva Udang (*Artemiasalina* Leach.). *Jurnal Ilmiah Farmasi* 1[2]:14-21
- Ansel HC. 2011. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Penerjemah :Ibrahim F. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. hlm 605-608.
- Akhyar. 2010. Uji daya hambat dan analisis KLT bioautografi ekstrak akar dan buah bakau (*Rhizophora stylosa* Griff.) terhadap *Vibrio harveyi* [Skripsi]. Makasar: Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.
- Azam R, Jabeen A, Alam T, Mushtaq S, mohmad SH. 2014. Zanjabil (*Zingiber officinale*). *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation* 3(4): 278-281

- Balaji S, Chempakam B. 2010. *Toxicity prediction of compounds from turmeric (Curcuma longa L.)*. Elsevier 48(10):2951-9599.
- Bermawie N dan Susi Purwiyanti. 2011. Botani, Sistematika dan Keragaman Kultivar Jahe. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Kementerian Pertanian. ISBN: 978-979-548-031-0.
- Dewoto H. 2007. *Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka*. Jakarta: Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran UI. 57[7]: 206-211.
- Djamil R, Anelia T. 2009. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies *Papilionaceae*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 7(2): 65-71.
- Harmita S. Maksun Radji. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 2*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA. Universitas Indonesia.
- Harmono & Andoko. 2005. *Budidaya dan Peluang Bisnis Jahe*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka. hlm. 74.
- Heinrich, Michael, Joanne Barnes, Simon Gibbons, Elizabeth M. Williamson. 2014. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Penerjemah: Amalia H. Hadinata. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kusumawati C, Mufrod, Mutmainah. 2015. Karakteristik Fisik dan Penerimaan Rasa Sediaan Chewable Lozenges Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dengan Kombinasi Pemanis High Fructose Syrup dan Sukrosa. *Majalah Farmasetika* 11[1]: 284-289.
- Maharani HW, Bachri MS. 2015. Efek Pemberian Subkronis Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma domertica* Val.) pada Hati Tikus. *Media Farmasi* 12[2]: 213-224.
- Mahendra B. 2005. *13 Jenis Obat Ampuh*. Jakarta: Swadaya.
- Meltyza E, Indriyanti RA, Rahiman SB . 2014. Perbandingan Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit Putih(*Curcuma zedoria*) dengan Natrium Diklofenak pada Tikus yang Diinduksi dengan Carrageenan. *Jurnal Prosiding Pendidikan Dokter*. ISSN: 2460-657X. hlm: 112-118.
- Mujumdar AM, Naik DG, Dandge CN, Puntambekar HM. 2000. Antiinflammatory Activity of *Curcuma amada* roxb. in Albino Rats. *Indian Journal Pharmacology* 32: 375-377.

- Mukoginta EP, Runtuwene MR, Wehantouw F. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca Vestiara Giseke*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat*. 2(4):109-113.
- Mulyaningsih B, Pramono S, Suhardjono D. 1999. Uji Toksisitas Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber Officinae* Rosc.) sebagai antiparasit pada hewan uji mencit dan tikus. *Barkala Ilmu Kedokteran*. 31[2]: 71-76.
- Priyambodo, S. 2003. Pengendalian Hama Tikus Terpadu Seri Agrikat. Jakarta: Penebar Swadaya. Vol: 6.
- Said A. 2007. *Khasiat dan Manfaat Kunyit*. Jakarta: Sinar Wadjo Lestari. hlm 2-5.
- Sastrawan IN, Sangi M, Kamu V. et al. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains* 13[2]: 111-115.
- Setiawan AS, Yulinah E, Adnyana IK, Permana H, Sudjana P. 2011. Efek Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dengan Pembandingan Glibenklamid pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *MKB* 43[1]: 26-34.
- Singh R, Mehta A, Mehta P, Patel JR. 2014. In Vivo Evaluation for Anti-inflammatory Activities of Hydro Alcoholic Combined Extracts of *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* Rhizomes. *Journal of Novel Research in Pharmacy & Technology* 1[2]:13-19.
- Sudarsono dkk. 2002. *Pusat Studi Obat Tradisional*. Yogyakarta; Universitas Gajah Mada, sekup utara. hlm. 41-45.
- Sugiarto dan Yolanda C. 2013. Uji Toksisitas Subkronik Minyak Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.) Terhadap Parameter Hematologi Pada Tikus.
- Syukur & Hernani. 2001. *Budi Daya Tanaman Obat Komersial*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya. hlm. 76.
- Winarsih W, Wientarsih I, Sulistyawati NP, Wahyudina I. 2012. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Rimpang Kunyit pada Mencit: Kajian Histopatologi Lambung, Hati dan Ginjal. *Jurnal Veteriner* 13(4): 1411-8327.
- Wresdiyati T, Astawan M, Adnyane KM. 2003. Aktivitas Antiinflamasi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) pada Ginjal Tikus yang Mengalami Perlakuan Stres. *Jurnal Teknologi dan Pangan* 14[2]: 113-120.

Yunita FC. 2004. Ekstraksi daging biji picung (*Pangium edule*) dan Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

L

A

M

P

I

R

A

N

## Lampiran 1. Hasil determinasi rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail [biologi@mipa.uns.ac.id](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 167/UN27.9.6.4/Lab/2016  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Hesty Riza Oktastika  
NIM : 19133749A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Curcuma longa* L.  
Synonim : *Curcuma domestica* Val.  
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-  
35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-  
334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a **207. Zingiberaceae**  
1a-2b-6b-7a **12. Curcuma**  
1a-2b-3a **Curcuma longa** L.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : herba menahun, dengan rimpang yang basah dan aromatik, rimpang bagian luar berwarna oranye hingga oranye coklat, bagian tengah oranye hingga kuning tua. Akar : melekat pada rimpang, serabut, berwarna putih hingga kuning kotor. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, berbentuk ellips atau lonjong-menjorong sampai lonjong-melanset, panjang 20-55 cm, lebar 12.5-19 cm, berwarna hijau permanen secara keseluruhan, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung runcing atau meruncing, pangkal runcing hingga tumpul, tepi rata; tulang daun menyirip. Bunga : terletak di ujung (terminal), terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa bunga majemuk tipe bulir, terdiri atas 3-7 bunga, tertutup oleh daun pelindung bunga (braktea); braktea berwarna putih hingga hijau muda, seringkali bertotol-totol coklat pada bagian ujungnya; kelopak berbentuk tabung silindris pendek, bercuping 2-3, kelopak hijau keputihan; tabung mahkota berbentuk seperti corong, cuping mahkota berbentuk oval atau memanjang, berwarna putih; labellum bulat telur, panjang 15-16 mm, lebar 16-17 mm, berwarna oranye; staminoda berwarna oranye. Buah : berbentuk kapsul, kering hingga basah. Biji : bulat, sedikit hingga banyak.

Surakarta, 30 November 2016

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

## Lampiran 2. Hasil determinasi rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutarni 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail [biologi@mipa.uns.ac.id](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 170/UN27.9.6.4/Lab/2016  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -  
Nama Pemesan : Hesty Riza Oktastika  
NIM : 19133749A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Zingiber officinale* Roscoe  
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a  
207. Zingiberaceae  
1. Zingiber  
*Zingiber officinale* Roscoe

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.3-1 m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, diameter 2-5 cm, bercabang-cabang, bagian luar permukaannya tidak rata, berkerut, warnanya putih keabu-abuan tetapi bagian rimpang yang berbatasan dengan pangkal batang semu berwarna merah, bagian dalamnya berwarna kuning muda sampai jingga, rasanya pedas. Akar : melekat pada rimpang, tipe akar serabut, berwarna putih hingga kuning kotor atau coklat kekuningan. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau, pangkal batang semu merah. Daun : tunggal, tersusun berseling, berbentuk lanset sempit memanjang hingga garis, panjang 15-23 cm, lebar 8-15 mm, berwarna hijau permanen, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung sangat runcing atau meruncing, tepi rata, pangkal runcing atau sedikit tumpul, pertulangan daun menyirip, permukaan daun berambut pada ibu tulang daun, selebihnya gundul; ligula tegak, memanjang, ujungnya tumpul, tipis seperti selaput, permukaannya gundul, panjang 0.75-1 cm; tangkai daun berambut, panjang 2-4 mm. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa bulir berbentuk bulat telur sempit, ujungnya runcing, panjang 3.5-5 cm, lebar 1.5-1.75 cm, terletak di ujung batang (terminal) yang berdaun atau tidak; ibu tangkai bunga hampir gundul, panjangnya mencapai 25 cm; braktea banyak, berbentuk bulat telur terbalik dengan ujungnya membulat, permukaan gundul, hijau muda, panjang sekitar 2.5 cm, lebar 1-1.25 cm; kelopak berbentuk tabung, taju kelopak bunga ujungnya tumpul; mahkota bunga berwarna kuning kehijauan, panjang tabung mahkota bunga 2-2.5 cm, cuping mahkota bunga berbentuk sempit, ujungnya runcing, panjang 1.5-2.5 cm, lebar 2-3.5 mm; kepala sari berwarna ungu, panjang 9 mm; tangkai putik bercabang 2, memanjang, bibir bunga (*labellum*) berbentuk membulat hingga bulat telur terbalik, panjang 12-15 mm, lebar 13 mm, warnanya ungu gelap. Buah : berupa buah buni, berbentuk bulat telur terbalik. Biji : bijinya kecil-kecil, berbentuk bulat memanjang, dan berwarna hitam ketika masak.

Surakarta, 30 November 2016

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS  
  
Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001



**Lampiran 4. Gambar rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)**



**Rimpang kunyit**



**Serbuk rimpang kunyit**



**Rimpang jahe**



**Serbuk rimpang jahe**



**Moisture balance**



**Proses Sterling-Bidweel**



**Proses sokhletasi rimpang kunyit dan jahe**



**Proses evaporasi kunyit**



**Proses evaporasi jahe**



**Ekstrak rimpang kunyit**



**Ekstrak rimpang jahe**



**Uji bebas etanol rimpang kunyit**



**Uji bebas etanol rimpang jahe**



**Pembuatan larutan stok**



**Larutan stok**

**Lampiran 5. Identifikasi senyawa ekstrak rimpang kunyit dan jahe**

<b>Senyawa</b>	<b>Kunyit</b>	<b>Jahe</b>
<b>Flavonoid</b>		
<b>Alkaloid</b>		
<b>Tanin</b>		
<b>Saponin</b>		

**Lampiran 6. Perlakuan hewan uji**



**Kandang tikus**



**Penyondean tikus**



**Pembedahan tikus**

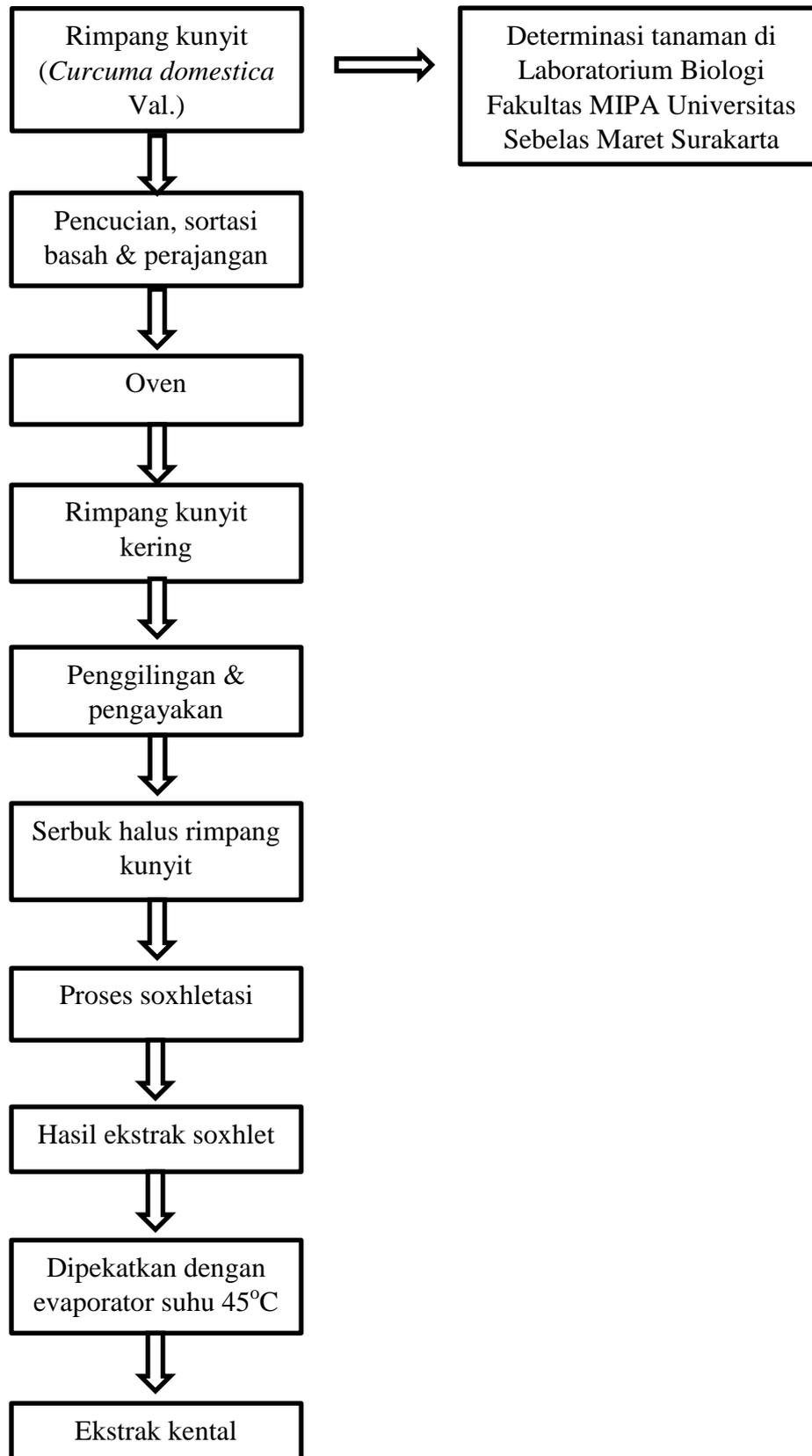
**Lampiran 7. Pengamatan organ secara makroskopis**

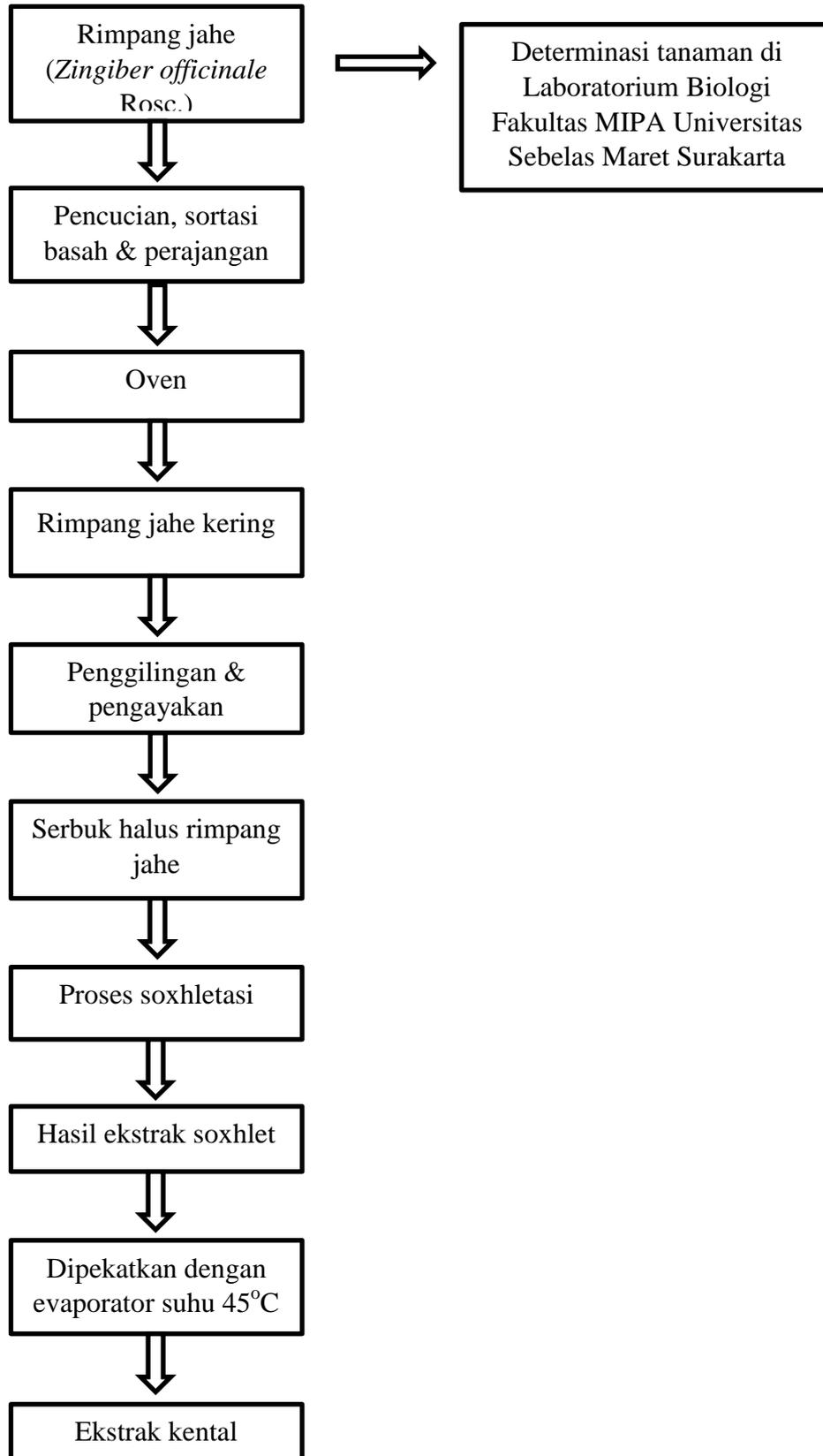


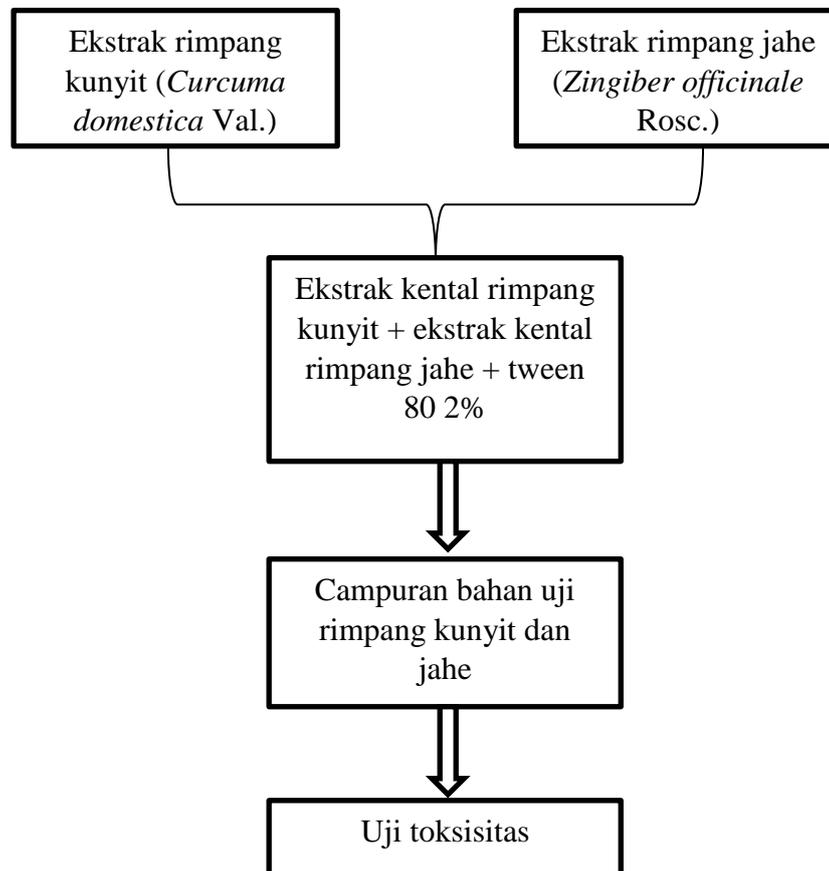
**Organ tikus kelompok dosis 2000 mg/kgBB**



**Organ tikus kelompok dosis 5000 mg/kgBB**

**Lampiran 8. Skemapembuatan ekstrak rimpang kunyit**

**Lampiran 9. Skema pembuatan ekstrak rimpang jahe**

**Lampiran 10. Skema pembuatan sediaan uji**

**Lampiran 11. Hasil rendemen kering****Hasil rendemen serbuk rimpang kunyit dan rimpang jahe****Rimpang kunyit**

Rimpang kunyit basah = 16.500 g

Rimpang kunyit kering = 2.200 g

% rendemen =  $\frac{2.200}{16.500} \times 100\% = 13,34\%$

**Rimpang jahe**

Rimpang jahe basah = 19.000 g

Rimpang jahe kering = 2.100 g

% rendemen =  $\frac{2.100}{19.000} \times 100\% = 11,05\%$

**Lampiran 12. Hasil rendemen ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe****Ekstrak rimpang kunyit**

Serbuk rimpang kunyit = 830 g

Ekstrak rimpang kunyit = 145,100 g

% rendemen =  $\frac{145,100 \text{ g}}{830 \text{ g}} \times 100\% = 17,48\%$

**Ekstrak rimpang jahe**

Serbuk rimpang jahe = 790 g

Ekstrak rimpang jahe = 159,390 g

% rendemen =  $\frac{159,390 \text{ g}}{790 \text{ g}} \times 100\% = 20,17\%$

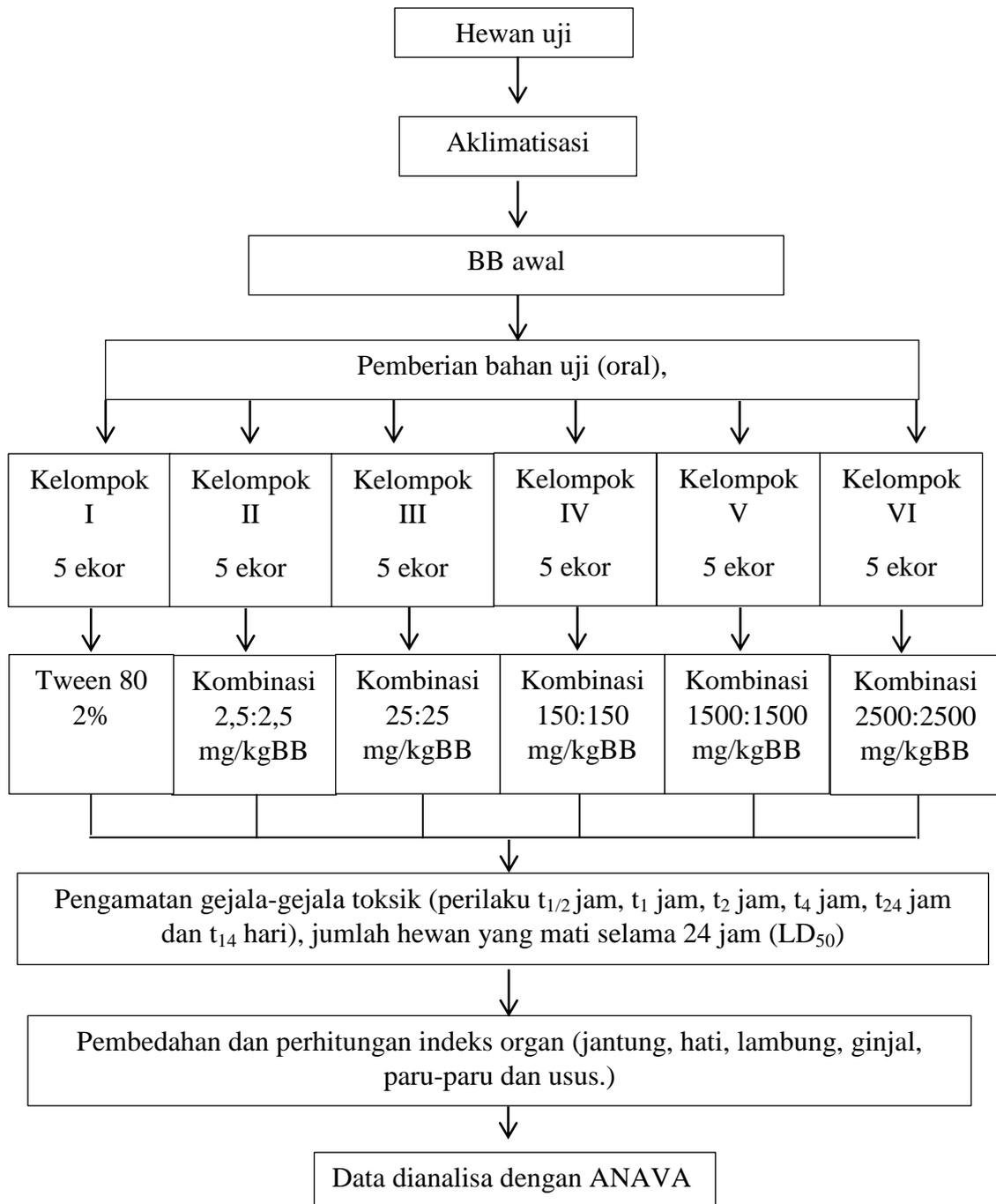
**Lampiran 13. Hasil penetapan kadar kelembaban rimpang kunyit dan jahe**

Bahan	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Kelembaban (%)
Rimpang kunyit	2,00	1,66	6%
	2,00	1,65	6,5%
	2,00	1,66	6%
	Rata-rata± SD		<b>6,16 ± 0,288</b>
Rimpang jahe	2,00	1,89	8,5%
	2,00	1,89	8,5%
	2,00	1,88	9%
	Rata-rata± SD		<b>8,7 ± 0,288</b>

**Lampiran 14. Hasil penetapan kadar air rimpang kunyit dan jahe**

Bahan	Bobot ekstrak (g)	Volume air (mL)	Persen
Rimpang kunyit	30	1,4	1,4%
	30	1,4	1,4%
	30	1,45	1,45%
Rata-rata $\pm$ SD			1,416 $\pm$ 0,029
Rimpang jahe	30	1,8	1,8%
	30	1,82	1,82%
	30	1,85	1,85%
Rata-rata $\pm$ SD			1,823 $\pm$ 0,025

### Lampiran 15. Skema kerja toksisitas



### Skema uji toksisitas akut

## Lampiran 16. Penentuan dosis uji

### 1. Suspensi tween 80 2%

$$\text{Konsentrasi tween 80 2\%} = 2 \text{ ml} / 100 \text{ ml}$$

Tween 80 dipipet sebanyak 2 ml kemudian disuspensikan dengan aquadest panas pada 100 ml, diaduk sampai homogen. Suspensi tween 80 digunakan sebagai kontrol negatif dan *suspending agent*.

### 2. Ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe

Dosis ekstrak kunyit dan jahe yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis toksisitas akut yang tercantum pada BPOM. Perbandingan kombinasi yang digunakan diperoleh dari penelitian farmakologi sebelumnya yaitu kombinasi rimpang kunyit dan jahe.

Larutan stok kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dibuat dalam konsentrasi 0,04%, 0,4%, 15% dan 40%. Ekstrak kental yang ditimbang sebesar 0,02 g kunyit dan 0,02 g jahe untuk konsentrasi 0,04%, 0,2 g kunyit dan 0,2 g jahe untuk konsentrasi 0,4%, 7,5 g kunyit dan 7,5 g jahe untuk konsentrasi 15%, 20 g kunyit dan 20 g jahe untuk konsentrasi 40%. Masing-masing ekstrak yang telah ditimbang disuspensikan pada 2 ml tween 80 kemudian ditambah 100 ml aquadest sampai homogen.

- Kadar larutan stok 0,04% = 0,04 gram / 100 ml  
= 40 mg / 100 ml  
= 0,4 mg / ml

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 5 \text{ mg} / \text{kgBB} \\ &= 1 \text{ mg} / 200 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberiannya} &= \frac{1 \text{ mg}}{0,4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Kadar larutan stok 0,4% = 0,4 gram / 100 ml  
= 400 mg / 100 ml  
= 4 mg / ml

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 50 \text{ mg / kgBB} \\ &= 10 \text{ mg / 200 gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberiannya} &= \frac{10 \text{ mg}}{4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Kadar larutan stok 2% = 2 gram / 100 ml  
= 2000 mg / 100 ml  
= 20 mg / ml

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 300 \text{ mg / kgBB} \\ &= 60 \text{ mg / 200 gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberiannya} &= \frac{60 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 3 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Kadar larutan stok 15% = 15 gram / 100 ml  
= 15.000 mg / 100 ml  
= 150 mg / ml

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 2000 \text{ mg / kgBB} \\ &= 400 \text{ mg / 200 gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberiannya} &= \frac{400 \text{ mg}}{150 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2,6 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Kadar larutan stok 40% = 40 gram / 100 ml  
= 40.000 mg / 100 ml  
= 400 mg / ml

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 5000 \text{ mg / kgBB} \\ &= 1000 \text{ mg / 200 gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberiannya} &= \frac{1000 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

## 3. Dosis dan volume pemberian ekstrak kombinasi rimpang kunyit dan jahe

Dosis 0,4 mg / ml untuk 200 g BB tikus

Kelompok	BB	Dosis	Volume pemberian
II	160 g	0,8 mg / 160 g	$\frac{0,8 \text{ mg}}{0,4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$
	180 g	0,9 mg / 180 g	$\frac{0,9 \text{ mg}}{0,4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$
	180 g	0,9 mg / 180 g	$\frac{0,9 \text{ mg}}{0,4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$
	190 g	0,95 mg / 190 g	$\frac{0,95 \text{ mg}}{0,4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,4 \text{ ml}$
	170 g	0,85 mg / 170 g	$\frac{0,85 \text{ mg}}{0,4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$

## 4. Dosis 4 mg / ml untuk 200 g BB tikus

Kelompok	BB	Dosis	Volume pemberian
III	200 g	10 mg / 200 g	$\frac{10 \text{ mg}}{4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$
	180 g	9 mg / 180 g	$\frac{9 \text{ mg}}{4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$
	180 g	9 mg / 180 g	$\frac{9 \text{ mg}}{4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$
	190 g	9,5 mg / 190 g	$\frac{9,5 \text{ mg}}{4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,4 \text{ ml}$
	170 g	8,5 mg / 170 g	$\frac{8,5 \text{ mg}}{4 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$

## 5. Dosis 20 mg / ml untuk 200 g BB tikus

Kelompok	BB	Dosis	Volume pemberian
IV	190 g	57 mg / 190 g	$\frac{57 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,9 \text{ ml}$
	180 g	54 mg / 180 g	$\frac{54 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,7 \text{ ml}$
	170 g	51 mg / 170 g	$\frac{51 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,6 \text{ ml}$
	190 g	57 mg / 190 g	$\frac{57 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,9 \text{ ml}$
	180 g	54 mg / 180 g	$\frac{54 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,7 \text{ ml}$

## 6. Dosis 150 mg / ml untuk 200 g BB tikus

Kelompok	BB	Dosis	Volume pemberian
V	190 g	380 mg / 190 g	$\frac{380 \text{ mg}}{150 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$
	180 g	360 mg / 180 g	$\frac{360 \text{ mg}}{150 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,4 \text{ ml}$
	180 g	360 mg / 180 g	$\frac{360 \text{ mg}}{150 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,4 \text{ ml}$
	190 g	380 mg / 190 g	$\frac{380 \text{ mg}}{150 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$
	170 g	340 mg / 180 g	$\frac{340 \text{ mg}}{150 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$

## 7. Dosis 400 mg / ml untuk 200 g BB tikus

<b>Kelompok</b>	<b>BB</b>	<b>Dosis</b>	<b>Volume pemberian</b>
VI	180 g	900 mg / 190 g	$\frac{900 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$
	180 g	900 mg / 190 g	$\frac{900 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$
	180 g	900 mg / 190 g	$\frac{900 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$
	190 g	950 mg / 190 g	$\frac{950 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,4 \text{ ml}$
	170 g	850 mg / 180 g	$\frac{850 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$

**Lampiran 17. Perhitungan persentase analisa perilaku**1. *Grooming*

Kelompok dosis 5 mg/kgBB

$$T0,5 : \frac{2}{5} \times 100\% = 40\%$$

$$T1 : \frac{1}{5} \times 100\% = 20\%$$

$$T2 : \frac{1}{5} \times 100\% = 20\%$$

$$T4 : \frac{1}{5} \times 100\% = 20\%$$

$$T24 : \frac{1}{5} \times 100\% = 20\%$$

**Lampiran 18. Tabel perilaku**

**Tabel pengamatan perilaku aktivitas spontan**

Efek yang diamati	Tikus 1						Tikus 2						Tikus 3						Tikus 4						Tikus 5						Tikus 6					
	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24
Ger. Spontan	-	-	-	√	√	-	-	-	√	√	-	√	-	-	-	-	√	-	-	-	√	√	-	√	-	-	√	√	√	-	-	-	√	√	-	√
Ger. Spontan	-	-	-	-	√	-	-	-	√	√	-	-	-	-	-	√	√	-	-	-	√	√	-	√	-	-	-	√	-	-	-	-	√	-	-	√
Ger. Spontan	-	-	-	√	√	-	√	-	-	√	-	√	-	-	√	√	-	-	-	-	√	-	-	√	-	-	-	-	√	-	-	-	√	√	-	√
Ger. Spontan	-	-	-	√	-	-	-	-	√	√	√	√	√	-	-	√	√	-	-	-	√	√	-	√	-	-	-	√	√	-	-	-	-	√	-	-
Ger. Spontan	√	-	-	√	√	-	-	-	√	√	-	√	-	-	-	√	-	-	-	-	-	√	-	√	√	-	-	√	-	-	-	-	√	√	-	√

**Tabel pengamatan perilaku haffner**

Efek yang diamati	Tikus 1						Tikus 2						Tikus 3						Tikus 4						Tikus 5						Tikus 6					
	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24	0	0,5	1	2	4	24
Haffner	√	-	√	√	√	-	-	√	√	√	-	√	-	√	-	-	√	-	√	-	√	√	-	√	√	√	√	√	√	-	√	√	√	√	√	-
Haffner	√	√	√	-	√	√	-	√	√	√	-	-	-	√	-	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	-	√	-	-	√	√	√	-	√	√
Haffner	√	√	√	√	√	√	√	√	-	√	-	√	-	√	√	√	-	√	√	√	-	√	√	√	√	√	-	√	√	√	√	√	√	√	√	
Haffner	-	√	-	√	-	√	-	-	√	√	√	√	√	-	-	√	√	√	√	√	√	√	√	√	-	√	√	√	√	√	-	-	-	√	√	-
Haffner	√	-	-	√	√	-	-	-	√	√	-	√	-	-	-	√	-	√	-	√	-	√	-	√	√	-	√	√	-	√	-	-	√	√	-	√

**Lampiran 19. Tabel probit**

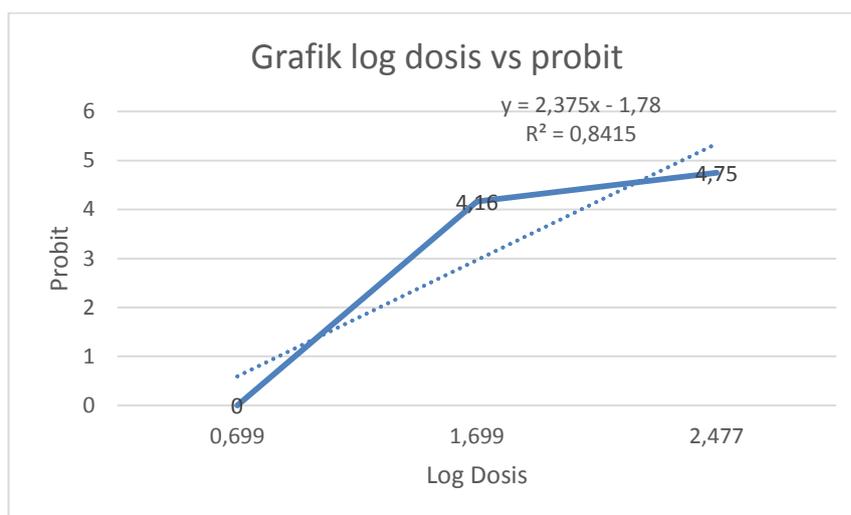
%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

---

## Lampiran 20. Perhitungan LD<sub>50</sub>

### Perhitungan nilai LD<sub>50</sub> kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe

Dosis (mg/kgBB)	Jumlah hewan uji	Jumlah hewan mati	Log Dosis	% Kematian	Probit
2%	5	0	0	0	0
5 mg/kgBB	5	0	0,699	0	0
50 mg/kgBB	5	1	1,699	20%	4,16
300 mg/kgBB	5	2	2,477	40%	4,75
2000 mg/kgBB	5	2	3,301	40%	4,75
5000 mg/kgBB	5	1	3,699	20%	4,16



$$y = a + bx$$

Dimana :

$$y = \text{probit} = 5 \rightarrow 50\% \text{ kematian} = \text{LD}_{50}$$

$$bx = \text{log dosis}$$

Diketahui : regresi log dosis vs probit

$$a = - 1,78$$

$$b = 2,375$$

$$r = 0,943$$

Jawab :

$$y = - 1,78 + 2,375 x$$

$$5 = - 1,78 + 2,375 x$$

$$x = 6,78 / 2,375$$

$$x = 2,85$$

$$LD_{50} = \text{antilog } x$$

$$LD_{50} = \text{antilog } 2,85 = 707,945 \text{ mg/kgBB}$$

Jadi, nilai  $LD_{50}$  kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe adalah 707,945 mg/kgBB termasuk kategori toksik ringan pada rentang 500-5000 mg/kgBB.

**Lampiran 21. Penimbangan berat badan tikus**

Tikus		Berat badan (gram)		
		Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14
Kelompok 1	1	190	200	200
	2	180	170	180
	3	180	180	170
	4	190	170	170
	5	170	170	170
Kelompok 2	1	160	170	180
	2	180	170	170
	3	180	180	170
	4	190	180	180
	5	170	170	180
Kelompok 3	1	200	200	200
	2	180	170	170
	3	180	180	170
	4	190	180	170
	5	170	170	170
Kelompok 4	1	190	190	190
	2	180	170	170
	3	170	180	170
	4	190	180	180
	5	180	170	170
Kelompok 5	1	190	190	200
	2	180	170	170
	3	180	180	180
	4	190	180	160
	5	170	170	180
Kelompok 6	1	180	190	190
	2	180	170	170
	3	180	180	170
	4	190	170	170
	5	170	170	180

## Lampiran 22. Penimbangan berat organ tikus

Hewan	Berat organ tikus (gram)					
	Jantung	Hati	Lambung	Ginjal	Paru-paru	Usus
Kelompok 1	2,05	3,24	4,59	3,16	4,73	6,29
	2,50	4,22	3,64	3,06	3,29	8,62
	2,46	4,15	4,72	3,28	4,57	10,11
	2,39	3,67	3,45	4,25	4,73	7,50
	2,64	3,95	4,03	3,64	4,23	7,29
Rata-rata	2,408	3,846	4,086	3,478	4,31	6,142
Kelompok 2	2,33	4,57	3,95	3,29	3,60	7,64
	2,62	4,22	3,30	3,23	3,38	7,38
	2,78	3,37	3,45	3,45	3,70	8,62
	2,82	3,40	3,62	3,25	3,46	10,21
	2,42	3,50	3,69	3,75	3,45	6,29
Rata-rata	2,594	3,812	3,602	3,394	3,518	6,190
Kelompok 3	2,42	4,92	4,56	4,25	3,40	8,21
	2,83	5,71	5,18	3,52	3,21	10,81
	3,29	4,62	5,65	4,32	4,29	7,28
	2,83	6,50	4,15	3,47	3,55	7,59
	2,56	4,03	3,49	4,62	4,55	8,26
Rata-rata	2,786	5,156	4,606	4,036	3,8	9,824
Kelompok 4	2,65	5,63	4,95	4,12	3,65	9,23
	2,83	6,50	4,15	3,47	3,55	7,200
	2,76	5,05	4,37	3,18	3,11	10,94
	2,83	6,50	4,45	3,47	3,55	6,29
	2,76	5,05	4,87	3,48	3,11	7,16
Rata-rata	2,766	5,746	4,558	3,544	3,394	9,124
Kelompok 5	2,45	4,22	4,78	3,92	3,66	9,24
	2,75	5,33	3,78	3,68	3,30	7,01
	2,71	5,42	3,85	3,39	3,33	8,95
	2,75	5,33	3,78	3,68	3,30	10,21
	3,72	4,39	4,22	3,09	2,97	8,45
Rata-rata	2,876	4,938	4,082	3,552	3,312	8,754
Kelompok 6	2,92	5,66	4,52	4,21	3,33	7,99
	2,65	5,52	4,33	3,41	4,02	8,56
	2,83	6,08	4,56	3,58	3,34	7,09
	3,29	4,27	3,29	4,55	3,73	4,56
	2,73	4,56	4,89	3,44	3,18	9,36
Rata-rata	2,884	5,218	4,318	3,838	4,12	8,678

**Lampiran 23. Perhitungan indeks berat organ**

Hewan	Indeks berat organ tikus					
	Jantung	Hati	Lambung	Ginjal	Paru-paru	Usus
Kelompok 1	0,010	0,016	0,023	0,016	0,024	0,031
	0,014	0,022	0,020	0,025	0,028	0,044
	0,014	0,023	0,020	0,017	0,018	0,048
	0,016	0,022	0,024	0,021	0,025	0,043
	0,014	0,024	0,028	0,019	0,027	0,059
Rata-rata	0,014	0,021	0,023	0,019	0,045	0,045
Kelompok 2	0,013	0,025	0,022	0,018	0,020	0,042
	0,016	0,019	0,020	0,018	0,019	0,057
	0,015	0,025	0,019	0,019	0,019	0,043
	0,013	0,019	0,021	0,021	0,020	0,035
	0,016	0,019	0,020	0,020	0,011	0,051
Rata-rata	0,015	0,021	0,020	0,019	0,018	0,046
Kelompok 3	0,012	0,025	0,023	0,021	0,017	0,041
	0,017	0,038	0,024	0,020	0,021	0,045
	0,017	0,034	0,030	0,021	0,019	0,043
	0,015	0,024	0,021	0,027	0,027	0,049
	0,019	0,027	0,033	0,025	0,025	0,045
Rata-rata	0,016	0,029	0,026	0,022	0,022	0,044
Kelompok 4	0,014	0,029	0,026	0,022	0,019	0,049
	0,016	0,036	0,025	0,019	0,019	0,035
	0,017	0,038	0,024	0,020	0,021	0,042
	0,016	0,021	0,029	0,020	0,018	0,042
	0,016	0,029	0,026	0,019	0,019	0,064
Rata-rata	0,016	0,030	0,030	0,019	0,019	0,046
Kelompok 5	0,012	0,021	0,024	0,019	0,018	0,046
	0,017	0,033	0,024	0,023	0,021	0,063
	0,016	0,031	0,022	0,022	0,019	0,041
	0,019	0,024	0,023	0,017	0,017	0,047
	0,015	0,030	0,021	0,019	0,018	0,049
Rata-rata	0,016	0,024	0,023	0,020	0,019	0,049
Kelompok 6	0,015	0,029	0,024	0,022	0,018	0,042
	0,019	0,025	0,019	0,027	0,040	0,027
	0,016	0,032	0,025	0,020	0,024	0,050
	0,015	0,025	0,027	0,019	0,018	0,052
	0,017	0,036	0,027	0,021	0,019	0,042
Rata-rata	0,016	0,029	0,024	0,022	0,024	0,043

## Lampiran 24. Hasil uji statistik indeks organ tikus

1. Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan Uji Homogenitas *Levene* terhadap indeks organ tikus

a. Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov

Ho : Data indeks organ tikus terdistribusi normal

Ha : Data indeks organ tikus tidak terdistribusi normal

Pengambilan keputusan :

Jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$  maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi  $\leq 0,05$  maka Ho ditolak

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Jantung	30	.01530	.002200	.010	.019
Hati	30	.02670	.006007	.016	.038
Lambung	30	.02380	.003408	.019	.033
Ginjal	30	.02057	.002712	.016	.027
Paruparu	30	.02093	.005092	.011	.040
Usus	30	.04557	.008299	.027	.064

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Jantung	Hati	Lambung	Ginjal	Paruparu	Usus
N		30	30	30	30	30	30
Normal	Mean	.01530	.02670	.02380	.02057	.02093	.04557
Parameter	Std. Deviation	.002200	.006007	.003408	.002712	.005092	.008299
$S^{a,b}$	Most Absolute	.158	.178	.143	.170	.228	.158
	Extreme Positive	.120	.178	.143	.170	.228	.106
	Difference Negative	-.158	-.073	-.079	-.115	-.187	-.158
s	Kolmogorov-Smirnov Z	.866	.975	.785	.930	1.249	.864
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.441	.297	.569	.352	.088	.444

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Keputusan : Uji normalitas indeks organ tikus seluruhnya terdistribusi normal ( $p \geq 0,05$ ).

## 2. Uji Kruskal Wallis

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan indeks organ tikus yang tidak memenuhi syarat pengujian ANAVA.

Ho : Data indeks organ tikus tidak berbeda secara bermakna.

Ha : Data indeks organ tikus berbeda secara bermakna.

Ranks			
	Kelperlakuan	N	Mean Rank
Jantung	Kontrol Negatif	5	8.90
	Dosis 1	5	11.90
	Dosis 2	5	18.70
	Dosis 3	5	18.70
	Dosis 4	5	17.40
	Dosis 5	5	17.40
	Total	30	
Hati	Kontrol Negatif	5	7.20
	Dosis 1	5	7.80
	Dosis 2	5	19.90
	Dosis 3	5	20.50
	Dosis 4	5	17.30
	Dosis 5	5	20.30
	Total	30	
Lambung	Kontrol Negatif	5	13.30
	Dosis 1	5	5.80
	Dosis 2	5	19.50
	Dosis 3	5	22.80
	Dosis 4	5	13.30
	Dosis 5	5	18.30
	Total	30	

Organ	Treatment	n	Mean
Ginjal	Kontrol Negatif	5	12.00
	Dosis 1	5	10.80
	Dosis 2	5	22.40
	Dosis 3	5	14.40
	Dosis 4	5	14.10
	Dosis 5	5	19.50
	Total	30	
Paruparu	Kontrol Negatif	5	22.40
	Dosis 1	5	13.00
	Dosis 2	5	18.00
	Dosis 3	5	13.60
	Dosis 4	5	10.00
	Dosis 5	5	16.00
	Total	30	
Usus	Kontrol Negatif	5	15.60
	Dosis 1	5	15.50
	Dosis 2	5	14.70
	Dosis 3	5	14.70
	Dosis 4	5	18.70
	Dosis 5	5	13.80
	Total	30	

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Jantung	Hati	Lambung	Ginjal	Paruparu	Usus
Chi-square	5.583	12.931	11.824	6.805	6.257	.937
Df	5	5	5	5	5	5
Asymp. Sig.	.349	.024	.037	.236	.282	.968

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelperlakuan

Keputusan : data indeks organ hati dan lambung berbeda secara bermakna ( $p \leq 0,05$ ).

## Defekasi

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Waktu
N		36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.50
	Std. Deviation	1.732
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.140
	Negative	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		.841
Asymp. Sig. (2-tailed)		.480

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Keputusan : Uji normalitas data waktu defekasi tikus seluruhnya terdistribusi normal ( $p \geq 0,05$ ).

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
SetelahPerlakuan	36	48.89	21.082	0	80
Waktu	36	3.50	1.732	1	6

### Ranks

	Waktu	N	Mean Rank
SetelahPerlakuan	Jam ke 0	6	8.25
	Jam ke 1/2	6	25.75
	Jam ke 1	6	8.75
	Jam ke 2	6	22.50
	Jam ke 4	6	18.67
	Jam ke 24	6	27.08
	Total	36	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Setelah Perlakuan
Chi-square	20.200
Df	5
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Waktu

Keputusan : data waktu defekasi tikus berbeda secara bermakna ( $p \leq 0,05$ ).

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Kelompok
N		36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.50
	Std. Deviation	1.732
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.140
	Negative	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		.841
Asymp. Sig. (2-tailed)		.480

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Perlakuan	36	48.89	21.082	0	80
Kelompok	36	3.50	1.732	1	6

**Ranks**

Kelompok		N	Mean Rank
Perlakuan	Kontrol negatif	6	13.83
	Dosis 5 mg/kgBB	6	20.33
	Dosis 50 mg/kgBB	6	18.25
	Dosis 300 mg/kgBB	6	17.67
	Dosis 2000 mg/kgBB	6	20.33
	Dosis 5000 mg/kgBB	6	20.58
	Total	36	

	Perlakuan
Chi-square	1.982
Df	5
Asymp. Sig.	.852

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Keputusan : data kelompok perlakuan tikus tidak berbeda secara bermakna ( $p \geq 0,05$ ).

Kesimpulan :

Berdasarkan waktu pengujian gejala defekasi semua waktu berbeda secara bermakna dengan waktu sebelum perlakuan ( $p \leq 0,05$ ) dan kelompok uji tidak berbeda secara bermakna antara kelompok uji bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

## Urinasi

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Waktu
N		36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.50
	Std. Deviation	1.732
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.140
	Negative	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		.841
Asymp. Sig. (2-tailed)		.480

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Keputusan : data waktu urinasi tikus seluruhnya terdistribusi normal ( $p \geq 0,05$ ).

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Setperlakuan	36	31.67	18.127	0	60
Waktu	36	3.50	1.732	1	6

### Ranks

Waktu		N	Mean Rank
Setperlakuan	Jam ke 0	6	12.50
	Jam ke 1/2	6	23.00
	Jam ke 1	6	19.67
	Jam ke 2	6	21.25
	Jam ke 4	6	11.75
	Jam ke 24	6	22.83
	Total	36	

### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Setperlakuan
Chi-square	7.774
Df	5
Asymp. Sig.	.169

- a. Kruskal Wallis Test  
b. Grouping Variable: Waktu

Keputusan : data waktu urinasi tikus tidak berbeda secara bermakna ( $p \geq 0,05$ ).

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelompok
N		36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.50
	Std. Deviation	1.732
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.140
	Negative	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		.841
Asymp. Sig. (2-tailed)		.480

- a. Test distribution is Normal.  
b. Calculated from data.

Keputusan : data kelompok perlakuan urinasi tikus seluruhnya terdistribusi normal ( $p \geq 0,05$ ).

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Perlakuan	36	30.00	17.566	0	60
Kelompok	36	3.50	1.732	1	6

#### Ranks

Kelompok		N	Mean Rank
Perlakuan	Kontrol Negatif	6	8.83
	Dosis 5 mg/kgBB	6	20.83
	Dosis 50 mg/kgBB	6	16.50
	Dosis 300 mg/kgBB	6	18.75
	Dosis 2000 mg/kgBB	6	20.00
	Dosis 5000 mg/kgBB	6	26.08
	Total	36	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Perlakuan
Chi-square	9.913
Df	5
Asymp. Sig.	.078

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Keputusan : data kelompok perlakuan tikus tidak berbeda secara bermakna ( $p \geq 0,05$ ).

Kesimpulan :

Berdasarkan waktu pengujian gejala urinasi semua waktu tidak berbeda secara bermakna dengan waktu sebelum perlakuan ( $p \geq 0,05$ ) dan kelompok uji tidak berbeda secara bermakna antara kelompok uji bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.