

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS MINYAK BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla* King)
TERHADAP KADAR *BLOOD UREA NITROGEN* DAN KADAR KREATININ
SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi



Oleh :

**Ruvanie Witney
19133785A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS MINYAK BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla* King)
TERHADAP KADAR *BLOOD UREA NITROGEN* DAN KADAR KREATININ
SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)
Program Studi S1- Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Ruvanie Witney
19133785A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS MINYAK BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla* King)
TERHADAP KADAR *BLOOD UREA NITROGEN* DAN KADAR KREATININ
SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Oleh :

**Ruvanie Witney
19133785A**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 05 April 2016


Mengetahui,
Fakultas farmasi
Universitas Setia Budi

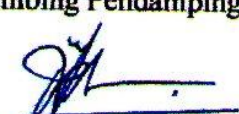


Dekan,

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


Pembimbing,



Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt
Pembimbing Pendamping,

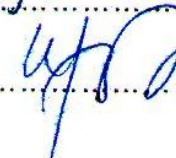

D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si

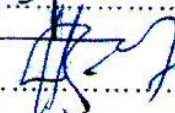
Penguji:

1. Wiwin Herdwiani, S.F., M.Sc., Apt
2. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt
3. Vivin Nopiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt
4. Dr. Rina Herowati, S.Si., M.Si., Apt

1. 

2. 

3. 

4. 

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Diberkatilah orang yang mengandalkan TUHAN, yang menaruh harapannya pada TUHAN!”

(Yeremia 17:7)

Saat aku menganggap apa yang aku peroleh adalah bencana, Tuhan Yesus mengajarkanku memahami bahwa rencana Tuhan adalah kesempurnaan ~ RWG.

“Karna hasil tidak pernah mengkhianati segala usaha”

Skripsi ini ku persembahkan pada:

Tuhan Yesus Kristus sahabat, pelindung, dan Juruslamatku.

Kedua orang tua, adik-adik serta seluruh keluarga besar.

Danit yang selalu menyemangati dan mendoakan.

Sahabat-sahabat embulku Thina, Doni, Tiara.

Almamater, Agama, Bangsa dan Negara.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 05 April 2017



Ruvanié Witney

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus karena kasih karunia-Nya, sehingga penulis dapat melaksanakan menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI TOKSISITAS SUBKRONIS MINYAK BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla* King) TERHADAP KADAR *BLOOD UREA NITROGEN* DAN KADAR KREATININ SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)”**

Skripsi ini ditulis untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi di Universitas Setia Budi.

Berkat dorongan, bimbingan, dan bantuan materiil maupun immaterial berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya 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. D. Andang Arif Wibawa., S.P., M.Si. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga skripsi ini selesai.
5. Wiwin Herdwiani, S.F., M.Si., Apt, Fransiska Leviana, S.Farm., M.Si., Apt, dan Vivin Nopiyanti, S.Farm., 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 akademisku Inaratul Rizkhy H, M.Sc., Apt dan Iswandi, S.Si., M.Farm 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. Papahku Drs. Isaskar L.Ganang, mamahku Ruslima Wissel S.Pd., Adik-adikku Iqlesias Luand dan Domain Ca'eh yang selalu mencintai, menyayangi, mengasihi, memberi semangat, mendukung, dan mendoakanku "Aku mengasihi kalian".
9. Danit yang selalu mengasihiku, menyemangatiku, mendukungku, dan mendoakan aku.
10. Teman-teman angkatan 2013 terutama FKK 2 terima kasih untuk kebersamaan selama 3,5 tahun yang penuh warna, kita akan sukses dan menjadi orang-orang hebat.
11. Sahabat-sahabat ku yang menyayangiku dan menerima aku apa adanya Doni dan tiara.
12. Special thank for my best friend dan patner skripsi Thina terima kasih untuk kasih, kesabaran, semangat dan kerja kerasnya dari awal hingga akhir skripsi.
13. Keluarga besar "Kost Alta" yang menjadi keluargaku selama ada disolo.
14. 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, Juni 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRACT	xvi
INTISARI.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Peneltian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tumbuhan Mahoni.....	6
1. Klasifikasi tanaman	6
2. Nama lain tumbuhan	6
3. Morfologi tanaman.....	6
4. Khasiat tanaman	7
5. Kandungan kimia	7
6. Komposisi minyak biji mahoni	8
B. Simplisia	9
1. Pengertia Simplisia.....	9
2. Pengumpulan bahan baku simplisia	9
3. Pengeringan sim5plisia	9
C. Minyak.....	10

D. Pengempaan (<i>Pressing</i>)	11
1. <i>Hydrolic pressing</i>	11
2. <i>Expeller pressing</i>	11
E. Kromatografi Gas	12
1. Prinsip Kromatografi Gas	12
2. Komponen Alat Kromatografi Gas	13
2.1 Fase Gerak	13
2.2 Ruang suntik sampel.....	13
2.3 Kolom	13
2.4 Detektor	13
F. Uji Toksisitas.....	14
1. Pengertian Uji Toksisitas.....	14
1.1 Uji toksisitas akurat oral.....	14
1.2 Uji toksisitas subkronis oral	15
1.3 Uji toksisitas kronis oral.....	16
2. Uji Toksisitas Subkronis Oral 90 hari.....	16
2.1 Jenis dan jumlah hewan uji.....	16
2.2 Dosis Uji dan batas Uji.....	17
2.3 Peyiapan dan waktu pemberian sediaan uji.....	17
2.4 Cara dan volume pemberian sediaan uji.....	17
2.5 Pengamatan toksisitas.....	17
2.6 Monitoring berat badan dan konsumsi pakan.....	18
2.7 Pengambilan darah	18
2.8 Pemeriksaan biokimia klinis.....	18
2.9 Penimbangan organ	18
2.10 Pemeriksaan makropatologi organ ginjal	19
2.11 Pemeriksaan histopatologi.....	19
G. Hewan Uji.....	19
1. Sistematika hewan uji	19
2. Karakteristik hewan uji	19
3. Kodisi ruangan dan pemeliharaanhewan uji	20

4. Cara mengorbankan hewan uji	20
5. Cara penandaan dan memegang hewan uji	21
H. Ginjal	21
1. Fungsi ginjal	22
2. Anatomi	22
3. Fisiologi	23
4. Gangguan pada ginjal	23
5. Parameter Gangguan ginjal	23
5.1 Blood Urea Nitrogen	23
5.2 Kreatinin	24
I. Histologi dan histopatologi ginjal	24
1. Histologi	24
2. Histopatologi	24
2.1 Pembuatan sediaan histologi	25
2.2 Gambaran histopatologi ginjal	26
J. Landasan Teori	27
K. Hipotesis	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	29
A. Populasi dan Sampel	29
B. Variabel Penelitian	29
1. Identifikasi variabel utama	29
2. Klasifikasi variabel utama	29
3. Definisi operasional variabel utama	30
C. Bahan dan Alat	31
1. Bahan	31
1.1 Bahan sampel	31
1.2 Bahan kimia	31
2. Alat	31
3. Hewan Percobaan	31
D. Jalannya Penelitian	32
1. Identifikasi simplisia	32

2. Pembuatan minyak biji mahoni	32
3. Identifikasi kandungan kimia minyak biji mahoni	33
4. Penetapan kadar air minyak biji mahoni.....	33
5. Perlakuan hewan uji.....	33
6. Pengamatan gejala toksik dan gejala klinik	33
7. Monitoring berat badan dan konsumsi pakan	35
8. Pengambilan darah.....	35
9. Pemeriksaan kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN)	35
10. Pemeriksaan kadar serum kreatinin.....	36
11. Penimbangan organ dan penetapan rata-rata berat organ relatif....	36
12. Pemeriksaan makropatologi organ ginjal	36
13. Pemeriksaan histopatologi organ ginjal	36
E. Analisis Data	38
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	40
1. Hasil identifikasi simplisia	40
2. Hasil pengambilan sampel, pengeringan, pembuatan minyak, dan perhitungan berat jenis	40
2.1 Pengambilan sampel.....	40
2.2 Pengeringan sampel.....	40
2.3 Hasil pembuatan minyak biji mahoni.....	41
3. Penetapan berat jenis sampel.....	41
4. Hasil penetapan kadar air minyak biji mahoni.....	41
5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia minyak biji mahoni	42
6. Hasil uji toksisitas subkronis minyak biji mahoni	43
6.1 Persiapan hewan uji.....	43
6.2 Perhitungan dosis	43
6.3 Pengamatan berat badan dan konsumsi pakan	43
6.4 Hasil pengamatan gejala toksik dan gejala lainnya.....	47
6.4.1 Perubahan syaraf otonom	47
6.4.2 Perubahan perilaku	49
6.4.3 Perubahan syaraf otot	51

6.4.4 Perubahan gastrourinary dan gastrointestinal.....	53
6.4.5 Perubahan perasa/sensori.....	55
6.4.6 Pengamatan edema.....	56
6.5 Hasil pemeriksaan BUN dan Creatinin.....	57
6.6 Hasil pengamatan organ secara makroskopis.....	65
6.7 Hasil histopatologi organ ginjal	66
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	72
A. Kesimpulan.....	72
B. Saran.....	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hubungan tanda-tanda toksisitas organ.....	34
2. Kriteria hasil pengamatan gejala toksik (Jati 2016)	34
3. Hasil persentase rendemen biji mahoni.....	40
4. Hasil persentase pengepresan minyak biji mahoni	41
5. Hasil Penetapan berat jenis minyak biji mahoni	41
6. Hasil Penetapan kadar air pada minyak biji mahoni	42
7. Hasil analisis senyawa kimia minyak biji mahoni	42
8. Hasil Rata-rata berat badan hewan uji jantan dan betina	48
9. Hasil Persentasi mata merah pada tikus	49
10. Hasil Persentase pengamatan piloereksi	50
11. Hasil persentasi perubahan sikap tubuh tikus	51
12. Hasil persentasi grooming pada tikus.....	52
13. Hasil persentasi kejang pada tikus.....	53
14. Hasil persentase kematian pada tikus	54
15. Hasil rata-rata volume urine tikus	55
16. Hasil persentasi defekasi pada hewan uji	56
17. Hasil persesntse sensitivitas terhadap sentuhan pada tikus	58
18. Hasil Persentase edema pada hewan uji	59
19. Hasil rata-rata kadar BUN pada tikus.....	62
20. Hasil rata-rata seliish kadar BUN pada tikus	63
21. Hasil rata-rata kadar kreatinin pada tikus.....	69
22. Hasil rata-rata seliish kadar kreatinin pada tikus	61
23. Hasil persentasi sel pada gambaran histopatologi organ ginjal tikus....	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Anatomi Ginjal	17
2. Skema uji toksisitas subkronis minyak biji mahoni	38
3. Diagram berat badan tikus jantan	45
4. Diagram berat badan tikus betina	43
5. Diagram kadar BUN jantan	44
6. Diagram kadar BUN betina	59
7. Diagram kadar kreatinin jantan	60
8. Diagram kadar kreatinin betina	63
9. Gambaran mikroskopis organ ginjal tikus jantan dengan perbesaran 1000X	66
10. Gambaran mikroskopis organ ginjal tikus jantan dengan perbesaran 1000X Gambaran mikroskopis organ hati	67
11. Diagram persentase sel normal dan sel rusak tikus jantan	68
12. Diagram persentase sel normal dan sel rusak tikus betina	69

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan hasil identifikasi simplisia	79
2. Bahan uji (sampel).	80
3. Pengeringan Sampel	81
4. Perhitungan rendemen sampel mahoni	82
5. Perhitungan rendemen minyak biji mahoni	83
6. Perhitungan berat jenis minyak biji mahoni.....	84
7. Perhitungan penetapan kadar air minyak biji mahoni	86
8. Surat keterangan hasil analisis kimia kandungan minyak biji mahoni	88
9. Surat keterangan hewan uji	89
10. Perhitungan Dosis	91
11. Volume urine dan berat feses.....	92
12. Kadar BUN dan Kreatinin	93
13. Hasil histopatologi	97
14. Uji Statistik.....	99

ABSTRACT

WITNEY, R., 2016. SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF THE MAHOGANY SEED OIL (*Swietenia macrophylla* King) TOWARDS THE LEVEL OF *BLOOD UREA NITROGEN* AND THE LEVEL OF CREATININ AND THE IMAGE OF KIDNEY HISTOPATHOLOGY ON ALBINO RATS (*Rattus norvegicus*), THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Mahogany seed is one of the herbs that are used as anti-diabetic in traditional medicine. This research aims to determine the effect of Subchronic toxicity towards toxic symptoms and the level of *Blood Urea Nitrogen* (BUN), and creatinin, also the histopathology image of kidney in rats.

Mahogany seeds oil was obtained using hydraulic press device. The research used 50 male and 50 female rats that were divided into 5 groups, 1 group of negative control administered by aquadestilata and 4 treatment groups treated by mahogany seeds oil at dose 300 mg/KgBW, 600 mg/KgBW, and dose 900 mg/KgBW, and satellite group were treated with the same dose as 900 mg/KgBW. This research was observed for 90 days and additional 28 days for satellite group to observe the reversible effect. The examination of BUN and Creatinin were exam once every 30 days. The end of observation animals was sacrificed for the histopathological test.

The result revealed that the mahogany seed oil treatment increase the body weight of male rats in dose 300 mg/KgBW, 600 mg/KgBW, and 900 mg/KgBW and female rats in dose 900 mg/KgBW and caused toxic effects showed edema on female rats in dose 900 mg/kgBW, changed the BUN level and also kidney histopathology image.

Keywords: Mahogany Seed oil (*Swietenia macrophylla* King), Subchronic toxicity, Kidney histopathology.

INTISARI

WITNEY, R., 2016. UJI TOKSISITAS SUBKRONIS MINYAK BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla* King) TERHADAP KADAR *BLOOD UREA NITROGEN* DAN KADAR KREATININ SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*), SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Biji mahoni merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional untuk anti-diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas subkronis terhadap gejala toksik, kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin serta gambaran histopatologi organ ginjal tikus.

Minyak biji mahoni diperoleh dengan alat press hidrolik. Penelitian ini menggunakan 50 ekor hewan jantan dan 50 ekor hewan betina, yang terbagi atas 5 kelompok. Kelompok pertama kontrol negatif diberi aquadestilata, 3 kelompok perlakuan diberi sediaan minyak biji mahoni dengan dosis 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, 900 mg/KgBB, dan kelompok satelit diberi 900 mg/KgBB. Penelitian ini berlangsung selama 90 hari dan ditambah 28 hari pada kelompok satelit untuk melihat efek reversible. Pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin dilakukan setiap 30 hari. Pada akhir pemeriksaan hewan uji dikorbankan untuk uji histopatologi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian minyak biji mahoni dosis 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB mempengaruhi berat badan tikus jantan dan dosis 900 mg/KgBB pada tikus betina, dan menyebabkan efek toksik timbulnya edema pada tikus betina dosis 900 mg/KgBB, mempengaruhi kadar BUN tikus betina dan gambaran histopatologi ginjal.

Kata kunci : Minyak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King), Toksisitas subkronik, Histopatologi ginjal.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) adalah suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Gejala-gejala yang ditimbulkan yaitu : poliuria, polidipsia, polifagia, glukosuria, penurunan berat badan dan merasa letih (Tjay dan Rahardja 2002). Penyakit DM terjadi akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin yang tidak normal, atau keduanya (Triplitt *et al* 2005).

Secara global penderita DM telah meningkat dari 108 juta pada 1980 menjadi 422 juta pada 2014. Prevalensi diabetes pada orang dewasa diatas usia 18 tahun meningkat dari 4,7% pada tahun 1980 menjadi 8,5 % pada tahun 2014. Prevalensi diabetes meningkat di negara dengan penghasilan menengah kebawah. Pada tahun 2012, sekitar 1,5 juta kematian disebabkan oleh diabetes dan lain 2,2 juta kematian yang disebabkan diabetes disertai darah tinggi. WHO memperkirakan bahwa DM akan menjadi penyebab utama 7 kematian pada tahun 2030 (WHO 2016). Indonesia saat ini menduduki ranking ketujuh jumlah penyandang diabetes terbanyak setelah China, India, Amerika Serikat, Rusia, dan Mexico. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, diperoleh bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking kedua yaitu 14,7%. Daerah pedesaan, DM menduduki ranking keenam yaitu 5,8% (Kemenkes 2014).

Selama ini penggunaan obat-obatan untuk pengobatan DM terbagi atas kategori golongan sulfonilurea yang memiliki mekanisme kerja menstimulasi pelepasan insulin dari sel beta, golongan biguanid mekanisme kerjanya menurunkan absorpsi glukosa diusus, meningkatkan sensitivitas insulin, golongan asam benzoat memiliki mekanisme kerja yang sama dengan golongan sulfonilurea dalam stimulasi insulin. Golongan thiazolidinedione bekerja dengan meningkatkan sensitivitas hepar dan menurunkan sensitivitas insulin (ADA 2015).

Obat-obat ini memiliki mekanisme dan efek samping yang berbeda-beda bila dikonsumsi dalam jangka waktu panjang yang dapat menyebabkan gangguan terhadap organ-organ seperti ginjal, hati, jantung, pankreas dan organ lain. Pengobatan untuk penyakit ini memerlukan waktu yang lama (Arifin 2014), sebab itu semakin banyak orang yang memilih tanaman sebagai obat alternatif.

Salah satu tumbuhan yang digunakan masyarakat untuk pengobatan DM adalah biji mahoni (Nany *et al* 2013). Berdasarkan penelitian Subhadip *et al* (2013) menunjukkan bahwa minyak biji mahoni memiliki aktivitas inhibitor (penghambat) amilase sehingga dapat mengurangi penyerapan glukosa dan efektif dalam mengendalikan diabetes dengan menguji aktivitas penghambat enzim α -amilase minyak biji mahoni secara *in vitro*. Hasil yang diperoleh adalah minyak biji mahoni ini memiliki aktivitas antidiabetes dengan menghambat enzim α -amilase secara *in vitro* pada konsentrasi 2, 20, dan 200 $\mu\text{l/ml/min}$. Pada mencit jantan galur BALB/C yang diberi kombinasi ekstrak biji mahoni dengan glibenklamid tidak memiliki perbedaan yang signifikan dalam menurunkan kadar gula darah (Utama 2014).

Pada pengobatan tikus DM tipe II yang diinduksi *streptozotocin* dan *nicotinamide*, dengan pemberian secara oral ekstrak metanol biji *Swietenia macrophylla* 300 mg/kgBB terjadi penurunan tingkat glukosa darah puasa setelah 12 hari berturut-turut (Moghadamtousi *et al* 2013). Selain itu, menurut Maiti (2008) ekstrak methanol biji mahoni dengan dosis 150 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB memberikan efek antidiabetes pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* dan *nicotinamide*. Pada penelitian terdahulu dilakukan uji terhadap aktivitas minyak biji mahoni pada hiperglikemia dan sindrom metabolisme akibat kerusakan sel pankreas oleh paparan aloksan dan obesitas pada tikus. Hasilnya menunjukkan bahwa minyak biji mahoni memiliki aktivitas tinggi dalam mengendalikan sindrom metabolisme, dan mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus resistensi insulin, maupun pada tikus yang mengalami kerusakan pankreas akibat induksi aloksan (Wiriana 2015). Pengujian toksisitas akut terhadap penggunaan minyak biji mahoni sedang dilakukan.

Rasyad *et al* (2012) menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol biji mahoni dengan dosis 50,96 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB secara oral selama 40 hari satu kali sehari menyebabkan terjadinya nefrotoksik. Balijepalli (2015) melakukan uji toksisitas akut terhadap aktivitas biji mahoni (*Swietenia macrophylla*) seeds pada dosis 2 g/kgBB tikus tidak menimbulkan tanda-tanda gejala toksisitas pada tikus galur *Sprague dawley*.

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sari atau galenik, atau campuran bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan. Penggunaan obat tradisional sebagai upaya promotif, preventif, kuratif, dan rehabilitatif cenderung meningkat (Hendrawati 2009). Khasiat obat tradisional berasal dari kandungan kimia yang terkandung di dalamnya. Penggunaan dosis atau takaran yang tidak sesuai dengan standar resmi dapat menyebabkan terjadinya efek samping hingga efek toksik terhadap penggunaan obat tradisional. Oleh sebab itu, penggunaan produk herbal perlu dilakukan standarisasi dan saintifikasi, termasuk pengujian toksisitas.

Uji toksisitas adalah salah satu tahap uji yang harus dilakukan untuk mengetahui keamanan suatu zat yang akan dijadikan suatu produk berupa obat. Uji toksistas subkronik adalah uji yang digunakan untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang diujikan pada hewan uji dengan sedikitnya tiga tingkat dosis dalam jangka waktu 30 sampai 90 hari (Martini *et al* 2007). Lama pengujian selama jangka waktu 30 hari untuk uji toksisitas subkronik singkat sedangkan lama pengujian 90 hari terhadap uji toksisitas subkronik jangka panjang.

Pada uji toksisitas dilakukan pengamatan berupa gejala klinis, monitoring berat badan dan konsumsi makanan, pemeriksaan hematologi, pemeriksaan biokimia, pengamatan makropatologi, penimbangan organ, dan pemeriksaan histopatologi. Organ vital yang diamati pada pengujian toksisitas subkronik salah satunya adalah organ ginjal. Ginjal merupakan organ vital yang berfungsi membuang sisa bahan terutama senyawa nitrogen berupa urea dan kreatinin yang dihasilkan dari metabolisme makanan oleh tubuh, bahan asing dan produk sisanya melalui pembentukan dan ekskresi urine (Lesson *et al* 1996). Menurut BPOM

(2014) parameter utama yang harus diperiksa adalah glukosa, total-kolesterol, trigliserida, nitrogen urea, kreatinin, GOT dan GPT.

B. Perumusan Masalah

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

Pertama, apakah minyak biji mahoni mempengaruhi berat badan serta menimbulkan gejala toksik dan gejala klinis pada uji toksisitas subkronis jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih?

Kedua, apakah minyak biji mahoni menimbulkan perubahan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN), dan kadar kreatinin pada uji toksisitas subkronis jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih?

Ketiga, apakah minyak biji mahoni menimbulkan perubahan makropatologi dan histopatologi organ ginjal tikus pada uji toksisitas subkronis jangka panjang (90 hari) menggunakan tikus putih?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, untuk mengetahui pengaruh penggunaan jangka panjang (90 hari) minyak biji mahoni terhadap berat badan, gejala toksik dan gejala klinis pada tikus putih.

Kedua, untuk mengetahui pengaruh penggunaan jangka panjang (90 hari) minyak biji mahoni terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN), dan kadar kreatinin pada tikus putih.

Ketiga, untuk mengetahui pengaruh penggunaan jangka panjang (90 hari) minyak biji mahoni terhadap perubahan makropatologi dan histopatologi organ ginjal tikus putih.

D. Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah menjadi tambahan informasi kepada masyarakat tentang efek toksik Minyak biji mahoni terhadap organ ginjal apabila dikonsumsi dalam jangka waktu panjang dan menambah informasi dibidang ilmu pengetahuan terutama dibidang farmasi untuk pengembangan penelitian obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan Mahoni

1. Klasifikasi tanaman

Berikut merupakan klasifikasi tanaman mahoni (Depkes 2000)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Family	: Meliaceae
Genus	: Swietenia
Spesies	: <i>Swietenia macrophylla</i> King

2. Nama lain tumbuhan

Swietenia macrophylla King juga dikenal dengan beberapa nama yaitu : mahoni (Jawa Tengah), Mahok (Belanda), acajon (Perancis), *cheriamagany*, *caoba* (Spanyol), *mahogany* (Inggris) (Depkes 2000).

3. Morfologi tanaman

Tanaman mahoni dapat ditemui di lingkungan rumah maupun pinggir-pinggir jalan sebagai tanaman peneduh. Kadang-kadang tanaman ini tumbuh secara liar di hutan-hutan atau di antara semak belukar. Tanaman ini yang menarik adalah buahnya yang terlihat muncul di ujung-ujung ranting berwarna coklat (Suryowinoto 2001).

Tanaman yang asalnya dari Hindia Barat ini, dapat tumbuh subur bila tumbuh di daerah pasir berpayau dekat dengan pantai. Mahoni termasuk jenis pohon dengan usia tahunan yang tingginya antara 5-25 meter, berakar tunggang, batangnya bulat, bercabang banyak, dan kayunya bergetah. Daunnya majemuk, menyirip genap, berbentuk bulat telur sampai lonjong dengan ujung dan

pangkalnya runcing. Tepi daunnya rata, pertulangan daun menyirip yang panjangnya 3-15 cm, dan daun mudanya berwarna merah yang akan berubah hijau ketika tua. Perbungaannya berbentuk malai, terdapat di ketiak daun, dan berwarna kuning kecoklatan. Buahnya rata-rata sebesar bola tenis, berbentuk bulat telur, berlekuk lima, dan berwarna coklat, sedangkan bijinya berbentuk pipih, berwarna hitam, atau coklat (Dalimartha 2006).

Bunganya merupakan bunga majemuk tersusun dalam kerangka yang keluar dari ketiak daun. Tangkai bunganya berbentuk silindris dan berwarna coklat muda. Kelopak bunganya terlepas satu sama lain, bentuknya seperti sendok, dan berwarna hijau. Mahkota bunga berbentuk silindris, berwarna kuning kecoklatan. Mahoni baru berbunga setelah berumur 7 tahun (Dalimartha 2006).

4. Khasiat tanaman

Biji mahoni berkhasiat sebagai obat tekanan darah tinggi, obat encok, obat eksim, dan obat masuk angin (Depkes 2000). Penyakit yang dapat diobati dengan mahoni antar lain tekanan darah tinggi, kurang nafsu makan, demam, kencing manis, masuk angin, dan rematik. Pemanfaatan biji mahoni biasanya dilakukan dengan mengeringkan terlebih dahulu, setelah itu digiling halus menjadi serbuk (Dalimartha 2006).

5. Kandungan kimia

Telah dilakukan identifikasi terhadap kandungan kimia dari biji mahoni yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik hidrokuinon, triterpenoid, tanin antraquinon, *cardiac glycosides* dan *oils*. Pada *Dictionary of Natural Product* (2005) ada beberapa senyawa yang telah ditemukan pada tanaman mahoni, yaitu berberin, isoboldin, isokoridin, 3,3',4',5,5',7-hexahidroksiflavanon, isotetrandrin, obaberine, oxyberberine, 8ε-alkohol oxyberberine, 8ε-alkohol-8-Me ether oxyberberine, palmatine, O3-De-Me- palmatine, 1,2,9,10-tetrahydroxyaporphine.

Hasil penelitian Mursiti (2004) menunjukkan bahwa biji mahoni bebas minyak yang diekstraksi dengan asam asetat ditemukan adanya senyawa alkaloid 3,6,7-trimetoksi-4-metil-1,2,3,4-tetrahidro- isoquinolin, dengan asam sitrat ditemukan senyawa 3,4,5,6,7-pentaetil-1-metoksi-1*H*- indazol, serta dengan asam klorida ditemukan senyawa 5-etil-6-metoksimetil-2- metil-1,2-

dihidropiridin. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi-fraksi biji mahoni yang dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm oleh Bani (2016) bahwa terdapat alkaloid, flavonoid, triterfen, dan steroid.

Mursiti *et al* (2013) telah melakukan isolasi, identifikasi, dan elusidasi senyawa alkaloid dari biji mahoni bebas minyak dengan menggunakan methanol-larutan asam nitrat diperoleh senyawa alkaloid yang diperkirakan 3,4,5-trietil-6-metoksi-2-metil-1,2-dihidropiridin. Kandungan flavonoid yang ditemukan pada biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) termasuk dalam golongan katekin, yaitu katekin, epikatekin, dan *swietemacrophyllanin-catechin-8,7-7,2-epoxy-(methyl 4,5-dihydroxyphenylpropanoate)* (Eid 2013). Terdapat kandungan triterpen pula pada hampir di setiap bagian dari *Swietenia macrophylla* King dan mengandung senyawa limonoid (Tetranortriterpenoid dengan sebuah 4,4,8-trimethyl-17-furanyl steroidal skeleton) (Moghadamtousi *et al* 2013). Kandungan steroid menurut Hashim *et al* (2013) yang menganalisis kandungan kimia dari ekstrak petroleum eter dengan menggunakan GC-MS, terdapat senyawa steroid seperti fukosterol, *phytosterols* dan β -sitosterol, serta senyawa golongan lain seperti diterpen, triterpenoid, asam lemak, aldehida, *methyl esters*, *methyl esters*, yang mungkin berperan sebagai anti hiperglikemik.

6. Komposisi minyak biji mahoni

Komposisi minyak biji mahoni mengandung asam lemak yang terdiri atas asam palmitat 52%, asam stearat 36%, asam arakidat 9%, asam meristat 1%, dan asam oleat 1%. Komposisi ini diperoleh dari hasil pengujian dengan menggunakan kromatografi GLC (Gas Liquid chromatography) (Madjid *et al.* 2004).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM 2014). Simplisia terdiri dari simplisia nabati, hewan dan mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau za-zat berguna yang dihasilkan hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1979).

2. Pengumpulan bahan baku simplisia

Berdasarkan bahan bakunya, simplisia bisa diperoleh dari tanaman liar dan atau dari tanaman yang dibudidayakan. Jika simplisia diambil dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen, dan galur tanaman dapat dipantau. Sementara jika diambil dari tanaman liar maka banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur, dan tempat tumbuh. Pengambilan bahan baku biji dapat dilakukan pada saat mulai mengeringnya buah atau sebelum semuanya pecah (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia (Depkes 1986). Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan dan luas permukaan bahan. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30°C - 90°C, tetapi suhu terbaik adalah tidak lebih dari 60°C (Depkes 1986).

C. Minyak

Trigliserida merupakan komponen utama penyusun minyak, trigliserida dapat berwujud padat dan cair tergantung dari komposisi asam lemak yang menyusunnya. Sebagian besar minyak nabati berbentuk cair karena mengandung sejumlah asam tidak jenuh yaitu asam oleat, linoleat dan linolenat dengan titik cair yang rendah. Minyak yang telah dipanaskan dari jaringan asalnya mengandung sejumlah kecil komponen selain trigliserida yaitu : lipid kompleks, sterol, asam lemak bebas, lilin, pigmen yang larut dalam lemak dan hidrokarbon (Ketaren 1986).

Minyak mengandung zat warna yang terdiri dari alfa dan beta karoten, xanthofil, klorofil dan antosianin. Zat warna ini menyebabkan minyak berwarna kuning, kuning kecoklatan, kehijau-hijauan dan kemerah-merahan. Pigmen berwarna merah jingga atau kuning disebabkan oleh karotenoid yang bersifat larut dalam minyak. Karotenoid ini bersifat tidak stabil pada suhu tinggi dan jika minyak dialiri uap panas maka warna kuning akan menghilang (Ketaren 1986).

Minyak terdapat dalam kantung-kantung minyak berbentuk oval, balon dalam kelenjar atau gelembung dengan ukuran diameter bervariasi. Kantung atau kelenjar minyak tersebut tidak memiliki saluran dan tidak berhubungan dengan sel sekitarnya atau dengan dinding luar sel, tidak memiliki dinding tetapi dibatasi oleh runtutan jaringan yang terdegradasi. Menurut Denovan (dalam Guenther 1987) dinding sel minyak tidak mudah pecah. Minyak lebih banyak yang keluar jika dilakukan dengan cara memecah atau merajang terlebih dahulu. Apabila dinding kelenjar minyak itu sobek maka minyak akan terdorong keluar dengan bantuan tekanan.

Berat jenis adalah perbandingan bobot dari volume sampel minyak dengan bobot air yang volumenya sama pada suhu tertentu (biasanya ditentukan pada suhu 25°C) alat yang digunakan piknometer. Dimana perhitungan berat jenis minyak pada suhu 25°C.

$$\text{BJ minyak} = \frac{(\text{Berat minyak dan botol}) - \text{berat botol}}{\text{Berat air pada suhu } 25^{\circ}\text{C}}$$

Jika berat jenis minyak pada suhu 25°C telah diketahui, maka untuk menghitung berat jenis minyak pada suhu tertentu lainnya dapat digunakan rumus sebagai berikut :

$$G = G' + 0.00064 (T-25^{\circ}\text{C})$$

Dimana :

G : berat jenis pada suhu 25°C

G' : Berat jenis pada T°C/25°C

T : suhu minyak yang ditentukan jenisnya

0,00064 = koreksi rata-rata untuk 1°C (Afrianto dkk 2008).

Pengujian minyak dilakukan dengan menentukan kadar air, bilangan peroksida, bilangan iod, bilangan penyabunan, bilangan asam, bilangan Reichert Meissel, dan bilangan Polenske.

D. Pengempaan (*Pressing*)

Penyarian minyak dengan cara pengempaan umumnya dilakukan terhadap bahan berupa biji, buah, dan kulit buah. Adanya tekanan pengempaan memungkinkan sel-sel yang mengandung minyak akan pecah dan minyak akan mengalir ke permukaan bahan (Ernest 1990). Cara pengempaan terbagi menjadi 2 yaitu :

1. *Hydrolic pressing*

Pada tipe ini minyak diperoleh dengan cara memberikan tekanan pada bahan yang mengandung minyak yang dibungkus dengan kain. Kelemahan cara ini terbatas hanya pada bahan yang minyaknya diekstrak dengan tekanan rendah.

2. *Expeller pressing*

Alat pengempaan ini dilengkapi dengan *porps* berbentuk spiral yang berputar secara kontinyu dalam wadah yang berbentuk silinder. Kelebihan *pressing* ini terletak pada kekontinuitas proses pengempaan dan tidak memerlukan kain pengepresan.

E. Kromatografi Gas

Kromatografi adalah cara pemisahan campuran yang didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (*stationary*) dan fase bergerak (*mobile*). Fase diam dapat berupa zat padat atau zat cair, sedangkan fase bergerak dapat berupa zat cair atau gas. Kromatografi fase Bergeraknya dapat berupa gas atau zat cair dan fase diam dapat berupa zat padat atau zat cair.

Kromatografi gas adalah suatu metode pemisahan dinamis dan identifikasi semua senyawa organik yang mudah menguap secara kualitatif dan kuantitatif. Aplikasi GC biasanya dilakukan untuk analisis alkohol dalam makanan/minuman/darah, analisis asam lemak setelah diderivasi menjadi fatty acid methyl ester atau FAME, analisis minyak atsiri, dan lain-lain. Sampel berupa gas dapat langsung diambil dengan penyuntik (*syringe*), sedangkan untuk sampel padat harus diekstraksi atau dilarutkan terlebih dahulu dalam suatu pelarut sehingga dapat diinjeksikan ke dalam sistem kromatografi gas (Gandjar 2007). Mekanisme kerja kromatografi gas adalah gas dalam silinder baja bertekanan tinggi mengalir melalui kolom yang berisi fasa diam. Cuplikan berupa campuran akan dipisahkan, biasanya dalam bentuk larutan, yang disuntikkan kedalam aliran gas tersebut.

1. Prinsip Kromatografi Gas

Kromatografi gas bertujuan memisahkan komponen-komponen yang terdapat dalam suatu campuran dan mengidentifikasi jenis komponen tersebut. Prinsip kromatografi gas merupakan teknik pemisahan senyawa yang mudah menguap dan stabil terhadap panas, bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Jenis kromatografi untuk minyak ikan adalah kromatografi gas-cair. Dimana fase diam yang digunakan adalah cairan yang diikatkan pada suatu pendukung sehingga solut akan terlarut dalam fase diam, dengan mekanisme sorpsinya adalah partisi. Sedangkan kromatografi gas-padat mekanisme sorpsinya adalah adsorpsi (Gandjar 2007).

2. Komponen Alat Kromatografi Gas

Komponen utama kromatografi gas adalah sebagai berikut (Gandjar 2007) :

2.1 Fase gerak. Fase gerak dalam kromatografi gas berfungsi membawa solut ke kolom. Syarat gas pembawa yang dapat digunakan adalah tidak reaktif, murni (karena berpengaruh pada detektor) dan dapat disimpan dalam tangki bertekanan tinggi (merah untuk hidrogen, abu untuk nitrogen). Pemilihan gas pembawa tergantung pada penggunaan spesifik dan jenis detektor yang digunakan. Gas pembawa yang digunakan seperti gas helium, nitrogen, hidrogen atau campuran argon dan metana. Penggunaan helium efektif untuk mengurangi pelebaran pita.

2.2 Ruang suntik sampel. Ruang suntik atau *inlet* berfungsi sebagai tempat penghantaran sampel ke dalam aliran gas pembawa. Penyuntikan sampel dapat dilakukan secara manual atau secara otomatis tergantung jumlah sampel yang digunakan. Pelarut sampel yang dipilih adalah memiliki sifat yang berbeda dengan sampel yang digunakan seperti etil eter, alkohol, dan keton. Cairan dan zat padat yang mudah menguap dapat langsung disuntikkan namun dilarutkan terlebih dahulu ke dalam pelarut organik. Dalam kasus tertentu penyuntikan langsung ke dalam kolom dapat dilakukan, teknik ini digunakan untuk senyawa-senyawa yang mudah menguap yang dikhawatirkan jika melalui lubang suntik akan terjadi peruraian senyawa karena suhu tinggi.

2.3 Kolom. Kolom merupakan komponen sentral pada kromatografi gas. Kolom adalah tempat terjadinya pemisahan yang di dalamnya terdapat fase diam. Fase diam yang digunakan juga beragam yaitu bersifat non polar, polar atau semi polar. Jenis fase diam menentukan urutan elusi komponen-komponen dalam campuran.

2.4 Detektor. Detektor berfungsi sebagai sensor elektronik pengubah sinyal gas pembawa dan komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik untuk menganalisis data secara kualitatif maupun kuantitatif terhadap komponen terpisah diantara fase diam dan fase gerak. Kromatogram merupakan hasil pemisahan fisik komponen-komponen kromatografi gas yang disajikan oleh

detektor sebagai deretan puncak luas terhadap waktu. Kromatografi gas yang digabung dengan instrumen seperti GC/FT-IR/MS maka kromatogram akan disajikan dalam bentuk lain. Minyak ikan yang di analisis dengan kromatografi gas yang digabung dengan detektor spektrometer massa mampu memberikan informasi data struktur kimia senyawa yang belum diketahui dan mampu memonitor ion tunggal atau beberapa ion di dalam analit. Sehingga batas batas ion akan ditingkatkan.

F. Uji Toksisitas

1. Pengertian Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia.

Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/ sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM 2014).

Untuk meneliti berbagai efek yang berhubungan dengan masa pejanan, pengujian toksisitas secara oral dibagi menjadi tiga kategori, yaitu :

1.1 Uji toksisitas akut oral. Uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam.

Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir

percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas. Tujuan uji toksisitas akut oral adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD₅₀ suatu bahan/sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/ sediaan dan pelabelan (BPOM 2014).

1.2 Uji toksisitas subkronis oral. Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversible*. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas.

Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi, dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. 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 (BPOM 2014).

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

1.3 Uji toksisitas kronis oral. Uji toksisitas kronis oral 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 subkronis, tetapi sediaan uji diberikan selama tidak kurang dari 12 bulan. Tujuan dari uji toksisitas kronis oral adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang selama waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (NOAEL). Uji toksisitas kronis harus dirancang sedemikian rupa sehingga dapat diperoleh informasi toksisitas secara umum meliputi efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis dan histopatologi, mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut (BPOM 2014).

2. Uji Toksisitas Subkronis Oral 90 hari

2.1 Jenis dan jumlah hewan uji. Pada prinsipnya jenis hewan uji yang digunakan harus berdasarkan sensitivitas, cara metabolisme sediaan uji yang sama dengan manusia, kecepatan tumbuh, dan mudah tidaknya penanganan sewaktu dilakukan percobaan. Hewan yang digunakan adalah hewan yang sehat asal, jenis dan galur, jenis kelamin, usia serta berat badan harus jelas. Hewan uji yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lainnya).

Syarat hewan uji adalah sehat, umur 6-8 minggu. Masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 20 yang terdiri dari 10 ekor jantan dan 10 ekor betina untuk setiap kelompok dosis. Selain itu jika perlu dapat disediakan juga 2 kelompok tambahan (grup satelit) minimal 20 hewan yang terdiri dari 10 ekor jantan dan 10 ekor betina untuk kelompok kontrol dan kelompok tinggi. Pengamatan reversibilitas pada kelompok satelit dilakukan selama 28 hari setelah akhir pemberian sediaan uji. Sebelum percobaan dimulai, hewan diaklimatisasi di ruang percobaan dosis selama lebih kurang 7 hari. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak melebihi 20% dari rata-rata berat badan (BPOM 2014).

2.2 Dosis Uji dan batas Uji. Dosis uji harus mencakup dosis yang setara dengan dosis lazim yang digunakan pada manusia. Dosis lain meliputi dosis perkalian tetap yang mencakup dosis yang setara dengan dosis penggunaan lazim pada manusia sampai mencapai dosis yang dipersyaratkan untuk tujuan pengujian atau sampai batas dosis tertinggi yang masih dapat diberikan pada hewan uji. Sekurang-kurangnya digunakan 3 kelompok dosis, 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok satelit (kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol) untuk setiap jenis kelamin. Dosis bahan uji yang paling tinggi harus menimbulkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat, dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan, sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik (NOAEL). Bila pada dosis 1000 mg/kg berat badan tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi, meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai (BPOM 2014).

2.3 Penyiapan dan waktu pemberian sediaan uji. Hasil uji toksisitas sangat tergantung pada sifat zat yang diuji. Sediaan uji untuk uji toksisitas berupa zat yang dapat larut atau tersuspensi dalam air atau dapat larut dalam minyak, yang dapat berasal dari tanaman, hewan, maupun hasil sintesis organik. Sediaan uji dapat dibuat berbagai macam cara, sesuai sifat sediaan uji dan cara pemberiannya. Sediaan uji dilarutkan dengan bahan pembawa yang sesuai (misalnya aquadestilata, minyak nabati) sampai dengan dosis yang dikehendaki. Sediaan uji diberikan setiap hari atau minimal 5 hari dalam 1 minggu selama 90 hari (BPOM 2014).

2.4 Cara dan volume pemberian sediaan uji. Pada dasarnya pemberian sediaan uji harus sesuai dengan cara pemberian dan pemaparan yang diterapkan pada manusia, biasanya diberikan secara oral dengan volume pemberian 1 mL sediaan uji per 100 gram berat badan hewan, tetapi dalam kondisi tertentu volume pemberian dapat sampai 2 mL sediaan uji per 100 gram berat badan hewan apabila digunakan pembawa air (BPOM 2014).

2.5 Pengamatan toksisitas. Pengamatan terjadinya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekskresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misalnya berjalan

mundur), kejang dll dilakukan setiap hari selama 90 hari, sedangkan untuk kelompok satelit pengamatan dilanjutkan selama 28 hari kemudian, namun tanpa pemberian sediaan uji untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali dari pengaruh toksik (BPOM 2014).

2.6 Monitoring berat badan dan konsumsi pakan. Monitoring kenaikan berat badan dilakukan seminggu dua kali. Hewan ditimbang setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan, sedangkan jumlah makanan yang dikonsumsi ditimbang dua hari sekali (BPOM 2014).

2.7 Pengambilan darah. Darah diambil menggunakan alat suntik steril dan selalu dijaga agar tidak terkena air (untuk menghindari terjadinya hemolisis). Setelah hewan dianestesi dengan eter, darah diambil dari vena jugularis secara perlahan-lahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3–5 mL, satu alat suntik digunakan untuk satu hewan. Sebanyak 0,5 mL darah dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus yang telah diisi antikoagulan (EDTA) sebanyak 10 μ L untuk pemeriksaan hematologi, sebanyak 0,5 mL darah untuk pembuatan apusan darah pada penetapan deferensial leukosit. Sisanya dimasukkan kedalam tabung pemusing/tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tangas es tidak boleh kurang dari 20 menit dan segera dipusingkan/disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

2.8 Pemeriksaan biokimia klinis. Pemeriksaan biokimia klinis menurut OECD (2001) meliputi: natrium, kalium, glukosa, total-kolesterol, trigliserida, nitrogen urea, kreatinin, total-protein, albumin, GOT, GPT, total-bilirubin, alkaline fosfatase, gamma glutamil trans-peptidase, LDH, asam empedu. Sedangkan menurut WHO (2000) pemeriksaan biokimia klinis meliputi: fungsi hati (GOT, GPT, Gamma GT) dan fungsi ginjal (Nitrogen Urea, Kreatinin, Total-Bilirubin). Parameter utama yang harus diperiksa adalah glukosa, total-kolesterol, trigliserida, nitrogen urea, kreatinin, GOT dan GPT (BPOM 2014).

2.9 Penimbangan organ. Organ yang akan ditimbang (bobot absolut) harus dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera

ditimbang, sedangkan yang dianalisis adalah bobot relatif, yaitu bobot organ absolut dibagi bobot badan (BPOM 2014).

2.10 Pemeriksaan makropatologi organ ginjal. Organ yang akan ditimbang (bobot absolut) harus dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang, sedangkan yang dianalisis adalah bobot relatif, yaitu bobot organ absolut dibagi bobot badan.

2.11 Pemeriksaan histopatologi. Organ yang diperiksa secara histopatologi meliputi: otak, pituitari, tiroid, timus, paru-paru, jantung, hati, ginjal, limpa, adrenal, pankreas, testis, vesikula seminalis, kantong kemih, indung telur, uterus, epididimis, usus, limfa nodus, saraf tepi, lambung, tulang dada, tulang paha, sumsum tulang belakang atau sekurang-kurangnya 5 organ utama yaitu hati, limpa, jantung, ginjal, paru dan ditambah organ sasaran yang diketahui secara spesifik. Organ-organ kecil seperti pituitari, tiroid, adrenal yang tidak memungkinkan untuk dibuat preparat histopatologi dapat diabaikan. Setiap organ dan jaringan yang sudah dipisahkan segera dimasukkan dalam larutan dapar formaldehida 10% dan dibuat preparat histopatologi kemudian diperiksa dibawah mikroskop (BPOM 2014).

G. Hewan Uji

1. Sistematika hewan uji

Sistematika dari hewan uji dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Divisi	: Chordata
Subdivisi	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: Ratus
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i> (Sugiyanto 1995).

2. Karakteristik hewan uji

Tikus relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik

seperti halnya mencit, dan kecendrungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Aktivasinya tidak terganggu oleh adanya manusia disekitarnya. Suhu tubuh normal 37,5°C, laju respirasi normal 210 tiap menit.

Tikus putih bila diperlakukan kasar tikus menjadi galak dan sering menyerang yang memegang. Tikus jantan kecepatan metabolisme obat lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina. Pada tikus betina secara berkala dalam tubuhnya mengalami perubahan kondisi seperti masa kehamilan, menyusui, dan mensturasi (Sugiyanto 1995).

3. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji

Ruangan yang digunakan untuk percobaan hendaknya memenuhi persyaratan suhu, kelembaban, cahaya dan kebisingan yang sesuai dengan kebutuhan hidup hewan uji, yaitu suhu ruangan diatur menjadi $22^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$, dengan kelembaban relatif 30–70%, dan penerangan 12 jam terang 12 jam gelap. Ruangan harus selalu dijaga kebersihannya. Hewan diberi pakan yang sesuai standar laboratorium dan diberikan tanpa batas (*ad libitum*).

Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material yang kedap air, kuat dan mudah dibersihkan, ruang pemeliharaan bebas dari kebisingan. Luas area kandang per ekor hewan menurut *Cage Space Guidelines For Animals Used In Biomedical Research* (2008) sebagai berikut:

Mencit (15 – 25 g)	: luas alas kandang $77,4 \text{ cm}^2$,	tinggi 12,7 cm.
Tikus (100 – 200 g)	: luas alas kandang $148,4 \text{ cm}^2$,	tinggi 17,8 cm .
Kelinci (2 – 4 kg)	: luas alas kandang 270 cm^2 ,	tinggi 40,64 cm .
Marmut (300 – 350 g)	: luas alas kandang 387 cm^2 ,	tinggi 17,18 cm

(BPOM 2014).

4. Cara mengorbankan hewan uji

Ada beberapa cara mengorbankan hewan uji pada uji toksisitas; pada prinsipnya hewan uji dikorbankan sesuai dengan kaidah-kaidah cara dan teknik pengorbanan hewan sesuai dengan *ethical clearence* deklarasi Helsinki serta tidak mempengaruhi hasil uji toksisitas (BPOM 2014).

Eutanasi dimana Sebelum hewan uji dikorbankan, dilakukan anestesi terlebih dahulu. Hewan dipegang secara hati-hati tanpa menimbulkan rasa takut, lalu hewan di korbankan dengan salah satu teknik mengorbankan hewan di suatu tempat terpisah dan dijaga agar tidak ada hewan hidup di sekitarnya. Teknik mengorbankan hewan uji ada beberapa cara antara lain dengan cara dislokasi leher untuk hewan kecil seperti mencit dan tikus, lalu cara anestesi secara inhalasi atau penyuntikan, dan cara pengeluaran darah melalui vena jugularis atau arteri karotis (BPOM 2014).

5. Cara penandaan dan memegang hewan uji

Penandaan hewan uji dilakukan dengan cara memberikan larutan asam pikrat 10% dalam alkohol. Penandaan dilakukan dengan tujuan membedakan antara hewan satu dengan yang lainnya. Penandaan biasanya dilakukan pada bagian kepala, punggung, ekor, kaki kanan depan, kaki kiri depan, kaki kanan belakang, kaki kiri belakang, dan ekor (BPOM 2014).

Cara memegang hewan uji jenis rodensia berbeda antara tikus dan mencit pada saat pemberian sediaan uji secara oral. Pemegangan yang benar sangat diperlukan sewaktu pemberian sediaan uji, karena pemegangan yang salah dapat berakibat fatal. Cara pemegangan yang salah dapat menyebabkan antara lain: sediaan uji yang diberikan tidak dapat masuk kedalam lambung tetapi masuk kedalam paru-paru, sehingga mengakibatkan kematian hewan uji. Disisi lain, pemegangan yang salah juga dapat mengakibatkan terjadinya kecelakaan kerja seperti tergigit.

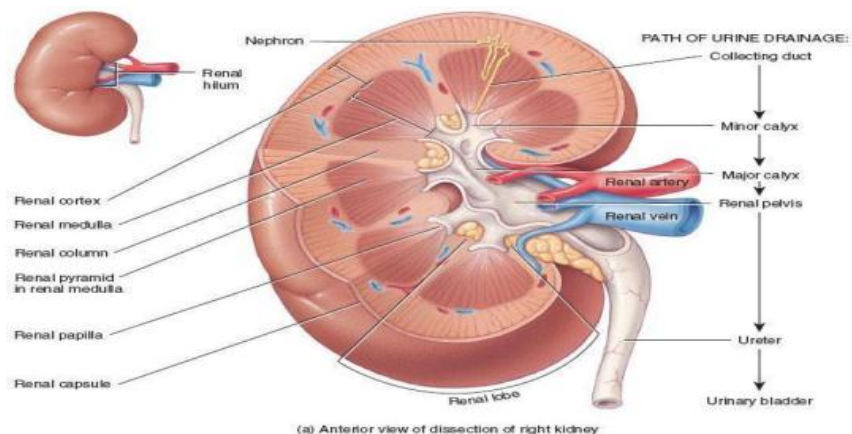
H. Ginjal

Obat akan mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan eliminasi di dalam tubuh. Sisa metabolisme dapat berupa toksikan, zat toksik dapat dikeluarkan dengan cepat melalui urine, organ yang berperan penting dalam pembentukan urin adalah ginjal.

1. Fungsi ginjal

Ginjal memiliki peran yang sangat penting dalam tubuh. Ginjal berfungsi untuk mengsekresi sisa-sisa metabolisme di dalam tubuh. Ginjal juga berperan dalam menjaga keseimbangan air dan elektrolit dalam tubuh (Sherwood 2001).

2. Anatomi



Gambar 1. Anatomi ginjal.

Ginjal merupakan suatu organ yang terletak retroperitoneal pada dinding abdomen di kanan dan kiri columna vertebralis setinggi vertebra T12 hingga L3. Ginjal kanan terletak lebih rendah dari yang kiri karena besarnya lobus hepar. Ginjal dibungkus oleh tiga lapis jaringan. Jaringan yang terdalam adalah kapsula renalis, jaringan pada lapisan kedua adalah adiposa, dan jaringan terluar adalah fascia renal. Ketiga lapis jaringan ini berfungsi sebagai pelindung dari trauma dan memfiksasi ginjal (Tortora 2011).

Ginjal memiliki korteks ginjal di bagian luar yang berwarna coklat terang dan medula ginjal di bagian dalam yang berwarna coklat gelap. Korteks ginjal mengandung jutaan alat penyaring disebut nefron. Setiap nefron terdiri dari glomerulus dan tubulus. Medula ginjal terdiri dari beberapa massa-massa triangular disebut piramida ginjal dengan basis menghadap korteks dan bagian apeks yang menonjol ke medial. Piramida ginjal berguna untuk mengumpulkan hasil ekskresi yang kemudian disalurkan ke tubulus kolektivus menuju pelvis ginjal (Tortora 2011).

3. Fisiologi

Ginjal memiliki fungsi yang penting untuk mengatur volume dan komposisi kimia dalam tubuh. Ginjal berperan mengkonsentrasikan toksikan menyebabkan ginjal menjadi sasaran utama dari efek ketoksikan. Efek toksik yang muncul beranekaragam seperti perubahan biokimia hingga kematian sel, umumnya muncul sebagai perubahan fungsi ginjal sampai gagal ginjal (Lu 1995).

Organ ginjal rentan terhadap efek toksik bahan kimia karena ginjal menerima kurang lebih 25 % dari curahan jantung, sehingga sering kontak dengan zat kimia dalam jumlah besar. ginjal juga berperan dalam menyingkirkan buangan metabolisme normal dan mengekskresi xenobiotic dan metabolismenya. Hal ini dipengaruhi oleh produksi urine yang mempengaruhi suatu proses yang berperan dalam pemeliharaan status homeostatis tubuh. Ginjal juga memiliki fungsi non-ekskretori, yaitu pengaturan tekanan darah dan volume darah. Pengaturan tersebut dipengaruhi sistem renin-angiotensin-aldosteron. Ginjal merupakan ekskresi obligatorik untuk kebanyakan obat yang masuk kedalam tubuh sehingga insufisiensi ginjal mengakibatkan penimbunan obat dan peningkatan konsentrasi dalam cairan tubulus (Sulastrri 2008).

4. Gangguan pada ginjal

Gangguan ginjal akibat adanya benda asing yang masuk ke dalam ginjal dan merusak struktur ginjal. Kerusakan ginjal disebabkan oleh deposisi imun kompleks, thrombosis emboli dan infeksi pada glomerulus menyebabkan terjadinya nekrosa. Kerusakan pada glomerulus juga berupa atrofi dan fibrosis sehingga menyebabkan atrofi sekunder pada tubulus renalis (Underwood 1999).

5. Parameter gangguan ginjal

5.1 Blood Urea Nitrogen. Ureum dalam darah merupakan hasil protein normal yang berasal dari asam amino ornitin yang berhubungan dengan molekul CO₂ untuk membentuk situlin. Situlin bergabung dengan situlin lain membentuk arginin yang dipecah menjadi ureum dan ornitin. Ureum berdifusi dari sel hati ke cairan tubuh, dipatkan dalam urine dan diekskresikan melalui ginjal sedangkan ornotin dipakai lagi dalam siklus berulang (Corwin 2009). Konsentrasi normal *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) dalam serum untuk pria 8-25 mg/dL pria sedikit

lebih tinggi dari wanita disebabkan pria memiliki *lean body mass* yang lebih besar (Corwin 2009).

5.2 Kreatinin. Kreatinin adalah produk akhir dari metabolisme kreatin yang disintesis oleh hati dari metionin, glisin, dan arginin. Kreatinin mempunyai fungsi sebagai zat yang berguna dan beredar dalam darah untuk diangkut ke ginjal. Kadar normal kreatinin untuk pria adalah 0,6-1,3 mg/dL sedangkan untuk wanita 0,5-1 mg/dL. Apabila fungsi kerja ginjal menjadi lambat dan masa otot menyusut maka kemungkinan kadar kreatinin tetap sama didalam serum, meskipun ekskresi per 24 jam kurang dari normal hal ini terjadi pada pasien lanjut usia (Corwin 2009). Ureum lebih cepat meningkat dibanding dengan kreatinin dalam serum karena berkurangnya fungsi ginjal, kerusakan pada ginjal sebabkan kadar ureum meningkat dan kadar kreatinin cenderung konstan. Apabila kadar kreatinin meningkat maka akan terjadi ekskresi melalui saluran cerna (Corwin 2009).

I. Histologi dan histopatologi ginjal

1. Histologi

Histologi berasal dari bahasa Yunani *histos*, yang berarti jaringan, dan *logia*, yang berarti “ilmu yang mempelajari” atau pengetahuan. Jadi histologi berarti pengetahuan atau ilmu mengenai jaringan, baik tumbuhan maupun hewan. Histologi juga mencakup berbagai sel dan sistem organ (Bajpai 1989).

Histologi adalah ilmu yang mengurai tentang jaringan secara terinci dan hubungan antara komponen jaringan dengan fungsi yang dilakukan. Tubuh tersusun atas beberapa jaringan dan dibedakan menjadi empat jaringan utama, yaitu jaringan epitel, jaringan pengikat, jaringan otot, dan jaringan saraf (Arief 2004).

2. Histopatologi

Histopatologi merupakan cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan yang berhubungan dengan penyakit. Histopatologi dilakukan dengan mengambil jaringan dan membandingkan kondisi jaringan sampel terhadap jaringan sehat, sehingga diketahui penyebabnya (Lesson 1996).

2.1 Pembuatan sediaan histologi. Cara mempelajari histologi adalah dengan menggunakan irisan jaringan. Langkah-langkah pembuatan sajian histologi adalah sebagai berikut, yang pertama pengambilan bahan, bahan diambil dari hewan yang telah dianestesi atau segera setelah hewan mati (Lesson 1996). Mendapatkan jaringan dalam keadaan hewan hidup disebut biopsi. Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan untuk mendapatkan jaringan, yaitu perubahan makroskopi, jaringan harus dipilih secara teliti, jaringan yang diambil harus memadai, dan pisau yang digunakan harus tajam agar tepian rata (Bajpai 1989).

Yang kedua adalah fiksasi, bertujuan untuk mengawetkan protoplasma agar tetap sama seperti keadaan hidup. Cairan fiksasi sebagai pengawet untuk mencegah perubahan *autolysis* dan mencegah perkembangan bakteri. Cairan fiksasi menggumpalkan protoplasma, menjadikannya tidak larut dan mengeraskan jaringan untuk mempermudah pengirisan (Lesson 1996). Jumlah bahan fiksasi harus sekurang-kurangnya 20 kali volume jaringan tersebut. Seluruh bagian harus terkena, sehingga wadah penampungan harus diberi alas kain atau kertas saring. Sampel direndam dalam cairan fiksasi selama 16-24 jam (Bajpai 1989). Reagen yang sering digunakan sebagai zat fiksasi adalah formalin, alkohol, merkuri biklorida, kalium bikromat, dan asam-asam tertentu (pikrat, asetat, osmiat). Untuk reagen yang dipakai berupa campuran, seperti cairan Bouin, cairan Zenker, dan cairan Susa. Pemilihan suatu zat fiksasi biasanya ditentukan oleh jaringan atau unsur apa akan digunakan (Lesson 1996).

Yang ketiga adalah pembilasan, setelah fiksasi jaringan dibilas dengan air leding selama satu sampai dua jam agar bahan fiksasi lenyap.

Yang keempat yaitu pemendaman, tujuannya adalah membuat blok jaringan menjadi keras dan kaku sehingga mudah dipotong menjadi irisan tipis. Jaringan dicuci untuk menghilangkan kelebihan zat fiksasi dan didehidrasi dengan etil-alkohol atau zat dehidrasi lainnya dengan konsentrasi yang makin meningkat. Jaringan kemudian dijernihkan dengan agen penjernih, yaitu xilol, kloroform, benzene, dan minyak kayu sedar. Sesudah penjernihan, jaringan diinfiltrasi dengan zat pemendam dan agen pemendam dibuat menjadi padat agar diperoleh suatu massa homogen keras dengan jaringan didalamnya (Lesson 1996).

Yang kelima adalah pemotongan, jaringan yang dipendam dalam parafin diiris sangat tipis dengan tebal irisan adalah 3-10 μm , pengirisan menggunakan mikroatom. Tiap irisan dipindahkan keatas kaca objek yang bersih, yang permukaannya dioles sedikit putih telur. Irisan jaringan dikembangkan diatas sedikit air pada kaca objek dan diletakkan diatas bidang pemanas agar irisan jaringan akan menempel dan melekat pada permukaan kaca objek (Lesson 1996).

Yang keenam adalah pemulasan, tujuan pemulasan adalah untuk meningkatkan kontras alami dan lebih memperjelas unsur sel, jaringan serta bahan ekstrinsik. Zat warna yang digunakan adalah berupa larutan, sehingga untuk memulas suatu irisan paraffin perlu menghilangkan parafin tersebut dengan mencelupkannya didalam suatu pelarut parafin atau *agen deserasi*, yaitu xilol atau toluol. Tahap pemulasan tidak diperlukan bila irisan telah dipendam dalam seloidin (Lesson 1996).

Yang ketujuh adalah penyelesaian. Setelah dipulas kelebihan zat warna dihilangkan dengan air atau alkohol dan irisan jaringan tersebut dicelupkan ke dalam deretan alcohol dengan konsentrasi yang semakin meningkat. Irisan tersebut dipindahkan kedalam larutan dengan zat penjernih, kemudian berikan balsam kanada pada bagian atas irisan, ditutup dengan kaca tutup, dibiarkan mengering, dan diamati dibawah mikroskop (Lesson 1996).

2.2 Gambaran histopatologi ginjal. Tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal hamper mirip. Keduanya berjalan berkelok-kelok, dindingnya disusun oleh lapisan sel kuboid, inti sel bulat, bundar, berwarna biru, dan biasanya terletak agak berjauhan satu sama lain pada tubulus kontortus proksimal dan berdekatan pada tubulus kontortus distal. Perbedaan terletak pada protoplasma dan *brush border*. Sitoplasma tubulus kontortus proksimal berwarna asidofil (kemerahan) dan permukaan sel yang menghadap kelumen mempunyai *brush border*. Sedangkan pada tubulus kontortus distal sitoplasma berwarna basophil (kebiruan) dan permukaan sel yang menghadap kelumen tidak mempunyai *brush border* (Sherwood 2001).

J. Landasan Teori

Pengobatan tradisional dianggap memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan pengobatan kimiawi. Secara empiris Biji mahoni digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit seperti tekanan darah tinggi, demam, kencing manis, masuk angin, rematik, dan lainnya (Dalimartha 2006).

Kandungan kimia dari biji mahoni yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik hidrokuinon, triterpenoid, tanin antraquinon, *cardiac glycosides* dan *oils*, sedangkan komposisi minyak biji mahoni asam lemak yang terdiri dari asam palmitat 52%, asam stearat 36%, asam arakidat 9%, asam miristat 1 %, dan asam oleat 1 % (Majid *et al* 2004). Pada pengobatan tikus DM tipe II yang diinduksi *streptozotocin* dan *nicotinamide*, dengan pemberian secara oral ekstrak metanol *S. macrophylla* 300 mg /KgBB terjadi penurunan tingkat glukosa darah puasa setelah 12 hari berturut-turut (Moghadamtousi *et al* 2013).

Pada penelitian terdahulu dilakukan uji terhadap aktivitas minyak biji mahoni pada hiperglikemia dan sindrom metabolisme akibat kerusakan sel pankreas oleh paparan aloksan dan obesitas pada tikus. Hasilnya menunjukkan bahwa minyak biji mahoni memiliki aktivitas tinggi dalam mengendalikan sindrom metabolisme, dan mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus resistensi insulin, maupun pada tikus yang mengalami kerusakan pankreas akibat induksi aloksan (Wiriana 2015).

Telah dilakukan penelitian toksisitas akut ekstrak etanol biji mahoni didapatkan nilai LD₅₀ sebesar 7,998 g/KgBB (Saputri 2014) sedangkan uji toksisitas subkronik singkat etanol ekstrak biji mahoni tidak memberikan pengaruh terhadap berat badan, gejala toksik, gejala klinis, tidak menyebabkan kematian pada hewan uji serta tidak mempengaruhi kadar BUN, kadar kreatinin, maupun ginjal dilihat dari gambaran histopatologinya (Rahmawati 2016).

Penggunaan obat tradisional perlu diperhatikan keamanannya. Penggunaan jangka waktu lama mendorong perlunya penentuan toksisitas subkronis, walaupun penggunaan obat tradisional dirasa lebih aman. Prinsip uji toksisitas subkronis oral adalah sedian uji yang diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok selama 28 sampai 90 hari, dan dapat juga

ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek yang tertunda (BPOM 2014).

Ginjal berperan sangat penting dalam tubuh karena ginjal berfungsi mengekskresi sisa-sisa metabolisme tubuh seperti urea, asam urat, kreatinin, bilirubin, dan metabolit-metabolit hormon. Ginjal juga berperan dalam menjaga keseimbangan air dan elektrolit dalam tubuh.

Parameter uji toksisitas subkronik oral pada organ ginjal adalah dengan pengamatan berat badan, gejala toksik dan klinis, penetapan kadar BUN, kadar kreatinin, dan histopatologi organ ginjal. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan SPSS statistik 21.

K. Hipotesis

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

Pertama, penggunaan jangka panjang minyak biji mahoni tidak mempengaruhi berat badan serta menimbulkan gejala toksik dan gejala klinis pada tikus putih jantan dan betina.

Kedua, penggunaan jangka panjang minyak biji mahoni tidak menimbulkan perubahan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN), dan kadar kreatinin pada tikus putih jantan dan betina.

Ketiga, penggunaan jangka panjang minyak biji mahoni tidak menimbulkan perubahan makropatologi dan histopatologi organ ginjal tikus putih jantan dan betina.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah setiap subjek (bisa berupa manusia, hewan uji, data laboratorium, dan lainnya) yang memenuhi karakteristik yang telah ditentukan (Sudigdo 1995). Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King.) yang diperoleh dari Pasar Gede, Surakarta.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagian dari populasi yang mewakili seluruh populasi dalam penelitian. Sampel yang digunakan adalah biji mahoni yang diperoleh dari Pasar Gede, Surakarta yang dibeli pada bulan Agustus 2016.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah minyak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King). Variabel utama kedua adalah variasi dosis minyak biji mahoni. Variabel utama ketiga adalah hasil uji toksisitas subkronik minyak biji mahoni meliputi pengamatan berat badan, pengamatan gejala toksik dan gejala klinis, pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN), kadar kreatinin, dan pemeriksaan secara histopatologi terhadap organ ginjal tikus putih jantan dan betina. Variabel utama keempat adalah hewan uji tikus putih (*Rattus novergicus*).

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variabel yang ingin diteliti terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah minyak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) yang diberikan pada tikus putih jantan dan betina dengan beberapa variasi.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah efek toksisitas subkronik minyak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) terhadap organ ginjal tikus putih jantan dan betina meliputi pengamatan berat badan, pengamatan gejala toksik dan gejala klinis, pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN), kadar kreatinin, dan pemeriksaan secara histopatologi organ ginjal.

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas yaitu keadaan hewan uji yang meliputi berat badan, usia, lingkungan tempat hidup, dan perlakuan oleh peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, biji tanaman mahoni (*Swietenia macrophylla* King) yang diperoleh dari Pasar Gede Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, minyak biji mahoni diperoleh dari pengepresan dengan press hidrolik yang dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Ketiga, variasi dosis minyak biji mahoni yang diujikan pada hewan uji tikus putih jantan dan betina dengan dosis 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB.

Keempat, uji efek toksisitas subkronis terhadap organ ginjal yang ditetapkan melalui pengamatan berat badan, pengamatan gejala toksik dan gejala klinis, pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin yang diambil dari serum darah serta dilakukan pemeriksaan secara histopatologi organ ginjal setelah pemberian selama 90 hari ditambah 28 hari apabila ada kelompok satelit.

Kelima, hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina *Rattus norvegicus* berumur 6-8 minggu dengan berat badan 120-200 gram.

C. Bahan dan alat

1. Bahan

1.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah biji tanaman mahoni (*Swietenia macrophylla* King.) yang diperoleh dari Pasar Gede Surakarta, Jawa Tengah.

1.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan adalah *xylene* sebagai pelarut dalam penentuan kadar air pada biji mahoni dan kadar air pada minyak biji mahoni. Identifikasi senyawa yang terkandung dalam minyak biji mahoni menggunakan alat GS-MS. Untuk pemeriksaan histopatologi organ ginjal, bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain larutan eosin, larutan dapar formalin 10%, larutan etanol 70 %, larutan etanol 80%, larutan etanol 90%, larutan etanol absolut, larutan *xylene*, CuSO₄, parafin, larutan hematoksilin Mayer, larutan eosin, dan aquadestilata.

Pemeriksaan biokimia klinis pada penetapan kadar BUN menggunakan pereaksi A (berisi 120 mM TRIS pH 7,8; 7 mM 2-oksoglutarat; 0,6 mM ADP; > 6 KU/I urease; > KU/I GLDH), Pereaksi B (berisi 0,25 mM NADH), dan standar nitrogen urea 50 mg/dL. Untuk pemeriksaan biokimia klinis pada penetapan kadar keratin menggunakan pereaksi uji terdiri dari campuran 4 bagian pereaksi A (berisi 0,16 M Natrium Hidroksida) dan bagian pereaksi B (berisi 4,0 mM asam pikrat), dan standar keratin 2 mg/dL.

2. Alat

Alat yang digunakan untuk membuat simplisia adalah pisau untuk mengupas biji mahoni, oven untuk mengeringkan biji mahoni, blender untuk membuat serbuk, press hidrolis untuk pengambilan minyak dari biji mahoni, kain mori untuk membungkus biji mahoni saat dipress, *sterling-bidwell* untuk penentuan kadar air serbuk biji mahoni dan kadar air pada minyak biji mahoni. Alat yang digunakan untuk penyaringan minyak biji mahoni setelah dipress adalah kertas saring, erlenmeyer, beaker glass, corong pisah, pipet tetes, dan batang pengaduk. Identifikasi kandungan senyawa minyak biji mahoni menggunakan GC-MS. Alat yang digunakan pada perlakuan hewan uji adalah kandang tikus, timbangan analitik, spuit injeksi, sonde, dan tempat minum tikus.

Alat yang digunakan untuk pengambilan darah hewan uji adalah jarum suntik, pipa kapiler, tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan kapas. Alat yang digunakan pada pemeriksaan biokimia klinis adalah spektrofotometer, penangas air, vortex, tabung reaksi ukuran 5 mL, pipet Eppendorf 20 μ L; 100 μ L; 1000 μ L, Tip Eppendorf kuning dan biru. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan histopatologi terhadap organ ginjal adalah pisau, botol dehidrasi, alat dehidrasi otomatis (*Tissue processor*), *Imbedding*, hot plate, *cold plate*, mikrotom, kaca objek, alat pewarna jaringan, mikroskop binokuler, objek glass, dan degglass.

3. Hewan Percobaan

Hewan percobaan. hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina *Rattus norvegicus* berumur 6-8 minggu dengan berat badan 120-200 gram. Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 100 ekor dan dikelompokkan kedalam 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok berjumlah 20 ekor (10 ekor jantan dan 10 ekor betina).

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi simplisia

Tahap pertama dari penelitian ini adalah melakukan identifikasi simplisia yang digunakan yaitu minyak biji mahoni. Identifikasi bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian ini terhadap kepustakaan. Identifikasi ini dilakukan di unit Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

2. Pembuatan minyak biji mahoni

Biji mahoni sebanyak 10 kg dikupas dan diperoleh biji mahoni yang berwarna putih dikeringkan dengan oven selama \pm 4 hari pada suhu 40°C. Masukkan biji yang telah dikeringkan dan dibungkus dengan kain mori ke dalam rangkaian alat pengepresan hidrolis. Hasil yang diperoleh ditampung dalam beaker glass dan kemudian disaring dengan kertas saring.

3. Identifikasi kandungan kimia minyak biji mahoni

Identifikasi kandungan kimia minyak biji mahoni dilakukan dengan tujuan mengetahui senyawa-senyawa kimia yang terkandung di dalam minyak biji mahoni. Identifikasi minyak biji mahoni ini dilakukan dengan analisis GC-MS.

4. Penetapan kadar air minyak biji mahoni

Penetapan kadar air dalam minyak biji mahoni dilakukan dengan menggunakan alat *sterling bidwell*, yaitu 20 ml minyak biji mahoni dan dicampur dengan *xylene* sebanyak 50 ml kemudian ditunggu selama kurang lebih 5 menit. Penetapan Kadar air ini dilakukan di unit Laboratorium Fitokimia, Universitas Setia Budi.

5. Perlakuan hewan uji

Hewan uji dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta. Tiap tikus ditimbang dan diberikan tanda pengenal, 100 ekor hewan uji secara acak dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terbagi atas 20 ekor (10 ekor jantan 10 ekor betina), tikus diadaptasikan selama 7 hari sebelum perlakuan. Volume maksimal larutan uji yang dapat diberikan secara oral pada hewan uji adalah 5 ml. Perlakuan hewan uji pada penelitian ini sebagai berikut :

Kelompok 1 : kontrol negatif (-) diberi aquadestilata.

Kelompok 2 : kontrol perlakuan dosis rendah 300 mg/KgBB

Kelompok 3 : kontrol perlakuan dosis sedang 600 mg/KgBB

Kelompok 4 : kontrol perlakuan dosis tinggi 900 mg/KgBB

Kelompok 5 : kontrol satelit dosis tinggi 900 mg/KgBB

Pengujian toksisitas subkronik minyak biji mahoni dilakukan selama 90 hari dan dilanjutkan 28 hari untuk proses reversible pada kelompok satelit.

6. Pengamatan gejala toksik dan gejala klinik

Pengamatan dilakukan terhadap adanya gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekskresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misalnya berjalan mundur), kejang dsb, dilakukan setiap hari selama 90 hari, sedangkan untuk kelompok satelit

pengamatan dilanjutkan selama 28 hari kemudian untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali dari pengaruh toksik (BPOM 2014).

Tabel 1. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ badan beserta sistem urat syaraf (Harmita dan Radji 2005).

System	Tanda-tanda keracunan
Syaraf otonom	<i>Exophthalmus</i> (mata memerah), hidung berlendir, liur keluar, mencret, sering kencing, piloereksi dan <i>relaxed nictating membrane</i>
Prilaku	Kurang tenang, gelisah, posisi kepala mendongak, kepala menunduk, depresi berat, kaki menggaruk-garuk, terengah-engah, mudah terganggu, agresif maupun defensive, ketakutan, bingung, aktivitas aneh.
Perasa/sensory	<i>Sensitive</i> terhadap rasa sakit, <i>righting</i> , kornea labirin (rongga telinga) refleks setempat dan kaki belakang, <i>sensitive</i> terhadap suara dan sentuhan, <i>nistagmus</i> , <i>ponation</i> .
Syaraf otot	Aktivitas meningkat atau menurun, <i>fasciculstion</i> , gemetar, kejang-kejang, tidak bisa digerakkan, <i>prostration</i> , ekor membengkok ke bawah muka, kaki belakang lemah, reflek jelek <i>ophisthotonus</i> , kedutan, kematian.
Urat darah jantung	Detak jantung naik atau turun, sianosis, penyumbatan/ gangguan urat darah jantung, pelebaran urat darah jantung, pendarahan.
Respiratory/pernapasan	<i>Hypopnea</i> , <i>dyspnea</i> , megap-megap, apnea
Ocular/mata	Midriasis, miosis, lakrimasi, ptosis, nistagmus, siklopledia, <i>pupillary light reflek</i> .
Gastrointestinal/gastrourinary	Air liur keluar terus, mencret, kotoran dan air seni berdarah, sembelit, <i>rhinorrhea</i> , kencing dan buang air besar tidak terkontrol.
Cutaneus/kulit	Alopesia, piloereksi, gemetar seperti anjing, eritema, edema, nekrosis (bercak-bercak), bengkak.

Tabel 2. Kriteria hasil pengamatan gejala toksik (Jati 2016)

Pengamatan	Hasil pengamatan	
	Negatif	Positif
Kulit	Tidak mengelupas	Mengelupas
Bulu	Warna putih, bulu tidur	Warna kuning, bulu berdiri
Reflek mata	Mata tertutup jika bulu ayam didekatkan kematanya.	Mata tidak tertutup jika bulu ayam didekatkan kematanya.
Pupil mata	Terlihat warna putih dan hitamnya	Putih saja atau hitam saja
Lakrimasi	Tidak terdapat cairan mata yang keluar	Terdapat cairan mata yang keluar
Salivasi	Tidak terdapat saliva yang keluar	Terdapat saliva yang keluar
BAB, Urinasi	Warna dan intensitas normal	Warna dan intensitas upnormal
Ekor	Gerak normal keatas	Hanya kebawah
Cara jalan	Kaki Nampak normal	Kaki tidak ampak dengan normal

7. Monitoring berat badan dan konsumsi pakan

Monitoring kenaikan berat badan dilakukan seminggu dua kali. Pemberian jumlah makanan yang dikonsumsi ditimbang dua hari sekali.

8. Pengambilan darah

Pengambilan darah dilakukan pada awal pengujian (T0), pada hari ke 30 (T1), hari ke 60 (T2), hari ke 90 (T3), dan hari ke 120 (T4) untuk kelompok satelit. Darah diambil dari vena yang ada di ekor hewan uji sebanyak 3–5 mL, satu alat suntik digunakan untuk satu hewan. Darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung pemusing/tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke tube dan tidak boleh kurang dari 20 menit dan segera dipusingkan/disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

9. Pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN)

Pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dilakukan pada awal pengujian (T0), pada hari ke 30 (T1), hari ke 60 (T2), hari ke 90 (T3), dan hari ke 120 (T4) untuk kelompok satelit. Sejumlah 10 μL serum uji direaksikan dengan 1000 μL pereaksi uji untuk pemeriksaan nitrogen urea dalam tabung reaksi 5 mL, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Absorbansi diukur dengan fotometer pada suhu 37°C tepat pada detik ke-30 pada panjang gelombang 340 nm sebagai (A1), kemudian absorbansi diukur lagi tepat pada detik ke-60 sebagai (A2). Hal yang sama dilakukan terhadap blangko (pereaksi + aquades) dan standar (pereaksi + standar nitrogen urea). Kadar nitrogen urea dapat dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dengan absorbansi nitrogen urea standar yang dikalikan dengan konsentrasi nitrogen urea standar.

10. Pemeriksaan kadar serum kreatinin

Pemeriksaan kadar kreatinin dilakukan pada awal pengujian (T0), pada hari ke 30 (T1), hari ke 60 (T2), hari ke 90 (T3), dan hari ke 120 (T4) untuk kelompok satelit. Sejumlah 50 μL serum uji direaksikan dengan 1000 μL pereaksi uji untuk pemeriksaan kreatinin dalam tabung reaksi 5 mL, dihomogenkan dengan

bantuan vortex. Absorbansi diukur dengan fotometer pada suhu 37⁰C tepat setelah 60 detik pada panjang gelombang 492 nm (A1), diukur lagi absorbansi tepat setelah 120 detik (A2). Hal yang sama dilakukan terhadap blangko (pereaksi + aquades) dan standar (pereaksi + standar kreatinin). Kadar kreatinin dapat dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dengan absorbansi kreatinin standar yang dikalikan dengan konsentrasi kreatinin standar.

11. Penimbangan organ dan penetapan rata-rata berat organ relatif

Hewan yang telah dikorbankan organ diambil dan akan ditimbang (bobot absolut) harus dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang, sedangkan yang dianalisis adalah bobot relatif, yaitu bobot organ absolut dibagi bobot badan.

12. Pemeriksaan makropatologi organ ginjal

Hewan yang telah dikorbankan harus segera diotopsi dan dilakukan pengamatan secara makropatologi secara seksama untuk setiap organ.

13. Pemeriksaan histopatologi organ ginjal

Organ ginjal direndam di dalam larutan dapar formalin 10% dan harus sering digoyang. Kemudian dilakukan pemotongan kasar pada organ ginjal dan fiksasi kedua dilakukan minimal selama 3 hari. 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.

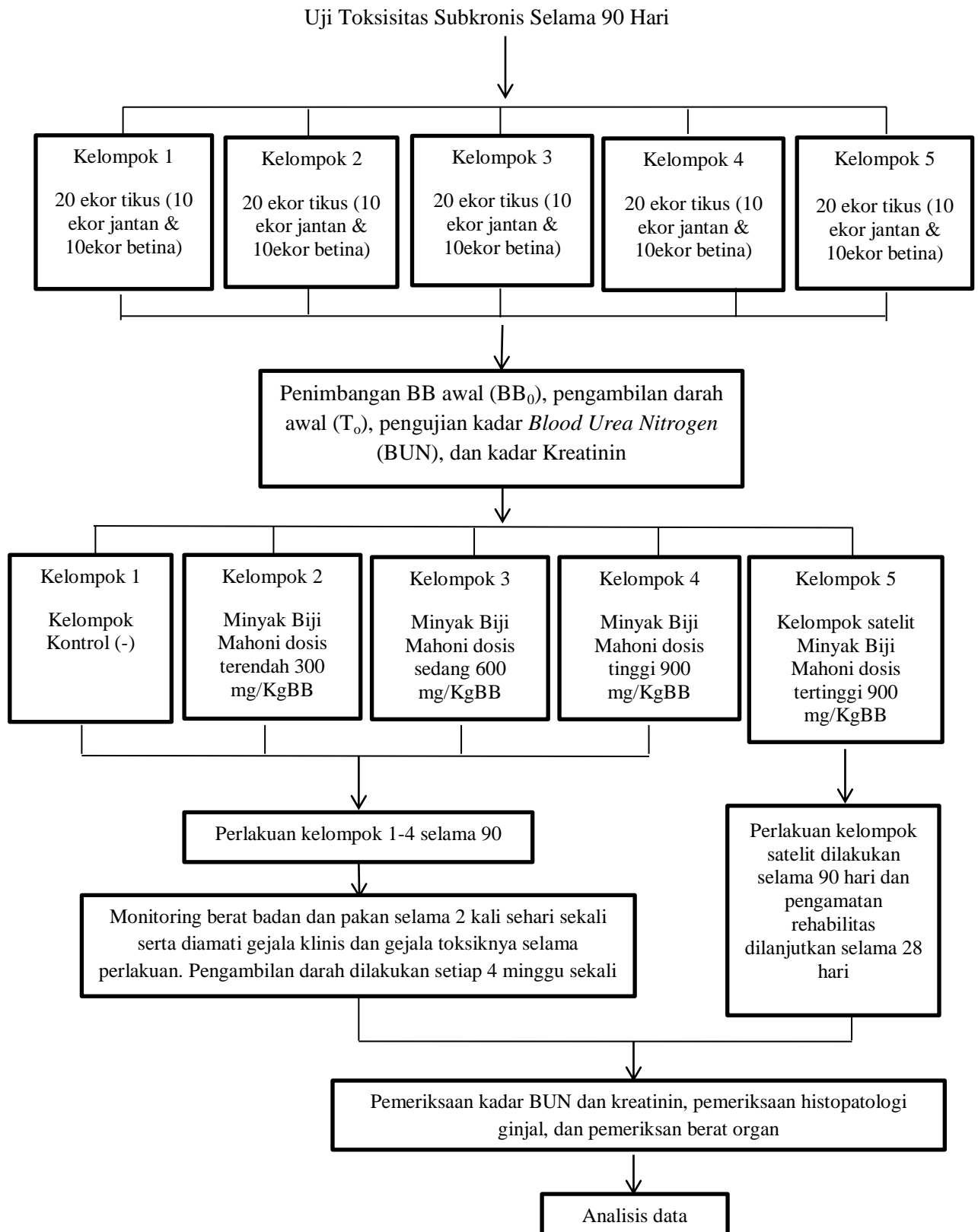
Proses dehidrasi dilakukan menggunakan alat dehidrasi otomatis, selanjutnya dilakukan proses pembersihan organ ginjal dengan perendaman didalam parafin cair dibejana dengan suhu 56-58⁰C pada lemari pemanas. Pembuatan sediaan blok dengan cawan porselin yang dipanaskan diatas api bunsen, ke dalam cawan dituangkan parafin cair dan dimasukkan organ ginjal, kemudian dibiarkan membeku dan blok parafin dipotong. Potongan-potongan organ ginjal yang berada dalam blok parafin dan dilekatkan pada blok kayu, lalu dipotong menjadi sayatan tipis menggunakan mikrotom, sayatan organ ginjal yang telah menempel pada kaca objek segera diletakkan pada permukaan pemanas dengan suhu 56-58⁰C selama kurang lebih 10 detik sehingga organ meregang dan

menempel pada kaca objek sambil diatur agar organ tidak berkerut atau melipat, kemudian preparat organ ginjal disimpan dalam suhu kamar ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) untuk dilakukan pewarnaan (BPOM 2014).

Gambaran histopatologi ginjal tikus wistar dilakukan pengecetan dengan hematoksilin eosin dan diamati kerusakan pada organ ginjal. Pengukuran derajat kerusakan pada organ ginjal dilihat dengan adanya penyempitan pada jaringan di organ ginjal, adanya nekrosis dan adanya healin cast. Pewarnaan pada organ ginjal untuk mewarnai intisel dan sitoplasma dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut: pertama-tama bejana 1 dan 2 masing-masing diisi dengan xylene 100%, bejana 3 dan 4 dengan etanol absolut, bejana 5 dengan etanol 90%, bejana 6 dengan etanol 80% dan bejana 7 dengan etanol 70% selanjutnya sediaan histopatologi diletakkan dalam keranjang khusus, lalu mesin dihidupkan dan sediaan pertama-tama direndam didalam bejana 1 dan 2 untuk proses deparafinasi masing-masing selama 12 menit sambil digoyang, lalu 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 xylene 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 (BPOM 2014).

E. Analisis Data

Data diperoleh dari pengamatan terhadap perubahan berat badan, konsumsi pakan, gejala klinis, kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN), kadar kreatinin, histopatologi organ ginjal pada akhir pengujian, berat organ, serta berat organ relatif ginjal, selanjutnya data yang diperoleh diuji dengan parameter distribusi dan homogenitas variannya menggunakan taraf kepercayaan 95 %. Jika data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) pada tiap variasinya maka dilakukan uji parametik, sedangkan jika data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen ($p < 0,005$) maka dilakukan uji non-parametik. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan statistik SPSS 21.



Gambar 2. Skema uji toksisitas subkronik minyak biji mahoni *Swietenia macrophylla* King.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil identifikasi simplisia

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman mahoni yang telah diidentifikasi di unit Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Surat Keterangan identifikasi simplisia yang dikeluarkan dengan No.: UGM/FA/0092/M/03/02 menerangkan bahwa sampel ini adalah tanaman biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) suku Maliceae. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran I.

2. Hasil pengambilan sampel, pengeringan, pembuatan minyak, dan perhitungan berat jenis

2.1 Pengambilan sampel. Pengambilan sampel biji mahoni diperoleh dari Pasar Gede, Surakarta pada bulan Agustus 2016 sebanyak 5 kg. Sampel yang digunakan adalah biji mahoni yang sudah kering, tua yaitu warna biji hitam kecoklatan, dan kondisi yang baik. Biji mahoni dapat dilihat pada lampiran 2.

2.2 Pengeringan sampel. Biji mahoni yang telah dikupas dan diperoleh berat 3700 gram dikeringkan menggunakan oven yang dimaksudkan untuk, mencegah timbulnya kuman, kapang dan kamir yang dapat menyebabkan pembusukan serta mencegah terjadinya perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu dan khasiat biji mahoni. Diperoleh berat kering 3600 gram. Pengeringan sampel dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 3. Hasil persentasi rendemen biji mahoni

Berat biji basah (gram)	Berat biji kering (gram)	Rendemen (%)
5000	3600	70 %

Tabel 3 menunjukkan persentase rendemen biji mahoni sebesar 70 %. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 4.

2.3 Hasil pembuatan minyak biji mahoni. Pembuatan minyak biji mahoni dari berat awal sebanyak 5000 gram setelah dikupas diperoleh biji kering sebesar 3600 gram. Biji mahoni kering sebanyak 3500 gram dipress. Hasil pembuatan minyak biji mahoni dapat dilihat pada table 4.

Tabel 4. Hasil persentase pengepresan biji mahoni

Berat biji berkulit (gram)	Berat biji kering (gram)	Volume minyak biji mahoni (mL)	Rendemen (%)
5000	3500	1200	34,28 %

Tabel 4 menunjukkan persentase rendemen dari minyak biji mahoni sebesar 34,28 % perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

3. Penetapan berat jenis sampel

Minyak biji mahoni yang diperoleh ditentukan berat jenisnya untuk menentukan dosis pemberian pada hewan uji. Penentuan berat jenis dengan menggunakan piknometer dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Tabel 5. Hasil Penetapan Berat jenis minyak biji mahoni

Replikasi	Berat Jenis Minyak
1	0,924
2	0,924
3	0,924
Rata-rata ± SD	0,924 ± 0,046

Tabel 5 menunjukkan hasil rata-rata berat jenis minyak biji mahoni adalah 0,924. Pada penelitian sebelumnya oleh Madjid (2004) berat jenis minyak biji mahoni adalah 0,9334 dan menurut Mohammed (2014) berat jenis minyak biji mahoni adalah 0,9432 dan 0,9543. Perhitungan berat jenis terlampir pada lampiran 6.

4. Hasil penetapan kadar air minyak biji mahoni

Minyak biji mahoni dilakukan penetapan kadar air dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Penetapan kadar air ini dimaksudkan agar mutu dan khasiat minyak tetap terjaga dan untuk mengetahui kelayakan sampel dalam pengujian. Cairan pembawa yang digunakan adalah *xylene* karena *xylene* memiliki titik didih

yang lebih besar dari air serta tidak bercampur dengan air. Hasil penetapan kadar air minyak biji mahoni dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Penetapan kadar air pada minyak biji mahoni

Bobot Sampel (ml)	Volume di skala (mL)	Kadar air (%)
20	0,20	1,00
20	0,05	0,25
20	0,10	0,50
Rata-rata (%) \pm SD		0,583 \pm 0,38

Dari tabel 6 menunjukkan bahwa rata-rata kadar air dalam minyak biji mahoni sebesar 0,583 %. Perhitungan hasil penetapan kadar air pada minyak biji mahoni pada lampiran 7.

5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia minyak biji mahoni

Minyak mahoni yang digunakan diidentifikasi untuk mengetahui senyawa yang terkandung di dalamnya. Identifikasi kandungan kimia dilakukan di unit Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Minyak biji mahoni diidentifikasi dengan GC-MS. Minyak mahoni merupakan senyawa yang tidak volatil sehingga untuk mengetahui kandungan asam lemak di dalamnya dilakukan reaksi esterifikasi. Hasil identifikasi menunjukkan minyak biji mahoni mengandung asam lemak dalam bentuk ester. Hasil dapat dilihat pada tabel 7. Surat identifikasi pada lampiran 8.

Tabel 7. Hasil analisis senyawa kimia minyak biji mahoni

No.	Asam lemak dalam bentuk Ester	Persentase relatif (%) pada sampel
1	Palmitic Acid	16,47
2	Linolelaidate Acid	38,34
3	10-Octadecanoid Acid	27,28
4	Stearic Acid	13,85
5	Oleic Acid	2,56
6	Arachidic Acid	1,49

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Madji *et al* (2004), minyak biji mahoni mengandung *myristic acid* 0,56 %, *palmitic acid* 52,01 %, *stearic acid* 36,01 %, *oleic acid* 0,88 %, dan *arachidic acid* 9,12 %.

6. Hasil uji toksisitas subkronis minyak biji mahoni

6.1 Persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina dari galur wistar (*Rattus norvegicus*) sebanyak 100 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta pada bulan Agustus 2016. Surat hewan uji dapat dilihat pada lampiran 9.

6.2 Perhitungan dosis. Dosis yang digunakan berdasarkan dosis efektif ekstrak biji mahoni sebagai antidiabetes yaitu 300 mg/kgBB. Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah dosis rendah 300 mg/kgBB, dosis sedang 600 mg/kgBB, dan dosis tinggi 900 mg/kgBB, sedangkan untuk kelompok kontrol diberikan aquadestilata. Pemberian sediaan kepada hewan uji berdasarkan berat badan hewan uji. Perhitungan dosis terdapat pada lampiran 10.

6.3 Pengamatan berat badan dan konsumsi pakan. Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan setiap 2 kali seminggu untuk melihat mengetahui adanya perubahan berat badan antara sebelum dan sesudah pemberian sediaan minyak biji mahoni. Rata –rata berat badan hewan uji jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 8.

Konsumsi pakan hewan uji diberikan 2 kali dalam sehari, setiap kandang diberi pakan sebanyak 25 gr, karena di dalam kandang terdapat lebih dari satu hewan uji maka tidak dapat ditentukan jumlah konsumsi pakan setiap hewan uji. Sebaiknya untuk penelitian yang sejenis hewan uji dapat ditempatkan dalam kandang secara individu sehingga dapat diketahui jumlah konsumsi pakan tiap hewan uji.

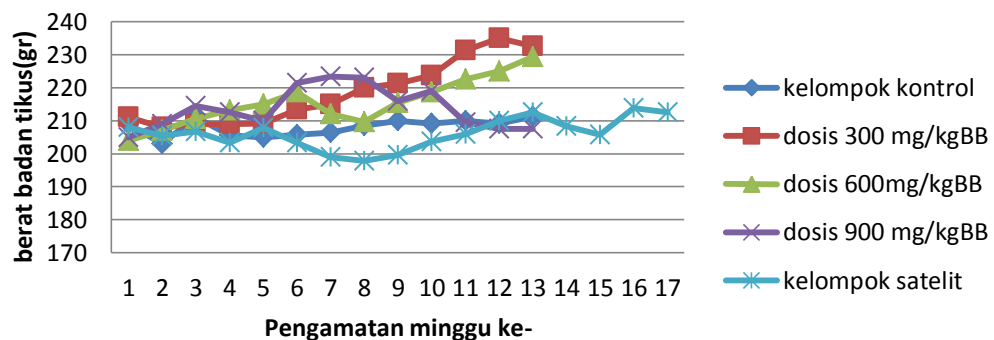
Tabel 8. Hasil rat-rata berat badan tikus

Jenis Hewan	Kelompok Perlakuan	Rata-rata Berat Badan (gram) \pm SD																
		Minggu ke-																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Jantan	Kelompok Kontrol	209	203	211,11	205,5	205	206,25	205,75	208,57	209,17	210	209,17	212,17					
		$\pm 7,37$	$\pm 4,83$	$\pm 6,00$	$\pm 5,27$	$\pm 4,62$	$\pm 3,53$	$\pm 7,68$	$\pm 12,1$	$\pm 6,64$	$\pm 7,74$	$\pm 5,84$	$\pm 5,11$					
	Kelompok 300 mg/KgBB	211	208	209	209	209,17	210,83	215	220	223,75	231,25	235	232,5					
		$\pm 7,37$	$\pm 7,88$	$\pm 5,16$	$\pm 5,16$	$\pm 6,64$	$\pm 29,22$	$\pm 36,74$	$\pm 37,19$	$\pm 41,30$	$\pm 40,07$	$\pm 43,77$	$\pm 45,55$					
	Kelompok 600 mg/KgBB	204	207	210,5	213,13	215	215,17	212,5	208,83	218,75	222,5	225	232					
		$\pm 8,43$	$\pm 6,74$	$\pm 7,68$	$\pm 12,22$	$\pm 13,78$	$\pm 17,90$	$\pm 23,39$	$\pm 20,93$	$\pm 34,24$	$\pm 31,75$	$\pm 37,19$	$\pm 45,59$					
Kelompok 900 mg/KgBB	205	209	214,4	212,5	210	221,4	223,3	223	217	210	207	207,5						
	$\pm 5,27$	$\pm 7,37$	$\pm 5,83$	$\pm 4,62$	$\pm 8,16$	$\pm 11,07$	$\pm 11,69$	$\pm 12,04$	$\pm 2,73$	$\pm 7,07$	$\pm 2,73$	$\pm 2,88$						
Kelompok Satelit	208	205,50	206,67	203,30	203	203,80	197,70	197,80	203,50	203,30	210	215	208,30	205,80	213,70	212,50		
	$\pm 7,88$	$\pm 6,85$	$\pm 7,07$	$\pm 5,00$	$\pm 5,00$	$\pm 11,93$	$\pm 13,71$	$\pm 15,63$	$\pm 4,75$	$\pm 2,58$	$\pm 3,16$	$\pm 7,07$	$\pm 4,08$	$\pm 4,92$	$\pm 6,29$	$\pm 9,57$		
betina	Kelompok Kontrol	202	208	211,10	206,60	205,60	209,70	210,70	212,80	206,40	202,80	209,10	210					
		$\pm 6,32$	$\pm 7,88$	$\pm 6,01$	$\pm 7,07$	$\pm 7,28$	$\pm 12,44$	$\pm 9,75$	$\pm 6,36$	$\pm 6,90$	$\pm 3,93$	$\pm 5,84$	$\pm 5,47$					
	Kelompok 300 mg/KgBB	209	209	221,40	211,10	200	199,10	206,10	210	208	205,40	205	217					
		$\pm 8,75$	$\pm 5,67$	$\pm 15,73$	$\pm 14,71$	$\pm 6,32$	$\pm 3,76$	$\pm 8,01$	$\pm 12,24$	$\pm 7,58$	$\pm 3,64$	$\pm 5,77$	$\pm 5,00$					
	Kelompok 600 mg/KgBB	203	206	210,60	208,50	207	212	207,40	203,40	210	205	210	210					
		$\pm 4,83$	$\pm 6,99$	$\pm 8,63$	$\pm 6,90$	$\pm 7,55$	$\pm 10,09$	$\pm 5,59$	$\pm 3,20$	$\pm 4,08$	$\pm 4,08$	$\pm 7,07$	$\pm 4,08$					
Kelompok 900 mg/KgBB	203	207	212,50	220	230	230	232,5	233,7	231,6	236,6	235	238,6						
	$\pm 6,74$	$\pm 6,74$	$\pm 8,86$	$\pm 14,14$	$\pm 20,00$	$\pm 14,71$	$\pm 18,92$	$\pm 17,01$	$\pm 33,29$	$\pm 35,00$	$\pm 36,17$	$\pm 20,61$						
Kelompok Satelit	205	207	210	207,70	215	210,80	208	206	204,20	202,80	209,50	207,70	210,30	209	217,50	215		
	$\pm 5,27$	$\pm 4,83$	$\pm 5,00$	$\pm 6,67$	$\pm 11,95$	$\pm 12,14$	$\pm 9,53$	$\pm 11,37$	$\pm 5,52$	$\pm 6,36$	$\pm 4,23$	$\pm 3,19$	$\pm 11,07$	$\pm 6,64$	$\pm 7,58$	$\pm 9,35$		

Data diperoleh dari Astuty (2017)

Gambar 3 menunjukkan terjadi kenaikan berat badan dan penurunan berat badan hewan uji jantan pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, 900 mg/KgBB, dan kelompok satelit yang diberi dosis tinggi 900 mg/KgBB. Kelompok kontrol terjadi penurunan berat badan pada minggu ke dua dan minggu ke empat. Kelompok 300 mg/KgBB dan 600 mg/KgBB terjadi kenaikan pada minggu keenam hingga minggu terakhir. Kenaikan berat badan pada kelompok perlakuan 900 mg/KgBB terjadi pada minggu keenam sampai minggu kedelapan dan terjadi penurunan berat badan pada minggu kesembilan sampai minggu terakhir pengamatan. Kelompok satelit mengalami penurunan berat badan pada minggu keenam hingga selesai penelitian. Peningkatan dan penurunan berat badan tidak terlalu jauh antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Data dari pengamatan berat badan hewan uji yang diperoleh selama perlakuan kemudian dianalisis secara statistik, dilakukan uji *Univariate*. Hasil analisis menunjukkan hasil nilai signifikan 0.399 ($p > 0.05$), hasil analisis kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok, hasil menunjukkan kelompok perlakuan kontrol berbeda secara bermakna dengan kelompok dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB.

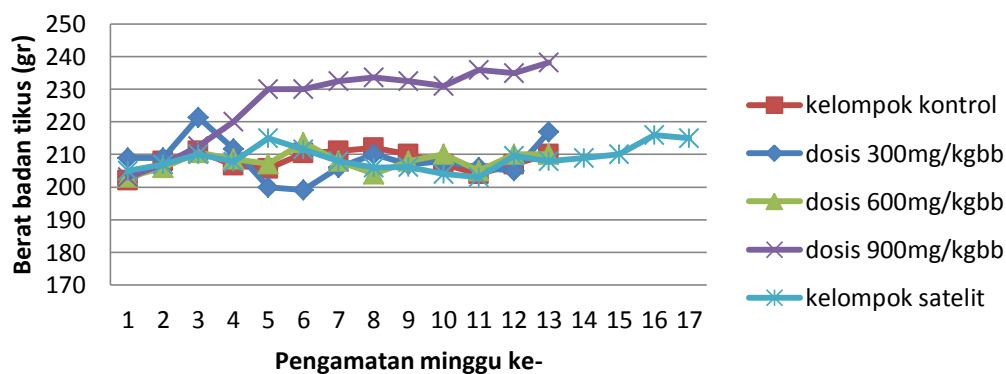


Gambar 3. Diagram berat badan tikus jantan.

Berdasarkan data penelitian yang dilakukan secara simultan oleh Astuty (2017) gambar 4 pada kelompok hewan uji betina terjadi kenaikan dan penurunan berat badan. Kelompok kontrol kenaikan berat badan terjadi pada minggu kedua, ketiga, keenam, kedelapan dan minggu kedua belas. Kelompok 300 mg/KgBB

mengalami penurunan pada minggu keempat, kelima, kesembilan, dan kesebelas. Kelompok 600 mg/KgBB terjadi penurunan pada minggu keempat, kelima, ketujuh serta minggu kesepuluh. Kelompok hewan uji betina 900 mg/KgBB yang mengalami peningkatan yang paling jelas walaupun pada minggu kelima, ke delapan, kesembilan, dan kesebelas terjadi penurunan. Kelompok satelit mengalami peningkatan paling nyata pada minggu kelima dan minggu keenam belas.

Data dari pengamatan berat badan hewan uji betina yang diperoleh selama perlakuan dianalisis secara statistik, dilakukan uji *Univariate*. Hasil analisis menunjukkan hasil nilai signifikan 0.000 ($p > 0.05$) pada berat badan tikus betina, sehingga menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna, hasil analisis dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey* yang menunjukkan kelompok perlakuan dosis 900 mg/kgBB berbeda secara nyata terhadap kelompok kontrol. Rentang kenaikan berat badan pada dosis tersebut terlalu jauh bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.



Gambar 4. Diagram berat badan tikus betina.

Berdasarkan hasil data analisis, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian sediaan minyak biji mahoni 300 mg/KgBB hingga dosis 900 mg/kgBB berpengaruh pada tikus jantan terdapat perbedaan secara bermakna antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dan terdapat perbedaan secara signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis 900 mg/kgBB pada tikus betina. Terjadinya kenaikan berat badan pada kelompok perlakuan mungkin disebabkan oleh pemberian sediaan uji minyak mahoni, secara

Mata merah terjadi akibat membesarnya pembuluh darah mata. Dari hasil pengamatan terhadap semua tikus selama pengamatan pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan menunjukkan persentase mata merah adalah 0 % yang berarti tidak terdapat kondisi mata merah yang dihasilkan setelah pemberian sediaan uji minyak biji mahoni.

Pengamatan lain pada sistem syaraf otonom adalah piloereksi. Piloereksi merupakan berdirinya bulu-bulu di bagian tubuh tikus yang disebabkan adanya reaksi sensitivitas terhadap sentuhan, aktivitas spontan karena stimulasi sistem saraf pusat atau ganglia atau neuromuscular. Persentasi terjadinya piloereksis pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil persentase timbulnya piloereksi pada hewan uji

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya piloereksi															
	Minggu ke-															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
JANTAN																
Kelompok Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 300 mg/KgBB	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 600 mg/KgBB	0	0	0	0	0	0	10	20	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 900 mg/KgBB	0	0	10	0	0	20	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok Satelit	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	0	0	0
BETINA																
Kelompok Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 300 mg/KgBB	0	0	0	0	10	0	20	10	10	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 600 mg/KgBB	0	0	0	10	20	20	10	10	0	20	20	0	0	0	0	0
Kelompok 900 mg/KgBB	0	0	0	0	20	10	0	10	0	10	0	0	0	0	0	0
Kelompok Satelit	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0

Pada tabel 10 piloereksi pada hewan uji kelompok kontrol jantan dan betina menunjukkan hasil 0 % artinya tidak terjadi piloereksi, sedangkan pada beberapa hewan uji jantan dan betina pada kelompok perlakuan terjadi piloereksi. Pada hewan uji jantan kelompok satelit yang mengalami piloereksi terbanyak

namun setelah pemberian sediaan dihentikan tidak terjadi lagi. Pada hewan uji betina kelompok 600 mg/KgBB piloereksi yang paling banyak terjadi. Namun, hal ini belum dapat dipastikan bahwa minyak biji mahoni dapat mempengaruhi sistem syaraf otonom terhadap hewan uji, karena dalam beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa biji mahoni tidak menyebabkan perubahan syaraf otonom.

6.4.2 Perubahan perilaku. Pengamatan terhadap perubahan perilaku meliputi sikap tubuh dan *grooming*. Perubahan sikap tubuh tikus berupa sikap yang bermusuhan (agresif). Tabel 11 menunjukkan persentase terjadinya perubahan sikap tubuh.

Tabel 11. Hasil persentase hewan perubahan sikap tubuh

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya perubahan sikap tubuh															
	Minggu ke-															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
JANTAN																
Kelompok Kontrol	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Kelompok 300 mg/KgBB	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Kelompok 600 mg/KgBB	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Kelompok 900 mg/KgBB	100	100	100	100	100	100	100	100	90	90	100	100	100	100	100	100
Kelompok Satelit	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	90	90	100	100	100	100
BETINA																
Kelompok Kontrol	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Kelompok 300 mg/KgBB	100	100	100	100	100	100	100	100	90	80	80	90	100	100	100	100
Kelompok 600 mg/KgBB	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	100	100	100	100	100	100
Kelompok 900 mg/KgBB	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	100	100	100	100	100	100
Kelompok Satelit	100	100	100	100	100	100	100	100	90	80	80	90	90	90	90	100

Data diperoleh dari Astuty (2017)

Berdasarkan penelitian Astuty yang dilakukan secara simultan (2017) pada kelompok kontrol tikus jantan maupun tikus betina menunjukkan nilai 100 % yang berarti tidak terjadi perubahan sikap. Namun, kelompok perlakuan hewan uji jantan kelompok satelit terdapat perubahan sikap tubuh sedangkan hewan uji

betina pada seluruh kelompok perlakuan menunjukkan adanya perubahan sikap. Belum dapat dipastikan bahwa minyak biji mahoni dengan dosis 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB mempengaruhi perubahan perilaku tikus pada kelompok jantan maupun kelompok betina. Pada penelitian Udem *et al* (2010) terhadap hepatoprotektif tanaman sejenis selama 12 minggu dengan dosis 250 mg dan 500 mg tidak menimbulkan perubahan perilaku pada hewan uji. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan dosis dengan penelitian sebelumnya sehingga diperoleh hasil yang berbeda .

Penelitian lain terhadap perubahan perilaku yaitu *grooming*. *Grooming* merupakan suatu kebiasaan yang wajar terjadi pada hewan, yaitu kebiasaan untuk membersihkan diri yang ditandai dengan menjilati tubuhnya. Apabila ada penurunan frekuensi *grooming* menunjukkan adanya penekanan sistem syaraf pusat atau simpatolitik, sedangkan bila terjadi peningkatan *grooming* menunjukkan adanya sifat stimulasi sistem saraf pusat dan atau saraf simpatolitik.

Tabel 12. Hasil persentase munculnya *grooming* pada tikus

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya <i>grooming</i> minggu ke-															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
JANTAN																
Kelompok Kontrol	100	100	100	90	100	90	90	100	90	100	100	100				
Kelompok 300 mg/KgBB	100	90	80	80	100	100	80	80	70	90	90	90				
Kelompok 600 mg/KgBB	100	100	60	70	60	80	80	90	80	80	80	90				
Kelompok 900 mg/KgBB	100	100	70	80	90	90	90	80	80	80	70	80				
Kelompok Satelit	100	90	90	80	80	90	80	80	90	80	80	70	90	80	90	90
BETINA																
Kelompok Kontrol	100	90	100	100	100	100	90	90	100	100	100	100				
Kelompok 300 mg/KgBB	100	80	90	100	90	90	90	100	80	90	90	90				
Kelompok 600 mg/KgBB	100	90	80	80	60	70	60	90	70	70	80	70				
Kelompok 900 mg/KgBB	90	80	80	70	80	70	70	70	70	80	80	90				
Kelompok Satelit	100	90	90	80	80	80	70	70	80	80	80	80	70	80	80	80

Data diperoleh dari Astuty (2017)

Tabel 12 menunjukkan hewan yang mengalami *grooming*. *Grooming* terjadi pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan pemberian minyak biji mahoni (Astuty 2017). Hasil 100% menunjukkan bahwa hewan uji tidak mengalami perubahan dalam pembersihan diri (normal). Pada beberapa hewan uji terjadi penurunan persentase, hal ini menunjukkan adanya perubahan perilaku atau kebiasaan pada hewan uji untuk membersihkan diri. Penelitian Saputri (2014) ekstrak biji mahoni bersifat depresan yang disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid, dimana flavonoid dapat mempengaruhi sistem syaraf pusat. Sebaiknya untuk penelitian sejenis pengamatan terhadap perubahan perilaku pada hewan uji diamati secara konsisten agar diperoleh data yang lebih baik.

6.4.3 Perubahan syaraf otot. Pengamatan terhadap syaraf otot berupa kejang dan kematian. Hasil persentasi terjadinya kejang pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil persentase terjadinya kejang pada tikus

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya kejang																
	Minggu ke-																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
JANTAN																	
Kelompok Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kelompok 300 mg/KgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kelompok 600 mg/KgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kelompok 900 mg/KgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kelompok Satelit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
BETINA																	
Kelompok Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kelompok 300 mg/KgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kelompok 600 mg/KgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kelompok 900 mg/KgBB	0	0	0	0	0	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kelompok Satelit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10

Pada kelompok kontrol tikus jantan maupun betina menunjukkan data 0 % yang berarti tidak terjadi kejang. Kejang terjadi pada kelompok perlakuan pada tikus betina kelompok 900 mg/KgBB dan kelompok satelit. Penelitian yang dilakukan oleh Wiriana (2015) minyak biji mahoni mengandung saponin. Saponin dapat menyebabkan terjadinya hipoglikemia akut sehingga suplai glukosa ke otak

berkurang dimana glukosa sebagai sumber energi bagi otak. Kekurangan ini menyebabkan gangguan di otak yang dapat menyebabkan kejang (Saputri 2014). Hal ini menunjukkan bahwa minyak biji mahoni dapat menstimulasi sistem saraf pusat sehingga menyebabkan kejang.

Tabel 14. Hasil persentase terjadinya kematian pada tikus

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya kematian															
	Minggu ke-															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
JANTAN																
Kelompok Kontrol	0	0	20	0	10	10	0	0	0	0	0	0				
Kelompok 300 mg/KgBB	0	30	10	0	0	10	10	0	0	0	0	0				
Kelompok 600 mg/KgBB	0	10	20	0	0	10	10	0	0	0	0	10				
Kelompok 900 mg/KgBB	0	0	0	30	0	10	0	0	0	10	10	10				
Kelompok Satelit	0	0	10	0	0	0	0	20	0	0	0	10	0	0	10	10
BETINA																
Kelompok Kontrol	0	10	10	10	0	0	0	0	0	0	10	0				
Kelompok 300 mg/KgBB	0	20	20	0	0	0	0	0	0	10	0	0				
Kelompok 600 mg/KgBB	0	20	10	0	0	10	10	0	0	10	0	0				
Kelompok 900 mg/KgBB	0	30	10	20	0	0	0	0	0	0	0	0				
Kelompok Satelit	0	10	10	0	0	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10

Pengamatan perubahan pada saraf otot yang lain adalah kematian pada hewan uji. Pada tabel 14 menunjukkan terjadinya kematian pada hewan uji. Pada kelompok perlakuan dosis dan kelompok kontrol negatif. Total persentase kematian adalah 54 %. Kematian pada hewan uji tidak dapat dipastikan disebabkan oleh kandungan senyawa dalam sediaan. Faktor lain yang menyebabkan kematian adalah akibat hewan yang agresif sehingga menyebabkan perkelahian antara hewan uji yang menimbulkan cedera dan kematian terbukti dengan adanya luka atau sisa bagian tubuh hewan yang mati. Sebaiknya hewan uji ditempatkan pada kandang secara individu sehingga gejala toksik lebih mudah untuk diamati. Penelitian lain uji toksisitas subkronis ekstrak etanol oleh Tasbicha (2016) pemberian sediaan ekstrak etanol biji mahoni tidak menyebabkan

kematian. Perbedaan hasil ini mungkin disebabkan karena perbedaan dosis yang diberikan pada hewan uji.

6.4.4 Perubahan gastrourinary dan gastrointestinal. Pengamatan terhadap gastrourinary berupa urinasi setelah pemberian sediaan uji terhadap hewan uji. Pengamatan dilakukan untuk melihat adanya gangguan pada saluran urinasi yang berhubungan dengan adanya gangguan di ginjal. Tabel 15 menunjukkan rata-rata volume urine hewan uji. Data urinasi dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 15. Hasil rata-rata volume urine tikus

Kelompok perlakuan	Rata-rata volume urine (ml) \pm SD		
	T1	T2	T3
JANTAN			
Kelompok Kontrol	5,12 \pm 2,00	4,27 \pm 0,96	4,27 \pm 0,96
Kelompok 300 mg/KgBB	7,80 \pm 4,68	4,75 \pm 3,48	8,62 \pm 5,93
Kelompok 600 mg/KgBB	7,75 \pm 4,34	8,07 \pm 3,74	7,75 \pm 3,86
Kelompok 900 mg/KgBB	5,25 \pm 3,20	7,15 \pm 3,29	5,00 \pm 1,41
Kelompok Satelit	6,57 \pm 4,31	4,97 \pm 2,85	7,05 \pm 3,88
BETINA			
Kelompok Kontrol	4,75 \pm 1,53	4,82 \pm 1,17	3,50 \pm 1,22
Kelompok 300 mg/KgBB	6,72 \pm 1,83	6,05 \pm 1,71	5,27 \pm 1,02
Kelompok 600 mg/KgBB	5,37 \pm 0,81	4,05 \pm 0,88	4,87 \pm 0,67
Kelompok 900 mg/KgBB	3,52 \pm 1,96	3,45 \pm 0,57	4,00 \pm 2,30
Kelompok Satelit	8,00 \pm 0,81	5,32 \pm 1,53	6,75 \pm 2,21

Keterangan :

T1 : Penampungan akhir minggu ke-4

T2 : Penampungan akhir minggu ke-8

T3 : Penampungan akhir minggu ke-12

Berdasarkan uji statistik terhadap volume urine dalam variabel waktu pada T1,T2,dan T3 yang diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* data terdistribusi normal $p > 0,05$. Data selanjutnya diuji dengan *one way Anova* menunjukkan nilai signifikan untuk kelompok hewan uji jantan T1 0,767 ($p > 0,05$), T2 0,350 ($p > 0,05$), dan T3 0,440 ($p > 0,05$) sedangkan nilai signifikan untuk kelompok hewan uji betina adalah T1 0,325 ($p > 0,05$), T2 0,071 ($p > 0,05$), dan T3 0,097 ($p > 0,05$) artinya tidak terdapat perbedaan secara bermakna antara kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan pada tikus jantan maupun betina. Hasil ini

menunjukkan bahwa pemberian minyak biji mahoni dengan dosis 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB tidak mempengaruhi uranasi hewan uji. Semua hewan uji baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan tidak mengalami gangguan saluran gastrourinary.

Gejala toksis pada gastrointestinal yang diamati adalah konsistensi feses yang dihasilkan. Defekasi menunjukkan adanya perubahan pada saluran pencernaan tikus. Feses hewan uji ditampung selama 24 jam. Tabel 16 menunjukkan hasil rata-rata berat feses setelah ditampung selama 24 jam.

Tabel 16. Hasil persentasi defekasi pada hewan uji

Kelompok perlakuan	Rata-rata berat feses (gram) \pm SD		
	T1	T2	T3
JANTAN			
Kelompok Kontrol	8,88 \pm 10,69	5,17 \pm 4,12	4,14 \pm 3,79
Kelompok 300 mg/KgBB	1,92 \pm 0,59	3,04 \pm 1,81	4,70 \pm 1,47
Kelompok 600 mg/KgBB	6,67 \pm 5,19	5,25 \pm 3,73	2,61 \pm 1,65
Kelompok 900 mg/KgBB	5,85 \pm 3,52	4,51 \pm 1,00	6,62 \pm 1,75
Kelompok Satelit	7,30 \pm 4,29	4,24 \pm 2,12	5,32 \pm 3,17
BETINA			
Kelompok Kontrol	3,73 \pm 1,66	3,16 \pm 2,16	2,59 \pm 1,31
Kelompok 300 mg/KgBB	3,17 \pm 2,10	3,85 \pm 1,95	5,71 \pm 4,23
Kelompok 600 mg/KgBB	3,79 \pm 1,80	4,54 \pm 2,47	4,93 \pm 0,50
Kelompok 900 mg/KgBB	5,73 \pm 3,19	2,53 \pm 1,68	5,49 \pm 3,58
Kelompok Satelit	8,00 \pm 0,81	5,87 \pm 2,01	6,75 \pm 2,21

Keterangan :

T1 : Pengambilan pertama minggu keempat

T2 : Pengambilan kedua minggu kedelapan

T3 : Pengambilan ketiga minggu kedua belas

Hasil uji statistik terhadap gejala toksik pada gastrointestinal terhadap defekasi hewan uji yang dilakukan dengan pengujian terhadap variabel waktu. Analisis statistik pada hewan uji jantan dan betina diawali dengan uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* dan diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$).

Sensitivitas yang diuji dengan pensil diberi sentuhan dibelakang telinga menyebabkan pergerakan pada hewan uji, reaksi ini disebut sensitivitas. Persentase sensitivitas terhadap sentuhan pada hewan uji kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan adalah 100 %, angka ini menunjukkan bahwa seluruh hewan uji sensitif terhadap sentuhan. Hal ini berarti pemberian sediaan minyak biji mahoni tidak mempengaruhi perasa/sensori pada hewan uji.

6.4.6 Pengamatan edema. Edema adalah akumulasi cairan di dalam jaringan yang menyebabkan pembengkakan. Terjadinya edema pada hewan uji pada tabel 18. Edema merupakan salah satu gejala toksik akibat terganggunya penyerapan air sehingga menimbulkan pembengkakan.

Tabel 18. Hasil Persentase edema pada hewan uji

Kelompok Perlakuan	Persentase (%) terjadinya edema															
	Minggu ke-															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
JANTAN																
Kelompok Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 300mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 600mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 900mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok Satelit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BETINA																
Kelompok Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 300mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 600mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok 900mg/kgbb	0	0	50	50	30	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
Kelompok Satelit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Kelompok kontrol hewan uji jantan pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan tidak terjadi edema. Kelompok hewan uji betina pada kelompok kontrol tidak terjadi edema sedangkan pada kelompok perlakuan dosis 900 mg/KgBB terjadi edema yang ditandai dengan adanya pembengkakan pada tangan dan kaki tikus yang terjadi pada minggu ketiga hingga minggu kelima. Terdapat hewan yang mati dan ada juga hewan yang mengalami pemulihan sendiri (Astuty 2017).

6.5 Hasil pemeriksaan BUN dan Creatinin. Urea didalam darah/BUN direabsorbsi kedalam medula ginjal dan diekskresi melalui urine. Kadar BUN menunjukkan adanya keseimbangan antara pembentukan urea dan katabolisme protein serta ekskresi urea oleh ginjal. Uji kadar kreatinin dilakukan untuk mengetahui tingkat fungsi renal yang apabila fungsi renal berkurang maka kadar kreatinin dalam darah akan meningkat. Kadar normal BUN adalah 11-28 mg/dL, sedangkan nilai normal kadar kreatinin 0,5-1,1 mg/dL (Rahmawati 2016).

Kadar BUN maupun kreatinin pada awal pengambilan tidak berada pada rentang normal maka perhitungan kadar BUN dan kreatinin tidak merujuk pada nilai normal, melainkan pada kadar BUN dan kreatinin sebelum perlakuan. Analisis dilihat dari variabel waktu. Pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Universitas Setia Budi Surakarta. Data pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin dapat dilihat pada lampiran 12. Rata-rata kadar BUN disajikan pada tabel 19.

Tabel 19. Hasil rata-rata kadar BUN pada tikus

Kelompok Perlakuan	Kadar BUN \pm SD				
	T0	T1	T2	T3	T4
JANTAN					
Kelompok Kontrol	64,80 \pm 8,95	55,37 \pm 12,99	53,16 \pm 6,91	83,50 \pm 12,38	
Kelompok 300 mg/KgBB	68,90 \pm 8,79	56,50 \pm 17,21	68,80 \pm 9,31	73,75 \pm 11,58	
Kelompok 600 mg/KgBB	54,60 \pm 12,98	64,16 \pm 37,24	62,40 \pm 8,20	57,50 \pm 6,45	
Kelompok 900 mg/KgBB	53,10 \pm 13,44	53,57 \pm 31,80	55,50 \pm 12,73	57,75 \pm 9,17	
Kelompok Satelit	47,60 \pm 8,70	33,44 \pm 21,21	61,57 \pm 15,44	79,33 \pm 17,61	81,75 \pm 8,99
BETINA					
Kelompok Kontrol	62,40 \pm 7,53	48,14 \pm 31,89	51,28 \pm 9,89	63,50 \pm 15,02	
Kelompok 300 mg/KgBB	59,90 \pm 13,67	52,50 \pm 21,22	58,80 \pm 4,43	74,00 \pm 20,59	
Kelompok 600 mg/KgBB	43,00 \pm 6,78	57,28 \pm 30,20	69,00 \pm 5,14	60,50 \pm 15,80	
Kelompok 900 mg/KgBB	51,70 \pm 16,94	68,50 \pm 33,48	52,33 \pm 16,50	52,33 \pm 16,50	
Kelompok Satelit	52,30 \pm 12,01	44,77 \pm 27,66	71,62 \pm 8,81	71,83 \pm 17,90	100,20 \pm 3,76

Tabel 20. Hasil rata-rata selisih kadar BUN pada tikus

Kelompok perlakuan	Rata-rata selisih kadar BUN \pm SD			
	$\Delta T1$	$\Delta T2$	$\Delta T3$	$\Delta T4$
JANTAN				
Kelompok Kontrol	-10,12 \pm 13,78	-12,16 \pm 8,68	18,16 \pm 13,68	
Kelompok 300 mg/KgBB	-9,16 \pm 15,40	2,20 \pm 8,84	9,00 \pm 22,04	
Kelompok 600 mg/KgBB	3,83 \pm 31,63	3,80 \pm 17,88	4,00 \pm 10,81	
Kelompok 900 mg/KgBB	5,14 \pm 39,21	5,50 \pm 14,96	6,00 \pm 17,94	
Kelompok Satelit	-14 \pm 26,76	12,42 \pm 21,01	5,32 \pm 3,17	32,50 \pm 9,39
BETINA				
Kelompok Kontrol	-13,14 \pm 29,33	-10,00 \pm 7,18	2,33 \pm 15,26	
Kelompok 300 mg/KgBB	-9,83 \pm 10,22	-3,20 \pm 13,88	4,00 \pm 10,81	
Kelompok 600 mg/KgBB	15,42 \pm 28,44	28,60* \pm 7,79	19,50 \pm 16,34	
Kelompok 900 mg/KgBB	17,50 \pm 54,72	-5,00 \pm 39,84	30,67 \pm 23,75	
Kelompok Satelit	9,00 \pm 31,94	17,00* \pm 15,91	18,33 \pm 17,60	23,45* \pm 27,76

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol

$\Delta T1$: Selisih kadar BUN T1 dan T0

$\Delta T2$: Selisih kadar BUN T2 dan T0

$\Delta T3$: Selisih kadar BUN T3 dan T0

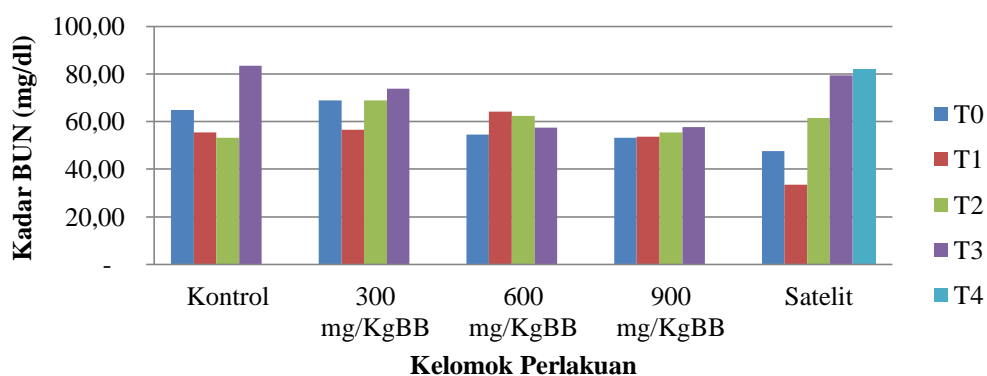
$\Delta T4$: Selisih kadar kreatinin T4 dan T0

Hasil rata selisih kadar BUN dan kreatinin diuji secara statistik. Uji statistik menggunakan *Kolmogorov-smirnov* apabila terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji parametik *one way Anova* dan bila terdapat perbedaan secara bermakna diuji dengan *LSD*. Apabila data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji non-parametik dengan uji *Kruskal-walis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji statistik pada lampiran 14.

Berdasarkan histogram pada gambar 5 kadar BUN pada kelompok jantan terlihat kadar BUN pada masing-masing kelompok mengalami penurunan dan peningkatan pada tiap-tiap waktu. Analisis kadar BUN pada kelompok hewan uji jantan dilakukan terhadap rata-rata selisih kadar BUN dalam variabel waktu (tabel 20). Kelompok kontrol tikus jantan pada T1 (T₃₀) dan T2 (T₆₀) terjadi penurunan kadar BUN sedangkan T3 (T₉₀) terjadi peningkatan. Pada kelompok perlakuan yang diberi dosis 300 mg/KgBB T1 (T₃₀) kadar BUN menurun, namun terjadi

peningkatan kadar BUN pada T2 (T₆₀) dan T3 (T₉₀). Kelompok perlakuan yang diberi dosis 600 mg/KgBB T1 (T₃₀) kadar BUN terjadi peningkatan, sedangkan kadar BUN pada T2 (T₆₀) dan T3 (T₉₀) mengalami penurunan. Kelompok perlakuan yang diberi dosis 900 mg/KgBB dari T1 (T₃₀) hingga T3 (T₉₀) mengalami peningkatan. Pemeriksaan dilanjutkan hingga T4 (T₁₂₀) khusus untuk kelompok satelit, dimana pada T1 (T₃₀) kadar BUN menurun dan terjadi peningkatan kadar BUN pada T2 (T₆₀) dan T4 (T₁₂₀).

Awal analisis pada $\Delta T1$ dengan *Kolmogorov-Smirnov* data terdistribusi normal $0,833 > 0,05$ dilanjutkan analisis dengan *one way Anova* nilai signifikan $0,557 (p > 0,05)$ sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Data saat $\Delta T2$ menunjukkan hasil analisis data terdistribusi normal $p > 0,05$ dan uji homogenitas $0,141 (p > 0,05)$ sehingga dilanjutkan dengan uji *one way Anova* nilai $0,107 (p > 0,05)$ ini artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan. Pemeriksaan $\Delta T3$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang berbeda secara nyata antara kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan dimana dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* data terdistribusi normal $0,728 (p > 0,05)$ dilanjutkan dengan uji *one way Anova* dengan nilai signifikan $0,150 (p > 0,05)$. Kelompok satelit yang diberi dosis 900 mg/KgBB pemeriksaan dilanjutkan hingga $\Delta T4$ menunjukkan terjadi peningkatan kadar BUN sehingga tidak terjadi efek *reversible* pada hewan uji, terjadinya penurunan fungsi ginjal mungkin menjadi salah satu faktor penyebab meningkatnya kadar BUN.

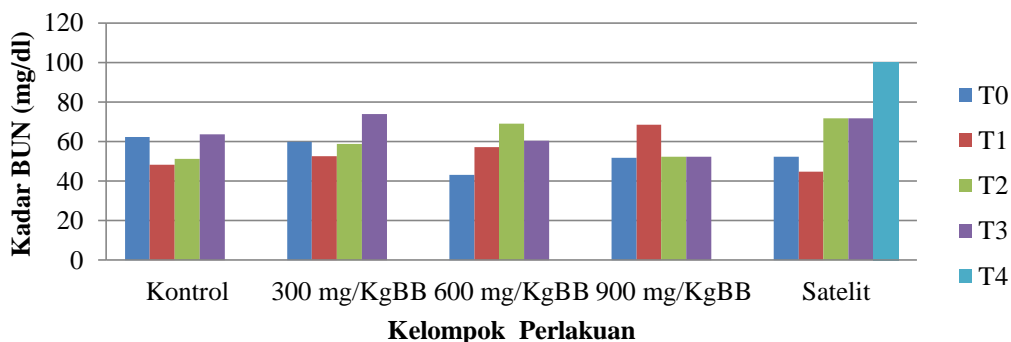


Gambar 5. Diagram kadar BUN jantan.

Berdasarkan gambar 6 kadar BUN hewan uji betina ada yang mengalami penurunan dan peningkatan kadar BUN. Kelompok kontrol mengalami penurunan kadar BUN pada T1 (T₃₀), namun pada T2 (T₆₀) dan T3 (T₉₀) kadar BUN mengalami peningkatan. Kelompok perlakuan pemberian dosis 300 mg/KgBB menunjukkan penurunan kadar BUN pada T1 (T₃₀) namun mengalami peningkatan pada T2 (T₆₀) dan T3 (T₉₀). Terjadi peningkatan kadar BUN pada T1 (T₃₀) dan T2 (T₆₀) sedangkan T3 (T₉₀) mengalami penurunan pada kelompok dosis 600 mg/KgBB. Kelompok pemberian sediaan minyak biji mahoni dosis 900 mg/KgBB T1 (T₃₀) mengalami peningkatan sedangkan T2 (T₆₀) dan T3 (T₉₀) terjadi penurunan.

Pemeriksaan saat $\Delta T1$ diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* data terdistribusi normal $p > 0,05$, dilanjutkan analisis *one way Anova* nilai signifikan 0,278 ($p > 0,05$) data homogenitas di uji dengan uji *Levene* diperoleh nilai 0,001 sehingga dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Dunnett T3* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, sedangkan pemeriksaan pada $\Delta T2$ data yang diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh 0,924 berarti data terdistribusi normal, selanjutnya dengan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data diperoleh data tidak homogen 0,001 ($p < 0,05$) dan nilai signifikan 0,003 ($p < 0,05$) analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Dunnett T3* untuk melihat adanya perbedaan. Hasilnya terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 600 mg/KgBB dan kelompok satelit 900 mg/KgBB. Hal ini berarti minyak biji mahoni menyebabkan perubahan kadar BUN pada hewan uji betina.

Analisis statistik saat $\Delta T4$ data yang dianalisis data terdistribusi normal dengan nilai probabilitas 0,989 $> 0,05$ dan nilai signifikan dengan uji *one way Anova* 0,156 ($p < 0,05$) tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sedangkan pada kelompok satelit yang dilanjutkan hingga $\Delta T4$ untuk melihat adanya efek *reversible*, hasil rata-rata kadar BUN mengalami peningkatan walaupun tidak diberi sediaan. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 14.



Gambar 6. Diagram kadar BUN betina.

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada hewan uji jantan kadar BUN tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi sediaan minyak biji mahoni dosis 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB. Kelompok hewan uji betina pada T2 (T₆₀) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis 600 mg/KgBB dan kelompok satelit.

Pemeriksaan lain sebagai parameter gangguan ginjal adalah kreatinin. Tabel 21 menunjukkan rata-rata kadar kreatinin pada hewan uji jantan dan betina. Tabel 22 menunjukkan rata-rata selisih kadar kreatinin pada hewan uji.

Tabel 21. Hasil rata-rata kadar kreatinin pada tikus

Kelompok perlakuan	Kadar kreatinin (mg/dl) ± SD				
	T0	T1	T2	T3	T4
JANTAN					
Kelompok Kontrol	1,47 ± 0,27	1,22 ± 0,37	1,16 ± 0,22	1,48 ± 0,14	
Kelompok 300 mg/KgBB	1,58 ± 0,28	1,35 ± 0,17	1,32 ± 0,32	1,62 ± 0,09	
Kelompok 600 mg/KgBB	1,64 ± 0,09	1,13 ± 0,25	1,12 ± 0,34	1,62 ± 0,22	
Kelompok 900 mg/KgBB	1,52 ± 0,31	1,44 ± 0,29	1,33 ± 0,40	1,37 ± 0,12	
Kelompok Satelit	1,37 ± 0,25	1,18 ± 0,14	1,38 ± 0,13	1,36 ± 0,18	1,50 ± 0,16
BETINA					
Kelompok Kontrol	1,41 ± 0,24	1,40 ± 0,45	1,32 ± 0,07	1,70 ± 0,14	
Kelompok 300 mg/KgBB	1,39 ± 0,39	1,36 ± 0,43	2,05 ± 1,24	1,40 ± 0,12	
Kelompok 600 mg/KgBB	1,51 ± 0,35	1,34 ± 0,49	2,00 ± 1,82	1,27 ± 0,12	
Kelompok 900 mg/KgBB	1,61 ± 0,21	1,15 ± 0,33	0,67 ± 0,66	1,56 ± 0,05	
Kelompok Satelit	1,60 ± 0,22	1,18 ± 0,58	1,21 ± 0,40	1,36 ± 0,21	1,40 ± 0,10

Tabel 22. Hasil rata-rata selisih kadar kreatinin pada tikus

Kelompok perlakuan	Rata-rata selisih kadar kreatinin (mg/dl) \pm SD			
	$\Delta T1$	$\Delta T2$	$\Delta T3$	$\Delta T4$
JANTAN				
Kelompok Kontrol	-0,17 \pm 0,43	-0,24 \pm 0,50	4,14 \pm 3,79	
Kelompok 300 mg/KgBB	-0,21 \pm 0,29	-0,18 \pm 0,50	4,70 \pm 1,47	
Kelompok 600 mg/KgBB	-0,53 \pm 0,25	-0,54 \pm 0,34	2,61 \pm 1,65	
Kelompok 900 mg/KgBB	-0,07 \pm 0,46	-0,35 \pm 0,54	6,62 \pm 1,75	
Kelompok Satelit	-0,15 \pm 0,36	0,16 \pm 0,29	5,32 \pm 3,17	0,17 \pm 0,26
BETINA				
Kelompok Satelit	0,02 \pm 0,63	-0,06 \pm 0,32	0,30 \pm 0,32	
Kelompok 300 mg/KgBB	-0,06 \pm 0,89	0,63 \pm 1,37	-0,17 \pm 0,29	
Kelompok 600 mg/KgBB	-0,26 \pm 0,73	0,46 \pm 1,83	-0,30 \pm 0,50	
Kelompok 900 mg/KgBB	-0,35 \pm 0,26	-1,25 \pm 0,21	0,06 \pm 0,15	
Kelompok Satelit	-0,40 \pm 0,56	-0,44 \pm 0,44	-0,23 \pm 0,37	-0,18 \pm 0,15

Keterangan:

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol

$\Delta T1$: Selisih kadar kreatinin T1 dan T0

$\Delta T2$: Selisih kadar kreatinin T2 dan T0

$\Delta T3$: Selisih kadar kreatinin T3 dan T0

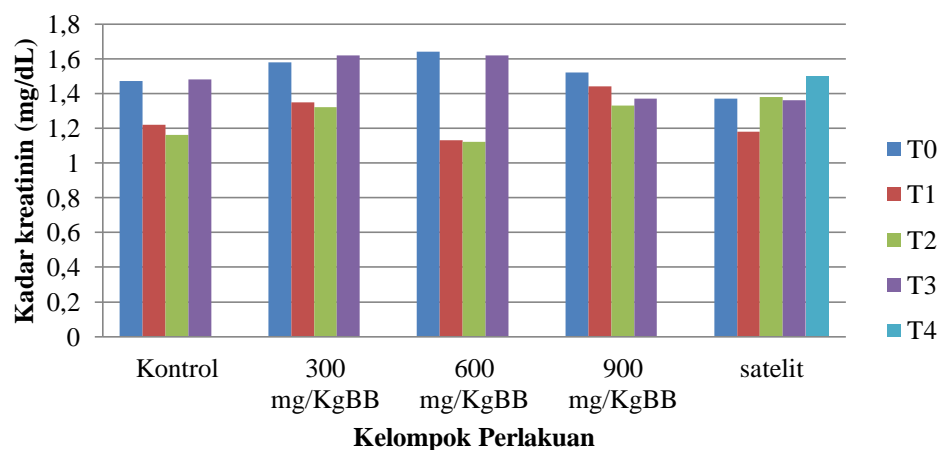
$\Delta T4$: Selisih kadar kreatinin T4 dan T0

Gambar 7 menunjukkan bahwa kadar kreatinin pada hewan uji jantan yang diberi perlakuan sediaan minyak biji mahoni mengalami kenaikan dan penurunan. Kadar kreatinin kelompok kontrol mengalami penurunan pada T1 (T₃₀) dan T2 (T₆₀) dan mengalami peningkatan pada T3 (T₉₀). Sama halnya dengan kelompok kontrol, kelompok perlakuan yang diberikan sediaan uji minyak biji mahoni 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB serta 900 mg/KgBB mengalami penurunan kadar kreatinin pada T1 (T₃₀) dan T2 (T₆₀) namun mengalami peningkatan kadar kreatinin T3 (T₉₀). Kelompok satelit pada T1 (T₃₀) dan T3 (T₉₀) terjadi penurunan kadar kreatinin sedangkan T2 (T₆₀) dan T4 (T₁₂₀) terjadi peningkatan kadar kreatinin.

Hasil analisis dengan *software* SPSS terhadap variabel waktu. Analisis pada $\Delta T1$ diawali dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* data terdistribusi normal 0,855 ($p > 0,05$) sehingga dilanjutkan dengan uji *one way Anova* nilai signifikan 0,261 ($p > 0,05$) tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Analisis statistik $\Delta T2$ yang diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat normalitasnya, didapatkan hasil 0,953 ($p > 0,05$) disimpulkan data terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *Levene* 0,680 sehingga data dikatakan homogen. Uji dengan *one way Anova*

menunjukkan nilai signifikan 0,261 ($P>0,05$) tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Untuk analisis data $\Delta T3$ hasil analisis normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan data terdistribusi normal $p>0,05$ dilanjutkan dengan uji *one way Anova* menunjukkan nilai signifikan 0,055 ($p>0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang nyata pada kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan. Khusus kelompok satelit pengamatan dilanjutkan hingga $\Delta T4$ diperoleh hasil rata-rata 1,50 mg/dl hasil ini menunjukkan bahwa setelah sediaan diberhentikan kadar kreatinin tetap mengalami peningkatan yang mungkin dipengaruhi oleh adanya kerusakan organ ginjal. Dapat disimpulkan pemberian minyak biji mahoni tidak mempengaruhi kadar kreatinin pada hewan uji jantan.



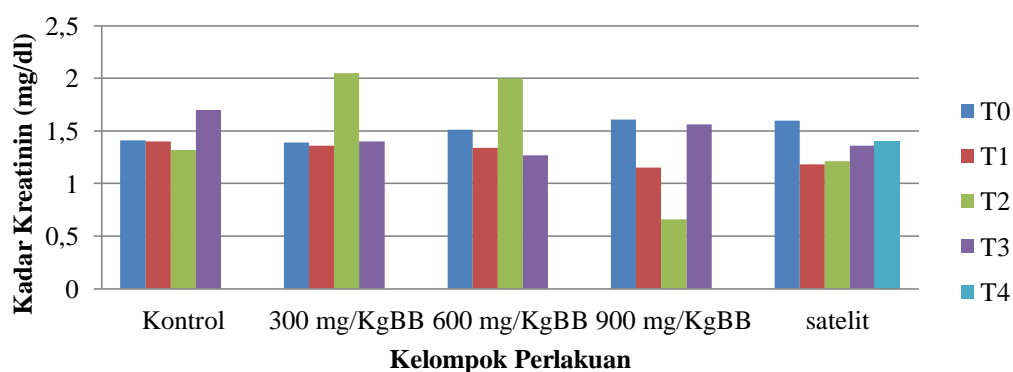
Gambar 7. Diagram kadar kreatinin jantan.

Pemeriksaan kadar kreatinin pada hewan uji betina dilakukan dengan melihat variabel waktu, gambar 8 menunjukkan terjadi peningkatan dan penurunan kadar kreatinin. Kelompok kontrol tikus betina mengalami penurunan kadar kreatinin pada T1 (T_{30}) dan T2 (T_{60}) namun mengalami peningkatan pada T3 (T_{90}). Kadar kreatinin pada tikus betina yang diberi perlakuan sediaan uji dosis 300 mg/KgBB dan 600 mg/KgBB mengalami penurunan pada T1 (T_{30}) dan T3 (T_{90}) tetapi mengalami peningkatan kadar kreatinin pada T2 (T_{60}). Kelompok perlakuan yang diberi dosis 900 mg/KgBB kadar kreatinin menurun pada T1 (T_{30}), T2 (T_{60}) dan meningkat pada T3 (T_{90}). Kelompok satelit dilakukan

pengamatan hingga T4 (T₁₂₀), pada T1 (T₃₀) terjadi penurunan kadar kreatinin dan pada T2 hingga T4 (T₁₂₀) terjadi peningkatan.

Uji statistik pada $\Delta T1$ diawali dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak, hasilnya 0,773 ($p > 0,05$) artinya data terdistribusi normal. Dilanjutkan dengan uji *one way Anova* dengan hasil 0,700 ($p > 0,05$) berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Analisis statistik data $\Delta T2$ dari hasil analisis dengan *Kolmogorov-Smirnov* data tidak terdistribusi normal 0,046 ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Walis* hasil diperoleh nilai signifikan 0,094 ($p > 0,05$) artinya tidak ada perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan.

Uji statistik $\Delta T3$ uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal dengan probabilitas 0,754 ($p > 0,05$) dan uji homogenitas dengan uji *Levene* data homogen 0,617 ($p > 0,05$) sehingga dilanjutkan dengan uji *one way Anova* didapat nilai signifikan 0,077 ($p > 0,05$) artinya tidak ada perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Khusus kelompok satelit analisis dilanjutkan hingga $\Delta T4$ diperoleh hasil rata-rata 1,40 mg/dl terjadi peningkatan dari kadar rata-rata sebelumnya, hal ini mungkin dipengaruhi adanya kerusakan organ. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 14.



Gambar 8. Diagram kadar kreatinin betina.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa hewan uji jantan dan hewan uji betina yang diberi sediaan uji minyak biji mahoni dengan dosis 300 mg/KgBB,

600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Peningkatan kadar BUN dan kreatinin pada pemberian minyak biji mahoni ini sejalan dengan penelitian sebelumnya terhadap pemberian ekstrak biji mahoni selama 40 hari dengan dosis 50,96 mg/KgBB dan 76,44 mg/KgBB oleh Rasyad *et al* (2012) menyebabkan peningkatan kadar BUN dan kreatinin yang mungkin disebabkan oleh kandungan triterpenoid yang ada di biji mahoni dimana senyawa ini mengubah membran sel dengan cara berinteraksi dengan lapisan lemak dimana anti ATPasenya dapat menghambat transport Na. Apabila transport Na^+/K^+ ATPase pada membran sel dihambat lebih sedikit Ca^{2+} intra sel yang dikeluarkan sehingga jumlah Ca^{2+} akan meningkat. Meningkatnya Ca^{2+} seperti phospholipase, protease, endonuclease, dan triphosphatase adenosine yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Adanya kerusakan di sel ginjal menyebabkan terganggunya fungsi ginjal sehingga meningkatkan kadar BUN dan kreatinin. Faktor lain yang mempengaruhi kadar BUN dan kreatinin adalah kondisi hewan uji yang stress maupun lingkungan.

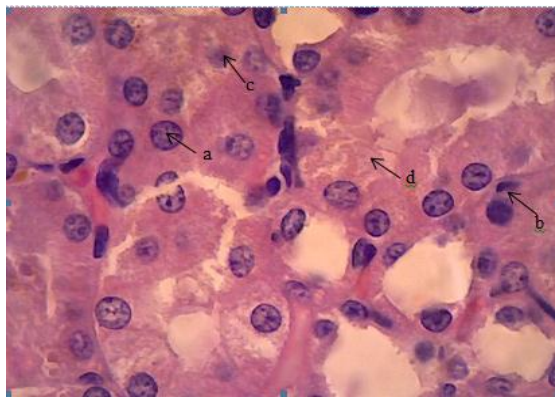
6.6 Hasil pengamatan organ secara makroskopis. Pengamatan organ secara makroskopis dilakukan untuk melihat adanya perubahan pada organ baik berupa warna, ukuran, dan bentuk. Hewan uji pada kelompok kontrol, 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB dibedah pada hari ke 90, sedangkan untuk kelompok satelit pembedahan dilakukan pada hari ke 120 hal ini dimaksudkan untuk melihat kerusakan yang disebabkan oleh minyak biji mahoni yang bersifat *reversible* (pulih).

Hasil pengamatan organ secara makroskopis pada organ ginjal untuk kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan uji berbentuk seperti kacang merah, warna merah kecoklatan tidak mengalami perbedaan, dan berbau anyir sedangkan ukuran atau berat organ mengalami berbeda antara setiap hewan uji dikarenakan berat badan hewan uji yang berbeda-beda.

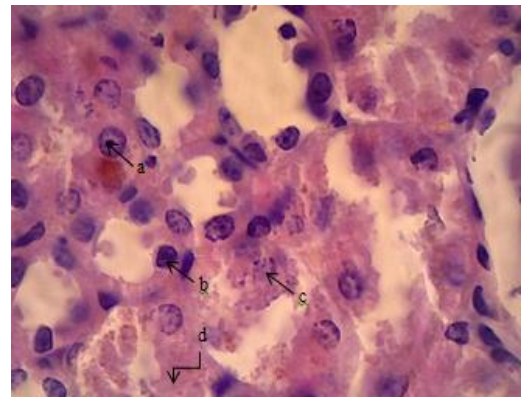
6.7 Hasil histopatologi organ ginjal. Pemeriksaan histologi organ dilakukan untuk melihat adanya nekrosis pada organ ginjal. Pada akhir pengamatan hewan uji dikorbankan dan diambil organ ginjal untuk dilakukan pengamatan secara mikroskopis dengan uji histopatologi pada setiap kelompok hewan uji baik jantan dan betina untuk melihat adanya kerusakan nekrosis pada ginjal tikus. Sel normal memiliki nukleus yang jelas, batas teratur, dan warna yang lebih muda. Kerusakan sel berupa nekrosis mungkin terjadi akibat terpejannya zat toksik. Nekrosis merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya. Nekrosis adalah kematian sel dan jaringan pada tubuh makhluk hidup dan tampak nyata pada nukleus. Nekrosis dapat dipengaruhi oleh banyak faktor seperti hewan uji yang tidak dapat beradaptasi, usia hewan yang terlalu muda atau terlalu tua, dimana fungsi organ pada usia muda belum sempurna dan pada usia tua organ mengalami penurunan fungsi organ.

Terdapat 3 kerusakan yang biasa terjadi yaitu : piknosis ditandai dengan melisutnya 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 dan Cotran 2007). Hewan yang telah dikorbankan, setelah diamati secara makroskopis dibuat preparat histologi dan dilakukan pewarnaan dengan Hematoksin-Eosin. Pemotongan organ ginjal diambil pada bagian tubulus ginjal dibuktikan dengan adanya epitel kuboit yang melingkar. Hasil histopatologi organ ginjal dapat dilihat pada gambar 9 dan gambar 10 dengan perbesaran 1000X. Hasil jumlah sel rusak pada tabel 23. Hasil perhitungan sel normal dan sel rusak terdapat pada lampiran 13.

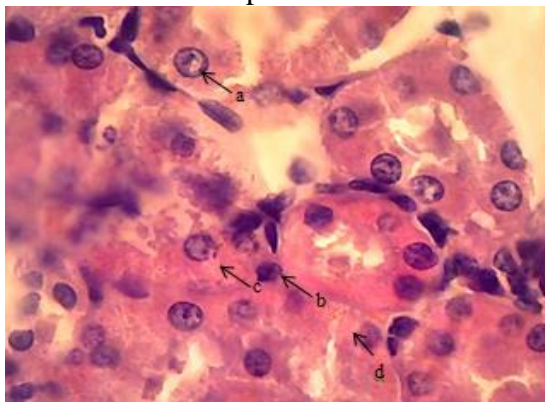
Masing-masing hewan perlakuan diambil tiga sampel. Hasil pengamatan mikroskopis yang dilihat dari 100 sel organ ginjal untuk tiap sampel, dengan perbesaran 1000 kali pada preparat di berikan minyak imersi untuk memperjelas pengamatan. Hasil persentase pada gambaran histopatologi organ ginjal tikus pada tabel 23. Gambar 11 dan 12 menunjukkan diagram persentase kerusakan sel.



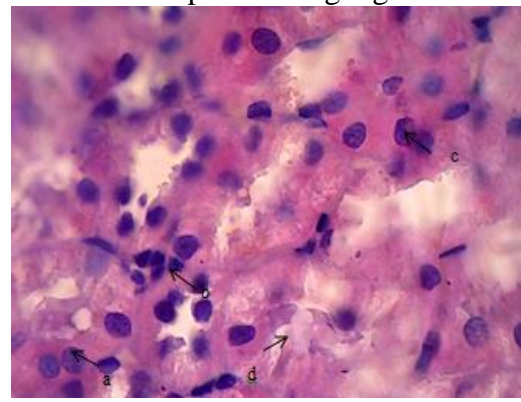
Kelompok Kontrol



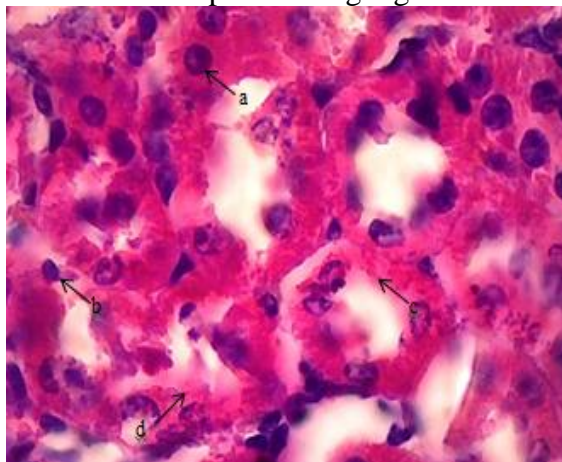
Kelompok 300 mg/KgBB



Kelompok 600 mg/KgBB



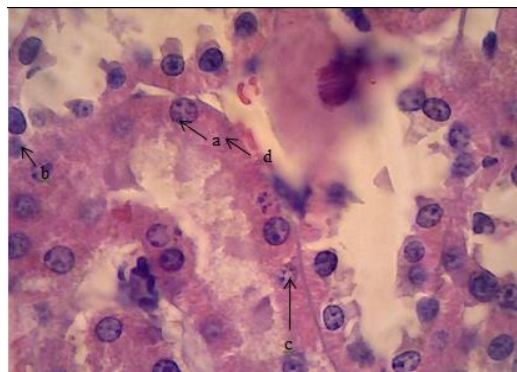
Kelompok 900 mg/KgBB



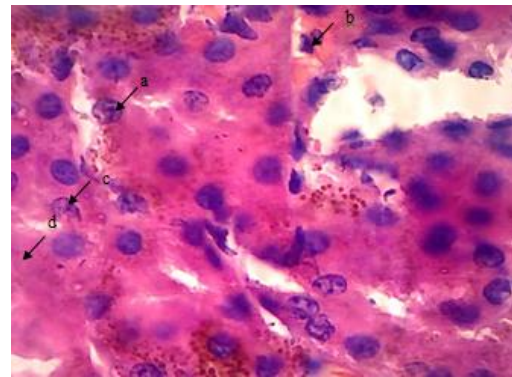
Kelompok satelit 900 mg/KgBB

Keterangan :
 a: Sel normal
 b: Piknosis
 c: Karyoreksis
 d: Karyolisis

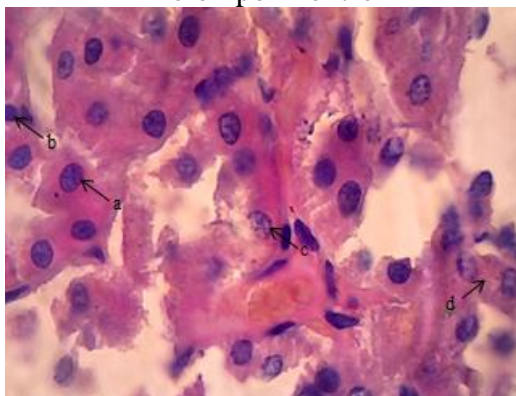
Gambar 9. Gambaran mikroskopis organ ginjal tikus jantan dengan perbesaran 1000X.



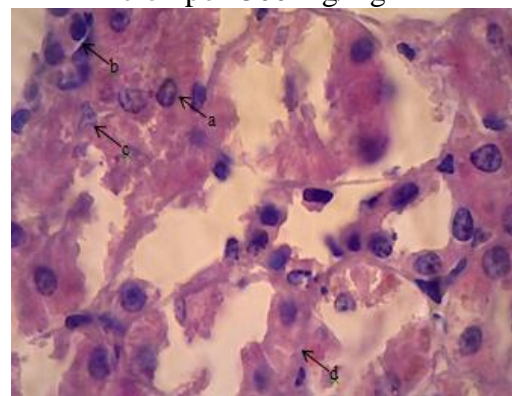
Kelompok kontrol



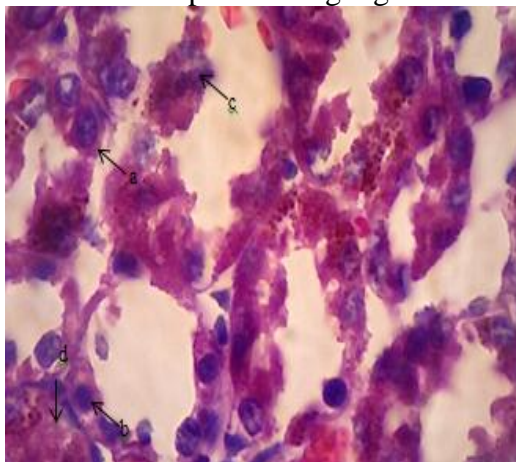
Kelompok 300 mg/KgBB



Kelompok 600 mg/KgBB



Kelompok 900 mg/KgBB



Kelompok Satelit 900 mg/KgBB

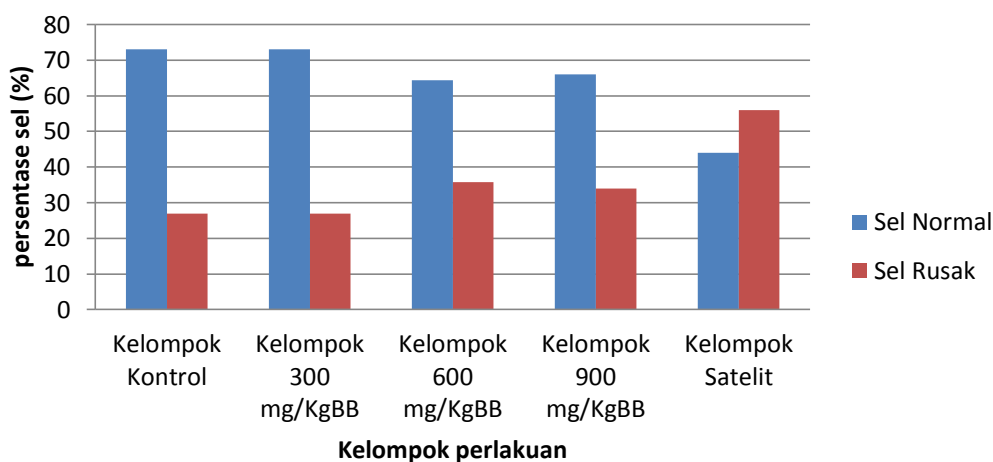
Keterangan :
 a: Sel normal
 b: Piknosis
 c: Karyoreksis
 d: Karyolisis

Gambar 10. Gambaran mikroskopis organ ginjal tikus betina dengan perbesaran 1000X.

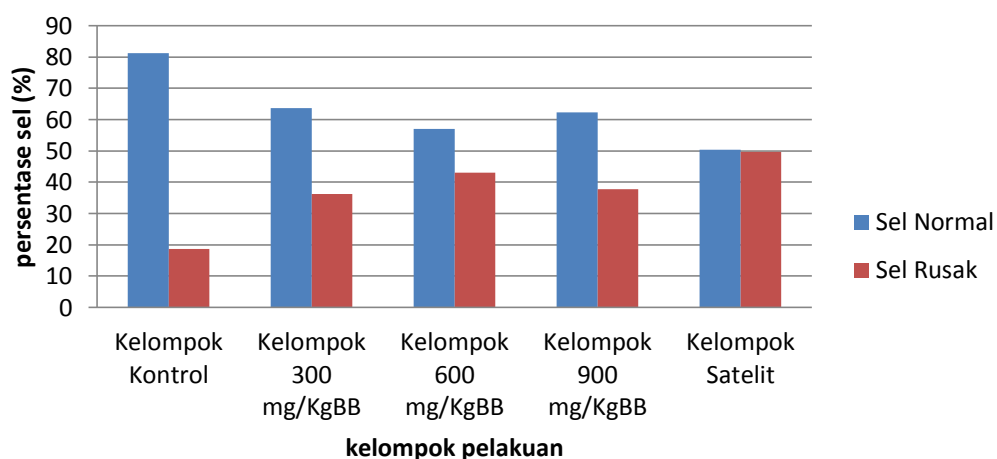
Tabel 23. Hasil persentase sel pada gambaran histopatologi organ ginjal tikus

Kelompok perlakuan	Jumlah Sampel	Total sel yang diamati	Persentase kerusakan (%) \pm SD
JANTAN			
Kelompok Kontrol	3	300	27 \pm 15,52
Kelompok 300 mg/KgBB	3	300	27 \pm 3,46
Kelompok 600 mg/KgBB	3	300	35,67 \pm 10,40
Kelompok 900 mg/KgBB	3	300	34 \pm 10,81
Kelompok Satelit	3	300	56* \pm 9,84
BETINA			
Kelompok Kontrol	3	300	18,67 \pm 7,63
Kelompok 300 mg/KgBB	3	300	36,33* \pm 12,09
Kelompok 600 mg/KgBB	3	300	43* \pm 7,81
Kelompok 900 mg/KgBB	3	300	37,67* \pm 6,42
Kelompok Satelit	3	300	49,67* \pm 6,11

Dilakukan analisis dengan uji statistik dengan hasil pada hewan uji jantan uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai 0,787 artinya data terdistribusi normal, untuk melihat homogenitas data dengan uji *Levene* dengan nilai signifikan 0,455 yang berarti data homogen sedangkan nilai signifikan dengan uji *one way Anova* 0,043 ($p < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna, analisis statistik dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui kelompok yang mengalami perbedaan secara signifikan. Perbedaan secara signifikan pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan satelit dengan nilai signifikan 0,008 ($p < 0,05$).

**Gambar 11. Diagram persentase sel normal dan sel rusak tikus jantan.**

Pemeriksaan pada kelompok betina dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* data terdistribusi normal 0,993 ($p > 0,05$) dan uji homogenitas dengan uji *Levene* menunjukkan data homogen 0,480 ($p > 0,05$). Namun setelah dilakukan uji *one way Anova* menunjukkan hasil signifikan 0,011 ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan uji 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB. Pada kelompok satelit persentase kerusakan paling tinggi sehingga disimpulkan tidak terjadi efek *reversible* pada organ ginjal yang diberi minyak biji mahoni hal ini diperkuat dengan peningkatan kadar BUN dan kreatinin pada hewan uji jantan maupun betina saat pemeriksaan terakhir. Uji statistik jumlah kerusakan terlampir pada lampiran 14.



Gambar 12. Diagram persentase sel normal dan sel rusak tikus betina.

Dari analisis dapat disimpulkan bahwa minyak biji mahoni pada dosis 300 mg/KgBB, 600 mg/KgBB, dan 900 mg/KgBB mempengaruhi sel pada ginjal secara bermakna. Penelitian oleh Wiriana (2016) minyak biji mahoni mengandung saponin. Menurut penelitian Ningsih (2010) menyatakan bahwa terjadi nekrosis yang diikuti hemoragi pada sel ginjal pemberian ekstrak air kulit kayu mahoni pada dosis 12.500 mg/KgBB yang diduga disebabkan oleh kandungan saponin didalamnya. Saponin meningkatkan permeabilitas sel darah merah. Membran sel darah merah yang rusak mengakibatkan hemoglobin darah keluar dari aliran

darah. Minyak biji mahoni mengandung asam palmitat. Menurut Katsoulieris (2009) asam palmitat dapat menyebabkan apoptosis dan nekrosis pada kematian sel di tubulus proksimal ginjal.

Penelitian lain oleh Rasyad *et al* (2012) terjadinya peningkatan kadar ureum dan kreatinin pada dosis 50,96 mg/200 gBB dan dosis 76,44 mg/200gBB mungkin disebabkan oleh kandungan triterpenoid dari biji mahoni, diperkirakan senyawa ini dapat mengubah membran sel dengan cara berinteraksi dengan lapisan lemak dan dengan kekuatan anti ATPase yang dapat menghambat transport natrium yang dapat menyebabkan kerusakan sel ginjal. Terjadinya kerusakan sel pada ginjal dapat menyebabkan fungsi sel ginjal terganggu sehingga kemampuan ginjal untuk menyaring kreatinin dan ureum berkurang dan mengakibatkan serum ureum dan kreatinin meningkat.

Pada penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) bekerja sebagai antifeedant pada pengendalian hama Caisin sebagai bioinsektisida (Alhusaeri dkk 2006). Peraturan BPOM no. 10 tahun 2014 menyatakan larangan memproduksi dan mengedarkan obat tradisional dan suplemen kesehatan yang mengandung *Mahonis sp* karena kandungan alkaloidnya dapat menyebabkan iritasi ginjal dan nefrotoksik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, penggunaan jangka panjang (90 hari) minyak biji mahoni berpengaruh terhadap berat badan tikus dan menimbulkan gejala toksik berupa edema pada tikus betina dosis 900 mg/KgBB.

Kedua, penggunaan jangka panjang (90 hari) minyak biji mahoni dosis 600 mg/KgBB mempengaruhi kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) tikus betina pada T2(60), dan tidak mempengaruhi kadar kreatinin pada tikus putih.

Ketiga, penggunaan jangka panjang (90 hari) minyak biji mahoni tidak mempengaruhi perubahan makropatologi dan mempengaruhi histopatologi organ ginjal tikus jantan pada kelompok satelit dan hewan betina dosis 300 mg//KgBB, 600 mg/KgBB, 900 mg/KgBB dan kelompok satelit.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut terhadap uji toksisitas kronis minyak biji mahoni terhadap tikus putih.

Kedua, perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut terhadap senyawa yang menyebabkan efek toksisitas pada minyak biji mahoni.

Ketiga, hewan uji ditempatkan pada kandang secara individu agar gejala toksik lebih mudah di amati.

Keempat, pengamatan terhadap gastrourinary dan gastrointestinal pada kelompok satelit dilanjutkan hingga T4.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPOMRI] Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia, 2014. Peraturan Nomor 7 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. Jakarta: BPOMRI.
- [BPOMRI] Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia, 2014. Peraturan Nomor 10 Tentang Larangan Memproduksi dan Mengedarkan Obat Tradisional dan Suplemen Kesehatan yang mengandung *Coptis sp*, *Berberis sp*, *Mahonia sp*, *Chelidonium majus*, *Phellodendron sp*, *Arcangelica flava*, *Tinosporae radix*, dan *Cataranthus roseus*. Jakarta: BPOMRI.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenika Jakarta*: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes]. Departemen Kesehatan 2000. *Inventaris Tanaman Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. Hlm 227.
- [DNP] Dictionary of Natural Products. 2005.
- ADA. 2015. American Diabetes Association : Standars of medical care in diabetes. *Diabetes care*. 38 (1): 44-45.
- Afrianto Eddy. 2008. *Pengawasan Mutu Bahan/Produk Pangan*. Jilid 2. Jakarta: Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan.
- Alhusaeri BS, Didiet RD, Herma A. 2006. Potensi Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla*) dan Akar Tuba (*Derris elliptica*) sebagai Bioinsektisida Untuk Pengendalian Hama Caisin [PIMNAS] Bogor: PS Proteksi Tanaman.
- Arief M. 2004. *Histologi Umum Kedokteran*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Arifin, A. L. _____. *Panduan Terapi Diabetes Mellitus Tipe 2 Terkini*. Sub Bagian Endokrinologi & Metabolisme, Bagian / UPF Ilmu Penyakit

Dalam Fakultas Kedokteran UNPAD/ RSUP Dr. Hasan Sadikin. Bandung.

- Astuty, Agusthina Try. 2017. Uji Toksisitas Subkronis minyak Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) terhadap Kadar AST & ALT Serta Histopatologi Organ Hati pada Tikus Putih Galur Wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Bajpai RN. 1989. *Histologi Dasar Edisi 4*. Tambayong J, penerjemah, Jakarta: Binarupa Aksara.
- Bani F. 2016. Pengaruh Fraksi-Fraksi Dari Ekstrak Etanolik Biji Mahoni (*Swietenia Macrophylla* King.) Terhadap Kadar Gula Darah Dan Jumlah GLUT-4 Jaringan Otot Pada Model Tikus Resisten Insulin [Tesis] Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Corwin J. Elisabeth. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Vol 2. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Eid AMM, Elmarguzil NA, El-Enshasy HA. 2013. A Review on The Phytopharmacological Effect of *Swietenia macrophylla*. *Internasional Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, ISSN- 0975-1491.
- Ernest Guenther, 1990. *Minyak Atsiri IV-A* (terjemahan), VI-Press, Jakarta.
- Falah S, Suzuki T, Katayama T. 2008. Chemical constituents from swietenia macrophylla bark and their antioxidant activity. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11 (16): 2007-2012.
- Gandjar, IG, dan Rohman, A (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka pelajar.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakoqnosi)* jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya,.
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Edisi Ke-3. Padmawinata , penerjemah. Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita S. Maksun Radji. 2005. *Bahan Ajar Analisis Hayati* Edisi 2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA. Universitas Indonesia
- Hashim MA, Yam MF, Hor SY, Lim CP, Asmawi MZ, Sadikun A. 2013. Anti-hyperglycaemic activity of *Swietenia macrophylla* king (*maliaceae*)

seed extracts in normoglycemic rats undergoing glucose tolerance tests. *Chinese Medicine*. 8(11).


- Hendrawati, A.R.E., 2009, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* Linn.) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bst) Lc50, [Skripsi], Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, 11-13.
- Jati PPL. 2016. Uji Toksisitas Subkronis Singkat Ekstrak Methanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Parameter Hematologi Tikus Putih Galur Wistar [Skripsi] Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Katsoulieris Elias, Jon G. Mabley, Mohammed Samai, Irene c. Green, Prabal K. Chatterjee. 2009. α -Linolenic Acid Protects Renal Cells Against Palmitic Acid Lipotoxicity Via Inhibition Of Endoplasmic Reticulum Stress. *European Journal of Pharmacology*.
- Kemenkes 2014. Tahun 2030 Prevalensi Diabetes Melitus Di Indonesia Mencapai 21,3 Juta Orang. <http://www.depkes.go.id>. Diakses 31 Agustus 2016.
- Ketaren S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak Dan Lemak Pangan*. Jakarta: Penertbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Laraswati, Dewi. 2016. Uji Toksisitas Subkronis Singkat Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) terhadap Parameter Hematologi pada Tikus Putih Galur Wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Terpenoid Dan Steorida* [KTI], Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Lesson CR, Thomas TS, Paparo AA. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Edisi Ke-5. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lu FC. 1995. *Teknologi Dasar Asas, Organ Sasaran, Dan Penilaian Resiko*. Edisi Ke-2. Nugroho E., Penerjemah. Jakarta: UI Press.
- Madjid *et al.* 2004. Physico-Chemical Characterization, Antimicrobial Activity And Toxicity Analysis Of *Swietenia mahagoni* seed oil. *Int J Agri Biol* 6(2):350-354.
- Maiti A, Dewanjee S, Jana G, Mandala SC. 2008. Hypoglycemic effect of *Swietenia macrophylla* seeds against type II diabetes. *Internasional Journal Of Green Pharmacy*. DOI: 10.4103/0973-8258.44738

- Martini Dkk. 2007, Uji Toksisitas Subkronik Alginat Pada Histopatologi Ginjal, Dan Lambung Mencit (*Mus museulus* L.) Jakarta. Balai Besar Pengolahan Produk Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan, Jakarta.
- Mitchell, R.N. and Catron R.S 2007. *Jejas, Adaptasi, dan Kematian sel*. Dalam: Kumar, V, Cotran, R.S., Robbins, S.L. (eds). Buku Ajar Patologi Robbins vil 1. Edisi VII. Jakarta : ECG. 3:7-26. Mulyono Moeljanto, R.D. 2004. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab Dari Masa ke Masa*, edisi 1. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hlm 1-11.
- Moghadamtousi SZ, Bey HG, Chim KC, Tara S, Habsah AK. 2013. Biological Activities and Phytochemicals of *Swietenia macrophylla* King. Institute of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia. 10465-10483; doi: [10.3390/molecules180910465](https://doi.org/10.3390/molecules180910465)
- Mursiti S, Matsjeh S, Jumina, Mustofa. 2013. Isolasi, Identifikasi, dan elusidasi struktur senyawa alkaloid dalam ekstrak methanol-asam nitrat dari biji mahoni bebas minyak (*swietenia macrophylla* King). *Jurnal MIPA* 36 (2): 169-177. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Mursiti. S. 2004. Identifikasi Senyawa Alkaloid Dalam Biji Mahoni Bebas Minyak (*Swietenia macrophylla* King) Dan Efek Biji Mahoni Terhadap Penurunan Kadar Glokusa Darah Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) [Tesis] Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Nany S., Tinny EH., Aulani'am. 2013. Pengaruh Ekstrak Biji Mahoni Terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF-A Dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes Millitus [Skripsi]. Malang: Fakultas Biologi, Universitas Brawijaya Malang.
- Ningsih. Fitria. 2010. Kandungan Flavonoid Kulit Kayu mahoni ((*Swietenia macrophylla* King.) dan Toksisitas Akut Terhadap Mencit [Skripsi]. Bogor. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Price dan Wilson. 1994. *Patofisiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahmawati AMA, 2016. Uji Toksisitas Subkronis Singkat Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) Terhadap BUN, Kreatinin, Dan Histopatologi Ginjal Pada Tikus Putih Galur Wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

- Rasyad AA, Mahendra P, Ningsih P. 2012. Uji Nefrotoksik Dari Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagino Jacq*) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Sumatra Selatan: JPS MIPA UNSRI 15(2C): 79-82.
- Rasyad, AA, Doddy R, Ningsih P. 2012, Efek Pemberian Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia Mahagino Jacq*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Mencit Putih Jantan Diabetes Yang Diinduksi Aloksan. Sumatra Selatan: Universitas Bhakti Pertiwi. FARMASAINS 1: 220-223.
- Robinson T. 1995. Kandungan Kimia Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Kosasih Padwaminta, Penerjemah; Bandung; ITB. Terjemahan Dari: *The Organic Constituent On Higher Plant*. Halm 71-72, 157, 128.
- Saputri. Meliana Eka. 2014. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni Jacq.*) Yang Diukur Dengan Penentuan LD₅₀ Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Bogor. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi 2. Jakarta: EGC.
- Singh SS et al. 2003. Chemistry And Medical Properties Of *Tinospora Cordifolia*. *Indian Journal Of Pharmacology* 35:83-91.
- Subhadip et al. 2013. Free Radical Scavenging And A-Amylase Inhibitory Activity Of *Swietenia Mahagoni* Seeds Oil. *Internasional Jurnal Of Pharmacognosy And Phytochemical Research* 5(1): 51-56.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmasi*. Edisi IV. Laboratorium Farmasi Dan Teksonomi UGM. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Sulastri. 2008. Efek Diuretik Ekstrak Etanol 70% Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Suryowinoto S. 2001. *Flora Eksotika Tanaman Peneduh*. Jakarta : Kanisius.
- Tasbicha, Laila. 2016. Uji Toksisitas Subkronis Singkat Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni Jacq.*) terhadap Kadar AST & ALT Serta Histopatologi Organ Hati pada Tikus Putih Galur Wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Tjay TH dan Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-5. Jakarta : PT Alex Media Komputindo. hlm 693-713.

- Tortora, G.J. dan Derrickson, B.H. 2011. Principles of Anatomy and Physiology. Twelfth Edition. Asia: Wiley
- Triplitt CL, Reasner CA, Isley WL. 2005. DM. In: J.T. Dipiro, R. L. Talbert, G. C. Yee, G.R. Matzke, B. G. Wells, L. M. posey (Eds.) *Pharmacotherapy, A Pathofisiologic approach 6th* Ed. USA: McGraw-Hill Co., p. 1333-1357.
- Udem, Samuel, Innocent Nwaogu, Obinna Onyejekwe. 2011. Evaluation of Hepatoprotective Activity Of Aqwous Leaf Extract of *Swietenia mahagoni* (Maliaceae) In chronic Alkohol-Induced Liver injury in Rats. Macedonian Journal of Medical Scines 4(1):31-36.
- Underwood E.C.J. 1999. *Buku Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Utama YI. 2014. Aktivitas Antihiperglik Kombinasi Ekstrak Biji Mahoni Dengan Glibenklamid Pada Mencit Jantan Galur BALB/C [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- WHO. 2016. Diabetes. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/> diakses tanggal 02 Oktober 2016.
- Wiriana, Ketut. 2015. Aktivitas Antihiperglikemik Kombinasi Minyak Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) Dengan Glibenklamid Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

Lampiran 1. Surat keterangan identifikasi simplisia



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS FARMASI
 Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp.(0274) 543120 Fax.(0274) 543120 Email:farmasi@ugm.ac.id.

SURAT KETERANGAN
 No.: UGM/FA/0092 /M/03/02

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Ruvanie Witney
NIM 19133785A
Fakultas Farmasi USB
Di Surakarta

Dengan hormat,


Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi sampel biji yang Saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :


No.Pendaftaran	Jenis	Suku
101	<i>Swietenia macrophylla</i> King	Meliaceae


Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
 Dekan
 Fakultas Farmasi UGM

Yogyakarta, 5 Januari 2017
 Ketua
 Departemen Biologi Farmasi

 Prof. Dr. Agung Endro Nugroho, M.Si., Apt
 NIP. 1973060919931002


 Dr. rer. nat. Triana Hertiani, M.Si., Apt
 NIP. 197306091998032003

 Management System ISO 9001:2008

Lampiran 2. Bahan uji (sampel)



Biji mahoni



Biji mahoni setelah dikupas



Lampiran 3. Pengeringan sampel



Pengeringan biji mahoni



Alat Press Hidrolik



Timbangan

Lampiran 4. Perhitungan rendemen sampel mahoni

Diketahui :

- Berat basah biji mahoni = 3700 gram
- Berat kering biji mahoni = 3600 gram

Perhitungan % rendemen

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

$$\% \text{ rendemen} = \frac{3500}{5000} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = 70 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan rendemen minyak biji mahoni

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Berat biji}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{1200}{3600} \times 100 \%$$

$$\% \text{ rendemen} = 33,3 \%$$

Lampiran 6. Perhitungan berat jenis minyak biji mahoni

Replikasi I

Berat piknometer kosong	= 27,7339 gram
Berat piknometer + aquadestilata	= 77,6431 gram -
Berat aquadestilata	= 49,9092 gram
Berat piknometer + minyak	= 73,8705 gram
Berat piknometer kosong	= 27,7339 gram -
Berat minyak	= 46,1366 gram

$$\begin{aligned}
 \text{BJ minyak} &= \frac{(\text{Berat piknometer} + \text{minyak}) - \text{berat piknometer}}{\text{Berat Aquadestilata}} \\
 &= \frac{73,8705 \text{ gram} - 27,7339 \text{ gram}}{49,9092 \text{ gram}} \\
 &= \frac{46,1366 \text{ gram}}{49,9092 \text{ gram}} \\
 &= 0,924
 \end{aligned}$$

Replikasi II

Berat piknometer kosong	= 29,0195 gram
Berat piknometer + aquadestilata	= 78,8757 gram -
Berat aquadestilata	= 49,8562 gram
Berat piknometer + minyak	= 75,1008 gram
Berat piknometer kosong	= 29,0195 gram -
Berat minyak	= 46,0813 gram

$$\begin{aligned}
 \text{BJ minyak} &= \frac{(\text{Berat piknometer} + \text{minyak}) - \text{berat piknometer}}{\text{Berat Aquadestilata}} \\
 &= \frac{75,1008 \text{ gram} - 29,0195 \text{ gram}}{49,8562 \text{ gram}} \\
 &= \frac{46,0813 \text{ gram}}{49,8562 \text{ gram}} \\
 &= 0,924
 \end{aligned}$$

Replikasi III

Berat piknometer kosong = 24,8911 gram

Berat piknometer + aquadestilata = 74,7937 gram -

Berat aquadestilata = 49,9026 gram

Berat piknometer + minyak = 71,0264 gram

Berat piknometer kosong = 24,8911 gram -

Berat minyak = 46,1353 gram

BJ minyak = $\frac{(\text{Berat piknometer} + \text{minyak}) - \text{berat piknometer}}{\text{Berat Aquadestilata}}$

$$= \frac{71,0264 \text{ gram} - 24,8911 \text{ gram}}{49,9026 \text{ gram}}$$

$$= \frac{46,1353 \text{ gram}}{49,9026 \text{ gram}}$$

$$= 0,924$$

Rata-rata BJ minyak = $\frac{0,924 + 0,924 + 0,924}{3}$

$$= 0,924$$

Penyaringan minyak dan penetapan berat jenis



Hasil Penyaringan minyak



Piknometer



Sterling-Bidwell



Gas Chromatography- Massa Spektrofotometer

Lampiran 7. Perhitungan penetapan kadar air pada minyak biji mahoni

Replikasi I

Jumlah minyak = 20 ml

Jumlah pelarut *xylene* = 50 ml

Jumlah air yang diperoleh 0,2 ml

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume minyak mula-mula}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{0,2 \text{ ml}}{20 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 1\% \end{aligned}$$

Replikasi II

Jumlah minyak = 20 ml

Jumlah pelarut *xylene* = 50 ml

Jumlah air yang diperoleh 0,05 ml

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume minyak mula-mula}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{0,05 \text{ ml}}{20 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 0,25\% \end{aligned}$$

Replikasi III

Jumlah minyak = 20 ml

Jumlah pelarut *xylene* = 50 ml

Jumlah air yang diperoleh = 0,1 ml

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume minyak mula-mula}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{0,1 \text{ ml}}{20 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 0,5\% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata kadar air dalam minyak} = \frac{1\% + 0,25\% + 0,5\%}{3} = \frac{1,75\%}{3} = 0,583\%$$

Lampiran 8. Hasil analisis kimia kandungan senyawa minyak biji mahoni



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM KIMIA ORGANIK
 Sekip Utara, Yogyakarta 55281 telp./fax [0274] 563467, 902122
 e-mail : chemistry-ko@ugm.ac.id

Nomor : 625/Ins/I/2017
 Hal : Analisis Sampel Minyak Biji Mahoni
 Lampiran : -

Kepada Yth : Ruvanie Witney
 Mahasiswa S1 Farmasi
 Fakultas Farmasi
 Universitas Setia Budi Surakarta


Dengan Hormat,

Sesuai dengan permohonan anda tentang analisis Sampel Minyak Biji Mahoni, maka berikut kami sampaikan hasil analisis yang telah dilakukan:

1. Metode analisis :
 - a. Alat : Analisis kualitatif menggunakan alat Gas Kromatografi-Spektrometri Massa (GC-MS, Shimadzu QP2010), Kolom : HP-1MS, 30 m, ID 0,25 mm
 - b. Minyak Biji Mahoni merupakan senyawa yang tidak volatil sehingga untuk mengetahui kandungan asam lemak yang ada dilakukan reaksi esterifikasi menggunakan metanol dan BF₃ sebagai katalis asam. Hasil ester yang diperoleh diinjeksikan pada alat GCMS. Asam lemak yang ada setara dengan ester yang didapat dari GCMS
2. Hasil Analisis:

No.	Asam lemak dalam bentuk ester	Indeks Kemiripan dengan Library (%)	Persentase relatif (%) pada sampel
1.	Palmitic Acid	95	16.47
2.	Linolelaidate Acid	95	38.34
3.	10-Octadecanoic acid	89	27.28
4.	Stearic Acid	97	13.85
5.	Oleic Acid	93	2.56
6.	Arachidic Acid	97	1.49

Demikian hasil analisis yang dapat kami sampaikan dan atas kerjasamanya diucapkan terimakasih. Apabila ada hal yang meragukan tentang hasil analisis ini, mohon segera menghubungi kami dalam waktu selambat-lambatnya 7 hari kerja.

Yogyakarta, 23 Februari 2017
 Kepala Lab. Kimia Organik

 Prof. Drs. Jumina, Ph.D

Lampiran 9. Surat hewan uji

"ABIMANYU FARM"

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

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

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Ruvanie Witney
 Nim : 19133785 A
 Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar
 Umur : 2-3 bulan
 Jenis kelamin : Jantan dan Betina
 Jumlah : 100 ekor
 Keterangan : Sehat
 Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

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

Surakarta, 9 Maret 2017

Hormat kami

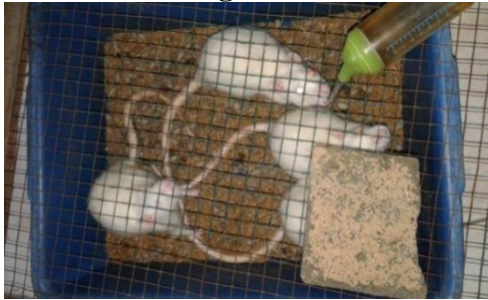


Sigit Pramono
 "ABIMANYU FARM"

Hewan yang digunakan



Kondisi kandang



Alat penimbangan tikus



Sonde lambung



Capillary tube

Lampiran 10. Perhitungan dosis

Berat jenis minyak mahoni 0,924

$$\begin{aligned}
 300 \text{ mg/KgBB} &= \frac{0,3 \text{ gram}}{0,924} \times 1 \text{ ml} = 0,3246 \text{ ml / KgBB} \\
 &= 0,3246 \text{ ml/1000 gram} \\
 &= 0,0652 \text{ ml/200 gram} \\
 &\sim 0,07 \text{ ml/200 gram}
 \end{aligned}$$

Pemberian minyak biji mahoni sebanyak 0,07 ml

$$\begin{aligned}
 600 \text{ mg/KgBB} &= \frac{0,6 \text{ gram}}{0,924\text{g}} \times 1 \text{ ml} = 0,6493 \text{ ml/KgBB} \\
 &= 0,6493 \text{ ml/1000 gram} \\
 &= 0,1298 \text{ ml/200 gram} \\
 &\sim 0,13 \text{ ml/200 gram}
 \end{aligned}$$

Pemberian minyak biji mahoni sebanyak 0,13 ml

$$\begin{aligned}
 900 \text{ mg/KgBB} &= \frac{0,9 \text{ gram}}{0,924 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,9740 \text{ ml/KgBB} \\
 &= 0,9740 \text{ ml/1000 gram} \\
 &= 0,1948 \text{ ml/200 gram} \\
 &\sim 0,20 \text{ ml/200 gram}
 \end{aligned}$$

Pemberian minyak biji mahoni sebanyak 0,19 ml

Lampiran 11. Volume urine dan berat feses hewan uji

Volume urine

Kontrol	J1	3.00	3.30	4.60	B1	4.40	3.80	3.60
	J2	4.50	3.60	3.00	B2	5.40	4.70	3.40
	J1	7.80	5.20	5.30	B1	3.70	6.50	2.00
	J2	5.20	5.00	4.20	B2	5.00	4.30	5.00
300 mg	J1	5.60	5.20	3.90	B1	6.80	7.60	6.80
	J2	3.10	3.50	3.10	B2	4.80	5.90	4.80
	J1	14.00	1.00	13.40	B1	4.70	3.70	4.60
	J2	8.50	9.30	14.10	B2	4.80	7.00	4.90
600 mg	J1	4.00	4.40	5.00	B1	5.40	4.60	5.40
	J2	11.00	11.20	10.00	B2	5.20	3.40	5.00
	J1	12.00	11.40	12.00	B1	6.20	5.00	5.20
	J2	4.00	5.30	4.00	B2	3.90	3.20	3.90
900 mg	J1	10.00	10.00	4.00	B1	6.00	3.30	6.00
	J2	4.00	4.30	5.00	B2	2.50	3.10	2.00
	J1	3.00	10.00	4.00	B1	6.00	4.30	6.00
	J2	4.00	4.30	7.00	B2	5.20	3.10	2.00
Satelit	J1	8.00	8.30	8.00	B1	6.10	5.00	9.00
	J2	12.00	6.40	12.00	B2	8.00	3.50	8.00
	J1	3.80	2.80	5.20	B1	6.00	5.60	6.00
	J2	2.50	2.40	3.00	B2	5.40	7.20	4.00

Berat feses

Kontrol	J1	1.40	2.35	1.00	B1	2.07	1.07	2.07
	J2	2.87	2.77	8.97	B2	2.54	2.43	2.54
	J1	24.57	11.23	5.38	B1	5.18	6.19	1.35
	J2	6.71	4.35	1.24	B2	5.15	2.97	4.42
300 mg	J1	2.04	5.67	4.57	B1	2.13	2.83	5.18
	J2	2.45	2.15	6.71	B2	11.78	12.38	5.15
	J1	2.14	2.78	4.38	B1	4.22	4.72	5.16
	J2	1.07	1.58	3.17	B2	5.67	5.25	5.52
600 mg	J1	3.87	2.82	2.04	B1	3.45	6.32	2.13
	J2	9.23	8.67	2.45	B2	5.70	4.24	11.86
	J1	12.56	8.22	4.93	B1	3.00	3.20	4.30
	J2	1.03	1.32	1.03	B2	0.56	1.65	4.57
900 mg	J1	4.38	4.38	9.03	B1	2.04	1.75	5.20
	J2	3.17	3.33	4.81	B2	2.45	3.25	5.50
	J1	11.04	4.56	6.21	B1	5.20	6.05	4.37
	J2	4.81	5.78	6.45	B2	5.50	7.12	4.68
Satelit	J1	2.13	2.45	3.93	B1	2.04	1.04	1.07
	J2	11.86	6.37	2.14	B2	4.22	1.22	4.22
	J1	5.67	2.37	5.67	B1	9.12	4.50	9.10
	J2	9.57	5.77	9.57	B2	7.55	3.37	7.57

Pengamatan urinasi dan defekasi



Lampiran 12. Kadar BUN dan kreatinin

Perlakuan	BUN					Perlakuan	BUN				
Control	Jantan	T0	T30	T60	T90	Control	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	66	54	60	74		1	68	51	64	58
	2	67	65	59	85		2	66	58	56	77
	3	83	55	55	90		3	66	57	64	62
	4	61	66	0	0		4	62	108	45	0
	5	71	59	0	0		5	57	0	0	0
	6	60	71	55	104		6	55	12	43	37
	7	58	35	48	70		7	50	27	46	71
	8	58	38	42	78		8	62	24	41	76
	9	72	0	0	0		9	61	0	0	0
	10	52	0	0	0		10	77	0	0	0
Perlakuan	BUN					Perlakuan	BUN				
300	Jantan	T0	T30	T60	T90	300	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	77	62	85	63		1	79	71	61	64
	2	69	79	65	73		2	70	68	59	61
	3	62	70	68	69		3	68	53	58	53
	4	74	45	64	0		4	64	69	64	0
	5	61	51	0	0		5	72	0	0	0
	6	51	32	62	90		6	43	20	52	93
	7	70	0	0	0		7	50	34	64	99
	8	69	0	0	0		8	64	0	0	0
	9	76	0	0	0		9	52	0	0	0
	10	80	0	0	0		10	37	0	0	0
Perlakuan	BUN					Perlakuan	BUN				
600	Jantan	T0	T30	T60	T90	600	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	46	70	74	62		1	35	69	73	71
	2	56	40	67	56		2	47	78	71	68
	3	68	76	61	63		3	42	79	60	66
	4	75	68	56	0		4	56	78	0	0
	5	69	121	0	0		5	35	70	0	0
	6	48	10	54	49		6	40	11	70	37
	7	44	0	0	0		7	38	16	71	0
	8	33	0	0	0		8	44	0	0	0
	9	56	0	0	0		9	51	0	0	0
	10	51	0	0	0		10	42	0	0	0
Perlakuan	BUN					Perlakuan	BUN				
900	Jantan	T0	T30	T60	T90	900	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	35	75	55	66		1	38	91	57	96
	2	57	94	73	64		2	49	93	66	68
	3	61	47	63	0		3	32	69	0	0
	4	32	61	43	0		4	41	0	0	0
	5	39	74	0	0		5	38	0	0	0
	6	54	13	60	46		6	85	21	34	100
	7	61	11	39	55		7	64	0	0	0
	8	61	0	0	0		8	70	0	0	0
	9	74	0	0	0		9	43	0	0	0
	10	57	0	0	0		10	57	0	0	0

Perlakuan	BUN							Perlakuan	BUN						
Satelit	Jantan	T0	T30	T60	T90	T120	Satelit	Betina	T0	T30	T60	T90	T120		
	1	48	19	68	60	90		1	52	68	75	84	101		
	2	47	64	83	68	85		2	37	76	58	44	100		
	3	36	69	78	110	0		3	64	80	63	96	0		
	4	51	38	61	71	0		4	51	69	75	0	0		
	5	30	25	0	0	0		5	47	32	0	0	0		
	6	54	19	45	82	83		6	61	22	75	69	96		
	7	48	41	45	85	69		7	69	20	75	63	106		
	8	60	13	51	0	0		8	38	13	86	75	98		
	9	53	13	0	0	0		9	65	23	66	0	0		
	10	49	0	0	0	0		10	39	0	0	0	0		

Perlakuan	Kreatinin					Perlakuan	Kreatinin				
Control	Jantan	T0	T30	T60	T90	Control	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	1.6	1.1	1.2	1.6		1	1.3	2	1.4	1.5
	2	1.3	1.6	1.4	1.5		2	1.2	1.9	1.4	1.8
	3	1.3	1.2	1.3	1.4		3	1.2	1.6	1.2	1.9
	4	1.7	1.5	0	0		4	1.2	1.4	1.3	0
	5	1.3	0.4	0	0		5	1.2	0	0	0
	6	1.4	1.2	1	1.3		6	1.4	0.9	1.3	1.6
	7	0.9	1.4	1.3	1.4		7	1.4	1	1.4	1.7
	8	1.7	1.4	0.8	1.7		8	1.9	1	1.3	1.7
	9	1.7	0	0	0		9	1.6	0	0	0
	10	1.8	0	0	0		10	1.7	0	0	0
Perlakuan	Kreatinin					Perlakuan	Kreatinin				
300	Jantan	T0	T30	T60	T90	300	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	1.3	1.5	1.7	1.6		1	1.5	1.5	4.3	1.4
	2	1.7	1.6	1.4	1.7		2	1.3	1.4	1.4	1.3
	3	1.2	1.2	1.4	1.5		3	1.3	1.7	1	1.4
	4	1.7	1.2	0.8	0		4	0.8	1.9	2.7	0
	5	1.9	1.4	0	0		5	1.3	0	0	0
	6	1.6	1.2	1.3	1.7		6	1.9	0.9	1.3	1.3
	7	1.3	0	0	0		7	1.7	0.8	1.6	1.6
	8	1.9	0	0	0		8	0.7	0	0	0
	9	1.9	0	0	0		9	1.8	0	0	0
	10	1.3	0	0	0		10	1.6	0	0	0
Perlakuan	Kreatinin					Perlakuan	Kreatinin				
600	Jantan	T0	T30	T60	T90	600	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	1.7	1.2	1.3	1.4		1	1.3	1.2	0.7	1.3
	2	1.7	0.9	0.7	1.5		2	1.6	1.6	5.2	1.3
	3	1.7	1.4	1.5	1.9		3	1.2	2	1.7	1.4
	4	1.6	1.4	0.8	0		4	1.6	1.7	0	0
	5	1.7	1.1	0	0		5	1.7	1.5	0	0
	6	1.6	0.8	1.3	1.7		6	1.9	0.7	1	1.1
	7	1.7	0	0	0		7	1.7	0.7	1.4	0
	8	1.7	0	0	0		8	0.7	0	0	0
	9	1.6	0	0	0		9	1.8	0	0	0
	10	1.4	0	0	0		10	1.6	0	0	0
Perlakuan	Kreatinin					Perlakuan	Kreatinin				
900	Jantan	T0	T30	T60	T90	900	Betina	T0	T30	T60	T90
	1	1.6	1.4	0.7	1.2		1	1.5	1.4	0.1	1.6
	2	1.3	1.8	1.3	1.4		2	1.6	1.4	0.5	1.5
	3	1.5	1.9	1.9	0		3	1.5	1.1	0	0
	4	1.3	1.4	1.3	0		4	1.5	0	0	0
	5	1.2	1.2	0	0		5	1.5	0	0	0
	6	1.7	1.2	1.2	1.4		6	1.4	0.7	1.4	1.6
	7	2	1.2	1.6	1.5		7	1.8	0	0	0
	8	1.1	0	0	0		8	2	0	0	0
	9	2	0	0	0		9	1.4	0	0	0
	10	1.5	0	0	0		10	1.9	0	0	0

Perlakuan	BUN						Perlakuan	BUN					
	Satelit	Jantan	T0	T30	T60	T90		T120	Satelit	Betina	T0	T30	T60
	1	1.3	1.2	1.6	1.1	1.5		1	1.6	1.1	0.8	1.3	1.5
	2	1.2	1.4	1.3	1.4	1.5		2	1.9	2	1.7	1.1	1.3
	3	1.3	1.4	1.2	1.2	0		3	1.7	1.8	1.7	1.2	0
	4	0.8	1.3	1.4	1.4	0		4	1.3	1.6	1.1	0	0
	5	1.5	1.1	0	0	0		5	1.5	1.6	0	0	0
	6	1.5	1.1	1.4	1.5	1.3		6	1.2	0.6	1	1.4	1.5
	7	1.3	1.1	1.3	1.6	1.7		7	1.6	0.5	1.5	1.5	1.3
	8	1.5	1	1.5	0	0		8	1.6	0.5	1.3	1.7	1.4
	9	1.7	1.1	0	0	0		9	1.9	1	0.6	0	0
	10	1.6	0	0	0	0		10	1.7	0	0	0	0

Rangkaian pemeriksaan darah



Tabung pengambilan darah



Alat sentrifuge



tabung reaksi



serum t(0)



serum t(30)



serum t(60)



serum t(90)



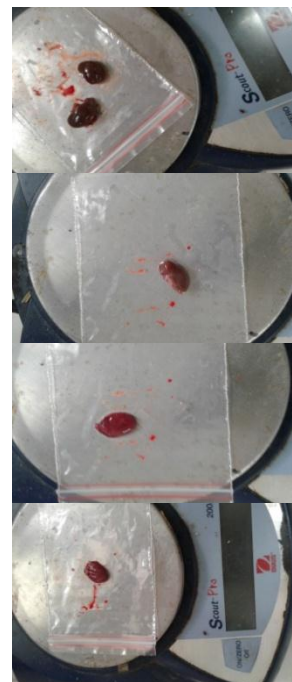
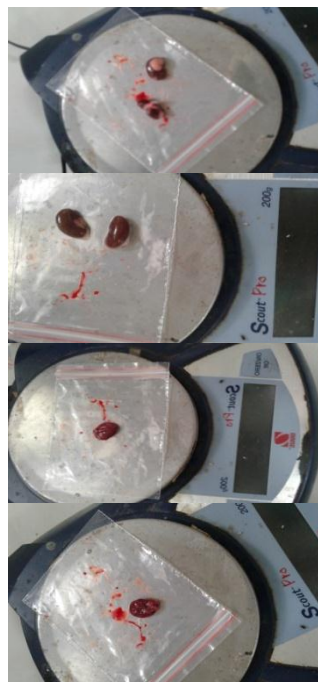
Kit assay kreatinin dan BUN



mikropipet

Lampiran 13. Hasil histopatologi

Hasil makropatologi



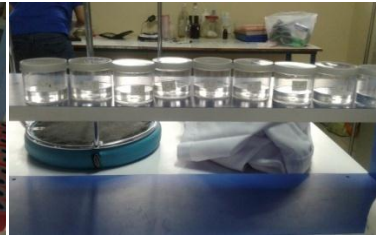
Hasil pengamatan histologi organ ginjal

Kode	Jumlah Sel				Total Kerusakan	Persentase sel normal (%)	Persentase kerusakan (%)
	Normal	Piknotik	Karioreksis	Kariolisis			
K ₁ ♂G	89	7	2	2	11	73	27
K ₂ ♂G	58	17	8	17	42		
K ₃ ♂G	72	18	6	4	28		
K ₃ ♀G	88	6	5	1	12	81,3	18,7
K ₁ ♀G	73	13	9	5	27		
K ₂ ♀G	83	8	6	3	17		
3 ₂ ♂G	75	16	3	6	25	73	27
3 ₁ ♂G	75	11	4	10	25		
3 ₃ ♂G	69	13	12	6	31		
3 ₃ ♀G	73	21	3	3	27	63,7	36,3
3 ₁ ♀G	50	22	13	12	50		
3 ₂ ♀G	68	12	13	7	32		
6 ₁ ♂G	61	14	5	20	39	64,3	35,7
6 ₂ ♂G	56	21	12	11	44		
6 ₃ ♂G	76	17	3	4	24		
6 ₃ ♀G	62	22	8	8	38	57	43
6 ₂ ♀G	61	10	18	11	39		
6 ₁ ♀G	48	27	8	12	52		
9 ₂ ♂G	54	1	9	36	46	66	34
9 ₃ ♂G	69	15	8	8	31		
9 ₄ ♂G	75	17	4	4	25		
9 ₃ ♀G	55	8	12	45	45	62,33	37,7
9 ₂ ♀G	65	9	13	13	35		
9 ₁ ♀G	67	14	11	8	33		
S ₄ ♂G	47	30	13	10	53	44	56
S ₃ ♂G	52	24	15	9	48		
S ₂ ♂G	33	24	37	6	67		
S ₂ ♀G	49	21	20	10	51	50,3	49,7
S ₄ ♀G	57	15	16	12	43		
S ₅ ♀G	45	24	19	12	55		

Pembuatan preparat serta pengecatan



Pengenceran formalin



Kelompok control



Kelompok 300mg



Kelompok 600mg



Kelompok 900 mg



Kelompok satelit



Proses deparafinasi



rehidrasasi dan pengecatan



Dehidrasasi ,clearing



Preparat ginjal



Preparat hati

Alat pembuatan preparat.



Tissue processor



Embeding



Cold plate



Mikrotom



Waterbath



Hot plate

Lampiran 14. Hasil Analisis Statistik

Data statistik berat badan tikus.

1. Hasil uji Two-Way ANOVA tikus jantan.

Tests of Between-Subjects Effects Tikus jantan

Dependent Variable: bbtikusjantan

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	23928.199 ^a	68	351.885	1.656	.002
Intercept	1.459E7	1	1.459E7	68640.833	.000
kelompok	10561.687	4	2640.422	12.425	.000
minggu	6364.151	16	397.759	1.872	.021
kelompok * minggu	10646.860	48	221.810	1.044	.399
Error	86493.212	407	212.514		
Total	2.113E7	476			
Corrected Total	110421.412	475			

a. R Squared = .217 (Adjusted R Squared = .086)

Post-Hoc Test

Bbtikusjantan

	kelompok	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b,c}	satelit	127	204.8425		
	kontrol	100	207.7900	207.7900	
	900mg	86		212.9651	212.9651
	600mg	83		213.2771	213.2771
	300mg	80			215.0625
	Sig.		.644	.080	.865

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 212.514.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 92.507.

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

c. Alpha = .05.

2. Hasil uji Two –Way ANOVA tikus betina

Tests of Between-Subjects Effects Tikus Betina

Dependent Variable: bbtikusbetina

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	25870.835 ^a	68	380.453	4.022	.000
Intercept	1.448E7	1	1.448E7	153045.282	.000
kelompok	15932.022	4	3983.006	42.108	.000
minggu	5157.781	16	322.361	3.408	.000
kelompok * minggu	12247.720	48	255.161	2.698	.000
Error	36606.110	387	94.589		
Total	2.017E7	456			
Corrected Total	62476.945	455			

a. R Squared = .414 (Adjusted R Squared = .311)

Post-Hoc Test

bbtikusbetina

	kelompok	N	Subset	
			1	2
Tukey HSD ^{a,b,c}	600mg	79	207.4810	
	kel.kontrol	101	207.9307	
	300mg	81	208.5432	
	satelit	130	208.6231	
	900mg	65		220.9231
	Sig.			.939

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 94.589.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 86.234.

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

Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = .05.

Uji statistik urine jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Urine Jantan T1
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.5000
	Std. Deviation	3.61313
Most Extreme Differences	Absolute	.210
	Positive	.210
	Negative	-.134
Kolmogorov-Smirnov Z		.939
Asymp. Sig. (2-tailed)		.341

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urine Jantan T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.452	4	15	.266

ANOVA

Urine Jantan T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.845	4	6.711	.455	.767
Within Groups	221.195	15	14.746		
Total	248.040	19			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Urine Jantan T2
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.8450
	Std. Deviation	3.10067
Most Extreme Differences	Absolute	.220
	Positive	.220
	Negative	-.117
Kolmogorov-Smirnov Z		.983
Asymp. Sig. (2-tailed)		.289

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urine Jantan T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.629	4	15	.029

ANOVA

Urine Jantan T2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44.387	4	11.097	1.204	.350
Within Groups	138.283	15	9.219		
Total	182.670	19			

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Urine Jantan T2

Dunnnett T3

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	-.47500	1.81010	1.000	-9.9993	9.0493
	600 mg/KgBB	-3.80000	1.93251	.534	-14.0843	6.4843
	900 mg/KgBB	-2.87500	1.71458	.660	-11.8037	6.0537
	Sate,lit 900 mg/KgBB	-.70000	1.50651	1.000	-8.3239	6.9239
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	.47500	1.81010	1.000	-9.0493	9.9993
	600 mg/KgBB	-3.32500	2.55860	.847	-13.5971	6.9471
	900 mg/KgBB	-2.40000	2.39826	.954	-12.0232	7.2232
	Sate,lit 900 mg/KgBB	-.22500	2.25421	1.000	-9.3891	8.9391
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	3.80000	1.93251	.534	-6.4843	14.0843
	300 mg/KgBB	3.32500	2.55860	.847	-6.9471	13.5971
	900 mg/KgBB	.92500	2.49195	1.000	-9.1214	10.9714
	Sate,lit 900 mg/KgBB	3.10000	2.35363	.837	-6.5761	12.7761
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	2.87500	1.71458	.660	-6.0537	11.8037
	300 mg/KgBB	2.40000	2.39826	.954	-7.2232	12.0232
	600 mg/KgBB	-.92500	2.49195	1.000	-10.9714	9.1214
	Sate,lit 900 mg/KgBB	2.17500	2.17825	.954	-6.6182	10.9682
Sate,lit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	.70000	1.50651	1.000	-6.9239	8.3239
	300 mg/KgBB	.22500	2.25421	1.000	-8.9391	9.3891
	600 mg/KgBB	-3.10000	2.35363	.837	-12.7761	6.5761
	900 mg/KgBB	-2.17500	2.17825	.954	-10.9682	6.6182

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Urine jantan T3
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.5400
	Std. Deviation	3.68987
Most Extreme Differences	Absolute	.282
	Positive	.282
	Negative	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		1.259
Asymp. Sig. (2-tailed)		.084

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urine jantan T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
12.024	4	15	.000

ANOVA

Urine jantan T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.293	4	13.573	.996	.440
Within Groups	204.395	15	13.626		
Total	258.688	19			

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Urine jantan T3

Dunnnett T3

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	-4.35000	3.00576	.768	-21.1695	12.4695
	600 mg/KgBB	-3.47500	1.99034	.630	-14.1171	7.1671
	900 mg/KgBB	-.72500	.85574	.981	-4.3260	2.8760
	Satelit 900 mg/KgBB	-2.77500	2.00036	.795	-13.4790	7.9290
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	4.35000	3.00576	.768	-12.4695	21.1695
	600 mg/KgBB	.87500	3.53998	1.000	-14.1873	15.9373
	900 mg/KgBB	3.62500	3.04997	.879	-12.7896	20.0396
	Satelit 900 mg/KgBB	1.57500	3.54563	1.000	-13.4914	16.6414
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	3.47500	1.99034	.630	-7.1671	14.1171
	300 mg/KgBB	-.87500	3.53998	1.000	-15.9373	14.1873
	900 mg/KgBB	2.75000	2.05649	.820	-7.4666	12.9666
	Satelit 900 mg/KgBB	.70000	2.73831	1.000	-10.2741	11.6741
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	.72500	.85574	.981	-2.8760	4.3260
	300 mg/KgBB	-3.62500	3.04997	.879	-20.0396	12.7896
	600 mg/KgBB	-2.75000	2.05649	.820	-12.9666	7.4666
	Satelit 900 mg/KgBB	-2.05000	2.06620	.946	-12.3278	8.2278
Satelit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	2.77500	2.00036	.795	-7.9290	13.4790
	300 mg/KgBB	-1.57500	3.54563	1.000	-16.6414	13.4914
	600 mg/KgBB	-.70000	2.73831	1.000	-11.6741	10.2741
	900 mg/KgBB	2.05000	2.06620	.946	-8.2278	12.3278

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Volume urine betina T1
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.2750
	Std. Deviation	1.18449
Most Extreme Differences	Absolute	.117
	Positive	.117
	Negative	-.094
Kolmogorov-Smirnov Z		.525
Asymp. Sig. (2-tailed)		.946

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji statistik urine betina

Test of Homogeneity of Variances

Volume urine betina T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.643	4	15	.640

ANOVA

Volume urine betina T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.060	4	1.765	1.351	.297
Within Groups	19.598	15	1.307		
Total	26.658	19			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Volume urine t2
N		20
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	4.7400
	Std. Deviation	1.45436
Most Extreme Differences	Absolute	.141
	Positive	.141
	Negative	-.130
Kolmogorov-Smirnov Z		.630
Asymp. Sig. (2-tailed)		.822

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Volume urine t2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.893	4	15	.492

ANOVA

Volume urine t2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.823	4	4.206	2.700	.071
Within Groups	23.365	15	1.558		
Total	40.188	19			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Volume urine betina t3
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.8800
	Std. Deviation	1.85092
Most Extreme Differences	Absolute	.123
	Positive	.123
	Negative	-.090
Kolmogorov-Smirnov Z		.548
Asymp. Sig. (2-tailed)		.925

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Volume urine betina t3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.738	4	15	.011

ANOVA

Volume urine betina t3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25.327	4	6.332	2.388	.097
Within Groups	39.765	15	2.651		
Total	65.092	19			

POST HOC

		300 mg/KgBB	600 mg/KgBB	900 mg/KgBB	kelompok satelit	300 mg/KgBB	600 mg/KgBB	900 mg/KgBB	kelompok satelit
Dunnett T3	Kelompok kontrol	300 mg/KgBb	-1.77500	.79935	.381	-5.0161	1.4661		
		600 mg/KgBB	-1.37500	.69926	.511	-4.4941	1.7441		
		900 mg/KgBB	-.50000	1.30767	1.000	-6.3775	5.3775		
		kelompok satelit	-3.25000	1.26721	.288	-8.8806	2.3806		
300 mg/KgBb	Kelompok kontrol	300 mg/KgBb	1.77500	.79935	.381	-1.4661	5.0161		
		600 mg/KgBB	.40000	.61203	.996	-2.2008	3.0008		
		900 mg/KgBB	1.27500	1.26318	.943	-4.6988	7.2488		
		kelompok satelit	-1.47500	1.22125	.877	-7.1861	4.2361		
600 mg/KgBB	Kelompok kontrol	300 mg/KgBb	1.37500	.69926	.511	-1.7441	4.4941		
		600 mg/KgBB	-.40000	.61203	.996	-3.0008	2.2008		
		900 mg/KgBB	.87500	1.20234	.989	-5.3968	7.1468		
		kelompok satelit	-1.87500	1.15821	.688	-7.8710	4.1210		
900 mg/KgBB	Kelompok kontrol	300 mg/KgBb	.50000	1.30767	1.000	-5.3775	6.3775		
		600 mg/KgBB	-1.27500	1.26318	.943	-7.2488	4.6988		
		900 mg/KgBB	-.87500	1.20234	.989	-7.1468	5.3968		
		kelompok satelit	-2.75000	1.60078	.625	-9.1691	3.6691		
kelompok satelit	Kelompok kontrol	300 mg/KgBb	3.25000	1.26721	.288	-2.3806	8.8806		
		600 mg/KgBB	1.47500	1.22125	.877	-4.2361	7.1861		
		900 mg/KgBB	1.87500	1.15821	.688	-4.1210	7.8710		
		kelompok satelit	2.75000	1.60078	.625	-3.6691	9.1691		

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

Uji statistik feses jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Feses Jantan T1
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.1285
	Std. Deviation	5.73902
Most Extreme Differences	Absolute	.191
	Positive	.191
	Negative	-.187
Kolmogorov-Smirnov Z		.854
Asymp. Sig. (2-tailed)		.460

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Feses Jantan T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.498	4	15	.033

ANOVA

Feses Jantan T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	108.180	4	27.045	.784	.553
Within Groups	517.610	15	34.507		
Total	625.790	19			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Feses Jantan T2
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.4460
	Std. Deviation	2.63863
Most Extreme Differences	Absolute	.181
	Positive	.181
	Negative	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		.810
Asymp. Sig. (2-tailed)		.528

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Feses Jantan T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.548	4	15	.032

ANOVA

Feses Jantan T2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.799	4	3.200	.402	.804
Within Groups	119.487	15	7.966		
Total	132.285	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Urine jantan T3

Dunnett T3

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	-4.35000	3.00576	.768	-21.1695	12.4695
	600 mg/KgBB	-3.47500	1.99034	.630	-14.1171	7.1671
	900 mg/KgBB	-.72500	.85574	.981	-4.3260	2.8760
	Satelit 900 mg/KgBB	-2.77500	2.00036	.795	-13.4790	7.9290
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	4.35000	3.00576	.768	-12.4695	21.1695
	600 mg/KgBB	.87500	3.53998	1.000	-14.1873	15.9373
	900 mg/KgBB	3.62500	3.04997	.879	-12.7896	20.0396
	Satelit 900 mg/KgBB	1.57500	3.54563	1.000	-13.4914	16.6414
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	3.47500	1.99034	.630	-7.1671	14.1171
	300 mg/KgBB	-.87500	3.53998	1.000	-15.9373	14.1873
	900 mg/KgBB	2.75000	2.05649	.820	-7.4666	12.9666
	Satelit 900 mg/KgBB	.70000	2.73831	1.000	-10.2741	11.6741
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	.72500	.85574	.981	-2.8760	4.3260
	300 mg/KgBB	-3.62500	3.04997	.879	-20.0396	12.7896
	600 mg/KgBB	-2.75000	2.05649	.820	-12.9666	7.4666
	Satelit 900 mg/KgBB	-2.05000	2.06620	.946	-12.3278	8.2278
Satelit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	2.77500	2.00036	.795	-7.9290	13.4790
	300 mg/KgBB	-1.57500	3.54563	1.000	-16.6414	13.4914
	600 mg/KgBB	-.70000	2.73831	1.000	-11.6741	10.2741
	900 mg/KgBB	2.05000	2.06620	.946	-8.2278	12.3278

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Feses Jantan 3
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.6840
	Std. Deviation	2.63997
Most Extreme Differences	Absolute	.101
	Positive	.101
	Negative	-.098
Kolmogorov-Smirnov Z		.453
Asymp. Sig. (2-tailed)		.986
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

Test of Homogeneity of Variances

Feses Jantan 3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.918	4	15	.160

ANOVA

Feses Jantan 3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35.044	4	8.761	1.350	.298
Within Groups	97.376	15	6.492		
Total	132.420	19			

Uji statistik feses betina

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		feses Betina t0
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.4785
	Std. Deviation	2.70924
Most Extreme Differences	Absolute	.176
	Positive	.176
	Negative	-.134
Kolmogorov-Smirnov Z		.787
Asymp. Sig. (2-tailed)		.565

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

feses Betina t0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.161	4	15	.367

ANOVA

feses Betina t0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25.788	4	6.447	.851	.515
Within Groups	113.672	15	7.578		
Total	139.460	19			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Feses Betina T2
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.0775
	Std. Deviation	2.70246
Most Extreme Differences	Absolute	.153
	Positive	.153
	Negative	-.131
Kolmogorov-Smirnov Z		.685
Asymp. Sig. (2-tailed)		.735

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Feses Betina T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.111	4	15	.388

ANOVA

Feses Betina T2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.615	4	8.404	1.199	.352
Within Groups	105.147	15	7.010		
Total	138.762	19			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Feses Betina T3
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.7980
	Std. Deviation	2.55527
Most Extreme Differences	Absolute	.239
	Positive	.239
	Negative	-.161
Kolmogorov-Smirnov Z		1.068
Asymp. Sig. (2-tailed)		.204

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Feses Betina T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.748	4	15	.011

ANOVA

Feses Betina T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25.596	4	6.399	.975	.450
Within Groups	98.463	15	6.564		
Total	124.059	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Feses Betina T3
Dunnnett T3

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	-2.65750	.66176	.125	-6.4008	1.0858
	600 mg/KgBB	-3.12000	2.21897	.788	-14.5560	8.3160
	900 mg/KgBB	-2.34250	.70315	.162	-5.7884	1.1034
	Satelit 900 mg/KgBB	-2.89500	1.90760	.735	-12.3727	6.5827
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	2.65750	.66176	.125	-1.0858	6.4008
	600 mg/KgBB	-.46250	2.12176	1.000	-12.7619	11.8369
	900 mg/KgBB	.31500	.26919	.889	-1.0347	1.6647
	Satelit 900 mg/KgBB	-.23750	1.79359	1.000	-10.6234	10.1484
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	3.12000	2.21897	.788	-8.3160	14.5560
	300 mg/KgBB	.46250	2.12176	1.000	-11.8369	12.7619
	900 mg/KgBB	.77750	2.13503	1.000	-11.3723	12.9273
	Satelit 900 mg/KgBB	.22500	2.77540	1.000	-11.0110	11.4610
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	2.34250	.70315	.162	-1.1034	5.7884
	300 mg/KgBB	-.31500	.26919	.889	-1.6647	1.0347
	600 mg/KgBB	-.77750	2.13503	1.000	-12.9273	11.3723
	Satelit 900 mg/KgBB	-.55250	1.80927	1.000	-10.7651	9.6601
Satelit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	2.89500	1.90760	.735	-6.5827	12.3727
	300 mg/KgBB	.23750	1.79359	1.000	-10.1484	10.6234
	600 mg/KgBB	-.22500	2.77540	1.000	-11.4610	11.0110
	900 mg/KgBB	.55250	1.80927	1.000	-9.6601	10.7651

Uji statistik kadar BUN jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar BUN Jantan T1
N		36
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	-5.6389
	Std. Deviation	26.56437
Most Extreme Differences	Absolute	.104
	Positive	.104
	Negative	-.071
Kolmogorov-Smirnov Z		.623
Asymp. Sig. (2-tailed)		.833

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar BUN Jantan T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.134	4	31	.008

ANOVA

Kadar BUN Jantan T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2216.907	4	554.227	.764	.557
Within Groups	22481.399	31	725.206		
Total	24698.306	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar BUN Jantan T1

Dunnett T3

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	-.95833	7.95781	1.000	-28.4428	26.5261
	600 mg/KgBB	-13.95833	13.80556	.953	-67.9471	40.0304
	900 mg/KgBB	-15.26786	15.60297	.963	-73.8930	43.3572
	Satelit 900 mg/KgBB	3.87500	10.16744	1.000	-30.0148	37.7648
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	.95833	7.95781	1.000	-26.5261	28.4428
	600 mg/KgBB	-13.00000	14.36624	.976	-67.0896	41.0896
	900 mg/KgBB	-14.30952	16.10119	.980	-73.1570	44.5380
	Satelit 900 mg/KgBB	4.83333	10.91660	1.000	-31.2527	40.9193
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	13.95833	13.80556	.953	-40.0304	67.9471
	300 mg/KgBB	13.00000	14.36624	.976	-41.0896	67.0896
	900 mg/KgBB	-1.30952	19.65998	1.000	-68.1827	65.5637
	Satelit 900 mg/KgBB	17.83333	15.69837	.924	-37.1545	72.8211
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	15.26786	15.60297	.963	-43.3572	73.8930
	300 mg/KgBB	14.30952	16.10119	.980	-44.5380	73.1570
	600 mg/KgBB	1.30952	19.65998	1.000	-65.5637	68.1827
	Satelit 900 mg/KgBB	19.14286	17.30024	.935	-40.6681	78.9539
Satelit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	-3.87500	10.16744	1.000	-37.7648	30.0148
	300 mg/KgBB	-4.83333	10.91660	1.000	-40.9193	31.2527
	600 mg/KgBB	-17.83333	15.69837	.924	-72.8211	37.1545
	900 mg/KgBB	-19.14286	17.30024	.935	-78.9539	40.6681

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar BUN Jantan T2
N		29
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.6552
	Std. Deviation	16.66964
Most Extreme Differences	Absolute	.116
	Positive	.116
	Negative	-.086
Kolmogorov-Smirnov Z		.622
Asymp. Sig. (2-tailed)		.834

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar BUN Jantan T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.914	4	24	.141

ANOVA

Kadar BUN Jantan T2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2042.904	4	510.726	2.136	.107
Within Groups	5737.648	24	239.069		
Total	7780.552	28			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar BUN Jantan T3
N		23
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16.2174
	Std. Deviation	19.83559
Most Extreme Differences	Absolute	.144
	Positive	.144
	Negative	-.068
Kolmogorov-Smirnov Z		.690
Asymp. Sig. (2-tailed)		.728

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar BUN Jantan T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.411	4	18	.799

ANOVA

Kadar BUN Jantan T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2591.080	4	647.770	1.923	.150
Within Groups	6064.833	18	336.935		
Total	8655.913	22			

Uji statistik kadar BUN betina

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar BUN Betina T1
N		33
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	-1.6364
	Std. Deviation	32.11777
Most Extreme Differences	Absolute	.124
	Positive	.124
	Negative	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		.712
Asymp. Sig. (2-tailed)		.691

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar BUN Betina T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.791	4	28	.045

ANOVA

Kadar BUN Betina T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5321.232	4	1330.308	1.345	.278
Within Groups	27688.405	28	988.872		
Total	33009.636	32			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar BUN Betina T1

Dunnnett T3

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	-3.30952	11.84706	1.000	-47.2323	40.6133
	600 mg/KgBB	-28.57143	15.44311	.527	-80.2380	23.0952
	900 mg/KgBB	-30.64286	29.52415	.935	-172.6212	111.3355
	Satelit 900 mg/KgBB	-4.14286	15.37251	1.000	-54.5287	46.2430
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	3.30952	11.84706	1.000	-40.6133	47.2323
	600 mg/KgBB	-25.26190	11.53223	.369	-67.8649	17.3411
	900 mg/KgBB	-27.33333	27.67992	.942	-182.8616	128.1950
	Satelit 900 mg/KgBB	-.83333	11.43751	1.000	-40.2753	38.6086
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	28.57143	15.44311	.527	-23.0952	80.2380
	300 mg/KgBB	25.26190	11.53223	.369	-17.3411	67.8649
	900 mg/KgBB	-2.07143	29.39923	1.000	-144.6753	140.5325
	Satelit 900 mg/KgBB	24.42857	15.13121	.678	-25.0860	73.9431
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	30.64286	29.52415	.935	-111.3355	172.6212
	300 mg/KgBB	27.33333	27.67992	.942	-128.1950	182.8616
	600 mg/KgBB	2.07143	29.39923	1.000	-140.5325	144.6753
	Satelit 900 mg/KgBB	26.50000	29.36220	.967	-116.0664	169.0664
Satelit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	4.14286	15.37251	1.000	-46.2430	54.5287
	300 mg/KgBB	-.83333	11.43751	1.000	-38.6086	40.2753
	600 mg/KgBB	-24.42857	15.13121	.678	-73.9431	25.0860
	900 mg/KgBB	-26.50000	29.36220	.967	-169.0664	116.0664

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kadar Bun betina T2
N		28
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	6.3571
	Std. Deviation	21.40304
Most Extreme Differences	Absolute	.104
	Positive	.063
	Negative	-.104
Kolmogorov-Smirnov Z		.549
Asymp. Sig. (2-tailed)		.924

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kadar Bun betina T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.152	4	23	.001

ANOVA

kadar Bun betina T2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6096.429	4	1524.107	5.589	.003
Within Groups	6272.000	23	272.696		
Total	12368.429	27			

Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar

Dunnnett T3

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	-6.80000*	6.77650	.952	-34.7861	21.1861
	600 mg/KgBB	-38.60000*	4.42051	.000	-54.6255	-22.5745
	900 mg/KgBB	-5.00000	23.16709	1.000	-197.2731	187.2731
	Satelit 900 mg/KgBB	-27.00000*	6.24690	.013	-48.6554	-5.3446
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	6.80000	6.77650	.952	-21.1861	34.7861
	600 mg/KgBB	-31.80000*	7.12039	.028	-59.8519	-3.7481
	900 mg/KgBB	1.80000	23.83009	1.000	-173.6474	177.2474
	Satelit 900 mg/KgBB	-20.20000	8.37752	.260	-49.5274	9.1274
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	38.60000*	4.42051	.000	22.5745	54.6255
	300 mg/KgBB	31.80000*	7.12039	.028	3.7481	59.8519
	900 mg/KgBB	33.60000	23.27001	.769	-155.6948	222.8948
	Satelit 900 mg/KgBB	11.60000	6.61837	.592	-11.0445	34.2445
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	5.00000	23.16709	1.000	-187.2731	197.2731
	300 mg/KgBB	-1.80000	23.83009	1.000	-177.2474	173.6474
	600 mg/KgBB	-33.60000	23.27001	.769	-222.8948	155.6948
	Satelit 900 mg/KgBB	-22.00000	23.68494	.948	-200.5404	156.5404
Satelit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	27.00000*	6.24690	.013	5.3446	48.6554
	300 mg/KgBB	20.20000	8.37752	.260	-9.1274	49.5274
	600 mg/KgBB	-11.60000	6.61837	.592	-34.2445	11.0445
	900 mg/KgBB	22.00000	23.68494	.948	-156.5404	200.5404

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

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar BUN Betina T3
N		22
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	13.9091
	Std. Deviation	18.33786
Most Extreme Differences	Absolute	.094
	Positive	.094
	Negative	-.065
Kolmogorov-Smirnov Z		.443
Asymp. Sig. (2-tailed)		.989

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar BUN Betina T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.114	4	17	.382

ANOVA

Kadar BUN Betina T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2183.485	4	545.871	1.902	.156
Within Groups	4878.333	17	286.961		
Total	7061.818	21			

Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar BUN Betina T3

Dunnnett T3

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	-1.66667	8.82295	1.000	-37.6995	34.3662
	600 mg/KgBB	-17.16667	10.27592	.651	-57.7761	23.4428
	900 mg/KgBB	-28.33333	15.06504	.581	-119.1622	62.4955
	Satelit 900 mg/KgBB	-16.00000	9.51256	.637	-49.1268	17.1268
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	1.66667	8.82295	1.000	-34.3662	37.6995
	600 mg/KgBB	-15.50000	10.28348	.741	-59.9180	28.9180
	900 mg/KgBB	-26.66667	15.07021	.628	-119.2966	65.9633
	Satelit 900 mg/KgBB	-14.33333	9.52074	.743	-51.7306	23.0640
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	17.16667	10.27592	.651	-23.4428	57.7761
	300 mg/KgBB	15.50000	10.28348	.741	-28.9180	59.9180
	900 mg/KgBB	-11.16667	15.96437	.992	-96.2801	73.9467
	Satelit 900 mg/KgBB	1.16667	10.88092	1.000	-40.3372	42.6706
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	28.33333	15.06504	.581	-62.4955	119.1622
	300 mg/KgBB	26.66667	15.07021	.628	-65.9633	119.2966
	600 mg/KgBB	11.16667	15.96437	.992	-73.9467	96.2801
	Satelit 900 mg/KgBB	12.33333	15.48404	.981	-74.3984	99.0650
Satelit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	16.00000	9.51256	.637	-17.1268	49.1268
	300 mg/KgBB	14.33333	9.52074	.743	-23.0640	51.7306
	600 mg/KgBB	-1.16667	10.88092	1.000	-42.6706	40.3372
	900 mg/KgBB	-12.33333	15.48404	.981	-99.0650	74.3984

Uji statistik kadar kreatinin jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Cr Jantan T1
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	-.2167
	Std. Deviation	.38730
Most Extreme Differences	Absolute	.101
	Positive	.101
	Negative	-.066
Kolmogorov-Smirnov Z		.607
Asymp. Sig. (2-tailed)		.855

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Cr Jantan T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.580	4	31	.680

ANOVA

Kadar Cr Jantan T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.797	4	.199	1.387	.261
Within Groups	4.453	31	.144		
Total	5.250	35			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Cr Jantan T2
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	-.2250
	Std. Deviation	.46927
Most Extreme Differences	Absolute	.105
	Positive	.105
	Negative	-.105
Kolmogorov-Smirnov Z		.515
Asymp. Sig. (2-tailed)		.953

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Cr Jantan T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.467	4	19	.759

ANOVA

Kadar Cr Jantan T2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.311	4	.328	1.659	.201
Within Groups	3.754	19	.198		
Total	5.065	23			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kadar Cr Jantan T3
N		19
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0421
	Std. Deviation	.28736
Most Extreme Differences	Absolute	.211
	Positive	.116
	Negative	-.211
Kolmogorov-Smirnov Z		.922
Asymp. Sig. (2-tailed)		.364

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kadar Cr Jantan T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.427	4	14	.787

ANOVA

kadar Cr Jantan T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.687	4	.172	3.009	.055
Within Groups	.799	14	.057		
Total	1.486	18			

Uji statistik kadar kreatinin betina

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Cr Betina T1
N		31
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	-.2161
	Std. Deviation	.63092
Most Extreme Differences	Absolute	.119
	Positive	.119
	Negative	-.111
Kolmogorov-Smirnov Z		.662
Asymp. Sig. (2-tailed)		.773

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Cr Betina T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.741	4	26	.171

ANOVA

Kadar Cr Betina T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.932	4	.233	.550	.700
Within Groups	11.010	26	.423		
Total	11.942	30			

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Cr Betina T2
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0080
	Std. Deviation	1.16437
Most Extreme Differences	Absolute	.275
	Positive	.275
	Negative	-.113
Kolmogorov-Smirnov Z		1.373
Asymp. Sig. (2-tailed)		.046

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Variasi Dosis		N	Mean Rank
Kadar Cr Betina T2	Kontrol Aquadestilata	5	16.40
	300 mg/KgBB	6	16.50
	600 mg/KgBB	5	13.60
	900 mg/KgBB	2	2.00
	Satelit 900 mg/KgBB	7	10.29
Total		25	

Test Statistics^{a,b}

	Kadar Cr Betina T2
Chi-Square	7.938
df	4
Asymp. Sig.	.094

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Variasi Dosis

Mann-Whitney Test

Ranks

Variasi Dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar Cr Betina T2	Kontrol Aquadestilata	5	5.80	29.00
	300 mg/KgBB	6	6.17	37.00
Total		11		

Test Statistics^a

	Kadar Cr Betina T2
Mann-Whitney U	14.000
Wilcoxon W	29.000
Z	-.185
Asymp. Sig. (2-tailed)	.853
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.931 ^b

a. Grouping Variable: Variasi Dosis

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

Variasi Dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar Cr Betina T2	Kontrol Aquadestilata	5	5.70	28.50
	600 mg/KgBB	5	5.30	26.50
Total		10		

Test Statistics^a

	Kadar Cr Betina T2
Mann-Whitney U	11.500
Wilcoxon W	26.500
Z	-.210
Asymp. Sig. (2-tailed)	.834
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^b

a. Grouping Variable: Variasi Dosis

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

Variasi Dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar Cr Betina T2	Kontrol Aquadestilata	5	5.00	25.00
	900 mg/KgBB	2	1.50	3.00
	Total	7		

Test Statistics^a

	Kadar Cr Betina T2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	3.000
Z	-1.954
Asymp. Sig. (2-tailed)	.051
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^b

a. Grouping Variable: Variasi Dosis

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

Variasi Dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar Cr Betina T2	Kontrol Aquadestilata	5	8.90	44.50
	Satelit 900 mg/KgBB	7	4.79	33.50
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kadar Cr Betina T2
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	33.500
Z	-1.970
Asymp. Sig. (2-tailed)	.049
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.048 ^b

a. Grouping Variable: Variasi Dosis

b. Not corrected for ties.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Cr Betina T3
N		22
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	-.0455
	Std. Deviation	.39488
Most Extreme Differences	Absolute	.144
	Positive	.131
	Negative	-.144
Kolmogorov-Smirnov Z		.674
Asymp. Sig. (2-tailed)		.754

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Cr Betina T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.677	4	17	.617

ANOVA

Kadar Cr Betina T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.227	4	.307	2.547	.077
Within Groups	2.048	17	.120		
Total	3.275	21			

Pemeriksaan histopatologi

Jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Pemeriksaan Histo Jantan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	35.9333
	Std. Deviation	14.26518
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.169
	Negative	-.135
Kolmogorov-Smirnov Z		.653
Asymp. Sig. (2-tailed)		.787

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Pemeriksaan Histo Jantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.993	4	10	.455

ANOVA

Pemeriksaan Histo Jantan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1698.267	4	424.567	3.690	.043
Within Groups	1150.667	10	115.067		
Total	2848.933	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Pemeriksaan Histo Jantan

(I) Variasi Dosis	(J) Variasi Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	.00000	8.75849	1.000	-19.5151	19.5151
		600 mg/KgBB	-8.66667	8.75849	.346	-28.1818	10.8485
		900 mg/KgBB	-7.00000	8.75849	.443	-26.5151	12.5151
		Satelit 900 mg/KgBB	-29.00000 [*]	8.75849	.008	-48.5151	-9.4849
300 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	600 mg/KgBB	.00000	8.75849	1.000	-19.5151	19.5151
		900 mg/KgBB	-8.66667	8.75849	.346	-28.1818	10.8485
		Satelit 900 mg/KgBB	-7.00000	8.75849	.443	-26.5151	12.5151
		Satelit 900 mg/KgBB	-29.00000 [*]	8.75849	.008	-48.5151	-9.4849
600 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	900 mg/KgBB	8.66667	8.75849	.346	-10.8485	28.1818
		Satelit 900 mg/KgBB	1.66667	8.75849	.853	-17.8485	21.1818
		Satelit 900 mg/KgBB	-20.33333 [*]	8.75849	.043	-39.8485	-.8182
		Satelit 900 mg/KgBB	-29.00000 [*]	8.75849	.008	-48.5151	-9.4849
900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	7.00000	8.75849	.443	-12.5151	26.5151
		600 mg/KgBB	7.00000	8.75849	.443	-12.5151	26.5151
		Satelit 900 mg/KgBB	-1.66667	8.75849	.853	-21.1818	17.8485
		Satelit 900 mg/KgBB	-22.00000 [*]	8.75849	.031	-41.5151	-2.4849
Satelit 900 mg/KgBB	Kontrol Aquadestilata	300 mg/KgBB	29.00000 [*]	8.75849	.008	9.4849	48.5151
		600 mg/KgBB	29.00000 [*]	8.75849	.008	9.4849	48.5151
		900 mg/KgBB	20.33333 [*]	8.75849	.043	.8182	39.8485
		900 mg/KgBB	22.00000 [*]	8.75849	.031	2.4849	41.5151

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

Histopatologi betina

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		pemeriksaan histologi betina
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	37.0667
	Std. Deviation	12.78653
Most Extreme Differences	Absolute	.111
	Positive	.080
	Negative	-.111
Kolmogorov-Smirnov Z		.429
Asymp. Sig. (2-tailed)		.993

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

pemeriksaan histologi betina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.939	4	10	.480

ANOVA

pemeriksaan histologi betina

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1600.267	4	400.067	5.809	.011
Within Groups	688.667	10	68.867		
Total	2288.933	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: pemeriksaan histologi betina

(I) variasi dosis	(J) variasi dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	kontrol aquadestilata	300 mg/KgBB	-17.66667*	6.77577	.026	-32.7640	-2.5693
		600 mg/KgBB	-24.33333*	6.77577	.005	-39.4307	-9.2360
		900 mg/KgBB	-19.00000*	6.77577	.019	-34.0974	-3.9026
		satelit 900mg/KgBB	-31.00000*	6.77577	.001	-46.0974	-15.9026
300 mg/KgBB	kontrol aquadestilata	600 mg/KgBB	17.66667*	6.77577	.026	2.5693	32.7640
		900 mg/KgBB	-6.66667	6.77577	.348	-21.7640	8.4307
		satelit 900mg/KgBB	-1.33333	6.77577	.848	-16.4307	13.7640
		kontrol aquadestilata	satelit 900mg/KgBB	-13.33333	6.77577	.077	-28.4307
600 mg/KgBB	kontrol aquadestilata	300 mg/KgBB	24.33333*	6.77577	.005	9.2360	39.4307
		900 mg/KgBB	6.66667	6.77577	.348	-8.4307	21.7640
		satelit 900mg/KgBB	5.33333	6.77577	.449	-9.7640	20.4307
		kontrol aquadestilata	satelit 900mg/KgBB	-6.66667	6.77577	.348	-21.7640
900 mg/KgBB	kontrol aquadestilata	300 mg/KgBB	19.00000*	6.77577	.019	3.9026	34.0974
		600 mg/KgBB	1.33333	6.77577	.848	-13.7640	16.4307
		satelit 900mg/KgBB	-5.33333	6.77577	.449	-20.4307	9.7640
		kontrol aquadestilata	satelit 900mg/KgBB	-12.00000	6.77577	.107	-27.0974
satelit 900mg/KgBB	kontrol aquadestilata	300 mg/KgBB	31.00000*	6.77577	.001	15.9026	46.0974
		600 mg/KgBB	13.33333	6.77577	.077	-1.7640	28.4307
		900 mg/KgBB	6.66667	6.77577	.348	-8.4307	21.7640
		kontrol aquadestilata	900 mg/KgBB	12.00000	6.77577	.107	-3.0974

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