

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA
(*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER
KADAR KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL
DAN HDL PADA TIKUS GALUR WISTAR**



Oleh:

**Putri Rosita Kusumaningrum
20144202A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA
(*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER
KADAR KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL
DAN HDL PADA TIKUS GALUR WISTAR**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)*

*Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Putri Rosita Kusumaningrum
20144202A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKTRAK ETANOL DAUN MATOA
(Pometia pinnata J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER
KADAR KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL
DAN HDL PADA TIKUS GALUR WISTAR**

Oleh :

**Putri Rosita Kusumaningrum
20144202A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 4 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan

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

Pembimbing

Dr. Ika Purwidyaningrum, M. Sc., Apt

Pembimbing Pendamping

Dr. Titik Sunarni, M. Si., Apt

Penguji :

1. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt
2. Drs. Mardiyono, M.Si
3. Fitri Kurniasari, M. Farm., Apt
4. Dr. Ika Purwidyaningrum, M. Sc., Apt

1.

3.

2.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“... Dan boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”

(Q.S. Al Baqarah: 216)

Pengalaman bukan saja yang telah terjadi pada diri Anda. Melainkan apa yang Anda lakukan dengan kejadian yang Anda alami.

(Aldous Huxley)

“Tidak akan bergeser kaki anak Adam pada hari kiamat sebelum ditanya empat perkara: tentang umurnya untuk apa dihabiskan, masa mudanya untuk apa ia gunakan, hartanya dari mana diperolehnya dan kemana dibelanjakan, dan tentang ilmunya apakah di amalkan atau tidak.”

(HR. Ahmad)

Dengan segala kerendahan hati saya persembahkan karya ini kepada :

1. Allah SWT atas segala berkah dan karunia-Nya.
2. Mama, Papa tercinta, terimakasih untuk setiap doa, kasih sayang dan cinta yang telah turerah. Semoga Allah memuliakan Mama dan Papa di manapun berada. Serta keluarga besarku yang selalu mendukung baik dari segi moral dan finansial serta doa yang tak pernah terhenti agar aku dapat meraih segala mimpiku dan kelak bermanfaat bagi orang lain dan diri sendiri.
3. Dr. Ika Purwidyaningrum, M. Sc., Apt dan Dr. Titik Sunarni, M. Si., Apt sekaligus dosen pembimbing yang senantiasa membantu serta memberikan motivasi ataupun masukan sehingga tercapailah hasil karya ini.
4. Semua sahabat khususnya Masyitah, Widiyasanti, Rostika, Miraziza, Ika, serta teman-teman di Farmasi, terimakasih atas semua bantuan dan semangat kalian.
5. Almamater Universitas Setia Budi, 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 secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 4 Juli 2018

Penulis

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'PR' followed by a stylized flourish.

Putri Rosita Kusumaningrum

KATA PENGANTAR

Segala Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunianya-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul:

UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) DENGAN PARAMETER KADAR KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL DAN HDL PADA TIKUS GALUR WISTAR

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Strata 1 pada Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak, baik material maupun spiritual. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. 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. Dr. Ika Purwidyaningrum, M. Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk, bimbingan, nasehat dan motivasi kepada penulis selama penelitian sehingga dapat terlaksana dengan baik.
4. Dr. Titik Sunarni, M. Si., Apt. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga skripsi ini selesai.
5. Dosen pembimbing akademik, Ibu Sunarti, S.Farm., M.Sc., Apt yang selalu membimbing dan mengarahkan sejak pertama kuliah hingga selesai.
6. Segenap Dosen pengajar, karyawan, dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.
7. Para sahabat khususnya Masyitah, Rostika, Widiyasanti, Rika, Ida, Ayu, Putri, Miraziza, Ika, Venin, teman-teman Karawitan,

8. Teman - teman S1 Farmasi USB angkatan 2014 atas dukungan dan semangatnya.

9. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu. Terimakasih.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, untuk itu segala kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi para pembaca.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak khususnya untuk perkembangan Ilmu Farmasi dan almamater tercinta.

Surakarta, 4 Juli 2018

Penulis

Putri Rosita Kusumaningrum

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Matoa	6
1. Sistematika tanaman.....	6
2. Nama daerah	6
3. Morfologi tanaman.....	6
4. Kegunaan	7
5. Kandungan kimia	7
5.1 Flavonoid.....	7
5.2 Saponin.....	8
5.3 Tanin.....	8
B. Simplisia	8
1. Pengertian simplisia	8
2. Karakterisasi simplisia.....	9
3. Pengumpulan simplisia.....	9
4. Cara pembuatan simplisia.....	9

5.	Pengeringan simplisia.....	10
C.	Penyarian	10
1.	Pengertian penyarian	10
2.	Jenis – jenis ekstraksi	11
2.1	Perkolasi.	11
2.2	Soxhlet.....	11
2.3	Maserasi.....	11
2.4	Destilasi uap.....	12
2.5	Refluk.	12
3.	Pelarut.....	12
D.	Toksisitas	13
1.	Uji toksisitas.....	13
1.1	Uji toksisitas akut.....	13
1.2	Uji toksisitas subkronik.....	13
1.3	Uji toksisitas kronik.....	14
2.	Jenis pengujian toksisitas subkronik	14
2.1	Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari.....	14
3.	Uji toksisitas subkronis oral 90 hari	14
3.1	Spesies dan jumlah hewan uji.....	14
3.2	Dosis dan batas uji.....	15
3.3	Penetapan dosis sediaan.....	15
3.4	Cara pemberian dan lama pemberian zat uji.....	15
3.5	Monitoring berat badan.....	16
3.6	Pengamatan gejala klinis dan toksik.....	16
3.7	Pengambilan darah.....	16
3.8	Parameter pengujian.....	16
E.	Hewan Percobaan.....	17
1.	Sistematika hewan percobaan	17
2.	Karakteristik hewan percobaan.....	17
3.	Pengambilan dan pemegangan.....	18
4.	Pemberian sediaan uji.....	18
5.	Pengambilan darah dan pengumpulan serum	18
F.	Kolesterol.....	19
1.	Pengertian Kolesterol	19
2.	Sintesis kolesterol.....	19
3.	Transpor Kolesterol.....	20
4.	Lipid dan Lipoprotein.....	20
4.1	Kilomikron.....	20
4.2	LDL (Low Density Lipoprotein).....	20
4.3	HDL (High Density Lipoprotein).....	21
4.4	VLDL (Very Low Density Lipoprotein).....	22
5.	Metabolisme kolesterol	22
6.	Fungsi kolesterol	22
7.	Faktor yang mempengaruhi kolesterol plasma dan serum	23
G.	Metode Pengukuran Kolesterol	23
H.	Trigliserida.....	24

1.	Pengertian trigliserida.....	24
2.	Metode pengukuran trigliserida	25
I.	Landasan Teori.....	25
J.	Kerangka Penelitian	27
K.	Hipotesis	28
BAB III	METODE PENELITIAN	29
A.	Populasi dan Sampel	29
B.	Variabel Penelitian	29
1.	Identifikasi variabel utama	29
2.	Klasifikasi variabel utama	29
3.	Definisi operasional variabel utama	30
C.	Alat dan Bahan.....	30
1.	Bahan.....	30
1.1	Bahan Sampel.....	30
1.2	Bahan Kimia.....	31
1.3	Alat	31
D.	Jalannya Penelitian.....	31
1.	Determinasi tanaman.....	31
2.	Persiapan bahan.....	32
2.1	Pembuatan serbuk daun matoa.....	32
2.2	Penetapan susut pengeringan.	32
2.3	Penetapan kadar air serbuk daun matoa.	32
2.4	Pembuatan ekstrak etanol daun matoa.	32
2.5	Tes bebas etanol daun matoa.	34
3.	Identifikasi kualitatif	34
3.1	Identifikasi flavonoid.	34
3.2	Identifikasi saponin.	34
3.3	Identifikasi tanin.	34
4.	Prosedur kerja pengujian uji toksisitas subkronis	34
4.1	Penyiapan hewan uji.....	34
4.2	Penetapan dosis sediaan dan lama pemberian.	34
4.3	Monitoring berat badan	35
4.4	Pengelompokan hewan uji.....	35
4.5	Pengambilan darah.	35
4.6	Perlakuan pembedahan dan pasca bedah hewan uji.....	36
4.7	Pemeriksaan kolesterol total, trigliserida, HDL dan LDL.....	36
E.	Analisis Data.....	36
F.	Skema Penelitian.....	38
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	39
A.	Tanaman Daun Matoa	39
1.	Hasil determinasi tanaman daun matoa.....	39
2.	Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk daun matoa.....	39
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun matoa	40
4.	Hasil penetapan kadar air serbuk daun matoa.....	41

5.	Hasil pembuatan serbuk ekstrak etanol daun matoa	42
6.	Hasil tes bebas etanol	43
7.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun matoa.....	43
B.	Hasil Uji Toksisitas Subkronis Daun Matoa	44
1.	Hasil uji toksisitas subkronis daun matoa.....	44
1.1	Persiapan hewan uji.....	44
1.2	Penetapan dosis hewan uji.	44
1.3	Pengamatan berat badan	45
2.	Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total.....	47
3.	Hasil pemeriksaan kadar trigliserida	51
4.	Hasil pemeriksaan kadar HDL.....	54
5.	Hasil pemeriksaan kadar LDL	57
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	62
A.	Kesimpulan.....	62
B.	Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	69

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema kerangka penelitian	27
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol 96% daun matoa	33
Gambar 3. Skema alur penelitian uji toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa	38
Gambar 4. Grafik kadar kolesterol jantan.....	45
Gambar 5. Grafik kadar koleterol betina	45
Gambar 6. Grafik trigliserida jantan.....	47
Gambar 7. Grafik trigliserida betina.....	48
Gambar 8. Grafik kadar HDL Jantan.....	54
Gambar 9. Grafik kadar HDL Betina	55
Gambar 10. Grafik kadar LDL Jantan	57
Gambar 11. Grafik kadar LDL Betina.....	58
Gambar 12. Grafik Kadar LDL Jantan.....	57
Gambar 13 Grafik Kadar LDL Betina	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kadar dari Kolesterol LDL darah	21
Tabel 2. Kadar dari kolesterol HDL darah	22
Tabel 3. Hasil rendemen daun kering terhadap daun matoa basah	40
Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan daun matoa	40
Tabel 5. Persentase penetapan kadar air serbuk daun matoa	42
Tabel 6. Hasil persentase rendemen ekstrak etanol daun matoa	43
Tabel 7. Uji bebas etanol ekstrak daun matoa	43
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan	44
Tabel 9. Rata-rata kadar kolesterol total	49
Tabel 10. Rata-rata kadar trigliserida	52
Tabel 11. Rata-rata kadar HDL	55
Tabel 12. Rata-rata kadar LDL	58

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat determinasi.....	70
Lampiran 2. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk	71
Lampiran 3. Perhitungan rendemen berat basah terhadap berat kering daun matoa	73
Lampiran 4. Perhitungan penetapan kadar air	74
Lampiran 5. Perhitungan rendemen ekstrak.....	75
Lampiran 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun matoa	76
Lampiran 7. Proses pembuatan ekstrak.....	77
Lampiran 8. Surat keterangan hewan uji.....	78
Lampiran 9. Surat izin etik kehehewan.....	79
Lampiran 10. Hewan uji yang digunakan	80
Lampiran 11. Perhitungan penyesuaian dosis dan volume pemberian pada uji toksisitas subkronik	81
Lampiran 12. Pengambilan darah, proses sentrifugasi, dan reagen pemeriksaan kadar Kolesterol total, Trigliserida, HDL, dan LDL	82
Lampiran 13. Data berat badan tikus	84
Lampiran 14. Data kematian tikus.....	85
Lampiran 15. Hasil pengukuran Kadar Kolesterol Total.....	87
Lampiran 16. Hasil pengukuran Kadar Trigliserida	89
Lampiran 17. Hasil pengukuran Kadar HDL	91
Lampiran 18. Hasil pengukuran Kadar LDL.....	93
Lampiran 19. Hasil uji statistik	95

INTISARI

KUSUMANINGRUM, PR., 2018. UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKTRAK ETANOL DAUN MATOA (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER KADAR KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL DAN HDL PADA TIKUS GALUR WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) pada uji toksisitas akut menunjukkan nilai LD₅₀ >5000 mg/kgBB praktis tidak toksik. Ekstrak etanolik daun matoa memiliki aktivitas sebagai antihipertensi. Tujuan penelitian ini mengetahui toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dengan parameter kadar kolesterol total, trigliserida, HDL, dan LDL.

Ekstrak daun matoa diperoleh dari proses maserasi dengan pelarut etanol 70%. Penelitian ini menggunakan 50 tikus jantan dan 50 tikus betina yang terbagi atas 5 kelompok. Kelompok pertama diberi CMC 0,5%, 4 kelompok perlakuan diberi sediaan ekstrak daun matoa dengan dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dan satelit diberi dosis 1000 mg/kgBB. Penelitian ini dilakukan selama 90 hari dan ditambah 28 hari pada kelompok satelit. Pemeriksaan kadar kolesterol total, trigliserida, HDL dan LDL dilakukan pada T₀, T₉₀, dan T₁₁₈.

Hasil uji toksisitas subkronik menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun matoa dosis 150, 500, dan 1000 mg/kgBB selama 90 hari terhadap pengamatan kadar kolesterol total, trigliserida tikus jantan dan betina tidak menimbulkan efek toksik, pengamatan HDL dosis 150 mg/kgBB efektif tidak menimbulkan efek toksik tikus jantan dan betina. Dosis 150, 500, mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik kadar LDL tikus jantan dan betina.

Kata kunci: *Pometia pinnata*, toksisitas subkronik, kolesterol total, trigliserida, HDL, LDL

ABSTRACT

KUSUMANINGRUM, PR., 2018. SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF MATOA LEAF (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) WITH PARAMETERS TOTAL CHOLESTEROL LEVELS, TRIGLYSERIDES, HDL AND LDL ON WISTAR RATS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Matoa leaf (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) acute toxicity test showed LD50 value >5000 mg/kgBB practically not toxic. The ethanolic extract of matoa leaf has activity as antihypertensive. The purpose of this study was to know the subchronic toxicity of ethanol extract of matoa leaf for 90 days dose 150, 500, 1000 mg/kgBW with parameter of total cholesterol, triglyceride, HDL, and LDL.

The extract matoa leaf was obtained from maceration process with 70% ethanol. This study used 50 male rats and 50 female rats, divided into 5 groups. The first group of negative control was given 0,5% CMC, treatment group of two to four were prepared with extract matoa leaf doses of 250, 500, 1000 mg/kgBW, and satellite group was given 1000 mg/kgBW. The study was conducted over 90 days and added 28 days in the satellite group. The examination of total cholesterol, triglyceride, HDL and LDL levels was performed on T0, T90, and T118.

Subchronic toxicity test results showed that ethanol extract of leaf matoa dose 150, 500, and 1000 mg/kgBB for 90 days against observation of total cholesterol, triglyceride of male and female rats did not give toxic effect, whereas HDL observations have the toxic effect of lowering HDL levels of male and female rats, HDL observation of 150 mg / kgBW effective dose did not produce toxic effects of male and female rats. Doses 150, 500, mg / kgBW did not cause toxic effects of LDL levels of male and female rats.

Keywords: *Pometia pinnata*, subchronic toxicity, total cholesterol, triglyserides, HDL, LDL

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki hutan tropis yang merupakan wilayah dengan mega diversitas sumber daya alam. Berdasarkan fitogeografi, Indonesia termasuk salah satu kawasan botani dunia yang terpenting, karena didalamnya terkandung keanekaragaman flora dan fauna. Apabila kekayaan tumbuhan tersebut digabungkan dengan kekayaan mikroorganisme dan biota laut, maka Indonesia merupakan sumber keanekaragaman hayati raksasa (Wahjoedi 2004).

Indonesia memiliki 25.000–30.000 jenis tanaman dan lebih dari 1000 jenis telah diketahui dapat digunakan sebagai obat (Dewoto 2007). Penggunaan tanaman sebagai bahan baku obat dalam upaya mempertahankan kesehatan masyarakat telah lama kita ketahui. Sebagian obat modern yang beredar di dunia diketahui berasal dari bahan aktif yang diisolasi dan dikembangkan dari tanaman. Tumbuhan obat tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologik yang beraneka ragam yang memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit.

Penelitian mengenai obat tradisional tanaman obat, terus berlangsung bahkan meningkat jumlahnya akhir-akhir ini. Meskipun demikian, dalam kenyataannya hingga saat ini baru beberapa penelitian obat tradisional ataupun tanaman obat yang digunakan dalam fasilitas pelayanan kesehatan (Depkes RI 2000).

Tanaman obat yang sering kita jumpai di sekitar kita, salah satunya yang berkhasiat yaitu tanaman matoa. Matoa merupakan tanaman asli Papua dari famili Sapindaceae yang tersebar di daerah tropis, termasuk Indonesia. Tanaman ini merupakan suku Sapindaceae yang dimanfaatkan oleh bangsa Asia seperti Malaysia sebagai salah satu obat-obatan tradisional (Dalimartha 2005). Bagian dari tanaman ini yang sudah dimanfaatkan oleh masyarakat adalah bagian buahnya untuk dikonsumsi langsung dan bagian daun. Daun matoa dapat

digunakan sebagai obat demam, bengkak keseleo, dan sakit kulit (Thomson 2006).

Sebagian masyarakat di daerah asalnya telah mengenal dan memanfaatkan air dari seduhan daun matoa sebagai obat tradisional yang diketahui mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, tanin dan saponin (Mohammad *et al.* 2012). Aktivitas farmakologi senyawa tanin pada daun matoa dilaporkan sebagai antibakteri (Kuspradini 2016). Kulit batang matoa sebagai aktivitas farmakologi diketahui kandungan flavonoid, tanin, dan saponin sebagai antibakteri (Ngajow 2013).

Berkembangnya matoa sebagai bahan sediaan obat yang alami harus didukung dengan adanya penelitian. Ekstrak daun matoa berkhasiat sebagai diuretik dengan dosis 100 mg/kgBB (Purwidyaningrum 2017a). Putri (2017) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun matoa dengan dosis efektif 100 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol. Ekstrak daun matoa dengan dosis efektif 400 mg/kgBB dapat menurunkan kadar trigliserida (Wardana 2017). Ekstrak etanolik daun matoa memiliki aktivitas sebagai antihipertensi yang paling efektif pada dosis 150 mg/kg BB dapat menurunkan tekanan darah. Uji toksisitas akut ekstrak daun matoa yang telah dilakukan oleh (Purwidyaningrum 2017b) menunjukkan nilai $LD_{50} > 5000$ mg/kgBB tikus. Sehingga penelitian dikembangkan lebih efektif dalam menurunkan kadar kolesterol secara optimal dengan menguji ekstrak etanol daun matoa terhadap kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan HDL pada serum tikus galur wistar.

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendekati efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis – respon yang khas dari sediaan uji sehingga dapat digunakan untuk memberikan informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan tetapi $\pm 10\%$ dari seluruh umur hewan dalam waktu 14-90 hari tergantung lama waktu pengobatan. Untuk penyakit degeneratif seperti penyakit hipertensi dengan pengobatan lebih dari 30 hari maka lama pengujian toksisitas subkronik berlangsung selama 90 hari (Depkes 2000).

Senyawa toksikan pada dasarnya tidak mempengaruhi semua pengukuran biokimia darah, karena adanya perbedaan dari tingkat kepekaan pengukuran dari masing-masing kadar. Uji toksisitas subkronik terhadap daun matoa untuk menilai pengukuran biokimia darah yang dilakukan diantaranya yaitu kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan HDL.

LDL adalah penyumbang utama terhadap konsentrasi total kolesterol manusia. LDL berfungsi membawa kolesterol ke jaringan perifer (untuk sintesis membran plasma dan hormon steroid). Lemak makin lama akan menebal dan keras maka akan menyumbat aliran darah. Sehingga biasa disebut dengan kolesterol jahat. Kadar kolesterol normal bila kadar dalam darah kurang dari 100 mg/dl (Rahardja & Tan 2007).

HDL adalah lipoprotein terberat yang mengandung 50% protein, fosfolipid 30% dan kolesterol 20%. Efek HDL adalah mengangkut kolesterol dari perifer untuk dimetabolisme di hati dan akan menghambat oksidatif LDL melalui paraoksonase, yaitu suatu protein yang bersosiasi dengan HDL (Suyatna 2011).

Trigliserida merupakan bagian komposisi asam lemak dalam tubuh. Kadar normal trigliserid mempunyai fungsi sebagai sumber energi dengan batas normal tidak melebihi kadar 150 mg/dl. Apabila kadar trigliserida melebihi batas normal, akan berbahaya bagi tubuh karena beberapa lipoprotein yang tinggi juga mengandung kolesterol sehingga dapat menyebabkan hiperkolesterol (Graha 2010).

Berdasarkan hal tersebut akan dilakukan penelitian uji toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa dengan parameter kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan HDL pada tikus putih jantan dan betina galur wistar.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Pertama, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa dengan dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB selama 90 hari dapat menyebabkan efek toksik dilihat dari parameter kadar kolesterol total pada tikus putih galur wistar?

Kedua, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa dengan dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB selama 90 hari dapat menyebabkan efek toksik dilihat dari parameter kadar trigliserida pada tikus putih galur wistar?

Ketiga, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa dengan dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB selama 90 hari dapat menyebabkan efek toksik dilihat dari parameter kadar HDL pada tikus putih galur wistar?

Keempat, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa dengan dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB selama 90 hari dapat menyebabkan efek toksik dilihat dari parameter kadar LDL pada tikus putih galur wistar?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, mengetahui toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dengan parameter kadar kolesterol total pada tikus putih galur wistar.

Kedua, mengetahui toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dengan parameter kadar trigliserida pada tikus putih galur wistar.

Ketiga, mengetahui toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dengan parameter kadar HDL pada tikus putih galur wistar.

Keempat, mengetahui toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dengan parameter kadar LDL pada tikus putih galur wistar.

D. Kegunaan Penelitian

Pertama, hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi bagi masyarakat guna menambah pengetahuan tentang keamanan penggunaan ekstrak daun matoa sebagai obat tradisional.

Kedua, memberikan informasi kepada bidang ilmu pengetahuan mengenai data ilmiah biokimia darah pada efek toksik ekstrak daun matoa.

Ketiga, penelitian ini diharapkan dapat memberikan landasan informasi untuk penelitian lebih lanjut tentang daun matoa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Matoa

1. Sistematika tanaman

Tanaman matoa merupakan tumbuhan daerah tropis yang banyak terdapat di hutan-hutan pedalaman papua. Kedudukan tanaman daun matoa dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
- Sub kelas : Rosidae
- Ordo : Sapindales
- Famili : Sapindaceae
- Genus : Pometia
- Species : *Pometia pinnata* J.R & J. G. Forst (Rumayomi 2003).

2. Nama daerah

Tanaman ini di dunia perdagangan dikenal dengan nama Matoa. Nama di tempat lain dikenal dengan berbagai nama, yaitu Malugai (Philipina), dan Kasai (Malaysia, Kalimantan Utara). Nama daerah adalah Kasai, Kungkil, Kongkir, Lauteneng, Ganggo, Pakam (Sumatera), Wusel (Sulawesi), Jagir, Sapen (Jawa), Hatobu, Matoa, Tawan (Maluku), Mendek, Mohui, Sena, Tawa, Tawang (Papua).

Matoa di Indonesia tumbuh menyebar di wilayah Indonesia yaitu Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Sumbawa (Nusa Tenggara Barat), Bali, Maluku dan Papua. Daerah penyebaran matoa di Bali antara lain di Klungkung, Bangli, Denpasar dan Jembrana (Rumayomi 2003).

3. Morfologi tanaman

Tumbuhan berbentuk pohon, batang tegak, bulat, berkayu, percabangan simpodial kasar, coklat keputih-putihan. Daun majemuk, lonjong, berseling, panjang 9-24 m, lebar 4-11 cm, tepi bergerigi, ujung, dan pangkal meruncing,

pertulangan menyirip, permukaan mengkilat, berwarna hijau (Hutapea 1994). Permukaan luar kulit batang halus tidak mengelupas, sumbu daun hijau kekuningan, panjang 13-15 cm (pendek), anak daun 8-10 pasang, berhadap-berseling, pangkal meruncing 2-4 cm, permukaan anak daun dewasa hijau tua mengkilap daun pucuk merah-ungu. Buah matoa panjangnya 2-4 cm, diameter 1,5-4 cm, biji tidak memiliki tangkai biji yang jelas, tetapi *integumen* luar yang berlekatan pada biji tumbuh membesar dan melebar hingga menyalut permukaan biji menjadi daging, dan tebal 0,01-4 mm (Hengky 2011).

4. Kegunaan

Daun matoa digunakan oleh masyarakat Melayu sebagai obat demam dan obat kulit. Etnis Sakai menggunakan akar tanaman sebagai obat beri – beri dan daun matoa untuk obat sakit kulit. Kulit buah matoa oleh masyarakat Sumatera Selatan digunakan sebagai obat luka bernanah dan sebagai obat bengkak keseleo (Sangat *et al.* 2000).

Masyarakat Priangan menggunakan kulit kayu matoa untuk mengobati luka. Di Malaysia rebusan daun dan kulit matoa digunakan untuk mengatasi demam. Merendam daun matoa di air panas dapat mengobati keluhan disentri, sedangkan cairan yang diperas dari kulit kayu bagian dalam dapat digunakan untuk influenza dan nyeri tulang (Rizki 2014).

5. Kandungan kimia

Senthilmurugan *et al.* (2013) menyatakan bahwa ekstrak etanol 96 % daun matoa terdapat senyawa yang mengarah pada golongan flavonoid auron, flavonoid flavon, saponin, dan tanin. Hasil penelitian sebelumnya juga ditemukan kandungan saponin triterpenoid pada daun matoa dan kulit batang matoa (Mohammad *et al.* 2012).

5.1 Flavonoid. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang mempunyai 2 gugus C₆/cincin benzen tersubstitusi yang disambungkan oleh rantai alifatik C₃ (C₆-C₃-C₆). Flavonoid mempunyai ciri-ciri cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu cincin benzen (Robinson 1995). Flavonoid berupa senyawa yang larut dalam air, senyawa ini dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan masih tetap ada dalam lapisan air setelah

ekstrak ini dikocok dengan eter minyak. Flavonoid terdapat senyawa fenol, sehingga warnanya akan berubah bila ditambah dengan amonia atau basa, jadi mudah dideteksi pada kromatogram atau dengan larutan

5.2 Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif dengan permukaan yang kuat dan dapat menimbulkan busa jika dikocok di dalam air dan pada konsentrasi yang rendah dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin terdapat dua macam jenis yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Kedua jenis saponin ini akan larut dalam air dan etanol, tetapi tidak akan larut dalam eter (Harbone 1987).

5.3 Tanin. Tanin merupakan senyawa tumbuhan yang bersifat fenol yang mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan untuk menyamak kulit, namun secara kimia tanin dibagi menjadi dua jenis yaitu tanin katekin dan tanin kondensasi (Robinson 1995).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan (Widiyastuti *et al.* 2015).

Simplisia dibedakan menjadi tiga, yaitu: simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Depkes 1995). Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih berupa zat kimia murni. Simplisia pelican (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelican

(mineral) yang belum diolah atau diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Kemenkes 2015).

2. Karakterisasi simplisia

Simplisia sebagai produk hasil pertanian atau pengumpulan dari tumbuhan liar (*wild crop*) memiliki kandungan kimia yang tidak terjamin selalu konstan karena adanya variabel bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi (umur dan cara) panen, serta proses pasca panen dan preparasi akhir. Variasi kandungan senyawa dalam produk hasil panen tumbuhan obat disebabkan oleh beberapa aspek sebagai berikut: genetik (bibit), lingkungan (tempat tumbuh, iklim), rekayasa agronomi (fertilizer, perlakuan selama masa tumbuh), dan panen (waktu dan pasca panen) (Depkes 2000).

Besarnya variasi senyawa kandungan meliputi baik jenis ataupun kadarnya, sehingga timbul jenis lain yang disebut kultivar (Depkes 2000). Proses pemanenan dan preparasi simplisia merupakan proses yang dapat menentukan mutu simplisia dalam arti, yaitu komposisi senyawa kandungan, kontaminasi dan stabilitas bahan (Depkes 2000).

Karakterisasi suatu simplisia mempunyai pengertian bahwa simplisia yang akan digunakan untuk obat sebagai bahan baku harus memenuhi persyaratan. Karakterisasi simplisia meliputi uji makroskopik, uji mikroskopik dan identifikasi simplisia (Depkes 1995). Sedangkan sebagai produk yang langsung dikonsumsi (serbuk jamu dsb.) masih harus memenuhi persyaratan produk kefarmasian sesuai dengan peraturan yang berlaku (Depkes 2000).

3. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah daun. Waktu panen berhubungan sangat erat dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Daun dipilih yang sudah tua sebelum menguning, di panen sebelum tanaman berbunga (Kemenkes 2015).

4. Cara pembuatan simplisia

Proses pembuatan simplisia didahului dengan pengumpulan bahan baku yang bertujuan untuk menentukan kualitas bahan baku yang baik. Dilakukan sortasi basah untuk pemilihan bahan ketika tanaman masih segar, kemudian

dilakukan proses pencucian untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang terkontaminasi pestisida. Kemudian bahan baku ditimbang untuk penetapan kadar zat yang seksama pada sejumlah bahan yang ditimbang (Balitro 2008).

5. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dengan mengurangi kadar air dan menghentikan sensasi enzimatis sehingga dapat dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Suhu pengeringan pada umumnya antar 40–60°C dan hasil yang baik dari proses pengeringan adalah simplisia yang mengandung kadar air kurang dari 10%, karena jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam simplisia (Depkes 2000).

Waktu pengeringan simplisia juga bervariasi tergantung dari jenis bahan yang akan dikeringkan seperti daun, rimpang, batang kayu, atau bunga. Hal ini perlu diperhatikan dalam proses pengeringan adalah kebersihan (khususnya pengeringan menggunakan sinar matahari), kelembaban udara, aliran udara dan tebal bahan tidak saling menumpuk. Pengeringan bahan dapat dilakukan secara tradisional menggunakan sinar matahari atau secara modern dengan menggunakan suatu alat pengering seperti oven, rak pengering, blower, ataupun dengan *fresh dryer* (Ballitro 2008).

C. Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian merupakan peristiwa pemindahan masa. Zak aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh airan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyarian tersebut. Penyarian dapat dipengaruhi oleh derajat kehalusan serbuk dan perbedaan konsentrasi yang terdapat mulai dari pusat butir serbuk simplisia sampai ke permukaannya, maupun pada perbedaan konsentrasi yang terdapat pada lapisan batas. Biasanya menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan, cairan dipisahkan dan diuapkan sampai pada

kepekatan. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh suhu, ukuran partikel, jenis pelarut, waktu ekstraksi, dan metode ekstraksi (Depkes 1986).

2. Jenis – jenis ekstraksi

Jenis – jenis ekstraksi adalah perkolasi, soxlet, maserasi dan refluks. Pemilihan jenis ekstraksi disesuaikan dengan kepentingan perolehan sari yang baik dari jenis ekstraksi dan bahan ekstraksi yang digunakan sangat tergantung dari kelarutan bahan kandungan dan stabilitasnya.

2.1 Perkolasi. Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan banyak memakan waktu (Harborne 1987).

2.2 Soxhlet. Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Harborne 1987).

2.3 Maserasi. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan simplisia ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan cairan penyari yang cocok, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari sambil diaduk setiap hari serta terlindungi dari cahaya matahari, lalu disaring dan hasil penyaringan di evaporator untuk menghasilkan ekstrak kental. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah digunakan, sedangkan kerugiannya

terdapat pada lamanya pekerjaan dan penyarian yang kurang sempurna. Pemilihan pelarut tidak hanya tergantung pada kandungan zat aktif yang diselidiki, tapi juga tergantung tempat terdapatnya substansi yang terkandung di dalamnya (Harborne 1987).

2.4 Destilasi uap. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel V 2006).

2.5 Refluk. Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap akan diembunkan dengan pendingin tegak dan kembali menyari zat aktif dalam simplisia dan seterusnya. Ekstraksi biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali ekstraksi selama 4 jam (Harbone 1987).

3. Pelarut

Cairan pelarut dalam proses pemisahan ekstrak adalah pelarut yang baik untuk kandungan senyawa zat aktif. Faktor penting yang dipertimbangkan dalam pemilihan cairan penyari seperti murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan terbakar. Selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan untuk peraturan (Depkes 1986).

Pada penelitian ini penyari yang digunakan yaitu etanol karena lebih selektif, kuman dan kapang sulit tumbuh dalam etanol diatas 20% ke atas, netral, tidak beracun, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol memiliki sifat yang dapat melarutkan senyawa – senyawa yang di kandunginya seperti flavonoid, tanin, dan saponin (Depkes 1986).

D. Toksisitas

1. Uji toksisitas

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. Keamanan toksisitas dibagi menjadi tiga kelompok yaitu:

1.1 Uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Dengan tujuan untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi biaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya (BPOM 2014).

1.2 Uji toksisitas subkronik. Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan.

Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversible*. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi, dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi.

Tujuan uji toksisitas subkronis oral adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (No Observed Adverse Effect Level) (BPOM 2014).

1.3 Uji toksisitas kronik. Suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sesuai kelompok dosis hewan. Uji toksisitas kronis pada prinsipnya sama dengan uji toksisitas subkronis, tetapi sediaan uji diberikan paling selama tidak kurang dari 12 bulan.

Tujuan dari uji toksisitas kronis oral adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang selama waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (BPOM 2014).

2. Jenis pengujian toksisitas subkronik

Sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama pemberian sediaan uji, apabila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi, organ dan jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan makropatologi pada setiap organ maupun jaringan, serta dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi. Terdapat dua jenis uji toksisitas subkronis menurut (BPOM 2014) yaitu:

2.1 Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari. Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari ini digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis apakah dalam bentuk sekali pakai atau berulang dalam waktu kurang dari satu minggu (BPOM 2014).

3. Uji toksisitas subkronis oral 90 hari

3.1 Spesies dan jumlah hewan uji. Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih galur wistar. Syarat hewan uji adalah sehat, umur 6-8 minggu.

Masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 20 yang terdiri dari 10 ekor jantan dan 10 ekor betina untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tinggi. Pengamatan reversibilitas pada kelompok satelit dilakukan selama 28 hari setelah akhir pemberian sediaan uji. Sebelum percobaan dimulai, hewan di aklimatisasi di ruang perobaan selama lebih kurang 7 hari. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak melebihi 20% dan rata-rata berat badan. Untuk uji toksisitas subkronis masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 10 ekor yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk setiap kelompok. Selain itu jika perlu dapat disediakan 2 kelompok tambahan (grup satelit) minimal 10 hewan perkelompok yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor tikus betina untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tinggi (BPOM 2014).

3.2 Dosis dan batas uji. Pemberian dosis sekurang-kurangnya digunakan 3 kelompok dosis, 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok satelit (kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol) untuk setiap jenis kelamin. Dosis bahan uji yang paling tinggi harus menimbulkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat, dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan, sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik. Bila pada dosis 1000 mg/kgBB tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi, meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai (BPOM 2014).

3.3 Penetapan dosis sediaan. Dalam penetapan dosis berdasarkan penelitian (Purwidyaningrum *et al.* 2016) yaitu dosis yang digunakan dengan dosis rendah adalah dosis efektif ekstrak etanol daun matoa yang digunakan sebagai diuretik dengan dosis 150 mg/kgBB, dan untuk dosis tinggi menggunakan 5 kali dari dosis rendah. Batas sediaan uji yang diberikan pada hewan percobaan adalah 1000 mg/kgBB tikus (BPOM 2014), untuk dosis 1000 mg/kgBB digunakan juga sebagai dosis satelit dan sebagai dosis maksimal uji toksisitas.

3.4 Cara pemberian dan lama pemberian zat uji. Pada dasarnya cara pemberian hewan uji disesuaikan dengan cara pemberian atau pemaparan pada

manusia, biasanya diberikan secara oral dengan volume pemberian 1 ml. Sediaan uji 100 mg/kgBB dewasa, tetapi dalam kondisi tertentu volume pemberian dapat sampai 2 mL sediaan uji 100 mg/kgBB hewan, apabila digunakan pembawa air. Pemberian zat uji dilakukan selama 90 hari atau 10% dari seluruh umur hewan. Sediaan uji diberikan setiap hari atau minimal 5 hari dalam 1 minggu selama 90 hari (BPOM 2014).

3.5 Monitoring berat badan. Monitoring kenaikan berat badan dilakukan seminggu dua kali. Hewan ditimbang setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan. (BPOM 2014).

3.6 Pengamatan gejala klinis dan toksik. Pengamatan toksisitas berupa terjadinya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misalnya berjalan mundur), dan kejang. Pengamatan dilakukan selama 90 hari. Kelompok satelit untuk pengamatan dilanjutkan selama 28 hari kemudian, tanpa pemberian sediaan uji untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali dari pengaruh toksik (BPOM 2014).

3.7 Pengambilan darah. Pengambilan darah diambil menggunakan alat suntik steril dan selalu dijaga agar tidak terkena air (untuk menghindari terjadinya hemolisis). Setelah hewan dianestesi dengan eter, darah diambil dari vena jugularis secara perlahan-lahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3-5 ml, satu alat suntik digunakan untuk satu hewan. Darah diambil sebanyak 0,5 dimasukkan kedalam tabung sentrifius yang telah diisi antikoagulan (EDTA) sebanyak 10 μ L untuk pemeriksaan hematologi, sebanyak 0,5 mL darah untuk pembuatan apusan darah pada penetapan deferensial leukosit. Darah sisa dimasukkan kedalam tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar (\pm 30 C) selama 10 menit, kemudian dipindahkan kedalam tangan es tidak boleh kurang dari 20 menit dan segera di sentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (200 °C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

3.8 Parameter pengujian. Parameter hematologi yang diuji antar lain: jumlah eritrosit, jumlah leukosit, angka hematokrit, kadar hemoglobin, hitung

jenis leukosit, tetapan darah HMCV, MCH, MCHC. Parameter biokimia klinis yang diuji menurut OECD (2001) meliputi: natrium, kalium, glukosa, total kolesterol, trigliserida, nitrogen urea, kreatinin, total protein, albumin, GOT, GPT, total bilirubin, alkalin fosfat, LDH, asam empedu. Parameter utama yang harus diperiksa adalah kadar glukosa, total kolesterol, trigliserida (BPOM 2014).

E. Hewan Percobaan

1. Sistematika hewan percobaan

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut (Krinke 2000) sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Sbubkelas	: Plaentalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Ratus
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i>

2. Karakteristik hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih galur wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 150-600 g, hidung tumpul, dan panjang, badannya antara 18-25 cm. Kepala dan badan tikus galur wistar lebih pendek dibandingkan ekornya, serta ukuran telinga tikus putih galur wistar tidak lebih dari 20-33 mm (Depkes 2011).

Tikus putih yang digunakan sebagai hewan percobaan relative resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas. Tikus putih tidak begitu bersifat foto fobik seperti mencit dan cenderung untuk berkumpul dengan sejenaknya tidak begitu besar. Aktifitas hewan percobaan tersebut tidak terganggu oleh adanya manusia disekitarnya. Terdapat dua sifat yang membedakan tikus putih dari hewan percobaan yang lain, yaitu bahwa tikus putih tidak dapat muntah karena struktur anatominya yang tidak lazim di tempat esofagus yang bermuara ke dalam

lambung dan tikus putih tidak mempunyai kandung empedu. Tikus laboratorium jantan jarang berkelahi seperti mencit jantan, tikus putih lebih menguntungkan daripada mencit (Mangkoewidjojo 1988). Tikus putih jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus betina. Tikus putih jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibanding tikus betina (Sirosis 2005).

3. Pengambilan dan pemegangan

Tikus ditempatkan di kandang, mengangkat tikus dengan tangan kanan, dan meletakkan diatas permukaan kawat pada kandang. Tangan kiri diletakkan di punggung tikus. Kepala tikus diletakkan diantara ibu jari dan jari tengah, jari manis dan kelingking di sekitar perut tikus sehingga kaki depan kiri dan kanan terselip diantar jari-jari. Tikus dapat dipegang dengan cara menjepit kulit pada tengkuknya(Harmita & Maksum 2005).

4. Pemberian sediaan uji

Sprit diisi dengan bahan perlakuan kemudian tikus dipegang pada bagian tengkuk dan ekor dijepit dengan jari manis dan dengan jari kelingking. Jarum yang digunakan untuk pemberian obat secara oral adalah jarum khusus berukuran 20 dengan panjang kira-kira 5 cm, ujung kanul berbentuk bulat dengan lubang menyamping. Ujung kanul dimasukkan dan bahan perlakuan disuntikkan perlahan atau bahan perlakuan juga dapat disemprotkan antara gigi dan pipi bagian dalam, dan biarkan tikus menelan sendiri (Permatasari 2012).

5. Pengambilan darah dan pengumpulan serum

Hewan dianastesi menggunakan eter, darah diambil dari vena jugularis atau vena optalmikus. Pengambilan darah dilakukan secara perlahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3-5 ml. Darah yang diperoleh ditampung dalam tabung mikrosentrifuse, didiamkan pada suhu ruang selama 10 menit, kemudian disentrifuse selama 10 menit, dengan kecepatan 3000-3500 rpm. Serum dipisahkan dan disimpan untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

F. Kolesterol

1. Pengertian kolesterol

Kolesterol berasal dari bahasa Yunani, *chole* yang berarti empedu, dan *stereos* yang berarti padat. Zat alamiah dengan fisik berupa lemak tetapi memiliki steroida, seperti hormon-hormon kelamin dan anak ginjal, glikosida-glikosida jantung dan vitamin D. Kolesterol terdapat dalam semua sel hidup, misalnya sebagai bahan isolasi sekitar serat-serat dan disalut sel, begitu pula dengan lemak, lemak hewani dan sebagainya merupakan komponen utama dari batu empedu (Tjay & Rahardja 2002).

Kolesterol merupakan lemak atau lipid yang dihasilkan oleh organ hati yang memiliki fungsi cukup penting pada tubuh yaitu sebagai pembentuk sel membran, menyaring setiap molekul yang masuk dan keluar dari dalam sel, sebagai kolesterol yang membantu memproduksi hormon-hormon tubuh seperti hormon seksual, dan membantu memproduksi empedu (Heslet 2007). Kolesterol adalah lemak berwarna kekuningan dan berupa seperti lilin, sebagian besar disintesis oleh hati dan sebagian kecil di serap dari diet. Kolesterol dalam pembuluh darah yang kadarnya tinggi membuat endapan atau kristal lempengan yang akan mempersempit atau menyumbat pembuluh darah (Sutejo 2007). Kolesterol pada dasarnya dapat disintesis oleh sel tubuh pada semua organ, namun kebanyakan kolesterol disintesis oleh sel hati dengan jumlah sekitar 500 mg/hari. Kadar kolesterol dalam darah adalah di bawah 200 mg/dl. Apabila melampaui batas normal maka disebut sebagai hiperkolesterolemia. Kadar kolesterol yang tinggi dalam darah dapat menyebabkan aliran darah menjadi kental karena banyaknya lemak dalam tubuh. Lemak-lemak tersebut dapat mengganggu kelancaran peredaran darah. Kadar kolesterol plasma yang tinggi diketahui sebagai faktor utama resiko penyakit iskemik dan stroke (Heslet 2007).

2. Sintesis kolesterol

Kolesterol merupakan komponen penting untuk pembentukan membran sel dan disintesis diseluruh jaringan, tetapi 90 % disintesis dalam sel mukosa usus dan hepatosit. Kolesterol dalam hati sebagai prekursor dari asam empedu dan gonand serta kelenjar, anak ginjal sebagai prekursor hormon steroid.

Asam lemak bebas, dibebaskan ke dalam plasma oleh lemak jaringan, diantara waktu-waktu makan dan selama puasa digunakan sebagai bahan bakar terutama oleh jaringan otot dan jantung (Kokasih 2008).

3. Transpor kolesterol

Lemak yang diserap dari makanan dan lipid disintesis oleh hati dan jaringan adiposa harus diangkut ke berbagai jaringan dan organ untuk digunakan dan disimpan. Lipid tidak larut dalam darah sehingga perlu protein untuk dapat larut dalam darah. Lipid diangkut didalam plasma sebagai lipoprotein. Lipoprotein terdiri dari empat yaitu kilomikron, LDL, HDL, VLDL.

Kilomikron mengangkut lipid yang dihasilkan dari pencernaan dan penyerapan. VLDL mengangkut trigliserol dari hati. LDL menyalurkan kolesterol ke jaringan, dan HDL membawa kolesterol ke jaringan dan mengembalikannya ke hati untuk diekskresikan dalam proses yang dikenal sebagai transpor kolesterol terbalik (Murray *et.al* 2003).

4. Lipid dan lipoprotein

Lipid merupakan molekul organik heterogen yang tidak larut dalam air (*hidrofobik*) yang dapat diekstraksi dari jaringan oleh pelarut non polar. Lemak umumnya sukar larut dalam air, lemak dapat larut dan diangkat dalam peredaran darah, maka lemak dibuat menjadi larut dengan mengikatkan pada protein. Lipoprotein terdiri dari beberapa jenis diantaranya:

4.1 Kilomikron. Kilomikron komponen utamanya adalah trigliserida (85-90%) dan kolesterol (6%). Kilomikron merupakan lipoprotein dengan berat molekul terbesar, sebagian besar mengandung trigliserida untuk dibawa ke jaringan lemak dan otot rangka, selain itu mengandung kolesterol untuk dibawa ke hati. Setelah 8-10 jam setelah makan terakhir kilomikron tidak ditemukan lagi di dalam plasma, hanya terdapat lipoprotein sewaktu puasa dianggap abnormal (Dalimarta 2006). Lipoprotein berfungsi untuk mentransfer lemak dari usus dan tidak berpengaruh dalam proses aterosklerosis.

4.2 LDL (*Low Density Lipoprotein*). LDL (*Low Density Lipoprotein*) merupakan lipoprotein yang berfungsi sebagai pengangkut kolesterol dalam darah dan disebut sebagai kolesterol jahat karena bersifat aterogenik, yaitu dapat

melekat pada pembuluh darah dan dapat menyebabkan penumpukan lemak sehingga pembuluh darah menyempit. Molekul LDL dapat melekat di dinding pembuluh darah karena adanya proses oksidasi oleh radikal bebas (misalnya asap rokok). LDL teroksidasi tersebut mampu mengubah sel-sel makrofag menjadi sel busa sehingga membentuk gumpalan yang makin lama makin membesar, dan hasilnya akan berupa penyempitan pembuluh darah. LDL dapat bertindak sebagai lipoprotein aterogenik yang utama dan sebagai target utama terapi penurunan kolesterol. Kadar kolesterol LDL normal Dalimarta (2006) bila kadar dalam darah kurang dari 100 mg/dL seperti terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar dari Kolesterol LDL darah

Kadar	Kolesterol LDL
< 100 mg/dL	Optimal
100-129 mg/dL	Jauh atau di atas optimal
130-159 mg/dL	Cukup tinggi
160-189 mg/dL	Sangat tinggi
≥ 190 mg/dL	Tinggi

(Sukandar *et al.* 2009)

4.3 HDL (High Density Lipoprotein). HDL (*High Density Lipoprotein*) merupakan lipoprotein dengan densitas tinggi, terutama terdiri dari protein. HDL diproduksi oleh hati dan usus halus. Berfungsi menstransport kolesterol dari perifer ke hati dimana zat tersebut dimetabolisme dan dieksresi (Kokasih 2008). HDL mengambil kolesterol dan phospolipid yang ada dalam darah dan menyerahkan kolesterol ke lipoprotein lain untuk diangkut kembali atau di keluarkan dari tubuh (Matson *et al.* 2008).

HDL sering disebut juga sebagai kolesterol baik karena membuang kelebihan kolesterol jahat di pembuluh arteri kembali ke liver untuk di proses dan dibuang. Kolesterol yang terikat di dalam HDL disebut kolesterol alfa (HDL-kolesterol) yang bersifat anti-aterogenik atau faktor protektif asteroklerosis. HDL berfungsi mengangkut kolesterol bebas yang terdapat dalam endotel jaringan endotel termasuk pembuluh darah. HDL di hati dikeluarkan lewat empedu, dengan demikian penimbunan kolesterol diharapkan tinggi dalam darah. Namun, kadarnya rendah pada rang gemuk, perokok, penderita diabetes mellitus yang

tidak terkontrol, dan pemakaian pil KB (Dalimarta 2006). HDL dapat mencegah kolesterol yang mengendap di pembuluh arteri dan melindungi dari aterosklerosis (Sunita Alkaitser 2002).

Perubahan gaya hidup mempengaruhi kadar HDL, misalnya dengan berolahraga, menurunkan berat badan, berhenti merokok, sedangkan kegemukan, merokok, konsumsi gula berlebih dan tidak terkontrol dapat menurunkan kadar HDL (Matson *et al.* 2008). Kadar kolesterol HDL seperti terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kadar dari kolesterol HDL darah

Kadar	Kolesterol HDL
≥ 60 mg/dL	Rendah
< 40 mg/Dl	Tinggi

(Sukandar *et al.* 2009)

4.4 VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). VLDL adalah golongan lipoprotein densitas rendah memiliki sinonim pra- β -lipoprotein. VLDL berasal dari hepar dan memiliki fungsi untuk menstanspor kolesterol dalam jumlah yang nyata diperoleh dari sintesis dalam tubuh.

5. Metabolisme kolesterol

Kolesterol berdasarkan sumbernya berasal dari makanan, hati, dan usus. Kolesterol disintesis dari senyawa-senyawa yang konfigurasi molekulnya berbeda. Kolesterol penting dalam struktur dinding sel dan bahan yang membuat kulit tahan air. Banyak terdapat kolesterol pada asam-asam empedu, korteks suprarenalis, dan estrogen (Widman 1995).

Menurut Murray *et al.* (2003) mengemukakan bahwa penurunan kadar kolesterol terjadi karena terdapat aliran kolesterol keluar dari membran ke lipoprotein dengan potensial kolesterol yang rendah, esterifikasi kolesterol oleh enzim ACAT (*Asil Ko-A kolesterol Asil Transferase*), dan penggunaan kolesterol untuk sintesis senyawa steroid lain seperti hormon atau asam empedu.

6. Fungsi kolesterol

Kolesterol dalam tubuh berfungsi sebagai pelindung otak di mana 11% dari berat otak adalah kolesterol, bersama zat gizi kolesterol dan sinar matahari membentuk vitamin D, sebagai zat esensial untuk membran sel, merupakan bahan pokok untuk pembuatan garam empedu yang diperlukan untuk pencernaan

makanan, sebagai bahan pembentukan hormon steroid misalnya progesteron dan estrogen pada wanita, testosteron pada laki-laki, untuk mencegah penguapan air pada kulit, membawa lemak ke seluruh tubuh melalui peredaran darah.

7. Faktor yang mempengaruhi kolesterol plasma dan serum

Hormon tiroid dan estrogen menurunkan kadar kolesterol dalam plasma, meningkat bila membran empedu disumbat. Diet yang banyak mengandung lemak netral akan meningkatkan kolesterol plasma, memperpendek masa pembekuan dan menurunkan aktivitas fibrinolitik, dengan mengurangi intake kolesterol akan menurunkan kolesterol plasma.

Kolesterol serum digunakan sebagai indikator penyakit arteri koroner dan aterosklerosis. Kolesterol yang tinggi menyebabkan penumpukan plak di arteri koroner sehingga dapat menyebabkan jantung koroner. Kadar kolesterol serum yang tinggi dapat berhubungan dengan keenderungan genetik. Kadar serum kurang dari 200 mg/dL merupakan kadar ideal (Adam 2004).

G. Metode Pengukuran Kolesterol

Metode-metode dalam penetapan kadar kolesterol darah dibagi menjadi tiga kategori antara lain: metode Liebermann Burchard, metode Zak, dan metode CHOD-PAP.

Metode Liebermann Burchard mempunyai kemampuan akurabilitas tinggi meliputi waktu singkat, alat yang sederhana dan reagen stabil. Metode ini tidak dilakukan deproteinisasi, dasar reaksi pembentukan warna hijau-biru kolesterol dengan reagen pewarna (campuran asam asetat glasial/anhidrida). Metode ini memiliki kekurangan yaitu menggunakan metode langsung maka spesifitasnya rendah, sensitivitas rendah, reagen sukar didapat dan harganya mahal (Roeschis 1979).

Metode Zak di dalam plasma, kolesterol terikat dalam lipoprotein. Protein plasma diendapkan dengan alkohol, fraksi lipid diekstraksi dengan aseton atau eter. Residu kolesterol dilarutkan dengan asam asetat glasial dan diwarnai dengan FeCl_3 dalam asam asetat sulfat. Metode ini memiliki kekurangan praktibilitas

relative rendah yaitu cara kerja lebih panjang, membutuhkan keahlian teknis lebih tinggi bila dibandingkan dengan metode Liberman Burchad (Roeschisu 1979).

Metode enzimatik CHOD-PAP sering digunakan dalam penelitian karena metode ini sangat mudah, praktis, epat dan efisien. Reagen yang digunakan lebih stabil dibandingkan dengan metode Liberman Burchad dan metode Zak. Pada metode ini hasil yang didapat lebih teliti, namun reagen-reagen yang digunakan harus disimpan dengan baik, karena enzim yang digunakan mudah rusak. Metode ini lebih sering digunakan dalam penelitian. Prinsip dari metode CHOD-PAP yaitu kolesterol dan ester dibebaskan dari lipoprotein oleh deergen. Kolesterol esterase menghidrolisa ester tersebut dan H_2O_2 dibentuk dari kolesterol dalam proses oksidasi enzimatik oleh kolesterol oksidasi. H_2O_2 kemudian bereaksi dengan *4-aminoantipyrine* dan fenol dengan katalisator peroksidase membentuk quinonimine yang berwarna merah. Absorbansi warna ini sebanding dengan kolesterol dalam sampel.

H. Trigliserida

1. Pengertian trigliserida

Trigliserida merupakan penyimpan lipid yang utama didalam jaringan adipose, bentuk lipid ini akan terlepas setelah terjadi hidrolisis oleh enzim lipase yang sensitif-hormon menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak bebas akan terikat pada albumin serum dan untuk pengangkutannya ke jaringan, tempat asam lemak tersebut dipakai sebagai sumber bahan bakar yang penting (Mayes 2003).

Penyusunan trigliserida utama minyak nabati dan lemak hewani yang terbentuk dari 3 asam lemak dan gliserol yaitu lemak netral yang disintesis dari karbohidrat untuk disimpan dalam sel lemak. Lemak disimpan tubuh dalam bentuk trigliserida. Fungsi utama trigliserida adalah sebagai zat energi. Apabila sel membutuhkan energi, enzim lipase dalam sel lemak akan memecah trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak serta melepaskannya ke dalam pembuluh darah, oleh sel-sel yang membutuhkan komponen-komponen tersebut kemudian dibakar dan menghasilkan energi, karbondioksida dan air (Madja 2007).

Trigliserida dipakai dalam tubuh untuk menyediakan energi bagi berbagai proses metabolik. Trigliserid dalam darah sebagai makromolekul untuk membentuk kompleks protein tertentu sehingga membentuk lipoprotein. Lipoprotein inilah bentuk tranportasi yang dipakai mengenali dan mengukur (Ganong 1992).

2. Metode pengukuran trigliserida

Kadar trigliserida serum diperiksa dengan metode *Colometric Enzymatic* test “GPO” secara spektrofotometri dan dinyatakan dengan satuan mg/dl. Prinsip metode ini adalah dengan pengukuran trigliserida setelah pemecahan enzimatik oleh lipoproteinase. Indikator yang digunakan adalah chinonimin yang berasal dari katalisasi 4-aminoantipyrine oleh hidrogen peroksida.

Pemeriksaan kadar trigliserida serum darah menggunakan metode GPO-PAP karena metode ini sangat praktis, mudah, dan efisien. Reagen yang digunakan lebih stabil. (Roeschisu 1979).

Prinsip kerja penetapan kadar trigliserida dengan hidrolisis enzim lipoprotein lipase yang bereaksi menjadi gliserol dan asam amino bebas. Gliserol yang terbentuk direaksikan dengan ATP dengan bantuan enzim gliserol-3-phosphat dan ADP. Gliserol-3-phosphat dan oksigen dioksidasi dengan bantuan enzim gliserol phosphat oksidae menjadi dihidrooksiaseton phosphat dan H_2O_2 , selanjutnya H_2O_2 bereaksi dengan 4-aminoanthipirine dan 4-klorophenol oleh enzim peroksidase membentuk quinimin, HL, dan 4 H_2O_2 yang berwarna merah muda. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar trigliserida dalam sampel.

I. Landasan Teori

Senyawa tumbuhan daun matoa mengandung flavonoid, saponin, dan tanin. Aktivitas farmakologi tanin pada daun matoa (*Pometia pinnata* J. R & J.G Forst) dilaporkan sebagai antibakteri. Kulit batang matoa sebagai aktivitas farmakologi kandungan senyawa flavonoid, tanin, dan saponin sebagai antibakteri

(Ngajow 2013). Biji matoa dapat digunakan sebagai tonikum, dan kulit buah matoa sebagai obat luka bernanah (Sangat *et al.* 2000).

Dari hasil penelitian sebelumnya mengatakan bahwa ekstrak daun matoa berkhasiat sebagai diuretik dengan dosis efektif 100 mg/kgBB (Purwidyaningrum 2017a). Penelitian oleh Putri (2017), menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun matoa dengan dosis efektif 100 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol total. Penelitian sebelumnya menyatakan, ekstrak daun matoa dengan dosis efektif 400 mg/kgBB dapat menurunkan kadar trigliserida (Wardana 2017).

Penelitian tentang daun matoa telah dilakukan (Purwidyaningrum *et al.* 2017) melalui uji ekstrak etanolik daun matoa memiliki aktivitas sebagai antihipertensi yang paling efektif pada dosis 150 mg/kg BB dapat menurunkan tekanan darah.

Toksisitas subkronik merupakan uji yang dilakukan dengan memberikan bahan obat secara berulang-ulang setiap hari dalam seminggu untuk memeriksa tingkat toksisitas dan lokasi dalam tubuh hewan yang terpapar daun untuk menentukan keamanan dalam dosis uji terhadap hewan uji selama ± 3 bulan. Hasil toksikan muncul setelah terpapar berulang kali dalam jangka waktu yang pendek tetapi hewan uji tidak mati dan gejala akut sudah terlewati (Harmita 2005).

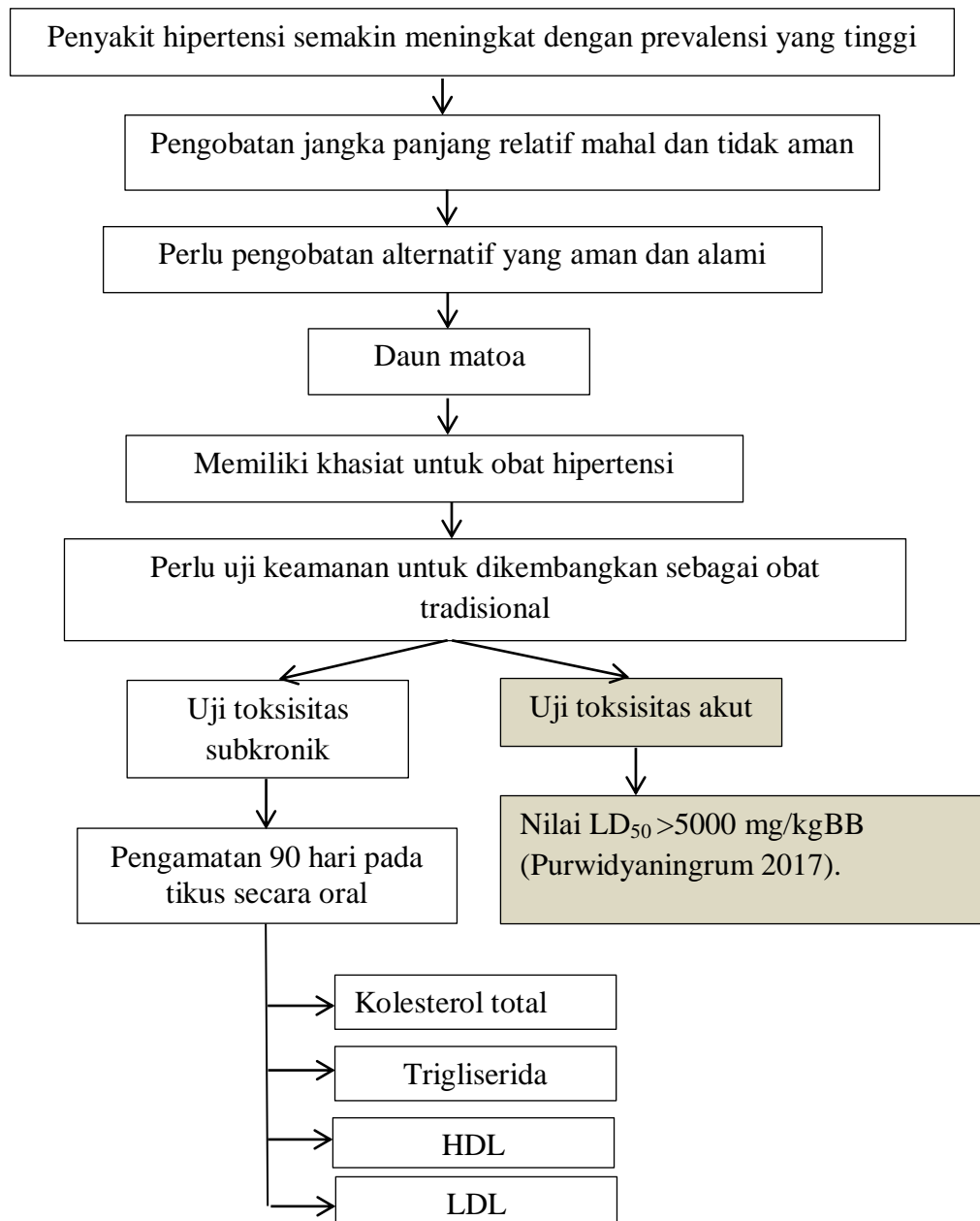
Kadar parameter yang diukur yaitu kadar kolesterol total bahwa kandungan flavonoid pada daun matoa dapat meningkatkan aktivitas enzim lipoprotein lipase. Dengan meningkatnya enzim tersebut lipoprotein LDL yang mengangkut trigliserida akan mengalami hidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak yang dibebaskan kemudian diserap oleh otot dan jaringan lain yang dioksidasi untuk menghasilkan energi dan oleh jaringan adiposa disimpan sebagai cadangan energi (Marks *et.al* 2000). Selain itu, flavonoid dapat menghambat Fatty Acid Synthase (FAS) yakni enzim penting dalam metabolisme lemak. Adanya hambatan pada FAS secara langsung menurunkan pembentukan asam lemak (Tian *et al.* 2011). Dengan demikian penurunan asam lemak dapat menyebabkan penurunan dalam pembentukan trigliserida.

Selain itu dalam analisis trigliserida saponin dapat bermanfaat untuk mengontrol jumlah trigliserida pada manusia. Saponin memiliki aktivitas antihipertrigliserida dan meningkatkan ekskresi trigliserida melalui feses, dan

tanin dapat bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus sehingga dapat menghambat penyerapan lemak (Suharti *et al.* 2008).

Parameter uji toksisitas subkronis oral adalah dengan penetapan kadar kolesterol total, trigliserida, kadar HDL dan LDL. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan uji statistik ANOVA.

J. Kerangka Penelitian



Gambar 1. Skema kerangka penelitian

K. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan dalam penelitian ini maka dapat diuraikan hipotesis sebagai berikut:

Pertama, toksisitas subkronis ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik dengan parameter kadar kolesterol total pada tikus putih galur wistar.

Kedua, toksisitas subkronis ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik dengan parameter kadar trigliserida pada tikus putih galur wistar.

Ketiga, toksisitas subkronis ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik dengan parameter kadar HDL pada tikus putih galur wistar.

Keempat, toksisitas subkronis ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik dengan parameter kadar LDL pada tikus putih galur wistar.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dari tanaman matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) yang diperoleh di daerah Tawang Sari, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah.

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun matoa yang berwarna hijau, belum terlalu tua, sehat dan tidak berpenyakit yang diperoleh di daerah Tawang Sari, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah pada bulan September 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst). Variabel utama kedua adalah variasi dosis daun matoa. Variabel utama ketiga adalah efek toksisitas subkronik daun matoa meliputi pengamatan kadar kolesterol total, trigliserida kadar HDL dan LDL pada tikus jantan dan betina. Variabel utama ke empat adalah hewan uji yaitu tikus putih jantan dan betina, umur (8-12 minggu), berat badan sekitar (150-200 gram).

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yakni, variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai variasi dosis daun matoa.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah toksisitas subkronis terhadap pemeriksaan kadar kolesterol total, trigliserida, pemeriksaan kadar HDL dan LDL.

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

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun matoa yang diperoleh dari Tawang Sari, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah pada bulan September 2017.

Kedua, serbuk daun matoa adalah daun dari tanaman matoa yang sudah dikeringkan kemudian digiling sampai halus lalu diayak dengan pengayak no. 40 hingga diperoleh serbuk yang halus.

Ketiga, ekstrak etanol daun matoa merupakan hasil penarikan kandungan kimia dari serbuk daun matoa yang berbentuk cairan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Keempat, hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar (*Ratus norvegicus*) jantan dan betina, usia 8-12 minggu, berat badan antara 150-200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta.

Kelima, variasi dosis daun matoa yang diujikan pada hewan uji tikus putih jantan dan betina dengan dosis 150 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB.

Keenam, efek toksisitas subkronik yang diamati yaitu pemeriksaan kadar kolesterol total, trigliserida, pemeriksaan kadar HDL dan LDL setelah pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari.

C. Alat dan Bahan

1. Bahan

1.1 Bahan Sampel. Sampel yang digunakan adalah daun matoa dengan daun berwarna hijau, yang diperoleh dari daerah Tawang Sari, Sukoharjo, Jawa Tengah. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina galur wistar (*Ratus norvegicus*) dengan umur (8-12 minggu) berat badan sekitar (150-200 gram) yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta.

1.2 Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Penetapan kadar kolesterol dilakukan dengan metode *colorimetric enzymatic test, CHOD-PAP*. Pereaksi untuk pemeriksaan kolesterol terdiri dari: 50 mM *Good's buffer* (bufer fosfat) pH 6,7 ; 5 mM fenol, 0,3 mM 4-aminioantipirin, > 200 U/I kolesterol esterase, > 50 U/I kolesterol oksidase, > 3 KU/I peroksidase. Penetapan kadar trigliserida berdasarkan metode *enzymatic colorimetric test, GPO-PAP* Pereaksi untuk pemeriksaan trigliserida terdiri dari: 50 mmol/L *Good's buffer* (bufer fosfat) pH 7,2 ; 4 mmol/L 4-chlorophenol, 2 mmol/L ATP, 15 mmol/L Mg²⁺, ≥ 0,4 KU/I glycerokinase, ≥ 2 KU/I peroxidase, ≥ 2 KU/I lipoprotein lipase, 0,5 mmol/L 4-aminoantipyrine, ≥ 0,5 KU/I glycerol-3-phosphate-oxidase.

1.3 Alat. Alat yang digunakan untuk ekstraksi secara maserasi antara lain gelas ukur, corong kaca, batang pengaduk, mortar, stamper, aluminium foil, spatel, kain flannel, penangas air, oven, botol penampung, *beaker glass, erlemeyer*, avaporator, dan corong *Buchner*.

Alat yang digunakan untuk pengeringan serbuk adalah *Moisture Balance OHAUS MB 23*. Alat yang digunakan untuk perlakuan pada hewan uji antara lain kandang tikus, neraca elektrik, spuit injeksi 1,0 ml, timbangan tikus dan jarum oral (kanul).

Alat yang digunakan untuk pengambilan darah antara lain tabung reaksi, rak untuk menyimpan tabung reaksi, jarum suntik 1 ml, pipa kapiler, kapas tissue. Alat untuk pemeriksaan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan HDL vortex, spektrofotometri, penangas air, tabung reaksi, pipet eppendorf 20 µl dan 1000 µl, tip eppendorf kuning dan biru.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Hal ini merupakan langkah awal yang dilakukan pada suatu penelitian yang menggunakan sampel berupa serbuk tanaman. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, mencocokkan ciri morfologi tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi dan menghindari

kesalahan pengumpulan bahan. Determinasi akan dilakukan di Laboratorium, Morfologi Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Persiapan bahan

Daun matoa merupakan tanaman yang diperoleh dari Tawang Sari, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah.

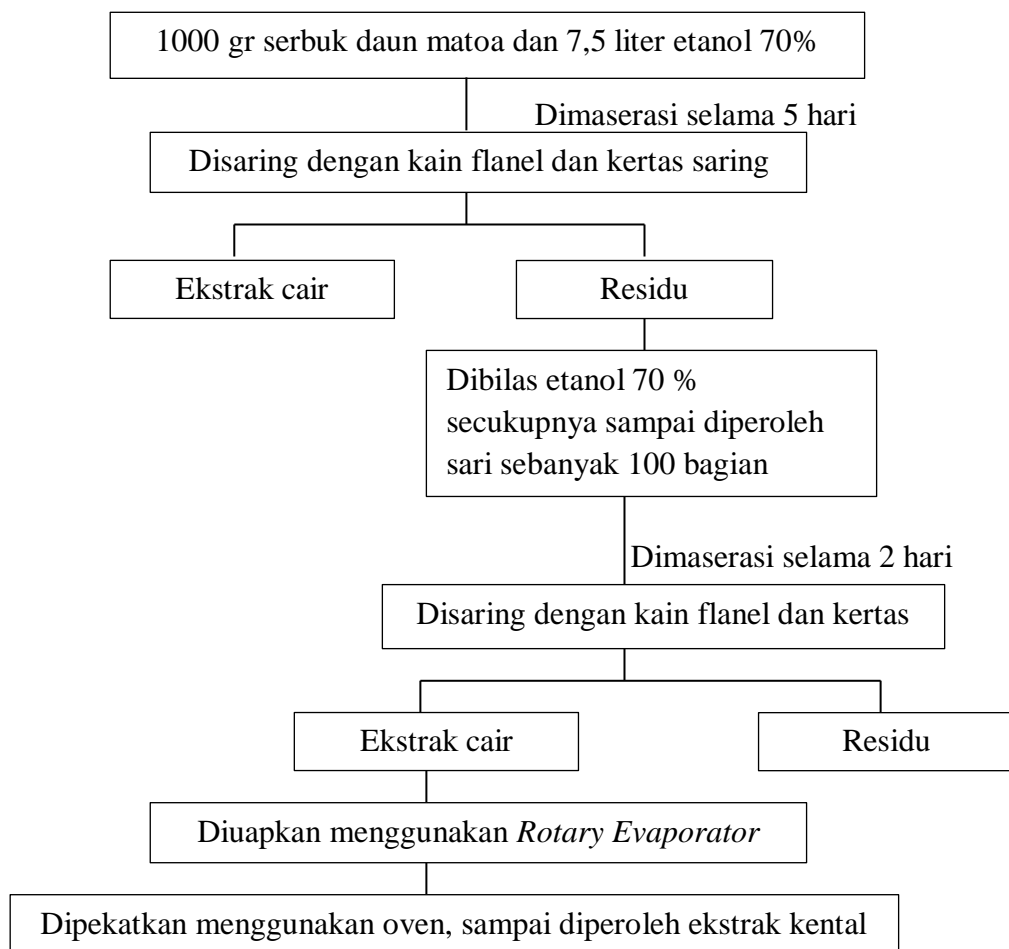
2.1 Pembuatan serbuk daun matoa. Daun matoa dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai kering, kemudian serbuk diayak menggunakan ayakan no 40 mesh. Serbuk yang kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat selanjutnya digunakan penelitian.

2.2 Penetapan susut pengeringan. Penetapan susut pengeringan daun matoa dilakukan menggunakan alat *Moisture Balance*. Serbuk daun matoa sebanyak 2 gram ditimbang dan dimasukkan dalam wadah dengan pengaturan suhu 105 °C dan ditunggu sampai pemanasan berhenti. Catat hasil dari susut pengeringan pada alat dalam satuan persen (%) terhadap bobot awal. Penetapan susut pengeringan dilakukan sebanyak 3 kali. Syarat susut pengeringan serbuk simplisia jika $\pm 10\%$ (Raharjo 2014).

2.3 Penetapan kadar air serbuk daun matoa. Penetapan kadar air serbuk daun matoa dilakukan dengan cara menimbang serbuk 5 g kemudian dimasukkan ≤ 200 ml xylene ke dalam labu, kemudian dihubungkan dengan alat. Tuang xylene ke dalam tabung melalui alat pendingin. Panaskan labu selama 15 menit. Setelah xylene mendidih, suling dengan kecepatan kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian air tersuling, kemudian naikan kecepatan penyulingan hingga 4 tetes tiap detik. Lanjutkan penyulingan selama 5 menit. Biarkan tabung penerima pendingin mencapai suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, baca volume air. Hitung kadar air dalam persen (Mutiatikum D dkk. 2010).

2.4 Pembuatan ekstrak etanol daun matoa. Pembuatan ekstrak etanol daun matoa dilakukan menggunakan metode maserasi menggunakan larutan penyari etanol 70% dengan cara mengambil daun matoa yang sudah diserbuk, kemudian ditimbang sebanyak 1000 gram dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap berukuran 10 liter dan dituangi pelarut etanol 70% sebanyak 7,5 liter,

kemudian ditutup botol disimpan pada ruangan yang terhindar dari sinar matahari selama 5 hari sambil sering kali digojok ulang setiap 6 jam sekali. Setelah 5 hari filtrat disaring dengan kain flanel dan kertas saring, ampasnya dimasukkan kembali dalam botol berwarna gelap dan dibilas lagi dengan sisa etanol 70% secukupnya, sampai diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian, biarkan selama 2 hari kemudian endapan disaring. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian di uapkan menggunakan *Rotary Evaporator*, kemudian dipekatkan menggunakan oven pada suhu 40-50 °C sampai diperoleh ekstrak kental (Depkes 1986). Penggunaan pelarut etanol 70% lebih awet dalam penyimpanan karena mengandung kadar air yang sedikit sehingga lebih kecil kemungkinan untuk pertumbuhan bakteri.



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol 70% daun matoa

2.5 Tes bebas etanol daun matoa. Tes bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ekstrak etanol daun matoa sudah tidak terdapat mengandung etanol, dengan cara melakukan reaksi esterifikasi alkohol. Ekstrak daun matoa ditambah dengan asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Tidak terdapat bau ester dari senyawa yang khas etanol menunjukkan ekstrak tersebut sudah bebas dari senyawa etanol (Wahyuningsih 2010).

3. Identifikasi kualitatif

3.1 Identifikasi flavonoid. Ekstrak daun matoa sebanyak 2 mg diencerkan dalam 1 ml etanol, ditambah serbuk magnesium (MgP) 0,1 g di tambah HCl 10 tetes kemudian dilarutkan dengan amyl alkohol. Hasil reaksi positif jika terdapat warna merah/jingga/kuning (Depkes 1997).

3.2 Identifikasi saponin. Ekstrak daun matoa yang sudah diencerkan ditambah aquadest panas 10 ml, dikocok selama 10 menit. Hasil positif jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm, dan dengan penambahan beberapa tetes HCL 2N buih tidak akan hilang (Depkes 1997).

3.3 Identifikasi tanin. Serbuk dan ekstrak daun matoa sebanyak 0,5 g dilarutkan dengan aquadest 10 ml, kemudian disaring dan filtrat ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Hasil reaksi positif jika terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati *et al.* 2014).

4. Prosedur kerja pengujian uji toksisitas subkronis

4.1 Penyiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah menggunakan tikus putih galaur wistar jantan dan betina, umur hewan uji 6-8 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Hewan uji terlebih dahulu diaklimasi selama ≤ 7 hari, agar hewan uji dapat menyesuaikan dengan lingkungan dan dilakukan pengamatan kondisi dengan penimbangan berat badan seminggu tiga kali. Pengamatan untuk hewan uji yang sakit ditandai dengan aktifitas diri yang menurun, diam, bulu tikus berdiri, maka tidak dimasukkan dalam penelitian.

4.2 Penetapan dosis sediaan dan lama pemberian. Dalam penelitian ini sediaan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol daun matoa dan larutan CMC Na 0,5%. Larutan CMC dengan konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara melarutkan serbuk CMC sebanyak 0,5 gram dan dilarutkan dengan air panas kemudian

ditambahkan aquades hingga volume 100 ml. Volume larutan uji yang diberikan pada hewan uji maksimal 5 ml, dan dosis ekstrak etanol daun matoa berdasarkan penelitian (Purwidyaningrum *et al.* 2017) ekstrak etanol daun matoa sebagai antihipertensi pada tikus dengan dosis efektif 150 mg/kgBB. Dalam penelitian ini dosis yang digunakan menggunakan variasi dosis yaitu dosis rendah (150 mg/kgBB), dosis sedang (500 mg/kgBB), dosis tinggi (1000 mg/kgBB) dan kelompok satelit dengan dosis 1000 mg/kgBB. Pembuatan larutan CMC Na 0,5% dengan melarutkan 0,5 gram CMC dalam 100 ml aquades. Sediaan uji diberikan setiap hari selama 90 hari dan kelompok satelit 118 hari (BPOM 2014).

4.3 Monitoring berat badan. Berat badan hewan ditimbang diawal sebelum pengujian toksisitas subkronik dilakukan sebagai BB₀. Monitoring kenaikan berat badan dilakukan seminggu dua kali untuk mengetahui efek toksisitas estrak etanol daun matoa yang dapat mempengaruhi berat badan hewan uji. Hewan ditimbang setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan (BPOM 2014).

4.4 Pengelompokan hewan uji. Pada penelitian ini menggunakan lima kelompok perlakuan sebanyak 100 ekor tikus yaitu 50 ekor jantan dan 50 ekor betina. Pembagian kelompok dilakukan secara acak yaitu satu kelompok kontrol, tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok satelit, dengan satu kelompok perlakuan terdiri dari 20 tikus yaitu jantan dan betina.

Kelompok I : diberikan larutan CMC Na 0,5% (kontrol negatif)

Kelompok II : diberikan ekstrak daun matoa dengan dosis 150 mg/kgBB

Kelompok III : diberikan ekstrak daun matoa dengan dosis 500 mg/kgBB

Kelompok IV : diberikan ekstrak daun matoa dengan dosis 1000 mg/kgBB

Kelompok V : diberikan ekstrak daun matoa dengan dosis 1000 mg/kgBB
(kelompok satelit).

4.5 Pengambilan darah. Pengambilan darah dilakukan pada awal pengujian T₀, T₉₀, dan T₁₁₈ (untuk kelompok satelit). Darah diambil dari vena mata secara perlahan-lahan menggunakan mikropipet sebanyak 2 ml, satu mikropipet digunakan untuk satu hewan, darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse, kemudian dipindahkan ke dalam alat, kemudian

disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) untuk pemeriksaan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan HDL (BPOM 2014).

4.6 Perlakuan pembedahan dan pasca bedah hewan uji. Tikus dibunuh secara dislokasi leher. Hewan uji yang sudah dibunuh, selanjutnya jasad hewan uji dikubur di dalam lubang dengan kedalaman \pm setengah meter untuk menghindari penguburan dapat dibongkar. Selanjutnya jasad hewan uji di kubur pada tempat penguburan di Universitas Setia Budi Surakarta.

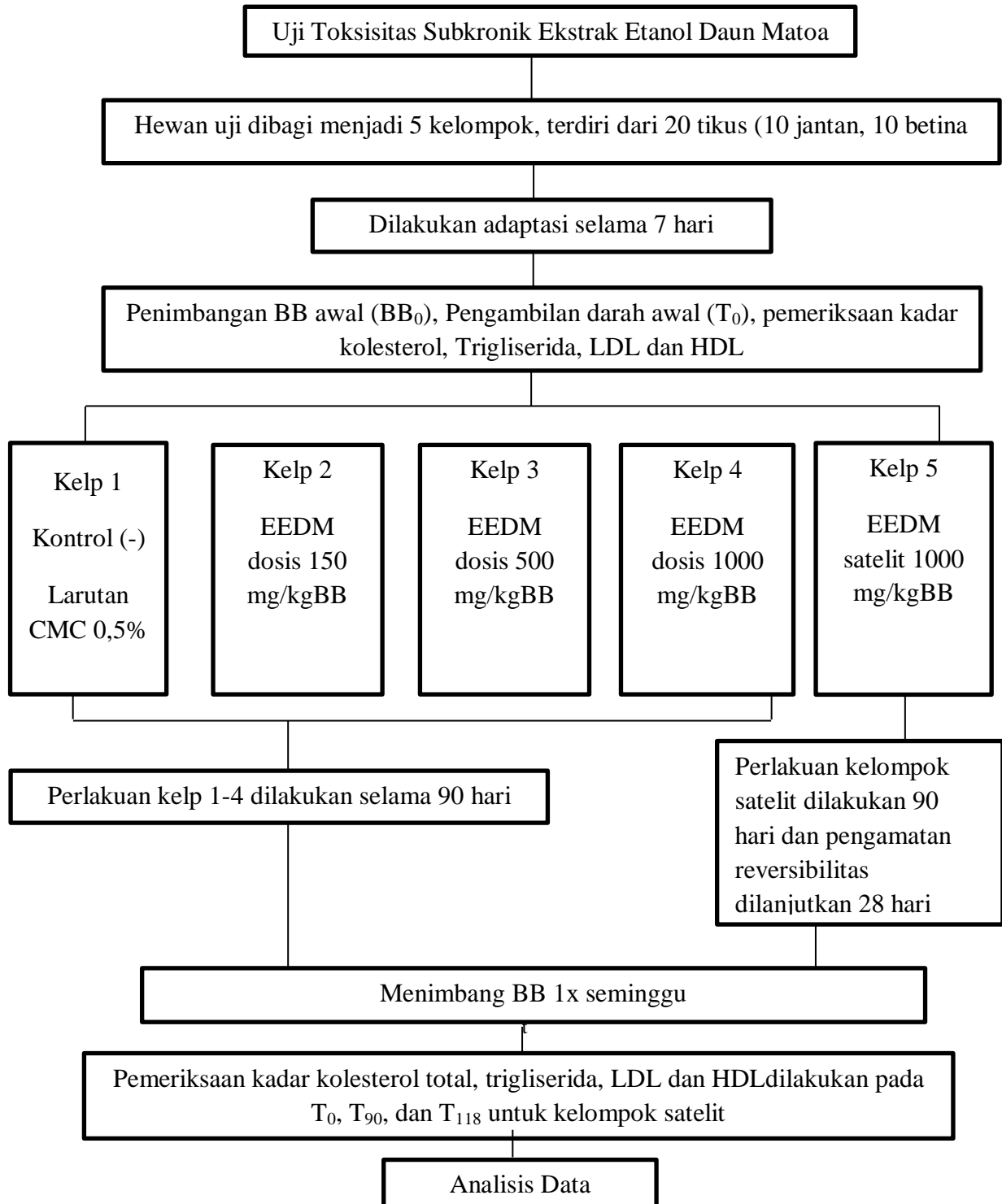
4.7 Pemeriksaan kolesterol total, trigliserida, HDL dan LDL. Dalam penelitian ini pada awal dan akhir percobaan darah diambil untuk pemeriksaan biokimia darah. Pengambilan darah untuk pemeriksaan kolesterol total, dan trigliserida, sejumlah 10 μl serum uji direaksikan dengan 1000 μl pereaksi uji dalam tabung reaksi 5 ml. Di homogenkan dengan bantuan vortex, diinkubasi pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Hal yang sama dilakukan terhadap blangko (pereaksi + aquades) dan standar (pereaksi+ standar koleterol). Pemeriksaan LDL dan HDL yaitu Pipet 0,5 ml plasma darah dan masukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1000 μl reagen HDL, dicentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm, selanjutnya supernatan (hasil reaktan yang disentrifuge) dipipet sebanyak 10 μl masukkan dalam tabung reaksi lain dan tambahkan 1000 μl reagen kolesterol kemudian diinkubasi selama 5 menit dengan suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Dilakukan cara yang sama pada pemeriksaan LDL.

E. Analisis Data

Menghitung data yang diperoleh dari kadar kolesterol total, kadar trigliseridan HDL dan LDL pada (t_0), (t_{90}) dan (t_{118} untuk kelompok satelit). Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, sedangkan kehomogenan varian uji dengan *Levene* menggunakan taraf kepercayaan 95%. Uji ANOVA (analisa varian) satu jalan dilakukan apabila data terdistribusi normal dan homogen untuk tiap variasinya. Jika terdapat perbedaan

bermakna maka dilakuakn uji *Least Signifiikan pnificant Difference* (LSD) dengan taraf kepercayaan 95%. Dilakukan uji *Kruskal-Walis* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan apabila data terdistribusi tidak normal. Analisa *Paired Sample T-Test* untuk melihat ada tidaknya perubahan parameter, bila data yang didapatkan homogen dan terdistribusi normal. Apabila data yang didapatkan tidak homogen dan tidak terdistribusi normal dilakukan uji *Wilcoxon Test*.

F. Skema Penelitian



Gambar 3. Skema alur penelitian uji toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Daun Matoa

1. Hasil determinasi tanaman daun matoa

Determinasi tanaman daun matoa dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi tanaman pada penelitian ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti, mengetahui kebenaran tanaman yang di ambil untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang digunakan. Berdasarkan surat keterangan hasil determinasi nomor: 207/DET/UPT-LAB/19/III/2018 menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar tanaman daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G.Frost) berdasarkan *Backer : Flora of Java* dengan kode 1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24a – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33b – 35a – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a – 78b – 103b – 104a – 106a – 107a – 108b – 109a – 110b – 115a – 116b – 117b – 118c. Familia 137. *Sapindaceae*. 1b – 2b – 4a – 5a – 6b. 16. *Pometia*. 1a. *Pometia pinnata* J.R. & G.Frost. Surat keterangan hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk daun matoa

Sampel tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) yang diperoleh dari daerah Tawangsari, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah pada bulan September 2017. Daun yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau dan masih segar, jika terlalu muda senyawa yang terdapat pada daun matoa belum terbentuk sempurna, daun yang tua di khawatirkan banyak zat aktif yang hilang dan bebas dari hama penyakit. Daun yang dipetik kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk menghilangkan kotoran. Selanjutnya ditiriskan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C, untuk menghilangkan kadar air agar sampel daun matoa

tidak ditumbuhi jamur yang mengakibatkan pembusukan, suhu perlu dijaga konstan, karena suhu yang tinggi akan merusak zat aktif yang ada di dalam daun matoa dan jika terlalu rendah pengeringan menjadi tidak sempurna. Hasil perhitungan rendemen dapat di lihat pada lampiran 3.

Tabel 3. Hasil rendemen daun kering terhadap daun matoa basah

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
40	18	45

Hasil rendemen bobot basah daun matoa diperoleh rendemen sebesar 45%. Daun matoa yang telah kering dibuat serbuk dengan menggunakan mesin penggiling dan diayak dengan ayakan mesh 40. Tujuan dibuat serbuk untuk memperbesar permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut saat ekstraksi sehingga penyarian dapat berjalan dengan optimal.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun matoa

Penetapan susut pengeringan serbuk daun matoa dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Prinsip kerja dari *moisture balance* adalah terjadi pemanasan serbuk dan terjadi penguapan sampai bobot serbuk menjadi tetap. Di dalam penetapan kadar susut pengeringan yang dihitung adalah zat-zat yang menguap yang ada dalam simplisia termasuk air. Selain air, zat lain yang mungkin menguap adalah minyak atsiri, minyak, dan lain-lain. Jadi secara teoritis angka susut pengeringan bisa lebih besar dari angka kadar air. Suhu penetapan susut pengeringan adalah 105 °C kecuali dinyatakan lain.

Pada suhu 105 °C ini, air akan menguap, dan senyawa-senyawa yang mempunyai titik didih yang lebih rendah dari air akan ikut menguap. Tujuan mengetahui susut pengeringan adalah rentang susut pengeringan daun matoa.

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan daun matoa

Serbuk daun matoa (g)	(%)
2,0	8,0
2,0	8,5
2,0	9,0
Rata-rata ± SD	8,5 ± 0,5

Tabel 4 menunjukkan hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun matoa dengan 8,5 % hal ini menunjukkan bahwa serbuk daun matoa telah

memenuhi persyaratan untuk simplisia daun dengan susut pengeringan tidak lebih dari 10% (Raharjo 2014).

4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun matoa

Penetapan kadar air serbuk daun matoa dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Penentuan kadar air pada suatu simplisia perlu dilakukan terutama untuk bahan yang dikeringkan dan disimpan lama, karena apabila di dalam simplisia yang akan disimpan dalam waktu yang cukup lama memiliki kelebihan jumlah air, maka simplisia tersebut akan menjadi cepat lembab sehingga sangat memungkinkan simplisia tersebut menjadi rusak karena pertumbuhan mikroba atau jamur yang lebih cepat dan pembusukan yang kemudian terjadi reaksi hidrolisis.

Analisa kadar air dengan menggunakan metode destilasi ini berdasarkan pada pengukuran secara volumetri. Sehingga prosedur pengkonstanan tidak perlu dilakukan. Setelah serbuk daun matoa ditimbang, dimasukkan ke dalam labu didih kemudian sample ditambahkan pelarut. Pelarut yang ditambahkan ini berfungsi untuk membawa uap air dalam bahan dan berbarengan masuk ke dalam kondensor dan diembunkan dan ditampung dalam tabung penampung. Karena berat jenis air lebih besar dari pada pelarut tersebut, maka air akan berada dibagian bawah pada tabung penampung, tabung penampung yang dipergunakan saat praktikum dilengkapi dengan skala sehingga banyaknya air yang tertampung yang merupakan kadar air dari bahan tersebut dapat langsung diketahui.

Pelarut yang dapat dipergunakan dalam analisa kadar air dengan metode destilasi ini adalah pelarut dengan titik didih yang lebih tinggi daripada air, dan tidak dapat dicampur dengan air serta mempunyai berat jenis yang lebih rendah daripada air. Penetapan kadar air menggunakan xylen karena memiliki titik didih yang lebih tinggi dari air dan tidak berampur dengan air, sehingga mudah untuk penetapan kadar air. Pelarut yang dipergunakan berdasarkan pada prosedur adalah sebanyak ± 300 ml. Setelah pelarut dan batu didih ditambahkan, labu didih kemudian dirangkaikan dengan perangkat destilasi dan penampung uap air yang berskala. Penambahan batu didih berfungsi untuk meredam bumping (letupan)

yang mungkin terjadi selama proses pemanasan. Proses destilasi ini dilakukan selama 1 jam, dan dihitung saat larutan mulai mendidih.

Pelarut yang memiliki titik didih diatas air ini akan menguap bersama dengan uap air yang terkandung dalam bahan, uap pelarut dan air akan masuk kedalam kondensor dan terjadilah proses pengembunan. Embun tersebut akan ditampung dalam penampung berskala yang disebut *sterling bidwell*. Karena selisih berat jenis yang cukup besar, pelarut dan air akan terpisah menjadi 2 lapisan yang berbeda. Air yang memiliki berat jenis lebih besar daripada pelarut akan berada di lapisan paling bawah dan xylen akan berada pada lapisan yang paling atas. Setelah proses destilasi selama 1 jam selesai, maka proses selanjutnya adalah membiarkan peralatan destilasi sampai benar-benar dingin, proses pembacaan skala dilakukan saat peralatan destilasi dingin. Saat suhu tinggi peralatan yang memiliki skala akan mengalami pemuaian dan hasil pengukuran menjadi tidak tepat, sehingga sebaiknya pembacaan skala dilakukan saat peralatan dingin.

Tabel 5. Persentase penetapan kadar air serbuk daun matoa

Replikasi	Serbuk daun matoa (g)	Volume air (ml)	Kadar (%)
Replikasi I	20	0,9	4,5
ReplikasiII	20	0,8	4
ReplikasiIII	20	0,9	4,5
Rata-rata \pm SD	20	0,9	4,33 \pm 0,29

Presentase rata-rata kadar air dalam serbuk daun matoa adalah 4,33 %. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air serbuk daun matoa telah memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes RI 2000). Hasil perhitungan rendemen penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 4.

5. Hasil pembuatan serbuk ekstrak etanol daun matoa

Pembuatan ekstrak etanol daun matoa menggunakan metode maserasi yang bertujuan untuk menghindari kerusakan-kerusakan senyawa yang tidak tahan panas, dengan pelarut 70% dan perbandingan antara serbuk daun matoa dan etanol yaitu 1:10. Serbuk daun matoa yang digunakan adalah 1000 gram dengan pelarut etanol 70% sebanyak 10 L selama 5 hari dalam wadah kaca tertutup dan berwarna gelap, setelah 5 hari maserasi disaring dan diperas. Maserat kemudian disaring

hingga menghasilkan filtrat. Hasil filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *Rotary evaporator*, kemudian hasil evaporator dipekatkan di oven dan diperoleh berat ekstrak kental.

Tabel 6. Hasil persentase rendemen ekstrak etanol daun matoa

Sampel	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Daun matoa	1000	320	32

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel, presentase rendemen ekstrak daun matoa sebesar 32%. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

6. Hasil tes bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan pada ekstrak daun matoa untuk mengetahui ekstrak etanol daun matoa telah bebas dari alkohol. Cara ini dilakukan dengan uji esterifikasi yaitu telah terbukti dengan sudah tidak ada terciumnya bau ester etil asetat dari reaksi antara etanol dengan asam asetat. Hasil dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Uji bebas etanol ekstrak daun matoa

Cara pegujian bebas etanol	Hasil uji
Ekstrak etanol daun matoa + HCl pekat + CH ₃ COOH → dipanaskan	Tidak tercium bau etanol yang khas

Hasil uji bebas etanol ekstrak daun matoa menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun matoa bebas dari etanol.

7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun matoa

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun matoa dilakukan menggunakan metode uji tabung, dengan identifikasi warna. Identifikasi kualitatif serbuk dan ekstrak daun matoa bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia saponin, tanin dan flavonoid yang terkandung di dalam daun matoa.

Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun mataoa dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan

Kandungan kimia	Serbuk	Ekstrak
Saponin	+	+
Tanin	+	+
Flavonoid	+	+

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa kimia pada tabel 8 menunjukkan hasil yang positif bahwa serbuk dan ekstrak daun mataoa mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid. Kandungan saponin menunjukkan hasil positif apabila terbentuk buih atau busa setinggi 1-5 cm yang stabil, tanin menunjukkan perubahan warna biru kehitaman, dan flavonoid ditandai dengan adanya perubahan warna merah jingga (Depkes RI 1997). Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun mataoa dapat dilihat pada lampiran 6.

B. Hasil Uji Toksisitas Subkronis Daun Mataoa

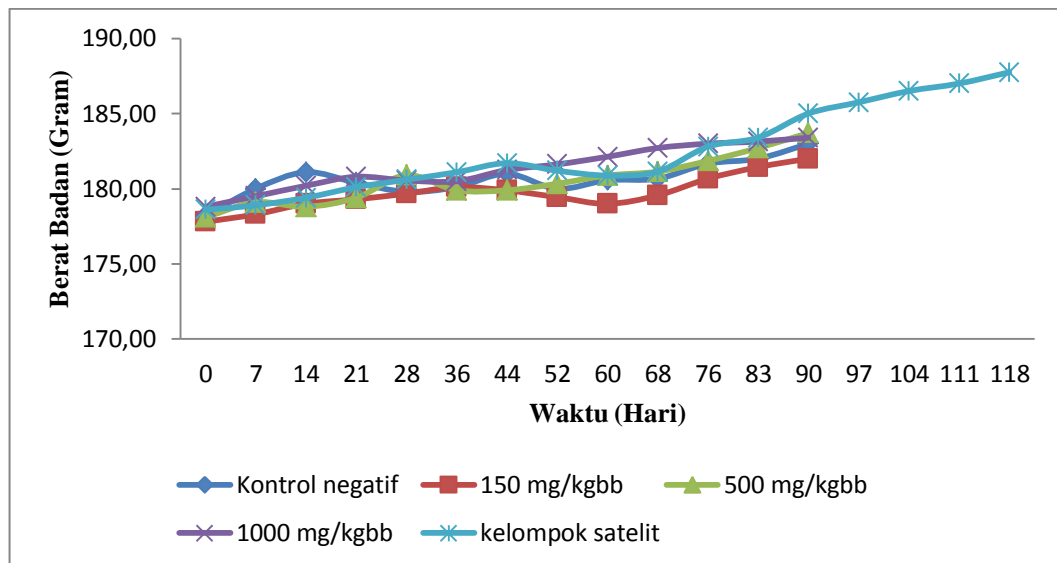
1. Hasil uji toksisitas subkronis daun mataoa

1.1 Persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar sebanyak 100 ekor yaitu 50 ekor jantan dan 50 ekor betina dengan berat badan 150-200 gram sebanyak 50 ekor yang diperoleh dari perternakan di wilayah Surakarta, Jawa tengah. Tikus yang digunakan, sebelumnya diaklitimasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk beradaptasi di sekitar lingkungan hewan uji. tikus kemudian dibedakan berdasarkan dosis, setiap kelompok hewan uji terdiri dari 20 ekor tikus, terdiri dari 10 ekor jantan dan 10 ekor betina. Surat hewan uji dapat dilihat pada lampiran 8.

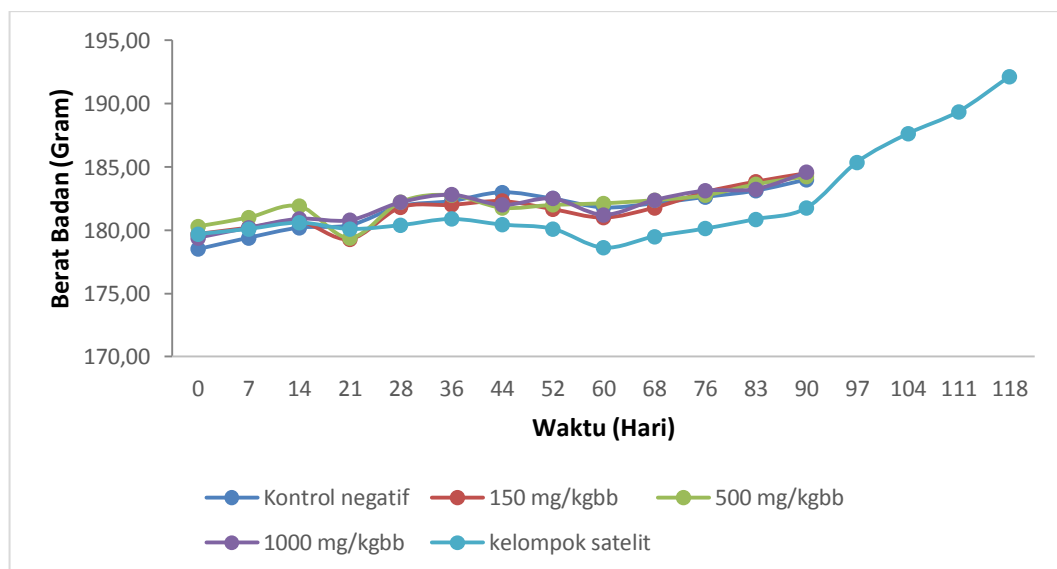
1.2 Penetapan dosis hewan uji. Dosis yang digunakan pada kelompok hewan uji berdasarkan dosis efektif ekstrak daun mataoa sebagai antihipertensi yaitu 150 mg/kgBB (Purwidyaningrum *et al.* 2016). Dosis yang diberikan pada hewan uji kelompok I kontrol negatif adalah CMC Na 0,5%, untuk dosis kelompok II dosis rendah adalah 150 mg/kgbb, untuk dosis kelompok III dosis sedang adalah 500 mg/kgBB, untuk dosis kelompok IV dosis tinggi adalah 1000 mg/kgBB, dan untuk kelompok dosis V adalah dosis satelit 1000 mg/kgBB.

Pemberian sediaan uji diberikan sesuai berat badan setiap hewan uji. Perhitungan dosis terdapat pada lampiran 11.

1.3 Pengamatan berat badan. Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan setiap 1 minggu sekali dengan maksud untuk mengetahui apakah terdapat perubahan berat badan pada hewan uji sebelum dan sesudah pemberian ekstrak daun matoa.



Gambar 4. Grafik berat badan hewan uji jantan terhadap waktu dengan kelompok dosis yang berbeda.



Gambar 5. Grafik berat badan hewan uji betina terhadap waktu dengan kelompok dosis yang berbeda.

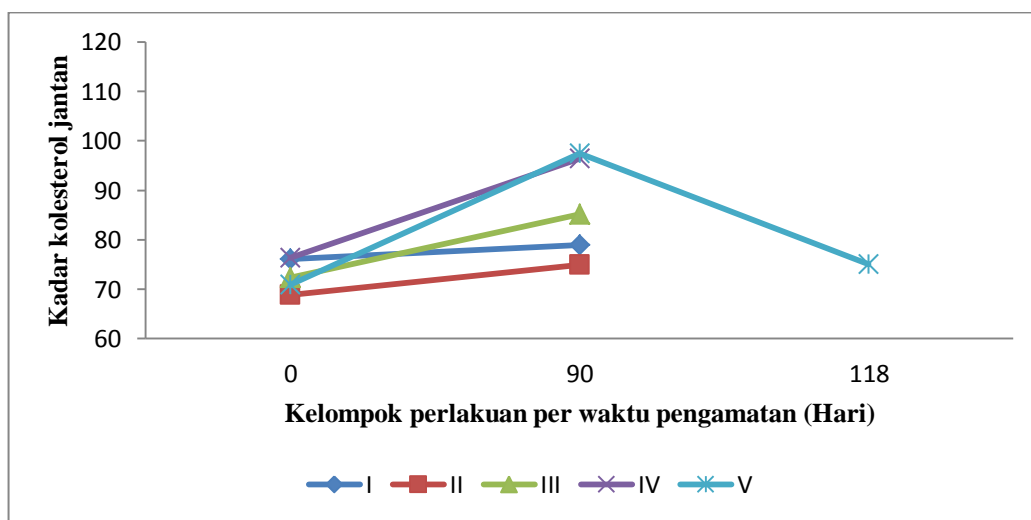
Gambar 4 menunjukkan berat badan mengalami kenaikan dan penurunan pada kelompok hewan uji jantan. Pada kelompok kontrol negatif, mengalami peningkatan berat badan sampai minggu kedua belas walaupun mengalami penurunan pada minggu ketiga dan ketujuh. Kelompok dosis rendah 150 mg/kgbb mengalami peningkatan berat badan secara umum sampai minggu kedua belas, namun mengalami penurunan pada minggu ketujuh dan delapan. Kelompok dosis 500 mg/kgbb mengalami peningkatan berat badan hingga minggu ke dua belas walaupun mengalami penurunan pada minggu kedua dan kelima. Kelompok dosis 1000 mg/kgbb dan kelompok satelit mengalami peningkatan sampai akhir penelitian, walaupun pada kelompok dosis 1000 mg/kgbb mengalami penurunan rata-rata berat badan pada minggu kelima dan minggu ke delapan untuk kelompok satelit.

Gambar 5 menunjukkan adanya peningkatan dan penurunan berat badan hewan uji betina pada kelompok kontrol, kelompok dosis 150mg/kgbb, 500 mg/kgbb, 1000 mg/kgbb dan kelompok satelit yang diberikan dosis tinggi yaitu dosis 1000 mg/kgbb. Semua kelompok mengalami peningkatan berat badan demi waktu ke waktu hingga minggu kedua belas, walaupun mengalami penurunan pada minggu ketiga. Kelompok satelit mengalami peningkatan rata-rata berat badan hingga akhir penelitian yaitu sampai minggu keenam belas namun mengalami penurunan pada minggu ke delapan. Data berat badan lengkap dapat dilihat pada lampiran 19.

Data berat badan seluruhnya dari kelompok hewan uji jantan maupun betina dianalisis secara statistik, diawali dengan menggunakan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi tidak normal ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan analisis nonparametrik yaitu dengan uji *Kruskal Wallis* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) sehingga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan uji. Hasil analisis dapat dilihat pada lampiran 19.

2. Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total

Pemeriksaan kadar kolesterol total pada hewan uji dilakukan dengan metode CHOD-PAP menggunakan alat spektrofotometri. Menurut Harini (2009) rentang normal kadar kolesterol total tikus jantan dan betina berkisar antara 40-130 mg/dL.



Gambar 6. Grafik kadar kolesterol jantan

Keterangan:

I : Kontrol negatif

II : Dosis 150 mg/kgBB

III : Dosis 500 mg/kgBB

IV : Dosis 1000 mg/kgBB

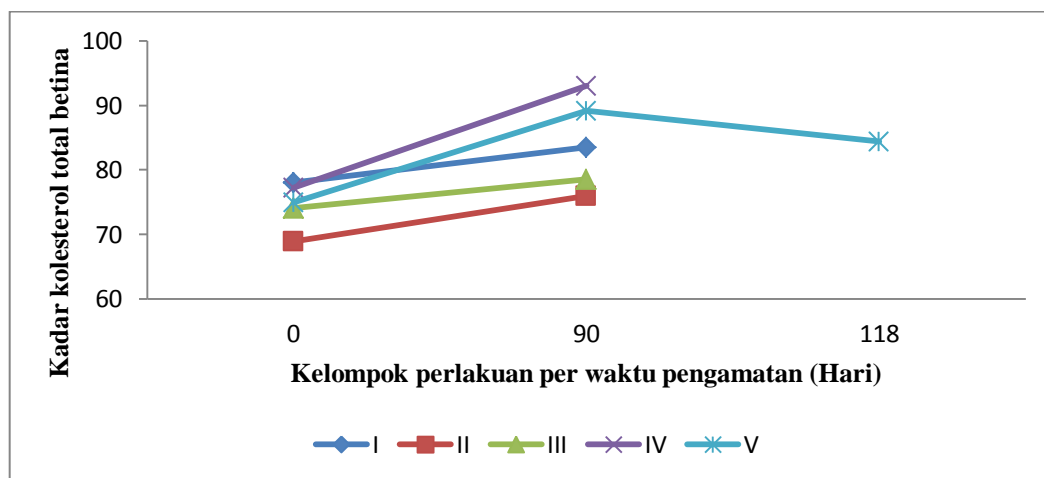
V : Dosis satelit 1000mg/kgBB

T₀ : Hari ke-0 (sebelum diberi perlakuan)

T₉₀ : Hari ke-90 (sesudah diberi perlakuan ekstrak)

T₁₁₈ : Hari ke-118 (reversibilitas sesudah diberi perlakuan ekstrak)

Berdasarkan gambar 6 rata-rata kadar kolesterol total tikus jantan pada T₀ belum menunjukkan adanya perubahan, karena masih kadar kolesterol awal. Pada T₉₀ terjadi kenaikan rata-rata kadar kolesterol total, dibanding pada T₀. Rata-rata peningkatan terjadi pada dosis 1000 mg/kgBB dan dosis satelit 1000 mg/kgBB. Pada T₁₁₈ kadar kolesterol total mengalami penurunan.



Gambar 7. Grafik kadar kolesterol betina

Keterangan:

I : Kontrol negatif

II : Dosis 150 mg/kgBB

III : Dosis 500 mg/kgBB

IV : Dosis 1000 mg/kgBB

V : Dosis satelit 1000mg/kgBB

T₀ : Hari ke-0 (sebelum diberi perlakuan)

T₉₀ : Hari ke-90 (sesudah diberi perlakuan ekstrak)

T₁₁₈: Hari ke-118 (reversibilitas sesudah diberi perlakuan ekstrak)

Pada gambar 7 menunjukkan rata-rata kadar kolesterol pada tikus betina. Hasil rata-rata pada T₀ belum mengalami kenaikan secara signifikan, namun T₉₀ kadar kolesterol mengalami peningkatan pada dosis 1000 mg/kgBB. Peningkatan rata-rata kolesterol total tidak terjadi pada dosis 150, dan 500 mg/kgBB. Hal ini, karena dosis yang digunakan rendah. Pemeriksaan kolesterol total pada T₁₁₈ mengalami penurunan kadar baik hewan jantan maupun betina dari bulan sebelumnya karena adanya efek *reversible* yaitu efek pemulihan atau perbaikan yang terjadi setelah penghentian pemberian sediaan uji.

Tabel 9. Rata-rata kadar kolesterol total

Perlakuan	Rata-rata kadar kolesterol total (mg/dl)		
	T0	T90	T118
	Kelompok Jantan		
I	76,10±25,38	79,00±23,92	
II	68,90±30,60	74,87±28,62	
III	72,40±32,70	85,14±24,60	
IV	76,30±33,16	96,40±19,29	
V	70,90±28,98	97,50±27,92	75,00±14,93
	Kelompok Betina		
I	78,00±27,59	83,50±14,99	
II	68,90±27,91	76,00±26,89	
III	74,10±20,76	78,50±30,46	
IV	77,20±32,62	93,00±19,48	
V	75,00±21,89	89,12±14,04	84,37±18,39

Keterangan:

- I : Kontrol negatif
- II : Dosis 150 mg/kgBB
- III : Dosis 500 mg/kgBB
- IV : Dosis 1000 mg/kgBB
- V : Dosis satelit 1000 mg/kgBB

Uji ekstrak etanol daun matoa pada tikus putih galur wistar, pada pengukuran kolesterol total tikus jantan dan betina dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pengukuran pada hari T₀, T₉₀, dan T₁₁₈. Pada T₀ pengukuran kadar kolesterol total tikus jantan dan betina yaitu pada saat hewan belum diberikan perlakuan apapun sehingga hewan uji masih dalam keadaan normal.

Data kolesterol pada T₀ tikus jantan dan betina diolah menggunakan analisis *Kolmogorov-Sminorv*. Hasil uji statistik pada tikus jantan dan betina diperoleh nilai signifikan ($p > 0,05$) (H_0 diterima), hal ini menunjukkan bahwa data kolesterol total tikus jantan dan betina pada T₀ terdistribusi normal. Dilanjutkan uji Levene-Tes dengan nilai sign ($p > 0,05$) pada tikus jantan dan betina. Data terdistribusi normal dan homogen, kemudian dilanjutkan analisis statistik menggunakan *One Way Anova* pada tikus jantan dan betina nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Pengukuran kadar kolesterol total pada T₉₀, hasil uji statistik analisis *Kolmogorov-Smirnov* pada tikus jantan dan betina diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Dilanjutkan uji *Levene-Tes* dengan nilai sign ($p > 0,05$) pada tikus jantan dan betina. Analisis statistik T₉₀ menggunakan *One Way Anova* pada tikus

jantan dan betina nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan makna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Pemeriksaan kolesterol total pada T_{118} untuk kelompok satelit hewan uji jantan dan betina dianalisis menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Dilanjutkan uji statistik *Paired T-Test*, uji ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perubahan atau reversibilitas antara kelompok satelit T_{90} dan T_{118} . Hasil analisis pada hewan uji jantan dan betina nilai probabilitas $\geq 0,025$ yang artinya tidak ada perbedaan makna. Hasil uji kadar kolesterol total pada T_0 , T_{90} , T_{118} antara kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol negatif tidak beda makna, data kadar kolesterol masih masuk dalam range normal antara 40-130 mg/dL, sehingga bisa dikatakan tidak terjadi efek toksik setelah penggunaan ekstrak etanol daun matoa pada dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB, dan pada T_{118} mengalami reversibel. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 19.

Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun matoa merupakan antioksidan karena dapat menangkal radikal bebas dengan membebaskan atom hidrogen (Arifin dkk 2013). Menurut Roza *et al.* (2007) mekanisme flavonoid khususnya hesperetin dan naringenin adalah bekerja pada sel hati manusia (HepG2), keduanya mengurangi kadar secara moderat dari apolipoprotein B yang merupakan komponen protein utama dari LDL. Dari penelitian yang dilakukan oleh Al-Fartosy *et al.* (2013) Flavonoid juga dapat mencegah naiknya kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, secara signifikan menaikkan HDL.

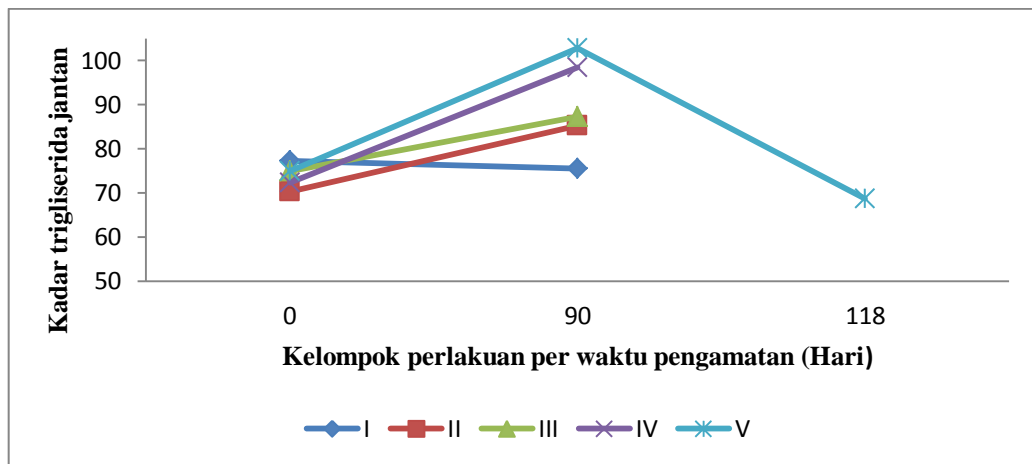
Menurut Hakim (2010) bahwa kandungan senyawa saponin dalam daun matoa bekerja dengan menghambat reabsorpsi asam empedu yang disintesis oleh kolesterol dari usus sehingga asam empedu dikeluarkan bersama feses. Asam empedu yang hilang akan diganti oleh kolesterol yang berada dalam darah dengan bantuan hepar sehingga kadar kolesterol dalam serum darah dapat berkurang.

Senyawa tanin yang terkandung dalam daun matoa akan berinteraksi dengan protein dalam makanan akan membentuk gel yang melapisi dinding usus. Gel yang menutupi dinding usus membantu menghambat absorpsi kolesterol dari

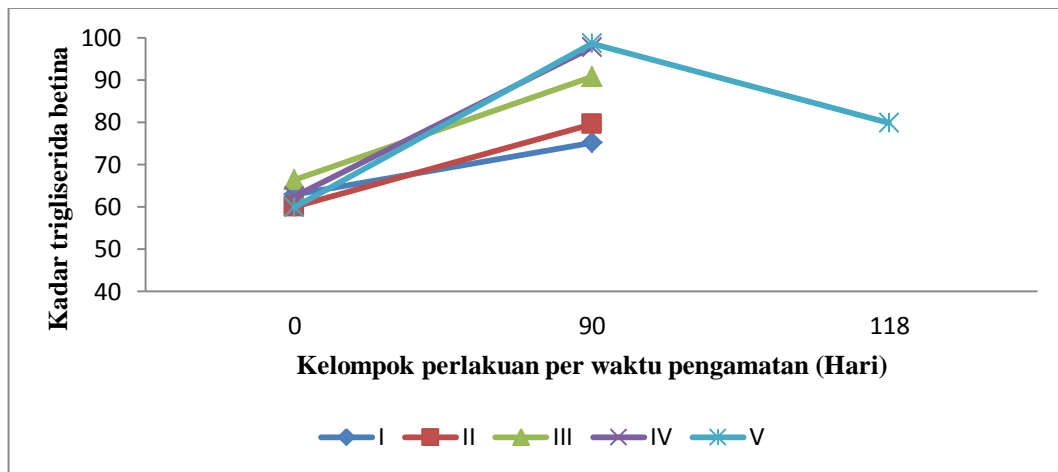
usus ke pembuluh darah, maka penyerapan kolesterol menjadi berkurang (Harbone 1987).

3. Hasil pemeriksaan kadar trigliserida

Pemeriksaan kadar trigliserida pada hewan uji dilakukan dengan metode GPO-PAP menggunakan alat spektrofotometri. Menurut Sudrajat (2008) rentang normal kadar trigliserida tikus jantan betina berkisar antara 26-146 mg/dL.



Gambar 8. Grafik trigliserida jantan



Gambar 9. Grafik trigliserida betina

Keterangan:

I : Kontrol negatif

II : Dosis 150 mg/kgBB

III : Dosis 500 mg/kgBB

IV : Dosis 1000 mg/kgBB

V : Dosis satelit 1000mg/kgBB

T0 : Hari ke-0 (sebelum diberi perlakuan)

T90 : Hari ke-90 (sesudah diberi perlakuan ekstrak)

T118: Hari ke-118 (reversibilitas sesudah diberi perlakuan ekstrak)

Rata-rata kadar trigliserida tikus jantan dan tikus betina dapat di lihat pada gambar 8 dan 9. Kadar trigliserida pada T₀ tikus jantan dan betina belum mengalami adanya perubahan karena belum diberikan perlakuan, pada T₉₀ tikus jantan dan betina mulai mengalami kenaikan kadar rata- rata trigliserida karena sudah diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun matoa. Pada T₁₁₈ atau reversibilitas kadar trigliserida mengalami penurunan setelah penghentian pemberian sediaan uji.

Tabel 10. Rata-rata kadar trigliserida

Perlakuan	Rata-rata kadar trigliserida (mg/dl)		
	T0	T90	T118
Kelompok Jantan			
I	77,20±24,17	75,50±19,08	
II	70,30±32,99	85,25±31,50	
III	75,00±41,57	87,28±23,14	
IV	72,30±30,19	98,40±21,06	
V	74,90±37,60	102,75±13,32	68,75±15,45
Kelompok Betina			
I	62,80±21,66	75,14±11,24	
II	60,00±21,84	79,50±21,57	
III	66,30±14,22	90,66±15,10	
IV	62,40±26,35	97,71±18,81	
V	59,90±16,28	98,62±12,30	79,87±15,55

Keterangan:

- I : Kontrol negatif
- II : Dosis 150 mg/kgBB
- III : Dosis 500 mg/kgBB
- IV : Dosis 1000 mg/kgBB
- V : Dosis satelit 1000 mg/kgBB

Pengukuran trigliserida pada T₀ hasil uji statistik menggunakan *kolmogorov-sminov* pada tikus jantan dan betina diperoleh nilai signifikan ($p>0,05$) hal ini menunjukkan bahwa kadar trigliserida tikus jantan dan betina pada T₀ terdistribusi normal. Selanjutnya, uji *Levene-Test* untuk mengetahui kehomogenitasan diperoleh nilai sign ($p>0,05$), karena data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan uji analisis statistik menggunakan *One Way Anova* pada tikus jantan dan betina nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan.

Analisis statistik kadar trigliserida tikus jantan dan betina pada T₉₀ dengan uji statistik analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai sign ($p>0,05$) data terdistribusi normal. Dilanjutkan uji *Levene-Tes* dengan nilai sign ($p>0,05$) pada

tikus jantan dan betina. Data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan analisis statistik T_0 menggunakan *One Way Anova* pada tikus jantan dan betina nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan makna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Pemeriksaan trigliserida pada T_{118} untuk kelompok satelit hewan uji jantan dan betina dianalisis menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai sign ($p>0,05$) data terdistribusi normal. Dilanjutkan uji statistik *Paired T-Test*. Uji ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perubahan atau reversibilitas antara kelompok satelit T_{90} dan T_{118} pada tikus jantan dan betina. Hasil analisis pada hewan uji jantan dan betina nilai probabilitas $\leq 0,025$ yang artinya terdapat perbedaan makna antara kelompok satelit yang diberikan sediaan uji terhadap kelompok satelit yang tidak diberikan sediaan uji. Maka untuk mengetahui efek reversibilitas sampai titik normal perlu dilakukan analisis statistik antara kelompok satelit T_0 dengan kelompok satelit T_{118} . Hasil analisis pada hewan uji jantan dan betina nilai probabilitas $\geq 0,025$ artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok satelit terhadap kelompok satelit T_{118} . Sehingga, pada T_{118} kadar Trigliserida pada hewan uji jantan dan betina mengalami reversibilitas. Hasil uji kadar trigliserida pada T_0 , T_{90} , T_{118} antara kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol negatif tidak beda makna, data kadar trigliserida masih masuk dalam range normal antara 26-146 mg/dL, sehingga bisa dikatakan tidak terjadi efek toksik setelah penggunaan ekstrak etanol daun matoa pada dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB, dan pada T_{118} mengalami reversibel. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 19.

Berdasarkan identifikasi kualitatif senyawa metabolik bahwa ekstrak daun matoa mengandung saponin, tanin, dan flavonoid. Hal ini di dukung oleh Larbie *et al.* (2011) bahwa flavonoid juga memiliki khasiat menekan sintesis asam lemak yang penting bagi kesehatan dalam tubuh serta baik untuk mencegah kanker. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase yang menguraikan trigliserida yang terdapat pada kilomikron (Sudhesh *et al.* 1997).

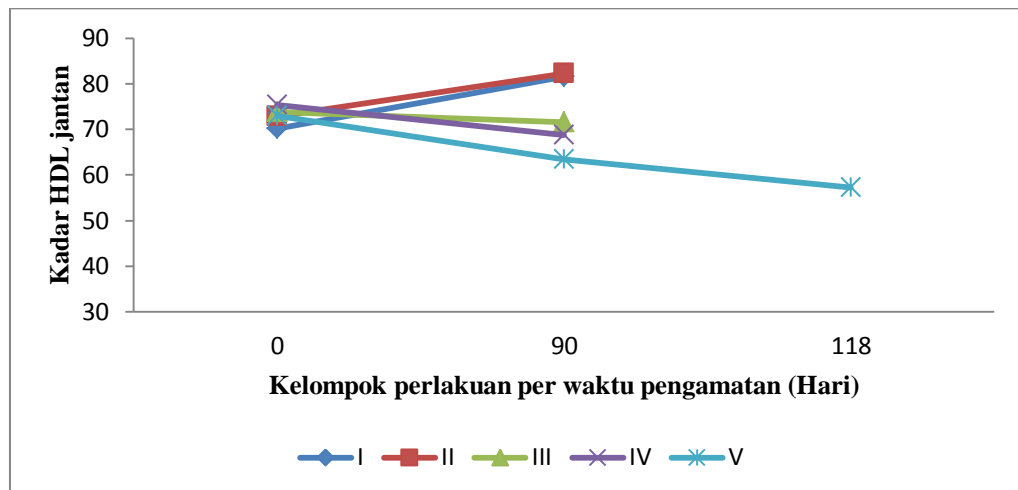
Menurut penelitian Malinov *et al.* (2010) bahwa senyawa saponin berperan menghambat penyerapan trigliserida di usus. Konsekuensi dapat

menghambat penyerapan trigliserida adalah trigliserida dikeluarkan dari tubuh bersama feses yang merupakan lintasan utama untuk mengeluarkan trigliserida.

Menurut Widyaningsih (2011) Tanin mampu menurunkan kadar trigliserida dengan menghambat absorpsi lemak dalam usus, kemudian terhambatnya absorpsi lemak dalam pencernaan maka trigliserida yang masuk dalam pembuluh darah akan berkurang dan sulit keluar melalui feses.

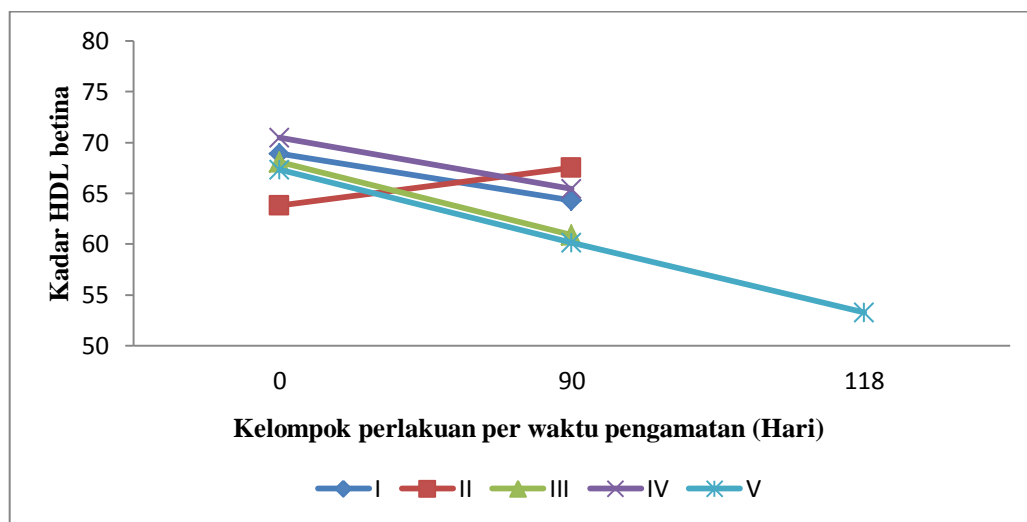
4. Hasil pemeriksaan kadar HDL

Pemeriksaan pengukuran kadar HDL pada hewan uji dilakukan dengan metode CHOD-PAP menggunakan alat spektrofotometri. Menurut (Hartoyo *et al.* 2008) rentang normal kadar HDL tikus jantan dan betina yaitu >35 mg/dL.



Gambar 10. Grafik kadar HDL Jantan

Rata-rata kadar HDL tikus jantan dan betina dapat dilihat pada gambar 10 dan 11 yang di ukur dalam 3 periode waktu pada berbagai kelompok perlakuan hewan uji. Histogram tersebut menunjukkan adanya penurunan pada T_{90} dibandingkan dengan T_0 , dan pada T_{118} atau reversibilitas mengalami penurunan setelah pemberian penghentian sediaan uji.



Gambar 11. Grafik kadar HDL Betina

Keterangan:

I : Kontrol negatif

II : Dosis 150 mg/kgBB

III : Dosis 500 mg/kgBB

IV : Dosis 1000 mg/kgBB

V : Dosis satelit 1000mg/kgBB

T0 : Hari ke-0 (sebelum diberi perlakuan)

T90 : Hari ke-90 (sesudah diberi perlakuan ekstrak)

T118: Hari ke-118 (reversibilitas sesudah diberi perlakuan ekstrak)

Tabel 11. Rata-rata kadar HDL

Perlakuan	Rata-rata kadar HDL (mg/dl)		
	T0	T90	T118
Kelompok Jantan			
I	70,20±29,09	81,50±22,14	
II	72,80±25,70	82,25±34,32	
III	73,80±23,16	71,57±13,98	
IV	75,40±29,09	68,80±28,47	
V	73,00±18,22	63,50±45,55	57,25±30,90
Kelompok Betina			
I	68,90±13,64	64,28±18,55	
II	63,80±22,53	67,50±30,08	
III	68,10±16,27	60,88±13,95	
IV	70,50±20,23	65,42±21,36	
V	67,30±17,85	60,12±30,08	53,25±12,87

Keterangan:

I : Kontrol negatif

II : Dosis 150 mg/kgBB

III : Dosis 500 mg/kgBB

IV : Dosis 1000 mg/kgBB

V : Dosis satelit 1000 mg/kgBB

Pemeriksaan kadar HDL pada tikus jantan maupun betina pada T_0 diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai sign ($p > 0,05$) terdistribusi normal, selanjutnya diuji kehomogenitasan menggunakan uji statistik *Levene-Test* diperoleh nilai sign ($p > 0,05$) pada tikus jantan dan betina. Data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan pada tikus jantan dan betina ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan.

Analisis pemeriksaan T_{90} tikus jantan dan betina menggunakan analisis *Kolmogorov-Smirnov* nilai signifikan tikus jantan dan betina ($p > 0,05$), selanjutnya diuji kehomogenitasan menggunakan uji statistik *Levene-Test* diperoleh nilai sign ($p > 0,05$) pada tikus jantan, pada tikus betina nilai sign ($p < 0,05$) tidak homogen. Pada tikus jantan karena terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*, diperoleh hasil nilai signifikan ($p > 0,05$) pada tikus jantan menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Uji kehomogenitasan tikus betina nilai signifikan ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan analisis nonparametrik yaitu dengan uji *Kruskal Wallis* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) sehingga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan uji.

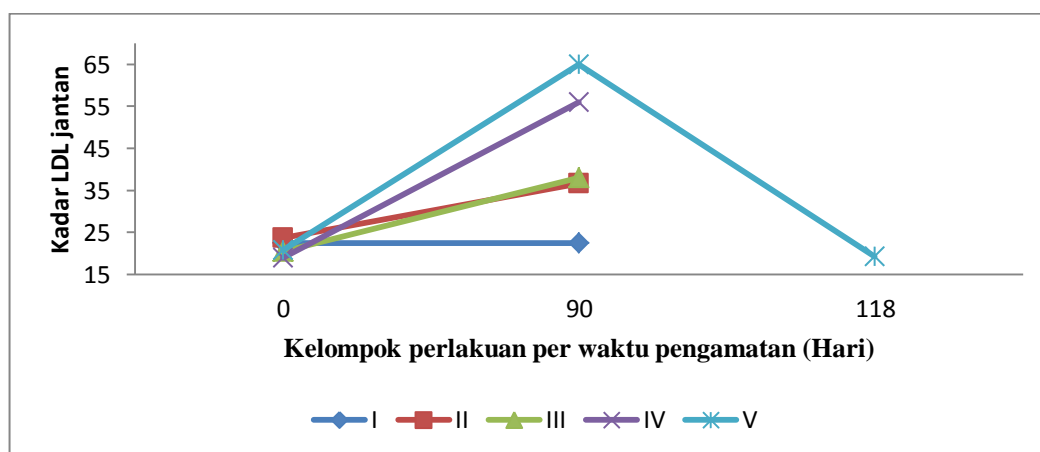
Pemeriksaan HDL pada T_{118} untuk kelompok satelit hewan uji jantan dan betina dianalisis menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* nilai signifikan tikus jantan dan betina ($p > 0,05$) terdistribusi normal. Dilanjutkan uji statistik *Paired T-Test*. Uji ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perubahan atau pemulihan antara kelompok satelit T_{90} dan T_{118} . Hasil analisis pada hewan uji jantan dan betina nilai probabilitas $\geq 0,025$ yang artinya tidak ada perbedaan secara nyata. Hasil uji kadar HDL pada T_0 , T_{90} , T_{118} antara kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol negatif tidak beda makna, data kadar HDL masih masuk dalam range normal antara > 35 mg/dL, namun pada grafik kadar HDL kelompok satelit T_{90} dan T_{118} mengalami penurunan, sehingga bisa dikatakan terjadi efek toksik setelah penggunaan ekstrak etanol daun matoa pada dosis 500, 1000 mg/kgBB,

satelit 1000 mg/kgBB dan pada T_{118} mengalami reversibel. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 19.

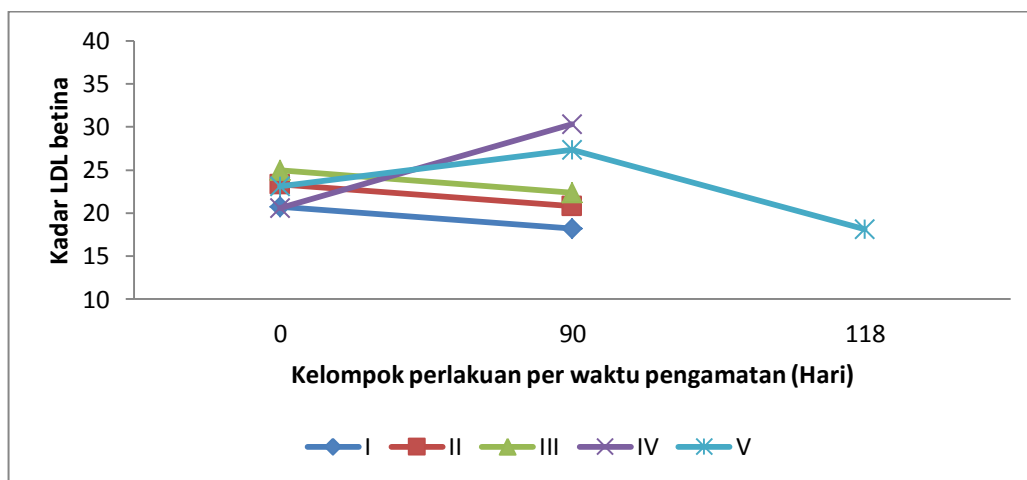
Menurut Asprey *et al.* (2010) bahwa flavonoid menurunkan kadar HDL adalah dengan cara menghambat absorpsi kolesterol yang masuk melalui makanan, menghambat reabsorpsi kolesterol endogen dalam saluran pencernaan, meningkatkan pengeluaran kelebihan kolesterol yang diabsorpsi, dan menyebabkan penurunan kadar kolesterol serum. Penurunan kolesterol tersebut akan diimbangi dengan menurunnya kadar HDL dalam serum darah (Bonsdorff 2005).

5. Hasil pemeriksaan kadar LDL

Pemeriksaan kadar LDL menggunakan metode CHOD-PAP. Menurut Herwiyarirasanta (2010) rentang normal kadar LDL tikus jantan dan betina berkisar antara 7-27,5 mg/dL. Pengukuran kadar LDL pada hewan uji jantan dan betina dilakukan pada T_0 pada saat hewan belum diberikan perlakuan apapun sehingga hewan uji masih dalam keadaan normal dan sebelumnya sudah dipuasakan terlebih dahulu, dan pada T_{90} dilakukan pengukuran kadar LDL untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun matoa pada hewan uji, dan T_{118} untuk mengetahui adanya efek reversibel setelah penghentian sediaan uji diberikan.



Gambar 12. Grafik kadar LDL Jantan



Gambar 13. Grafik kadar LDL Betina

Keterangan:

I : Kontrol negatif

II : Dosis 150 mg/kgBB

III : Dosis 500 mg/kgBB

IV : Dosis 1000 mg/kgBB

V : Dosis satelit 1000mg/kgBB

T0 : Hari ke-0 (sebelum diberi perlakuan)

T90 : Hari ke-90 (sesudah diberi perlakuan ekstrak)

T118: Hari ke-118 (reversibilitas sesudah diberi perlakuan ekstrak)

Gambar 12 dan 13 histogram diatas menunjukkan kadar rata-rata kadar LDL tikus jantan dan tikus betina yang di ukur pada 3 periode waktu pada berbagai kelompok perlakuan hewan uji. Histogram pada T₀ belum mengalami perubahan kadar LDL, T₉₀ rata-rata kadar LDL mengalami peningkatan pada tikus jantan dan betina. Namun, pada T₁₁₈ kadar LDL mengalami penurunan sedikit.

Tabel 12. Rata-rata kadar LDL

Perlakuan	Rata-rata kadar LDL(mg/dl)		
	T0	T90	T118
Kelompok Jantan			
I	23,30±3,32	22,42±5,22	
II	25,10±4,06	36,62±18,54	
III	21,90±5,04	38,00±27,21	
IV	18,90±5,56	56,00±22,72*	
V	20,00±5,37	65,00±18,88*	19,25±3,30
Kelompok Betina			
I	20,70±4,92	18,16±5,81	
II	23,30±3,23	20,83±3,31	
III	25,00±2,35	22,37±3,62	
IV	20,60±3,50	30,28±5,99	
V	23,10±2,88	27,37±5,47	18,12±4,67

Keterangan:

I : Kontrol negatif

II : Dosis 150 mg/kgBB

III : Dosis 500 mg/kgBB

IV : Dosis 1000 mg/kgBB

V : Dosis satelit 1000 mg/kgBB

* : Beda signifikan terhadap kontrol negatif

Analisis LDL T₀ pada hewan uji jantan dan betina diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai signifikan ($p > 0,05$) terdistribusi normal, dilanjut uji *Levene-Test* untuk mengetahui kehomogenitasannya diperoleh nilai sign ($p > 0,05$) pada tikus jantan dan betina. Data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan analisis *One Way Anova* pada tikus jantan dan betina nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Analisis LDL pada T₉₀ tikus jantan dan betina dilakukan menggunakan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai signifikan ($p > 0,05$) terdistribusi normal, untuk mengetahui kehomogenitasan dilakukan uji *Levene-Test* diperoleh nilai sign ($p > 0,05$) pada tikus jantan dan betina. Data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* pada tikus jantan nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Untuk melihat perbedaan antar kelompok dilakukan uji *Post Hoc Tukey*. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis 1000mg/kgBB, dan kelompok satelit dosis 1000 mg/kgBB. Hal ini berarti ekstrak etanol daun matoa dapat menyebabkan perubahan kadar LDL pada hewan uji jantan pada T₉₀. Pada betina uji statistik *One Way Anova* diperoleh nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan.

Pemeriksaan pada T₁₁₈ untuk kelompok satelit pada hewan uji jantan dan betina dianalisis menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai signifikan ($p > 0,05$) terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji statistik *Paired T-Test* pada tikus jantan dan betina, uji ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah ada perubahan atau reversibilitas antara kelompok satelit T₉₀ dengan kelompok satelit T₁₁₈. Hasil analisis yang didapat pada hewan uji jantan dan

betina dengan nilai probabilitas $\leq 0,025$ yang artinya ada perbedaan yang bermakna antara kelompok satelit T₉₀ terhadap kelompok satelit T₁₁₈. Untuk mengetahui efek reversibilitas sampai titik normal perlu dilakukan analisis statistik antara kelompok satelit T₀ dengan kelompok satelit T₁₁₈. Hasil analisis pada hewan uji jantan dan betina nilai probabilitas $\geq 0,025$ artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok satelit T₀ terhadap kelompok satelit T₁₁₈. Sehingga, pada T₁₁₈ kadar LDL pada hewan uji jantan dan betina mengalami reversibilitas. Hasil uji kadar LDL pada T₀, T₉₀, T₁₁₈ antara kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol negatif tidak beda makna. Namun, pada tikus jantan dengan dosis 1000 mg/kgBB dan dosis satelit 1000 mg/kgBB berpengaruh terhadap gejala toksik yang meningkatkan kadar LDL, tetapi hal ini tidak terjadi pada tikus betina, dan data kadar LDL masih masuk dalam range normal antara 7-27,2 mg/dL. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 19.

Menurut penelitian Messina (2005) bahwa saponin akan berikatan dengan asam empedu dan meningkatkan asam empedu di dalam feses. Hal ini menyebabkan konversi kolesterol menjadi asam empedu sangat meningkat untuk upaya mempertahankan depot asam empedu. Konsekuensinya LDL dari hati akan dinaikkan sehingga terjadi peningkatan LDL yang akan disertai dengan penurunan kadar kolesterol plasma.

Senyawa metabolit flavonoid terbukti dapat menghambat sekresi apoB dan membantu meningkatkan ekspresi reseptor LDL di jaringan serta terjadi peningkatan penyerapan kolesterol dalam LDL, dan kolesterol dalam darah menurun. Kemampuan LDL berkorelasi negatif dengan LDL kolesterol, ketika LDL lebih banyak maka LDL kolesterol sedikit. Bertambahnya jumlah reseptor LDL menyebabkan peningkatan penyerapan kolesterol LDL dari darah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun matoa dosis 150, 500 dan 1000 mg/kgBB dengan pengamatan kadar kolesterol, trigliserida tidak memberikan efek toksik pada tikus putih jantan dan betina. Dosis 500 dan 1000 mg/kgBB pada pengamatan kadar HDL memberikan efek toksik pada tikus putih jantan dan betina. Kadar LDL pada tikus betina dosis 150, 500 dan 1000 mg/kgBB tidak memberikan efek toksik, sedangkan kadar LDL dosis 1000, dan

dosis satelit 1000 mg/kgBB pada tikus putih jantan memberikan efek toksik. Pemeriksaan kadar HDL seharusnya tinggi karena akan mengangkut kolesterol dari perifer untuk dilakukan metabolisme pada hati dan akan menghambat oksidasi dari LDL. Kadar kolesterol LDL yang tinggi dan kadar kolesterol HDL yang rendah dalam darah menyebabkan penumpukan kolesterol dalam dinding pembuluh darah yang mengakibatkan terbentuknya lesi aterosklerosis. Meningkatnya kadar LDL, akan berdampak pada peningkatan metabolisme lipid dan kadar sel inflamatori seperti monosit dalam darah. Kadar monosit yang meningkat dalam darah dapat menghasilkan radikal bebas yang mempengaruhi peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL, hal ini disebabkan adanya radikal bebas yang mengikat lipoprotein baik itu LDL maupun HDL.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, uji toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dengan pengamatan kadar kolesterol total pada tikus putih galur wistar jantan dan betina tidak memberikan efek toksik.

Kedua, uji toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dengan pengamatan kadar trigliserida pada tikus putih galur wistar jantan dan betina tidak memberikan efek toksik.

Ketiga, uji toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 500, 1000 mg/kgBB dengan pengamatan kadar HDL pada tikus putih galur wistar jantan dan betina memberikan efek toksik (menurunkan kadar HDL).

Keempat, uji toksisitas subkronis pemberian ekstrak etanol daun matoa selama 90 hari dosis 150, 500, 1000 mg/kgBB dengan pengamatan kadar LDL pada tikus betina tidak memberikan efek toksik. Sedangkan, dosis 1000 dan dosis satelit 1000 mg/kgBB pada tikus putih jantan memberikan efek toksik.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut terhadap uji toksisitas kronis ekstrak etanol daun matoa terhadap tikus putih.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang menyebabkan efek toksisitas pada ekstrak etanol daun matoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam JM, Soegondo S, Soemardji G, Ardiansyah H. 2004. *Petunjuk Praktis Penatalaksanaan Dislipidemia*. Jakarta: PB PERKENI.
- Aprianti D. 2013. Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Terhadap Kadar Kolesterol Total Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*). [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Universitas Setia Budi Surakarta.
- Asprey, G.F., and Thornton, P., 2010, Medical Plants of Jamaica Part 1-11, West Indian Journal, (2), 1-86.
- Balitbang Kemenkes RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Ballitro. 2008. Teknologi Penyediaan Simplisia Terstandar Tanaman Obat. <http://ballitro.litbang.deptan.go.id/index.php> [6 juni 2017].
- Bonsdorffand Nikander, A.V., 2005, Studies on a Cholesterol-Lowering Microcrystalline Phytosterol Suspension Oil, Dissertation, Division of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Helsinki.
- [BPOMRI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Nomor 7 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis seata In Vivo*. BPOMRI. Hlm 3-5,28-38.
- Dalimarta, S. 2006. *36 Resep Tumbuhan Obat Untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Dalimarta, S. 2008. *36 Resep Tumbuhan Obat Untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Dalimartha. 2005. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 3. Puspa Swara, Jakarta.
- Dalimarta NS. 2006. *36 Resep Tumbuhan Untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 4, 54-48.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. Cara Membuat Simplisia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan RI. 1986. Sediaan Galenik. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta:Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. Pedoman Teknis Penemuan dan Tatalaksana Penyakit Hipertensi. Jakarta:Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewoto HR. 2007. Pengembangan obat tradisional indonesia menjadi biofarmaka. *Maj Kedokt Indon.* 57(7):205-211.
- Diasys. Diagnostic System GmBh. 2009. *HDL Praecipitant*. Germany.
- Diasys. Diagnostic System GmBh. 2009. *LDL Praecipitant*. Germany.
- Ganong WF. 1992. *Fisiologi Kedokteran Edisi 14*. Jakarta: EGC
- Graha KC. 2010. 100 Question & Answers Kolesterol. PT Elex Komutindo. Kelompok Gramedia. Jakarta.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi IV. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia.
- Harini, M. Okid. 2009. Blood Cholesterol Level of Hypercholesterolemia Rat (*Rattus norvegicus*) After VCO Treatment. *Journal Bioscience* Vol 1 No 2: 53-58
- Harmita, Maksum. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi 2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Hartoyo, A., N Dahrulnya, Sripalupi dan P. Nugroho. 2008. Pengaruh Fraksi Karbohidrat Kacang Komak (*Lablab Purpureus* (L) Sweet). *Jurnal teknologi dan industri pangan*, 19: 25-31.
- Hengky LW. 2011. Karakterisasi Morfologi Dan Isozim Matoa (*Pometia Pinnata* Forst.) [thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Herwiyarirasanta., BA, Eduardus. 2010. Effect of Black Soybean Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (*Rattus norvegicus*) With High Fat Diet. *Science Article Universitas Airlangga*. Surabaya.
- Hutapea JR. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal: 227.

- [KKRI] Kementerian RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Krinke GJ. 2000. *The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat*. New York: Academy Press.
- Kusuma TM. 2008. Potensi Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium Lappaeum L.*) Sebagai Penurun Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Jantan Yng Diinduksi Aloxxan [Skripsi]. Yogyakarta : Fakultas Mtematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.
- Larbie C, Arthur, Woode E and Terlabi EO. Evaluation of Acute and Subchronic Toxicity of *Annona Muricata* (Linn) Aqueous Extract in Animal. *European Journal of Experimental Biology*. 2011;1(4):115-24.
- Madja. 2007. Lemak Dalam Tubuh. <http://madja.wordpress.com/2007/12/20/>
- Marks, A.D., Smith, Collen M. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta: ECG
- Mayes PA. 2003b. *Metabolisme Asilgliseroldan Sfingolipid*. In: Murray RK, Granner DK, Mates PA, Rodwell VW. (eds). *Biokimia Harper*. Edisi 25. Jakarta: EGC, pp: 245.
- Mohammad FV, Noorwala M, Ahmad VU, Zahoor A, Lajis NH. 2012. A new monodesmosidi triterpenoid saponin from the leaves of *Pometia pinnata*. *Pubmed* 7(11): 1423-6.
- Munaf S. 2008. Obat-obat penurunan lipid darah. Di dalam: Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. *Kumpulan Kuliah Farmakologi*. Ed ke-2. Jakarta: EGC. Hlm 404-412, 418.
- Murray, R. K., Granner, & Rodwell. 2003. *Biokimia Harper*. Terjemaham oleh Andry Hartono. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Mutiatikum D, Alegantina S, Astuti Y. 2010. *Standarisasi Simplisia Dari Buah Miana yang Berasal Dari 3 Tempat Tumbuh*. Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Vol 18:1-16.
- Natural Products Isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. hal.31.
- Ngajow M, Jemmy A. dan Vanda SK. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPAUNSRAT Online*. 2:128-132.

- Permatasari N. 2012. *Instruksi Kerja Pengambilan Darah, Perlakuan, dan Injeksi Pada Hewan coba*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Purwidyaningrum, I. (2016): Antihypertensive Activity Of Extract and Fractions of Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G Forts) Leaves, Doctoral Dissertation, Institut Teknologi Bandung.
- Purwidyaningrum, I. (2016): Diuretic Activity of Different Organs of Matoa (*Pometia pinnata*) Extracts and its Influence on Potassium and Sodium Levels, Doctoral Dissertation, Institut Teknologi Bandung.
- Purwidyaningrum, I. (2017): Uji Toksisitas Akut Daun Matoa (*Pometia pinnata*), Disertasi Program Doktor, Institut Teknologi Bandung.
- Putri AS. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G Forts) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Jantan Hiperlipidemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Rahardja K, Tan HT. 2007. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*. Ed ke 6. Jakarta : PT. ELEK Media Komputindo. Hlm. 569-583.
- Raharjo SM. 2014. Aktivitas fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun kacang tanah terhadap penurunan kadar kolesterol total serum darah tikus putih jantan galur wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Rahimah, Sayekti E, Jayuska A. 2013. *Karakterisasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolat Dari Fraksi Etil Asetat Daun Matoa (Pometia pinnata J. R. Forst & G. Forst)*. Jurnal Kimia Khatulistiwa. 2(2): 84-89.
- Rizki TW. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Putih jantan (*Mus musculus*) Yang Diberi Beban Glukosa.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah, Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plant*. Hlm: 191-198.
- Roeschisu P, Bent E. 1979. *Biocheum, Jellin, ChemClin*. London
- Rumayomi, N.A.A. 2003. Keragaman Matoa Buah (*Pometia pinnata* Forster) di Jayapura [Diversity of Matoa Fruit (*Pometia pinnata* Forster) in Jayapura. Undergraduate thesis, Manokwari, Universitas Negeri Papua.
- Sarker SD, Latif Z, & Gray AI. 2006. *Nat-ural products asolation Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. Hal 6-10,18.

- Sangat HM. 2000. *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitomedika)*. Jakarta: Yayasan Obat Indonesia.
- Seidel V., 2006. Initial and bulk extraction. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors.
- Senthilmurugan G, Vasanth B, Suresh K. 2013. Screening and Antibacterial Activity Analysis of some Important Medicinal Plants. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 2 (2):146-152.
- Suede A et al. 2003. Anti-HIV-1 integrase compound from *Pometia pinnata* leaves. *Pubmed* 51 (10): 1256-61.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Farmakologi Adisi IV*. Yogyakarta. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Setyowati W, Sri RDA, Ashadi, Bakti Mulyadi, Cici PR. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan VI. ISBN : 9779373174-0 : 271-280.
- Sirosis, M., 2005. *Laboratory animal medicine: Principles and procedures*. Elsevier Mosby, Philadelphia, USA. Pp 167,172.
- Sudrajat J. 2008. Profil Lemak, Kolesterol Darah, Dan Respon Fisiologi Tikus Wistar Yang Diberi Ransum Mengandung Gulai Daging Sapi Lean [skripsi]. IPB. Bogor.
- Suharti S, Banowati A, Herman W, Wiryawan KG. 2008. Komposisi dan Kandungan Kolesterol karlas ayam broiler diare yang diberi tepung daun salam (*Sizygium polyanthum* Weight) dalam ransum. *Media Peternakan* 3(2): 138-145.
- Sukandar E.Y., Andrajati R., Sigit. J. I., Andyana I. K., Setiadi A. A. P., Kusnandar. 2009. *Iso Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI.
- Suyatna FD. 2011. Hipoglikemik. Di dalam: *Farmakologi dan Terapi*. Gunawan SG, Setiabudi R, Nafrialdi, editor, Ed ke-5 (cetak ulang dengan tambahan). Jakarta: FKUI. Hlm. 373-384.
- Tan HT, Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Ed ke-5. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tan HT, Rahardja K. 2007. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Ed ke-6. Jakarta: PT. ELEX Media Komputindo. Hlm. 569-583.

- Thomson LAJ. 2006. Randolph RT. *Pometia pinnata* (tava). Species profiles for Pacific island argoforesy. Permanent Agriculture Resources ; p. 11.
- Tian, Wei-xi; Ma, Xiau-feng; Zhang, Shu-yan; Sun, Ying-hui; and Li, Bing-hui. 2011. Fatty Acid Synthese Inhibitor from Plants and Their Potential application in the Prevention of Metabolic Syndrome. *Clin Oncol Cancer Res* 8: 1-9.
- Variany G. 1999. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Pometia pinnata J.R. & G. Forst.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Vitahealth Tim., 2006. *Hipertensi.*Gramedia, Jakarta.
- Vogel HG. 2002. *Drug Discovery and Evaluation.* New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi.* Edisi 5, Universitas Gadjah Mada. 559-564, 570-572.
- Wahjoedi, Bambang, Sa'roni, dan Widowati, Lucie. 2004. *Kajian Potensi Tanaman Obat. Pusat Penelitian Pengembangan Farmasi dan Obat Tradisional.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta:2.
- Wahyuningsih HK. 2010. pengaruh pemberian ekstrak herba meniran (*Phyllanthus Niruri* L.) terhadap penurunan kadar asam urat darah tikus putih jantan hiperurisemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Wardana SW. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. forst) Terhadap Kadar Trigliserida Tikus Putih Jantan Hiperlipidemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- WHO.2000. *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine.* WHO/EDM/TRM/2000.1. Geneva. Hal. V.
- Widayanti. R. T. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Putih Jantan (*Mus Musculus*) Yang Diberi Beban Glukosa [KTI]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Widiyastuti. 2015. *Farmakope Herbal Indonesia.* Edisi I. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Widiastuti E. 2003. Perbedaan Kadar LDL-Kolesterol Metoda Direk dengan Formula Friedewald (Pada Penderita Diabetes Mllitus) [Karya Ilmiah Akhir]. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

L

A

M

P

9

R

A

N

Lampiran 1. Surat determinasi



UPT- LABORATORIUM

No : 207/DET/UPT-LAB/19/III/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :
Nama : Putri Rosita K
NIM : 20144202 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi







Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G.Frost.)**
Hasil determinasi berdasarkan : **Backer : Flora of Java**
1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24a – 25b
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33b – 35a – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b
– 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a
– 78b – 103b – 104a – 106a – 107a – 108b – 109a – 110b – 115a – 116b – 117b – 118c.
Familia 137. Sapindaceae. 1b – 2b – 4a – 5a – 6b. 16. Pometia. 1a. ***Pometia pinnata* J.R. & G.Frost.**

Deskripsi :
Habitus : Pohon, tinggi dapat mencapai 50 m.
Akar : Sistem akar tunggang.
Batang : Tegak, berkayu, silindris, percabangan monopodial, permukaan kasar, warna coklat, arah cabang miring hingga datar.
Daun : **Majemuk menyirip genap, tersusun berseling, anak daun sama sisi, 4 – 12 pasang anak daun, waktu muda berwarna merah kecoklatan, setelah tua hijau, pangkal tumpul, ujung meruncing, tepi rata, bentuk jorong, panjang 31 – 40 cm, lebar 7 – 14 cm, ujung meruncing, pangkal tumpul, tepi rata, permukaan atas dan bawah melekuk pada daerah pertulangan daun, permukaan atas mengkilat, helaian daun tebal dan kaku.**
Bunga : Majemuk, malai, mahkota bunga hijau kecoklatan, kalyx 5 lobi, petala 5, putih, stamen 5, ovulum 1.
Buah : Bundar sampai lonjong, panjang 1,5 – 4 cm, diameter 1 – 2,8 cm, kulit buah licin, waktu muda berwarna kuning kehijauan, setelah matang coklat kemerahan, daging buah putih kekuningan.
Biji : Bulat, coklat muda.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Solo, 19 Maret 2018
Tim Determinasi

Dr. Arunah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk

	
Pohon daun matoa	Pengumpulan daun matoa
	
Daun matoa	Pengeringan daun matoa
	
Penggilingan serbuk	Ayakan mesh-40



Penyaringan serbuk



Penimbangan serbuk

Lampiran 3. Perhitungan rendemen berat basah terhadap berat kering daun matoa

Diketahui :

- Berat basah daun matoa = 40 kg
- Berat kering daun matoa = 18 kg

Perhitungan % rendemen

$$\begin{aligned}\% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\% \\ &= \frac{18}{40} \times 100 \% \\ \% \text{ rendemen} &= 45 \%\end{aligned}$$

Lampiran 4. Perhitungan penetapan kadar air

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20 gram	0,9	4,5
2	20 gram	0,8	4
3	20 gram	0,9	4,5
Rata-rata ± SD			4,33 ± 0,29

Replikasi 1

$$\% \text{ Kadar} = \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,9}{20} \times 100\%$$

$$= 4,5 \%$$

Replikasi 2

$$\% \text{ Kadar} = \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,8}{20} \times 100\%$$

$$= 4 \%$$

Replikasi 3

$$\% \text{ Kadar} = \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,9}{20} \times 100\%$$

$$= 4,5 \%$$

$$\text{Rata-rata kadar air serbuk herba ciplukan} = \frac{4,5 \% + 4 \% + 4,5 \%}{3}$$

$$= 4,33 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan rendemen ekstrak


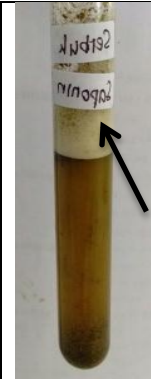


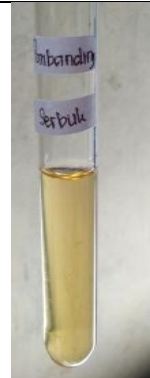


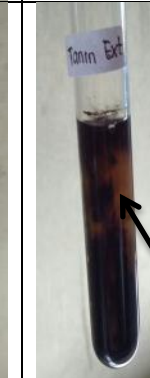
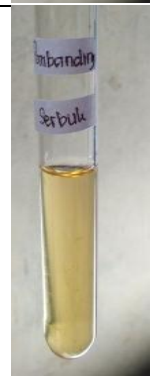



Perhitungan berat ekstrak

$$\begin{array}{rcl} \text{Berat wadah + ekstrak} & = & 100 \text{ gr} \\ \text{Berat wadah kosong} & = & 320 \text{ gr} \end{array}$$






Perhitungan % rendemen ekstrak

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{320 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 32 \% \end{aligned}$$

Lampiran 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun matoa

Serbuk dan Ekstrak Daun Matoa				
				<p style="text-align: center;">Saponin (Terdapat buih)</p> <p>Buih setinggi 1 sampai 10 cm. Dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Depkes RI 1977).</p>
				<p style="text-align: center;">Tanin (Hijau kehitaman)</p> <p>Menunjukkan warna hijau violet atau hijau kehitaman (Harborne 1987).</p>
				<p style="text-align: center;">Flavonoid (Jingga/merah)</p> <p>Menunjukkan warna merah/kuning/ jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes RI 1979).</p>

Lampiran 7. Proses pembuatan ekstrak

	
Proses Evaporasi	Penyaringan ekstrak
	
Oven ekstrak	Ekstrak kental daun matoa
	
Sediaan uji	

Lampiran 8. Surat keterangan hewan uji

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
 √ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Putri Rosita Kusumaningrum

Nim : 20144202 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 100 ekor

Jenis kelamin : Jantan 50 ekor dan Betina 50 ekor

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 2 Mei 2018

Hormat kami




Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 9. Surat izin etik kehewanan

4/19/2018 Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi

School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret



ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 1.068 / XII / HREC / 2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKTRAK ETANOL DAUN MATOA (Pometia pinnata J.R. & G. Forst) DENGAN PARAMETER KADAR KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL DAN HDL PADA TIKUS GALUR WISTAR


Principal investigator : Putri Rosita Kusumaningrum
 Peneliti Utama : 20144202A

Location of research : Laboratorium Universitas Setia Budi
 Lokasi Tempat Penelitian


Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 19 Apr 2018

Chairman
 Ketua



Dr. Han Wideso, Dr. Sp.F, MM
 NIP. 19621022 199503 1 001



Lampiran 10. Hewan uji yang digunakan**Tikus Putih galur wistar****Pemberian sediaan uji**

Lampiran 11. Perhitungan penyesuaian dosis dan volume pemberian pada uji toksisitas subkronik

1. **Kontrol negatif.** Pembuatan larutan suspensi CMC Na 0,5 % adalah dengan 500 mg CMC Na ditambahkan aquades sampai batas 100 ml. Volume yang diberikan adalah 1 ml karena kurang dari volume pemberian maksimal yaitu 2 ml/100 gram berat badan tikus atau kurang lebih 4 ml/200gram berat badan tikus.

2. **Dosis rendah 150 mg/kgbb.** Dosis rendah untuk tikus sebesar 150 mg/kgbb tikus atau 0,15 mg/gr BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 0,15 mg/gr x 200 g = 30 mg/200 grbb tikus

Larutan stok 1%

$$\text{Larutan stok} = \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 10 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang oralkan} = \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$$

3. **Dosis sedang 500 mg/kgbb.** Dosis sedang untuk tikus sebesar 500 mg/kgbb tikus atau 0,5 mg/gr BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 0,5 mg/gr x 200 g = 100 mg/200 grbb tikus

Larutan stok 3%

$$\text{Larutan stock} = \frac{3000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 30 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{100 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3,3 \text{ ml}$$

4. **Dosis tinggi 1000 mg/kgbb.** Dosis tinggi untuk tikus sebesar 1000 mg/kgbb tikus atau 1 mg/gr BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 1 mg/gr x 200 g = 200 mg/200 grbb tikus

Larutan stok 5 %

$$\text{Larutan stock} = \frac{5000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 50 \text{ mg/ml}$$

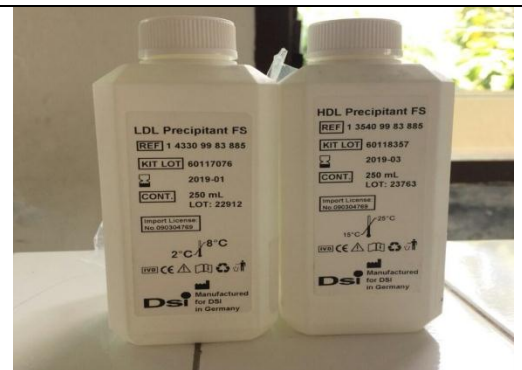
$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{200 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 4 \text{ ml}$$

Lampiran 12. Pengambilan darah, proses sentrifugasi, dan reagen pemeriksaan kadar Kolesterol total, Triglicerida, HDL, dan LDL





Reagen trigliserida



Reagen HDL dan LDL

Lampiran 13.Data berat badan tikus

Jenis Hewan	Kelompok Perlakuan	Rata-rata Berat Badan (gram) ± SD																	
		Minggu ke-																	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Jantan	Kelompok Kontrol Negatif	178,2	180	181,10	180,40	179,80	180,11	181,00	180,00	180,57	180,67	181,67	182,00	183,00					
		±5,35	±4,08	±4,31	±4,77	±5,88	±5,30	±5,12	±5,80	±5,61	±7,17	±7,20	±7,50	±7,50					
	Kelompok 150 mg/KgBB	177,8	178,30	179,00	179,30	179,67	180,11	179,89	179,44	179,00	179,56	180,67	181,44	182,00					
		±6,17	±6,63	±5,33	±5,79	±5,31	±5,53	±6,25	±6,90	±7,78	±7,92	±7,34	±7,10	±7,60					
	Kelompok 500 mg/KgBB	178,1	179,10	178,80	179,40	180,90	179,90	179,90	180,33	180,88	181,14	181,85	182,71	183,71					
		±5,51	±5,22	±5,51	±5,48	±6,24	±6,23	±6,26	±8,30	±7,72	±8,05	±7,51	±8,00	±8,00					
	Kelompok 1000 mg/KgBB	178,8	179,50	180,20	180,80	180,56	180,50	181,25	181,62	182,13	182,71	183,00	183,14	183,40					
	±5,37	±5,48	±5,77	±6,29	±6,67	±7,21	±6,73	±7,00	±6,66	±7,11	±7,26	±7,40	±8,30						
	Kelompok Satelit	178,6	178,90	179,40	180,10	180,60	181,10	181,70	181,20	180,88	181,14	182,80	183,40	185,00	185,75	186,50	187,00	187,75	
		±5,95	±6,15	±6,02	±5,90	±6,45	±6,28	±6,07	±6,80	±6,90	±7,95	±6,53	±6,70	±7,40	±7,27	±6,95	±6,68	±6,94	
Betina	Kelompok Kontrol Negatif	178,5	179,40	180,20	180,90	181,90	182,30	183	182,50	181,80	182,10	182,60	183,10	184,00					
		±6,04	±5,91	±5,63	±5,30	±5,78	±5,50	±5,59	±6,00	±5,70	±6,20	±6,80	±7,20	±8,30					
	Kelompok 150 mg/KgBB	179,7	180,20	180,70	181,60	181,80	182,00	182,3	181,67	181,00	181,80	183,00	183,80	184,50					
		±7,08	±7,04	±6,57	±6,83	±7,15	±6,82	±6,53	±7,40	±7,30	±7,60	±7,90	±9,60	±9,90					
	Kelompok 500 mg/KgBB	180,3	181,00	181,90	182,50	182,22	182,78	181,8	182,00	182,10	182,40	182,80	183,60	184,30					
		±5,91	±6,18	±5,78	±5,50	±5,93	±6,38	±6,85	±7,20	±7,20	±7,90	±8,40	±9,20	±10,00					
	Kelompok 1000 mg/KgBB	179,4	180,20	180,90	181,70	182,20	182,80	182,00	182,50	181,20	182,4	183,10	183,30	184,60					
	±5,77	±5,75	±5,88	±5,66	±6,21	±6,53	±6,67	±7,40	±8,50	±9,10	±9,30	±10,10	±11,10						
	Kelompok Satelit	179,7	180,10	180,60	181,20	180,40	180,89	180,44	180,11	178,60	179,50	180,10	180,90	181,80	185,37	187,62	189,37	192,12	
		±6,58	±6,26	±6,62	±6,66	±6,19	±6,68	±6,65	±6,20	±6,00	±5,90	±7,00	±6,70	±7,00	±6,50	±6,45	±6,82	±6,89	

Lampiran 14. Data kematian tikus**Hewan uji jantan**

No	Tanggal	Minggu	Dosis
1	25/01/18	3	150 mg/kgbb
2	29/01/18	4	1000 mg/kgbb
3	5/02/18	5	1000 mg/kgbb
4	9/02/18	5	1000 mg/kgbb
5	9/02/18	5	Kontrol negatif
6	18/02/18	7	500 mg/kgbb
7	22/02/18	7	Kontrol negatif
8	26/02/18	8	Kontrol negatif
9	26/02/18	8	1000 mg/kgbb
10	27/02/18	8	Kelompok satelit
11	1/03/18	8	500 mg/kgbb
12	3/03/18	8	Kelompok satelit
13	3/03/18	8	Kelompok satelit
14	5/03/18	8	Kelompok satelit
15	8/03/18	9	Kontrol negatif
16	9/03/18	9	500 mg/kgbb
17	13/03/18	10	Kelompok satelit
18	25/03/18	12	1000 mg/kgbb
19	27/03/18	12	150 mg/kgbb
20	27/03/18	12	Kelompok satelit

Hewan uji betina

No	Tanggal	Minggu	Dosis
1	15/01/18	2	500 mg/kgbb
2	5/02/18	5	Kelompok satelit
3	15/02/18	6	Kelompok satelit
4	18/02/18	7	1000 mg/kgbb
5	24/02/18	7	150 mg/kgbb
6	3/03/18	8	1000 mg/kgbb
7	5/03/18	9	500 mg/kgbb
8	5/03/18	9	150 mg/kgbb
9	17/03/18	10	150 mg/kgbb
10	21/03/18	11	150 mg/kgbb
11	21/03/18	11	Kontrol negatif
12	23/03/18	11	Kontrol negatif
13	29/03/18	12	1000 mg/kgbb

Lampiran 15. Hasil pengukuran Kadar Kolesterol Total

Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Kontrol -	1	80	79	92	0
	2	48	68	125	0
	3	95	79	47	106
	4	75	0	101	94
	5	118	64	43	76
	6	98	125	47	72
	7	79	0	89	86
	8	49	59	78	62
	9	36	0	97	74
	10	83	0	61	98
Rata-rata ± SD		76,1±25,38	79,0±23,92	78,0±27,59	83,5±14,99
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 150	1	16	49	59	0
	2	45	68	86	0
	3	69	0	75	85
	4	75	0	89	84
	5	121	98	104	121
	6	65	89	17	62
	7	56	129	102	0
	8	47	67	65	59
	9	96	51	39	45
	10	99	48	53	0
Rata-rata ± SD		68,9±30,60	74,87±28,62	68,9±27,91	76,0±26,89
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 500	1	65	0	83	74
	2	16	69	95	45
	3	72	132	92	68
	4	102	0	41	138
	5	84	89	105	109
	6	57	63	65	76
	7	132	68	47	61
	8	96	74	79	0
	9	53	101	72	57
	10	47	0	62	0
Rata-rata ± SD		72,4±32,70	85,14±24,60	74,1±20,76	78,5±30,46

Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 1000	1	91	68	75	128
	2	85	104	98	89
	3	38	0	11	91
	4	47	0	82	0
	5	110	121	48	0
	6	136	0	130	63
	7	56	97	62	97
	8	102	0	97	0
	9	46	0	98	84
	10	52	92	71	99
Rata-rata ± SD		76,3±33,16	96,4±19,29	77,2±32,62	93,0±19,48
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis Satelit	1	101	0	48	0
	2	83	102	102	93
	3	45	0	96	83
	4	67	96	78	76
	5	52	0	45	82
	6	44	0	103	0
	7	59	130	79	74
	8	63	62	66	95
	9	137	0	51	118
	10	58	0	82	92
Rata-rata ± SD		70,9±28,98	97,5±27,92	75±21,89	89,12±14,04

Lampiran 16. Hasil pengukuran Kadar Triglicerida

Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Kontrol -	1	52	89	83	0
	2	92	74	95	0
	3	74	86	54	64
	4	89	0	84	0
	5	117	85	46	71
	6	72	38	42	91
	7	87	0	72	61
	8	92	81	56	88
	9	30	0	26	75
	10	67	0	70	76
Rata-rata ± SD		77,20±24,17	75,50±19,08	62,80±21,66	75,14±11,24
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 150	1	37	139	100	0
	2	55	108	83	0
	3	55	0	59	65
	4	59	0	48	101
	5	27	81	45	81
	6	144	54	79	109
	7	94	113	56	0
	8	84	51	32	66
	9	72	70	35	55
	10	76	66	63	0
Rata-rata ± SD		70,30±32,99	85,25±31,50	60,00±21,84	79,50±21,57
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 500	1	108	0	76	121
	2	60	92	60	85
	3	40	94	39	96
	4	63	0	65	96
	5	29	58	78	95
	6	28	0	79	91
	7	145	103	63	0
	8	135	99	59	66
	9	74	52	88	77
	10	68	113	56	89
Rata-rata ± SD		75,00±41,57	87,28±23,14	66,30±14,22	90,66±15,10

Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 1000	1	15	79	10	121
	2	43	85	76	85
	3	100	0	62	84
	4	92	0	68	0
	5	68	128	110	0
	6	61	0	83	98
	7	67	113	67	103
	8	118	0	46	0
	9	63	0	46	72
	10	96	87	56	121
Rata-rata ± SD		72,30±30,19	98,40±21,06	62,40±26,35	97,71±18,81
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis satelit	1	17	0	48	0
	2	66	0	49	104
	3	29	107	59	92
	4	109	0	53	97
	5	129	0	73	89
	6	102	0	85	0
	7	114	119	28	98
	8	54	88	62	126
	9	74	0	69	96
	10	55	97	73	87
Rata-rata ± SD		74,90±37,60	102,75±13,32	59,90±16,28	98,62±12,30

Lampiran 17. Hasil pengukuran Kadar HDL

Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Kontrol -	1	57	87	59	0
	2	145	96	69	0
	3	45	114	79	86
	4	78	0	68	0
	5	61	86	42	72
	6	49	48	64	43
	7	78	0	91	42
	8	58	74	83	84
	9	79	0	63	71
	10	52	0	71	52
Rata-rata ± SD		70,20±29,09	81,50±22,14	68,90±13,64	64,28±18,55
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 150	1	42	113	91	0
	2	123	84	63	0
	3	55	0	82	62
	4	90	0	77	43
	5	84	64	72	64
	6	35	71	92	98
	7	62	123	51	0
	8	84	122	31	73
	9	81	48	35	65
	10	72	33	44	0
Rata-rata ± SD		72,80±25,70	82,25±34,32	63,80±22,53	67,50±30,08
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 500	1	42	0	68	79
	2	97	74	93	54
	3	63	82	82	74
	4	76	0	91	58
	5	95	73	63	67
	6	42	0	66	72
	7	102	73	52	0
	8	98	72	63	63
	9	64	85	42	42
	10	59	42	61	39
Rata-rata ± SD		73,80±23,16	71,57±13,98	68,10±16,27	60,88±13,95

Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 1000	1	80	30	87	39
	2	76	72	72	93
	3	81	0	32	72
	4	78	0	94	0
	5	82	101	83	0
	6	82	0	49	84
	7	81	52	55	77
	8	58	0	91	0
	9	73	0	64	51
	10	63	89	78	42
Rata-rata ± SD		75,40±29,09	68,80±28,47	70,50±20,23	65,42±21,36
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis satelit	1	100	0	84	0
	2	73	0	63	95
	3	61	131	53	79
	4	47	0	42	10
	5	85	0	88	65
	6	51	0	72	0
	7	79	31	93	31
	8	57	45	43	72
	9	93	0	64	40
	10	84	47	71	89
Rata-rata ± SD		73,00±18,22	63,50±45,55	67,30±17,85	60,12±30,08

Lampiran 18. Hasil pengukuran Kadar LDL

Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Kontrol -	1	17	26	27	0
	2	27	24	16	0
	3	25	22	21	25
	4	19	0	25	0
	5	21	27	19	23
	6	22	20	21	21
	7	26	0	22	11
	8	26	12	10	17
	9	24	26	25	12
	10	25	0	21	0
Rata-rata ± SD		23,30±3,32	22,42±5,22	20,70±4,92	18,16±5,81
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 150	1	14	54	27	0
	2	25	26	19	0
	3	28	0	21	18
	4	28	0	18	24
	5	27	17	25	22
	6	26	32	26	19
	7	26	24	25	0
	8	27	43	23	25
	9	25	72	27	17
	10	25	25	22	0
Rata-rata ± SD		25,10±4,06	36,62±18,54	23,30±3,23	20,83±3,31
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 500	1	18	0	24	19
	2	26	97	23	27
	3	14	23	26	26
	4	27	0	26	22
	5	28	21	24	17
	6	19	0	28	21
	7	27	44	27	0
	8	24	22	25	21
	9	17	27	20	26
	10	19	32	27	0
Rata-rata ± SD		21,90±5,04	38,00±27,21	25,00±2,35	22,37±3,62

Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis 1000	1	15	51	17	32
	2	27	62	27	29
	3	12	0	22	26
	4	15	0	16	0
	5	11	26	26	0
	6	24	0	17	39
	7	21	89	18	23
	8	18	0	21	0
	9	25	0	25	26
	10	21	52	21	37
Rata-rata ± SD		18,90±5,56	56,00±22,72	20,60±3,50	30,28±5,99
Kelompok Perlakuan	Tikus	Jantan		Betina	
		T0	T90	T0	T90
Dosis Satelit	1	26	0	23	0
	2	25	0	25	21
	3	17	66	21	37
	4	27	0	27	29
	5	15	0	18	26
	6	24	0	25	0
	7	17	79	25	22
	8	21	38	24	33
	9	17	0	24	24
	10	11	77	19	27
Rata-rata ± SD		20,00±5,37	65,00±18,88	23,10±2,88	27,37±5,47

Lampiran 19. Hasil uji statistik

BERAT BADAN JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Bb
N		573
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	180.6230
	Std. Deviation	6.31357
Most Extreme Differences	Absolute	.087
	Positive	.087
	Negative	-.077
Kolmogorov-Smirnov Z		2.093
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
bb cmc na	107	285.64
150 mg/kgbb	120	258.53
500 mg/kgbb	115	278.42
1000 mg/kgbb	107	301.62
satelit	124	311.07
Total	573	

Test Statistics^{a, b}

	Bb
Chi-Square	7.336
Df	4
Asymp. Sig.	.119

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompok

BERAT BADAN BETINA**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		bb
N		624
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	181.9343
	Std. Deviation	6.87148
Most Extreme Differences	Absolute	.095
	Positive	.095
	Negative	-.068
Kolmogorov-Smirnov Z		2.362
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank
bb	cmc na	122	308.31
	150mg/kgbb	117	306.00
	500 mg/kgbb	117	319.85
	1000 mg/kgbb	119	313.50
	satelit	149	314.47
	Total	624	

Test Statistics^{a,b}

	bb
Chi-Square	.435
df	4
Asymp. Sig.	.980

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

KOLESTEROL JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kolesterol.jantan
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	72.9200
	Std. Deviation	29.17634
Most Extreme Differences	Absolute	.103
	Positive	.103
	Negative	-.081
Kolmogorov-Smirnov Z		.731
Asymp. Sig. (2-tailed)		.659

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kolesterol.jantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.410	4	45	.800

ANOVA

kolesterol.jantan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	420.480	4	105.120	.115	.977
Within Groups	41291.200	45	917.582		
Total	41711.680	49			

KOLESTEROL JANTAN T90**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		kolesterol.jantan
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	84.7000
	Std. Deviation	25.16449
Most Extreme Differences	Absolute	.167
	Positive	.167
	Negative	-.092
Kolmogorov-Smirnov Z		.915
Asymp. Sig. (2-tailed)		.373

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kolesterol.jantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.390	4	25	.814

ANOVA

kolesterol.jantan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2308.368	4	577.092	.899	.480
Within Groups	16055.932	25	642.237		
Total	18364.300	29			

KOLESTEROL JANTAN SATELIT T90 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	97.50	68.25
	Std. Deviation	27.923	14.930
Most Extreme Differences	Absolute	.229	.400
	Positive	.186	.257
	Negative	-.229	-.400
Kolmogorov-Smirnov Z		.457	.800
Asymp. Sig. (2-tailed)		.985	.544

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T90	97.50	4	27.923	13.961
	T118	68.25	4	14.930	7.465

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T90 & T118	4	-.076	.924

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	T90 - T118	29.250	32.653	16.327	-22.709	81.209	1.792	3	.171

KOLESTEROL BETINA T0**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		kolesterol.betina
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	74.6400
	Std. Deviation	25.61470
Most Extreme Differences	Absolute	.078
	Positive	.078
	Negative	-.072
Kolmogorov-Smirnov Z		.551
Asymp. Sig. (2-tailed)		.922

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kolesterol.betina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.459	4	45	.765

ANOVA

kolesterol.betina

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	512.120	4	128.030	.182	.947
Within Groups	31637.400	45	703.053		
Total	32149.520	49			

KOLESTEROL BETINA T90**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		kolesterol.betina
N		37
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	84.2162
	Std. Deviation	21.57047
Most Extreme Differences	Absolute	.084
	Positive	.084
	Negative	-.049
Kolmogorov-Smirnov Z		.513
Asymp. Sig. (2-tailed)		.955

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kolesterol.betina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.292	4	32	.294

ANOVA

kolesterol.betina

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1403.395	4	350.849	.732	.577
Within Groups	15346.875	32	479.590		
Total	16750.270	36			

KOLESTEROL BETINA SATELIT T90 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	89.13	84.38
	Std. Deviation	14.045	18.392
Most Extreme Differences	Absolute	.213	.155
	Positive	.213	.155
	Negative	-.141	-.130
Kolmogorov-Smirnov Z		.602	.438
Asymp. Sig. (2-tailed)		.862	.991

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 T90	89.13	8	14.045	4.966
T118	84.38	8	18.392	6.503

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 T90 & T118	8	.652	.080

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T90 - T118	4.750	14.089	4.981	-7.029	16.529	.954	7	.372

TRIGLISERIDA JANTAN T0**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		triglisericid
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	73.9400
	Std. Deviation	32.52466
Most Extreme Differences	Absolute	.099
	Positive	.099
	Negative	-.050
Kolmogorov-Smirnov Z		.702
Asymp. Sig. (2-tailed)		.708

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

triglisericid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.928	4	45	.456

ANOVA

triglisericid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	286.120	4	71.530	.062	.993
Within Groups	51548.700	45	1145.527		
Total	51834.820	49			

TRIGLISERIDA JANTAN T90

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		triglisericid
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	88.3000
	Std. Deviation	23.99878
Most Extreme Differences	Absolute	.083
	Positive	.063
	Negative	-.083
Kolmogorov-Smirnov Z		.452
Asymp. Sig. (2-tailed)		.987

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

triglisericid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.637	4	25	.196

ANOVA

triglisericid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2409.921	4	602.480	1.054	.400
Within Groups	14292.379	25	571.695		
Total	16702.300	29			

TRIGLISERIDA JANTAN SATELIT T90 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	102.75	68.75
	Std. Deviation	13.326	15.457
Most Extreme Differences	Absolute	.167	.256
	Positive	.167	.196
	Negative	-.139	-.256
Kolmogorov-Smirnov Z		.334	.513
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	.955

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T90	102.75	4	13.326	6.663
	T118	68.75	4	15.457	7.728

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T90 & T118	4	.459	.541

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	T90 - T118	34.000	15.078	7.539	10.008	57.992	4.510	3	.020

TRIGLISERIDA JANTAN SATELIT T0 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T0	T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	63.00	68.75
	Std. Deviation	36.065	15.457
Most Extreme Differences	Absolute	.338	.256
	Positive	.338	.196
	Negative	-.173	-.256
Kolmogorov-Smirnov Z		.676	.513
Asymp. Sig. (2-tailed)		.751	.955

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T0	63.00	4	36.065	18.032
	T118	68.75	4	15.457	7.728

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T0 & T118	4	-.106	.894

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T0 - T118	-5.750	40.722	20.361	-70.547	59.047	-.282	3	.796

TRIGLISERIDA BETINA T0**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		triglisericid.betina
N		50
Normal Parameters ^{a..b}	Mean	62.2800
	Std. Deviation	19.82067
Most Extreme Differences	Absolute	.056
	Positive	.046
	Negative	-.056
Kolmogorov-Smirnov Z		.394
Asymp. Sig. (2-tailed)		.998

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

triglisericid.betina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.756	4	45	.559

ANOVA

triglisericid.betina

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	273.080	4	68.270	.162	.957
Within Groups	18977.000	45	421.711		
Total	19250.080	49			

TRIGLISERIDA BETINA T90**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		triglicerida
N		37
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	88.97
	Std. Deviation	17.700
Most Extreme Differences	Absolute	.089
	Positive	.089
	Negative	-.073
Kolmogorov-Smirnov Z		.540
Asymp. Sig. (2-tailed)		.932

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

triglicerida

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.295	4	31	.293

ANOVA

triglicerida

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3215.312	5	643.062	2.472	.054
Within Groups	8063.661	31	260.118		
Total	11278.973	36			

TRIGLISERIDA BETINA T90 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	98.63	79.88
	Std. Deviation	12.305	15.551
Most Extreme Differences	Absolute	.270	.128
	Positive	.270	.123
	Negative	-.172	-.128
Kolmogorov-Smirnov Z		.764	.362
Asymp. Sig. (2-tailed)		.603	.999

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 T90	98.63	8	12.305	4.350
T118	79.88	8	15.551	5.498

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 T90 & T118	8	.027	.950

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T90 - T118	18.750	19.572	6.920	2.387	35.113	2.710	7	.030

TRIGLISERIDA BETINA T0 DAN T118**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		T0	T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	58.25	79.88
	Std. Deviation	15.088	15.551
Most Extreme Differences	Absolute	.164	.128
	Positive	.164	.123
	Negative	-.145	-.128
Kolmogorov-Smirnov Z		.464	.362
Asymp. Sig. (2-tailed)		.982	.999

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T0	58.25	8	15.088	5.334
	T118	79.88	8	15.551	5.498

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T0 & T118	8	-.431	.286

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T0 - T118	-21.625	25.917	9.163	-43.292	.042	-2.360	7	.050

HDL JANTAN T0**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		HDL
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	73.0400
	Std. Deviation	21.26793
Most Extreme Differences	Absolute	.107
	Positive	.107
	Negative	-.075
Kolmogorov-Smirnov Z		.756
Asymp. Sig. (2-tailed)		.617

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

HDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.984	4	45	.113

ANOVA

HDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	142.720	4	35.680	.073	.990
Within Groups	22021.200	45	489.360		
Total	22163.920	49			

HDL JANTAN T90**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		HDL
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	75.40
	Std. Deviation	28.203
Most Extreme Differences	Absolute	.105
	Positive	.101
	Negative	-.105
Kolmogorov-Smirnov Z		.573
Asymp. Sig. (2-tailed)		.897

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

HDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.464	4	25	.071

ANOVA

HDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1723.352	4	430.838	.505	.733
Within Groups	21343.848	25	853.754		
Total	23067.200	29			

HDL JANTAN SATELIT T90 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	63.50	57.25
	Std. Deviation	45.559	30.902
Most Extreme Differences	Absolute	.391	.355
	Positive	.391	.355
	Negative	-.238	-.267
Kolmogorov-Smirnov Z		.783	.711
Asymp. Sig. (2-tailed)		.572	.694

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T90	63.50	4	45.559	22.780
	T118	57.25	4	30.902	15.451

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T90 & T118	4	.983	.017

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T90 - T118	6.250	16.215	8.107	-19.551	32.051	.771	3	.497

HDL BETINA T0**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		hdl
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	67.7200
	Std. Deviation	17.74656
Most Extreme Differences	Absolute	.095
	Positive	.069
	Negative	-.095
Kolmogorov-Smirnov Z		.673
Asymp. Sig. (2-tailed)		.756

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

hdl

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.324	4	45	.276

ANOVA

hdl

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	248.080	4	62.020	.184	.946
Within Groups	15184.000	45	337.422		
Total	15432.080	49			

HDL BETINA T90**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		hdl
N		37
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	64.3784
	Std. Deviation	19.49124
Most Extreme Differences	Absolute	.127
	Positive	.080
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		.773
Asymp. Sig. (2-tailed)		.588

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

hdl

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.150	4	32	.027

ANOVA

hdl

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	565.534	4	141.384	.345	.845
Within Groups	13111.169	32	409.724		
Total	13676.703	36			

Kruskal-Wallis Test

kelompok	N	Mean Rank
HDL kontrol -	7	20.07
D 500	6	21.25
D 500	9	16.50
D 1000	7	19.57
D Satelit	8	18.69
Total	37	

	HDL
Chi-Square	.836
df	4
Asymp. Sig.	.934

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompok

HDL BETINA SATELIT T90 DAN T118

		T90	T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	60.13	57.88
	Std. Deviation	30.088	12.688
Most Extreme Differences	Absolute	.189	.127
	Positive	.123	.102
	Negative	-.189	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		.536	.360
Asymp. Sig. (2-tailed)		.937	.999

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 T90	60.13	8	30.088	10.638
T118	57.88	8	12.688	4.486

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 T90 & T118	8	.511	.196

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T90 - T118	2.250	26.004	9.194	-19.490	23.990	.245	7	.814

LDL JANTAN T0**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		LDL
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	21.22
	Std. Deviation	5.452
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.107
	Negative	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		1.103
Asymp. Sig. (2-tailed)		.176

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

LDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.700	4	45	.167

ANOVA

LDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	138.680	4	34.670	1.184	.331
Within Groups	1317.900	45	29.287		
Total	1456.580	49			

LDL JANTAN T90**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		LDL
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	24.20
	Std. Deviation	6.393
Most Extreme Differences	Absolute	.132
	Positive	.132
	Negative	-.080
Kolmogorov-Smirnov Z		.781
Asymp. Sig. (2-tailed)		.575

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

LDL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.175	4	30	.342

ANOVA

LDL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	673.130	4	168.282	7.046	.000
Within Groups	716.470	30	23.882		
Total	1389.600	34			

Multiple Comparisons

LDL

Tukey HSD

(I) KELOMPO K	(J) KELOMPO K	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol -	D 150	-2.667	2.821	.877	-10.85	5.52
	D 500	-4.208	2.639	.512	-11.86	3.45
	D 1000	-12.119*	2.719	.001	-20.01	-4.23
	D satelit	-9.583*	2.639	.009	-17.24	-1.93
D 150	kontrol -	2.667	2.821	.877	-5.52	10.85
	D 500	-1.542	2.639	.976	-9.20	6.11
	D 1000	-9.452*	2.719	.013	-17.34	-1.57
	D satelit	-6.917	2.639	.092	-14.57	.74
D 500	kontrol -	4.208	2.639	.512	-3.45	11.86
	D 150	1.542	2.639	.976	-6.11	9.20
	D 1000	-7.911*	2.529	.030	-15.25	-.57
	D satelit	-5.375	2.443	.207	-12.46	1.71
D 1000	kontrol -	12.119*	2.719	.001	4.23	20.01
	D 150	9.452*	2.719	.013	1.57	17.34
	D 500	7.911*	2.529	.030	.57	15.25
	D satelit	2.536	2.529	.852	-4.80	9.87
D satelit	kontrol -	9.583*	2.639	.009	1.93	17.24
	D 150	6.917	2.639	.092	-.74	14.57
	D 500	5.375	2.443	.207	-1.71	12.46
	D 1000	-2.536	2.529	.852	-9.87	4.80

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LDLTukey HSD^{a,b}

KELOMPOK	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol -	6	18.17		
D 150	6	20.83	20.83	
D 500	8	22.38	22.38	
D satelit	8		27.75	27.75
D 1000	7			30.29
Sig.		.510	.091	.870

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,885.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

LDL JANTAN SATELIT T90 DAN T118**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		T90	T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	65.00	19.25
	Std. Deviation	18.886	3.304
Most Extreme Differences	Absolute	.271	.252
	Positive	.229	.252
	Negative	-.271	-.202
Kolmogorov-Smirnov Z		.542	.504
Asymp. Sig. (2-tailed)		.930	.961

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 T90	65.00	4	18.886	9.443
T118	19.25	4	3.304	1.652

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 T90 & T118	4	-.609	.391

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T90 - T118	45.750	21.061	10.531	12.237	79.263	4.344	3	.023

LDL JANTAN SATELIT T0 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T0	T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	23.00	19.25
	Std. Deviation	3.651	3.304
Most Extreme Differences	Absolute	.208	.252
	Positive	.208	.252
	Negative	-.208	-.202
Kolmogorov-Smirnov Z		.416	.504
Asymp. Sig. (2-tailed)		.995	.961

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 T0	23.00	4	3.651	1.826
T118	19.25	4	3.304	1.652

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 T0 & T118	4	.000	1.000

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T0 - T118	3.750	4.924	2.462	-4.086	11.586	1.523	3	.225

LDL BETINA T0**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		ldl
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	22.6200
	Std. Deviation	3.80059
Most Extreme Differences	Absolute	.154
	Positive	.105
	Negative	-.154
Kolmogorov-Smirnov Z		1.092
Asymp. Sig. (2-tailed)		.184

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

ldl

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.964	4	45	.436

ANOVA

ldl

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	126.680	4	31.670	2.453	.059
Within Groups	581.100	45	12.913		
Total	707.780	49			

LDL BETINA T90**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Idl
N		35
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	22.6571
	Std. Deviation	3.73334
Most Extreme Differences	Absolute	.163
	Positive	.122
	Negative	-.163
Kolmogorov-Smirnov Z		.967
Asymp. Sig. (2-tailed)		.307

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Idl

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.140	4	30	.357

ANOVA

Idl

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	80.130	4	20.032	1.526	.220
Within Groups	393.756	30	13.125		
Total	473.886	34			

LDL BETINA SATELIT T90 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	27.75	18.13
	Std. Deviation	5.148	4.673
Most Extreme Differences	Absolute	.183	.172
	Positive	.183	.104
	Negative	-.108	-.172
Kolmogorov-Smirnov Z		.517	.485
Asymp. Sig. (2-tailed)		.952	.973

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T90	27.75	8	5.148	1.820
	T118	18.13	8	4.673	1.652

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T90 & T118	8	.352	.393

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	T90 - T118	9.625	5.605	1.981	4.939	14.311	4.857	7	.002

LDL BETINA SATELIT T0 DAN T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T0	T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	22.88	18.13
	Std. Deviation	3.182	4.673
Most Extreme Differences	Absolute	.263	.172
	Positive	.138	.104
	Negative	-.263	-.172
Kolmogorov-Smirnov Z		.744	.485
Asymp. Sig. (2-tailed)		.637	.973

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 T0	22.88	8	3.182	1.125
T118	18.13	8	4.673	1.652

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 T0 & T118	8	-.114	.788

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 T0 - T118	4.750	5.946	2.102	-.221	9.721	2.259	7	.058