

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIK EKSTRAK HERBA CIPLUKAN
(*Physalis angulata* L.) TERHADAP PARAMETER BIOKIMIA DAN
HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**



oleh:

**Sukron Admaja
20144089A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIK EKSTRAK HERBA CIPLUKAN
(*Physalis angulata* L.) TERHADAP PARAMETER BIOKIMIA DAN
HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) 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 :

**Sukron Admaja
20144089A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIK EKSTRAK HERBA CIPLUKAN
(*Physalis angulata* L.) TERHADAP PARAMETER BIOKIMIA DAN
HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**

Oleh :

**Sukron Admaja
20144089A**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 3 Januari 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt

Penguji:

1. Dr. Jason Merari P., MM., M.Si., Apt
2. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt
3. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt
4. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

وَلَا تَقُولَنَّ لِشَيْءٍ إِنِّي فَاعِلٌ ذَٰلِكَ غَدًا . إِلَّا أَنْ يَشَاءَ اللَّهُ.....

And never say of anything, “indeed, I will do that tomorrow.” except [when adding]. “if Allah wills”. – (Q.S Al-Kahfi: 23-24)

Dan jangan sekali-kali kamu mengatakan tentang sesuatu: "Sesungguhnya aku akan mengerjakan ini besok pagi. kecuali (dengan menyebut): "Insya Allah". – (Q.S Al-Kahfi: 23-24)

And Say: My lord, Increase me in knowledge.

– (Q.S Thaha: 114)

Memilih dijalur zona aman, sama saja memutuskan untuk tidak berkembang.

-Shirley Hufstaedler-

Dengan segala kerendahan hati saya persembahkan karya ini kepada :

1. Allah SWT atas segala berkah dan karunia-Nya.
2. Mama, Bapak, dan kedua Kakakku, 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. Rina Herowati, M.Si., Apt dan Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt selaku orang tuaku sekaligus dosen pembimbing yang senantiasa membantu serta memberikan motivasi ataupun masukan sehingga tercapailah hasil karya ini.
4. Semua sahabat khususnya Ruddy, Mba Desi, Mba Wuri, serta teman-teman yang lain di S1 Farmasi, terimakasih atas semua bantuan dan semangat kalian.
5. Almamater Universitas Setia Budi, Bangsa, dan Negara

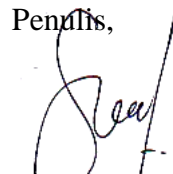
PERNYATAAN

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, Januari 2018

Penulis,



Sukron Admaja

KATA PENGANTAR

Segala Puji syukur kehadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas berkah, karunia dan anugrah kesehatan, serta jalan yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIK EKSTRAK HERBA CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP PARAMETER BIOKIMIA DAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) 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. Rina Herowati., M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk, bimbingan, nasehat dan motivasi kepada penulis selama penelitian sehingga dapat terlaksana dengan baik.
4. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga skripsi ini selesai.
5. Dr. Jason Merari P., MM., M.Si., Apt, Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt, Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt selaku penguji I, II, dan III yang telah banyak menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan saran dan kritik demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Dosen pembimbing akademik, Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt yang selalu membimbing dan mengarahkan sejak pertama kuliah hingga selesai.
7. Segenap Dosen pengajar, karyawan, dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

8. Para sahabat khususnya Ruddy, Hadrah, Hefli, Ayu, Fero, Satria, Fajar, teman-teman Samarinda dan Tenggara, KBJ, BEM FF, serta seluruh teman-teman S1 Farmasi USB angkatan 2014 atas dukungan dan semangatnya.
9. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu. Terimakasih.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas semua bantuan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan almamater tercinta.

Surakarta, Januari 2018

Penulis

Sukron Admaja

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
INTISARI.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.).....	5
1. Klasifikasi tanaman	5
2. Nama tanaman	5
3. Morfologi tanaman	5
4. Kandungan kimia tanaman	6
4.1. Alkaloid.....	6
4.2. Flavonoid.	6
4.3. Steroid.	7
5. Kegunaan tumbuhan.....	7
B. Simplisia	7
1. Simplisia	7
2. Perajangan	8
3. Pengeringan	8
C. Ekstraksi	8

1.	Pengertian ekstraksi.....	8
2.	Metode ekstraksi.....	9
2.1	Maserasi.....	9
2.2	Perkolasi.....	9
2.3	Soxhletasi.....	9
3.	Pelarut.....	10
D.	Uji Toksisitas.....	10
1.	Uji toksisitas akut.....	10
1.1	Metode konvensional.....	11
1.2	<i>Fixed Dose method</i>	11
2.	Uji toksisitas subkronik.....	12
2.1	Uji toksisitas subkronik singkat oral 28 hari.....	13
2.2	Uji toksisitas subkronik oral 90 hari.....	13
3.	Uji toksisitas kronik.....	13
E.	Gejala Toksik.....	14
F.	Hewan Percobaan.....	17
1.	Sistematika tikus.....	17
2.	Karakteristik utama tikus.....	17
3.	Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji.....	17
4.	Cara pemberian obat dan volume pemberian.....	18
5.	Cara pemegangan dan penandaan hewan uji.....	18
6.	Pemberian sediaan uji.....	18
7.	Pengambilan darah dan pengumpulan serum.....	19
G.	Hati.....	19
1.	Struktur hati.....	20
2.	Fungsi hati.....	20
2.1	Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu.....	21
2.2	Fungsi metabolik.....	21
2.3	Fungsi vaskular hati.....	21
2.4	Fungsi pertahanan tubuh.....	21
3.	Kerusakan hati.....	21
3.1	Perlemakan hati.....	21
3.2	Sirosis hati.....	22
3.3	Nekrosis hati.....	22
3.4	Fibrosis.....	22
3.5	Ensefalopati hepatica.....	22
H.	SGOT dan SGPT.....	22
1.	SGOT (<i>Serum glutamic oxaloacetic transaminase</i>)/ <i>Aspartat aminotransaminase (AST)</i>	23
2.	SGPT (<i>Serum Glutamat Piruat Transaminase</i>)/ <i>Alanin aminotransferase (ALT)</i>	23
I.	Histologi dan Histopatologi.....	24
1.	Histologi.....	24
2.	Histopatologi.....	24
3.	Tinjauan umum kerusakan jaringan.....	25

4.	Gambaran sel setelah cedera	25
4.1	Perubahan hidropobik	25
4.2	Perubahan melemap	26
J.	Landasan Teori	26
K.	Hipotesis	27
1.	Jumlah kematian hewan	29
2.	Berat badan	29
3.	Indeks berat organ hati relatif	29
4.	Gejala toksik	29
	SGPT normal 34-61 IU/L	29
	SGOT normal 82-139 IU/L	29
 BAB III METODE PENELITIAN		30
A.	Populasi dan Sampel	30
B.	Variabel Penelitian	30
1.	Identifikasi variabel utama	30
2.	Klasifikasi variabel utama	30
3.	Definisi operasional variabel utama	31
C.	Bahan dan Alat	32
1.	Bahan	32
2.	Alat	33
3.	Hewan uji	33
D.	Jalannya Penelitian	34
1.	Determinasi tanaman	34
2.	Pengambilan sampel dan pembuatan serbuk herba ciplukan ..	34
3.	Penetapan kadar air serbuk herba ciplukan	34
4.	Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak herba ciplukan	35
4.1	Identifikasi alkaloid	35
4.2	Identifikasi flavonoid	35
4.3	Identifikasi steroid	35
5.	Pembuatan ekstrak etanol herba ciplukan	35
6.	Uji bebas alkohol ekstrak etanol herba ciplukan	36
7.	Persiapan hewan uji	36
8.	Perhitungan dosis hewan uji	36
8.1.	Dosis uji toksisitas akut	37
8.2.	Dosis uji toksisitas subkronik	37
9.	Pengamatan gejala toksik	37
10.	Penentuan nilai LD ₅₀ pada uji toksisitas akut	38
11.	Monitoring berat badan dan konsumsi pakan	38
12.	Pengambilan darah	38
13.	Pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT	39
14.	Penimbangan organ dan penetapan % indeks organ	39
15.	Pemeriksaan makropatologi	39
16.	Perlakuan hewan uji pasca bedah	40

17. Pemeriksaan histopatologi.....	40
17.1. Fiksasi pertama.	40
17.2. Pemotongan kasar.	40
17.3. Fiksasi kedua.....	40
17.4. Pencucian.	40
17.5. Proses dehidrasi.	40
17.6. Perendaman dalam parafin cair.....	40
17.7. Pembuatan sediaan blok.....	40
17.8. Pemotongan organ.	41
17.9. Pewarnaan jaringan.....	41
E. Skema Penelitian	42
1. Skema penelitian uji toksisitas akut	42
2. Skema penelitian uji toksisitas subkronik	43
F. Analisis Data	44
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 45
A. Hasil Penelitian Tanaman Ciplukan	45
1. Hasil determinasi herba ciplukan	45
2. Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk herba ciplukan	45
3. Hasil penetapan kadar air serbuk herba ciplukan	46
4. Hasil Pembuatan ekstrak etanol herba ciplukan.....	46
5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak herba ciplukan.....	47
6. Hasil uji bebas etanol ekstrak herba ciplukan	47
B. Hasil Uji Toksisitas Akut dan Subkronis Herba Ciplukan.....	47
1. Hasil uji toksisitas akut herba ciplukan.....	47
1.1. Pesiapan hewan uji.....	47
1.2. Penetapan dosis.....	48
1.3. Hasil LD ₅₀	48
1.4. Hasil monitoring berat badan tikus.....	49
1.5. Hasil pengamatan gejala toksik.	50
1.6. Hasil pengamatan organ secara makroskopis.	61
1.7. Hasil rata-rata indeks organ.	61
2. Hasil uji toksisitas subkronis herba ciplukan	63
2.1. Persiapan hewan uji.	63
2.2. Penetapan dosis hewan uji.	63
2.3. Pengamatan berat badan.	63
2.4. Hasil rata-rata indeks organ hati.	66
2.5. Hasil pengamatan makroskopis.	67
2.6. Hasil pemeriksaan kadar SGOT (<i>Serum glutamic oxaloacetic transaminase</i>)/ Aspartat aminotransaminase (AST).	67
2.7. Hasil pemeriksaan kadar SGPT (<i>Serum Glutamat Piruvat Transaminase</i>)/ Alanin aminotransferase (ALT).	70

2.8 Hasil histopatologi organ hati.....	73
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	77
A. Kesimpulan.....	77
B. Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA.....	78
LAMPIRAN.....	84

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Bagian-bagian tumbuhan ciplukan	6
Gambar 2. Gambaran makroskopik hati manusia dari anterior	20
Gambar 3. Kerangka Pikir Penelitian	29
Gambar 4. Skema uji toksisitas akut.	42
Gambar 5. Skema uji toksisitas subkronis 90 hari.	43
Gambar 6. Grafik berat badan hewan uji terhadap waktu dengan kelompok dosis yang berbeda.	50
Gambar 7. Perlemakan hati.	61
Gambar 8. Grafik berat badan hewan uji jantan terhadap waktu dengan kelompok dosis yang berbeda.	64
Gambar 9. Grafik berat badan hewan uji betina terhadap waktu dengan kelompok dosis yang berbeda.	65
Gambar 10. Diagram kadar SGOT Jantan.	69
Gambar 11. Diagram kadar SGOT Betina.	69
Gambar 12. Diagram kadar SGPT Jantan.	72
Gambar 13. Diagram kadar SGPT Betina.	72

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kriteria penggolongan sediaan uji.....	11
Tabel 2. Gejala Toksik	14
Tabel 3. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ tubuh dan sistem saraf.....	37
Tabel 4. Hasil perhitungan rendemen berat kering herba ciplukan.....	46
Tabel 5. Persentase penetapan kadar air serbuk herba ciplukan	46
Tabel 6. Hasil persentase rendemen ekstrak herba ciplukan.....	46
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan	47
Tabel 8. Hasil presentasi kematian hewan uji setelah pemberian sediaan uji.....	48
Tabel 9. Rata-rata berat badan tikus.....	49
Tabel 10. Hasil persentase terjadi eksoftalmus selama 24 jam dan 14 hari	51
Tabel 11. Hasil persentase terjadi piloreksi selama 24 jam dan 14 hari	51
Tabel 12. Hasil persentase terjadi depresi berat selama 24 jam dan 14 hari.....	52
Tabel 13. Hasil persentase terjadi sensitif terhadap suara selama 24 jam dan 14 hari.....	53
Tabel 14. Hasil persentase terjadi aktivitas meningkat selama 24 jam dan 14 hari.....	54
Tabel 15. Hasil persentase terjadi kejang-kejang selama 24 jam dan 14 hari.....	55
Tabel 16. Hasil persentase terjadi perdarahan selama 24 jam dan 14 hari.....	55
Tabel 17. Hasil persentase terjadi <i>breathless</i> selama 24 jam dan 14 hari.....	56
Tabel 18. Hasil persentase terjadi midriasis selama 24 jam dan 14 hari.....	57
Tabel 19. Hasil persentase terjadi lakrimasi selama 24 jam dan 14 hari.....	57
Tabel 20. Hasil persentase terjadi diare selama 24 jam dan 14 hari	58

Tabel 21.	Hasil persentase terjadi feces dan urin berdarah selama 24 jam dan 14 hari	59
Tabel 22.	Hasil persentase terjadi alopesia selama 24 jam dan 14 hari	60
Tabel 23.	Hasil persentase terjadi edema selama 24 jam dan 14 hari	60
Tabel 24.	Rata-rata indeks organ tikus	62
Tabel 25.	Hasil rata-rata indeks organ hati.....	66
Tabel 26.	Kadar SGOT pada tikus jantan	68
Tabel 27.	Kadar SGOT pada tikus betina.....	68
Tabel 28.	Kadar SGPT pada tikus jantan	70
Tabel 29.	Kadar SGPT pada tikus betina	70
Tabel 30.	Histopatologi hati tikus yang mati selama perlakuan.....	74
Tabel 31.	Hasil persentase sel pada gambaran histopatologi organ hati tikus di akhir penelitian	75

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Determinasi	85
Lampiran 2. Perhitungan rendemen berat basah terhadap berat kering herba ciplukan	86
Lampiran 3. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk	87
Lampiran 4. Perhitungan penetapan kadar air	88
Lampiran 5. Perhitungan rendemen ekstrak	89
Lampiran 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan	90
Lampiran 7. Proses pembuatan ekstrak.....	91
Lampiran 8. Surat Keterangan Hewan Uji.....	92
Lampiran 9. Surat izin etik keheawatan.....	93
Lampiran 10. Hewan uji yang digunakan	94
Lampiran 11. Perhitungan penyesuaian dosis dan volume pemberian pada uji toksisitas subkronik	95
Lampiran 12. Hasil Penetapan Dosis Pada Tikus uji toksisitas akut	97
Lampiran 13. Hasil Pengamatan Berat Badan Tikus	99
Lampiran 14. Berat badab hewan uji subkronik	100
Lampiran 15. Berat organ dan indeks organ	101
Lampiran 16. Pengamatan makropatologi	102
Lampiran 17. Pengamatan makropatologi Akut	103
Lampiran 18. Proses Histopatologi	104
Lampiran 19. Hasil Pengukuran Kadar SGOT dan SGPT	106
Lampiran 20. Berat organ dan indeks organ hati Subkronik	110
Lampiran 21. Makropatologi Subkronik.....	111

Lampiran 22. Pengamatan gejala toksik	112
Lampiran 23. Data kematian tikus	114
Lampiran 24. Pengambilan darah, proses sentrifugasi, dan proses pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT	115
Lampiran 25. Bahan dan lain-lain	116
Lampiran 26. Hasil Histopatologi hati	117
Lampiran 27. Hasil uji Statistik	133

INTISARI

ADMAJA, S., 2018. UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIS EKSTRAK HERBA CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP PARAMETER BIOKIMIA DAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Herba ciplukan merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional untuk anti-arthritis dan anti-kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut dan subkronik terhadap gejala toksik dan perubahan makropatologi, nilai LD₅₀, kadar SGOT dan SGPT, serta gambaran histopatologi organ hati tikus.

Ekstrak herba ciplukan diperoleh dari proses maserasi. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus betina untuk uji toksisitas akut, yang terbagi atas 5 kelompok. Kelompok I – V berturut-turut diberi perlakuan sediaan ekstrak herba ciplukan dengan dosis 250, 500, 1000, 2000 dan 4000 mg/kgbb. Uji toksisitas subkronik menggunakan 50 ekor tikus jantan dan 50 ekor tikus betina, yang terbagi atas 5 kelompok. Kelompok pertama kontrol negatif diberi CMC 1%, 3 kelompok perlakuan diberi sediaan ekstrak herba ciplukan dengan dosis 250, 500, dan 1000 mg/kgbb, dan kelompok satelit diberi dosis 1000 mg/Kgbb. Penelitian ini berlangsung selama 90 hari dan ditambah 28 hari pada kelompok satelit untuk melihat efek reversibel. Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT dilakukan setiap 30 hari. Pada akhir pemeriksaan hewan uji dikorbankan untuk uji histopatologi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak herba ciplukan pada uji toksisitas akut memiliki nilai LD₅₀ yaitu lebih dari 4000 mg/kgbb tikus dan berpengaruh terhadap gejala toksik berupa depresi dan perubahan aktivitas meningkat pada dosis 4000 mg/kgbb. Sedangkan pada uji toksisitas subkronik, ekstrak herba ciplukan dosis 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb, dan 1000 mg/kgbb tidak menyebabkan perubahan biokimia hati dan perubahan makropatologi tetapi mempengaruhi perubahan histopatologi hati.

Kata kunci : ekstrak herba ciplukan (*Physalis angulata* L.), toksisitas akut, subkronik, gejala toksik, histopatologi.

ABSTRACT

ADMAJA, S., 2018. ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF THE EXTRACT HERBS OF CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TOWARDS THE BIOCHEMICAL PARAMETERS AND HISTOPATHOLOGY OF LIVER ON WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*).

The herbs of ciplukan is one of the plants used as a traditional medicine for anti-arthritis and anti-cancer. This study aims to determine the effects of acute and subchronic toxicity on toxic symptoms and macropathological changes, LD50 values, SGOT and SGPT levels, and histopathologic images of rat liver organ.

The extract herbs of ciplukan is obtained from the maceration process. This study used 25 female rats for acute toxicity test, divided into 5 groups. Group I –V administered with herbal extract of ciplukan doses of 250, 500, 1000, 2000 and 4000 mg / Kgbw respectively. Subchronic toxicity test using 50 male rats and 50 female rats, divided into 5 groups. The first group of negative control was given 1% CMC, 3 treatment groups were prepared with herbal extract of ciplukan doses of 250, 500, 1000 mg/kgbw, and satellite group was given 1000 mg / kgbw. The study lasted for 90 days and added 28 days in the satellite group to see the reversible effect. SGOT and SGPT levels are checked every 30 days. At the end of the examination the test animals were sacrificed for histopathological tests.

The results of this study indicate that administration of herbs extract of ciplukan on acute toxicity test has a value of LD₅₀ more of 4000 mg / kgbw mice and affect toxic symptoms of depression and increased activity changes at a dose of 4000 mg / kgbw. While in subchronic toxicity test, herbs extract of ciplukan dose 250 mg / kgbw, 500 mg / kgbw, and 1000 mg / kgbw did not cause liver biochemical changes and macropathological changes but affect the histopathological changes of the liver.

Keywords: ciplukan herbal extract (*Physalis angulata* L.), acute toxicity, subchronic, toxic symptoms, histopathology.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional. Tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan tumbuhan liar yang tumbuh dengan subur didataran rendah sampai dengan ketinggian 1.550 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan ini dapat ditemui di semua negara beriklim tropis terutama Afrika, Asia, dan Amerika (Dalimartha 2006). Ciplukan merupakan tumbuhan semak semusim yang tumbuh liar sehingga mudah ditemukan di lingkungan sekitar. Seluruh bagian tanaman ciplukan dapat digunakan sebagai obat.

Lakoan (2014) telah melakukan penelitian uji aktivitas antiartitis pada tanaman ciplukan terhadap tikus, didapatkan hasil bahwa tanaman tersebut memiliki aktivitas antiarthritis dimana pada dosis tunggal tanaman ciplukan ditunjukkan dengan total aktivitas efek persen penurunan volume edema dengan dosis 250 mg/kg BB tikus. Pengujian lain terhadap tanaman ciplukan adalah adanya aktivitas yang mempengaruhi proses inflamasi yang merupakan salah satu gejala yang ditimbulkan pada penyakit arthritis melalui proses autoimun, pengaruh ini karena adanya *seco-steroid* pada *physallin* yang telah dipurifikasi (Soares *et al* 2003; Pinto *et al* 2010).

Masyarakat pada umumnya menganggap obat yang berasal dari tanaman yang diolah menjadi obat tradisional merupakan obat yang aman tanpa adanya efek toksik bila digunakan pada jangka waktu yang lama. Pengobatan arthritis atau rematik tergolong cukup lama. Penggunaan obat dalam waktu yang lama memungkinkan timbulnya efek toksik dari obat yang digunakan. Obat tradisional yang berasal dari tanaman secara alami memiliki potensi yang bersifat toksik. Efek toksik merupakan efek yang dapat menimbulkan gejala keracunan hingga kematian. Efek toksik yang ditimbulkan tergantung pada takaran dan lama waktu pemberian di dalam tubuh (Nuridayanti 2011). Meninjau dari hasil penelitian terdahulu tentang khasiat yang diperoleh dari tanaman ciplukan untuk pengobatan

penyakit arthritis yang dikonsumsi dalam jangka yang terbilang cukup lama, maka keamanan dalam penggunaan tanaman ciplukan haruslah dapat diketahui. Penggunaan tanaman sebagai obat tradisional dalam jangka waktu yang lama bisa saja menyebabkan terjadinya gejala toksisitas seperti toksisitas kronis, karsinogenik, mutagenik, dan teratogenik (Newell *et al* 1996). Maka perlu dilakukannya uji toksisitas terhadap tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.). Uji toksisitas golongan akut dan subkronis biasanya menjadi pengujian yang paling standar dalam menentukan toksisitas suatu zat.

Pada uji toksistas akut ekstrak daun ciplukan yang telah dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol, didapatkan hasil bahwa pada dosis 2000 mg/Kg tidak menimbulkan kematian pada hewan uji (Rathore *et al* 2011). Uji toksisitas akut bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat dan untuk mengetahui nilai LD₅₀ pada suatu senyawa atau zat setelah diberikan dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. LD₅₀ merupakan tahap awal untuk menentukan keamanan suatu zat aktif yang akan dikonsumsi oleh manusia dengan menentukan besarnya dosis yang dapat menyebabkan kematian pada 50% populasi pengguna suatu bahan (Loomis 1978). Sedangkan uji toksisitas subkronik bertujuan untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut dan efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu 28 hari atau 90 hari (BPOM 2014) sehingga dapat diketahui efek toksisitas yang muncul setelah terkena paparan toksikan. Hasil paparan toksikan dapat mempengaruhi struktur dan fungsi dari organ-organ yang ada dalam tubuh, diantaranya ginjal, limfa, jantung, dan hati.

Hampir semua jenis obat oral mengalami metabolisme lintas pertama di hati. Hati merupakan organ yang sangat penting dalam penawar racun karena letaknya di antara vena dalam saluran pencernaan. Organ hati mungkin rusak oleh adanya bahan toksik dari paparan senyawa-senyawa kimia tanaman karena menerima darah dari saluran cerna melalui vena porta (Corwin 2009). Peningkatan paparan berbagai polutan dan senyawa-senyawa kimia maupun beracun pada tubuh dapat menyebabkan meningkatnya risiko kerusakan hati. Kerusakan hati sering ditandai dengan perubahan biokimia, oleh karena itu

pemeriksaan laboratorium diperlukan untuk membantu diagnosa dan pemeriksaan tingkat keparahannya (Underwood 1999) hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan parameter histopatologi yaitu pengamatan dengan membandingkan jaringan organ sehat terhadap jaringan sampel, agar dapat diketahui suatu penyakit yang diduga benar-benar menyerang atau tidak (Lesson 1996). Selain histopatologi, manifestasi kerusakan jaringan pada hati dapat diamati dari peningkatan kadar SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transferase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Piruvat Transferase*).

Bila organ hati terkena paparan toksikan maka akan mempengaruhi kadar enzim SGPT dan SGOT yang ditandai dengan meningkatnya kedua enzim tersebut. Enzim SGOT cenderung berada dalam keadaan normal karena enzim ini sebagian besar berada di dalam mitokondria sementara SGPT berada di dalam sitoplasma. Enzim SGPT paling banyak ditemukan dalam hati, sehingga untuk mendeteksi penyakit hati, SGPT dianggap lebih spesifik dibanding SGOT. Peningkatan kadar SGPT dan SGOT akan terjadi jika adanya pelepasan enzim secara intraseluler ke dalam darah yang disebabkan nekrosis sel-sel hati atau adanya kerusakan hati (Mayes *et al* 1991), oleh karena itu pemeriksaan enzim tersebut perlu dilakukan untuk menunjang hasil diagnosa dan tingkat keparahannya. Hal ini dapat dilakukan dengan pengujian biokimia pada enzim SGPT dan SGOT.

Maka dalam hal ini, untuk memastikan keamanan dalam mengkonsumsi herba ciplukan sebagai obat tradisional khususnya untuk obat antiarthritis, pada penelitian ini dilakukan pengujian toksisitas akut dan subkronis ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap SGOT dan SGPT serta gambaran histopatologi organ hati pada tikus putih galur wistar.

B. Perumusan Masalah

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

Pertama, berapakah nilai LD₅₀ pada uji toksisitas akut herba ciplukan terhadap tikus putih galur wistar?

Kedua, apakah ekstrak etanol herba ciplukan menimbulkan gejala toksik dan perubahan makropatologi pada uji toksisitas akut menggunakan tikus putih galur wistar?

Ketiga, apakah ekstrak etanol herba ciplukan menimbulkan perubahan biokimia hati yaitu SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transferase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Piruvat Transferase*) pada uji toksisitas subkronis jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih galur wistar?

Keempat, apakah ekstrak etanol herba ciplukan menimbulkan perubahan makropatologi dan histopatologi hati pada uji toksisitas subkronik jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih galur wistar?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, menentukan nilai LD₅₀ pada pengujian toksisitas akut terhadap tikus putih galur wistar.

Kedua, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol herba ciplukan terhadap gejala toksik dan perubahan makropatologi pada uji toksisitas akut menggunakan tikus putih galur wistar.

Ketiga, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol herba ciplukan terhadap perubahan biokimia hati yaitu SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transferase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Piruvat Transferase*) pada uji toksisitas subkronis jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih galur wistar.

Keempat, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol herba ciplukan terhadap perubahan makropatologi dan histopatologi hati pada uji toksisitas subkronik jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih galur wistar.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai tolok ukur penggunaan ekstrak etanol herba ciplukan dalam pengobatan tradisional. Berkaitan dengan pengembangan ilmu pengetahuan terutama bagi masyarakat luas dan penggunaan obat tradisional yang aman dan efektif, khususnya penggunaan ekstrak etanol herba ciplukan dalam membantu pengobatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

1. Klasifikasi tanaman

Menurut Hutapea *et al* (2000) adalah sebagai berikut:

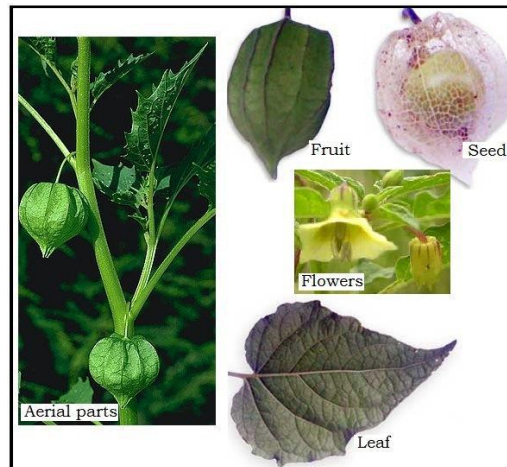
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Solanaceae
Marga	: Physalis
Jenis	: <i>Physalis angulata</i> L.

2. Nama tanaman

Sinonim atau nama ilmiah dari tanaman ciplukan ini adalah Cecendet (Sunda), Jorjoran (Madura), Ciciplukan (Bali), Leletopan (Makasar), Hogweed, Balloon cherry (Inggris), Fotka (Bangladesh), Leledot (Sumatra Timur), Ceplukan (Jawa Tengah), Lapununat (Maluku), Dedes (Nusa Tenggara) (Hutapea 2000).

3. Morfologi tanaman

Tanaman ciplukan merupakan tanaman herba yang memiliki tinggi antara 10-100 cm, batang cekung, bersegi empat, cabang yang lebih rendah terkadang lebih lemah atau lembek dan berakar pada tangkai pohon, hijau, halus tidak berambut, masif, dan beruas. Daun-daunnya tunggal, berselang, "ovale" berbentuk bulat seperti telur, halus tajam, ujung runcing, pertulangan menyirip, pinggirannya bergerigi tidak rata, batang penyangga daun ramping tipis 0,5-0,4 cm, lamina 2,0-6,7 x 1,0-3,5 cm, berambut tipis atau tidak berbulu, hijau. Daun bunganya 5, warna pada batasannya kuning. Tanaman ini berbunga dan berbuah hampir sepanjang tahun (Anonim 2000). Mahkota bunganya berwarna kuning, sedangkan buahnya berbentuk lonceng, kelopak besar, berukuran sampai 2,5 cm (Sastroamidjojo 2001).



Gambar 1. Bagian-bagian tumbuhan ciplukan (Mahalakshmi & Nidavani 2014).

4. Kandungan kimia tanaman

Daunnya mengandung steroid, alkaloid dan flavonoid yang dapat beraktifitas sebagai antiartritis dan anti-inflamasi (Kumar *et al* 2011). Daun dan kelopakny mengandung physalin (Sastroadmidjojo 2001).

4.1. Alkaloid. Alkaloid merupakan metabolit sekunder dari tumbuhan dengan struktur yang beragam dan memiliki aktivitas biologis yang penting. Alkaloid adalah senyawa siklik yang mengandung atom nitrogen. Alkaloid yang terdapat pada daun ciplukan yaitu phygrine dengan struktur *bis-hygrine* yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai antimalaria, antioksidan, antiartritis dan antiinflamasi (Kumar *et al* 2011; Basey *et al* 1992). Alkaloid bermanfaat dalam hal pengobatan karena memiliki efek fisiologis yang kuat dan selektitas senyawanya (Marek *et al* 2007).

4.2. Flavonoid. Flavonoid berciri mempunyai cincin piran yang menghubungkan rantai tiga-karbon dengan salah satu cincin benzen. Flavonoid mencakup banyak pigmen, yang paling umum, dan terdapat pada tumbuhan di seluruh dunia mulai dari *fungis* sampai *angiospermae* (Robinson 1995). Flavonoid yang terdapat pada tanaman ciplukan adalah flavonol glikosida yaitu myricetin 3-*O*-neohesperidoside (Mahalakshmi & Nidavani 2014). Flavonoid merupakan senyawa polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, aseton, dimetil sulfoksida (DMSO), dimetil folfamida (DMF), dan air (Markham 1998).

4.3. Steroid. Physalin merupakan konstituen steroid dari tanaman ciplukan yang juga termasuk famili Solanaceae. Terdapat dua tipe physalin yang paling banyak ditemukan *P. angulata* L., dimana kedua tipe ini merupakan bentuk utama yaitu tipe A dan B. Diketahui bahwa physalin tipe B memiliki aktivitas anti-inflamasi yang cukup tinggi. Physalin merupakan tipe ergostan derivat steroidal (Polezel *et al* 2006; Guimaraes *et al* 2009).

5. Kegunaan tumbuhan

Tanaman ciplukan mempunyai aktivitas sebagai antiarthritis dan anti-inflamasi. Aktivitas antiarthritis karena adanya kandungan steroid yaitu physalin, flavonoid glikosida, dan alkaloid yaitu phygrine yang menghambat denaturasi protein (Kumar *et al* 2011). Tanaman ciplukan juga mempunyai khasiat analgetik (penghilang nyeri) dan detoksikan (penetrasi racun). Saponin yang terkandung dalam ciplukan memberikan rasa pahit, berkhasiat sebagai anti tumor dan menghambat pertumbuhan kanker, terutama kanker usus besar. Flavonoid dan polifenol berkhasiat sebagai antioksidan (Setyowati 2010).

B. Simplisia

1. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan atau mengalami pengolahan secara sederhana serta belum merupakan zat murni kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan (Dirjen POM 1999).

Simplisia terdiri dari simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berasal dari tanaman, berupa bagian yang masih utuh dan zat-zat nabati yang dipisahkan dari tanamannya. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berasal dari hewan, berupa hewan utuh atau zat yang dihasilkan oleh hewan, yang dapat dimanfaatkan. Sedangkan simplisia pelican atau mineral adalah simplisia yang berupa pelican atau mineral yang belum berbentuk zat kimia murni (Anonim 1995).

2. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Depkes 1986).

3. Pengeringan

Pengeringan simplisia dilakukan agar memperoleh simplisia yang tidak mudah rusak dan menghindari timbulnya bakteri, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan buatan dan pengeringan alamiah. Pengeringan buatan adalah pengeringan dengan menggunakan alat yang suhu, tekanan, kelembaban dan aliran udaranya dapat diatur dan ditentukan. Suhu pengeringan pada umumnya antara 40°-60°C. Sedangkan pengeringan secara alamiah adalah pengeringan dengan menggunakan sinar matahari secara langsung dan dengan cara diangin-anginkan. Keuntungan dari pengeringan buatan, hasil yang didapat mengering merata, waktu pengeringan lebih cepat dan tidak bergantung pada cuaca (Anonim 1985; Anonim 1980).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Proses pemisahan zat aktif yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair, disebut ekstraksi. Ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan masa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani setelah pelarut diuapkan, akan menghasilkan ekstrak berupa cairan kental seperti pasta yang disebut ekstrak. Pada proses ekstraksi harus menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut senyawa organik, terdiri dari dua golongan yaitu pelarut yang mempunyai densitas lebih tinggi dibanding air, dan

yang memiliki densitas yang lebih rendah dibanding air. Pelarut yang dapat digunakan untuk mengekstraksi harus aman, tidak toksik, dan tidak mudah terbakar (Anonim 1979).

2. Metode ekstraksi

Metode dasar penyari adalah maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Pemilihan terhadap metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik jenis ekstraksi dan bahan ekstraksi yang digunakan sangat tergantung dari kelarutan bahan kandungan serta stabilitasnya (Voight 1994).

2.1 Maserasi. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Maserasi dilakukan untuk ekstraksi simplisia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, serta tidak mengandung benzoin atau sirak (Anonim 1986).

2.2 Perkolasi. Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang mirip dengan cara maserasi namun maserasinya dilakukan secara bertahap dengan menggunakan alat khusus berbentuk silindris atau kerucut (perkolator). Pelarut pada perkolasi akan mengalir turun melintasi simplisia yang umumnya berbentuk serbuk kasar. Perkolat yang diperoleh kemudian dikumpulkan lalu dipekatkan (Voigt 1994). Metode ini memiliki kelebihan yaitu didapatkannya ekstraksi total karena prinsipnya seperti maserasi berulang sedangkan maserasi hanya dilakukan sekali sampai terjadi penjenuhan antara pelarut dengan cairan di dalam sel.

2.3 Soxhletasi. Ekstraksi dengan menggunakan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Uap penyari naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan penyari turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan penyari mencapai sifon, maka seluruh cairan ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang

terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon (Harborne 1987).

3. Pelarut

Pelarut merupakan zat yang digunakan untuk melarutkan suatu zat atau suatu obat dalam preparat larutan. Dalam memilih pelarut harus berdasarkan pada faktor-faktor seperti stabil secara fisika kimia, nilai yang terjangkau, bereaksi netral, selektif dalam menarik zat yang diinginkan dan mudah didapat.

Banyak jenis pelarut yang umum digunakan seperti *n*-heksan merupakan pelarut nonpolar (indeks polaritasnya 0,1) yang biasa digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri dari tanaman (Voigt 1994). Etil asetat merupakan pelarut semi polar (indeks polaritasnya 4,4) yang selain dapat melarutkan minyak atsiri, namun dapat juga larut dalam air (Voigt 1994).

Selain itu pelarut yang biasa digunakan adalah etanol 965 dengan indeks polaritas 4,3 dan titik didih 78°C. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena etanol memiliki sifat selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol, mempunyai absorpsi yang baik dan dapat bercampur dengan air pada segala kondisi (Depkes 1986).

D. Uji Toksisitas

Uji toksisitas diperlukan untuk penelitian obat baru selain uji farmakokinetik, dan uji farmakodinamik. Uji toksisitas adalah uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Sehingga didapatkan data yang dapat digunakan untuk menetapkan derajat dosis yang dapat menimbulkan bahaya bila pemaparannya terhadap manusia. Pengujian toksisitas dibagi menjadi tiga kelompok yaitu:

1. Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut adalah uji untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji dalam dosis tunggal, atau dosis berulang dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu sediaan uji

dengan dosis bertingkat, diberikan pada masing-masing kelompok, dengan satu dosis berkelompok, dilakukan pengamatan terhadap efek toksik dan kematian.

Uji toksisitas akut oral adalah untuk menetapkan toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh LD₅₀ suatu bahan atau sediaan, serta penentuan penggolongan bahan atau sediaan dan pelabelan (BPOM 2014). LD₅₀ (*Lethal Dose 50%*) adalah suatu dosis senyawa yang akan menimbulkan kematian pada 50% hewan uji. Semakin besar nilai LD₅₀, semakin rendah toksisitasnya begitu pula sebaliknya. Hasil yang diperoleh (dalam mg/kg) dapat digolongkan menurut potensi ketoksikan akut senyawa uji menjadi beberapa kelas, seperti yang terlihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Kriteria penggolongan sediaan uji (Lu 1995)

Tingkat Toksisitas	LD₅₀ oral (pada tikus)	Klasifikasi
1	≤ 1 mg/kg	Sangat toksik
2	1-50 mg/kg	Toksik
3	50-500 mg/kg	Toksik sedang
4	500-5000 mg/kg	Toksik ringan
5	5-15 g/kg	Praktis tidak toksik
6	≥ 15 g/kg	Relatif tidak membahayakan

Pada uji toksisitas akut, terdapat dua metode yang dapat diterapkan, yaitu metode konvensional dan *Fixed Dose Method*.

1.1 Metode konvensional. Sekelompok hewan uji dengan jenis kelamin yang sama diberikan dosis bertingkat dengan metode konvensional sekurang-kurangnya 3 dosis berbeda. Dosis terendah adalah dosis tertinggi yang sama sekali tidak menimbulkan kematian, sedangkan dosis tertinggi adalah dosis terendah yang menimbulkan kematian 100%. Bila hingga dosis 5000 mg/Kg BB (pada tikus) tidak menimbulkan kematian, maka uji tidak perlu dilanjutkan dengan menggunakan dosis bahan uji yang lebih tinggi (BPOM RI 20114).

1.2 Fixed Dose method. Sekelompok hewan uji dengan jenis kelamin yang sama, diberikan dosis bertingkat antara lain: 5, 50, 300, dan 2000 mg/kg (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kg). Dosis awal dipilih berdasarkan uji

pendahuluan sebagai dosis yang dapat menimbulkan gejala toksisitas ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik yang berat atau kematian. Prosedur ini dilanjutkan hingga mencapai dosis yang menimbulkan efek toksik atau ditemukan tidak lebih dari 1 kematian, atau tidak tampak efek toksik hingga dosis tertinggi atau adanya kematian pada dosis yang lebih rendah (BPOM RI 2014).

Metode dalam menentukan LD₅₀ terdiri dari banyak cara yang dapat dijabarkan sebagai berikut:

Metodel Weil, CS (Harmita & Radji 2004)

$$\text{Log } m = \log D + d (f + 1)$$

Keterangan :

m = nilai LD₅₀

D = dosis terkecil yang digunakan

d = log r (kelipatan dosis terkecil)

f = faktor

Metode Farmakope Indonesia III (Depkes RI 1979)

$$m = a - b (\sum pi - 0,5)$$

Keterangan :

m = nilai LD₅₀

a = logaritma dosis terendah yang masih menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok

b = beda logaritma dosis berurutan

pi = jumlah hewan yang mati menerima dosis, i dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i

Metode grafik probit (Harmita & Radji 2004)

$$y = a + bx$$

Dimana :

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

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

2. Uji toksisitas subkronik

Uji toksisitas subkronik yaitu untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan.

Prinsip dari uji toksisitas subkronik yaitu sediaan uji dengan dosis bertingkat diberikan dengan satu dosis pada masing-masing kelompok, setiap hari selama 28 atau 90 hari (BPOM 2014). Uji toksisitas subkronik dilakukan juga untuk memberikan informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut dan kemungkinan adanya efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis, dan histopatologi.

Jenis uji toksisitas subkronik menurut BPOM (2014) dibagi menjadi dua, yaitu :

2.1 Uji toksisitas subkronik singkat oral 28 hari. Waktu pemberian sediaan uji setiap hari atau minimal 5 hari dalam satu minggu selama 28 hari. Hewan yang digunakan adalah tikus putih galur wistar, yang masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 10 ekor yang terdiri dari 5 betina dan 5 jantan. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk kelompok dengan variasi berat badan tidak lebih 20% dari rata-rata berat badan hewan uji. Hewan uji diaklimasi di ruang percobaan selama lebih kurang 7 hari (BPOM 2014).

2.2 Uji toksisitas subkronik oral 90 hari. Waktu pemberian sediaan uji setiap hari atau minimal 5 hari dalam 1 minggu selama 90 hari. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar, masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 20 ekor yang terdiri dari 10 betina dan 10 jantan. Hewan diaklimasi di ruang percobaan selama lebih kurang 7 hari. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk kelompok dengan variasi berat badan tidak lebih dari 20% dari rata-rata berat badan (BPOM 2014).

3. Uji toksisitas kronik

Uji toksisitas kronis adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sampai seluruh umur hewan. Uji toksisitas kronis pada prinsipnya sama dengan uji toksisitas subkronik, tetapi sediaan uji diberikan selama tidak kurang dari 12 bulan.

Tujuan dari uji toksisitas kronis 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 (NOAEL). Uji toksisitas kronis dapat memberikan informasi toksisitas secara umum meliputi efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis dan histopatologi (BPOM 2014).

E. Gejala Toksik

Tabel 2. Gejala Toksik (Harmita & Radji 2005, Dorland 2011, Chandrasoma & Taylor 2005)

Sistem	Tanda-tanda keracunan	Keterangan
Saraf otonom	Eksoftalmus	Bola mata yang menonjol keluar
	Hidung berlendir	Keluarnya cairan/lendir dari dalam hidung
	Liur keluar	Keluarnya cairan liur dari mulut
	Sering kencing	Keluarnya kencing dengan frekuensi yang banyak
	Diare	Pengeluaran tinja berair berkali-kali yang tidak normal
	Piloereksi	Berdirinya rambut
	Membran niktitan terelaksasi	Terelaksasinya membran selaput yang menyelubungi mata
Perilaku	Kurang tenang	Perilaku yang membuat aktivitas motorik bertambah (tidak bisa diam)
	Gelisah	Keadaan tidak tenang
	Posisi duduk dengan kepala mendongak	Posisi kepala menghadap keatas dalam jangka waktu lama dan/ dengan frekuensi banyak
	Memandang kosong kedepan	Perilaku ketika terdiam dan memandang pada satu titik pengamatan
	Kepala menunduk	Posisi kepala menghadap ke bawah dalam jangka waktu lama dan/ dengan frekuensi banyak
	Depresi berat	Keadaan yang menyebabkan menjadi sensitif, menurunnya aktivitas motorik, dan individualis (nyaman sendiri)
	Kaki menggaruk-garuk	Perilaku menggaruk/menggesekkan kaki pada tubuh yang diakibatkan oleh rangsangan
	Terengah-engah	Pengambilan nafas yang cepat dan frekuensi yang banyak/sering
Mudah terganggu Sikap bermusuhan agresif maupun defensive	Keadaan sensitif terhadap suatu rangsangan Perilaku yang berujung pada sikap saling menonjolkan diri, mungkin bermanifestasi dalam bentuk perilaku menyerang, atau perilaku untuk saling menjauh	

Sistem	Tanda-tanda keracunan	Keterangan
Perasa/ sensori	Ketakutan	Perilaku untuk menjauh atau bersembunyi
	Bingung	Perilaku tidak terarah dan terkendali
	Aktivitas aneh	Melakukan kegiatan atau aktivitas diluar kebiasaan atau aktivitas normal
	Sensitif terhadap rasa sakit	Perilaku memberikan respon secara tiba-tiba ketika diberikan rangsangan sakit
	<i>Righting reflex</i>	Membalikkan posisi badan
	Refleks setempat dan pada kaki belakang	Perilaku memberikan respon secara tiba-tiba ketika diberikan rangsangan pada tubuh atau pada kaki belakang
	Sensitif terhadap suara dan sentuhan	Perilaku memberikan respon secara tiba-tiba ketika diberikan rangsangan suara
	Nistagmus	Gerakan bola mata yang cepat dan involunter (horizontal, vertikal, rotasional, atau campuran)
	<i>Phonation.</i>	Perilaku mengeluarkan bunyi tidak wajar
Saraf otot	Aktivitas meningkat atau menurun	Meningkatnya aktivitas motorik (bergerak secara terus menerus) atau menurunnya aktivitas motorik (cenderung diam)
	Fasikulasi	Kontraksi yang lemah, setempat, pada otot dan tampak pada kulit (kedutan)
	Gemetar	Tremor atau menggigil yang bersifat involunter dan ritmik
	Kejang-kejang	Otot tubuh berkontraksi secara tidak terkendali (involunter) atau secara terkendali (volunter)
	Otot tidak dapat digerakkan	Ketidakfleksibelan/rigid akibat peningkatan tegangan pada otot pada saat otot difleksikan secara pasif
	Gangguan prostat	Gangguan pada kelenjar yang mengelilingi kandung kemih dan uretra, sehingga akan mengganggu proses pembentukan secret cairan seminalis
	Ekor membengkok ke bawah dan ke depan	Kondisi kekakuan pada ekor
	Kaki belakang lemah	Kondisi tubuh susah untuk mengatur kondisi kaki (menggerakkan kaki)
	Refleks jelek	Perilaku memberikan respon secara tiba-tiba ketika diberikan rangsangan, namun respon tersebut tidak seperti respon normal
	<i>Ophisthotonus</i>	Kekakuan otot yang menunjang tubuh seperti otot punggung, otot leher, atau otot badan
	Kematian	Tidak bisa melakukan aktivitas kehidupan
Pembuluh darah	Detak jantung naik atau turun	Frekuensi detak jantung meningkat atau menurun

Sistem	Tanda-tanda keracunan	Keterangan
jantung	Sianosis	Perubahan warna kebiruan gelap pada organ khususnya jantung akibat peningkatan hemoglobin pada darah
	Penyumbatan/ gangguan pembuluh darah jantung	Penyumbatan pada pembuluh darah akibat terdapat plak atau sebab lain, yang mengakibatkan suplay darah berkurang ke jantung
	Pelebaran pembuluh darah jantung	Pelebaran saluran pembuluh darah
	Perdarahan	Keluarnya darah akibat robekan atau cedera
Pernapasan / respiratori Mata/ Ocular	Hipopnea	Berkurangnya kedalaman dan frekuensi napas
	Dispnea	Kesulitan mengambil napas
	Breathless	Bernapas pendek atau tersendat
	Apnea	Berhenti bernapas
	Midrasis	Pelebaran pupil mata
	Miosis	Pengecilan pupil mata
	Lakrimasi	Sekresi atau pengeluaran air mata
	Ptosis	Turunnya kelopak mata atas
	Nistagmus	Gerakan bola mata yang cepat dan involunter (horizontal, vertikal, rotasional, atau campuran)
	Sikloplegik	Paralisis atau rusaknya muskulus siliaris mata
Refleks sinar pupilar	Relfek pupil mata ketika diberikan rangsangan berupa sinar	
Gastrointe stinal/gast rourinari	Air liur keluar terus	Keluarnya cairan liur dari mulut dengan frekuensi sering atau terus menerus
	Mencret	Pengeluaran tinja berair berkali-kali yang tidak normal (diare)
	Feses dan urin berdarah	Terjadi perdarahan pada saluran gastrointestinal yang mengakibatkan feces bercampur dengan darah
	Sembelit	Susah buang air besar (konstipasi)
	Rinorea	Sekresi mukus pada saluran gastrointestinal
	Buang air besar dan kencing tidak terkontrol	Buang air besar dan kencing tidak terkontrol atau tidak sesuai normal
Kulit (<i>cutaneous</i>)	Alopesia	Kebotakan, tidak adanya rambut pada daerah kulit tempatnya biasanya tumbuh
	Piloereksi	Berdirinya rambut
	Gemetar seperti anjing	Tremor, bentuknya seperti anjing yang tremor
	Badannya basah	Pengeluaran secret pada kulit yang terlalu berlebihan
	Eritema	Kemerahan pada kulit akibat kongesti pada pembuluh darah

Sistem	Tanda-tanda keracunan	Keterangan
	Edema	Pengumpulan cairan secara abnormal di ruang intraseluler tubuh
	Nekrosis	Perubahan morfologi yang menunjukkan kematian sel dan disebabkan oleh degradasi enzimatik yang progresif, bisa juga pada jaringan atau organ
	Bengkak	Adanya peradangan pada organ (kulit) yang merupakan respon jaringan yang protektif

F. Hewan Percobaan

1. Sistematika tikus

Sistematika kedudukan hewan uji tikus adalah sebagai berikut menurut Sugiyanto (1995):

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Plasentalia
Bangsa	: Rodentina
Suku	: Muidae
Marga	: Ratus
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik utama tikus

Tikus putih galur Wistar merupakan hewan yang cerdas dan relatif resisten terhadap infeksi. Tikus jenis ini bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan cenderung untuk berkumpul sesamanya juga tidak terlalu besar. Suhu tubuh normal 37,5°C, dan laju respiratori normal 210 tiap menit, tikus putih umumnya bersifat tenang dan mudang ditangani tetapi bila tikus diperlakukan kasar menjadi galak dan sering menyerang si pemegang (Sugiyanto 1995).

3. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji

Suhu $22 \pm 3^\circ\text{C}$ merupakan suhu yang digunakan untuk hewan pengerat, Sedangkan untuk penerangannya adalah 12 jam terang dan 12 jam gelap. Hewan dikelompokkan dalam kandang berdasarkan jenis kelamin. Ukuran kandang yang digunakan sesuai dengan jumlah hewan perkandang (Lu 1995). Ukuran kandang

dapat disesuaikan dengan jumlah hewan tikus (berat 200-300 g) luas kandang 148,4 cm², tinggi 17,8 cm (BPOM 2014).

4. Cara pemberian obat dan volume pemberian

Cara pemberian sediaan uji harus diberikan sesuai dengan cara pemberian atau pemaparan yang ditetapkan pada manusia. Secara oral dapat diberikan dengan cara pencekakan menggunakan sonde yang dimasukkan kemulut secara perlahan-lahan, diluncurkan melalui langit-langit kebelakang hingga esophagus atau secara secukupnya di dalam makanan atau minuman hewan. Pada umumnya pemberian secara oral dengan volume 1 mL sediaan uji per 100 g berat badan hewan. Lama pemberia zat uji selama 28 sampai 90 hari atau 10% dari usia hewan diberikan tujuh hari dalam satu minggu (BPOM 2014; Lu 1995).

5. Cara pemegangan dan penandaan hewan uji

Pemegangan dilakukan dengan cara mengangkat pangkal ekor dengan menggunakan tangan kanan, lalu tikus diletakkan diatas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakakkan diatas punggung tikus kearah kepala. Kepala tikus diletakan diantara ibu jari dan jari tengah, kemudian jari manis dan kelingking disekitar perut sehingga kaki depa kiri dan kanan terselip diantara jari-jari (Harmita & Maksun 2005).

Penandaan hewan uji dilakukan dengan cara memberikan larutan asam pikrat 10% dalam alkohol. Tujuan penandaan hewan uji dilakukan untuk membedakan antara hewan satu dengan hewan yang lainnya. Penandaan biasanya dilakukan pada bagian kepala, punggung, ekor, serta kaki (BPOM 2014).

6. Pemberian sediaan uji

Pada pemberian sediaan uji harus disesuaikan dengan cara pemberian yang ditetapkan pada manusia. Pada tikus yang diberikan secara oral , digunakan alat suntik yang dilengkapi jarum berujung tumpul atau biasa disebut sonde lambung (Permatasari, 2012). Sonde lambung dimasukkan kedalam mulut hewan uji secara perlahan-lahan, diluncurkan melalui langit langit kebelakang hingga esophagus. Obat dapat diberikan secara intra vena, sub-kutan, intra muskular, intra peritoneal, dan intra dermal (BPOM 2014)

7. Pengambilan darah dan pengumpulan serum

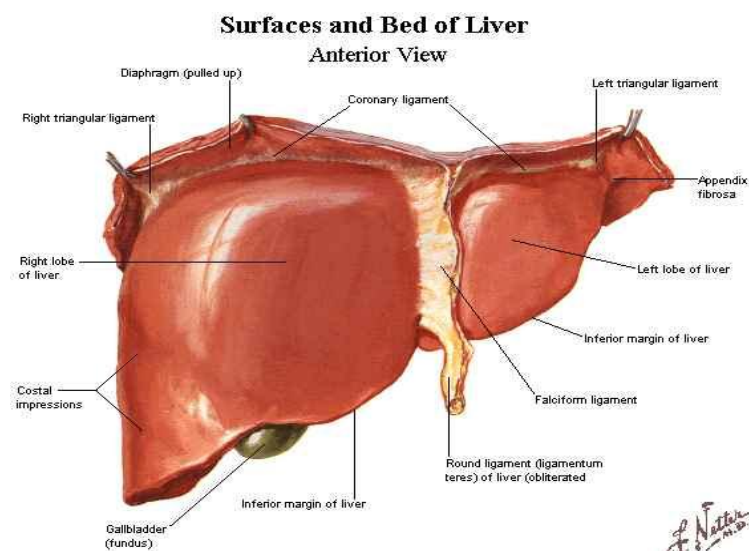
Pengambilan darah pada umumnya dilakukan dengan menggunakan alat suntik steril. Sebelum diambil darahnya hewan uji dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan eter. Anestesi dilakukan dengan cara memasukkan hewan uji ke dalam toples kaca bersamaan dengan kapas yang sudah dibasahi eter selama beberapa detik sampai hewan uji tenang. Selanjutnya hewan uji dikeluarkan dari toples dan bisa diambil darahnya. Kemudian darah diambil dari vena jugularis secara perlahan-lahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3-5 mL, sebanyak 0,5 mL darah dicampur dengan antikoagulan (EDTA) sebanyak 10 μ L untuk pemeriksaan hematologi dan 0,5 mL untuk membuat apusan darah pada penetapan deferensial leukosit. Sedangkan sisa darah dimasukkan ke dalam tabung sentrifus lalu didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tangas es tidak lebih dari 20 menit dan segera disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian dipisahkan serumnya dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

Selain itu juga pengambilan darah dapat dilakukan dengan cara *Plexus Retroorbitalis* yaitu cara pengambilan darah yang dilakukan melalui mata. Sebelum pengambilan darah, hewan uji dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan eter, yaitu dimasukkan ke dalam toples yang berisi kapas yang sudah dibasahi eter, setelah hewan uji tenang, kemudian dilakukan proses pengambilan darah. Cara ini dilakukan dengan menggoreskan mikrohematokrit pada medial canthus mata di bagian bawah bola mata ke arah foramen opticus. Mikrohematokrit kemudian diputar sampai melukai plexus, jika diputar 5 kali maka harus dikembalikan 5 kali, lalu darah ditampung (Permatasari 2012).

G. Hati

Hati adalah kelenjar terbesar di dalam tubuh, terletak dibagian teratas dalam rongga abdomen sebelah kanan di bawah diafragma. Beratnya antara 1000-1500 gram, kurang lebih 25% berat badan orang dewasa dan merupakan organ pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang kompleks dan rumit. Hati mempunyai dua jenis persediaan darah, yaitu yang datang melalui arteri hepatica

dan melalui vena porta. Hati juga memiliki dua bagian yaitu lobus kanan dan lobus kiri (Pearce 2009; Noer 1996). Hati mempunyai peran penting dalam metabolisme, detoksifikasi, penyimpanan. Hati merupakan organ yang rentan terhadap kerusakan karena metabolit yang bersifat toksik (Brzoska *et al* 2003).



Gambar 2. Gambaran makroskopik hati manusia dari anterior (Putz & Pabst 2007).

1. Struktur hati

Hati terbentuk dari dua jenis sel yaitu sel hepatosit yang berasal dari epitel yang melakukan berbagai kegiatan metabolit dan sel-sel Kupffer yang sel-sel retikulendotel di seluruh tubuh mempunyai fungsi fagositosis dan perombakan. Satuan anatomis yang terkecil ialah lobulus yang tersusun dari rangkaian hepatosit yang ditopang oleh anyaman retikulin yang mengitari saluran darah yang bernama sinusoid. Aliran darah sedemikian sehingga tiap lobulus dimasuki dari bagian perifer, kemudian menyusun ke tengah lobulus melalui sinusoid dan pada akhirnya berkumpul dalam vena centralis. Darah dalam sinusoid dan sel-sel hati yang membatasi sinusoid bersentuhan erat sehingga pertukaran zat dalam darah sinusoid dan hepatosit menjadi maksimal (Corwin 2009).

2. Fungsi hati

Fungsi hati bersangkutan dengan metabolisme tubuh, khususnya mengenai atas pengaruh terhadap makanan dan darah. Hati merupakan pabrik kimia terbesar dalam tubuh dan hal yang menyatakan bahwa hati adalah sebagai pengantar metabolisme artinya hati mengubah zat makanan yang diabsorpsi dari usus dan

disimpan disuatu tempat di dalam tubuh, guna dibuat sesuai untuk pemakaian di dalam jaringan (Pearce 2009). Hati juga berfungsi sebagai tempat pembentukan dan ekskresi empedu serta berfungsi sebagai pertahanan tubuh dan fungsi fiskularisasi (Noer 1996).

2.1 Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu. Hati mengeksikan sekita satu liter empedu setiap hari. Saluran empedu mengalirkan, kantung empedu menyiapkan dan mengeluarkan empedu ke usus halus. Garam empedu oleh usus halus, direabsorpsi dlam ileum, resirkulasi, rekonjugasi, dan resekreksi ke hati. Bilirubin merupakan hasil akhir dari metabolisme. Bilirubin digunakan sebagai indikator penyakit hati dan saluran empedu dengan cara mewarnai jaringan dan cairan yang berhubungan dengan bilirubin (Noer 1996).

2.2 Fungsi metabolik. Hati merupakan organ yang sangat penting dalam metabolisme karbohidrat, lemak, protein, vitamin dan juga memproduksi energi dan tenaga. Hati juga berperan dalam mengubah ammonia menjadi urea, untuk dikeluarkan melalui ginjal dan usus. Metabolisme lemak yang dilakukan di hati berupa pembentukan lipoprotein, kolesterol, dan fosfolipid juga mengubah karbohidrat dan protein menjadi lemak (Murray *et al* 2003)

2.3 Fungsi vaskular hati. Aliran darah kehati dalam tubuh orang dewasa setiap menitnya sekitar 1500 cc. Darah portal mengalir ke hati sebanyak 1200 cc melalui sinusoid, diteruskan ke vena sentralis dan ke vena hepatica dan masuk ke dalam vena kava inferior. Didalam sinusoid, darah arterial bercampur denagn darah portal. Hati berfunhsi sebagai ruang penampung dan bekerja secara filter. (Noer 1996).

2.4 Fungsi pertahanan tubuh. Hati mempunyai fungsi sebagai detoksifikasi, enzim di dalam hati melakukan oksidasi, reduktasi, hidrolisis, atau konjugasi zat yang dapat menimbulkan racun, dan mengubahnya menjadi zat secara fisiologi yang tidak aktif.

3. Kerusakan hati

3.1 Perlemakan hati. Perlemakan hati merupakan hati yang mengandung lipid dari 50%. Berlebihnya lemak pada hati disebabkan oleh adanya toksikan yaitu etanol, fosfor, tetrasiklin (Lu 1995). Ini sering disebabkan oleh faktor-faktor

gaya hidup (primer) yakni, obesitas, hiperlipidemia dan resistensi insulin, serta faktor pemeliharaan (sekunder) seperti diet yang tidak seimbang, malabsorpsi, obat-obatan diantaranya aspirin, tetrasiklin dan alkohol (Panjaitan *et al* 2011).

3.2 Sirosis hati. Sirosis adalah kondisi fibrosis dan pembentukan jaringan parut yang difusi di hati. Jaringan hati normal digantikan oleh nodus-nodus fibrosa keras serta pita-pita fibrosa yang mengerut dan mengelilingi hepatosit. Sirosis terjadi sebagai respon terhadap cedera sel berulang dan reaksi peradangan yang ditimbulkannya. Infeksi biasanya adalah penyebabnya, misalnya hepatitis, obstruksi saluran empedu yang menyebabkan penimbunan empedu di kanalikulus dan pecahnya kanalikulus dan cedera hepatosit akibat toksin (Corwin 2009).

3.3 Nekrosis hati. Nekrosis ditandai dengan inti sel yang menyusut, batas tidak beraturan serta warna hati menjadi gelap. Nekrosis terjadi melalui beberapa tahapan, yaitu piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Pada proses piknosis, sel yang semula terlihat bulat, mengecil dan berwarna gelap. Karioreksis, sel mengalami fragmentasi menjadi kecil dan tersebar. Proses kariolisis inti sel akan melisis, menyebabkan rongga kosong yang dibatasi membran inti (Cotran *et al* 2006).

3.4 Fibrosis. Merupakan gambaran yang sering ditemukan dan penting pada hepatitis kronis, walaupun kadang-kadang sama sekali tidak dijumpai. Fibrosis minimal menyebabkan ekspansi traktus portal. Fibrosis luas menyebabkan pembentukan jembatan jaringan ikat antara daerah portal dan vena sentral. Hilangnya sel hati dalam jumlah banyak dan fibrosis yang terjadi akhirnya menyebabkan sirosis. Yang sering merupakan komplikasi hepatitis kronik (Damjanov 2000).

3.5 Ensefalopati hepatica. Merupakan kerusakan kompleks gangguan syaraf pusat yang dijumpai pada individu yang mengalami gagal hati. Kerusakan ini ditandai oleh gangguan memori dan perubahan kepribadian. Faktor penyebab penyakit ini adalah karena penimbunan toksin di dalam darah, karena hati gagal dalam mengubah dan mendetoksifikasi toksin secara maksimal (Corwin 2009).

H. SGOT dan SGPT

Indikator yang sering digunakan dalam menilai kerusakan hati adalah serum transaminase. Serum transaminase yang biasa digunakan untuk

mengidentifikasi adanya kerusakan hati adalah SGOT (*Serum glutamic oxaloacetic transaminase*) dan SGPT (*Serum glutamic pyruvic transaminase*) (Gines 2011).

1. SGOT (*Serum glutamic oxaloacetic transaminase*)/ *Aspartat aminotransaminase* (AST)

Enzim SGOT adalah enzim mitokondria yang ditemukan dalam hati, jantung, ginjal dan otak (Widmann 1995). Bila jaringan tersebut mengalami kerusakan akut, kadarnya dalam serum meningkat. Diduga hal ini disebabkan karena bebasnya enzim intraseluler dari sel-sel yang rusak ke dalam sirkulasi. Kadar yang sangat meningkat terdapat pada nekrosis hepatoseluler atau infark miokard (Hadi 1995). Meningkatnya kadar enzim ini dapat disebabkan karena virus, obat-obatan atau toksin yang menyebabkan hepatitis, karsinoma metastastik, kegagalan jantung dan penyakit hati granulomatous. Pemicu lainnya yaitu mengkonsumsi alkohol (Noer 1996).

Metabolisme SGOT merupakan reaksi antara asam aspartat dan asam alfa-ketoglutamat (Widmann 1995). SGOT berada dalam sel parenkim hati. SGOT berfungsi untuk mengubah aspartat dan alfa-ketoglutamat menjadi oxaloasetat dan glutamate. Terdapat 2 isoenzim, yaitu SGOT 1 yang merupakan isoenzim sitosol yang terutama berada dalam sel darah merah jantung dan SGOT 2 yang merupakan isoenzim mitokondria yang predominan dalam sel hati (Gaze 2007). Kadar normal SGOT pada laki-laki adalah kurang dari atau sama dengan 42 U/liter, sedangkan pada wanita yaitu kurang dari 37 U/liter (Fishbach 1998).

2. SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*)/ *Alanin aminotransferase* (ALT)

Enzim SGPT terdapat pada sel jaringan tubuh dan sel hati. Sama seperti SGOT, kerusakan hati dapat dilihat dari kadar enzim ini yang meningkat, hal tersebut disebabkan karena sel yang kaya akan transaminase mengalami nekrosis (Noer 1996). Enzim ini mengkatalis pemindahan satu gugus amin antara lain alanine dan asam alfa ketoglutarat. Tersapat banyak di hepatosit dan konsentrasinya relatif rendah di jaringan lain. Kadar normal SGPT pada laki-laki yaitu kurang atau sama dengan 42 U/liter, sedangkan pada wanita yaitu kurang

atau sama dengan 39 U/liter. Kadar normal dalam darah 5-35 U/liter dan SGPT lebih sensitif dibandingkan SGOT (Sacher dan Mcperson 2002).

Kadar transaminase yang mengalami kenaikan lebih dari 1000 U, terjadi karena kerusakan hati yang disebabkan karena virus atau obat-obatan. Kenaikan kadar transaminase serum sebanyak sepuluh kali lipat, dalam menyebabkan nekrosis hepatoseluler akut (Noer 1996).

SGOT dan SGPT akan meningkat pada hampir semua penyakit hati. Kadar yang tertinggi ditemukan dalam hubungannya dengan keadaan yang menyebabkan nekrosis hati yang luas. Sedangkan peningkatan yang lebih rendah ditemukan pada hepatitis akut ringan demikian pula pada penyakit hati kronik difus maupun lokal (Podolsky dan Isselbacher 2000). Kadar yang tiba tiba menurun pada penyakit akut, menandakan bahwa sumber enzim yang masih tersisa habis. Jika kerusakan oleh radang hati hanya kecil, kadar SGPT lebih dini dan lebih cepat meningkat dari kadar SGOT (Widmann 1995).

I. Histologi dan Histopatologi

1. Histologi

Histologi adalah ilmu yang mempelajari tentang struktur jaringan secara detail dengan gambaran optik pada mikroskop dengan preparat dipotong tipis. Histologi juga dapat dikatakan sebagai ilmu anatomi mikroskopis (Corwin 2009). Histologi juga mempelajari, menguraikan struktur dari hewan secara terperinci dan hubungan antar struktur pengorganisasian sel dan jaringan serta fungsi-fungsi yang dilakukan. Jaringan merupakan sekumpulan sel yang tersimpan dalam suatu kerangka struktur atau matriks yang mempunyai suatu kesatuan organisasi yang dapat mempertahankan keutuhan dan penyesuaian terhadap lingkungan di luar batas dirinya (Lesson *et al* 1995).

2. Histopatologi

Histopatologi merupakan salah satu parameter pertimbangan dalam penentuan diagnosis, melalui pengamatan terhadap organ tertentu. Histopatologi adalah cabang ilmu biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dalam penyakit (Robbins & Kumar 2007). Histopatologi dilakukan

dengan mengambil jaringan sampel setelah kematian terjadi, dan membandingkannya dengan sel yang sehat. Perbandingan jaringan sehat dengan jaringan yang tidak sehat, dapat diketahui penyakit yang diduga benar menyerang atau tidak (Underwood 1999). Gambaran histopatologi hati digunakan untuk menilai perubahan pada sel dan jaringan hati, yang dianalisis secara deskriptif dengan menghitung distribusi frekuensi perubahan tersebut. Gambaran histologi organ hati digunakan untuk mengamati jaringan secara langsung guna memastikan adanya infeksi, infiltrasi dan fibrosa lemak dan kanker dalam pemeriksaan fungsi hati (Corwin 2009).

3. Tinjauan umum kerusakan jaringan

Efek kegagalan atau pengurangan proses pertumbuhan yang berupa penyusutan ukuran morfologi organ dan jaringan setelah proses pemaparan gangguan, disebut hipoplasia. Sedangkan hiperplasia adalah penambahan ukuran organ atau jaringan yang disebabkan rangsang tertentu, namun bila rangsangan hilang ukuran organ dapat kembali. Hipoplasia merupakan kondisi bawaan sedangkan hiperplasia adalah pertumbuhan sel yang berlebih di kemudian hari (Underwood 1999).

Nekrosis hati terjadi karena faktor eksternal seperti, infeksi, racun, peradangan, kanker, cedera, trauma, dan infark. Athropy adalah keadaan yang tidak normal pada jumlah dan volume sel, yang disertai dengan ketidak nampakkan garis luar sel, sehingga tidak dapat dibedakan dan nukleus menjadi kecil dan hilang serta mengakibatkan kematian sel (Lesson *et al* 1995).

4. Gambaran sel setelah cedera

Sel dapat mengalami cedera baik secara reversibel maupun ireversibel melalui berbagai cara dan efeknya pada jaringan tergantung pada: lamanya cedera, sifat alami penyebab cedera, proporsi dan jenis sel yang terkenal, serta kemampuan jaringan untuk regenerasi (Price 2005). Dua gambaran perubahan seluler subletal yang umum terlihat yaitu perubahan hidropobik dan perubahan lemak.

4.1 Perubahan hidropobik. Istilah deskriptif dari perubahan hidropobik dipakai untuk sel-sel yang sitoplasmanya menjadi pucat dan membengkak karena

terjadi penimbunan cairan. Derajat yang ringan dari pembengkakan intraseluler disebut bengkak keruh. Penambahan yang lebih lanjut dari cairan dan pembengkakan organ menyebabkan terjadinya vakuola di dalam sitoplasma. Perubahan hidropobik umumnya merupakan akibat adanya gangguan metabolisme seperti hipoksia atau keracunan bahan kimia. Perubahan ini bersifat reversibel walaupun dapat pula berubah menjadi ireversibel apabila penyebab cederanya mantap (Underwood 1999).

4.2 Perubahan melemak. Vakuolisasi sel sering disebabkan oleh penimbunan tetesan lipid sebagai akibat gangguan fungsi ribosom dan uncoupling lipid dari metabolisme protein. Hati umumnya terkena dengan cara melalui berbagai penyebab, seperti hipoksia, alkohol dan diabetes (Underwood 1999).

J. Landasan Teori

Tanaman ciplukan merupakan tanaman yang mempunyai banyak khasiat, oleh karena itu banyak peneliti yang meneliti khasiat herba ciplukan secara farmakologi. Kandungan tumbuhan ciplukan antara lain flavonoid, saponin, dan steroid, memiliki aktivitas farmakologi sebagai antimalaria, antioksidan, antiarthritis dan antiinflamasi (Kumar *et al* 2011).

Pada penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh Baedowi (1998) dan Djajanegara (2010) yang masing-masing menyatakan bahwa ekstrak daun dan buah ciplukan, secara *in vitro* maupun *in vivo*, memiliki aktivitas antihiperqlikemia terhadap sel β dan tikus model. Hewan model yang digunakan dalam penelitian DMT2 adalah tikus *Sprague-Dawley* yang diberi diet tinggi lemak (*High Fat Diet*, HFD) dan disuntik streptozotosin (STZ) dosis rendah (Srinivasan 2005; Tahara 2008). Penelitian tentang tanaman ciplukan juga oleh Lakoan (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak tunggal tanaman ciplukan dengan dosis 250 mg/Kg BB mempunyai aktivitas antiarthritis yang ditunjukkan dengan total aktivitas efek persen penurunan volume uedema dan menunjukkan adanya perbaikan profil histopatologi pada kaki tikus.

Pada studi uji toksistas akut, yang telah dilakukan oleh Rathore *et al*(2011) bahwa ekstrak metanol daun ciplukan tidak menimbulkan angka kematian pada

dosis 2000 mg/Kg. Sari (2015) telah melakukan penelitian pada tanaman ciplukan terhadap aktivitas sitotoksik sel kanker payudara MCF-7 dan menyatakan bahwa ekstrak etanol herba ciplukan memiliki toksisitas terhadap larva *Artemia salina* dengan nilai LC_{50} 625,20 $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air, memiliki nilai LC_{50} berturut-turut 484,78; 288,59; dan 359,54 $\mu\text{g/ml}$. Subfraksi dari fraksi teraktif yang mengandung senyawa flavonoid dan steroid memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dan pada sel Vero. Hasil penelitian sitotoksik yang lain dilakukan oleh Djajanegara (2010) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% herba ciplukan sitotoksik terhadap sel T47D dengan nilai LC_{50} 28,02 $\mu\text{g/ml}$.

Tanaman yang berasal dari satu keluarga yang sama dapat memiliki kandungan senyawa yang sama pula. Tanaman seperti *P. peruviana* dan *P. alkengingi* memiliki kandungan kimia alkaloid tropan yang bekerja sebagai antikolinergik dengan cara memblok reseptor muskarinik (Griffin & Lin 2000; Oksman-Caldentey 2007; Reina *et al.* 2010). Menurut Ramnaire (2006) dosis dan efek yang berlebihan pada antikolinergik dapat mengakibatkan keracunan antikolinergik atau sindrom antikolinergik, meliputi midriasis pada mata dan kekeringan membran mukosa yang terjadi pada kulit (Christopher *et al.* 2006). Sehingga pada herba ciplukan yang berasal dari keluarga yang sama dengan *P. peruviana* dan *P. alkengingi* bisa menunjukkan ketoksikkan juga.

Peningkatan kadar SGOT dan SGPT hampir pada semua penyakit hati atau karena terinduksi senyawa yang bersifat hepatotoksik. Kadar transaminase yang mengalami kenaikan lebih dari 1000 U, terjadi karena kerusakan hati yang disebabkan karena virus atau obat-obatan. Kenaikan kadar transaminase serum sebanyak sepuluh kali lipat, dalam menyebabkan nekrosis hepatoseluler akut (Noer 1996).

K. Hipotesis

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan, dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

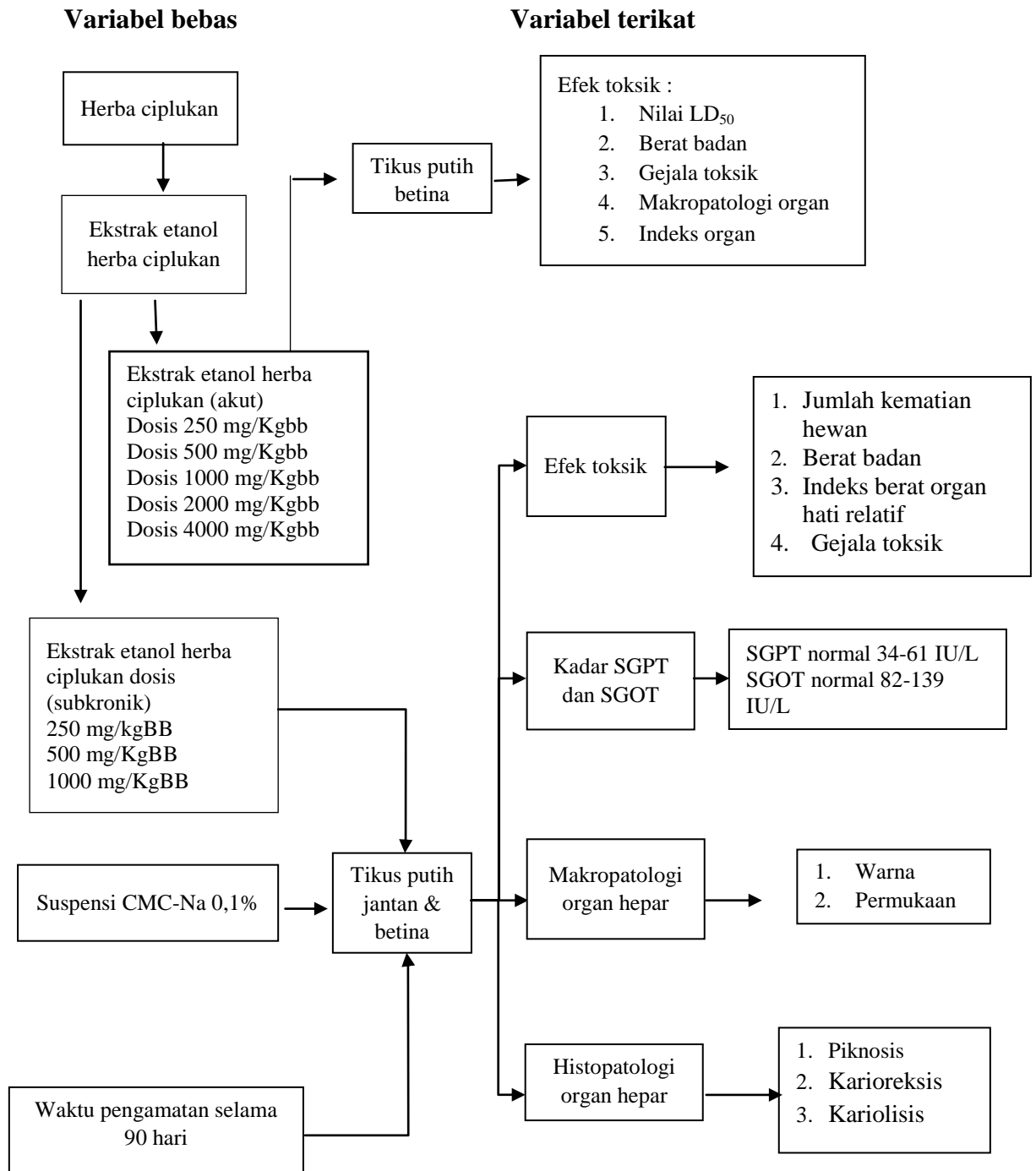
Pertama, ekstrak etanol herba ciplukan mempunyai nilai LD_{50} 2000 mg/kgbb yang termasuk dalam klasifikasi toksik ringan.

Kedua, pemberian ekstrak etanol herba ciplukan dapat menimbulkan gejala toksik dan perubahan makropatologi pada uji toksisitas akut menggunakan tikus putih.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol herba ciplukan dapat menimbulkan perubahan biokimia hati (SGOT dan SGPT) pada uji toksisitas subkronis jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih.

Keempat, pemberian ekstrak etanol herba ciplukan dapat menimbulkan perubahan terhadap makropatologi dan histopatologi hati pada uji toksisitas subkronik jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih.

L. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 3. Kerangka Pikir Penelitian.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) terdiri atas daun, batang, akar, dan buah ciplukan yang diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) dalam berbagai variasi dosis. Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah efek toksisitas akut dan subkronik ekstrak etanol herba ciplukan meliputi pengamatan berat badan, pengamatan gejala toksik, nilai LD₅₀, pemeriksaan kadar SGOT (*Serum glutamic oxaloacetic transaminase*) dan SGPT (*Serum glutamic piruvat transaminase*), serta pemeriksaan secara makropatologi dan histopatologi organ hati pada tikus putih jantan dan betina. Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel yang diteliti terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) dalam berbagai dosis yang diberikan pada tikus putih jantan dan betina.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung yang digunakan dalam penelitian ini adalah efek toksisitas akut dan subkronik ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) meliputi pengamatan gejala toksik, nilai LD₅₀, pemeriksaan kadar SGOT (*Serum glutamic oxaloacetic transaminase*) dan SGPT (*Serum glutamic piruvat transaminase*), serta pemeriksaan makropatologi dan histopatologi organ hati terhadap tikus putih jantan dan betina.

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualitasnya agar hasil yang diperoleh dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol yang digunakan pada penelitian ini adalah berat badan, usia, lingkungan hidup, dan perlakuan oleh peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, ekstrak etanol herba ciplukan adalah hasil ekstraksi dari herba ciplukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% yang selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator*.

Kedua, herba ciplukan adalah keseluruhan bagian tanaman ciplukan yang diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Maret 2017 dalam keadaan bersih, kering dan tidak busuk.

Ketiga, uji toksisitas akut adalah suatu pengujian yang dilakukan dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal yang diberikan dalam waktu 24 jam.

Keempat, uji efek toksisitas subkronis adalah uji toksisitas yang dilakukan dengan cara pemberian sediaan uji secara berulang selama 90 hari.

Kelima, gejala toksik adalah gejala yang ditimbulkan akibat paparan toksikan pada pengamatan hewan uji berupa perubahan saraf otonom (eksoftalmus dan piloereksi), perubahan perilaku (depresi berat), perubahan perasa (sensitive terhadap suara), perubahan saraf otot (aktifitas meningkat), perubahan pembuluh darah jantung (perdarahan), perubahan pernafasan (*breathless*), perubahan mata (midriasis dan lakrimasi), perubahan gastrointestinal/ gansttourinari (diare dan feses/ urin berdarah), perubahan kulit (alopesia dan edema).

Keenam, SGOT adalah enzim mitokondria yang berfungsi untuk mengubah aspartat dan alfa-ketoglutamat menjadi oxaloasetat dan glutamate.

Ketujuh, SGPT adalah enzim yang berfungsi mengkatalis pemindahan satu gugus amin antara lain alanine dan asam alfa ketoglutarat.

Kedelapan, LD₅₀ (*Lethal Dose 50%*) adalah dosis yang dapat menimbulkan kematian pada 50% hewan uji.

Kesembilan, makropatologi adalah metode yang digunakan untuk mengamati efek toksik pada organ yang terpapar toksikan dengan cara membandingkan dengan organ normal.

Kesepuluh, histopatologi adalah metode yang digunakan untuk mengamati efek toksik pada jaringan organ yang terpapar toksikan dengan cara mengamati di bawah mikroskop.

Kesebelas, hewan uji yang dipakai dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dan betina *Rattus norvegicus* galur wistar berumur 6-8 minggu dengan kisaran berat badan antara 150-300 gram dalam keadaan sehat.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan sebagai sampel adalah herba ciplukan (*Physalis angulata* L.). Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etano 96%. Paraffin cair, Hematoxylin-Eousin (HE), serbuk magnesium, HCl, amil alcohol, FeCl₃, dan CMC 1% digunakan sabagai kontrol.

Bahan yang digunakan untuk identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak herba simplisia adalah pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, aquadest, serbuk magnesium, HCl pekat, alkohol, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pekat.

Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan histopatologi adalah larutan dapar formalin 10%, larutan etanol 70%, larutan etanol 80%, larutan 90%, parafin, larutan eosin alkohol, larutan etanol absolut, larutan hematoksilin Mayer, larutan xilen, CuSO₄, dan aquadestilata.

2. Alat

Pembuatan simplisia menggunakan alat antara lain pisau, oven, mesin giling, dan ayakan no 40. Alat yang digunakan untuk mengetahui kadar air dalam serbuk serbuk adalah *Sterling-Bidwell*. Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak antara lain botol kaca kedap cahaya sebagai tempat maserasi, botol penampung, gelas piala, batang pengaduk, corong gelas, kain flanel, dan evaporator (Heidolp WB 4000). Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji adalah kandang tikus, kandang metabolik, neraca analitik, tempat minum dan makan tikus, sonde lambung (Kanul), dan spuit injeksi (Nipro).

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan menggunakan antara lain kertas saring, tabung reaksi, pipet tetes, penangas air, dan cawan penguap.

Pengambilan darah dan pengumpulan serum menggunakan alat spuit injeksi, alat sentrifugasi (Hettich EBA200), tabung reaksi, pipa kapiler, kapas, dan rak tabung reaksi. Alat yang digunakan untuk menetapkan kadar pada pemeriksaan biokimia klinis adalah penangas air, fotometer (Rayto RT9200), tabung reaksi, vortex, tip Eppendorf kuning dan biru, serta pipet Eppendorf,.

Alat yang digunakan untuk pemeriksaan histopatologi adalah pisau, botol dehidrasi, botol fiksasi, kantong kasa, kain kasa, alat dehidrasi otomatis/*tissue processor* (Leica TP 1020), *rotary microtom* (Leica RM2125RTS), *block Imbeding* (Leica 1105), alat potong beku (Leica), pisau set *microtom*, *waterbath* (Leica HI1210), pemanas (Leica), cooling plate (Leica EG1150C), mikroskop trinokuler (Leica), TV LED (SAMSUNG), alat pewarna jaringan, *object glass*, dan *deck glass*.

3. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dan betina usia 6-8 minggu dengan berat badan berkisar 150-300 gram. Untuk uji toksisitas akut digunakan hewan uji sebanyak 25 ekor tikus putih betina yang terbagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompoknya terdiri atas 5 ekor. Sedangkan untuk uji toksisitas subkronik

menggunakan hewan uji tikus sebanyak 100 ekor yang terbagi menjadi 5 kelompok, tiap kelompok terdiri atas 20 ekor (10 ekor jantan dan 10 ekor betina).

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman herba ciplukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi ini bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

2. Pengambilan sampel dan pembuatan serbuk herba ciplukan

Tanaman ciplukan pada penelitian ini diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Seluruh bagian tanaman yang masih segar kemudian dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan sisa kotoran yang menempel pada tanaman. Kemudian herba ciplukan dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat terbuka dan tidak terkena sinar matahari langsung yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air agar herba ciplukan tidak mudah ditumbuhi jamur dan/atau bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang dapat mengurangi zat aktif, serta memudahkan pada proses penggilingan maupun penyimpanan (Gunawan & Mulyani 2004).

Kemudian dilakukan pengeringan lebih lanjut dengan cara simplisia yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C, lalu dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40. Tujuan simplisia dibuat serbuk adalah untuk memperbesar luas permukaan kontak serbuk dengan pelarut pada saat ekstraksi, sehingga senyawa aktif akan terekstrak lebih banyak dan prosesnya lebih cepat.

3. Penetapan kadar air serbuk herba ciplukan

Penetapan kadar air serbuk herba ciplukan dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Dengan cara menimbang serbuk herba ciplukan sebanyak 20 gram, lalu dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylene sebanyak 100 ml, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, tahap

selanjutnya dipanaskan. Pemanasan dihentikan bila air pada penampung tidak menetes lagi, kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume pada skala alat tersebut dan dihitung % air dari berat contoh. Kadar air yang memenuhi persyaratan adalah kurang dari 10% (Sudarmadji *et al* 1997).

4. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak herba ciplukan

Tujuan dilakukannya identifikasi kandungan senyawa kimia adalah untuk menetapkan keberadaan senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk herba ciplukan. Tata cara identifikasi kandungan senyawa adalah sebagai berikut (Harborne 1987):

4.1 Identifikasi alkaloid. Sebanyak lebih kurang 1 gram serbuk ditambahkan dengan 5 mL HCl pekat, untuk ekstrak diuapkan diatas cawan hingga didapatkan residu, kemudian residu ditambahkan 5 mL HCl pekat. Hasil larutan yang didapat dibagi kedalam 3 tabung reaksi. Tabung reaksi pertama digunakan sebagai blanko. Tabung reaksi kedua ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi Dragendroff, hasil yang didapat akan terbentuk endapan berwarna jingga, dan pada tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer, hasil akan menunjukkan endapan kuning yang menandakan bahwa positif adanya alkaloid.

4.2 Identifikasi flavonoid. Sebanyak lebih kurang 1 g serbuk atau lebih kurang 2 mL ekstrak, ditambahkan air panas secukupnya lalu disaring. Kemudian 5 mL filtrat ditambahkan serbuk magnesium, 1 mL asam klorida pekat dan alkohol lalu dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Hasil akan menunjukkan warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol yang menandakan adanya flavonoid.

4.3 Identifikasi steroid. Sebanyak 1 g serbuk atau 2 mL ekstrak simplisiaditambahkan dengan 2 tetes larutan asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Hasil yang terbentuk menunjukkan adanya warna merah, hijau, ungu dan akhirnya biru yang menandakan adanya senyawa steroid.

5. Pembuatan ekstrak etanol herba ciplukan

Pada penelitian ini pembuatan ekstrak etanol menggunakan metode maserasi. Serbuk herba ciplukan diekstraksi dengan pelarut etanol 96%, dengan cara melarutkan serbuk herba ciplukan dengan etanol 96% dengan perbandingan

1,0 : 7,5. Ekstraksi dilakukan pada botol kaca kedap cahaya selama 5 hari sambil diaduk tiap harinya. Ekstrak disaring dengan kain flanel lalu disaring dengan corong Buchner sehingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan *vaccum rotary evaporator* pada suhu maksimal 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Voigt 1994).

6. Uji bebas alkohol ekstrak etanol herba ciplukan

Ekstrak etanol herba ciplukan yang sudah jadi, kemudian dilakukan uji bebas alkohol dengan cara ekstrak ditambah larutan asam asetat dan larutan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan hingga tidak tercium bau ester khas alkohol (DepkesRI 1993).

7. Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi dengan kisaran berat 150-300 gram, berumur 2-4 bulan dan sehat. Jumlah hewan uji yang digunakan untuk uji toksisitas akut sebanyak 25 ekor tikus putih betina yang dibagi dalam 5 kelompok dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Jumlah hewan uji yang digunakan untuk uji toksisitas subkronik sebanyak 100 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok secara acak yang tiap kelompok terdiri atas 20 ekor (10 ekor jantan dan 10 ekor betina). Tiap tikus ditimbang dan diberikan tanda pengenal dan diadaptasi dengan lingkungan laboratorium selama satu minggu. Sebelum digunakan, hewan uji dipuasakan selama 8-24 jam dengan diberi air minum. Setelah semua dipersiapkan, hewan uji dapat segera diberi bahan uji.

8. Perhitungan dosis hewan uji

Pengujian toksisitas akut dilakukan menggunakan metode konvensional dimana penentuan dosis terendah merupakan dosis tertinggi yang sama sekali tidak menimbulkan kematian. Dosis ekstrak etanol herba ciplukan yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis yang diambil dari ekstrak etanol herbal ciplukan sebagai antiartritis yaitu 250 mg/Kgbb (Lakoan 2014). Pengujian toksisitas subkronik dilakukan selama 90 hari dan dilanjutkan 28 hari pada kelompok satelit untuk melihat proses reversibel hewan uji. Sediaan obat diberikan secara oral dengan pembagian dosis pada hewan uji adalah sebagai berikut :

8.1. Dosis uji toksisitas akut

- Kelompok 1 : Dosis 250 mg/Kg
 Kelompok 2 : Dosis 500 mg/Kgbb
 Kelompok 3 : Dosis 1000 mg/Kgbb
 Kelompok 4 : Dosis 2000 mg/Kgbb
 Kelompok 5 : Dosis 4000 mg/Kgbb

8.2. Dosis uji toksisitas subkronik

- Kelompok 1 : Kontrol negatif (-) diberi CMC 1%
 Kelompok 2 : Dosis rendah 250 mg/Kgbb
 Kelompok 3 : Dosis sedang 500 mg/Kgbb
 Kelompok 4 : Dosis tinggi 1000 mg/Kgbb
 Kelompok 5 : Kontrol satelit dosis tinggi 1000 mg/Kgbb

9. Pengamatan gejala toksik

Gejala toksik pada uji toksisitas akut diamati selama 24 jam dengan beberapa rangsangan yang diberikan setelah pemberian sediaan uji, apabila hewan uji tidak ada yang mati, pengamatan dilanjutkan sehari sekali setelah itu selama 14 hari (BPOMRI 2014). Pengamatan gejala toksik ini selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji dan dua kali dalam seminggu. Gejala toksik yang diamati dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ tubuh dan sistem saraf (Harmita & Radji 2005)

Sistem	Tanda-tanda keracunan
Saraf otonom	Eksoftalmos (bola mata yang menonjol keluar), hidung berlendir, liur keluar, diare, sering kencing, dan piloereksi.
Perilaku	Kurang tenang/gelisah, posisi duduk dengan kepala mendongak, kepala menunduk, depresi berat, kaki menggaruk-garuk, terengah-engah, mudah terganggu, sikap bermusuhan agresif maupun defensif, ketakutan, bingung, aktivitas aneh.
Perasa/sensori	Sensitif terhadap rasa sakit, <i>righting</i> , refleks setempat dan pada kaki belakang, sensitif terhadap suara dan sentuhan, nistagmus, <i>phonation</i> .
Saraf otot	Aktivitas meningkat atau menurun, gemetar, kejang-kejang, ekor membengkok kebawah, dan kedepan, kaki belakang lemah, refleks jelek, <i>ophisthotonus</i> , kematian.
Pembuluh darah jantung	Detak jantung naik atau turun.
Pernapasan/respiratori	Breathless.
Mata/okular	Midrasis, miosis, lakrimasi, ptosis, nistagmus, refleks sinar pupilar.
Gastrointestinal/gastrourinari	Air liur keluar terus, mencret, feses dan urin berdarah, sembelit, buang air besar dan kencing tidak terkontrol.
Kulit (<i>cutaneous</i>)	Alopecia, piloereksi, gemetar seperti anjing, badannya basah dan bengkak.

10. Penentuan nilai LD₅₀ pada uji toksisitas akut

Pada penentuan nilai LD₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus Probit yaitu :

Metode grafik probit (Harmita & Radji 2004):

$$y = a + bx$$

Dimana :

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

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

11. Monitoring berat badan dan konsumsi pakan

Pengamatan berat badan hewan uji dilakukan selama penelitian berlangsung. Pada uji toksisitas akut berat badan hewan uji ditimbang pada awal penelitian, bila pengamatan berlangsung hingga hari ke 14, maka penimbangan berat badan hewan uji dilakukan dua kali dalam seminggu dan di hari ke 14.

Sedangkan pada uji toksisitas subkronik berat badan hewan uji ditimbang di awal penelitian dan setiap hari selama 90 hari, untuk kelompok satelit ditambah 28 hari. Pakan hewan uji ditimbang setiap hari untuk mengetahui jumlah pakan yang dikonsumsi (BPOMRI 2014).

12. Pengambilan darah

Pengambilan darah pada uji toksisitas subkronik dilakukan selama penelitian berlangsung untuk mengetahui nilai parameter biokimia klinis hewan uji. Darah diambil di awal penelitian (T0), pada hari ke 30 (T1), hari ke 60 (T2), dan hari ke 90 (T3), serta untuk kelompok satelit ditambah pengambilan darah pada hari ke 118 (T4). Sebelum diambil darahnya hewan uji dianastesi terlebih dahulu dengan menggunakan eter. Anastesi dilakukan dengan cara memasukkan hewan uji ke dalam toples kaca bersamaan dengan kapas yang sudah dibasahi eter selama beberapa detik sampai hewan uji tenang. Selanjutnya hewan uji dikeluarkan dari toples dan bisa diambil darahnya. Darah diambil dari *Plexus Retroorbitalis* melalui mata. Darah dimasukkan ke dalam tabung tabung *Eppendorf* dan didiamkan dalam suhu kamar ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tangas es tidak boleh kurang dari 20 menit dan segera disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya

serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOMRI 2014).

13. Pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT

Kelompok enzim transaminase yang terdiri dari *Serum Glutamin Piruvat Transamiase* (SGPT) dan *Serum Glutamin Oksaloasetat Trasaminase* (SGOT) digunakan sebagai penentu fungsi hati. Kadar kedua enzim yang meningkat menunjukkan adanya kerusakan hati.

Darah yang telah diambil, ditampung dalam tabung sentrifuge. Kemudian sentrifuge hingga terpisah antara serum dan sel-sel darah menjadi pemisahan antara cairan bening di atas, dan endapan. Sentrifuge dilakukan selama 15 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Serum darah sebanyak 100 µl dicampur dengan reagen Kit SGPT dan SGOT sebanyak 1000 µl pada fotometer pada panjang gelombang 340 nm dan suhu 37°C. Absorbansi yang terbaca pada tiap –tiap hewan uji dihitung kadar SGPT dan SGOT (Indarto 2013).

14. Penimbangan organ dan penetapan % indeks organ

Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dan organnya diambil untuk dihitung berat organ dan persen indeks organ. Hewan uji dikorbankan dengan cara *decapitation* (perusakan otak lewat leher). *Decapitation* dilakukan dengan jalan memotong kepala hewan dengan menggunakan peralatan tajam dengan tujuan untuk memutus kepekaan saraf tulang belakang.

Pada uji toksisitas akut dan subkronik, hewan uji yang telah mati, organnya diambil untuk dihitung % indeks organ. Organ yang ditimbang pada penelitian ini adalah hati. Organ diambil kemudian dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penjerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan berat organ. % indeks organ dapat diperoleh dengan menggunakan persamaan sebagai

$$\text{berikut: \% indeks organ} = \frac{\text{berat organ}}{\text{berat badan}} \times 100\%.$$

15. Pemeriksaan makropatologi

Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dan langsung segera diotopsi untuk dilakukan pengamatan organ secara makropatologi. Organ yang diamati pada pemeriksaan makropatologi adalah hati.

16. Perlakuan hewan uji pasca bedah

Pada akhir penelitian setelah hewan uji dibedah dan diambil organnya, selanjutnya jasad hewan uji dikubur dengan membuat lubang dengan kedalaman minimal setengah meter untuk menghindari terbongkarnya tempat penguburan. Hewan uji dikubur di tempat yang telah disediakan di Universitas Setia Budi.

17. Pemeriksaan histopatologi

Prosedur pemeriksaan histopatologi menurut BPOM RI 2014 antara lain :

17.1. Fiksasi pertama. Semua organ direndam di dalam larutan dapar formalin 10% dan harus sering digoyang. Kemudian organ tersebut dibiarkan di dalam botol selama 1 minggu pada suhu kamar.

17.2. Pemotongan kasar. Formalin dari masing-masing botol dibuang, lalu organ dipotong secara kasar. Kemudian potongan organ dari setiap hewan uji dimasukkan ke dalam kantong tersendiri, sedangkan sisa potongan dibungkus dengan kain kassa untuk arsip.

17.3. Fiksasi kedua. Organ dimasukkan ke dalam botol berisi larutan dapar formalin untuk dilakukan fiksasi yang kedua paling sedikit selama 3 hari.

17.4. Pencucian. Setelah fiksasi kedua, untuk menghilangkan sisa formalin, kantong yang berisi organ dimasukkan ke dalam bak yang berisi air dan dialiri air ledeng secara terus menerus selama paling sedikit 6 jam.

17.5. Proses dehidrasi. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi menggunakan alat dehidrasi otomatis dan perendaman di dalam parafin cair.

17.6. Perendaman dalam parafin cair. Proses pembersihan organ dilakukan dengan cara memasukkan kantong-kantong organ yang telah mengalami proses dehidrasi ke dalam bejana yang berisi parafin cair selama 60 menit.

17.7. Pembuatan sediaan blok. Pembuatan sediaan blok dilakukan dengan cara menyiapkan beberapa cawan porselin dan dipanaskan diatas api bunsen. Kedalam cawan dituangkan parafin cair. Kantong organ yang terendam dalam bejana yang berisi parafin cair dibuka dan organ segera dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah berisi parafin cair. Selanjutnya cawan yang berisi organ dibiarkan membeku. Kemudian cawan direndam dalam air kira-kira

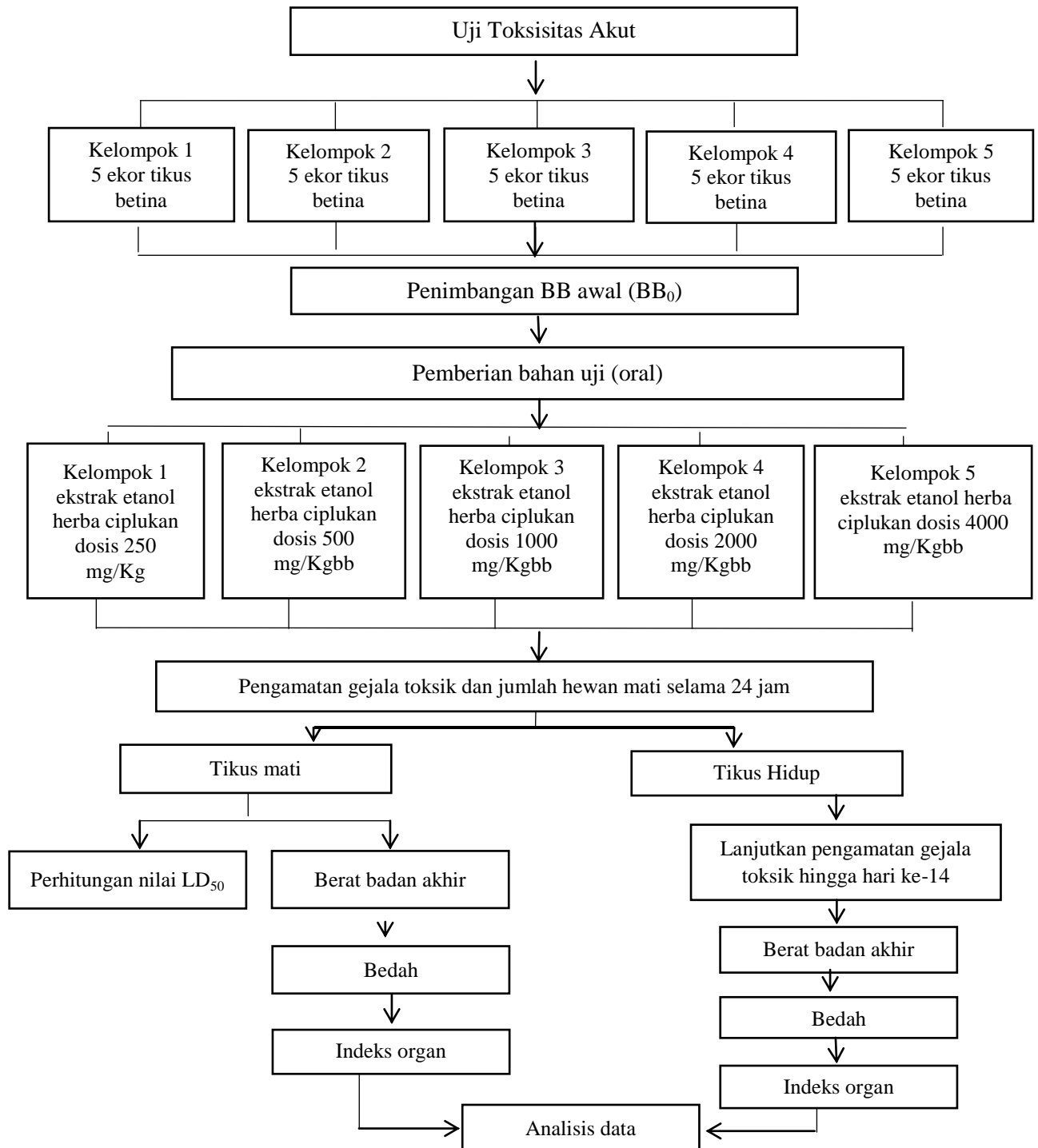
60 menit lalu disimpan di dalam lemari es selama 12 jam. Setelah itu parafin yang berisi organ yang telah beku dikeluarkan dari cawan dan blok parafin dipotong berdasarkan kelompok organ. Selanjutnya potongan blok parafin dilekatkan pada permukaan blok kayu.

17.8. Pemotongan organ. Potongan-potongan organ yang sudah ditanam dalam blok parafin dan dilekatkan pada blok kayu, dipotong menjadi sayatan tipis menggunakan mikrotom. Setelah memperoleh potongan yang bagus, potongan tersebut dimasukkan kedalam bak yang berisi air sehingga mengambang dan selanjutnya ditempelkan pada kaca obyek. Selanjutnya sediaan/ preparat disimpan dalam suhu kamar untuk dilakukan pewarnaan.

17.9. Pewarnaan jaringan. Pewarnaan jaringan dilakukan dengan metode Hematoksin-eusin. Pewarnaan dapat dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis sebagai berikut: pertama-tama bejana no.1 dan 2 masing-masing diisi dengan xilen 100%, bejana no.3 dan 4 dengan etanol absolut, bejana no.5 dengan etanol 90%, bejana no.6 dengan etanol 80% dan bejana no.7 dengan etanol 70%. Setelah itu tuas pengatur waktu diatur sesuai waktu dari masing-masing bejana. Selanjutnya sediaan histopatologi diletakkan dalam keranjang khusus, lalu mesin dihidupkan dan sediaan pertama-tama direndam didalam bejana no.1 dan 2 untuk proses deparafinasi masing-masing selama 12 menit sambil digoyang, dilakukan dehidrasi dengan merendam preparat dalam etanol absolut I dan II masing-masing selama 5 menit, dipindahkan ke dalam etanol 90; 80 dan 70% masing-masing selama 5 menit, dimasukkan dalam air mengalir selama 12 menit, direndam dalam larutan hematoksilin Mayer selama 5 menit, dicuci dalam air mengalir selama 2 x 12 menit, pewarnaan dengan eosin 0,25% selama 12 menit, dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan mencelupkan dalam etanol 70% sebanyak 8 kali, dimasukkan dalam etanol 80; 90 % dan etanol absolut I dan II masing-masing selama 10 menit. Terakhir dimasukkan ke dalam xilen I, II, III masing-masing selama 12 menit. Kemudian kaca obyek ditutup dengan kaca penutup memakai perekat eukit. Preparat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran yang sesuai. Inti sel akan tampak berwarna biru kelabu dan sitoplasma merah muda (BPOMRI 2014).

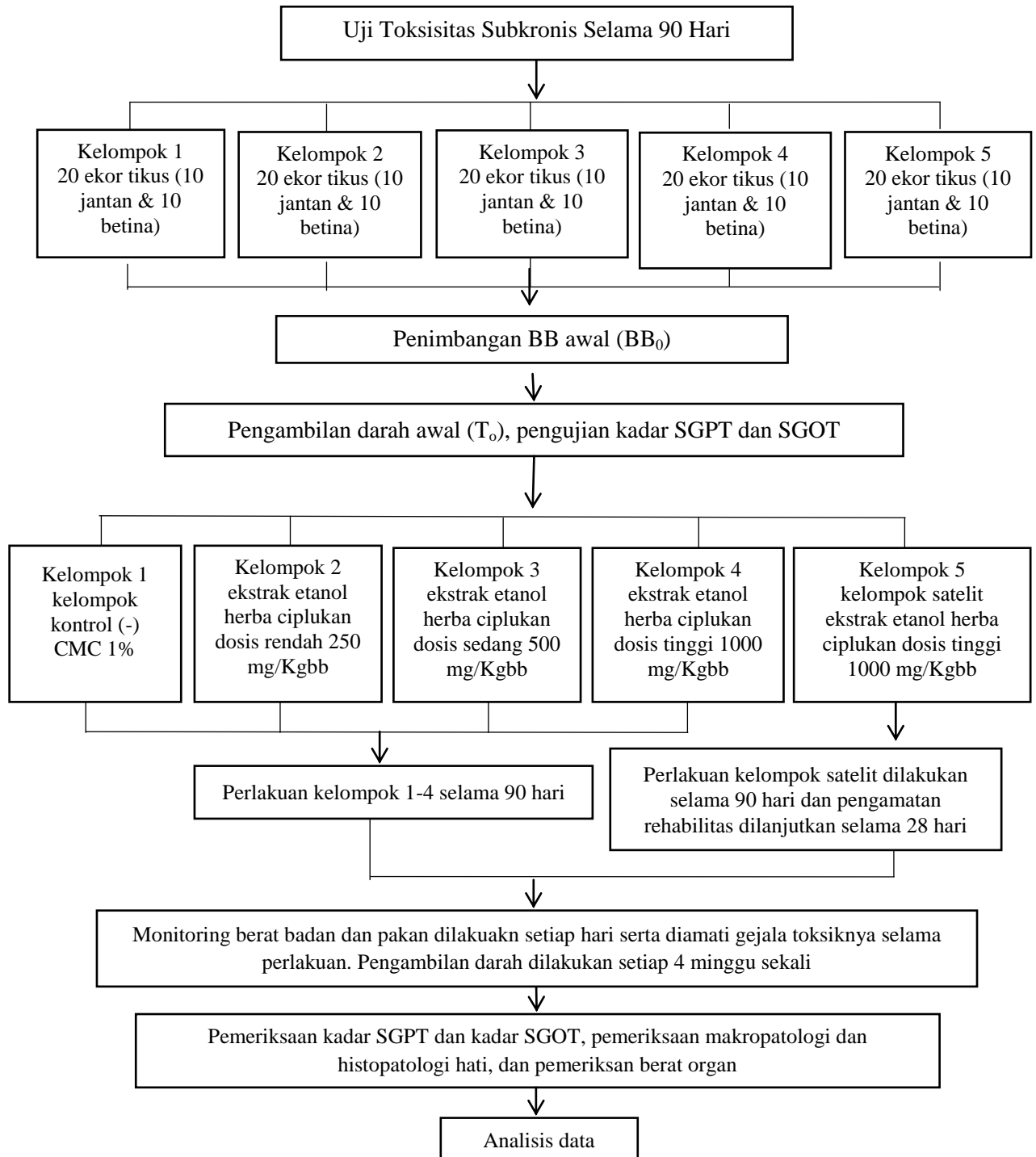
E. Skema Penelitian

1. Skema penelitian uji toksisitas akut



Gambar 4. Skema uji toksisitas akut.

2. Skema penelitian uji toksisitas subkronik



Gambar 5. Skema uji toksisitas subkronis 90 hari.

F. Analisis Data

Data yang didapat pada uji toksisitas subkronis adalah perubahan kadar SGPT dan SGOT serta gambaran histopatologi organ hati. Kemudian diuji distribusi datanya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, sedangkan kehomogenitasan variannya diuji dengan uji *Levene*. Apabila $P > 0,05$ maka distribusi normal dan homogenitasnya untuk tiap varian, dilakukan uji parametrik dengan uji Anova satu jalan, apabila $P < 0,05$ maka data terdistribusi normal dan dilakukan uji *Levene*. Dan jika perbedaannya bermakna, dilanjutkan dengan *Tukey* dengan taraf kepercayaan 95%. Apabila data terdistribusi tidak normal, dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan jika perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji *Mann-Whithney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian Tanaman Ciplukan

1. Hasil determinasi herba ciplukan

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui tanaman yang diambil adalah benar-benar tanaman yang digunakan dalam penelitian dengan mencocokkan ciri morfologis tanaman. Berdasarkan surat keterangan hasil determinasi nomor 172/DET/UPT-LAB/28/IV/2017, dinyatakan bahwa sampel tersebut adalah herba ciplukan (*Physallis angulata* L.). Surat keterangan hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk herba ciplukan

Herba ciplukan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Maret 2017. Seluruh bagian tanaman yang telah dicuci, dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat terbuka dan ditutupi menggunakan kain hitam agar tidak terkena sinar matahari langsung untuk menghilangkan kadar air agar herba ciplukan tidak mudah ditumbuhi jamur dan/atau bakteri yang dapat mengakibatkan proses pembusukan, serta menghindari menguapnya zat aktif yang diperlukan, selain itu juga dapat mempermudah pada saat proses pengeringan.

Setelah itu dilakukan pengeringan lebih lanjut dengan cara simplisia yang telah diangin-anginkan dimasukan kedalam oven dengan suhu 40°C, suhu perlu dijaga konstan, karena apabila suhu terlalu tinggi dapat merusak zat aktif yang terkandung di dalam tanaman dan bila suhu terlalu rendah maka pengeringan menjadi tidak sempurna. Berat herba ciplukan setelah dikeringkan adalah 5000 gram. Kemudian herba yang telah dikeringkan dihitung bobot kering terhadap berat basah sehingga diperoleh rendemen herba ciplukan adalah 9,14 %. Hasil perhitungan rendeman dapat dilihat pada lampiran 2.

Tabel 4. Hasil perhitungan rendemen berat kering herba ciplukan

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
5000	457	9,14

Herba ciplukan yang telah kering dibuat serbuk dengan menggunakan mesin giling dan diayak dengan ayakan nomor 40. Tujuan simplisia dibuat serbuk adalah untuk memperbesar luas permukaan kontak serbuk dengan pelarut pada saat ekstraksi, sehingga senyawa aktif akan terekstrak lebih banyak dan prosesnya lebih cepat.

3. Hasil penetapan kadar air serbuk herba ciplukan

Penetapan kadar air dalam serbuk herba ciplukan pada penelitian ini menggunakan *Sterling Bidwell*. Penetapan kadar air ini menggunakan pelarut xylen. Xylen digunakan sebagai pelarut karena memiliki titik didih yang lebih tinggi dari air dan tidak bercampur dengan air, sehingga mempermudah dalam penentuan kadar air. Kadar air yang memenuhi persyaratan adalah kurang dari 10% (Sudarmadji *et al* 1997).

Tabel 5. Persentase penetapan kadar air serbuk herba ciplukan

Replikasi	Serbuk herba ciplukan (g)	Kandungan air (ml)	Kadar (%)
Replikasi I	20	1,5	7,5
ReplikasiII	20	1,8	9
ReplikasiIII	20	1,5	7,5
Rata-rata ± SD	20	1.6	8,00 ± 0,86

Persentase rata-rata kadar air dalam serbuk herba ciplukan adalah 8,0 %. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air serbuk herba ciplukan telah memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10 %. Hasil perhitungan persentase rata-rata kadar air serbuk herba ciplukan terlampir pada lampiran 4.

4. Hasil Pembuatan ekstrak etanol herba ciplukan

Pembuatan ekstrak etanol herba ciplukan menggunakan metode maserasi dengan perbandingan serbuk dan pelarut adalah 1:10. Serbuk daun ciplukan yang digunakan adalah 1000 gram dengan pelarut etanol 96% sebanyak 10 liter.

Tabel 6. Hasil persentase rendemen ekstrak herba ciplukan

Sampel	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstra (gram)	Rendemen (%)
Herba ciplukan	1000	42,22	4,22

Tabel 6 menunjukkan persentase rendemen dari ekstrak herba ciplukan sebesar 4,22% dan perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak herba ciplukan

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan dilakukan dengan menggunakan metode uji tabung, yang dimana hasilnya dilihat secara kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan alkaloid, flavonoid, dan steroid. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan

Kandungan kimia	Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Steroid	+	+

Hasil identifikasi kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid pada tabel 7 menunjukkan hasil yang positif, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Basey *et al* (1992), bahwa herba ciplukan mengandung *alkaloid phygrine* dengan struktur *bis-hygrine*. Pada penelitian Milena *et al* (2003), bahwa kandungan steroid berupa physalin B, D, F, dan G serta *seco*-steroid dapat ditemukan pada biji ciplukan.

6. Hasil uji bebas etanol ekstrak herba ciplukan

Uji bebas etanol ekstrak herba ciplukan menggunakan test esterifikasi yang bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi dalam pengujian toksisitas pada hewan uji. Ekstrak herba ciplukan ditambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat lalu dipanaskan. Hasil uji esterifikasi kali ini, didapatkan hasil bahwa ekstrak herba ciplukan tidak berbau ester yang khas, yang menandakan bahwa tidak terdapat etanol di dalam ekstrak herba ciplukan.

B. Hasil Uji Toksisitas Akut dan Subkronis Herba Ciplukan

1. Hasil uji toksisitas akut herba ciplukan

1.1. Pesiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih betina galur wistar dengan berat badan 140-200 gram sebanyak 25 ekor yang

diperoleh dari perternakan khusus hewan uji di Surakarta, Jawa tengah. Penggunaan jenis kelamin betina karena lebih sensitif dibandingkan jenis kelamin jantan, dimana hal ini lebih menguntungkan jika digunakan untuk uji toksisitas akut. Tikus yang digunakan, sebelumnya diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan tempat uji. Tikus dibedakan berdasarkan kelompok dosis, dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Surat hewan uji dapat dilihat pada lampiran 8.

1.2. Penetapan dosis. Dosis yang digunakan berdasarkan dosis efektif ekstrak herba ciplukan sebagai antiartritis yaitu 250 mg/kgbb (Lakoan 2014). Dosis yang diberikan pada hewan uji kelompok I adalah 250 mg/kgbb, untuk dosis kelompok II adalah 500 mg/kgbb, untuk dosis kelompok III adalah 1000 mg/kgbb, untuk dosis kelompok IV adalah 2000 mg/kgbb, dan untuk kelompok dosis V adalah 4000 mg/kgbb. Pemberian sediaan uji diberikan sesuai berat badan setiap hewan uji. Perhitungan dosis terdapat pada lampiran 12.

1.3. Hasil LD₅₀. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Tikus diberi perlakuan sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan. Pemberian sediaan uji menggunakan sonde. Pengamatan perilaku atau gejala klinis yang ditimbulkan dilakukan selama 24 jam pada waktu ke 0, 0,5, 1, 2, 4, dan 24 jam. Untuk pengamatan kematian dilakukan selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 8. Hasil persentase kematian hewan uji setelah pemberian sediaan uji

Kelompok	Dosis (mg/kg BB tikus)	Jumlah hewan mati	% kematian
Dosis 250 mg/Kgbb	250	0	0
Dosis 500 mg/Kgbb	500	0	0
Dosis 1000 mg/Kgbb	1000	0	0
Dosis 2000 mg/Kgbb	2000	0	0
Dosis 4000 mg/Kgbb	4000	0	0

Tabel 8 menunjukkan persentase kematian pada hewan uji setelah pemberian sediaan ekstrak herba ciplukan pada setiap kelompok. Dari tabel di atas menunjukkan bahwa pemberian sediaan uji ekstrak herba ciplukan dengan dosis tunggal secara peroral pada dosis paling tinggi yaitu 4000 mg/kgbb tikus tidak menimbulkan kematian, sehingga untuk hasil dari LD₅₀ pada uji toksisitas akut ini

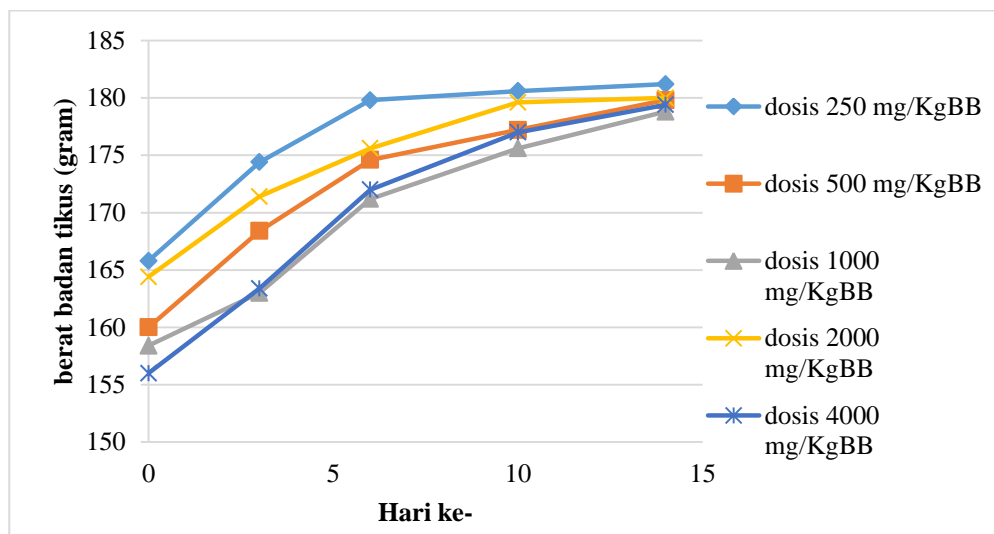
menggunakan nilai LD₅₀ semu yaitu, nilai dosis tertinggi yang dapat diberikan pada hewan uji. Jadi untuk nilai LD₅₀ ekstrak herba ciplukan untuk hewan uji tikus betina galur wistar adalah lebih dari 4000 mg/kgbb tikus.

1.4. Hasil monitoring berat badan tikus. Hewan uji ditimbang pada saat sebelum pemberian sediaan uji dan setelah pemberian sediaan uji setiap dua kali seminggu yaitu pada hari ke 0, 3, 6, 10, dan 14. Hal ini bertujuan untuk mengetahui berat badan yang terjadi selama proses pengamatan. Setelah dilakukan penimbangan diketahui setiap minggunya berat tikus mengalami kenaikan. Terjadinya kenaikan berat badan pada kelompok perlakuan mungkin disebabkan oleh pemberian sediaan ekstrak herba ciplukan, secara empiris zat pahit dalam herba ciplukan dapat meningkatkan nafsu makan (Dalimarta 2006). Tetapi hal ini tidak dapat disimpulkan bahwa kenaikan berat badan tikus disebabkan oleh sediaan uji, bisa terjadi karena pemberian makanan dan minuman setiap harinya. Hasil penimbangan berat badan dapat dilihat pada lampiran 13.

Tabel 9. Rata-rata berat badan tikus

Kelompok	Rata-rata berat badan tikus (gram) ± SD				
	Hari ke-				
	0	3	6	10	14
Dosis 250 mg/Kgbb	165,80 ± 20,11	174,40 ± 23,64	179,80 ± 26,73	180,60 ± 27,03	181,20 ± 2796
Dosis 500 mg/Kgbb	160,00 ± 24,18	168,40 ± 29,63	174,60 ± 34,85	177,20 ± 35,39	179,80 ± 37,51
Dosis 1000 mg/Kgbb	158,40 ± 19,69	163,00 ± 22,25	171,20 ± 28,22	175,80 ± 29,79	178,80 ± 29,21
Dosis 2000 mg/Kgbb	164,40 ± 20,67	171,40 ± 20,01	175,60 ± 18,07	179,60 ± 19,86	180,00 ± 21,34
Dosis 4000 mg/Kgbb	156,00 ± 23,83	163,40 ± 22,50	172,00 ± 22,92	177,00 ± 24,32	179,40 ± 24,21

Pemeriksaan berat badan T0, T3, T6, T10, T14 diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh semua data terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan analisis *One Way Anova* dengan nilai yang signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hal ini berarti ekstrak etanol herba ciplukan tidak menyebabkan perubahan berat badan pada hewan uji pada setiap kelompok perlakuan. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 27.



Gambar 6. Grafik berat badan hewan uji terhadap waktu dengan kelompok dosis yang berbeda.

Gambar 6 menunjukkan adanya kenaikan berat badan hewan uji pada setiap kelompok. Kenaikan berat badan hewan uji pada hari ke 0 sampai hari ke 6, menunjukkan kenaikan yang cukup signifikan, tetapi pada hari ke 10 sampai ke 14, kenaikan berat badan tidak terlalu signifikan. Peningkatan berat badan lebih dipengaruhi oleh masa pertumbuhan karena seiring dengan bertambahnya umur tikus, maka ukuran tubuh juga akan bertambah besar akibat berkembangnya sel. Selain itu, perubahan berat badan juga dipengaruhi oleh jumlah asupan pakan tikus. Semakin banyak pakan yang dikonsumsi maka berat badan akan meningkat.

1.5. Hasil pengamatan gejala toksik. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dan ditambah 14 hari untuk melihat gejala toksik yang ditimbulkan setelah pemberian sediaan uji. Pengamatan gejala toksik yang dilakukan berupa saraf otonom, perilaku, perasa/sensori, saraf otot, pembuluh darah jantung, pernafasan/respiratori, mata/okular, gastrointestinal/gastrourinari, serta kulit hewan uji.

1.5.1. Perubahan saraf otonom. Pengamatan meliputi eksoftalmus dan piloereksi setelah pemberian sediaan uji pada hewan uji. Pengamatan eksoftalmus merupakan pengamatan yang mengamati adanya bola mata yang menonjol keluar. Tabel 3 menunjukkan hasil pengamatan gejala toksik pada sistem saraf otonom berupa eksoftalmus.

Tabel 10. Hasil persentase terjadi eksoftalmus selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya eksoftalmus				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
	Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Tabel 10 menunjukkan bahwa pada pemberian sediaan uji pada semua kelompok menunjukkan persentasi eksoftalmus adalah 0%. Hal ini berarti tidak terdapat kondisi bola mata yang keluar. Pengamatan gejala toksik juga dilakukan selama 14 hari. Pada tabel 11 menunjukkan hasil persentasi pada hari ke 4 sampai 14 ialah 0% yang berarti tidak terjadi kondisi eksoftalmus.

Selain eksoftalmus, perubahan syaraf otonom juga meliputi piloereksi. Piloereksi merupakan berdirinya bulu-bulu di bagian tubuh tikus yang disebabkan adanya reaksi sensitivitas terhadap sentuhan. Pengamatan piloereksi juga dilakukan selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji dan 14 hari untuk melihat gejala toksik yang timbul.

Tabel 11. Hasil persentase terjadi piloereksi selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya piloereksi				
	0,5	1	2	4	24
	Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
	Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Tabel 11 menunjukkan hasil presentasi pengamatan piloereksi yaitu 0% yang berarti tidak adanya kondisi bulu rambut yang berdiri. Hal tersebut juga terjadi pada pengamatan pada hari ke 4 sampai 14.

Sistem saraf otonom merupakan bagian dari sistem saraf motorik yang aktivitasnya tidak di bawah kontrol kesadaran secara langsung. Salah satu jenis transmitor yang bekerja pada sistem saraf otonom adalah asetilkolin, yang disintesis dan dilepaskan oleh saraf kolinergik (Indra 2012). Tumbuhan seperti *P. peruviana* dan *P. alkengingi* memiliki kandungan kimia alkaloid tropan yang bekerja sebagai antikolinergik dengan cara memblok reseptor muskarinik (Griffin & Lin 2000; Oksman-Caldentey 2007; Reina *et al.* 2010). Menurut Ramnaire (2006) dosis dan efek yang berlebihan pada antikolinergik dapat mengakibatkan keracunan antikolinergik atau sindrom antikolinergik, meliputi midriasis pada mata dan kekeringan membran mukosa yang terjadi pada kulit (Christopher *et al.* 2006), namun hal ini tidak terjadi pada pengujian toksisitas akut yang dilakukan.

1.5.2. Perubahan perilaku. Perubahan perilaku meliputi depresi berat yaitu keadaan yang menyebabkan menjadi sensitif, menurunnya aktivitas motorik, dan individualis (nyaman sendiri). Pengamatan ini dilakukan pada 24 jam setelah pemberian sediaan uji dan 14 hari setelahnya untuk melihat gejala toksik yang timbul.

Tabel 12. Hasil persentase terjadi depresi berat selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya depresi berat				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	80	80	60	80	80
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	80	60	40	60	60

Hasil menunjukkan bahwa pada tabel 12 yakni pada dosis 4000 mg/kgbb telah terjadi depresi berat hampir pada setiap tikus. Sedangkan pada pengamatan hari ke 4 sampai 14 tikus masih mengalami depresi berat. Adanya gejala depresi berat menandakan adanya penurunnya aktivitas motorik, rasa sensitifitas, dan

individualis (nyaman sendiri) pada saraf kolinergik. Dosis dan efek yang berlebihan pada antikolinergik dapat mengakibatkan keracunan antikolinergik atau sindrom antikolinergik (Ramnaire 2017), sehingga gejala toksik yaitu depresi berat pada dosis 4000 mg/kgbb bisa terjadi karena adanya senyawa alkaloid pada herba ciplukan.

1.5.3. Perubahan perasa/sensori. Perubahan perasa atau sensori meliputi sensitif terhadap suara yaitu perilaku memberikan respon secara tiba-tiba ketika diberikan rangsangan suara. Pengamatan dilakukan 24 jam dan 14 hari setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 13. Hasil persentase terjadi sensitif terhadap suara selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya sensitive terhadap suara				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	20
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 13 menunjukkan hasil persentase yakni 0%, yang berarti bahwa kondisi sensitifitas terhadap suara tidak ada. Pada pengamatan hari ke 4 sampai 14, terjadi sensitofitas terhadap suara pada kelompok dosis 2000 mg/Kgbb pada hari ke 14. Gejala sensitif terhadap suara merupakan gangguan pendengaran pada tikus yang diakibatkan oleh sindrom antikolinergik berupa halusinasi pendengaran. Halusinasi pendengaran merupakan abnormalitas dari peningkatan sensitivitas pendengaran setelah diberikan stimulasi eksternal (Christopher *et al.* 2006). Tetapi tidak semua tikus mengalami hal tersebut, bahkan pada dosis tinggi seperti 4000 mg/kgbb hewan tidak mengalami sensitifitas terhadap suara. Terjadinya sensitifitas terhadap suara pada kelompok dosis 2000 mg/kgbb bisa terjadi disebabkan oleh faktor fisiologis dari hewan uji tersebut.

1.5.4. Perubahan saraf otot. Pada gejala toksik ini meliputi aktivitas meningkat dan kejang-kejang. Pada aktivitas meningkat dilakukan pengamatan selama 24 jam dan 14 hari dengan memperhatikan kondisi bergerak terus menerus atau cenderung diam.

Tabel 14. Hasil persentase terjadi aktivitas meningkat selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya aktivitas meningkat				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	60
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	60	0	80	60	60

Tabel 14 menunjukkan hasil persentase 60% pada dosis 4000 mg/kgbb yakni jam ke 24, yang menunjukkan adanya aktivitas yang meningkat. Sedangkan pada pengamatan selama 14 hari, hasil presentasi menunjukkan adanya gejala aktivitas meningkat pada kelompok dosis 4000 mg/kgbb pada hari ke 7, 10, dan 14. Peningkatan aktivitas motorik diakibatkan oleh adanya agitasi psikomotor. Agitasi psikomotor adalah kondisi patologi yang dikarakterisasi adanya peningkatan emosional, motor (pergerakan), dan/atau aktivitas perilaku (Marder 2006). Salah satu penyebab agitasi psikomotor adalah sindrom antikolinergik yang terjadi karena adanya kelainan pada reseptor muskarinik atau neurotransmitter asetilkolin (Christopher *et al.* 2006).

Pengamatan lain pada sistem saraf otot adalah terjadinya kejang. Kejang merupakan aktivitas otot tubuh yang berkontraksi secara tidak terkendali (involunter) atau secara terkendali (volunter). *Gamma-aminobutyric acid* (GABA) merupakan penghambat neurotransmitter utama di korteks serebral dengan mempertahankan tingkat penghambatan yang mengimbangi eksitasi neural. Apabila keseimbangan ini terganggu, maka kejang bisa terjadi (Treiman 2001).

Tabel 15. Hasil persentase terjadi kejang-kejang selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya kejang-kejang				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
	Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 15 menunjukkan tidak terjadinya kejang-kejang dengan hasil persentase 0%. Sedangkan pada pengamatan selama 14 hari juga tidak menunjukkan aktivitas kejang-kejang. Sehingga sediaan uji ekstrak etanol herba ciplukan tidak menimbulkan gejala toksik kejang pada hewan uji karena kandungan senyawa dalam ciplukan tidak menimbulkan penghambatan reseptor GABA.

1.5.5. Perubahan pembuluh darah jantung. Pengamatan ini meliputi perdarahan yakni keluarnya darah akibat robekan atau cedera. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dan 14 hari seperti pada tabel 16.

Tabel 16. Hasil persentase terjadi perdarahan selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya perdarahan				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
	Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Tidak terjadi perdarahan pada hewan uji selama 24 jam, begitu pula pada pengamatan pada hari ke 4 sampai 14, hasil presentase menunjukkan 0%. Hal ini

berarti senyawa herba ciplukan tidak berpengaruh terhadap gejala toksik perubahan pembuluh darah jantung.

1.5.6. Perubahan pernafasan/respiratori. Pengamatan gejala toksik ini meliputi *breathless* yakni kondisi dimana bernafas pendek dan tersendat. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dan 14 hari setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 17. Hasil persentase terjadi *breathless* selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya <i>breathless</i>				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	10
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Kondisi dimana bernafas pendek dan tersendat tidak timbul pada pengamatan perubahan pernafasan pada 24 jam setelah pemberian sediaan uji. Pada hari ke 4 sampai 14 terjadi kondisi *breathless*, yakni pada kelompok 1000 mg/kgbb sebesar 10%. Kandungan *alkaloid tropan* bekerja sebagai antikolinergik dengan cara memblokir reseptor muskarinik (Griffin & Lin 2000; Oksman-Caldentey 2007; Reina *et al.* 2010). Dosis dan efek yang berlebihan pada antikolinergik dapat mengakibatkan keracunan antikolinergik atau sindrom antikolinergik (Ramnaire 2017), salah satunya adalah kegagalan respirasi (Christopher 2006), sehingga kemungkinan perbedaan dosis dan akumulasi dosis dapat menyebabkan sindrom antikolinergik dan menimbulkan kegagalan respirasi. Tetapi pada pengujian akut ini, hal ini tidak terjadi pada semua tikus, hanya pada dosis 1000 mg/kgbb, dimana *breathless* bisa saja terjadi karena faktor fisiologis pada hewan uji tersebut.

1.5.7. Perubahan mata/okular. Kondisi perubahan mata meliputi pengamatan midriasis dan lakrimasi. Midriasis merupakan pelebaran pupil mata

pada hewan uji setelah pemberian sediaan uji yang dilakukan pengamatannya selama 24 jam dan 14 hari.

Tabel 18. Hasil persentase terjadi midriasis selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya midriasis				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
	Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Tabel 18 menunjukkan hasil presentase midriasis yakni adalah 0%, yang berarti tidak terjadi pelebaran pupil mata pada setiap kelompok hewan uji, lalu pada pengamatan hari ke 4 sampai 14 pun juga tidak tampak gejala midriasis. Selain midriasis terdapat pula kondisi lakrimasi yaitu sekresi atau pengeluaran air mata. Beberapa tumbuhan dari famili Solanaceae seperti *P. peruviana* dan *P. alkengingi* memiliki kandungan kimia alkaloid tropan yang bekerja sebagai antikolinergik (Griffin & Lin 2000; Oksman-Caldentey 2007; Reina *et al.* 2010) Dosis dan efek yang berlebihan pada antikolinergik dapat mengakibatkan keracunan antikolinergik atau sindrom antikolinergik (Ramnaire 2017), meliputi midriasis pada mata dan kekeringan membran mukosa yang terjadi pada kulit (Christopher *et al.* 2006). Tetapi hal ini tidak terjadi pada pengujian toksisitas akut kali ini, hal ini berarti senyawa alkaloid pada herba ciplukan tidak berefek pada pengujian toksisitas akut.

Tabel 19. Hasil persentase terjadi lakrimasi selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya lakrimasi				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Pengamatan lakrimasi tidak tampak adanya kondisi pengeluaran air mata pada waktu 24 jam, lalu pada hari ke 4 sampai 14 juga tidak tampak, yakni dengan hasil persentase 0%. Lakrimasi yang teramati pada penelitian ini berupa produksi yang berlebihan dan akumulasi pigmen porfirin (berwarna merah muda-merah-jingga) di daerah sekitar mata. Porfirin merupakan kandungan nitrogen organik yang membantu pembentukan substansi penting di dalam tubuh seperti hemoglobin. Beberapa jenis porfirin dapat ditemukan pada kelenjar Harderian (kelenjar mata) pada tikus. Sekresi porfirin disebabkan karena beberapa faktor stres pada tikus seperti nutrisi yang rendah, nyeri/sakit, stres lingkungan (*handling* tikus, sifat agresif tikus lain, banyaknya tikus pada satu kandang), infeksi pada mata (Reis *et al.* 2005). Pada pengujian toksisitas akut tidak terjadi lakrimasi pada hewan uji.

1.5.8. Perubahan gastrointestinal/gastrourinari. Meliputi diare dan feses/urin berdarah. Diare merupakan pengeluaran tinja berair berkali-kali yang tidak normal. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dan 14 hari setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 20. Hasil persentase terjadi diare selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya diare				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	10
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	10

Berdasarkan tabel 19 menunjukkan hasil persentase 0%, yang berarti tidak ada kondisi diare yang terjadi pada setiap kelompok hewan uji. Sedangkan pada tabel 31, pada hari ke 4 sampai 14 tampak adanya diare pada kelompok dosis 1000 mg/kgbb dan 4000 mg/kgbb masing-masing sebesar 10%. Terjadinya diare pada pada hewan uji ini, tidak dapat disimpulkan bahwa herba ciplukan yang menyebabkan diare terjadi, karena jumlah hewan uji yang mengalami diare hanya satu ekor saja, hal ini sesuai dengan yg dilakukan oleh Nanumala *et al.* (2012) tentang aktivitas antiulserasi ekstrak etanol ciplukan dosis 500 mg/kgbb menunjukkan penurunan indeks ulser secara signifikan dan menghambat kerusakan mukosa lambung. Selain diare pengamatan feses dan urin berdarah juga dilakukan selama 24 jam dan 14 hari.

Tabel 21. Hasil persentase terjadi feses dan urin berdarah selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya feses dan urin berdarah				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
	Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Tidak tampak adanya darah pada feses atau urin dari setiap kelompok hewan uji pada pengamatan 24 jam sampai pada hari ke 4 sampai 14 setelah pemberian sediaan uji. Nanumala *et al.* (2012) tentang aktivitas antiulserasi. Ekstrak etanol ciplukan dosis 500mg/kgbb menunjukkan penurunan indeks ulser secara signifikan dan menghambat kerusakan mukosa lambung yang diinduksi aspirin dan etanol. Selain itu, ekstrak etanol ciplukan dapat menurunkan sekresi asam lambung.

1.5.9. Perubahan kulit. Pengamatan meliputi Alopecia dan edema. Alopecia merupakan kebotakan atau tidak adanya rambut pada daerah kulit tempat biasanya tumbuh.

Tabel 22. Hasil persentase terjadi alopesia selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya alopesia				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
	Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Tabel 22 menunjukkan hasil persentase pada pengamatan alopesia adalah 0%, hal ini berarti tidak ada terjadinya kondisi alopesia pada setiap kelompok hewan uji. Untuk pengamatan edema dilakukan 24 jam dan 14 hari setelahnya. Penyebab alopesia adalah dermatitis kontak yang terjadi karena menurunnya kemampuan respon imun terhadap antigen oleh pejanan alergen atau iritan (Weiskopf *et al.* 2009). Menurut Lijuan *et al.* (2011) ciplukan merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan withangulatin A yang memiliki potensi kuat dalam menekan kerja sistem imun (*immunosuppressive*), sehingga dermatitis kontak yang merupakan kelainan pada kulit mengakibatkan kerontokan rambut atau alopesia pada hewan uji. Tetapi pada pengujian toksisitas akut kandungan withangulatin A tidak menyebabkan alopesia. Selain alopesia, edema juga merupakan gejala toksik pada perubahan kulit, edema merupakan pengumpulan cairan secara abnormal di ruang intraseluler tubuh.

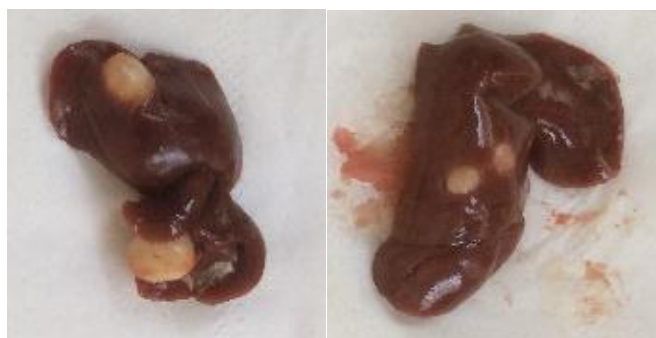
Tabel 23. Hasil persentase terjadi edema selama 24 jam dan 14 hari

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya edema				
	Jam ke-				
	0,5	1	2	4	24
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Kelompok Perlakuan	Hari ke				
	1	4	7	10	14
Dosis 250 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 500 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 1000 mg/kgbb	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/gbb	0	0	0	0	0
Dosis 4000 mg/kgbb	0	0	0	0	0

Tabel 23 hasil persentase menunjukkan 0%, hal ini berarti tidak terjadinya kondisi edema pada hewan uji, lalu pada pada pengamatan selama 14 hari juga menunjukkan tidak adanya kondisi edema pada hari ke 4 sampai 14. Edema yang timbul pada hewan uji terletak pada leher, yang diakibatkan karena pemberian sediaan uji secara peroral atau orogastrik sehingga menyebabkan iritasi dan kerusakan pada struktur esofageal (Turner *et al.* 2011) sehingga menyebabkan inflamasi atau edema. Tetapi pada pengujian kali ini edema tidak terjadi, hal ini bisa terjadi karena pemberian sediaan uji secara oral yang hanya dilakukan sekali.

1.6. Hasil pengamatan organ secara makroskopis. Hasil pengamatan organ secara makroskopis terlihat adanya perlemakan hati yang terjadi pada tikus kelompok V dengan dosis 4000 mg/kgbb sebanyak 2 ekor. Meskipun terdapat perlemakan hati pada kelompok perlakuan yang diberikan dosis 4000 mg/kgbb, hal ini tidak bisa digunakan sebagai tolak ukur pengaruh sediaan uji terhadap kerusakan organ, bisa terjadi karena faktor fisiologis dari mencit tersebut. Hasil dapat dilihat pada lampiran 16.



Gambar 7. Perlemakan hati

1.7. Hasil rata-rata indeks organ. Selama pengamatan tikus ditimbang berat badannya dua kali seminggu selama 14 hari. Tikus yang masih hidup setelah 14 hari dibius menggunakan eter, lalu dibedah untuk diambil organ paru-paru,

jantung, hati, ginjal, usus, lambung, dan limfanya kemudian ditimbang dan dihitung rata-rata indeks organ. Indeks organ didapatkan dari hasil perbandingan antara bobot organ dengan berat badan yang dihitung. Hasil perhitungan rata-rata bobot organ dan indeks organ dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 24. Rata-rata indeks organ tikus

Kelompok	Rata-rata indeks organ (%) \pm SD						
	Paru-paru	Jantung	Hati	Ginjal	Usus	Lambung	Limfa
Dosis 250 mg/Kgbb	0,60 \pm 0,16	0,27 \pm 0,02	2,59 \pm 0,23*	0,65 \pm 0,05	6,48 \pm 1,40	0,97 \pm 0,18	0,22 \pm 0,07
Dosis 500 mg/Kgbb	0,57 \pm 0,08	0,27 \pm 0,03	2,19 \pm 0,21*	0,55 \pm 0,06*	4,75 \pm 1,15	0,59 \pm 0,15*	0,18 \pm 0,04
Dosis 1000 mg/Kgbb	0,66 \pm 0,33	0,26 \pm 0,05	3,13 \pm 0,24*	0,62 \pm 0,07	6,11 \pm 0,53	0,96 \pm 0,46	0,23 \pm 0,06
Dosis 2000 mg/Kgbb	0,67 \pm 0,11	0,28 \pm 0,03	2,73 \pm 0,40	0,72 \pm 0,11*	6,51 \pm 0,32	0,81 \pm 0,27	0,56 \pm 0,34
Dosis 4000 mg/Kgbb	0,52 \pm 0,09	0,25 \pm 0,04	3,23 \pm 0,33*	0,54 \pm 0,04*	6,414 \pm 1,01	1,46 \pm 0,65*	0,28 \pm 0,09

Keterangan : * : perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok

Pemeriksaan indeks organ paru-paru, jantung, usus, dan limfa diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh semua data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan analisis *One Way Anova* dengan nilai yang signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok.

Pemeriksaan pada indeks organ hati, ginjal, dan lambung diawali dengan *Kolmogorov-Smirnov*, diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang bermakna, uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna pada kelompok dosis 250, 500, 1000, 2000 dan 4000 mg/kgbb. Hal ini berarti ekstrak etanol herba ciplukan menyebabkan perubahan indeks organ pada hewan uji yaitu pada hati, ginjal, dan lambung. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 27.

Adanya pengaruh organ hati, ginjal, dan lambung bisa disebabkan oleh adanya aktivitas sitotoksik tumbuhan ciplukan yang tidak selektif terhadap sel

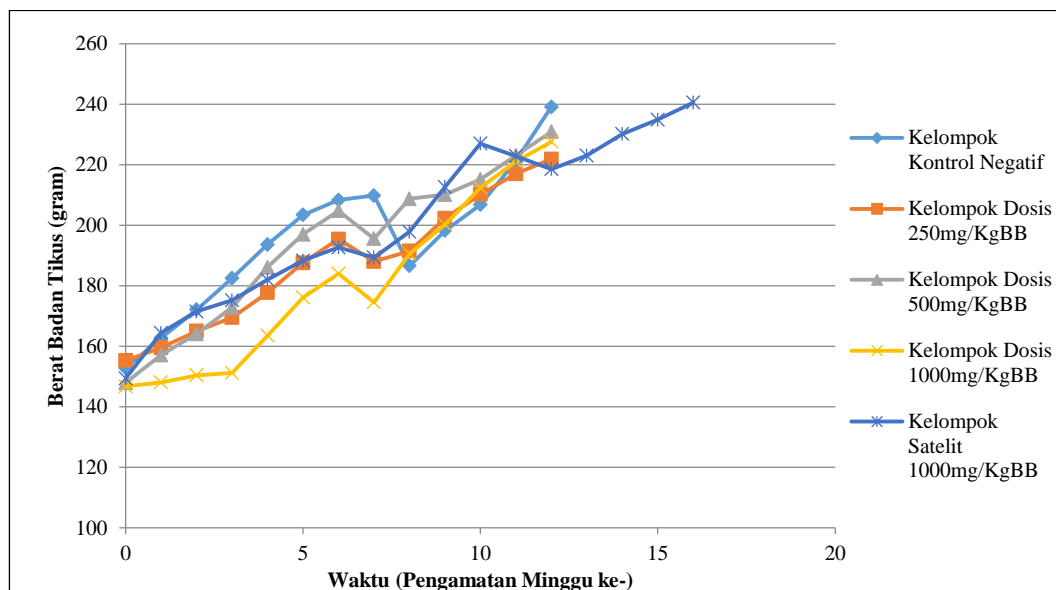
kanker (Lee & Houghton 2005) dengan mekanisme apoptosis atau kematian sel (Hosoya *et al.* 2008; Wu *et al.* 2012). Adanya perlemakan pada hati juga mempengaruhi berat organ hati. Adanya kerusakan sel dapat mempengaruhi berat dari masing-masing organ, selain itu pada indeks organ lambung, berat organ bisa dipengaruhi oleh makanan di dalam lambung yang tidak sempat tercerna dengan baik.

2. Hasil uji toksisitas subkronis herba ciplukan

2.1 Persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar sebanyak 100 ekor yang terdiri dari 50 ekor jantan dan 50 ekor betina yang diperoleh dari perternakan khusus hewan uji di Surakarta, Jawa tengah. Tikus yang digunakan, sebelumnya diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan tempat uji. Tikus dibedakan berdasarkan kelompok dosis, dimana setiap kelompok terdiri dari 20 ekor tikus, yaitu 10 ekor jantan dan 10 ekor betina. Surat hewan uji dapat dilihat pada lampiran 8.

2.2 Penetapan dosis hewan uji. Dosis yang digunakan berdasarkan dosis efektif ekstrak herba ciplukan sebagai antiarthritis yaitu 250 mg/kgbb (Lakoan 2014). Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah dosis rendah 250 mg/kgbb, dosis sedang 500 mg/kgbb, dosis tinggi 1000 mg/kgbb, dan untuk kontrol satelit diberiksan dosis yang tinggi yaitu 1000 mg/Kgbb, sedangkan untuk kelompok kontrol negatif diberikan larutan CMC 1%. Pemberian sediaan kepada hewan uji berdasarkan berat badan hewan uji. Perhitungan dosis terdapat pada lampiran 11.

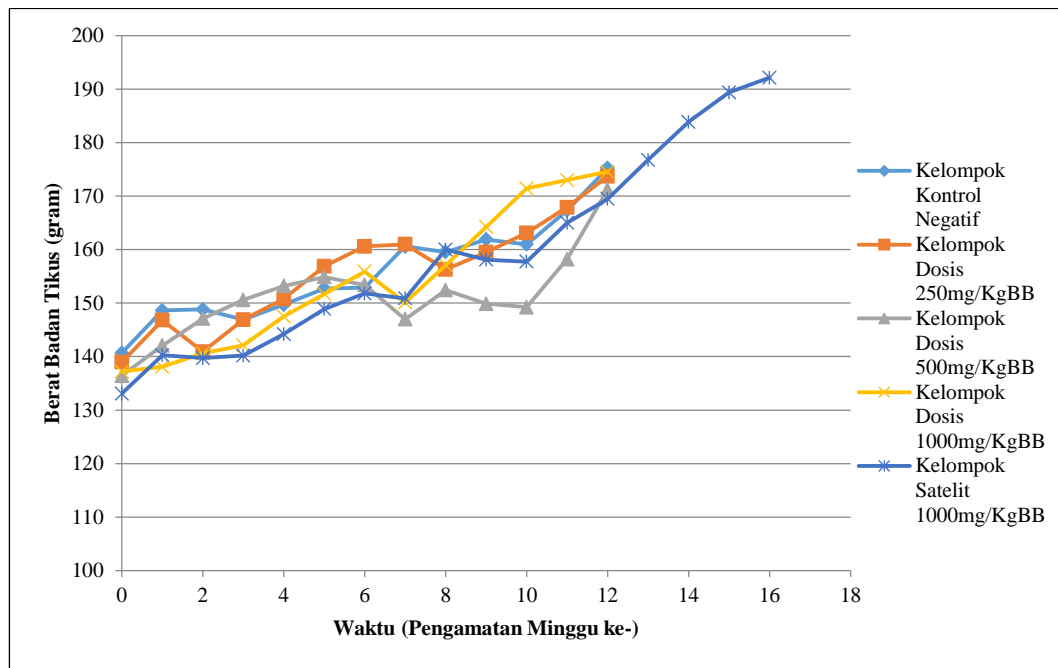
2.3 Pengamatan berat badan. Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan setiap 1 kali seminggu untuk mengetahui adanya perubahan berat badan antara sebelum dan sesudah pemberian sediaan ekstrak herba ciplukan.



Gambar 8. Grafik berat badan hewan uji jantan terhadap waktu dengan kelompok dosis yang berbeda.

Gambar 8 menunjukkan kelompok hewan uji jantan terjadi kenaikan dan penurunan berat badan. Kenaikan dan penurunan berat badan hewan uji jantan pada kelompok kontrol negatif, kelompok dosis 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb, 1000 mg/kgbb, dan kelompok satelit yang diberi dosis tinggi 1000 mg/kgbb. Kelompok satelit mengalami penurunan berat badan pada minggu kedelapan, sedangkan kelompok dosis 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb, 1000 mg/kgbb, dan kelompok satelit mengalami penurunan berat badan pada minggu ketujuh. Namun secara keseluruhan semua kelompok mengalami kenaikan berat badan hingga minggu terakhir. Peningkatan dan penurunan berat badan tidak terlalu jauh antara kelompok kontrol dan kelompok dosis.

Data dari pengamatan berat badan hewan uji yang diperoleh selama perlakuan kemudian dianalisis secara statistik, dilakukan uji *General Linear Model Univariate*. Hasil analisis menunjukkan hasil nilai signifikan 0.987 ($p > 0.05$), hasil analisis kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok, hasil menunjukkan kelompok perlakuan kontrol tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok dosis 500 mg/Kgbb dan kelompok satelit dosis tinggi.



Gambar 9. Grafik berat badan hewan uji betina terhadap waktu dengan kelompok dosis yang berbeda.

Gambar 9 menunjukkan adanya kenaikan dan penurunan berat badan hewan uji betina pada kelompok kontrol, kelompok dosis 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb, 1000 mg/kgbb, dan kelompok satelit yang diberi dosis tinggi 1000 mg/kgbb. Pada kelompok kontrol negatif, hewan uji mengalami kenaikan berat badan hingga minggu keduabelas, walaupun terjadi penurunan pada minggu ketiga, kedelapan, dan kesepuluh, namun penurunan tidak terlalu jauh. Kelompok dosis rendah 250 mg/kgbb mengalami peningkatan berat badan secara umum hingga minggu keduabelas, namun terjadi penurunan pada minggu kedelapan. Kelompok dosis 500 mg/kgbb, dosis 1000 mg/kgbb, dan kelompok satelit mengalami peningkatan hingga akhir penelitian, walaupun pada minggu ketujuh rata-rata berat menurun.

Data dari pengamatan berat badan hewan uji betina yang diperoleh selama perlakuan dianalisis secara statistik, dilakukan uji *General Linear Model Univariate*. Hasil analisis menunjukkan hasil nilai signifikan 0,784 ($p > 0.05$) pada berat badan tikus betina, sehingga menunjukkan tidak ada perbedaan secara bermakna, hasil analisis dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey* yang menunjukkan

kelompok kontrol negatif tidak berbeda bermakna dengan kelompok dosis 250 mg/Kgbb, 1000mg/Kgbb, dan kelompok satelit.

2.4 Hasil rata-rata indeks organ hati. Berat organ relatif merupakan berat organ absolut dibanding berat badan (BPOMRI 2014). Pemeriksaan persen indeks organ relatif ginjal dilakukan dengan cara menimbang bobot organ ginjal dan selanjutnya melakukan perhitungan dengan cara membagi bobot organ dengan berat badan hewan uji dan dikalikan 100% untuk mencari persen indeks organ relatif ginjal. Nilai persen indeks organ relatif berbeda antara setiap hewan uji dikarenakan berat badan hewan uji yang berbeda-beda.

Tabel 25. Hasil rata-rata indeks organ hati

Kelompok	Rata-rata indeks organ hati (%) \pm SD	
	Jantan	Betina
Kontrol negative	3,163 \pm 0,094	2,340 \pm 0,332
Dosis 250 mg/Kgbb	2,383 \pm 0,221*	2,466 \pm 0,274
Dosis 500 mg/Kgbb	2,503 \pm 0,111*	2,213 \pm 0,060
Dosis 1000 mg/Kgbb	1,953 \pm 0,135*	2,070 \pm 0,262
Kontrol satelit	2,653 \pm 0,232*	2,446 \pm 0,096

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

Pemeriksaan indeks organ hati pada hewan uji betina diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Pemeriksaan indeks organ hati pada hewan uji jantan, data yang diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis 250, 500, 1000 mg/Kgbb dan kelompok Kontrol satelit. Hal ini berarti ekstrak etanol herba ciplukan menyebabkan perubahan indeks pada hewan uji jantan pada setiap kelompok. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 27.

Adanya perbedaan indeks organ hati hewan uji jantan pada dosis perlakuan bisa terjadi karena adanya aktivitas sitotoksik tumbuhan ciplukan yang tidak selektif terhadap sel kanker (Lee & Houghton 2005) dengan mekanisme apoptosis atau kematian sel (Hosoya *et al.* 2008; Wu *et al.* 2012). Adanya perbedaan indeks organ hati bisa terjadi karena adanya kerusakan sel yang terjadi, hal ini dapat dikorelasikan dengan jumlah kematian pada hewan uji, dimana jumlah kematian hewan uji jantan lebih banyak mati dibanding betina.

2.5 Hasil pengamatan makroskopis. Setelah perlakuan terhadap hewan uji selesai. Hewan uji dibedah dan dilihat organ hatinya secara makroskopis. Pengamatan organ hati dilakukan untuk melihat adanya perubahan pada organ, baik warna, bentuk, dan ada tidaknya perlemakan hati. Hewan uji pada kelompok negatif, dosis 250, 500, dan 1000 mg/kgbb, dibedah pada hari ke 90, sedangkan untuk kelompok kontrol satelit dibedah pada hari ke 120. Dari hasil pengamatan warna pada setiap organ hati, cenderung memiliki warna yang sama seperti warna hati normal dan memiliki permukaan yang licin, tetapi terdapat perlemakan hati pada beberapa kelompok. Pada kelompok jantan terdapat perlemakan hati pada dosis 250, 500, 1000 mg/kgbb dan kontrol satelit, sedangkan pada kelompok betina pada dosis 500 mg/kgbb dan kontrol satelit. Terjadinya perlemakan hati menandakan adanya masalah pada organ hati. Perlemakan hati merupakan gambaran patologi yang ditandai dengan akumulasi lemak di dalam sel hati yang disebabkan adanya gangguan pada metabolisme lipid di hati, faktor penyebab terjadinya perlemakan hati meliputi diet yang tidak seimbang, malabsorpsi serta obat-obatan (Panjaitan *et al* 2011). Tetapi hal ini tidak dapat disimpulkan bahwa perlemakan hati terjadi karena adanya faktor dari sediaan uji, karena jumlah tikus yang mengalami perlemakan hati tidak dengan jumlah yang cukup besar. Hasil pengamatan makroskopis organ hati dapat dilihat pada lampiran 21.

2.6 Hasil pemeriksaan kadar SGOT (*Serum glutamic oxaloacetic transaminase*)/ Aspartat aminotransaminase (AST). Hasil pemeriksaan laboratorium terhadap aktivitas SGOT menunjukkan hasil pemeriksaan kadar pada beberapa kelompok perlakuan sebelum diberikan sediaan uji berada pada rentang

di bawah normal. Menurut LPPT UGM pada penelitian Azizah *et al.* (2015), rentang normal aktivitas SGOT tikus jantan berkisar antara 92,3- 122,5 IU/L dan pada tikus betina 82,7-139,6 IU/L. Perhitungan kadar SGOT merujuk pada nilai normal SGOT pada tikus.

Tabel 26. Kadar SGOT pada tikus jantan

Kelompok Perlakuan	Kadar SGOT \pm SD Jantan Bulan-				
	T0	T1	T2	T3	T4
Kelompok Kontrol	88,80 \pm	92,30 \pm	94,00 \pm	96,66 \pm	-
Negatif	20,08	15,12	14,61	13,98	-
Kelompok 250 mg/Kgbb	88,90 \pm	95,20 \pm	102,42 \pm	105,42 \pm	-
	20,02	17,92	17,89	20,12	-
Kelompok 500 mg/Kgbb	89,90 \pm	102,55 \pm	111,89 \pm	115,25 \pm	-
	15,75	19,22	17,04	17,19	-
Kelompok 1000 mg/Kgbb	91,10 \pm	99,7 \pm	107,80 \pm	113,00 \pm	-
	30,00	29,84	28,08	28,20	-
Kelompok Satelit	90,00 \pm	100,70 \pm	112,57 \pm	118,33 \pm	118,33 \pm
	19,45	19,33	17,24	20,09	20,03

Tabel 27. Kadar SGOT pada tikus betina

Kelompok Perlakuan	Kadar SGOT \pm SD Betina Bulan-				
	T0	T1	T2	T3	T4
Kelompok Kontrol	110,50 \pm	112,10 \pm	107,11 \pm	108,88 \pm	-
Negatif	24,29	24,00	19,17	18,63	-
Kelompok 250 mg/Kgbb	106,80 \pm	111,50 \pm	115,8 \pm	121,10 \pm	-
	16,27	16,56	16,47	16,86	-
Kelompok 500 mg/Kgbb	111,40 \pm	114,30 \pm	118,30 \pm	124,11 \pm	-
	24,25	24,50	24,31	25,26	-
Kelompok 1000 mg/Kgbb	115,10 \pm	120,30 \pm	125,44 \pm	132,33 \pm	-
	22,46	22,27	22,06	21,66	-
Kelompok Satelit	109,90 \pm	116,30 \pm	122,62 \pm	130,37 \pm	128,00 \pm
	26,68	25,23	26,93	26,91	26,64

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

T0 : Rata-rata kadar SGOT bulan ke-0

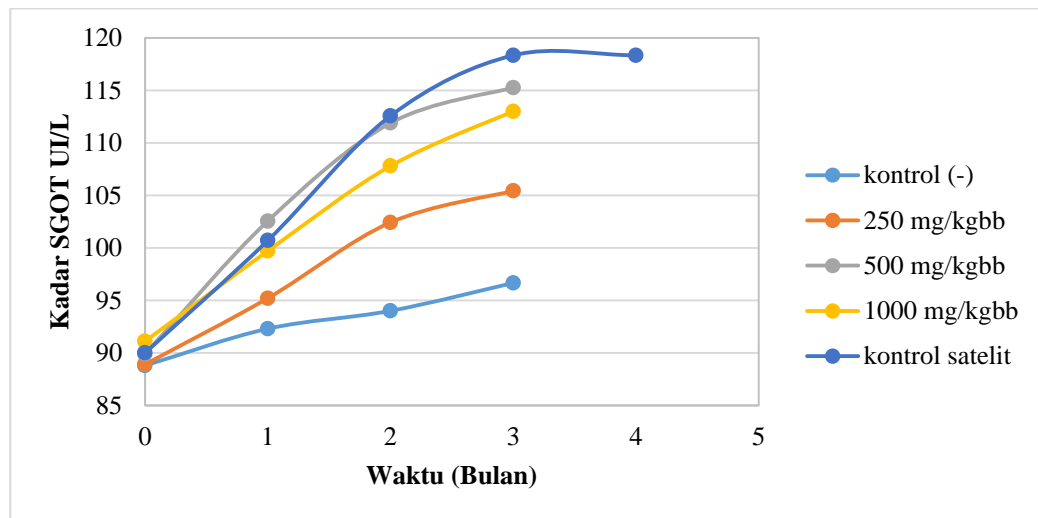
T1 : Rata-rata kadar SGOT bulan ke-1

T2 : Rata-rata kadar SGOT bulan ke-2

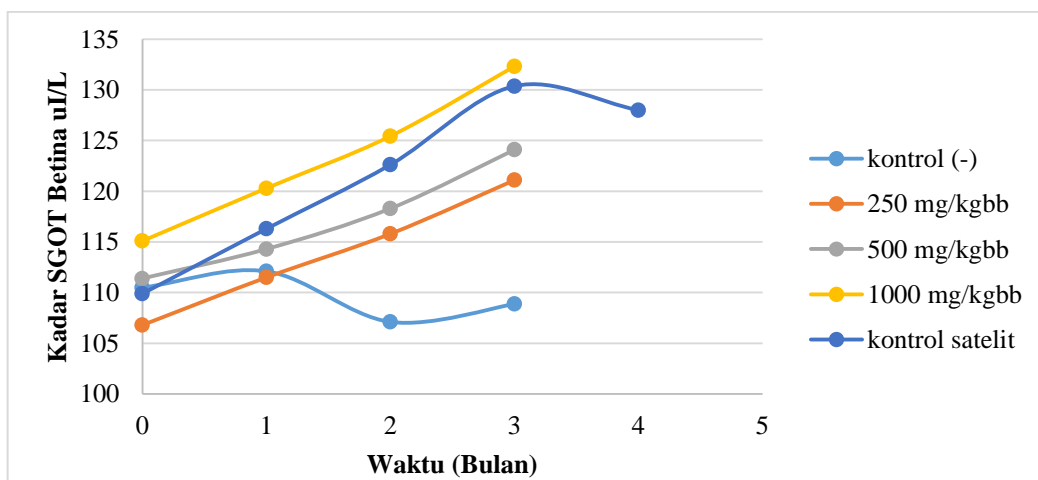
T3 : Rata-rata kadar SGOT bulan ke-3

T4 : Rata-rata kadar SGOT bulan ke-4

Pemeriksaan kadar SGOT pada tikus jantan maupun betina pada T0, T1, T2, dan T3 diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal $p > 0,05$, dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Hal ini berarti ekstrak etanol herba ciplukan tidak menyebabkan perubahan kadar SGOT pada hewan uji jantan maupun betina. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 27.



Gambar 10. Diagram kadar SGOT jantan.



Gambar 11. Diagram kadar SGOT betina.

Berdasarkan gambar grafik rata-rata kadar SGOT kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan pada tikus jantan dan betina pada bulan sebelum pemberian sediaan uji hingga sampai bulan ke tiga setelah pemberian sediaan uji, mengalami peningkatan. Tetapi pada kelompok hewan betina pada kontrol satelit, pada bulan keempat yaitu termasuk fase pemulihan, kadar SGOT mengalami penurunan. Adanya peningkatan kadar SGOT kelompok jantan maupun betina dalam beberapa kelompok perlakuan pada skala waktu menggambarkan adanya penurunan aktivitas kerja sehingga menyebabkan kenaikan kadar SGOT pada tikus, namun kenaikan kadar SGOT masih dalam range normal. Menurut

Lembang *et al.*(2015) kerusakan hepar baru berarti secara klinis apabila terjadi peningkatan kadar SGOT antara tiga sampai sepuluh kali lipat dari range normal. Peningkatan maupun penurunan kadar SGOT pada tikus memungkinkan juga dipengaruhi oleh faktor fisiologis seperti stress akibat dari waktu penelitian yang cukup lama atau dari faktor lingkungan dan cuaca.

2.7 Hasil pemeriksaan kadar SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*)/ *Alanin aminotransferase* (ALT). Hasil pemeriksaan biokimia hati yaitu kadar SGPT pada bulan sebelum pemberian sediaan uji pada kelompok hewan jantan menunjukkan rentang di bawah normal, sedangkan pada kelompok hewan uji betina menunjukkan rentang normal. Menurut LPPT UGM pada penelitian Azizah *et al.* (2015), rentang normal aktivitas SGPT tikus jantan berkisar antara 42,9-67,4 IU/L dan pada tikus betina 34,2-61,6 IU/L. Perhitungan kadar SGOT merujuk pada nilai normal SGPT pada tikus.

Tabel 28. Kadar SGPT pada tikus jantan

Kelompok Perlakuan	Kadar SGPT \pm SD Jantan Bulan-				
	T0	T1	T2	T3	T4
Kelompok Kontrol	22,95 \pm	23,88 \pm	24,64 \pm	25,78 \pm	-
Negatif	6,60	5,83	5,84	6,19	
Kelompok 250 mg/Kgbb	21,93 \pm	23,45 \pm	25,24 \pm	27,61 \pm	-
	7,01	6,97	9,14	9,00	
Kelompok 500 mg/Kgbb	24,27 \pm	27,23 \pm	26,70 \pm	27,58 \pm	-
	10,93	11,03	9,79	8,34	
Kelompok 1000 mg/Kgbb	24,49 \pm	26,89 \pm	27,78 \pm	27,66 \pm	-
	5,11	5,10	6,90	5,27	
Kelompok Satelit	24,73 \pm	26,87 \pm	30,25 \pm	33,61 \pm	32,05 \pm
	9,35	9,60	8,50	7,80	6,91

Tabel 29. Kadar SGPT pada tikus betina

Kelompok Perlakuan	Kadar SGPT \pm SD Betina Bulan-				
	T0	T1	T2	T3	T4
Kelompok Kontrol	34,08 \pm	34,77 \pm	34,48 \pm	34,97 \pm	-
Negatif	7,10	7,31	7,11	7,37	
Kelompok 250 mg/Kgbb	34,79 \pm	35,58 \pm	38,24 \pm	39,32 \pm	-
	6,27	5,60	5,64	5,13	
Kelompok 500 mg/Kgbb	34,65 \pm	36,50 \pm	38,79 \pm	39,43 \pm	-
	7,34	7,85	8,46	5,62	
Kelompok 1000 mg/Kgbb	33,81 \pm	36,91 \pm	39,76 \pm	42,52 \pm	-
	3,95	3,25	3,60	4,21	
Kelompok Satelit	33,72 \pm	35,95 \pm	39,62 \pm	42,97 \pm	43,00 \pm
	6,31	6,47	6,40	5,85*	7,34

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

T0 : Rata-rata kadar SGPT bulan ke-0

T1 : Rata-rata kadar SGPT bulan ke-1

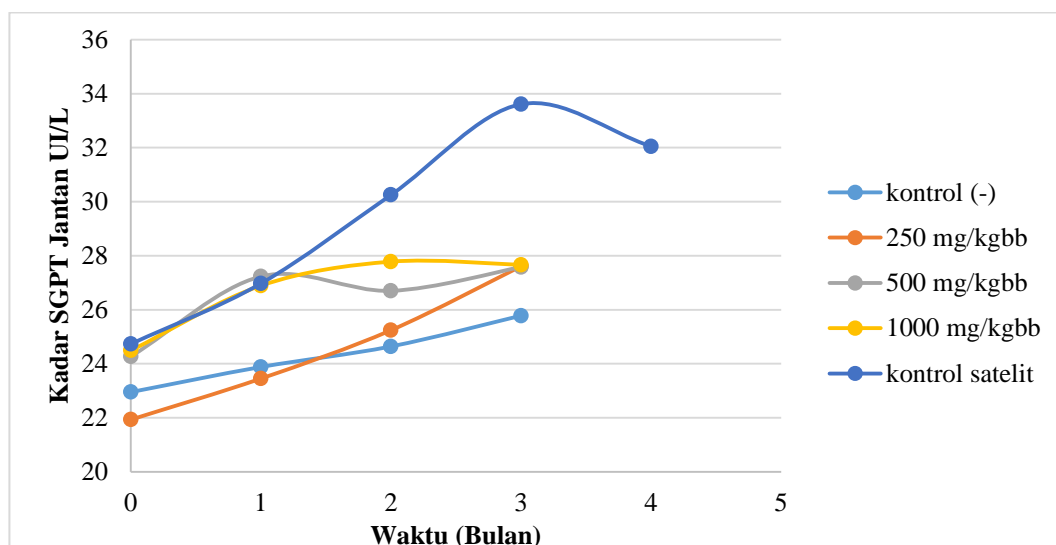
T2 : Rata-rata kadar SGPT bulan ke-2

T3 : Rata-rata kadar SGPT bulan ke-3

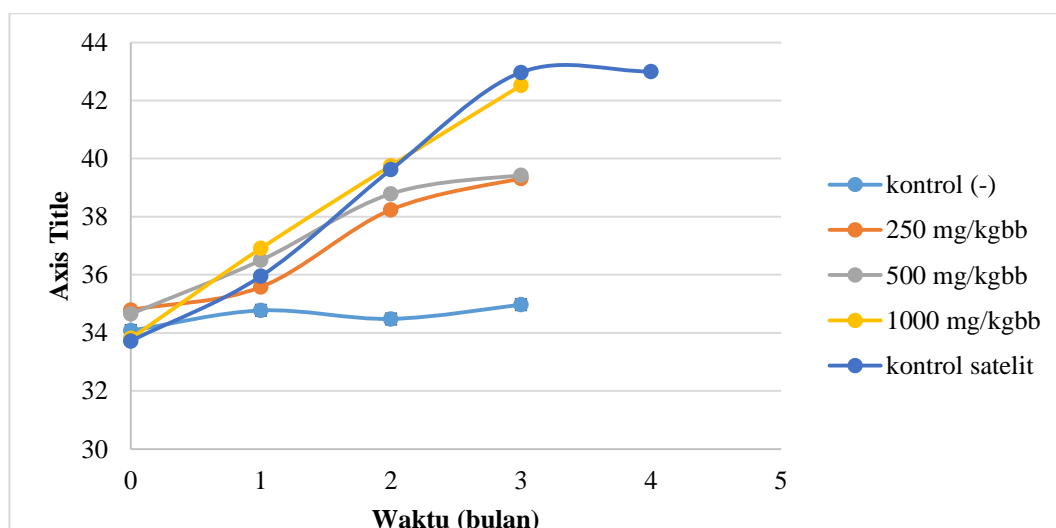
T4 : Rata-rata kadar SGPT bulan ke-4

Pemeriksaan kadar SGPT pada hewan uji jantan maupun betina saat T0, T1, T2, dan T3 diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal $p > 0,05$, dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Hal ini berarti ekstrak etanol herba ciplukan tidak menyebabkan perubahan kadar SGPT pada hewan uji jantan maupun betina.

Pemeriksaan pada T3 pada hewan uji betina data yang diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal $p > 0,05$, dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok satelit. Pemeriksaan pada T4 mengalami penurunan kadar baik hewan jantan maupun betina dari bulan sebelumnya karena adanya efek *reversible* yaitu efek pemulihan yang bisa terjadi karena penghentian pemberian sediaan uji. Hal ini berarti ekstrak etanol herba ciplukan menyebabkan perubahan kadar SGPT pada hewan uji betina pada bulan ketiga (T3). Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 27.



Gambar 12. Diagram kadar SGPT jantan.



Gambar 13. Diagram kadar SGPT betina.

Berdasarkan gambar grafik rata-rata kadar SGPT pada kelompok hewan uji jantan dan betina setiap kelompoknya mengalami kenaikan pada skala waktu. Tetapi pada kelompok hewan uji jantan pada dosis 500 mg/kgbb mengalami penurunan pada bulan kedua, tetapi mengalami peningkatan kembali pada bulan ketiga. Penurunan kadar SGOT juga terjadi pada kelompok hewan uji jantan dengan perlakuan dosis 1000 mg/kgbb pada bulan ketiga. Penurunan kadar bisa diakibatkan karena adanya senyawa flavonoid. Putri (2013) flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu melindungi tubuh terhadap efek radikal bebas.

Tetapi pada tanaman ciplukan senyawa physallin lebih dominan sehingga bisa menyebabkan kadar meningkat kembali. Adanya peningkatan kadar SGPT pada setiap skala waktu menggambarkan adanya aktivitas hati yang menurun, namun kenaikan kadar SGPT masih dalam range normal.

Berdasarkan data yang diperoleh pengaruh ekstrak herba ciplukan terhadap aktivitas parameter biokimia hati yaitu SGOT dan SGPT dapat diketahui adanya peningkatan ataupun penurunan pada skala waktu, tidak menyebabkan ketoksikan, dilihat dari kenaikan kadar SGOT dan SGPT yang masih dalam range normal. Kerusakan hepar baru berarti secara klinis apabila terjadi peningkatan kadar SGOT antara tiga sampai sepuluh kali lipat dari range normal (Lembang *et al.* 2015). Menurut Lu (1995) hati menjadi organ sasaran zat toksik karena sebageian besar toksikan memasuki tubuh melalui system gastrointestinal, kemudian diserap dan dibawa ke vena porta hepatica. Kenaikan kadar transaminase dalam serum disebabkan oleh enzim yang terlepas karena sel yang bersangkutan mengalami nekrosis atau karena enzim yang bocor dari dalam sel (Tampubolon *et al.* 2014). Kenaikan kadar SGOT dan SGPT dapat dipengaruhi faktor lain seperti stress, pakan, lingkungan dan cuaca. Kenaikan kadar SGPT bisa juga disebabkan oleh pemberian jenis pakan dan juga stress oksidatif (Maharani 2015). Selain itu, herba ciplukan memiliki senyawa flavonoid, berdasarkan penelitian Putri (2013) flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu melindungi tubuh terhadap efek radikal bebas dengan menghambat terjadinya peroksidasi lipid pada hati serta menghentikan aktivitas radikal bebas. Flavonoid dapat membersihkan radikal bebas dan merangsang pembentukan glutathion sehingga dapat melindungi jaringan terhadap kerusakan sel (Udem *et al.* 2011).

2.8 Hasil histopatologi organ hati. Histopatologi organ dilakukan untuk melihat adanya nekrosis pada organ hati. Terdapat 3 kerusakan yang biasa terjadi yaitu piknosis ditandai dengan melisisnya nukleus dan peningkatan basofil kromatin (warna gelap) lalu DNA berkondensasi menjadi massa yang melisut padat. Karioreksis adalah keadaan nukleus yang hancur dan membentuk fragmen materi kromatin memudar. Kariolisis adalah adanya nukleus yang mati dan hilang

disebabkan oleh aktivitas DNA sehingga basofil kromatin memudar (Mitchell & Cotran 2007).

Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dan langsung segera dibedah untuk dilakukan pengamatan organ secara histopatologi. Selain itu, pengamatan histopatologi juga dilakukan ketika terdapat hewan uji yang mati selama pengamatan berlangsung. Hasil pengamatan mikroskopis dilihat dari 100 organ hati untuk tiap sampel, dengan perbesaran 1000 kali. Hasil persentase kerusakan organ ginjal selama perlakuan dapat dilihat pada tabel 30.

Tabel 30. Histopatologi hati tikus yang mati selama perlakuan

Hewan Uji	Total kerusakan	Total sel yang diamati	Persentase kerusakan (%)
Jantan-Satelit	27	100	27
Jantan-1000mg/Kgbb	25	100	25
Jantan-1000mg/Kgbb	30	100	30
Jantan-1000mg/Kgbb	36	100	36
Jantan-1000mg/Kgbb	21	100	21
Betina-1000mg/Kgbb	36	100	36
Jantan-1000mg/Kgbb	19	100	19
Jantan-500mg/Kgbb	47	100	47
Jantan-250mg/Kgbb	40	100	40
Jantan-Satelit	24	100	24
Betina-Kontrol Negatif	41	100	41
Jantan-250mg/Kgbb	37	100	37
Jantan-250mg/Kgbb	32	100	32
Jantan-Kontrol Negatif	38	100	38
Betina-500mg/kgbb	37	100	37

Hasil pengamatan histopatologi hati selama perlakuan pada tabel 30 melihat persentase tingkat kerusakan hati tiap berbeda hewan uji. Secara keseluruhan persentase tingkat kerusakan hati di atas 20% dan kurang dari 50% dengan rata-rata kerusakan 32,35%.

Kelainan hepatologik pada hepatosit yang sering ditemukan antara lain, degenerasi, nekrosis, sirosis, dan fibrosis (Lu 1995). Kematian sel memiliki dua macam pola, yaitu nekrosis dan apoptosis. Nekrosis merupakan salah satu pola dasar kematian sel.

Histopatologi yang dilakukan pada akhir penelitian menggunakan tiga sampel preparat, kemudian diamati 100 sel pada satu lobulus organ hati untuk tiap sampel preparat. Sel lobulus berfungsi untuk memetabolisme bahan kimia serta

menjadi tempat yang paling rentan apabila terpapar oleh bahan-bahan toksik. Sehingga dapat digunakan sebagai parameter kerusakan sel-sel hati. Pengamatan dilakukan di Laboratorium Histologi Universitas Sebelas Maret. Hasil pengamatan histopatologi dapat dilihat pada lampiran 26.

Tabel 31. Hasil persentase sel pada gambaran histopatologi organ hati tikus di akhir penelitian

Kelompok perlakuan	Jumlah Sampel	Total sel yang diamati	Persentase kerusakan (%) \pm SD
JANTAN			
Kelompok Kontrol	3	300	26,00 \pm 1,00
Kelompok 250 mg/KgBB	3	300	25,00 \pm 2,64
Kelompok 500 mg/KgBB	3	300	37,66 \pm 2,08*
Kelompok 1000 mg/KgBB	3	300	42,33 \pm 2,08*
Kelompok Satelit	3	300	35,33 \pm 3,21*
BETINA			
Kelompok Kontrol	3	300	26,66 \pm 3,05
Kelompok 250 mg/KgBB	3	300	25,66 \pm 3,21
Kelompok 500 mg/KgBB	3	300	33,00 \pm 2,64*
Kelompok 1000 mg/KgBB	3	300	41,66 \pm 0,57*
Kelompok Satelit	3	300	33,33 \pm 0,57*

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif

Pengamatan histopatologi pada hewan uji jantan dan betina pertama kali diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal $p > 0,05$, dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan dosis 500, 1000 mg/kgbb dan kontrol satelit baik jantan maupun betina. Hal ini berarti ekstrak etanol herba ciplukan menyebabkan perubahan histopatologi pada perlakuan dosis 500, 1000 mg/kgbb dan kontrol satelit baik hewan uji jantan maupun betina.

Semua kelompok perlakuan hewan uji mengalami kerusakan sel berupa nekrosis, hal ini berkaitan dengan fungsi hati yaitu salah satunya adalah untuk detoksifikasi berbagai senyawa kimia yang masuk ke dalam tubuh, sehingga organ hati mudah mengalami kerusakan. Nekrosis terjadi setelah suplai darah

hilang atau setelah terpapar senyawa toksik dan ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organel. Hal ini dapat menyebabkan disfungsi berat jaringan (Kumar *et al* 2007). Menurut Djajanegara (2010) senyawa physalis pada ekstrak etanol 70% herba ciplukan bersifat sitotoksik terhadap sel T47D, dimana hal ini dapat merusak sel-sel sehat juga. Hal ini dapat dilihat pada tabel 23, pada kontrol negatif mengalami kerusakan sel hati yang paling sedikit, sedangkan pada kelompok perlakuan yaitu 250, 500, dan 1000 mg/kgbb mengalami kerusakan sel lebih banyak dibanding kontrol negatif, lalu pada kontrol satelit, terjadi penurunan tingkat kerusakan sel hati jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis tinggi yaitu 1000 mg/kgbb. Penurunan tingkat kerusakan sel hati pada kontrol satelit bisa diakibatkan karena penghentian pemberian ekstrak herba ciplukan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, ekstrak etanol herba ciplukan mempunyai nilai LD₅₀ yaitu lebih dari 4000 mg/kgbb.

Kedua, ekstrak etanol herba ciplukan pada uji toksisitas akut berpengaruh terhadap gejala toksik berupa depresi dan perubahan aktivitas meningkat pada dosis 4000 mg/kgbb dan tidak berpengaruh terhadap perubahan makropatologi.

Ketiga, penggunaan jangka panjang (90 hari) ekstrak etanol herba ciplukan dosis 250, 500, dan 1000 mg/kgbb tidak terhadap kadar biokimia hati (SGOT dan SGPT) pada uji toksisitas subkronis jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih.

Keempat, penggunaan jangka panjang (90 hari) ekstrak etanol herba ciplukan tidak mempengaruhi perubahan makropatologi hati tetapi mempengaruhi histopatologi hati pada uji toksisitas subkronik jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih.

B. Saran

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

Kedua, perlu dilakukan pengamatan gejala toksik dengan tanda-tanda toksik yang lebih kompleks.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang menyebabkan efek toksisitas pada ekstrak etanol herba ciplukan.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPOMRI] Badan Pengawas obat dan makanan Republik Indonesia. 2014. Peraturan nomor 7 tentang pedoman uji toksisitas Nonklinik secara in vivo. BPOMRI.
- Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Indonesia.
- Anonim. 1985. *Cara Pemberian Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Indonesia.
- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2000. *Parameter standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, DirJen POM, Jakarta, Departemen Kesehatan RI.
- Azizah T.S *et al.* 2015. *Pengaruh pemberian Ekstrak Etanol Meniran (Phyllanthus niruri L.) Selama 90 hari Terhadap Fungsi Hati Tikus*. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. ISSN 2407-9189.
- Basey K, McGaw BA, dan Wooley JG. 1992. Phygrine, an alkaloid from *Physalis* species. *Phytochemistry* 31: 4173-4176.
- Basey K, McGaw BA, dan Wooley JG. 1992. Phygrine, an alkaloid from *Physalis* species. *Phytochemistry* 31: 4173-4176.
- Boendowi. 1988. Timbunan Glikogen dalam Hepatosit dan Kegiatan Sel Beto Insula Pancreatisi Tikus Putih (*Rattus novvegicus*) Akibat Pemberian Ekstrak Daun Ciplukan, Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia IX, Departemen Kesehatan RI, Jakarta,139.
- Brzoska, M, M., Jakoniuk, J. M., Marcinkiewicz, B. P. and Sawicki, B. 2003. Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol (1): 2-10.
- Christopher H. 2006. *Manual of overdoses and poisonings*. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia.
- Corwin J. Elisabeth.2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC.

- Cotra RS, Kumar V, Collins T. 1999. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia. W.B. Saunders Co Pp. Hal 846-85.
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid 4*. Puspa Swara. Jakarta.
- Damjanov. 2000. *Buku Teks dan Atlas Berwarna Histopatologi*. Pendi UB. Penerjemah: Himawan M. Editor. Jakarta : Widya Medika.
- Djajanegara I. 2010. Uji sitotoksitas ekstrak etanol *Physalis angulata* Linn. terhadap sel T47D secara *in vitro*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 8 (1): 41-47.
- Depkes. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta : Departemen Kesehatan Indonesia.
- Dirjen POM. 1999. *Farmakope Indonesia Edisi ke-4*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Fischbach. 1998. FT. Stool Examination, In A of Laboratory and Diagnostic Test.
- Gaze D.C. 2007. *The role of existing ng novel cardiac biomarkers for cardioprotection*. 8(9): 711-7.
- Gines, P., Kamath, P. S, dan Arroyo, V. 2011. *Chronic Liver Failure, Humana Press*, London. Hal 48-49.
- Griffin WJ, Lin GD. 2000. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry*. 53: 623-637.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Guntarti A, Sholehah K, Ima N, Fistianingrum W. 2015. Penentuan parameter non spesifik ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) pada variasi asal daerah. *Farmasains* 2(5): 202-207.
- Hadi, S. 1995. *Gastroenterologi*. Edisi 6. Bandung : Alumni, pp: 400-12;644-50.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan: Padmawinata, K dan Soediro, I. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Harmita S, Radji M. 2004. *Analisis Hayati*. Jakarta: FMIPA Universitas Indonesia.
- Harmita S, Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi 2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.

- Hartanto, B. U. Wulansari, p., Mahanani, D. A. Penyakit Utama. Edisi 6, Vol. 2, diterjemahkan oleh Pendit, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hosoya T *et al.* 2008. Naturally occurring small-molecule inhibitors of Hedgehog/GLI-mediated transcription. *ChemBioChem*. 9(7): 1082–1092
- Hutape J.R. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Edisi I. Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia. Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta. Hal 179-180.
- Indarto D.M. 2013. *Aktivitas enzim transaminase dan gambaran histopatologi hati tikus galur wistar jantan yang diberi fraksi n-heksan daun kesum (Poloygonum minus Huds.) pasca induksi sisplatin*. [SKRIPSI]. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Kumar N Shravan, G Kishore, Kumar GS., Priya SES. 2011. In Vitro Determination OF Anti-Inflammatory and Anti-Arthritic Activity Of Leaves Of Physalis Angulata L. *Int. J, Pharm & Ind. Res* Vol-01: 1-3.
- Lakoan, MR. 2014. Aktivitas Antiartritis Kombinasi Ekstrak Etanol Batang Brotowali (*Tinospora cordifolia* W.) dan Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Tikus yang Diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) [SKRIPSI]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Lee CC&Houghton P. 2005. Cytotoxicity of plants from Malaysia and Thailand used traditionally to treat cancer. *Journal of Ethnopharmacology*.100(3): 237–243
- Lembang I.R *et al.* 2015 Efek Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Buah Terong Belanda Terhadap Tikus Putih Jantan yang diinduksi CCl4. Makasar: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi dan Pengetahuan Alam (STIFA).
- Lesson CR, Thomas TS, Paparo AA. 1996. *Buku ajar Histologi*. Edisi ke-5. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lesson *et al.*1995. *Buku Ajar Histologi*. Edisi V. Terjemahan dari Text Book Of Loomis SL. 1978. Toksikologi Dasar, Terjemahan oleh Donatus I.A. Edisi III, Semarang: IKIP Semarang Press.
- Lijuan S *et al.* 2011. Immunosuppression effect of Withangulatin A from *Physalis angulata* via heme oxygenase 1-dependent pathways. *Process Biochemistry* 46:482-488.
- Loomis TA. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi 3. Donatus IA. Semarang: IKIP Semarang Press. Terjemahan dari: *Essentials of Toxicology*.
- Lu, C Frank.1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Jakarta: UI Press.

- Lu, C Frank. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi III. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Mahalakshmi AM, Nidavani RB. 2014. *Physalis angulata* L.: an ethnopharmacological review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research* 4(3): 1479-1486.
- Marder SR. 2006. A review of agitation in mental illness: treatment guidelines and current therapies. *J Clin Psychiatry*. 67(10):13-21.
- Marek R, Lenka G, Jiri D. 2007. Quaternary protoberberin alkaloids. *Phytochemistry* 68: 150-175.
- Markham, K. R., 1998. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata, ITB. Bandung. Terjemahan dari : *How to Identify Flavonoids*.
- Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW, Martin DW. 1991. *Biokimia*. Ahli Bahasa: Iyan Darmawan . Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Milena BPS, Moema CB, Ivone MR, Therezinha CBT, Ricardo RS. 2003. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. *Eur J Pharmacol* 459: 107-112.
- Nanumala SK, Gunda K, Runja C, Sriram Chandra M. 2012. Evaluations of diuretic activity of methanolic extract of *Physalis angulata* L. leaves. *Int J Pharma Sci Rev Res* 16: 40 - 42.
- Newell, C. A *et al.* 1996. *Herbal medicines*. London: The Pharmaceutical Press.
- Noer S. 1996. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Jakarta: Gaya Baru.
- Nuridayanti, E.F.T. 2011. Uji toksisitas akut ekstrak air rambut jagung (*Zea mays* L.) ditinjau dari nilai LD50 dan pengaruhnya terhadap fungsi hati dan ginjal pada mencit [Skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Oksman-Caldentey KM. 2007. Tropane and nicotine alkaloid biosynthesis-novel approaches towards biotechnological production of plant-derived pharmaceuticals. *Curr Pharm Biotechnol*. 8: 203-210.
- Panjaitan, V. 2011. *Persepsi Siswa Terhadap Pelaksanaan Pengajaran Remedial IPA Terpadu dan Hubungannya Dengan Hasil Belajar Siswa SMPN 1 Air Joman Kabupaten Asahan T.P. 2010/2011*. [Skripsi]. FMIPA, Unimed Medan.

- Pearce C.E. 2009. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka.
- Permatasari, N. 2012. *Instruksi Kerja Pengambilan Darah, Perlakuan, dan Injeksi pada Hewan Coba*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Pinto T *et al.* 2010. Topical anti-inflammatory potential of physalin from *Physalis angulata* on experimental dermatitis in mice.
- Podolsky dan Isselbacher. 2002. *Tes Diagnostik pada Penyakit Hati. Dalam: Harisson Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 13. Volume 4. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal: 1623-1624.
- Price, S.A., Wilson, L.M., 2005. *Patofisiologi: Clinical Concepts Of Disease Processes*. Brahm U Pendit, Penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Price, S.A., Wilson LM. 1985. *Patofisiologi konsep klinik proses-proses penyakit*. Edisi II. Buku Kedokteran. Jakarta.
- Putz R, Pabst R. 2007. *Atlas anatomi manusia sobotta*. Jilid 2, edisi ke-22. Jakarta: EGC. hlm. 142.
- Reina M *et al.* 2010. Absolute configuration of tropane alkaloids from *Schizanthus* species by vibrational circular dichroism. *Phytochemistry*. 71: 810-815.
- Reis ER *et al.* 2005. Harderian Gland Of Wistar Rats Revised As A Protoporphyrin IX Producer. *Braz. J. morphol. Sci.* 22(1): 43-51
- Robbins SL, Kumar V. Cotran RS. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 7. Pendit BU, Alih Bahasa; Rachman LY *et al.*, Editor Jakarta: EGC Terjemahan dari, Robbins Basic Pathology 7th ED. Hal 664-690.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuha Tinggi*. Bandung : ITB. Hal 191.
- Ramnarine M. 2017. Anticholinergic toxicity. *Medscape*. <https://emedicine.medscape.com/article/812644-overview> [20 November 2017]
- Sacher dan Mcperson. 2002. *Tinjauan Klinis Hasil pemeriksaan laboratorium*. Edisi 11. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal : 399-370.
- Santos dos Raquel Alves *et al.* 2008. Genotoxic Effect Of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) Extract On Human Lymphocytes Treated In Vitro. *Biocell* Vol. 32 (2): 195-200.

- Sari, GNF. 2015. *Aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan antioksidan herba ciplukan*. [Tesis]. Surakarta: Universitas Setia Budi Surakarta.
- Sastrohamidjojo, Seno. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: PT. Dian Rakyat. 64-65.
- Setyowati FM. 2010. *Etnofarmakologi Dan Pemakaian Tanaman Obat Suku Dayak Tunjung Di Kalimantan Timur*. [Artikel]. Bogor. Bidang Botani, Puslit. Biologi – LIPI.
- Soares LA, Bassani VL, Ortega GG, and Petrovick PR. 2003. Total Flavonoid Determination for the Quality Control Of Aqueous Extractive from *Phyllanthus niruri L.*, *Lat. Am. J.Phram.* 22:203-207.
- Sudamadji S, Haryono B, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberti.
- Sugiyanto, 1995. *Petunjuk Praktikum Fitokimia Dan Toksikologi*. Edisi IV. Fakultas Farmasi, UGM, Lab. Farmakologi dan Toksikologi, Yogyakarta.
- Treiman DM. 2001. GABAergic mechanisms in epilepsy. *Epilepsia.* 42 (3):8-12
- Turner VT *et al.* 2011. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science.* 50(5): 600–613
- Udem, Samuel, Innocent Nwaogu, Obinna. 2011. Evaluation of Hepatoprotective Activity of Aqueous Leaf Extract of *Swietenia Mahagoni* in Chronic Alcohol-Induced Liver Injury in Rats. *Macedonian Journal of Medical Sciences* 4(1):31-36.
- Underwood E.C.J. 1999. *Buku Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke 5. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Widmann, FK. 1995. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi 9. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. Hal : 331.
- Weiskopf D, Weinberger B, Loebenstein BG. 2009. The Aging Of The Immune System. *J European Society for Organ Transplantation.* 22: 41–50.
- Wu SY *et al.* 2012. Physalin F Induces Cell Apoptosis in Human Renal Carcinoma Cells by Targeting NF-kappaB and Generating Reactive Oxygen Species. *PLoS ONE.* 7(7)

L

A

M

P

9

R

A

N

Lampiran 1. Surat determinasi



UPT- LABORATORIUM

No : 172/DET/UPT-LAB/28/IV/2015
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Sukron Adnaja
NIM : 20144083 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Ciplukan (*Physalis angulata* L.)**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA.

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15b. Golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 171b – 177b – 179b – 187b – 189b – 190b – 191a. familia 111. Solanaceae. 1b – 3b – 5a. 3. Physalis. *Physalis angulata* L.

Deskripsi :

Habitus : Herba 1 tahun, tegak, tinggi 0,1-1 m.
Batang : Bersegi-4 tajam, berongga, hijau, bagian bawah kemerahan.
Daun : Tunggal, tersebar, bulat telur memanjang, panjang 3-5,5 cm, lebar 1,4-2 cm, pangkal tumpul tidak simetris, ujung meruncing, tepi rata.
Bunga : Tunggal, kelopak bercelah 5, berbagi kurang dari separo jalan, dengan taju-taju bersudut 3, runcing, hijau, dengan rusuk lembayung. Mahkota bentuk lonceng lebar, tinggi 7-9 mm, kuning muda dengan pangkal hijau, tepian berlekuk 5 tidak dalam.
Buah : **Buni, bulat memanjang, pada waktu masak kuning. Kelopak buah yang dewasa menggantung bentuk telur, panjang 2-4 cm, kuning hijau, berurat lembayung.**
Akar : Tunggang.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 28 April 2017

Pim. determinasi



Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Perhitungan rendemen berat basah terhadap berat kering herba ciplukan

Diketahui :

- Berat basah herba ciplukan = 5000 gram
- Berat kering herba ciplukan = 457 gram






Perhitungan % rendemen

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{457}{5000} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = 9,14 \%$$

Lampiran 3. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk

	
Herba Ciplukan	Pengambilan sampel
	
Pengeringan herba ciplukan	Pengeringan herba ciplukan
	
Pembuatan serbuk	Penimbangan serbuk

Lampiran 4. Perhitungan penetapan kadar air

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20 gram	1,5 ml	7,5
2	20 gram	1,8 ml	9
3	20 gram	1,5 ml	7,5
Rata-rata ± SD			8 ± 0,866

Replikasi 1

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,5 \text{ ml}}{20 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 7,5\% \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,8 \text{ ml}}{20 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 9\% \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,5 \text{ ml}}{20 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 7,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air serbuk herba ciplukan} &= \frac{7,5\% + 9\% + 7,5\%}{3} \\ &= 8\% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan rendemen ekstrak

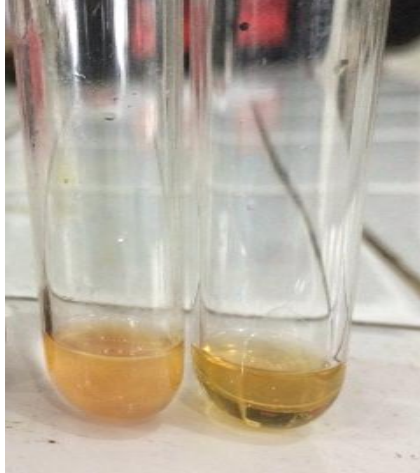


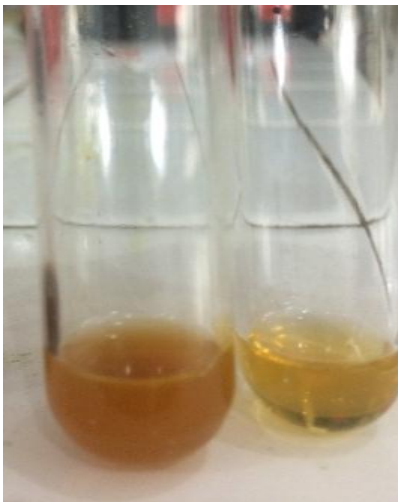


Perhitungan berat ekstrak

Berat wadah + ekstrak	= 79,568gr
Berat wadah kosong	= 37,342 gr
<hr/>	
Berat ekstrak	= 42,226 gr


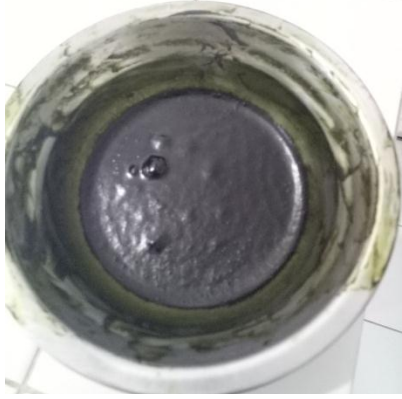
Perhitungan % rendemen ekstrak

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{42,226 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 4,22 \%\end{aligned}$$

Lampiran 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol herba ciplukan

Serbuk Herba Ciplukan		
		
Alkaloid	Flavonoid	Steroid
Ekstrak Etanol Herba Ciplukan		
		
Alkaloid	Flavonoid	Steroid

Lampiran 7. Proses pembuatan ekstrak

	
Proses Evaporasi	Ekstrak kental herba ciplukan

Lampiran 8. Surat keterangan hewan uji



PEMERINTAH KOTA SURAKARTA
DINAS PERTANIAN,
KETAHANAN PANGAN DAN PERIKANAN
 JL. Yap Tjwan Bing (Jagalan) No. 26 Telp. (0271) 656816 – Fax. (0271) 656816
 Website www.disperten.surakarta.co.id E-mail pertanian_ska@yahoo.co.id
 S U R A K A R T A Kode Pos 5 7 1 2 4

SURAT KETERANGAN KESEHATAN HEWAN

Nomor : 524.3/1483

Yang bertandatangan di bawah ini **drh. Abdul Aziz MK**, Dokter Hewan yang berwenang di wilayah **Kota Surakarta**, menerangkan bahwa pada hari **Kamis** tanggal **20** bulan **Juli** tahun **2017** telah memeriksa hewan di bawah ini :

NO	JENIS HEWAN	SUB SPESIES/ TRAH	JUMLAH (ekor)			UMUR (bln)	Tanda / Warna
			Jtn	Btn	Total		
1	Tikus	Wistar	50	50	100	2 - 3	Putih

Menerangkan bahwa hewan-hewan tersebut di atas : **sehat** , atau saat pemeriksaan tidak menunjukkan tanda klinis penyakit hewan menular.

KETERANGAN :

Nama pemilik/pengirim : Sdr. Yulianto Ratno Saputro
 No KTP/SIM pemilik/pengirim : 3372053007720003
 No telp. Pemilik/pengirim : 082133998945
 Alamat pemilik/pengirim : Sumber RT 04 RW 03 Surakarta.
 Daerah asal hewan : Sumber RT 04 RW 03 Surakarta.
 Daerah tujuan : Surakarta.
 Nama dan alamat Penerima : Rina Herawati, Dosen Universitas Setia Budi Surakarta
 Rencana dikirim : Jum'at, 21 Juli 2017.
 Kendaraan : Pesawat

Setelah sampai di daerah tujuan segera melaporkan ke dinas yang membidangi fungsi peternakan dan kesehatan hewan.

Surakarta, 20 Juli 2017

Mengetahui
 a.n. KEPALA DINAS PERTANIAN,
 KETAHANAN PANGAN DAN PERIKANAN
 KOTA SURAKARTA
 Kepala Bidang Keswan dan Kesmavet



drh. EYI NURWULANDARI
 Pembina
 NIP. 197010806 19980303 2 004

Dokter Hewan Berwenang,

drh. ABDUL AZIZ MK
 NIP. 19810428 200501 1 006

Tembusan Yth. :

1. Walikota Surakarta (sebagai laporan);
2. Kepala Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Jawa Tengah;
3. Kepala Balai Karantina Pertanian Surakarta.
4. Arsip

Lampiran 9. Surat izin etik keheamanan



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 : 1.080 / XII / HREC / 2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas
 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 AKUT DAN SUBKRONIK EKSTRAK HERBA CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP
 PARAMETER BOKIMIA DAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR
 WISTAR**

Principal investigator : Sukron Admaja
 Peneliti Utama : 20144089A

Location of research : Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 11 Dec 2017

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wijoso, dr., Sp.FMM
 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 1% adalah dengan 1000 mg CMC 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/ 200 gram berat badan tikus.

2. Dosis rendah 250mg/kgbb. Dosis rendah untuk tikus sebesar 250mg/kgbb tikus atau 0,25mg/gr BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 0,25mg/gr x 200 g = 50mg/200 grbb tikus

Larutan stok 2%

$$\text{Larutan stok} = \frac{2000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 20 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang oralkan} = \frac{50 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

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

BB tikus 200 gram

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

Larutan stok 4%

$$\text{Larutan stock} = \frac{4000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 40 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{100 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

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

BB tikus 200 gram

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

Larutan stok 6%

$$\text{Larutan stock} = \frac{6000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 60 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{200 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3,33 \text{ ml}$$

5. Kelompok satelit dosis tinggi 1000mg/kgbb. Kelompok satelit dosis tinggi untuk tikus sebesar 1000mg/kgbb tikus atau 1 mg/gr BB tikus.

BB tikus 200 gram

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

Larutan stok 6%

$$\text{Larutan stok} = \frac{6000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 60 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{200 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3,33 \text{ ml}$$

Lampiran 12. Hasil penetapan dosis pada tikus uji toksisitas akut

1. Dosis I (250 mg/Kg BB tikus)
 - = 250 mg/ 1000 gram tikus
 - = 50 mg/ 200 gram tikus
 - Lar. Stok 2 %
 - = 2 gram/ 100 ml
 - = 2000 mg/ 100 ml
 - = 20 mg/ml
$$\text{vol. pemberian} = \frac{50 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$
2. Dosis II (500 mg/ Kg BB tikus)
 - = 500 mg/ 1000 gram tikus
 - = 100 mg/ 200 gram tikus
 - Lar. Stok 4%
 - = 4 gram/ 100 ml
 - = 4000 mg/ 100 ml
 - = 40 mg/ ml
$$\text{vol. pemberian} = \frac{100 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$
3. Dosis III (1000 mg/ Kg BB tikus)
 - = 1000 mg/ 1000 gram tikus
 - = 200 mg/ 200 gram tikus
 - Lar. Stok 6%
 - = 6 gram/ 100 ml
 - = 6000 mg/ 100 ml
 - = 60 mg/ ml
$$\text{vol. pemberian} = \frac{200 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3,3 \text{ ml}$$
4. Dosis IV (2000 mg/ Kg BB tikus)
 - = 2000 mg/ 1000 gram tikus
 - = 400 mg/ 200 gram tikus
 - Lar. Stok 18%
 - = 18 gram/ 100 ml
 - = 18000 mg/ 100 ml
 - = 180 mg/ ml
$$\text{vol. pemberian} = \frac{400 \text{ mg}}{180 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$$
5. Dosis V (4000 mg/ Kg BB tikus)
 - = 4000 mg/ 1000 gram tikus
 - = 800 mg/ 200 gram tikus
 - Lar. Stok 36%
 - = 36 gram/ 100 ml

$$= 36000 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$$

$$= 360 \text{ mg} / \text{ml}$$

$$\text{vol. pemberian} = \frac{800 \text{ mg}}{360 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$$

Kelompok	mencit ke-	BB (gram)	Dosis	Vol. Pemberin
dosis 1	1	190	$\frac{190 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 50 \text{ mg} = 47,5 \text{ mg}$	$\frac{47,5 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,375 \text{ ml}$
	2	179	$\frac{179 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 50 \text{ mg} = 44,75 \text{ mg}$	$\frac{44,75 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,237 \text{ ml}$
	3	167	$\frac{167 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 50 \text{ mg} = 41,75 \text{ mg}$	$\frac{41,75 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,087 \text{ ml}$
	4	154	$\frac{154 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 50 \text{ mg} = 38,5 \text{ mg}$	$\frac{38,5 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,925 \text{ ml}$
	5	139	$\frac{139 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 50 \text{ mg} = 34,75 \text{ mg}$	$\frac{34,75 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,737 \text{ ml}$
dosis 2	1	193	$\frac{193 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 100 \text{ mg} = 96,5 \text{ mg}$	$\frac{96,5 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,412 \text{ ml}$
	2	176	$\frac{176 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 100 \text{ mg} = 88 \text{ mg}$	$\frac{88 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,2 \text{ ml}$
	3	155	$\frac{155 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 100 \text{ mg} = 77,5 \text{ mg}$	$\frac{77,5 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,937 \text{ ml}$
	4	137	$\frac{137 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 100 \text{ mg} = 68,5 \text{ mg}$	$\frac{68,5 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,712 \text{ ml}$
	5	139	$\frac{139 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 100 \text{ mg} = 69,5 \text{ mg}$	$\frac{69,5 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,737 \text{ ml}$
dosis 3	1	187	$\frac{187 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 200 \text{ mg} = 187 \text{ mg}$	$\frac{187 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3,116 \text{ ml}$
	2	157	$\frac{157 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 200 \text{ mg} = 157 \text{ mg}$	$\frac{157 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,616 \text{ ml}$
	3	164	$\frac{164 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 200 \text{ mg} = 164 \text{ mg}$	$\frac{164 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,733 \text{ ml}$
	4	151	$\frac{151 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 200 \text{ mg} = 151 \text{ mg}$	$\frac{151 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,516 \text{ ml}$
	5	133	$\frac{133 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 200 \text{ mg} = 133 \text{ mg}$	$\frac{133 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,216 \text{ ml}$
dosis 4	1	194	$\frac{194 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 400 \text{ mg} = 388 \text{ mg}$	$\frac{388 \text{ mg}}{180 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,155 \text{ ml}$
	2	172	$\frac{172 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 400 \text{ mg} = 344 \text{ mg}$	$\frac{344 \text{ mg}}{180 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,911 \text{ ml}$
	3	164	$\frac{164 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 400 \text{ mg} = 328 \text{ mg}$	$\frac{328 \text{ mg}}{180 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,82 \text{ ml}$
	4	153	$\frac{153 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 400 \text{ mg} = 306 \text{ mg}$	$\frac{306 \text{ mg}}{180 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$
	5	139	$\frac{139 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 400 \text{ mg} = 278 \text{ mg}$	$\frac{278 \text{ mg}}{180 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,544 \text{ ml}$
dosis 5	1	190	$\frac{190 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 800 \text{ mg} = 760 \text{ mg}$	$\frac{760 \text{ mg}}{360 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,111 \text{ ml}$
	2	161	$\frac{161 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 800 \text{ mg} = 644 \text{ mg}$	$\frac{644 \text{ mg}}{360 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,788 \text{ ml}$
	3	161	$\frac{161 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 800 \text{ mg} = 644 \text{ mg}$	$\frac{644 \text{ mg}}{360 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,788 \text{ ml}$
	4	141	$\frac{141 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 800 \text{ mg} = 564 \text{ mg}$	$\frac{564 \text{ mg}}{360 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,566 \text{ ml}$
	5	127	$\frac{127 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 800 \text{ mg} = 508 \text{ mg}$	$\frac{508 \text{ mg}}{360 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,411 \text{ ml}$

Lampiran 13. Hasil pengamatan berat badan tikus uji toksisitas akut

Kelompok	nomor tikus	berat badan (gram)				
		hari ke-				
		0	3	6	10	14
dosis 250 mg/KgBB	1	190	201	209	215	217
	2	179	194	203	197	199
	3	167	172	180	183	182
	4	154	162	160	159	159
	5	139	143	147	149	149
Rata-rata		165,8	174,4	179,8	180,6	181,2
Stand. Dev		20,11	23,64	26,73	27,03	27,96
dosis 500 mg/KgBB	1	193	211	227	232	236
	2	176	184	189	191	198
	3	155	163	169	167	168
	4	137	146	145	150	153
	5	139	138	143	146	144
Rata-rata		160	168,4	174,6	177,2	179,8
Stand. Dev		24,18	29,63	34,85	35,39	37,51
dosis 1000 mg/KgBB	1	187	196	216	223	225
	2	157	160	168	172	176
	3	164	169	171	177	178
	4	151	155	163	166	171
	5	133	135	138	141	144
Rata-rata		158,4	163	171,2	175,8	178,8
Stand. Dev		19,69	22,25	28,22	29,79	29,21
dosis 2000 mg /KgBB	1	194	198	195	193	193
	2	172	180	189	197	202
	3	164	172	169	173	177
	4	153	163	176	187	182
	5	139	144	149	148	146
Rata-rata		164,4	171,4	175,6	179,6	180
Stand. Dev		20,67	20,01	18,07	19,86	21,34
dosis 4000 mg /KgBB	1	190	194	202	209	212
	2	161	167	178	186	187
	3	161	170	173	171	173
	4	141	153	169	177	180
	5	127	133	138	142	145
Rata-rata		156	163,4	172	177	179,4
Stand. Dev		23,83	22,50	22,92	24,32	24,21

Lampiran 14. Berat badab hewan uji subkrinik

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	152,72 ±21,74	162,73 ±20,01	172,10 ±19,72	182,50 ±25,06	193,60 ±27,89	203,40 ±33,31	208,30 ±35,31	209,80 ±40,09	186,60 ±51,61	198,22 ±44,77	206,78 ±40,42	221,22 ±41,44	239,11 ±46,75						
	Kelompok 250 mg/Kgbb	155,26 ±11,29	159,56 ±10,99	165,00 ±15,31	169,50 ±18,51	177,70 ±17,78	187,60 ±19,24	195,40 ±22,85	188,00 ±25,91	191,43 ±18,78	202,29 ±26,99	210,14 ±30,85	217,00 ±36,90	221,86 ±42,20						
	Kelompok 500 mg/Kgbb	147,90 ±12,10	157,11 ±12,40	164,11 ±14,90	172,89 ±18,01	186,11 ±15,02	197,00 ±18,67	204,78 ±22,44	195,56 ±23,11	208,75 ±20,89	210,13 ±24,64	215,13 ±26,39	223,00 ±29,72	230,88 ±48,79						
	Kelompok 1000 mg/Kgbb	146,76 ±18,56	148,09 ±16,20	150,40 ±18,80	151,20 ±19,94	163,50 ±22,12	176,11 ±27,65	184,00 ±24,70	174,50 ±21,01	190,60 ±20,70	200,20 ±26,12	212,40 ±35,99	221,00 ±35,83	227,60 ±36,24						
	Kelompok Satelit	149,41 ±12,50	164,42 ±9,64	171,50 ±13,07	175,20 ±15,27	182,00 ±11,60	188,33 ±16,07	192,67 ±20,92	189,33 ±25,61	197,86 ±24,29	212,67 ±20,43	227,00 ±27,16	222,83 ±21,54	218,50 ±19,34	223,00 ±18,98	230,17 ±19,81	234,83 ±20,61	240,50 ±24,37		
	Betina	Kelompok Kontrol Negatif	140,67 ±9,60	148,64 ±12,06	148,80 ±11,93	146,90 ±13,06	149,70 ±12,10	152,70 ±11,58	152,90 ±11,06	160,60 ±10,53	159,56 ±9,03	161,89 ±10,76	161,00 ±14,97	167,33 ±13,35	175,22 ±9,77					
Kelompok 250 mg/Kgbb		138,97 ±12,11	146,80 ±9,18	140,90 ±10,89	142,90 ±14,25	150,80 ±15,35	156,90 ±16,45	160,60 ±17,64	161,00 ±16,71	156,30 ±24,46	159,50 ±24,16	163,10 ±27,60	167,90 ±28,56	173,70 ±29,83						
Kelompok 500 mg/Kgbb		136,43 ±11,07	142,09 ±8,19	147,10 ±9,41	150,60 ±9,65	153,20 ±9,35	154,90 ±9,76	153,40 ±10,29	147,00 ±10,69	152,44 ±13,02	149,89 ±11,48	149,22 ±13,40	158,22 ±12,45	171,22 ±8,53						
Kelompok 1000 mg/Kgbb		137,20 ±9,21	138,09 ±8,75	140,60 ±9,58	142,10 ±9,13	147,50 ±10,01	151,70 ±11,26	155,90 ±11,80	150,11 ±14,52	157,11 ±13,80	164,22 ±14,32	171,44 ±14,77	173,00 ±14,41	174,56 ±15,88						
Kelompok Satelit		133,07 ±9,87	140,25 ±9,53	139,70 ±10,50	140,20 ±10,00	144,20 ±10,54	148,90 ±10,28	151,80 ±10,45	150,88 ±8,68	160,00 ±12,58	158,13 ±13,66	157,75 ±15,77	165,00 ±15,78	169,50 ±16,99	176,75 ±13,94	183,88 ±13,22	189,38 ±14,04	192,13 ±14,21		

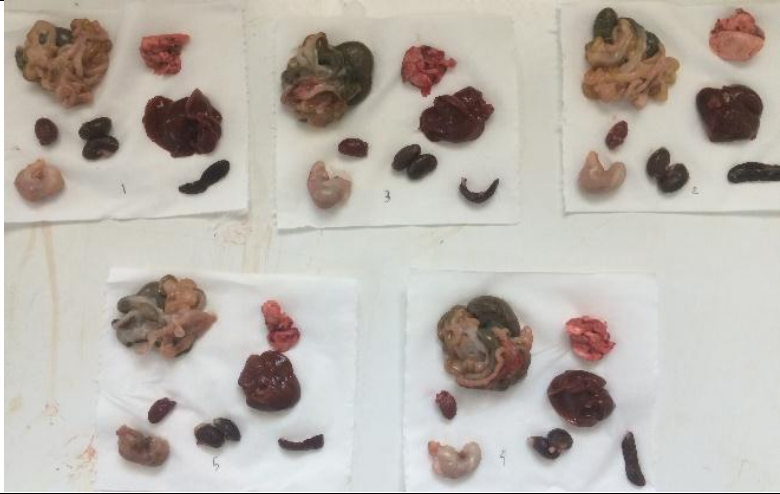



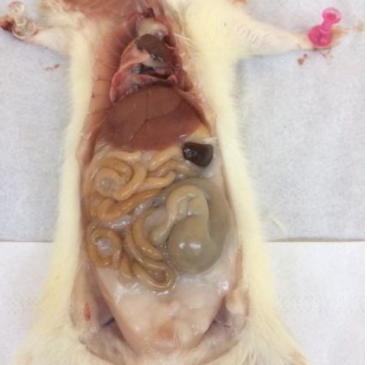
Lampiran 15. Berat organ dan indeks organ akut

Kelompok Dosis	Tikus Ke-	Berat Organ (gram)							Berat Badan akhir	Indeks organ (%)						
		Paru-paru	Jantung	Hati	Ginjal	Usus	Lambung	Limfa		Paru-paru	Jantung	Hati	Ginjal	Usus	Lambung	Limfa
250 mg/KgBB	1	1.09	0.61	4.9	1.44	10.53	1.6	0.44	217	0.50	0.28	2.26	0.66	4.85	0.74	0.20
	2	1.58	0.58	5.14	1.24	11	1.77	0.71	199	0.79	0.29	2.58	0.62	5.53	0.89	0.36
	3	1.39	0.54	5.3	1.35	13.83	2.1	0.36	182	0.76	0.30	2.91	0.74	7.60	1.15	0.20
	4	0.9	0.4	4.09	1.01	13.17	1.47	0.3	159	0.57	0.25	2.57	0.64	8.28	0.92	0.19
	5	0.62	0.36	3.92	0.89	9.17	1.78	0.28	149	0.42	0.24	2.63	0.60	6.15	1.19	0.19
	Rata-rata	1.116	0.498	4.67	1.186	11.54	1.744	0.418		0.608	0.272	2.59	0.652	6.482	0.978	0.228
	SD	0.38	0.11	0.62	0.23	1.92	0.23	0.17		0.16	0.02	0.23	0.05	1.4	0.18	0.07
500 mg/KgBB	1	1.15	0.7	4.53	1.12	9.19	1.18	0.42	236	0.49	0.30	1.92	0.47	3.89	0.50	0.18
	2	1.02	0.46	4.18	1.08	7.73	1.24	0.28	198	0.52	0.23	2.11	0.55	3.90	0.63	0.14
	3	0.9	0.43	3.64	0.87	6.78	0.74	0.29	168	0.54	0.26	2.17	0.52	4.04	0.44	0.17
	4	0.99	0.46	3.47	0.94	9.75	0.82	0.41	153	0.65	0.30	2.27	0.61	6.37	0.54	0.27
	5	0.99	0.42	3.61	0.92	8.05	1.23	0.26	144	0.69	0.29	2.51	0.64	5.59	0.85	0.18
	Rata-rata	1.01	0.494	3.886	0.986	8.3	1.042	0.332		0.578	0.276	2.196	0.558	4.758	0.592	0.188
	SD	0.09	0.11	0.45	0.10	1.18	0.24	0.07		0.08	0.03	0.21	0.06	1.15	0.15	0.04
1000 mg/KgBB	1	1.16	0.8	7.95	1.5	13.71	2.94	0.59	225	0.52	0.36	3.53	0.67	6.09	1.31	0.26
	2	1.32	0.46	5.45	1.24	11.67	2.74	0.51	176	0.75	0.26	3.10	0.70	6.63	1.56	0.29
	3	2.15	0.45	5.34	1.12	9.42	0.84	0.45	178	1.21	0.25	3.00	0.63	5.29	0.47	0.25
	4	0.57	0.34	4.93	0.88	10.3	1.06	0.23	171	0.33	0.20	2.88	0.51	6.02	0.62	0.13
	5	0.75	0.34	4.57	0.89	9.41	1.23	0.31	144	0.52	0.24	3.17	0.62	6.53	0.85	0.22
	Rata-rata	1.19	0.478	5.648	1.126	10.902	1.762	0.418		0.666	0.262	3.136	0.626	6.112	0.962	0.23
	SD	0.61	0.18	1.33	0.25	1.82	0.99	0.14		0.33	0.05	0.24	0.07	0.53	0.46	0.06
2000 mg/KgBB	1	1.3	0.45	4.27	1.36	11.5	1.9	0.49	193	0.67	0.23	2.21	0.70	5.96	0.98	0.25
	2	1.23	0.57	5.11	1.2	13.6	1.63	1.58	202	0.61	0.28	2.53	0.59	6.73	0.81	0.78
	3	0.94	0.5	4.73	1.21	11.9	0.84	0.38	177	0.53	0.28	2.67	0.68	6.72	0.47	0.21
	4	1.51	0.53	5.45	1.38	11.8	1.13	1.03	182	0.83	0.29	2.99	0.76	6.48	0.62	0.57
	5	1.06	0.49	4.76	1.31	9.73	1.71	1.47	146	0.73	0.34	3.26	0.90	6.66	1.17	1.01
	Rata-rata	1.208	0.508	4.864	1.292	11.706	1.442	0.99		0.674	0.284	2.732	0.726	6.51	0.81	0.564
	SD	0.22	0.04	0.44	0.08	1.37	0.44	0.54		0.11	0.03	0.40	0.11	0.32	0.27	0.34
4000 mg/KgBB	1	0.89	0.4	5.73	1.04	10.84	1.62	0.54	212	0.42	0.19	2.70	0.49	5.11	0.76	0.25
	2	0.94	0.45	6.39	1.05	11.41	3.69	0.7	187	0.50	0.24	3.42	0.56	6.10	1.97	0.37
	3	0.91	0.46	5.99	1.02	12.37	2.33	0.31	173	0.53	0.27	3.46	0.59	7.15	1.35	0.18
	4	1.21	0.54	6.22	1.07	13.86	1.71	0.72	180	0.67	0.30	3.46	0.59	7.70	0.95	0.40
	5	0.73	0.38	4.51	0.74	8.72	3.31	0.34	145	0.50	0.26	3.11	0.51	6.01	2.28	0.23
	Rata-rata	0.936	0.446	5.768	0.984	11.44	2.532	0.522		0.524	0.252	3.23	0.548	6.414	1.462	0.286
	SD	0.173	0.06	0.74	0.13	1.90	0.93	0.19		0.09	0.04	0.33	0.04	1.01	0.65	0.09

Lampiran 16. Pengamatan makropatologi akut

Kelompok Dosis	Tikus Ke-	Pengamatan makropatologi															
		Paru-paru		Jantung		Hati			Ginjal		Usus		Lambung		Limfa		
		Warna	Permukaan	warna	Permukaan	warna	Permukaan	Perlemakan	warna	Permukaan	warna	Permukaan	warna	Permukaan	Warna	Permukaan	
250 mg/KgBB	1	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	2	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	3	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	4	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	5	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
500 mg/KgBB	1	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	2	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	3	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	4	Putih kemerahan	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	5	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
1000 mg/KgBB	1	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	2	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	3	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah gelap	Licin	
	4	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	5	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah kecoklatan	Licin	Kuning pucat	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
2000 mg/KgBB	1	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	2	Putih	Licin	Merah kecoklatan	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	3	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Kuning pucat	Licin	Merah	Licin	
	4	Putih kemerahan	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah kecoklatan	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah gelap	Licin	
	5	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah gelap	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Kuning pucat	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
4000 mg/KgBB	1	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	
	2	Putih kemerahan	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Kuning pucat	Licin	Merah	Licin	
	3	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah gelap	Licin	
	4	Putih	Licin	Merah kecoklatan	Licin	Merah	Licin	Ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah gelap	Licin	
	5	Putih	Licin	Merah	Licin	Merah	Licin	Ada	Merah	Licin	Merah muda	Licin	Merah muda	Licin	Merah	Licin	

Lampiran 17. Pengamatan makropatologi akut

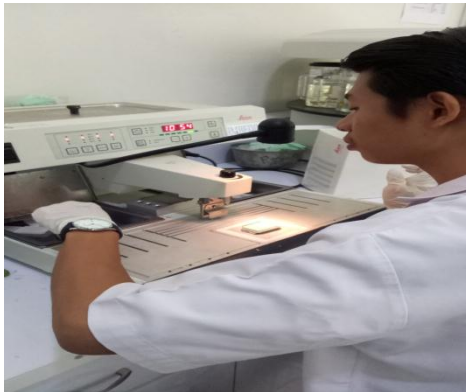
	
<p>Makropatologi organ</p>	
	
<p>Proses Pembedahan</p>	<p>Proses pembedahan</p>
	
<p>Pembedahan</p>	<p>Pembedahan</p>

Lampiran 18. Proses histopatologi



Penempatan organ pada cetakan

Tissue processor



Block embedding



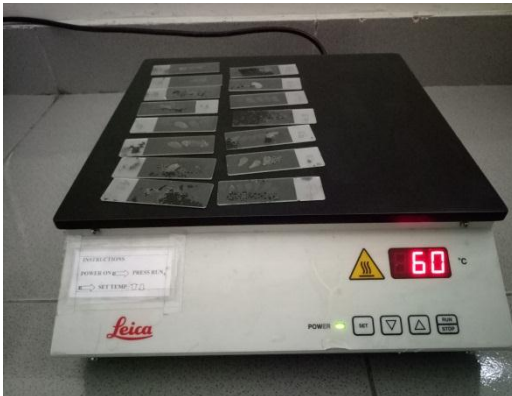
Cold plate



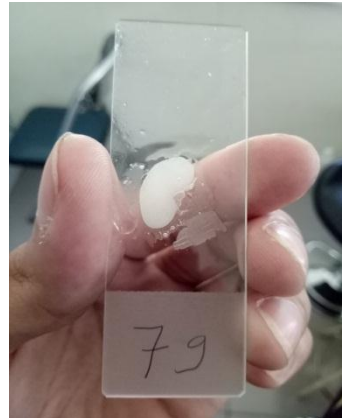
Microtome



Waterbath



Hot plate



Sampel preparat siap di cat



Pengecatan dan dehidrasi



Deparafinasi dan rehidrasi



Clearing



Preparat histologi ginjal

Perlakuan	SGOT						Perlakuan	SGOT					
Satelit	Jantan	T0	T30	T60	T90	T120	Satelit	Betina	T0	T30	T60	T90	T120
	1	64	73	0	0	0		1	132	137	142	153	155
	2	68	80	0	0	0		2	134	139	0	0	0
	3	63	76	83	84	83		3	117	121	127	135	132
	4	102	122	129	136	130		4	76	83	88	96	90
	5	108	119	115	122	116		5	141	149	153	162	154
	6	93	106	102	112	117		6	81	90	0	0	0
	7	94	99	0	0	0		7	98	103	107	116	119
	8	119	127	135	140	143		8	144	147	160	164	157
	9	86	98	109	116	121		9	82	93	96	103	94
	10	103	107	115	0	0		10	94	101	108	114	123

Kadar SGPT

Perlakuan	SGPT					Perlakuan	SGPT				
Kontrol -	Jantan	T0	T30	T60	T90	Kontrol -	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	28.7	29	28.6	30.3		1	30.6	31.3	30	29.6
	2	14.9	16.8	16.3	17.7		2	48.8	49.1	50.2	50.8
	3	17.5	19.5	20.1	18.5		3	23.3	22.8	24.6	25.3
	4	14	16.4	18.4	20.2		4	35	35.8	35.3	36.1
	5	35.1	35.2	36	34.8		5	31.3	32.9	33.7	34.4
	6	25.7	25.3	24.4	25.7		6	31.7	33.2	34.5	33.8
	7	24.5	26.1	26.7	29		7	35.3	34.7	36.1	37.4
	8	21	22.4	21.9	23.7		8	27.8	28.5	29	28.7
	9	20.8	21.1	24.6	0		9	35.7	36.1	37	38.7
	10	27.3	27	29.3	32.2		10	41.3	43.3	0	0
Perlakuan	SGPT					Perlakuan	SGPT				
250	Jantan	T0	T30	T60	T90	250	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	14.9	16.4	15	18.4		1	34.3	35.6	38.3	40.7
	2	39.7	41.2	44.3	46.8		2	44.7	42.7	43.8	45
	3	19.8	22.7	0	0		3	38.3	37.9	40.9	43.8
	4	23.3	25.9	23.4	24.5		4	30.4	32.4	36.3	38.4
	5	24.5	24	27	28.1		5	37.8	39.3	41	42.1
	6	17.9	19.3	0	0		6	28.3	30.5	33.5	35.9
	7	21.2	22.8	0	0		7	22.6	23.8	25.7	27.6
	8	22.2	24.7	23.4	25.2		8	35.5	34	36.4	36
	9	20.7	19.9	22.3	23.4		9	36.7	39.4	41.8	40.9
	10	15.1	17.6	21.3	26.9		10	39.3	40.2	44.7	42.8
Perlakuan	SGPT					Perlakuan	SGPT				
500	Jantan	T0	T30	T60	T90	500	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	15.1	18.6	19.7	20.3		1	37.2	40.8	43	46.5
	2	16.1	19.4	20.9	19.7		2	26.2	27.7	29.4	33.3
	3	19.6	21.8	21.1	25.7		3	40	43.4	46.8	49.7
	4	42.5	45.7	47.8	45.8		4	51.9	54.1	57.8	0
	5	15.6	17.9	21.4	25.3		5	31.7	32.6	34.6	39.4
	6	35.5	35	32.5	30.1		6	35.3	37.3	39.2	38.8
	7	19.6	0	0	0		7	29.2	30.8	32.3	33.1
	8	40.1	42.3	0	0		8	31	31	33.7	35.6
	9	14.4	17.6	20.3	23.4		9	34.8	35.5	37.3	40.8
	10	24.2	26.8	29.9	30.4		10	29.2	31.8	33.8	37.7
Perlakuan	SGPT					Perlakuan	SGPT				
1000	Jantan	T0	T30	T60	T90	1000	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	17.7	19.9	0	0		1	34.3	37.3	40.2	44.2
	2	29.2	31.4	0	0		2	31.1	35.7	0	0
	3	24	26.5	0	0		3	28.3	32.8	33.1	36
	4	15.8	18.5	21.7	20.1		4	38.5	39.6	42.4	44.7
	5	30.6	33.3	35.6	32.9		5	31.3	33.1	36.8	38.7
	6	20.8	22.8	21.8	25.4		6	30.3	34.5	37.5	39
	7	25	27.4	25	27.6		7	33.6	38.2	41.7	44.6
	8	28.2	31.6	34.8	32.3		8	37.6	38.9	42.3	45.9
	9	24	26.8	0	0		9	40.6	43.4	45	49.2
	10	29.6	30.7	0	0		10	32.5	35.6	38.9	40.4

Perlakuan	SGPT							Perlakuan	SGPT						
Satelit	Jantan	T0	T30	T60	T90	T120	Satelit	Betina	T0	T30	T60	T90	T120		
	1	17.9	20.2	0	0	0		1	42.5	45.5	48	51.4	55.2		
	2	24.3	27.7	0	0	0		2	26.8	27.9	0	0	0		
	3	17.7	19.7	23.4	25.6	24.7		3	39.7	41.8	44.1	47.1	40.3		
	4	45.6	48.3	46	47.9	39.8		4	26.8	29.4	32.6	35.3	29.7		
	5	32.9	35.5	36.5	33.8	34.3		5	32.5	34.3	36.2	39.5	42.1		
	6	24.2	26.4	28.3	27.5	22.6		6	31.3	35.7	0	0	0		
	7	17.2	17	0	0	0		7	36.4	38	40.4	44.6	39.4		
	8	26	27.3	28.9	32.2	33.5		8	43	45.1	47.8	48.8	47.5		
	9	27.8	29.5	30.1	34.7	37.4		9	30.9	32	35.3	40.2	46.2		
	10	13.7	17.1	20.5	0	0		10	27.3	29.8	32.6	36.9	43.6		

Lampiran 20. Berat organ dan indeks organ hati subkronik

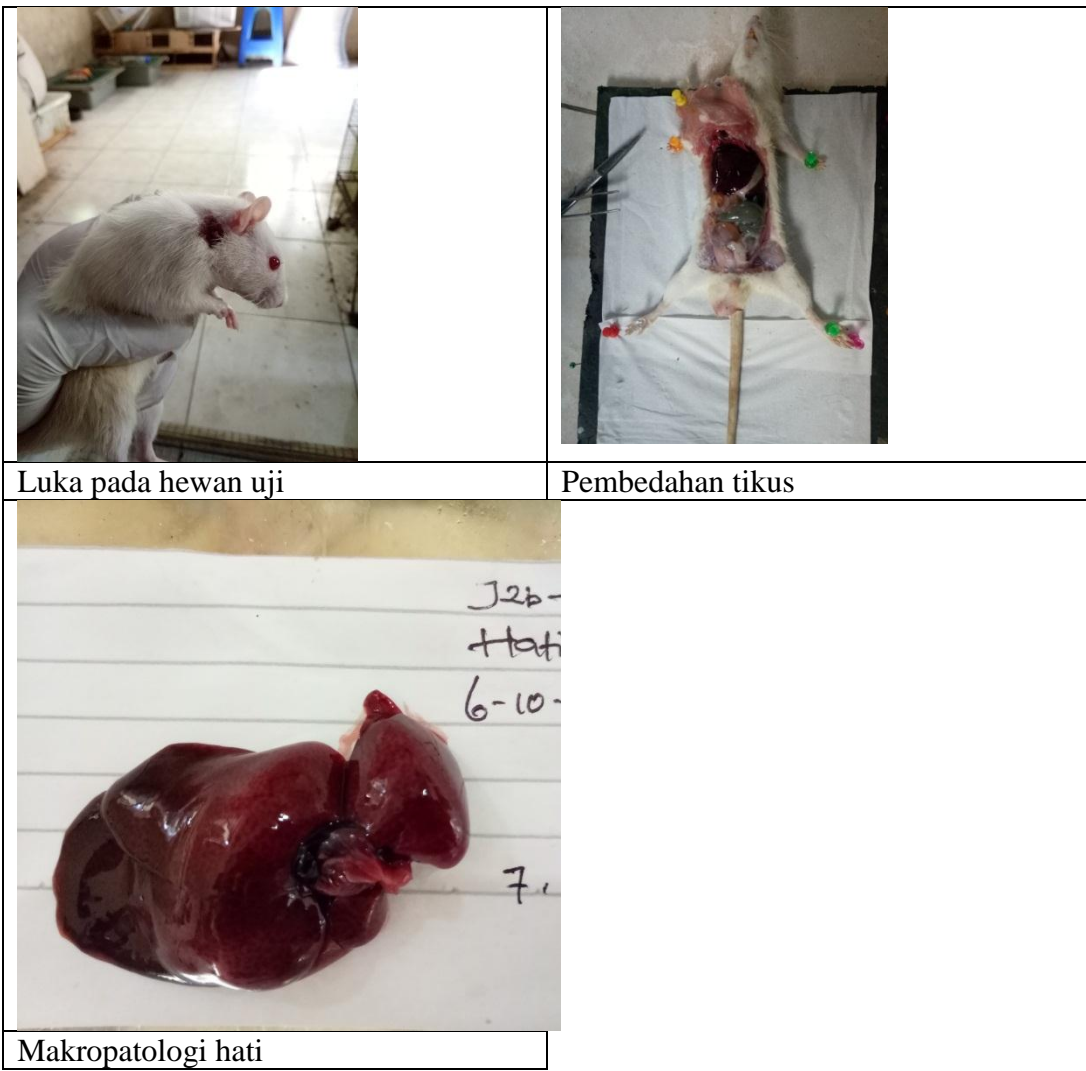
Dosis (mg/KgBB)	BB Tikus (gr)	Berat Hati (gr)	%Indeks Organ	BB Tikus (gr)	Berat Hati (gr)	%Indeks Organ
	Jantan			Betina		
Kontrol Negatif 1	278	8.71	3.13	186	4.62	2.48
Kontrol Negatif 1	258	7.96	3.09	173	3.39	1.96
Kontrol Negatif 1	224	7.32	3.27	167	4.31	2.58
Dosis 250mg/KgBB	182	4.71	2.59	239	5.15	2.15
Dosis 250mg/KgBB	204	4.92	2.41	186	4.87	2.62
Dosis 250mg/KgBB	233	5.02	2.15	179	4.71	2.63
Dosis 500mg/KgBB	195	4.79	2.46	175	3.76	2.15
Dosis 500mg/KgBB	213	5.61	2.63	177	4.02	2.27
Dosis 500mg/KgBB	206	4.99	2.42	183	4.07	2.22
Dosis 1000mg/KgBB	187	3.68	1.97	185	4.38	2.37
Dosis 1000mg/KgBB	198	3.58	1.81	178	3.35	1.88
Dosis 1000mg/KgBB	225	4.67	2.08	187	3.67	1.96
Kelompok Satelit	226	6.59	2.92	172	4.18	2.43
Kelompok Satelit	216	5.5	2.55	181	4.62	2.55
Kelompok Satelit	227	5.65	2.49	187	4.42	2.36

Lampiran 21. Makropatologi subkronik

Kelompok	Makropatologi					
	Warna	Permukaan	Perlemakan hati	Warna	Permukaan	Perlemakan hati
	Jantan			Betina		
Kontrol Negatif 1	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Kontrol Negatif 1	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Kontrol Negatif 1	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 250mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 250mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 250mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 500mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 500mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Ada
Dosis 500mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 1000mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 1000mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Dosis 1000mg/KgBB	Merah Kecoklatan	Licin	Ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Kelompok Satelit	Merah Kecoklatan	Licin	Ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada
Kelompok Satelit	Merah Kecoklatan	Licin	Ada	Merah Kecoklatan	Licin	Ada
Kelompok Satelit	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada	Merah Kecoklatan	Licin	Tidak ada

Lampiran 22. Pengamatan gejala toksik

	
<p>Pengamatan Lakrimasi</p>	<p>Dermatitis pada kaki depan tikus</p>
	
<p>Pengamatan alopesia yang terjadi pada daerah sekitar telinga dan mata</p>	<p>Tikus mati tanpa ada tanda fisik</p>
	
<p>Tikus mati + lubang pada tubuh akibat gigitan dari tikus lain</p>	<p>Pengamatan edema pada tikus</p>



Lampiran 23. Data kematian tikus



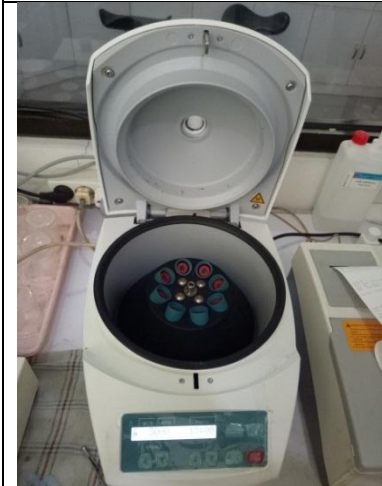
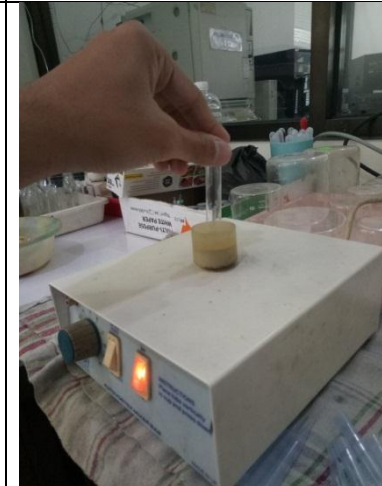

Hewan Uji Jantan

No.	Tanggal Kematian	Dosis	No Tikus	Keterangan
1	13/8/2017	Dosis 500 mg/kgbb	7	Tidak dibedah
2	13/9/2017	Kelompok Satelit	1	Dibedah
3	14/9/2017	Dosis 1000 mg/kgbb	2	Dibedah
4	30/9/2017	Dosis 1000 mg/kgbb	3	Dibedah
5	30/9/2017	Dosis 1000 mg/kgbb	10	Tidak dibedah
6	1/10/2017	Dosis 1000 mg/kgbb	1	Dibedah
7	4/10/2017	Dosis 1000 mg/kgbb	9	Dibedah
8	5/10/2017	Dosis 500 mg/kgbb	8	Dibedah
9	5/10/2017	Kelompok Satelit	2	Dibedah
10	6/10/2017	Dosis 250 mg/kgbb	6	Dibedah
11	7/10/2017	Kelompok Satelit	7	Dibedah
12	9/10/2017	Dosis 250 mg/kgbb	3	Dibedah
13	9/10/2017	Dosis 250 mg/kgbb	7	Dibedah
14	14/10/2017	Kontrol Negatif	9	Dibedah
15	16/10/2017	Kelompok Satelit	10	Tidak dibedah
16	8/11/2017	Kontrol Negatif	3	Dibedah



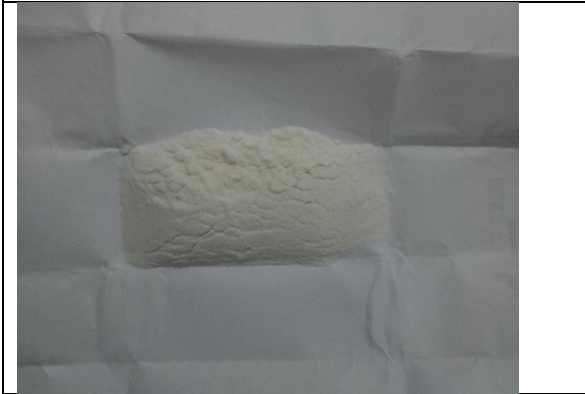
Hewan Uji Betina

No.	Tanggal Kematian	Dosis	No Tikus	Keterangan
1	30/9/2017	Kelompok Satelit	2	Tidak dibedah
2	30/9/2017	Kelompok Satelit	6	Tidak dibedah
3	4/10/2017	Dosis 1000 mg/kgbb	2	Dibedah
4	9/10/2017	Kontrol Negatif	10	Dibedah
5	6/11/2017	Dosis 500 mg/kgbb	4	Dibedah

Lampiran 24. Pengambilan darah, proses sentrifugasi, dan proses pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT

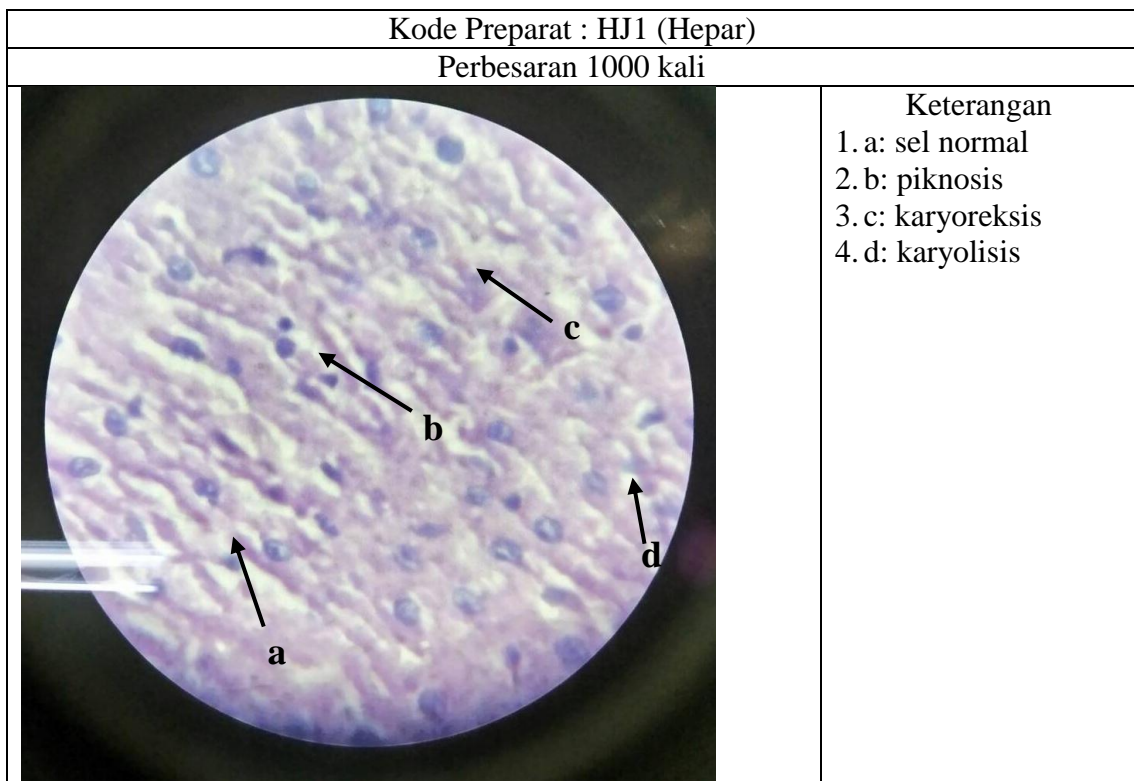
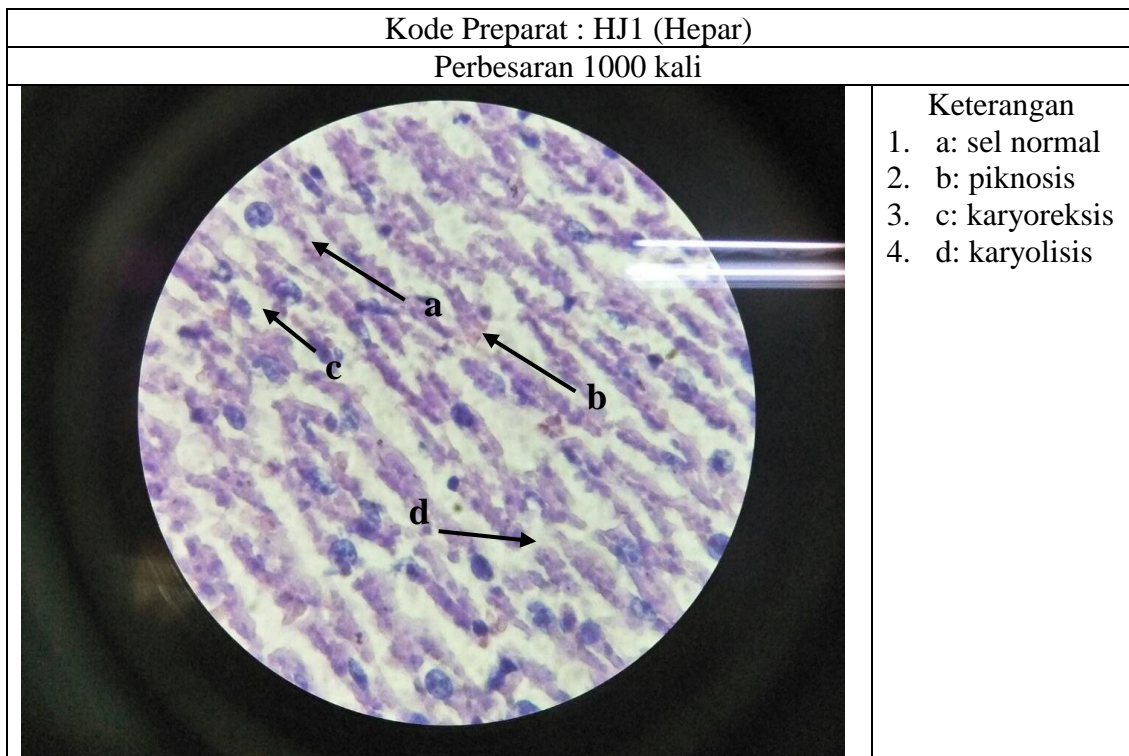
	
Pengambilan Darah	Sampel Darah
	
Alat Sentrifugasi	Alat Autovortex
	
Fotometer	

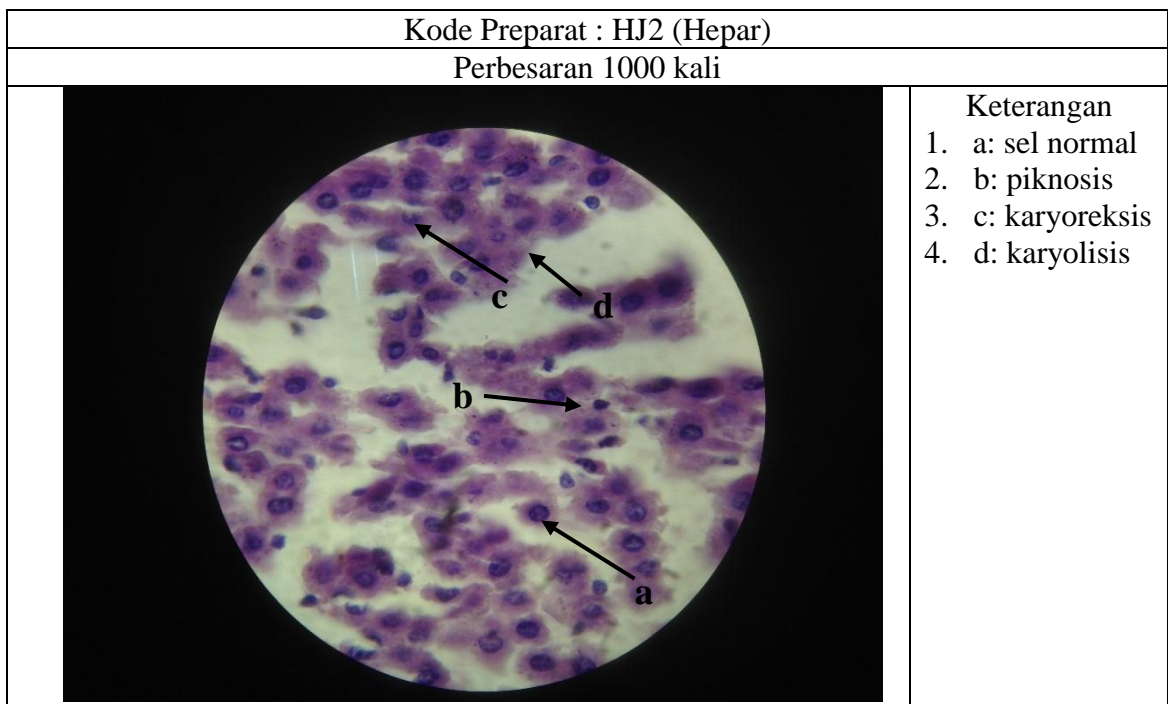
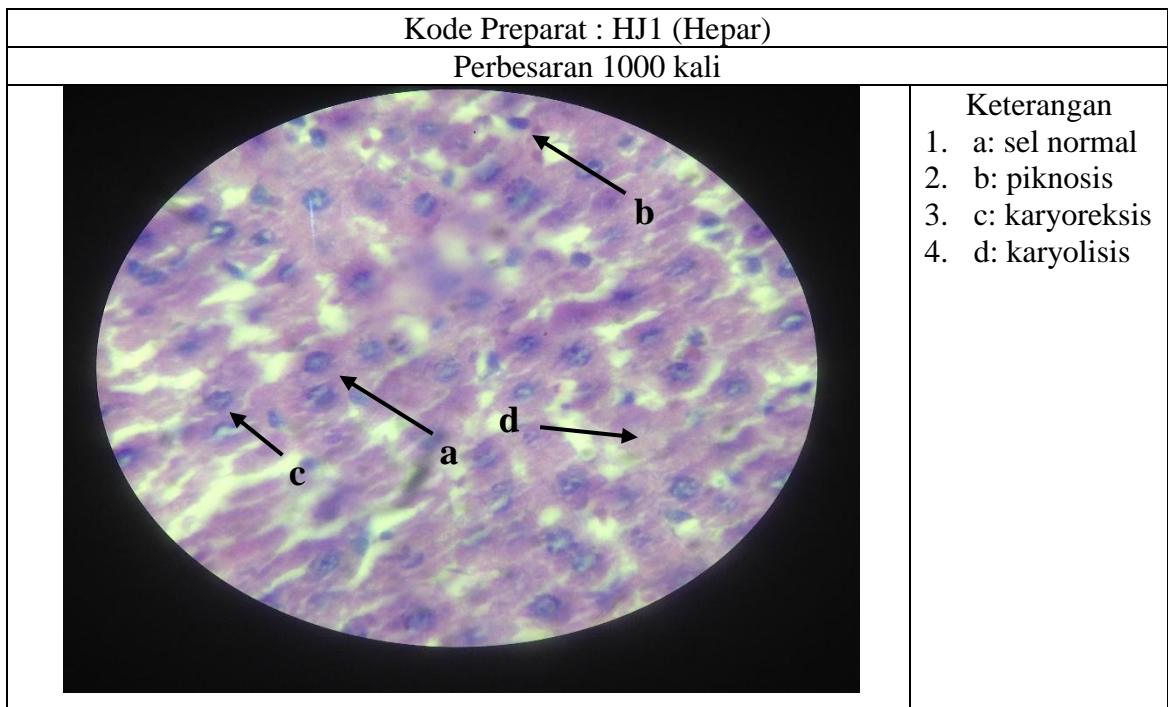
Lampiran 25. Bahan dan lain-lain

	
Timbangan	Sediaan uji dan sonde
	
CMC	

Lampiran 26. Hasil histopatologi hati

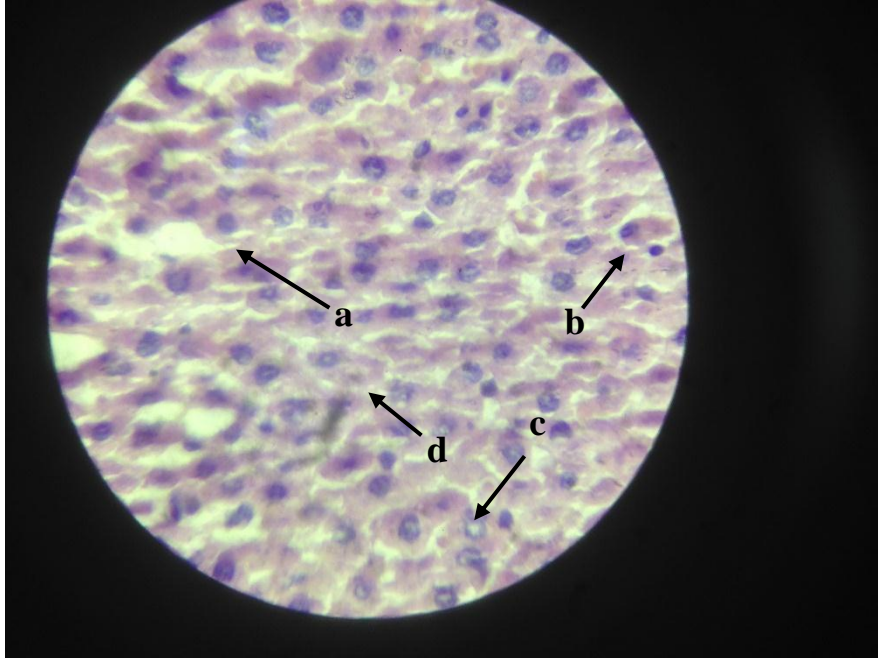
Kelompok Perlakuan (mg/kgbb)	Jumlah Sel			Total Kerusakan	Jumlah Sel Normal	Persentase Kerusakan (%)
	Kario reksis	Pinok tik	Kario lisis			
JANTAN						
Kontrol negatif	8	13	5	27	73	26,00
	7	13	6	25	75	
	7	14	5	26	74	
Kelompok Dosis 250mg/kgbb	9	13	5	28	73	25,00
	7	12	5	24	76	
	9	10	4	23	77	
Kelompok Dosis 500mg/kgbb	9	21	6	36	64	37,66
	10	24	6	40	60	
	8	23	6	37	63	
Kelompok Dosis 1000mg/kgbb	16	26	7	49	51	45,33
	10	24	9	43	57	
	10	22	11	44	56	
Kelompok Satelit	14	18	7	39	61	35,33
	8	20	6	34	66	
	7	20	6	33	67	
BETINA						
Kontrol negatif		8	14	26	74	26,66
		10	12	30	70	
		10	10	24	76	
Kelompok Dosis 250mg/kgbb		9	5	23	77	26,00
		12	9	28	72	
		13	7	27	73	
Kelompok Dosis 500mg/kgbb		21	4	36	64	33,00
		18	6	32	68	
		15	7	31	69	
Kelompok Dosis 1000mg/kgbb		23	8	41	59	41,66
		23	7	42	58	
		22	4	42	58	
Kelompok Satelit		20	6	33	67	33,33
		16	6	33	67	
		15	6	34	66	





Kode Preparat : HJ2 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali

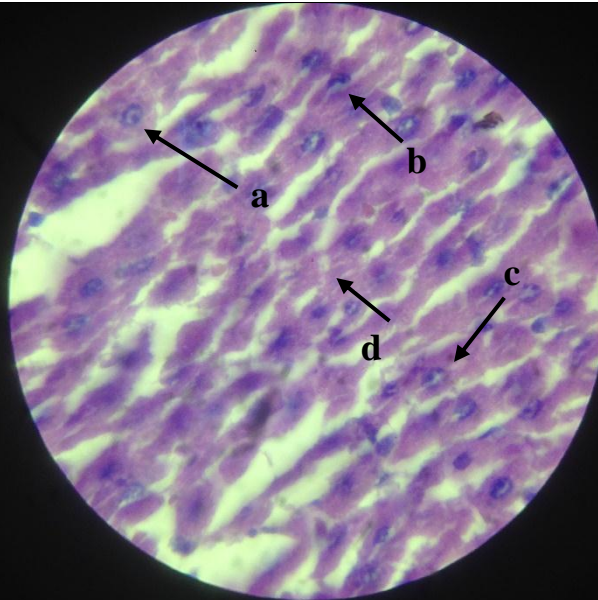


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

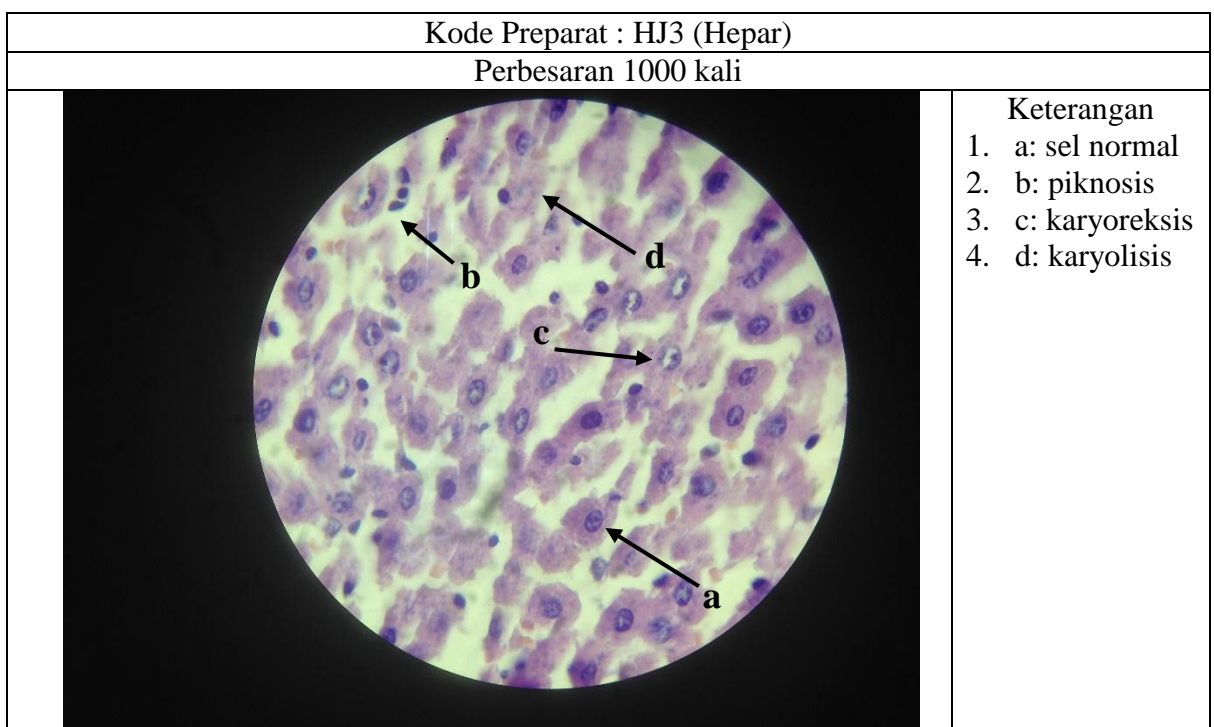
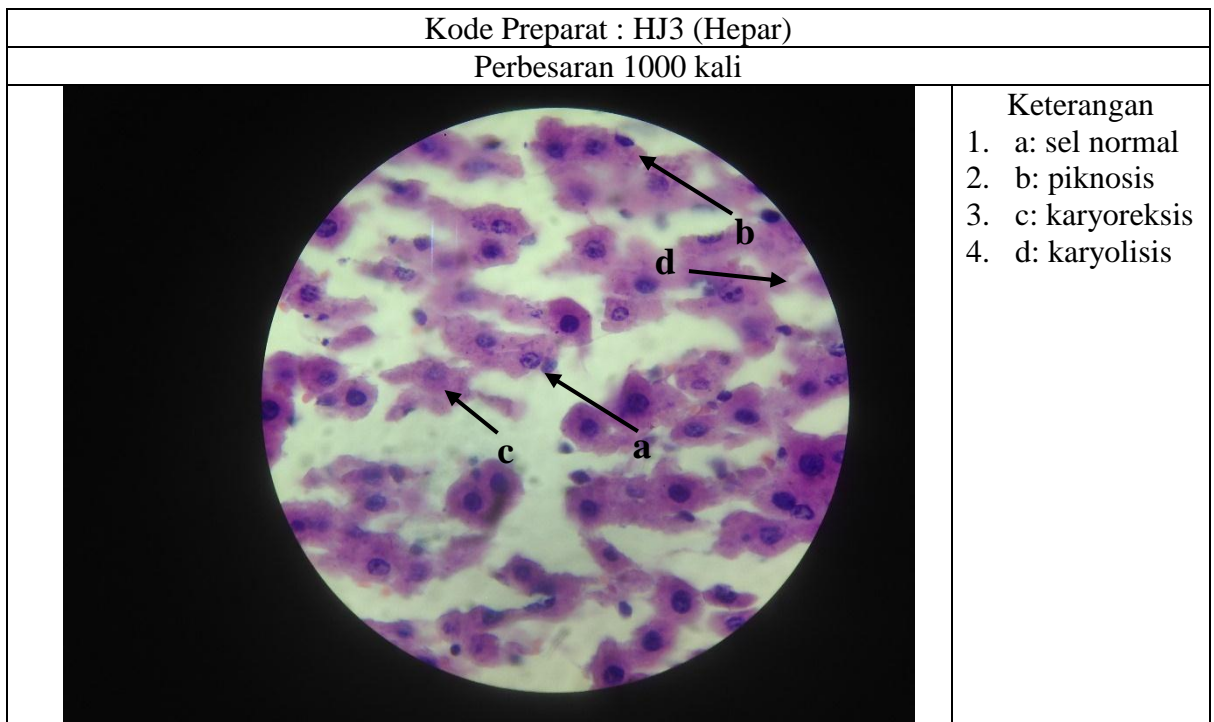
Kode Preparat : HJ2 (Hepar)

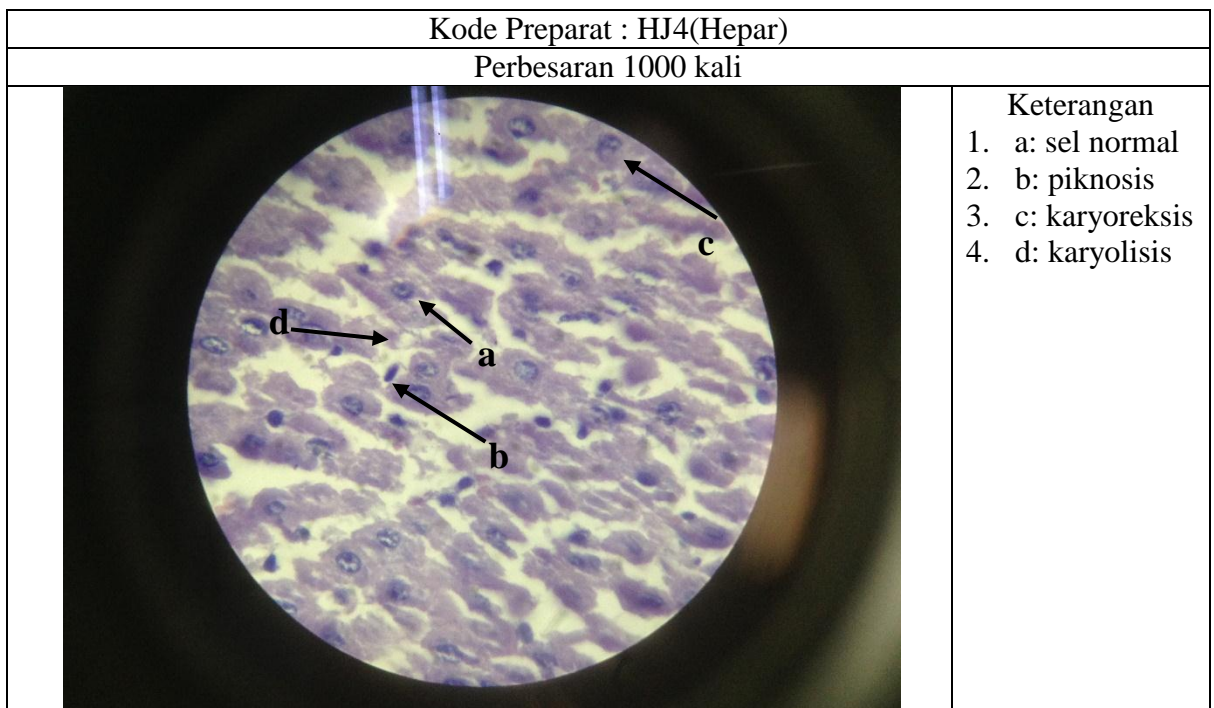
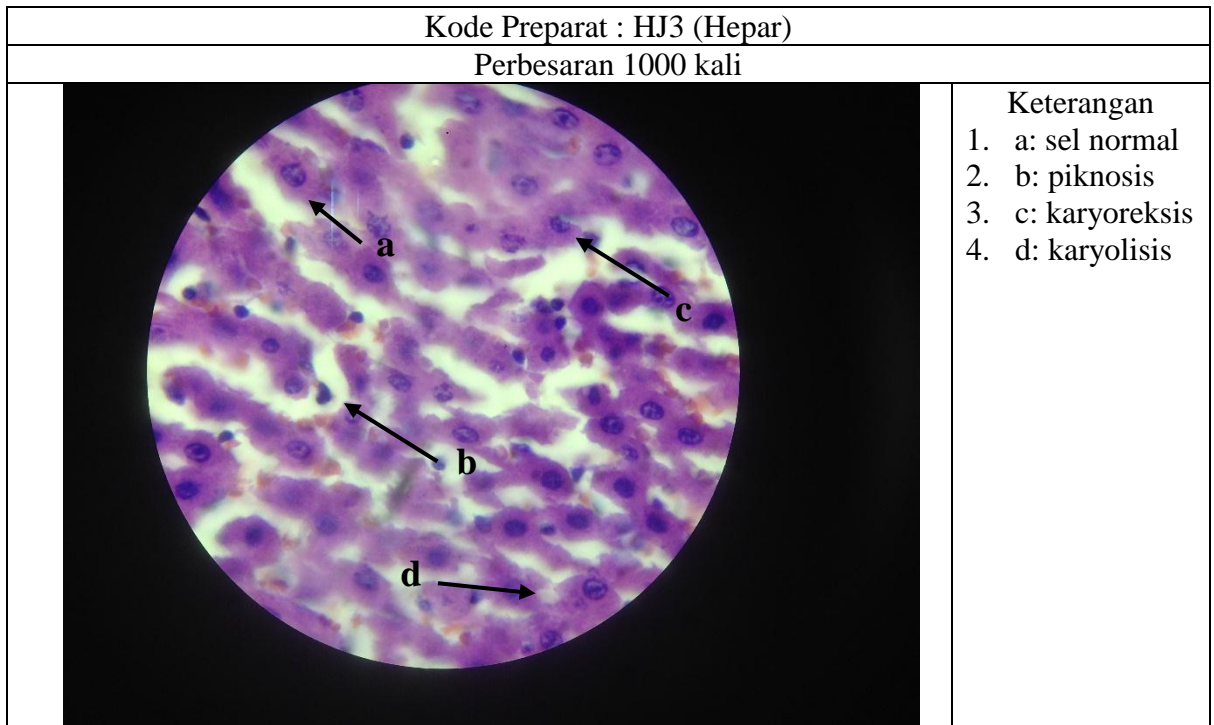
Perbesaran 1000 kali

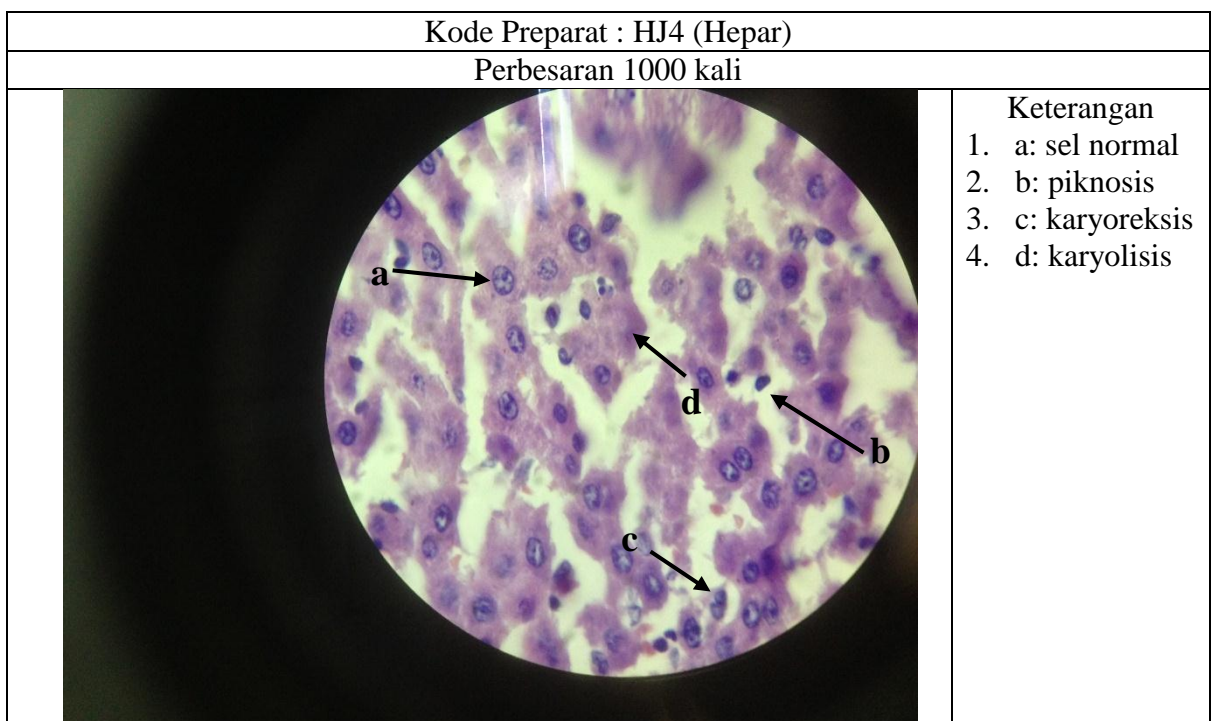
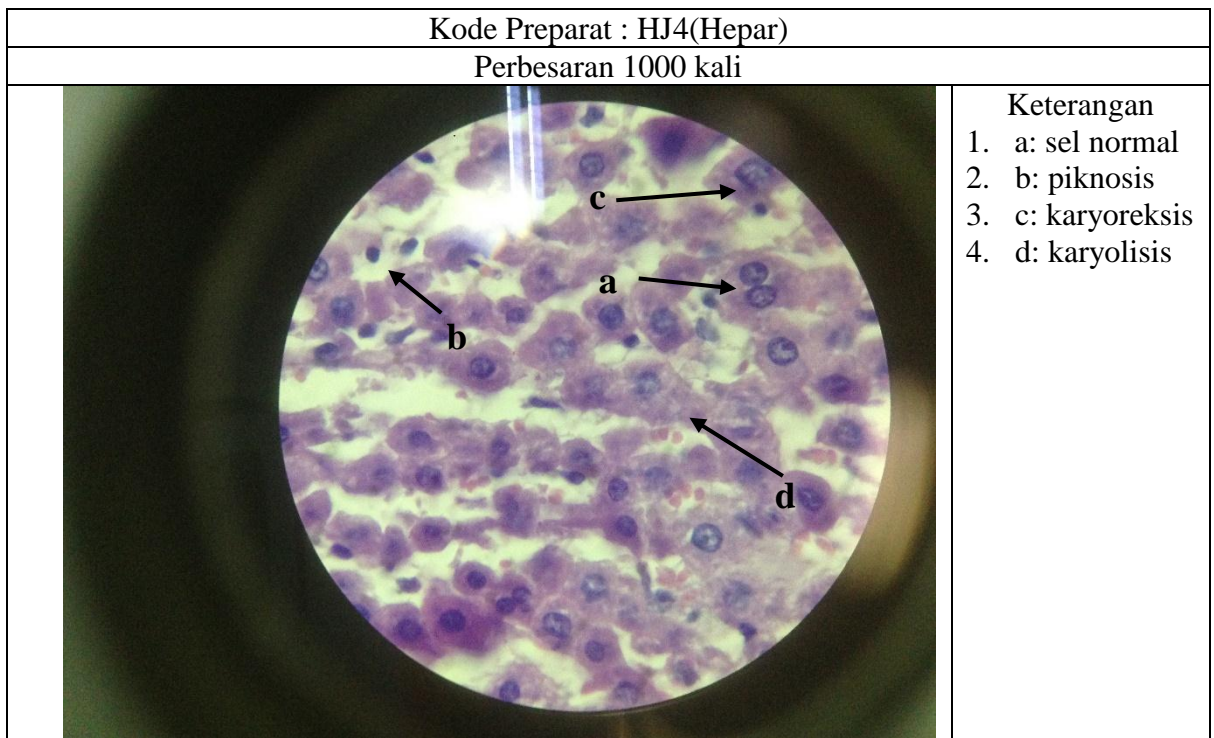


Keterangan

5. a: sel normal
6. b: piknosis
7. c: karyoreksis
8. d: karyolisis

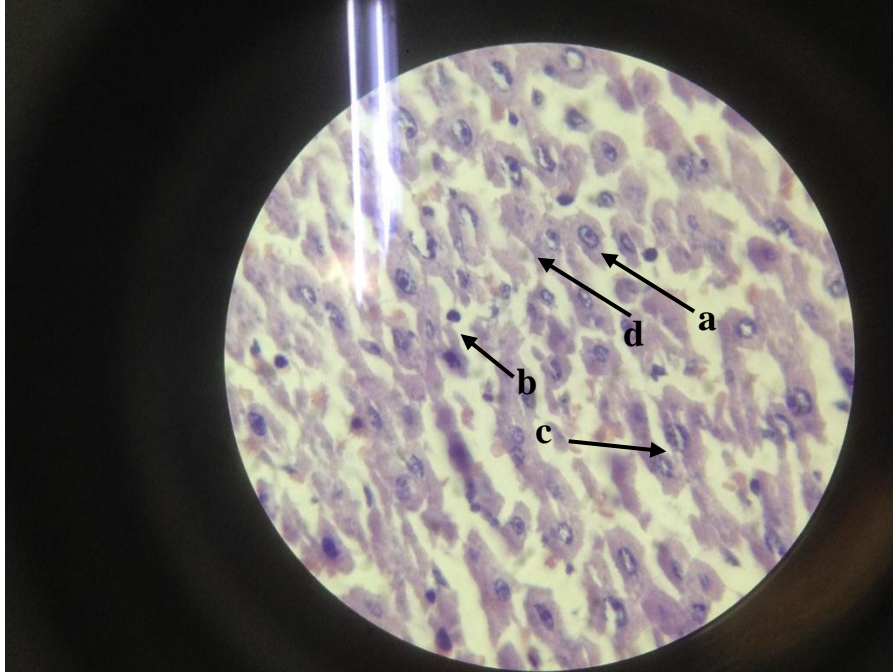






Kode Preparat : HJ5(Hepar)

Perbesaran 1000 kali

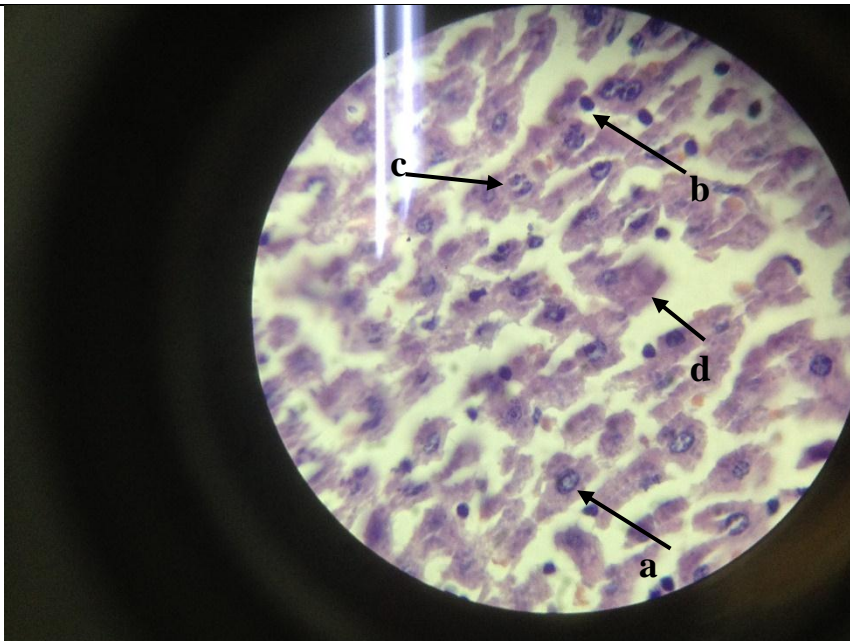


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Kode Preparat : HJ5 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali



Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Kode Preparat : HJ5 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali

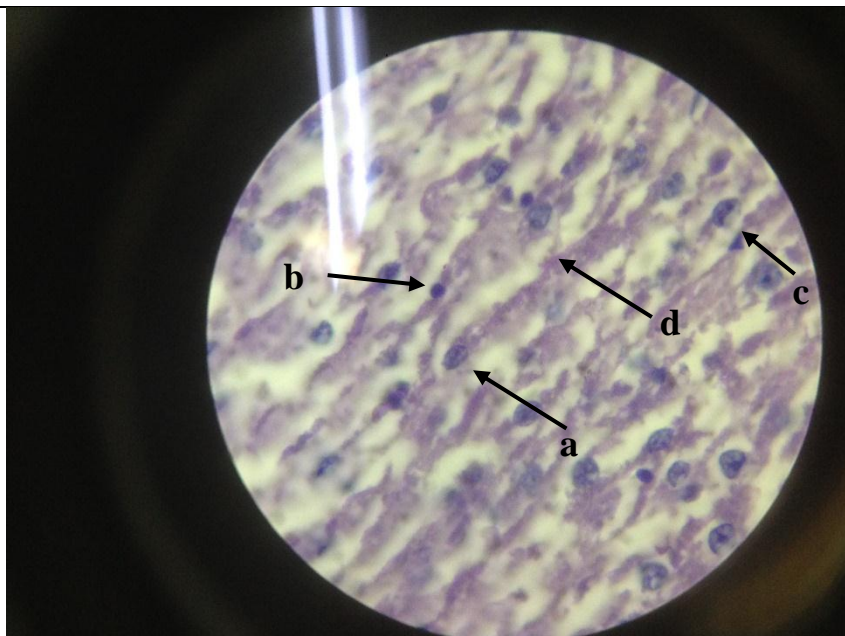


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

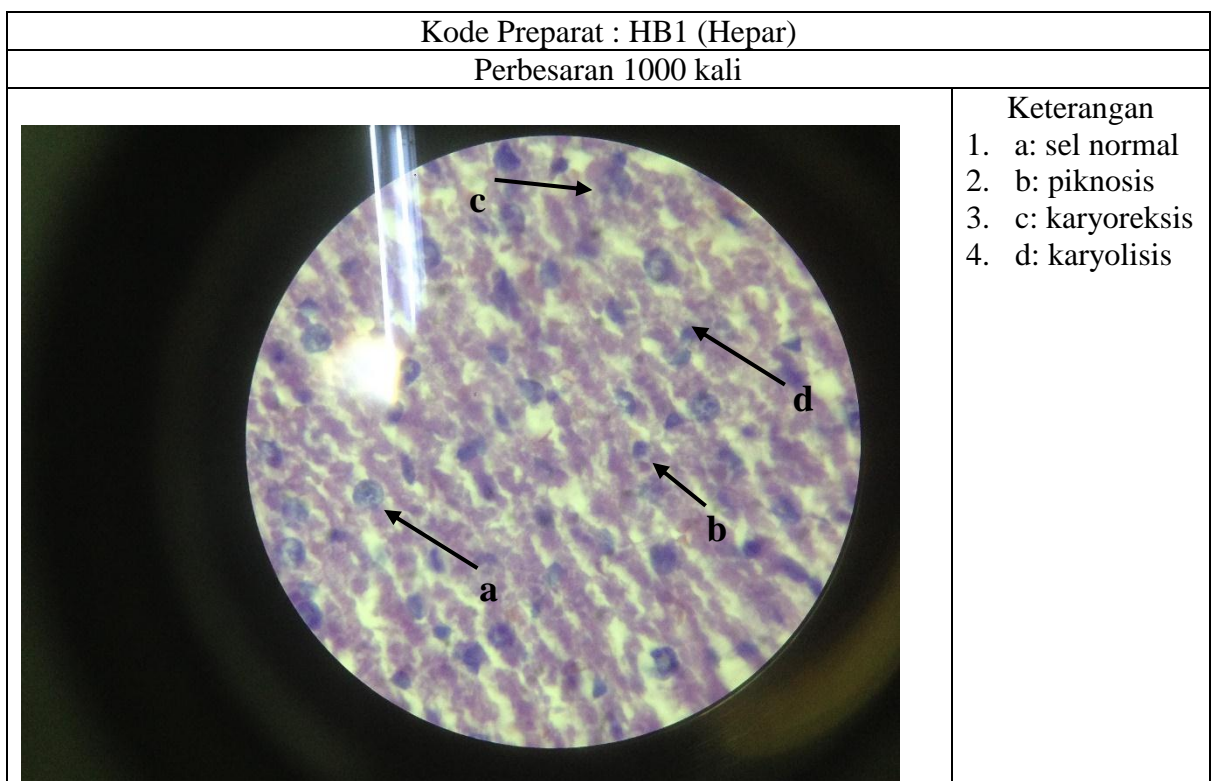
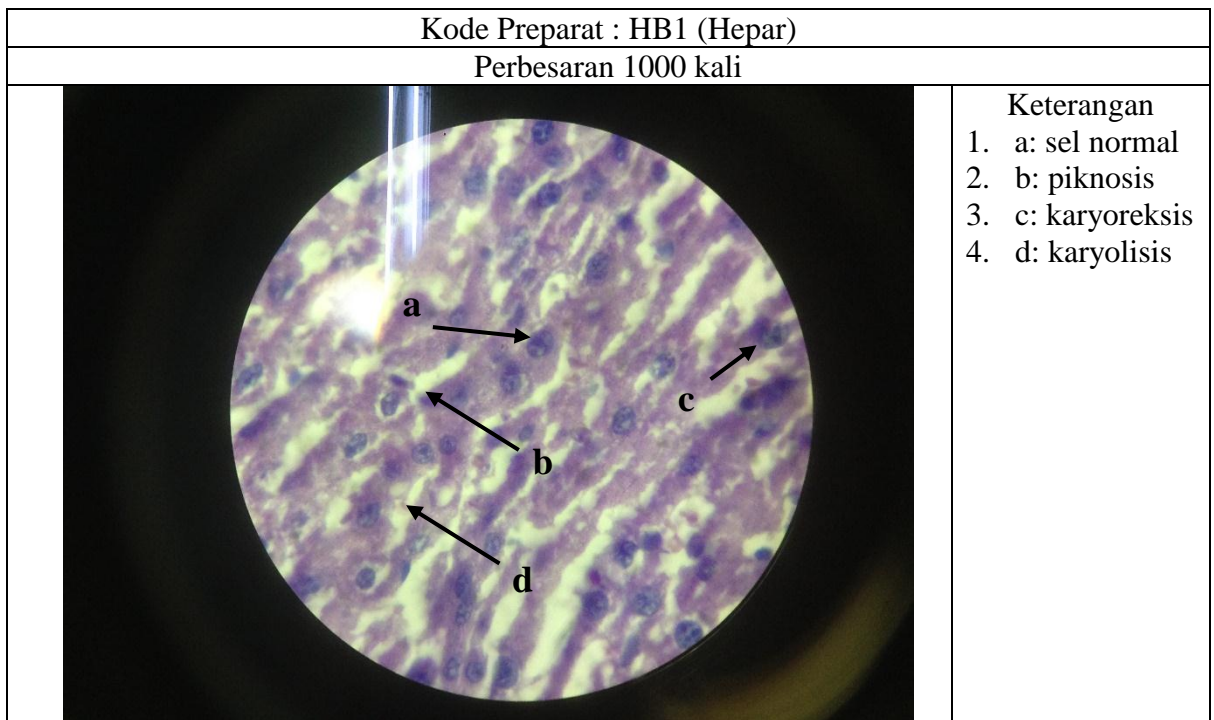
Kode Preparat : HB1 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali



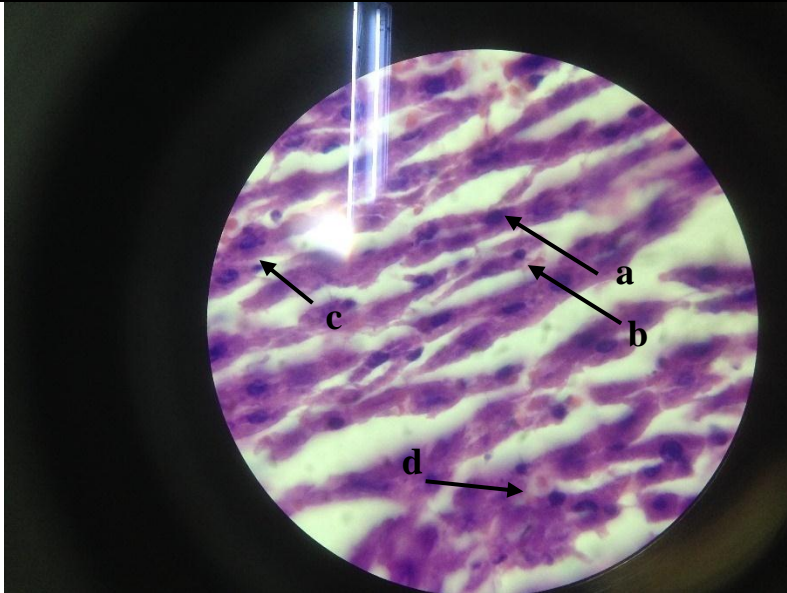
Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis



Kode Preparat : HB2 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali

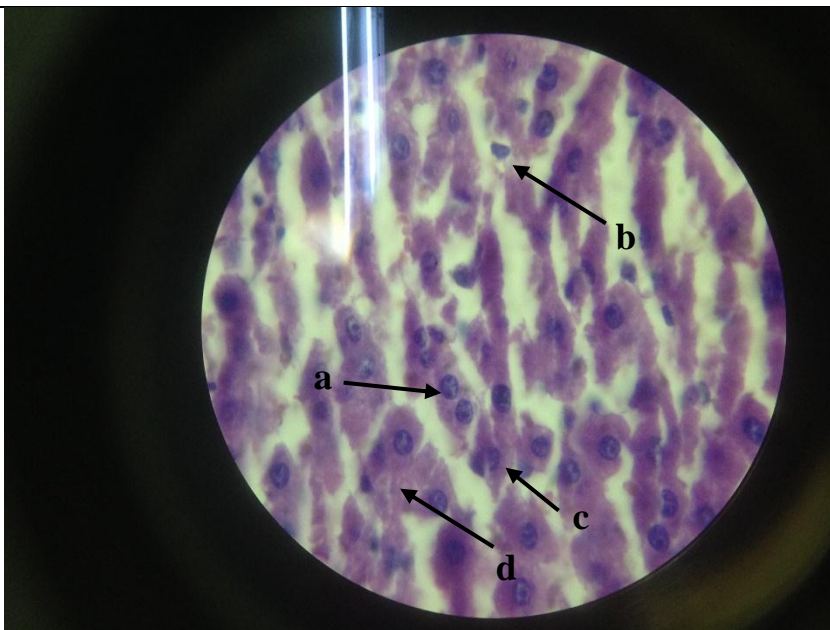


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Kode Preparat :HB2(Hepar)

Perbesaran 1000 kali

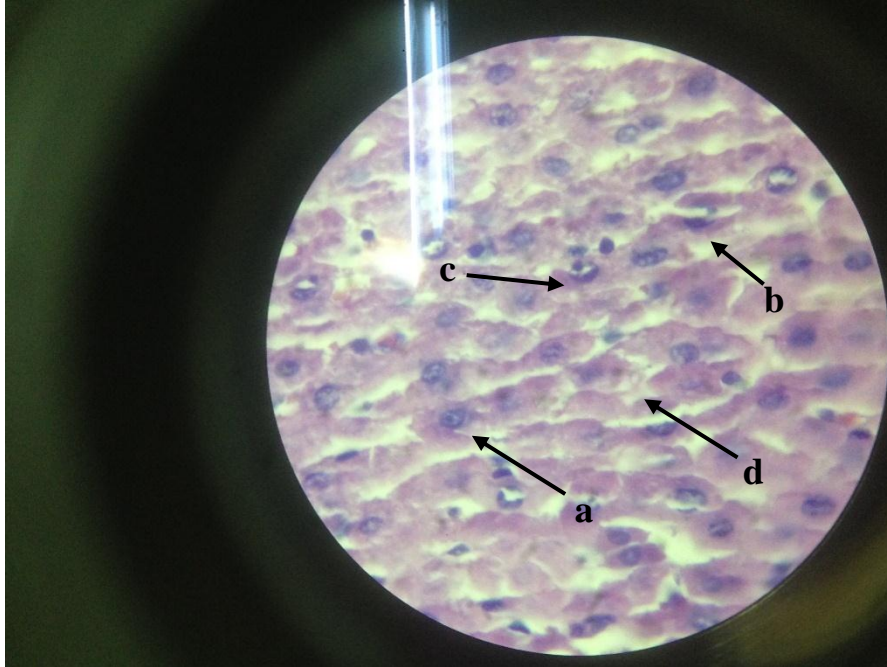


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Kode Preparat :HB2(Hepar)

Perbesaran 1000 kali

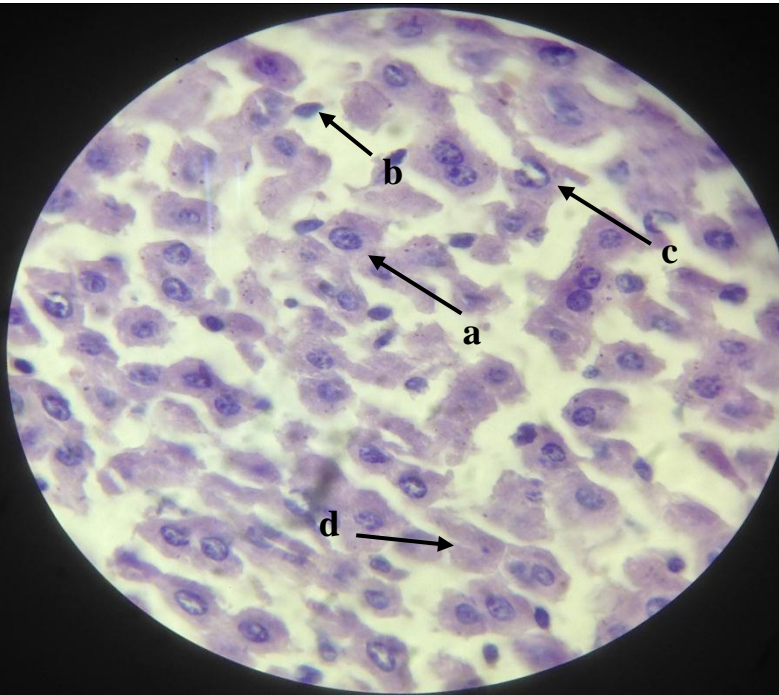


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

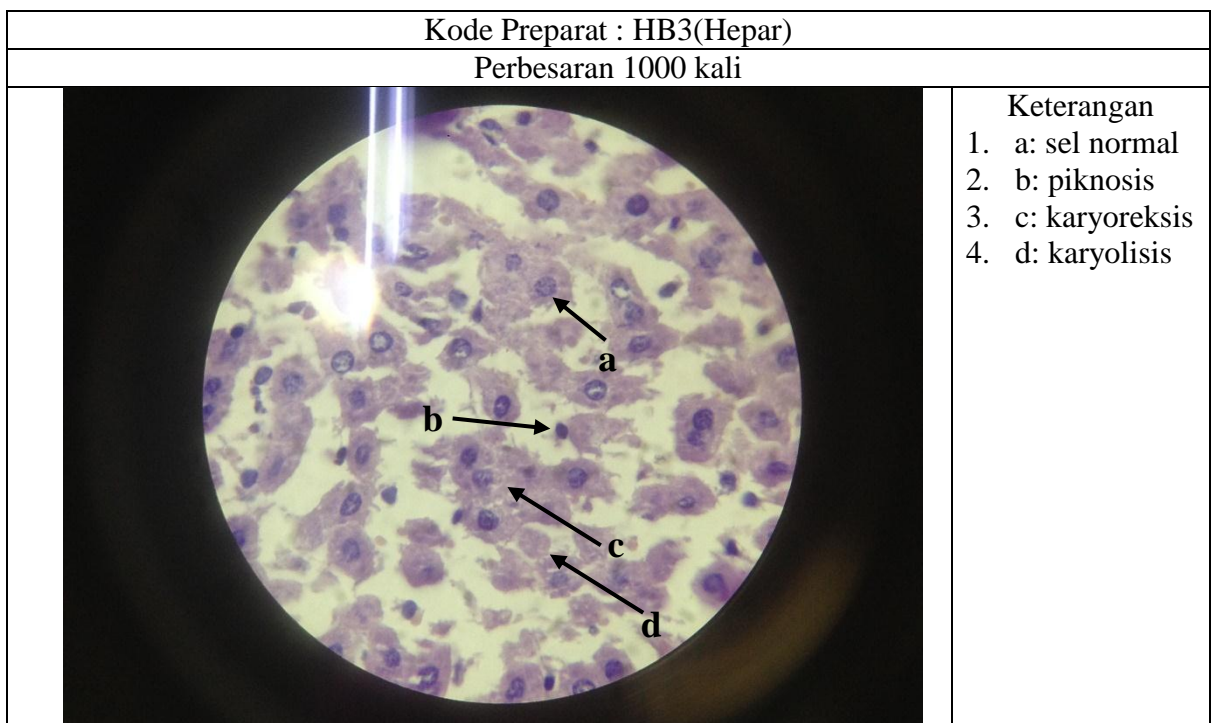
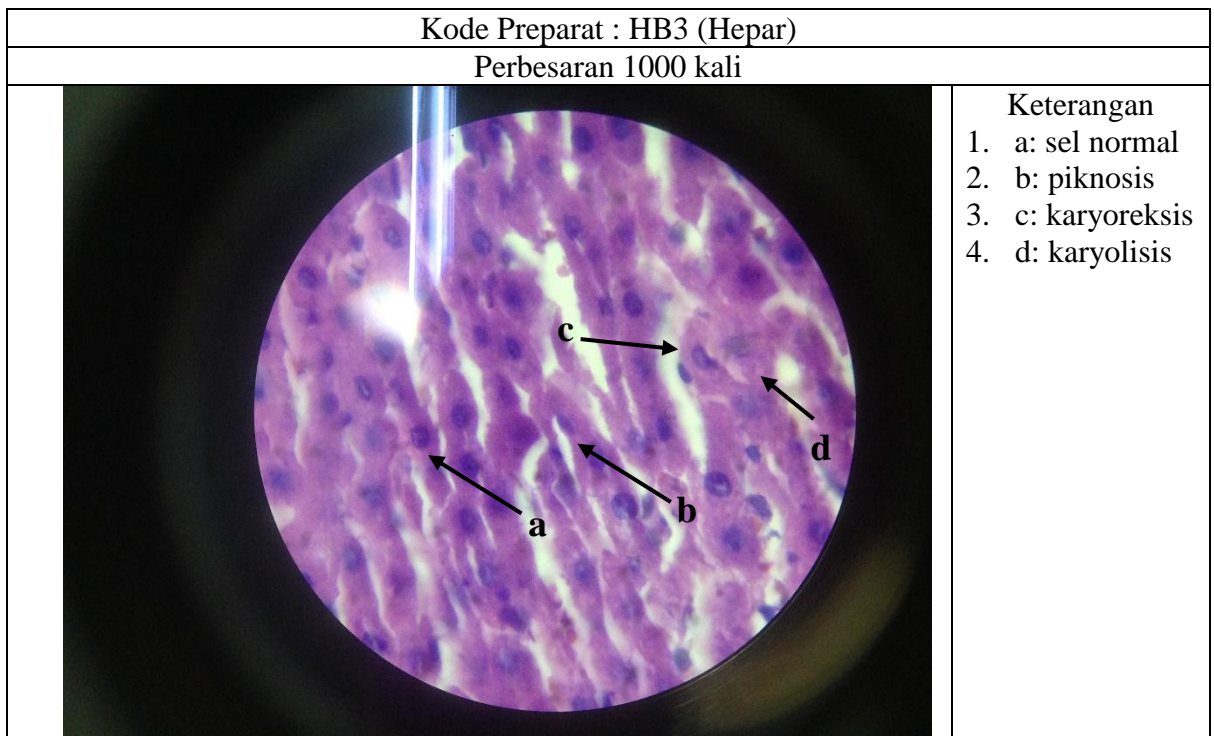
Kode Preparat : HB3 (Hepar)

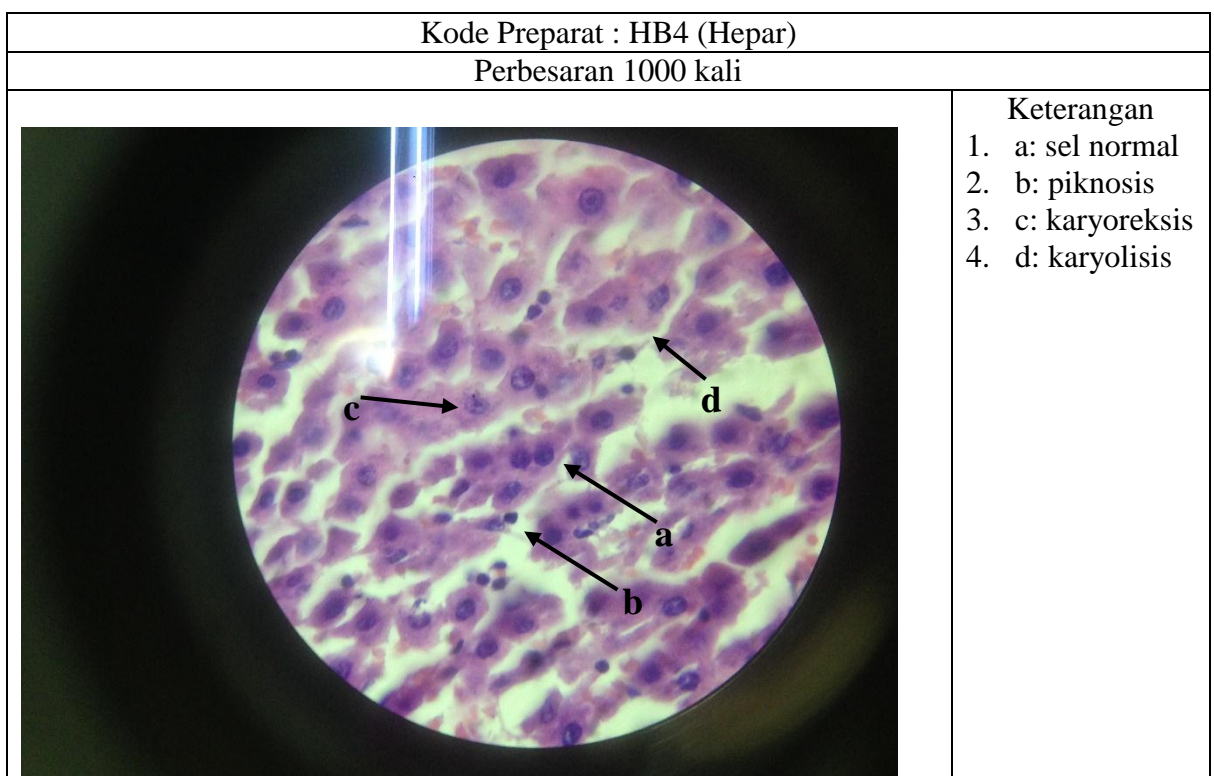
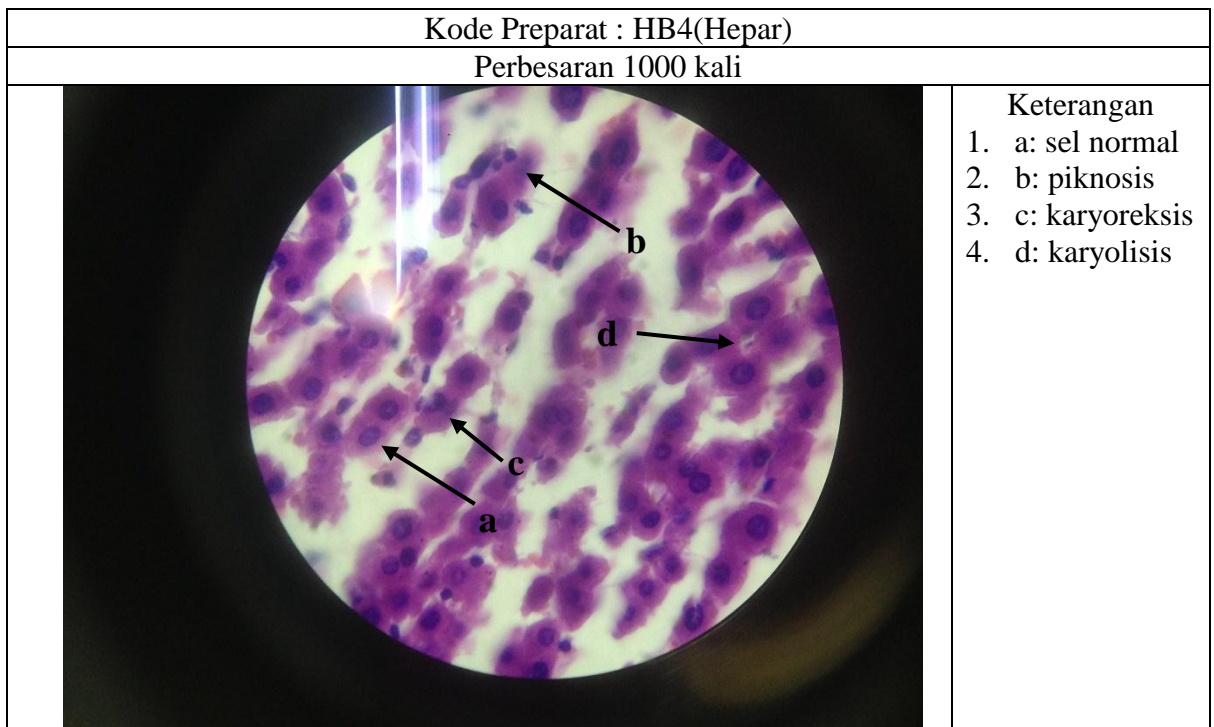
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

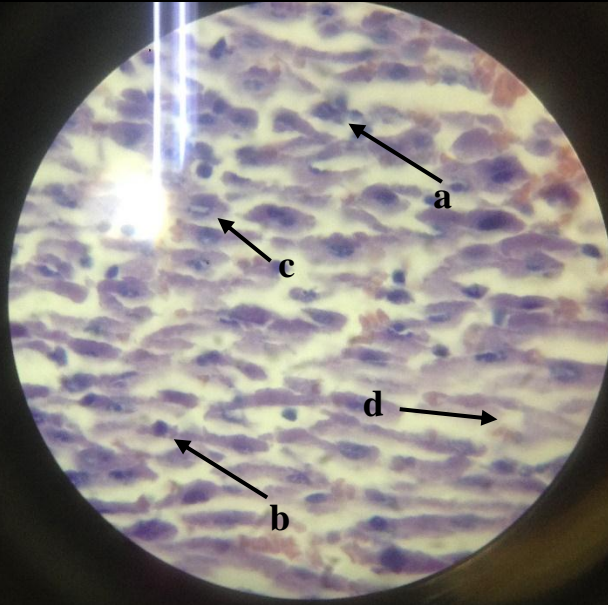
1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis





Kode Preparat : HB4 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali

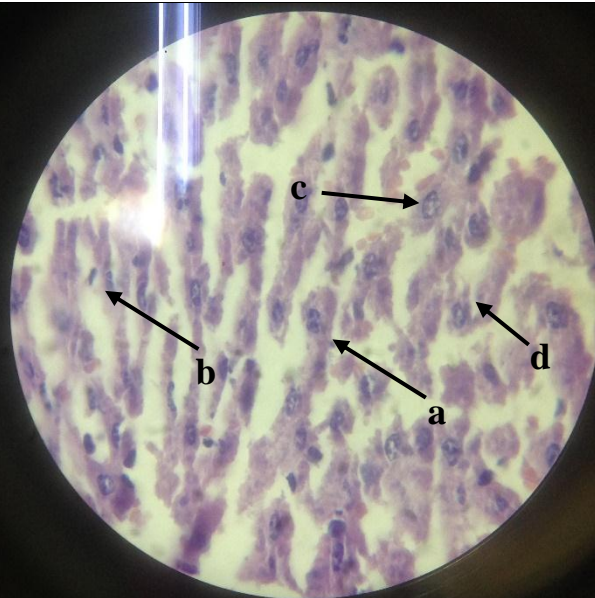


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Kode Preparat : HB5 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali

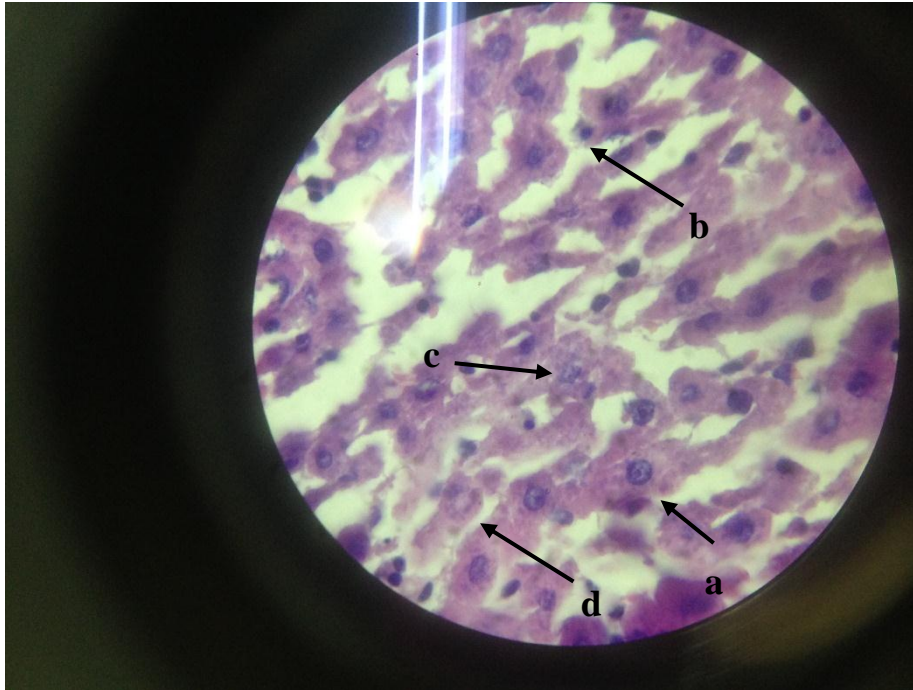


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Kode Preparat : HB5 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali

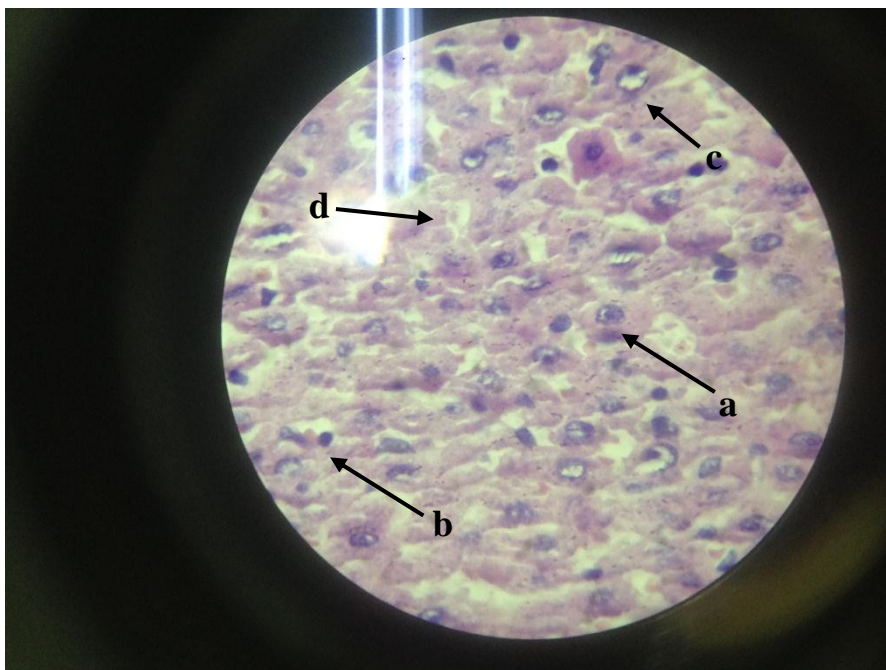


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Kode Preparat : HB5 (Hepar)

Perbesaran 1000 kali



Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Lampiran 27. Hasil uji statistik
BERAT BADAN AKUT T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	160.9200
	Std. Deviation	20.23594
Most Extreme Differences	Absolute	.118
	Positive	.118
	Negative	-.101
Kolmogorov-Smirnov Z		.588
Asymp. Sig. (2-tailed)		.880

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.199	4	20	.936

ANOVA

BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	336.640	4	84.160	.177	.947
Within Groups	9491.200	20	474.560		
Total	9827.840	24			

BERAT BADAN AKUT T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	168.1200
	Std. Deviation	22.22484
Most Extreme Differences	Absolute	.118
	Positive	.111
	Negative	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		.589
Asymp. Sig. (2-tailed)		.878

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.367	4	20	.829

ANOVA

BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	493.840	4	123.460	.217	.926
Within Groups	11360.800	20	568.040		
Total	11854.640	24			

BERAT BADAN AKUT T6**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		BB
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	174.6400
	Std. Deviation	24.61856
Most Extreme Differences	Absolute	.094
	Positive	.094
	Negative	-.074
Kolmogorov-Smirnov Z		.469
Asymp. Sig. (2-tailed)		.980

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.581	4	20	.680

ANOVA

BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	231.760	4	57.940	.081	.987
Within Groups	14314.000	20	715.700		
Total	14545.760	24			

BERAT BADAN AKUT T10

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	178.0400
	Std. Deviation	25.42060
Most Extreme Differences	Absolute	.105
	Positive	.105
	Negative	-.073
Kolmogorov-Smirnov Z		.525
Asymp. Sig. (2-tailed)		.946

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.462	4	20	.763

ANOVA

BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78.960	4	19.740	.026	.999
Within Groups	15430.000	20	771.500		
Total	15508.960	24			

BERAT BADAN T14

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	179.8400
	Std. Deviation	26.10504
Most Extreme Differences	Absolute	.107
	Positive	.107
	Negative	-.085
Kolmogorov-Smirnov Z		.535
Asymp. Sig. (2-tailed)		.937

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.652	4	20	.632

ANOVA

BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.760	4	3.940	.005	1.000
Within Groups	16339.600	20	816.980		
Total	16355.360	24			

INDEKS ORGAN PARU-PARU AKUT**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		indks.organ
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.6100
	Std. Deviation	.17765
Most Extreme Differences	Absolute	.173
	Positive	.173
	Negative	-.130
Kolmogorov-Smirnov Z		.866
Asymp. Sig. (2-tailed)		.441

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indks.organ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.149	4	20	.037

ANOVA

indks.organ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.078	4	.020	.576	.683
Within Groups	.679	20	.034		
Total	.757	24			

INDEKS ORGAN JANTUNG AKUT

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indks.organ
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.2692
	Std. Deviation	.03894
Most Extreme Differences	Absolute	.134
	Positive	.134
	Negative	-.089
Kolmogorov-Smirnov Z		.672
Asymp. Sig. (2-tailed)		.757

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indks.organ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.372	4	20	.826

ANOVA

indks.organ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.003	4	.001	.466	.760
Within Groups	.033	20	.002		
Total	.036	24			

INDEKS ORGAN HATI AKUT

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indks.organ
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.7768
	Std. Deviation	.46932
Most Extreme Differences	Absolute	.100
	Positive	.100
	Negative	-.075
Kolmogorov-Smirnov Z		.499
Asymp. Sig. (2-tailed)		.964

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indks.org

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.030	4	20	.416

ANOVA

indks.org

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.543	4	.886	10.163	.000
Within Groups	1.743	20	.087		
Total	5.286	24			

Multiple Comparisons

indks.org

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
dosis 250 mg/KgBB	dosis 500 mg/KgBB	.39400	.18671	.254	-.1647	.9527
	dosis 1000 mg/KgBB	-.54600	.18671	.057	-1.1047	.0127
	dosis 2000 mg/KgBB	-.14200	.18671	.939	-.7007	.4167
	dosis 4000 mg/KgBB	-.64000	.18671	.020	-1.1987	-.0813
dosis 500 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	-.39400	.18671	.254	-.9527	.1647
	dosis 1000 mg/KgBB	-.94000	.18671	.001	-1.4987	-.3813
	dosis 2000 mg/KgBB	-.53600	.18671	.064	-1.0947	.0227
	dosis 4000 mg/KgBB	-1.03400	.18671	.000	-1.5927	-.4753
dosis 1000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	.54600	.18671	.057	-.0127	1.1047
	dosis 500 mg/KgBB	.94000	.18671	.001	.3813	1.4987
	dosis 2000 mg/KgBB	.40400	.18671	.233	-.1547	.9627
	dosis 4000 mg/KgBB	-.09400	.18671	.986	-.6527	.4647
dosis 2000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	.14200	.18671	.939	-.4167	.7007
	dosis 500 mg/KgBB	.53600	.18671	.064	-.0227	1.0947
	dosis 1000 mg/KgBB	-.40400	.18671	.233	-.9627	.1547
	dosis 4000 mg/KgBB	-.49800	.18671	.095	-1.0567	.0607
dosis 4000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	.64000	.18671	.020	.0813	1.1987
	dosis 500 mg/KgBB	1.03400	.18671	.000	.4753	1.5927
	dosis 1000 mg/KgBB	.09400	.18671	.986	-.4647	.6527
	dosis 2000 mg/KgBB	.49800	.18671	.095	-.0607	1.0567

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

indks.organ

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
dosis 500 mg/KgBB	5	2.1960		
dosis 250 mg/KgBB	5	2.5900	2.5900	
dosis 2000 mg/KgBB	5	2.7320	2.7320	2.7320
dosis 1000 mg/KgBB	5		3.1360	3.1360
dosis 4000 mg/KgBB	5			3.2300
Sig.		.064	.057	.095

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

INDEKS ORGAN GINJAL AKUT

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indks.organ
N		25
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.6220
	Std. Deviation	.09552
Most Extreme Differences	Absolute	.105
	Positive	.105
	Negative	-.089
Kolmogorov-Smirnov Z		.526
Asymp. Sig. (2-tailed)		.945

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indks.organ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.919	4	20	.472

ANOVA

indks.organ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.107	4	.027	4.735	.007
Within Groups	.112	20	.006		
Total	.219	24			

Multiple Comparisons

indks.organ
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
dosis 250 mg/KgBB	dosis 500 mg/KgBB	.09400	.04743	.310	-.0479	.2359
	dosis 1000 mg/KgBB	.02600	.04743	.981	-.1159	.1679
	dosis 2000 mg/KgBB	-.07400	.04743	.538	-.2159	.0679
	dosis 4000 mg/KgBB	.10400	.04743	.223	-.0379	.2459
dosis 500 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	-.09400	.04743	.310	-.2359	.0479
	dosis 1000 mg/KgBB	-.06800	.04743	.614	-.2099	.0739
	dosis 2000 mg/KgBB	-.16800	.04743	.016	-.3099	-.0261
	dosis 4000 mg/KgBB	.01000	.04743	1.000	-.1319	.1519
dosis 1000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	-.02600	.04743	.981	-.1679	.1159
	dosis 500 mg/KgBB	.06800	.04743	.614	-.0739	.2099
	dosis 2000 mg/KgBB	-.10000	.04743	.255	-.2419	.0419
	dosis 4000 mg/KgBB	.07800	.04743	.488	-.0639	.2199
dosis 2000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	.07400	.04743	.538	-.0679	.2159
	dosis 500 mg/KgBB	.16800	.04743	.016	.0261	.3099
	dosis 1000 mg/KgBB	.10000	.04743	.255	-.0419	.2419
	dosis 4000 mg/KgBB	.17800	.04743	.010	.0361	.3199
dosis 4000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	-.10400	.04743	.223	-.2459	.0379
	dosis 500 mg/KgBB	-.01000	.04743	1.000	-.1519	.1319
	dosis 1000 mg/KgBB	-.07800	.04743	.488	-.2199	.0639
	dosis 2000 mg/KgBB	-.17800	.04743	.010	-.3199	-.0361

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

indks.organ

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
dosis 4000 mg/KgBB	5	.5480	
dosis 500 mg/KgBB	5	.5580	
dosis 1000 mg/KgBB	5	.6260	.6260
dosis 250 mg/KgBB	5	.6520	.6520
dosis 2000 mg/KgBB	5		.7260
Sig.		.223	.255

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

INDEKS ORGAN USUS AKUT

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indks.organ
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.0552
	Std. Deviation	1.12140
Most Extreme Differences	Absolute	.146
	Positive	.114
	Negative	-.146
Kolmogorov-Smirnov Z		.731
Asymp. Sig. (2-tailed)		.659

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indks.organ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.720	4	20	.008

ANOVA

indks.organ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.018	4	2.755	2.875	.050
Within Groups	19.162	20	.958		
Total	30.181	24			

INDEKS ORGAN LAMBUNG AKUT

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indks.organ
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.9608
	Std. Deviation	.46328
Most Extreme Differences	Absolute	.163
	Positive	.163
	Negative	-.130
Kolmogorov-Smirnov Z		.817
Asymp. Sig. (2-tailed)		.516

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indks.organ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.275	4	20	.005

ANOVA

indks.organ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.051	4	.513	3.309	.031
Within Groups	3.100	20	.155		
Total	5.151	24			

Multiple Comparisons

indks.organ

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
dosis 250 mg/KgBB	dosis 500 mg/KgBB	.38600	.24899	.544	-.3591	1.1311
	dosis 1000 mg/KgBB	.01600	.24899	1.000	-.7291	.7611
	dosis 2000 mg/KgBB	.16800	.24899	.960	-.5771	.9131
	dosis 4000 mg/KgBB	-.48400	.24899	.328	-1.2291	.2611
dosis 500 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	-.38600	.24899	.544	-1.1311	.3591
	dosis 1000 mg/KgBB	-.37000	.24899	.583	-1.1151	.3751
	dosis 2000 mg/KgBB	-.21800	.24899	.903	-.9631	.5271
	dosis 4000 mg/KgBB	-.87000*	.24899	.017	-1.6151	-.1249
dosis 1000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	-.01600	.24899	1.000	-.7611	.7291
	dosis 500 mg/KgBB	.37000	.24899	.583	-.3751	1.1151
	dosis 2000 mg/KgBB	.15200	.24899	.972	-.5931	.8971
	dosis 4000 mg/KgBB	-.50000	.24899	.298	-1.2451	.2451
dosis 2000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	-.16800	.24899	.960	-.9131	.5771
	dosis 500 mg/KgBB	.21800	.24899	.903	-.5271	.9631
	dosis 1000 mg/KgBB	-.15200	.24899	.972	-.8971	.5931
	dosis 4000 mg/KgBB	-.65200	.24899	.105	-1.3971	.0931
dosis 4000 mg/KgBB	dosis 250 mg/KgBB	.48400	.24899	.328	-.2611	1.2291
	dosis 500 mg/KgBB	.87000*	.24899	.017	.1249	1.6151
	dosis 1000 mg/KgBB	.50000	.24899	.298	-.2451	1.2451
	dosis 2000 mg/KgBB	.65200	.24899	.105	-.0931	1.3971

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

indks.organTukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
dosis 500 mg/KgBB	5	.5920	
dosis 2000 mg/KgBB	5	.8100	.8100
dosis 1000 mg/KgBB	5	.9620	.9620
dosis 250 mg/KgBB	5	.9780	.9780
dosis 4000 mg/KgBB	5		1.4620
Sig.		.544	.105

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

INDEKS ORGAN LIMFA AKUT**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		indks.organ
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.2992
	Std. Deviation	.20557
Most Extreme Differences	Absolute	.278
	Positive	.278
	Negative	-.205
Kolmogorov-Smirnov Z		1.389
Asymp. Sig. (2-tailed)		.042

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank
indks.organ	dosis 250 mg/KgBB	5	10.80
	dosis 500 mg/KgBB	5	6.60
	dosis 1000 mg/KgBB	5	12.80
	dosis 2000 mg/KgBB	5	19.60
	dosis 4000 mg/KgBB	5	15.20
	Total	25	

Test Statistics^{a,b}

indks.organ	
Chi-Square	8.733
Df	4
Asymp. Sig.	.068

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

BERAT BADAN JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB
N		584
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	188.7979
	Std. Deviation	34.92669
Most Extreme Differences	Absolute	.073
	Positive	.073
	Negative	-.035
Kolmogorov-Smirnov Z		1.759
Asymp. Sig. (2-tailed)		.004

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

KRUSKAL-WALLIS

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
BB	Knegatif	126	312.09
	K250	115	274.55
	K500	112	312.98
	K1000	99	215.65
	Ksatelit	132	329.70
	Total	584	

Test Statistics^{a,b}

	BB
Chi-Square	31.607
df	4
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok

BERAT BADAN BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB
N		659
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	154.7086
	Std. Deviation	18.03762
Most Extreme Differences	Absolute	.073
	Positive	.073
	Negative	-.030
Kolmogorov-Smirnov Z		1.880
Asymp. Sig. (2-tailed)		.002

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

KRUSKAL-WALLIS

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
BB	Knegatif	125	352.43
	K250	130	324.53
	K500	129	300.73
	K1000	125	320.65
	Ksatelit	150	349.01
	Total	659	

Test Statistics^{a,b}

	BB
Chi-Square	6.692
df	4
Asymp. Sig.	.153

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

INDEKS ORGAN HATI SUBKRONIK JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indks.org.hati
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.5313
	Std. Deviation	.43088
Most Extreme Differences	Absolute	.143
	Positive	.143
	Negative	-.122
Kolmogorov-Smirnov Z		.553
Asymp. Sig. (2-tailed)		.920

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indks.org.hati

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.210	4	10	.365

ANOVA

indks.org.hati

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.313	4	.578	20.225	.000
Within Groups	.286	10	.029		
Total	2.599	14			

Multiple Comparisons

indks.org.hati
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	dosis 250 mg/KgBB	.78000 [*]	.13807	.002	.3256	1.2344
	dosis 500 mg/KgBB	.66000 [*]	.13807	.005	.2056	1.1144
	dosis 1000 mg/KgBB	1.21000 [*]	.13807	.000	.7556	1.6644
	Kontrol satelit	.51000 [*]	.13807	.027	.0556	.9644
dosis 250 mg/KgBB	Kontrol negatif	-.78000 [*]	.13807	.002	-1.2344	-.3256
	dosis 500 mg/KgBB	-.12000	.13807	.902	-.5744	.3344
	dosis 1000 mg/KgBB	.43000	.13807	.066	-.0244	.8844
	Kontrol satelit	-.27000	.13807	.351	-.7244	.1844
dosis 500 mg/KgBB	Kontrol negatif	-.66000 [*]	.13807	.005	-1.1144	-.2056
	dosis 250 mg/KgBB	.12000	.13807	.902	-.3344	.5744
	dosis 1000 mg/KgBB	.55000 [*]	.13807	.017	.0956	1.0044
	Kontrol satelit	-.15000	.13807	.810	-.6044	.3044
dosis 1000 mg/KgBB	Kontrol negative	-1.21000 [*]	.13807	.000	-1.6644	-.7556
	dosis 250 mg/KgBB	-.43000	.13807	.066	-.8844	.0244
	dosis 500 mg/KgBB	-.55000 [*]	.13807	.017	-1.0044	-.0956
	Kontrol satelit	-.70000 [*]	.13807	.003	-1.1544	-.2456
Kontrol satelit	Kontrol negative	-.51000 [*]	.13807	.027	-.9644	-.0556
	dosis 250 mg/KgBB	.27000	.13807	.351	-.1844	.7244
	dosis 500 mg/KgBB	.15000	.13807	.810	-.3044	.6044
	dosis 1000 mg/KgBB	.70000 [*]	.13807	.003	.2456	1.1544

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

indks.org.hati

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
dosis 1000 mg/KgBB	3	1.9533		
dosis 250 mg/KgBB	3	2.3833	2.3833	
dosis 500 mg/KgBB	3		2.5033	
Kontrol satelit	3		2.6533	
Kontrol negatif	3			3.1633
Sig.		.066	.351	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

INDEKS ORGAN HATI SUBKRONIK BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indks.org.hati
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.3073
	Std. Deviation	.24915
Most Extreme Differences	Absolute	.118
	Positive	.118
	Negative	-.117
Kolmogorov-Smirnov Z		.458
Asymp. Sig. (2-tailed)		.985

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indks.org.hati

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.738	4	10	.041

ANOVA

indks.org.hati

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.333	4	.083	1.554	.260
Within Groups	.536	10	.054		
Total	.869	14			

SGOT JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	89.7400
	Std. Deviation	20.71065
Most Extreme Differences	Absolute	.107
	Positive	.107
	Negative	-.068
Kolmogorov-Smirnov Z		.759
Asymp. Sig. (2-tailed)		.611

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.076	4	45	.100

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35.320	4	8.830	.019	.999
Within Groups	20982.300	45	466.273		
Total	21017.620	49			

SGOT JANTAN T1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		49
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	98.0000
	Std. Deviation	20.40425
Most Extreme Differences	Absolute	.075
	Positive	.075
	Negative	-.061
Kolmogorov-Smirnov Z		.525
Asymp. Sig. (2-tailed)		.946

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.444	4	44	.061

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	691.878	4	172.969	.394	.811
Within Groups	19292.122	44	438.457		
Total	19984.000	48			

SGOT JANTAN T2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		37
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	104.8378
	Std. Deviation	18.92164
Most Extreme Differences	Absolute	.085
	Positive	.085
	Negative	-.074
Kolmogorov-Smirnov Z		.518
Asymp. Sig. (2-tailed)		.951

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.049	4	32	.397

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2073.923	4	518.481	1.534	.216
Within Groups	10815.104	32	337.972		
Total	12889.027	36			

SGOT JANTAN T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	108.7143
	Std. Deviation	20.02582
Most Extreme Differences	Absolute	.117
	Positive	.117
	Negative	-.089
Kolmogorov-Smirnov Z		.692
Asymp. Sig. (2-tailed)		.724

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.137	4	30	.358

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2370.595	4	592.649	1.578	.206
Within Groups	11264.548	30	375.485		
Total	13635.143	34			

SGOT BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	110.7400
	Std. Deviation	22.26722
Most Extreme Differences	Absolute	.114
	Positive	.114
	Negative	-.081
Kolmogorov-Smirnov Z		.805
Asymp. Sig. (2-tailed)		.535

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.948	4	45	.445

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	357.320	4	89.330	.168	.954
Within Groups	23938.300	45	531.962		
Total	24295.620	49			

SGOT BETINA T1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	114.9000
	Std. Deviation	22.02526
Most Extreme Differences	Absolute	.132
	Positive	.132
	Negative	-.079
Kolmogorov-Smirnov Z		.932
Asymp. Sig. (2-tailed)		.350

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.617	4	45	.653

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	508.800	4	127.200	.246	.911
Within Groups	23261.700	45	516.927		
Total	23770.500	49			

SGOT BETINA T2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		46
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	117.7174
	Std. Deviation	21.84050
Most Extreme Differences	Absolute	.085
	Positive	.085
	Negative	-.076
Kolmogorov-Smirnov Z		.576
Asymp. Sig. (2-tailed)		.895

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.750	4	41	.564

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1782.640	4	445.660	.928	.457
Within Groups	19682.686	41	480.066		
Total	21465.326	45			

SGOT BETINA T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGOT
N		45
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	123.1556
	Std. Deviation	22.52469
Most Extreme Differences	Absolute	.102
	Positive	.102
	Negative	-.085
Kolmogorov-Smirnov Z		.682
Asymp. Sig. (2-tailed)		.741

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.884	4	40	.482

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3057.358	4	764.340	1.587	.197
Within Groups	19266.553	40	481.664		
Total	22323.911	44			

SGPT JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	23.6740
	Std. Deviation	7.81487
Most Extreme Differences	Absolute	.118
	Positive	.118
	Negative	-.101
Kolmogorov-Smirnov Z		.834
Asymp. Sig. (2-tailed)		.490

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.819	4	45	.142

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57.019	4	14.255	.219	.927
Within Groups	2935.517	45	65.234		
Total	2992.536	49			

SGPT JANTAN T1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		49
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	25.6327
	Std. Deviation	7.79330
Most Extreme Differences	Absolute	.130
	Positive	.130
	Negative	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		.911
Asymp. Sig. (2-tailed)		.378

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.967	4	44	.116

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	132.537	4	33.134	.524	.719
Within Groups	2782.771	44	63.245		
Total	2915.308	48			

SGPT JANTAN T2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		37
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	26.7351
	Std. Deviation	7.94580
Most Extreme Differences	Absolute	.154
	Positive	.154
	Negative	-.107
Kolmogorov-Smirnov Z		.937
Asymp. Sig. (2-tailed)		.344

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.451	4	32	.771

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	166.104	4	41.526	.631	.644
Within Groups	2106.780	32	65.837		
Total	2272.884	36			

SGPT JANTAN T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	28.1743
	Std. Deviation	7.54806
Most Extreme Differences	Absolute	.114
	Positive	.114
	Negative	-.083
Kolmogorov-Smirnov Z		.676
Asymp. Sig. (2-tailed)		.751

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.131	4	30	.970

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	235.200	4	58.800	1.036	.405
Within Groups	1701.887	30	56.730		
Total	1937.087	34			

SGPT BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	34.2100
	Std. Deviation	6.06745
Most Extreme Differences	Absolute	.100
	Positive	.100
	Negative	-.053
Kolmogorov-Smirnov Z		.710
Asymp. Sig. (2-tailed)		.694

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.558	4	45	.694

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.470	4	2.367	.059	.993
Within Groups	1794.415	45	39.876		
Total	1803.885	49			

SGPT BETINA T1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	35.9420
	Std. Deviation	6.09430
Most Extreme Differences	Absolute	.090
	Positive	.090
	Negative	-.048
Kolmogorov-Smirnov Z		.634
Asymp. Sig. (2-tailed)		.816

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.148	4	45	.346

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.531	4	6.883	.173	.951
Within Groups	1792.351	45	39.830		
Total	1819.882	49			

SGPT BETINA T2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		46
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	38.1652
	Std. Deviation	6.48510
Most Extreme Differences	Absolute	.084
	Positive	.084
	Negative	-.074
Kolmogorov-Smirnov Z		.572
Asymp. Sig. (2-tailed)		.899

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.022	4	41	.407

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	165.727	4	41.432	.984	.427
Within Groups	1726.817	41	42.117		
Total	1892.544	45			

SGPT BETINA T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT
N		45
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	39.7644
	Std. Deviation	6.15656
Most Extreme Differences	Absolute	.071
	Positive	.071
	Negative	-.056
Kolmogorov-Smirnov Z		.478
Asymp. Sig. (2-tailed)		.976

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.379	4	40	.822

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	360.081	4	90.020	2.754	.041
Within Groups	1307.662	40	32.692		
Total	1667.743	44			

Multiple Comparisons

SGPT
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	dosis 250 mg/Kg	-4.34222	2.62708	.474	-11.8454	3.1610
	dosis 500 mg/KgBB	-4.45556	2.69533	.474	-12.1537	3.2425
	dosis 1000 mg/KgBB	-7.54444	2.69533	.057	-15.2425	.1537
	kontrol satelit	-7.99722	2.77828	.047	-15.9322	-.0622
dosis 250 mg/Kg	Kontrol negatif	4.34222	2.62708	.474	-3.1610	11.8454
	dosis 500 mg/KgBB	-.11333	2.62708	1.000	-7.6165	7.3898
	dosis 1000 mg/KgBB	-3.20222	2.62708	.741	-10.7054	4.3010
	kontrol satelit	-3.65500	2.71212	.664	-11.4011	4.0911
dosis 500 mg/KgBB	Kontrol negatif	4.45556	2.69533	.474	-3.2425	12.1537
	dosis 250 mg/Kg	.11333	2.62708	1.000	-7.3898	7.6165
	dosis 1000 mg/KgBB	-3.08889	2.69533	.781	-10.7870	4.6092
	kontrol satelit	-3.54167	2.77828	.708	-11.4767	4.3934
dosis 1000 mg/KgBB	Kontrol negatif	7.54444	2.69533	.057	-.1537	15.2425
	dosis 250 mg/Kg	3.20222	2.62708	.741	-4.3010	10.7054
	dosis 500 mg/KgBB	3.08889	2.69533	.781	-4.6092	10.7870
	kontrol satelit	-.45278	2.77828	1.000	-8.3878	7.4822
kontrol satelit	Kontrol negatif	7.99722	2.77828	.047	.0622	15.9322
	dosis 250 mg/Kg	3.65500	2.71212	.664	-4.0911	11.4011
	dosis 500 mg/KgBB	3.54167	2.77828	.708	-4.3934	11.4767
	dosis 1000 mg/KgBB	.45278	2.77828	1.000	-7.4822	8.3878

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

SGPT

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Tukey HSD ^{a, b}			
Kontrol negatif	9	34.9778	
dosis 250 mg/Kg	10	39.3200	39.3200
dosis 500 mg/KgBB	9	39.4333	39.4333
dosis 1000 mg/KgBB	9	42.5222	42.5222
kontrol satelit	8		42.9750
Sig.		.058	.661

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.955.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.

Type I error levels are not guaranteed.

HISTOPATOLOGI JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		sel.rusak
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	33.2667
	Std. Deviation	7.24536
Most Extreme Differences	Absolute	.166
	Positive	.166
	Negative	-.119
Kolmogorov-Smirnov Z		.644
Asymp. Sig. (2-tailed)		.801

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

sel.rusak

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.586	4	10	.252

ANOVA

sel.rusak

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	680.933	4	170.233	31.525	.000
Within Groups	54.000	10	5.400		
Total	734.933	14			

Multiple Comparisons

sel.rusak
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	dosis 250 mg/kgbb	1.00000	1.89737	.982	-5.2444	7.2444
	dosis 500 mg/kgbb	-11.66667*	1.89737	.001	-17.9111	-5.4223
	dosis 1000 mg/kgbb	-16.33333*	1.89737	.000	-22.5777	-10.0889
	kontrol satelit	-9.33333*	1.89737	.004	-15.5777	-3.0889
dosis 250 mg/kgbb	kontrol negatif	-1.00000	1.89737	.982	-7.2444	5.2444
	dosis 500 mg/kgbb	-12.66667*	1.89737	.000	-18.9111	-6.4223
	dosis 1000 mg/kgbb	-17.33333*	1.89737	.000	-23.5777	-11.0889
	kontrol satelit	-10.33333*	1.89737	.002	-16.5777	-4.0889
dosis 500 mg/kgbb	kontrol negatif	11.66667*	1.89737	.001	5.4223	17.9111
	dosis 250 mg/kgbb	12.66667*	1.89737	.000	6.4223	18.9111
	dosis 1000 mg/kgbb	-4.66667	1.89737	.177	-10.9111	1.5777
	kontrol satelit	2.33333	1.89737	.736	-3.9111	8.5777
dosis 1000 mg/kgbb	kontrol negatif	16.33333*	1.89737	.000	10.0889	22.5777
	dosis 250 mg/kgbb	17.33333*	1.89737	.000	11.0889	23.5777
	dosis 500 mg/kgbb	4.66667	1.89737	.177	-1.5777	10.9111
	kontrol satelit	7.00000*	1.89737	.027	.7556	13.2444
kontrol satelit	kontrol negatif	9.33333*	1.89737	.004	3.0889	15.5777
	dosis 250 mg/kgbb	10.33333*	1.89737	.002	4.0889	16.5777
	dosis 500 mg/kgbb	-2.33333	1.89737	.736	-8.5777	3.9111
	dosis 1000 mg/kgbb	-7.00000*	1.89737	.027	-13.2444	-.7556

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

sel.rusak

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
dosis 250 mg/kgbb	3	25.0000		
kontrol negatif	3	26.0000		
kontrol satelit	3		35.3333	
dosis 500 mg/kgbb	3		37.6667	37.6667
dosis 1000 mg/kgbb	3			42.3333
Sig.		.982	.736	.177

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

HISTOPATOLOGI BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		sel.rusak
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	32.0667
	Std. Deviation	6.26175
Most Extreme Differences	Absolute	.123
	Positive	.112
	Negative	-.123
Kolmogorov-Smirnov Z		.477
Asymp. Sig. (2-tailed)		.977

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

sel.rusak

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.339	4	10	.056

ANOVA

sel.rusak

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	494.267	4	123.567	22.604	.000
Within Groups	54.667	10	5.467		
Total	548.933	14			

Multiple Comparisons

sel.rusak
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	dosis mg/kgbb	1.00000	1.90904	.983	-5.2828	7.2828
	dosis 500 mg/kgbb	-6.33333*	1.90904	.048	-12.6162	-.0505
	dosis 1000 mg/kgbb	-15.00000*	1.90904	.000	-21.2828	-8.7172
	kontrol negatif	-6.66667*	1.90904	.037	-12.9495	-.3838
dosis mg/kgbb	kontrol negatif	-1.00000	1.90904	.983	-7.2828	5.2828
	dosis 500 mg/kgbb	-7.33333*	1.90904	.021	-13.6162	-1.0505
	dosis 1000 mg/kgbb	-16.00000*	1.90904	.000	-22.2828	-9.7172
	kontrol negatif	-7.66667*	1.90904	.016	-13.9495	-1.3838
dosis 500 mg/kgbb	kontrol negatif	6.33333*	1.90904	.048	.0505	12.6162
	dosis mg/kgbb	7.33333*	1.90904	.021	1.0505	13.6162
	dosis 1000 mg/kgbb	-8.66667*	1.90904	.007	-14.9495	-2.3838
	kontrol negatif	-.33333	1.90904	1.000	-6.6162	5.9495
dosis 1000 mg/kgbb	kontrol negatif	15.00000*	1.90904	.000	8.7172	21.2828
	dosis mg/kgbb	16.00000*	1.90904	.000	9.7172	22.2828
	dosis 500 mg/kgbb	8.66667*	1.90904	.007	2.3838	14.9495
	kontrol negatif	8.33333*	1.90904	.010	2.0505	14.6162
kontrol negatif	kontrol negatif	6.66667*	1.90904	.037	.3838	12.9495
	dosis mg/kgbb	7.66667*	1.90904	.016	1.3838	13.9495
	dosis 500 mg/kgbb	.33333	1.90904	1.000	-5.9495	6.6162
	dosis 1000 mg/kgbb	-8.33333*	1.90904	.010	-14.6162	-2.0505

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

sel.rusak

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
dosis mg/kgbb	3	25.6667		
kontrol negatif	3	26.6667		
dosis 500 mg/kgbb	3		33.0000	
kontrol negatif	3		33.3333	
dosis 1000 mg/kgbb	3			41.6667
Sig.		.983	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.