

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG TEMU
PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) TERHADAP
MENCIT PUTIH BETINA**



Oleh:

**Harun Indah Mufidah
18123686A**

**Kepada
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2016

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG TEMU
PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) TERHADAP
MENCIT PUTIH BETINA**



Oleh:

**Harun Indah Mufidah
18123686 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul
**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG TEMU
PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) TERHADAP
MENCIT PUTIH BETINA**

Oleh:

Harun Indah Mufidah

18123686 A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal :18 Juni 2016

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi Dekan,

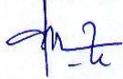
Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,



Inaratul Rizkhy H., M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,



Opstaria Saptarini, M.Si., Apt

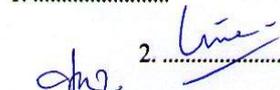
Penguji :

1. Tri Wijayanti, S.Farm., MPH., Apt.



1.

2. Dra. Lina Susanti, M.Si.



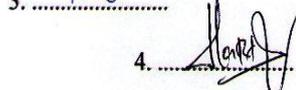
2.

3. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt



3.

4. Inaratul Rizkhy H., M.Sc., Apt.



4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Katakanlah : “Seandainya lautan menjadi tinta untuk menulis kalimat-kalimat Tuhanku, sungguh habislah lautan itu sebelum habis ditulis kalimat-kalimat Tuhanku, meskipun Kami datangkan tambahan sebanyak itu pula” (Al Kahf:109)

“Jika seorang manusia meninggal dunia, maka terputuslah segala amalnya, kecuali tiga perkara, yaitu : (1) Shadaqah jariyah, dan (2) ilmu yang bermanfaat, dan (3) anak yang shalih yang mendoakannya.” (H.R. Muslim).

*“Keridhan Allah tergantung kepada keridhaan kedua orang tua dan murka Allah pun terletak pada murka kedua orang tua”
(H.R. Al Hakim)*

*Kupersembahkan karya ini untuk:
Rabb-ku Allah SWT sebagai ungkapan rasa syukurku
Bapak dan Ibu yang selalu mengarahkan dalam ketidakberdayaanku menjalani
hidup ini dan mengerti arti hidup yang sesungguhnya
Kakak, adik, dan keponakanku yang aku sayangi
Para pendidik dan pengajar dalam hidupku
Sahabat-sahabat tercinta, dan penghuni kost An-nur
Terimakasih sudah mendoakan, dan menyemangati
Agama, almamater, bangsa dan negeriku tercinta*

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2016



(Harun Indah Mufidah)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya, sehingga pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) dalam ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini berjudul **UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) TERHADAP MENCIT PUTIH BETINA** dengan harapan dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat memberikan sumbangan pengetahuan di bidang Farmasi terutama dalam pengobatan tradisional.

Di dalam menyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. RA. Oetari, SU. MM., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Inaratul Rizkhy Hanifah, M.Sc., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan nasehat dan petunjuk dalam penyusunan skripsi ini.
4. Opstaria Saptarini, M.Si, Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyusunan skripsi ini.

6. Segenap Dosen, Karyawan dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu bagi kelancaran pelaksanaan skripsi ini.
7. Orang tua dan saudara-saudaraku yang selalu ku cintai terima kasih atas doa dan kasih sayangnya, serta dorongannya baik dalam hal moril dan materiil.
8. Sahabat-sahabatku (Depridar, Efti, Bertha, Ajeng, Santi, dkk) terima kasih atas doa, dorongan semangat, dan bantuan yang berupa pikiran, informasi maupun bahan-bahan yang penulis perlukan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, meskipun penulis sudah berusaha semaksimal mungkin di dalam menyajikannya. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang bersifat membangun dari para pembaca akan penulis terima dengan tangan terbuka dan senang hati.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat khususnya bagi Fakultas Farmasi dan bagi pembaca pada umumnya.

Surakarta, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR PERSAMAAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Temu Putih	6
1. Tanaman temu putih	6
2. Sistematika tanaman temu putih	6
3. Nama daerah	7
4. Morfologi tanaman.....	7
5. Kandungan kimia	8
6. Kegunaan Temu Putih	9
B. Simplisia	10
1. Pengertian simplisia	10
1.1. Simplisia nabati.....	10
1.2. Simplisia hewani	11

1.3. Simplisia pelikan atau mineral	11
2. Pengumpulan	11
3. Perajangan	11
4. Pengeringan	12
5. Penyimpanan	13
C. Penyarian	13
1. Pengertian penyarian	13
2. Ekstraksi	14
2.1. Perkolasi	15
2.2. Refluks	15
2.3. Soxhlet	15
2.4. Digesti	15
2.5. Infus	15
2.6. Dekok	15
2.7. Maserasi	15
3. Pelarut	16
D. Uji toksisitas	17
1. Pengertian toksisitas	17
1.1. Uji toksisitas akut	18
1.2. Uji toksisitas subkronis	18
1.3. Uji toksisitas kronis	19
2. Toksisitas akut	19
E. Organ Sasaran	24
1. Hati	24
2. Jantung	25
3. Ginjal	25
4. Lambung	26
5. Usus	27
F. Hewan uji	28
1. Mencit	28
2. Sistematika Hewan Uji	29
3. Karakteristik hewan uji	29
4. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji	30
5. Cara dan lama pemberian zat uji	30
6. Mengorbankan hewan uji	30
G. Landasan Teori	31
H. Hipotesis	34
BAB III METODE PENELITIAN	35
A. Populasi dan Sampel	35
B. Variabel Penelitian	35
1. Identifikasi variabel utama	35
2. Klasifikasi variabel utama	36
3. Definisi operasional variabel utama	36
C. Bahan dan Alat	37
1. Alat	37

2. Bahan	38
D. Jalannya Penelitian.....	38
1. Determinasi tanaman.....	38
2. Pengambilan bahan.....	38
3. Penetapan kadar air serbuk.....	39
4. Pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih.....	39
5. Uji bebas etanol.....	40
6. Identifikasi senyawa ekstrak etanolik rimpang temu putih....	40
6.1. Identifikasi flavonoid	41
6.2. Identifikasi tanin.....	41
6.3. Identifikasi saponin	41
6.4. Identifikasi alkaloid.....	41
6.5. Identifikasi minyak atsiri.....	41
7. Prosedur kerja.....	42
7.1. Persiapan hewan uji.....	42
7.2. Penetapa dosis	42
7.3. Perlakuan hewan uji	42
8. Pengamatan dan pemeriksaan	43
8.1. Perubahan perilaku (<i>behavioral profile</i>)	43
8.2. Perubahan pada <i>neurological profile</i>	44
8.3. Perubahan pada autonomic.....	44
E. Analisis Data	46

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Rimpang temu putih.....	47
1. Hasil identifikasi tanaman rimpang temu putih	47
2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk	47
3. Hasil penetapan kadar air serbuk	48
4. Hasil pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih.....	49
5. Hasil uji bebas etanol	50
6. Hasil identifikasi kandungan kimia.....	50
B. Hasil uji toksisitas akut	52
1. Hasil uji efek toksistas akut ekstrak rimpang temu putih	53
2. Hasil perhitungan berat badan mencit putih betina.....	54
3. Hasil perhitungan LD ₅₀	55
4. Hasil penimbangan berat organ.....	56
5. Hasil pemeriksaan organ secara makroskopis.....	58

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan.....	59
B. Saran	59

DAFTAR PUSTAKA	60
----------------------	----

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema pembuatan ekstrak etanol temu putih.....	40
2. Skema pengujian ekstrak etanol rimpang temu putih.	45

DAFTAR TABEL

1. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ beserta sistem urat saraf (Harmita &Radji 2004).....	21
2. Klasifikasi zat kimia berdasarkan toksisitas relatif (Lu 1995).....	22
3. Kriteria hewan uji.....	29
4. Hasil penetapan kadar air dalam serbuk rimpang temu putih	48
5. Hasil pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih.....	50
6. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang temu putih	50
7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanolik rimpang temu putih secara kualitatif	51
8. Gejala toksik yang teramti	53
9. Hasil rata-rata berat badan	55
10. Hasil jumlah kematian.....	56
11. Hasil rata-rata indeks massa organ hewan uji	56

DAFTAR PERSAMAAN

	Halaman
1. Metode Weil,CS	22
2. Metode Farmakope III.....	22
3. Metode grafik probit	23
4. Penentuan nilai LD ₅₀	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi tanaman rimpang temu putih.....	63
2. Surat keterangan hewan uji	64
3. Gambar rimpang temu putih	65
4. Alat <i>sterling bidwel</i> dan mesin penggiling	66
5. Ekstrak rimpang temu putih dan uji bebas etanol	67
6. Uji identifikasi ekstrak rimpang temu putih	67
7. Perlakuan hewan uji	70
8. Gambar organ hewan uji	71
9. Hasil persentase rendemen berat kering terhadap berat basah rimpang temu putih.....	74
10. Hasil rendemen ekstrak etanolik rimpang temu putih	74
11. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih.....	75
12. Perhitungan volume pemberian.....	75
13. Hasil penimbangan berat badan mencit putih betina	77
14. Hasil penimbangan berat organ mencit putih betina.....	78
15. Hasil perhitungan indeks organ mencit putih betina.....	79
16. Contoh perhitungan indeks massa organ mencit.....	80
17. Pengamatan gejala toksisitas.....	81
18. Hasil uji statistik berat badan hari ke-1	85
19. Hasil uji statistik berat badan hari ke-7.....	87
20. Hasil uji statistik berat badan hari ke-14.....	88

21. Hasil uji statistik indeks berat organ ginjal	90
22. Hasil uji statistik indeks berat organ hati	92
23. Hasil uji statistik indeks berat organ jantung	93
24. Hasil uji statistik indeks berat organ limfa.....	95
25. Hasil uji statistik indeks berat organ paru	97
26. Hasil uji statistik indeks berat organ usus	98
27. Hasil uji statistik indeks berat organ lambung	100

INTISARI

MUFIDAH, H.I., 2016. UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) TERHADAP MENCIT PUTIH BETINA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Tanaman rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat, salah satunya sebagai obat kanker, namun belum ada penelitian untuk meneliti standart keamanan ekstrak rimpang temu putih. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek toksisitas akut terhadap mencit betina.

Uji toksisitas akut dilakukan dengan metode *fixed dose* dengan menggunakan hewan uji mencit betina sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kontrol negatif (CMC 0,5%), dosis I (5 mg/kgBB), dosis II (50 mg/kgBB), dosis III (300 mg/kgBB), dosis IV (2000 mg/kgBB), dosis V (5000 mg/kgBB) selama 14 hari. Uji toksisitas akut ekstrak etanolik rimpang temu putih dilakukan pada mencit dengan mengamati pengaruh ekstrak terhadap perilaku hewan setelah pemberian dosis tunggal sediaan uji, perkembangan berat badan, serta berat organ pada hari ke-14.

Hasil pengamatan menunjukkan setelah pemberian ekstrak pada mencit betina sampai dosis 5000 mg/kgBB hewan uji tidak ada kematian dan efek toksik yang bermakna, sehingga ekstrak rimpang temu putih dapat dinyatakan aman. Dengan demikian LD₅₀ ekstrak rimpang temu putih pada mencit lebih besar dari 5000 mg/kgBB.

Kata kunci : toksisitas akut, *Curcuma zedoaria*, metode *fixed dose*, LD₅₀

ABSTRACT

MUFIDAH, H.I., 2016. ACUTE TOXICITY TEST OF WHITE RHIZOME (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) ETHANOLIC EXTRACT ON FEMALE WHITE MICE, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

White rhizome (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) plant contains several efficacious substances, one of which as the cancer drug, but there has been no research to examine the security standard of rhizome extract . This study was aimed to know the effects of acute toxicity on female mice.

Acute toxicity tests conducted with fixed dose method using 30 female mice divided into six groups, the negative control (CMC 0.5%), the first dose (5 mg/kgBW), the second dose (50 mg/kgBW), the third dose (300 mg/kgBW), the fourth doses (2000 mg/kgBW), and the fifth doses (5000 mg/kgBW) for 14 days. Acute toxicity test of ethanolik rhizome extract performed on mice by observing the influence of extract on animal behavior after single-dose administration, weight loss, and weight of organs on the 14th day.

The result showed after the administration of extracts on female mice to doses of 5000 mg/kgBW no mortality and significant toxic effects so rhizome extract could be declared safe. Thus Rhizome extract LD₅₀ in mice is greater than 5000 mg/kgBW.

Keywords: acute toxicity, *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe , *fixed dose* method, LD₅₀

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati cukup luas, dari 40.000 jenis flora yang tumbuh di dunia, 30.000 diantaranya tumbuh di Indonesia, akan tetapi baru sekitar 26% yang telah dibudidayakan dan 74% masih tumbuh liar di hutan. Dari 26 % yang telah dibudidayakan, sebanyak 940 jenis tanaman telah digunakan sebagai obat tradisional (Verawati 2003). Obat tradisional adalah obat yang didapat dari bahan alami (mineral, tumbuhan, atau hewan), yang diolah secara sederhana berdasarkan pengalaman dan digunakan dalam pengobatan tradisional (Syamsuni 2006)

Pengobatan secara tradisional sebagian besar menggunakan ramuan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan baik berupa kulit, batang, kayu, daun, bunga, atau bijinya. Agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggung jawabkan maka diperlukan penelitian secara ilmiah, seperti penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi, dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat pada tumbuhan (Dede dkk 2007).

Hakikatnya obat tradisional diteliti dan dikembangkan adalah untuk dimanfaatkan sebagai obat untuk manusia, sehingga penggunaan obat tradisional perlu diperhatikan dosis atau takaran saat pemberian, karena apabila dikonsumsi secara berlebihan akan menimbulkan toksik atau racun. Keracunan bahan kimia toksik dapat akut dan kronis. Pada keracunan akut, dapat timbul secara mendadak

dan berlangsung sangat cepat. Sehingga dapat dilihat atau dirasakan dalam waktu jangka pendek. Sedangkan pada keracunan kronis, zat toksik akan masuk ke dalam tubuh sedikit demi sedikit dalam jangka waktu yang lama. Waktu tersebut tidak dapat ditentukan karena tergantung dari zat toksik yang masuk ke dalam tubuh (Sumardjo 2009).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah rimpang temu putih. Rimpang temu putih merupakan salah satu tanaman temu-temuan yang mempunyai tinggi mencapai 100 cm, dan memiliki rasa tajam dan pahit (Supriadi dkk 2001). Sedangkan menurut Muhlisah (1999) *temu putih merupakan tanaman semak yang berumur tahunan, tidak merumpun, tetapi hanya beberapa pokok batang yang tumbuh jarang.*

Rimpang temu putih berkhasiat untuk mengobati pembengkakan ginjal, dapat merangsang pengeluaran gas dari perut, mengurangi rasa sakit saat haid, dan dapat digunakan sebagai obat asma. Untuk pengobatan luar rimpang temu putih dapat bermanfaat untuk mengobati memar, mengobati memar, dan sebagai bahan baku untuk kosmetika (Mursito 2001).

Peningkatan penggunaan temu putih pada masyarakat terjadi akibat adanya informasi pemasaran ekstrak atau bubuk rimpang temu putih untuk pengobatan maupun pencegahan berbagai macam penyakit terutama untuk kasus tumor dan kanker. Selain harganya relatif murah, masyarakat menganggap temu putih tidak akan menimbulkan efek samping negatif, sehingga lebih aman dibandingkan menggunakan obat-obatan dari senyawa kimia murni (Handajani 2003).

Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa (curzerenone dan alismol) yang terdapat pada rimpang temu putih mampu menginduksi apoptosis pada sel MCF-7, Ca Ski, dan HCT-116 dengan aktivasi caspase-3 (Rahman dkk 2013). Subfraksi rimpang temu putih pada konsentrasi 0.5, 1, 2, 4, 8 ppm dapat menghambat pertumbuhan sel lestari tumor HeLa, dan K-562, dan aktivitas antiproliferasi terbesar pada kedua jenis sel tumor terjadi pada pemberian subfraksi pada konsentrasi 8 ppm, yaitu sel HeLa mempunyai aktivitas penghambatan 62,45% sedangkan sel K-562 60,93% (Pinilih 2006). Salah satu kandungan dalam rimpang temu putih adalah minyak atsiri yang memiliki densitas sebesar 0,88 g/ml, kadar minyak sebesar 0,067 % b/b, dan bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} sebesar 19,96 ppm (Rita dkk 2011). Selain itu, minyak atsiri rimpang temu putih efektif sebagai larvasida dalam membunuh larva nyamuk *Aedes Aegypti* instar IV awal. Besar konsentrasi minyak atsiri rimpang temu putih yang efektif membunuh 50% populasi larva uji (LC_{50}) adalah 54,5 ppm (Sembiring & Suarnella 2012).

Penelitian diatas membuktikan bahwa rimpang temu putih memiliki kandungan yang berkhasiat dan dapat digunakan sebagai salah satu obat alternatif. Sebelum rimpang temu putih diedarkan secara luas sebaiknya diperlukan bukti secara ilmiah mengenai khasiat dan keamanannya agar dapat dikonsumsi dan tidak menimbulkan efek berbahaya bagi masyarakat, serta kedepannya dapat dikembangkan menjadi sebuah produk yang praktis dapat dikonsumsi oleh masyarakat.

Berdasarkan hal diatas, maka diperlukan penelitian uji toksisitas ekstrak etanolik rimpang temu putih. Uji toksisitas terdiri atas 2 jenis yaitu uji toksisitas non spesifik (akut, subakut/subkronis, kronis), dan uji toksisitas spesifik (teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik) (Loomis 1978). Pada penelitian ini uji toksisitas yang dilakukan adalah salah satu dari uji toksisitas non spesifik yaitu toksisitas akut. Uji toksisitas akut adalah uji toksisitas suatu senyawa yang diberikan dalam dosis tunggal pada hewan percobaan, yang diamati selama 24 jam dan dilanjutkan selama 7-14 hari. Tujuan utama dari uji toksisitas akut adalah untuk menentukan LD₅₀. LD₅₀ merupakan suatu dosis yang dapat menimbulkan kematian pada 50% hewan uji (Lu 1995).

Prinsip dari uji toksisitas akut yaitu pemberian secara oral suatu zat dalam beberapa tingkatan dosis kepada beberapa kelompok hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah mencit betina, dipilih mencit betina karena sedikit lebih sensitif dibandingkan mencit jantan. Penilaian uji toksisitas akut yang ditentukan adalah dari kematian hewan uji sebagai parameter akhir, serta hewan yang mati dan hidup selama percobaan diotopsi untuk dievaluasi gejala toksisitas dan selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ (BPOM 2014).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian diatas, didapatkan permasalahan sebagai berikut: pertama, apakah ekstrak etanolik rimpang temu putih mempunyai efek toksik terhadap mencit putih betina?

Kedua, berapakah harga lethal dose (LD_{50}) pada mencit putih betina setelah pemberian ekstrak etanolik rimpang temu putih?

Ketiga, bagaimana pengaruh ekstrak etanolik rimpang temu putih terhadap berat badan dan indeks organ mencit putih betina?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan, pertama, untuk mengetahui ada tidaknya efek toksik akut pada ekstrak etanolik rimpang temu putih terhadap mencit putih betina.

Kedua, untuk mengetahui harga lethal dose (LD_{50}) pada mencit putih betina setelah pemberian ekstrak etanolik rimpang temu putih.

Ketiga, untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanolik rimpang temu putih terhadap berat badan dan indeks organ pada mencit putih betina

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi serta pengetahuan bagi masyarakat bahwa rimpang temu putih dapat digunakan sebagai obat tradisional secara aman. Dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya. Dapat meningkatkan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi, khususnya obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Rimpang Temu Putih

1. Tanaman rimpang temu putih

Kunyit (*Curcuma domstica Roxb.*) merupakan salah satu kerabat dekat dari temu putih (Handajani 2003). Temu putih merupakan tanaman semak yang berumur tahunan, tidak tumbuh merumpun, tetapi hanya memiliki beberapa pokok batang yang tumbuh jarang. Rimpang temu putih merupakan salah satu tanaman temu-temuan yang mempunyai tinggi mencapai 100 cm, dan memiliki rasa tajam dan pahit (Supriadi dkk 2001). Temu putih hampir sama dengan temulawak bedanya adalah pada rimpang temu putih berwarna putih, dan helaian daun berwarna merah gelap (Muhlisah 1999).

2. Sistematika tanaman temu putih

Kedudukan dalam sistematika tumbuhan (taksonomi), tanaman temu putih mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma zedoaria</i> (Berg.) Roscoe (Depkes 1993).

3. Nama daerah

Tanaman temu putih memiliki nama lain yaitu kunyit putih, koneng bodas (Jawa). Sinonim dari tanaman temu putih adalah *C. zerumbet* Roxb., *Costus nigricans* Blanco., *Co. luteus* Blanco., *Amomum zedoaria* Berg., *Roscoea lutea* Hassk., *R. nigro-cillita* Hassk (Dalimartha 2003). Selain itu terdapat nama lain dari temu putih yaitu kunirputih (Sunda), temu putri (Jakarta), konyek pote, konce pet atau konce pete (Madura), temu rapet (Pantai Sumatra Timur) (Muhlisah 1999).

4. Morfologi tanaman

Temu putih dapat ditemukan tumbuh liar pada tempat terbuka yang tanahnya lembab dengan ketinggian 0-1.000 m dpl. Tanaman banyak di temukan di daerah Jawa barat, Jawa Tengah, Sumatera, Ambon, hingga Irian. Selain itu juga dibudidayakan di India, Cina, Madagaskar, Filipina, dan Malaysia (Dalimartha 2003).

Tinggi tanaman ini dapat mencapai 2 meter. Batang dari temu putih merupakan batang semu yang dibentuk dari pelepah daun yang tumbuh dari rimpang, bentuknya silindris, lunak, dan berwarna hijau pucat. Daun tunggal, bertangkai panjang, lonjong, ujung meruncing, pangkal daun tumpul, panjang 1,6-1 m, lebar 10-20 cm, pertulangan menyirip, tipis, berbulu halus, berwarna hijau bergaris ungu. Bunga majemuk berbentuk tabung, berada diketiak daun, panjang 7-15 cm, benang sari melekat pada makhkota, berwarna putih, bunga mekar secara bergiliran (Dalimartha 2003, Depkes 1993). Buahnya berbentuk kotak, bulat memiliki diameter 2-4 mm, dan berwarna hijau. Biji pada temu putih

berbentuk bulat, dan berwarna hitam. Temu putih memiliki akar serabut, dan berwarna putih (Depkes 1993).

Rimpang induk pada temu putih berbentuk jorong membulat dan mengeluarkan rimpang cabang yang cukup banyak dan tumbuh ke arah samping, ukurannya kecil, bentuknya memanjang, dan mudah dipatahkan. Warna rimpang adalah putih dengan hati yang berwarna kuning muda. Bentuk buah bundar, berserat, segitiga, kulit lunak dan tipis (Dalimartha 2003).

5. Kandungan kimia

Rimpang temu putih mengandung 1-2,5 % minyak menguap dengan komposisi utama sesquiterpen. Minyak menguap tersebut seperti *curzerenone*, *cuzerene*, *pyrocuruzerenone*, *curcumin*, *curcumemone*, *epicurcumol*, *curcumol*, *isocurcumol*, *procurcumenol*, *dehydrocurdione*, *furanodienone*, *isofuranodiene*, *zederone*, dan *curdione*. Selain itu juga mengandung flavonoid, sulfur, resin, tepung, dan sedikit lemak, serta *curcumol* dan *curdine* yang berkhasiat antikanker (Dalimartha 2003). Menurut Depkes (1993) rimpang dan daun temu putih mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol.

Berdasarkan penelitian Rita, dkk. (2010) tentang isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid pada rimpang temu putih didapatkan hasil bahwa komponen senyawa didalam ekstrak kental kloroform rimpang temu putih adalah senyawa golongan triterpenoid asam karboksilat dengan karakteristik gugus fungsi: -OH terikat, -CH, C=O asam karboksilat, -C=C, -CH₂, -CH₃, dan C-O alkohol. Sedangkan hasil analisis dengan GC-MS menunjukkan isolat aktif ekstrak n-heksana temu putih mengandung asam

benzoat, tetradekana, heksadekana, 3-metilheptadekana, oktadekana, 2-metileikosan, normal-dokosan, dan heneikosan (Rita dkk 2012). Selain itu, pada minyak atsiri terdiri dari 19 senyawa dengan 8 senyawa mayor antara lain kamfer, beta pinen, 1,3,3-trimetil-sineol, kamfor, 1-etenil-1-metil-2,4-bis (1-metiletenil) sikloheksana, kurzeren, germakron, dan velleral (Rita dkk 2011). Pada penelitian Parampoin & Gritsanapan (2009) menunjukkan bahwa dengan metode HPLC menggunakan ekstrak rimpang temu putih dengan pelarut etanol 70% mengandung kurkumin, demethoxycurcumin, dan bisdemethoxycurcumin, akan tetapi dilihat dengan metode TLC dan HPLC menunjukkan komponen utama dari rimpang temu putih adalah demethoxycurcumin, dan unsur utama kedua adalah kurkumin.

6. Kegunaan Temu Putih

Rimpang temu putih bermanfaat sebagai antikanker, antiradang, melancarkan aliran darah, peluruh haid, peluruh kentut (Dalimartha 2003). Selain itu temu putih juga bermanfaat untuk merangsang gerakan usus (karminatif), menghangatkan badan, merangsang nafsu makan, dapat sebagai stimultan, memperbaiki saluran pencernaan, tumor, wasir, perut kembung, dll (Rukmana 2004). Untuk pengobatan luar rimpang temu putih dapat bermanfaat untuk mengobati memar, bisul, mengobati memar, dan sebagai bahan baku untuk kosmetika (Mursito 2001).

Peningkatan penggunaan temu putih pada masyarakat terjadi akibat adanya informasi pemasaran ekstrak atau bubuk rimpang temu putih untuk pengobatan maupun pencegahan berbagai macam penyakit terutama untuk kasus

tumor dan kanker (Handajani 2003).Melalui uji klinis terbukti bahwa rimpang temu putih mampu mengurangi asma dan sebagai obat anti kanker (Mursito 2007).Menurut Rahman dkk (2013) senyawa (curzerenone dan alismol) menginduksi apoptosis pada sel MCF-7, Ca Ski, dan HCT-116 dengan aktivasi caspase-3. Selain itu, beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa kurkumin merupakan bahan aktif dalam rimpang temu putih yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker, dan pada ekstrak etanol temu putih dapat menghambat pertumbuhan tumor paru pada mencit (Murwanti dkk 2004), dan juga mampu menghambat sel kanker ovarium manusia (Syu dkk 1998).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga kecuali dinyatakan lain (Depkes 1995).Istilah simplisia dipakai untuk menyebutkan bahan-bahan obat alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan (Gunawan & Mulyani 2004).Berdasarkan hal tersebut simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral.

1.1 Simplisia nabati. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, pada bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu

dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lainnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1995).

1.2 Simplisia hewani. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Depkes1995). Misalnya adalah minyak ikan (*Oleum iecoris asseli*), dan madu (*Mel depuratum*) (Gunawan & Mulyani 2004).

1.3 Simplisia pelikan atau mineral. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1995). Misalnya adalah serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengumpulan

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati yang menggunakan rimpang. Pemanenan rimpang dilakukan pada awal musim kemarau (Gunawan & Mulyani 2004). Karena pada suasana basah akan menurunkan mutu dan warnanya akan hilang serta saat pengeringan warnanya akan berubah (Depkes 1985^b).

3. Perajangan

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

memperluas permukaan bahan baku karena semakin luas permukaan maka bahan baku akan cepat kering (Gunawan & Mulyani 2004).

4. Pengerinan

Pengerinan simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik untuk mencegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Pengerinan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengerin. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam proses pengerinan adalah suhu pengerinan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengerinan, dan luas permukaan bahan (Depkes 1985^b).

Proses pengerinan pada simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang dapat menguraikan lebih lanjut kandungan aktif yang terdapat pada bahan, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya). Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi dalam pengerinan yaitu waktu pengerinan, suhu pengerinan, kelembapan udara, ketebalan bahan yang dikeringkan, sirkulasi udara, dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004).

Cara pengerinan ditempat teduh adalah dengan cara bahan disebarkan rata diatas nampan lemari atau kotak kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu yang telah ditentukan atau dengan cara meletakkan dibawah atap rumah agar

terlindung dari cahaya matahari secara langsung. Untuk bahan berupa rimpang sebelum dijemur dibawah matahari harus dirajang terlebih dahulu untuk memperluas luas permukaan (Gunawan & Mulyani 2004).

5. Penyimpanan

Proses penyimpanan simplisia perlu diperhatikan beberapa hal, seperti cara pengepakan, pembungkusan, dan pewadahan, persyaratan tempat gudang simplisia, cara sortasi, cara pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya. Penyebab utama kerusakan dari simplisia adalah air dan kelembaban. Kadar air simplisia yang disimpan perlu diperhatikan dan dijaga. Karena apabila kadar air pada simplisia tinggi akan mengakibatkan tumbuhnya kapang atau mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan perubahan kimia pada senyawa aktif dan menurunnya mutu simplisia tersebut (Depkes 1985^b). Apabila tidak dinyatakan lain, simplisia disimpan di tempat terlindung dari sinar matahari dan pada suhu kamar. Untuk simplisia yang mudah menyerap air harus disimpan dalam wadah tertutup rapat yang berisi kapur tohor (Depkes 1995).

C. Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian merupakan peristiwa pemindahan massa. Zat aktif yang berada dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif akan berada dalam cairan penyari tersebut. Dalam proses penyarian dipengaruhi oleh derajat kehalusan serbuk, perbedaan konsentrasi yang terdapat mulai dari pusat butir serbuk simplisia sampai ke permukaannya (Gunawan & Mulyani 2004).

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan beberapa faktor diantaranya adalah murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat yang berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan diperbolehkan dalam peraturan (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian sampai memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes 1985^a). Ekstraksi adalah penarikan zatpokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat berasal dari tumbuh-tumbuhan atau hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan. Zat aktif dari tanaman obat yang secara umum mempunyai sifat kimia yang sama, mempunyai sifat kelarutan yang sama dan dapat diekstraksi secara simultan dengan pelarut tunggal atau campuran. Proses ekstraksi mengumpulkan zat aktif dari bahan mentah obat dan mengeluarkannya dari bahan sampingan yang tidak diperlukan. Metode ekstraksi dilakukan berdasarkan persamaan faktor sifat dari suatu bahan mentah atau simplisia yang disesuaikan dengan macam metode ekstraksi yang digunakan untuk memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel 1989).

2.1. Perkolasi. Perkolasi merupakan cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi terus menerus dilakukan sampai diperoleh ekstrak. Umumnya menggunakan temperatur ruangan dan pelarut yang digunakan selalu baru (Depkes 1986).

2.2. Refluks. Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu, dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali.

2.3. Soxhlet. Soxhlet merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dengan menggunakan alat khusus, sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2.4. Digesti. Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

2.5. Infus. Infus merupakan sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati (Depkes 1986).

2.6. Dekok. Dekok merupakan infus pada waktu yang lebih lama $\geq 30^\circ\text{C}$ dengan temperatur sampai titik didih air (Depkes 1986).

2.7. Maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi cair padat dengan cara yang sederhana. Metode maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari.

Keuntungan dari metode ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan peralatannya sederhana, sedangkan kerugiannya adalah pengerjaan yang lama dan penyarian yang kurang sempurna (Depkes 1986).

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan kedalam sebuah bejana ditambahkan 75 bagian penyari kemudian ditutup (Anief 2000). Rendaman sebaiknya dikocok berulang-ulang minimal 3 kali sehari hal ini bertujuan untuk mempercepat konsentrasi bahan ekstraksi menjadi seimbang. Waktu lamanya maserasi \pm 4-10 hari agar bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak yang terbentuk saat penghalusan dapat larut dan bahan kandungan dalam sel masih tetap utuh. Setelah maserasi selesai dilanjutkan dengan memeras rendaman menggunakan kain peras. Cairan maserasi dan cairan yang diperoleh dari pemerasan disatukan dengan mencuci sisa perasan dengan bahan ekstraksi diberikan pada kandungan atau jumlah yang telah diperoleh. Proses pencucian tersebut dilakukan untuk memperoleh sisa bahan ekstraktif dan untuk menyeimbangkan kembali kehilangan saat penguapan yang terjadi pada penyarian dan pengepresan, dan hasil ekstraksi disimpan dalam kondisi dingin kemudian cairannya dituang dan disaring (Voigt 1994).

3. Pelarut

Penggunaan pelarut untuk ekstraksi harus disesuaikan dengan kelarutan dari kandungan bahan simplisia. Pelarut harus masuk ke dalam simplisia, dan membran simplisia yang kondisinya harus diubah terlebih dahulu menjadi kering dan mengkerut, sehingga bahan pelarut dapat masuk ke dalam simplisia. Stabilitas

zat aktif tumbuhan merupakan sifat yang penting untuk memperoleh sediaan obat yang tepat, sehingga banyak zat aktif tumbuhan yang larut dalam air atau alkohol karena kepolarannya (Voigt 1994).

Pelarut organik jarang digunakan dalam penyarian, kecuali dalam proses penyarian tertentu. Dalam proses penyarian menurut Farmakope Indonesia menetapkan cairan penyari adalah air, etanol, air, etanol-air, atau eter (Gunawan & Mulyani 2004).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, karena pelarut etanol 70% bersifat universal, sehingga dapat menarik hampir semua golongan senyawa pada rimpang temu putih. bab dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida saponin, glikosida flavonoid, kurkumin, mukarin, antrakuinon, steroid, damar, dan klorofil, sedangkan lemak, saponin, dan tanin hanya sedikit yang larut (Depkes 1986).

D. Uji toksisitas

1. Pengertian toksisitas

Uji toksisitas merupakan suatu uji yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji (BPOM 2014). Sebelum uji toksisitas dilakukan, sebaiknya telah ada data tentang identifikasi, sifat obat, dan rencana penggunaannya karena data ini dapat digunakan untuk mengarahkan percobaan toksisitas yang akan dilakukan untuk meneliti berbagai efek yang berhubungan dengan cara dan masa pemberian suatu sediaan obat (Harmita & Radji 2004).

Uji toksisitas terdiri atas dua jenis, yaitu uji toksisitas spesifik, dan uji toksisitas non spesifik. Uji toksisitas spesifik dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas secara khusus melalui uji teratogenik, uji mutagenik, dan uji karsinogenik. Sedangkan uji toksisitas non spesifik dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu obat pada hewan uji melalui uji toksisitas akut, sub akut/ sub kronis, dan kronis. (Loomis 1978).

1.1 Uji toksisitas akut. Ketoksikan akut merupakan derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat (7-14 hari) setelah pemberian dalam dosis tunggal. Tujuan dari uji ketoksikan akut 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 dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, dan memperoleh nilai LD₅₀ (LD₅₀ merupakan besar dosis yang dapat menyebabkan kematian (*letal dose*) pada 50% hewan uji (BPOM 2014). Evaluasi yang dilakukan tidak hanya mengenai LD₅₀, tetapi juga terhadap kelainan tingkah laku, stimulasi atau depresi sistem saraf pusat (SSP), aktivitas motorik, dan pernafasan pada tikus untuk mendapatkan gambaran tentang sebab kematian (Ganiswara 1995).

1.2 Uji toksisitas subkronis. Ketoksikan subkronis merupakan uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu, selama kurang lebih tiga bulan. Tujuan dari toksisitas subkronis adalah mengevaluasi dan menggolongkan segala efek senyawa apabila senyawa diberikan berulang terhadap hewan uji, uji toksisitas sub kronis dapat memberikan

informasi tambahan yang dapat digunakan dalam merancang uji toksisitas kronis(Loomis 1978).

1.3 Uji toksisitas kronis. Ketoksikan kronis disebut juga dengan ketoksikan jangka panjang karena penelitiannya dilakukan secara berulang-ulang selama masa hidup hewan uji, misalnya adalah 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet. Hewan uji yang digunakan adalah hewan uji yang memiliki satu spesies atau lebih, kecuali dinyatakan lain, akan tetapi dalam penelitian mencit tidak digunakan karena ukurannya yang sangat kecil. Tujuan dari uji toksisitas kronis adalah untuk menilai keamanan atau resiko ketoksikan pada tingkat dosis lazim, dan untuk mengetahui potensial karsinogenik suatu senyawa (Loomis 1978).

2. Toksisitas akut

Toksisitas akut merupakan keadaan dimana terdapat efek toksik/racun yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian zat dalam dosis tunggal atau berulang. Tujuan utama dari uji toksisitas akut adalah untuk menentukan LD₅₀. Selain itu uji toksisitas akut dapat menunjukkan organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta memberikan petunjuk tentang dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama. Prinsip dari uji ketoksikan akut yaitu pemberian secara oral suatu zat dalam beberapa tingkatan dosis kepada beberapa kelompok hewan uji, penilaian ditentukan dari kematian hewan uji sebagai parameter akhir, serta hewan yang mati dan hidup selama percobaan diotopsi untuk dievaluasi gejala toksisitas dan selanjutnya dilakukan

pengamatan secara makropatologi pada setiap organ (BPOM 2014, Harmita & Radji 2004).

Salah satu faktor yang dapat berpengaruh dalam pengujian toksisitas akut yaitu faktor lingkungan. Faktor lingkungan tersebut diantaranya adalah tempat pemeliharaan hewan uji yang dapat mempengaruhi LD₅₀ suatu bahan kimia, suhu lingkungan yang dapat mempengaruhi efek toksik, dan tingginya kelambapan relatif yang dapat meningkatkan toksisitas akut, sehingga LD₅₀ lebih rendah (Lu 1995). Hal-hal tersebut berpengaruh pada faktor-faktor terhadap LD₅₀, sehingga kondisi saat percobaan dilaksanakan harus dicatat dan dilaporkan (Harmita & Radji 2004).

Data kualitatif dari uji toksisitas akut adalah gejala klinis dan efek toksik dari senyawa uji. Dalam pengamatan dan pemeriksaan uji ketoksikan akut yang perlu diperhatikan adalah tanda-tanda ketoksikan harus dicatat, jumlah hewan yang mati dan waktu kematian harus diamati untuk memperkirakan LD₅₀, jangka waktu pengamatan harus cukup panjang karena untuk mengetahui efek yang muncul lambat. Jangka waktu pengamatan yang biasa dilakukan adalah 7-14 hari (Lu 1995). Otopsi menyeluruh harus dilaksanakan pada setiap hewan yang mati dan beberapa hewan yang tetap hidup. Otopsi digunakan sebagai informasi tentang organ sasaran terutama ketika hewan uji tidak mengalami kematian setelah pemberian dosis. Gejala klinis yang timbul selama masa uji pada hewan uji secara luas dapat berupa gangguan pada syaraf otonom, syaraf otot, perilaku, perasa, urat, darah pada jantung, mata, saluran pencernaan, dan kulit yang secara rinci dijelaskan dalam tabel 2. (Harmita & Radji 2004).

Tabel 1. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ beserta sistem urat saraf (Harmita & Radji 2004).

Sistem	Tanda-tanda ketoksikan
Syaraf Otonom	<i>Exophthalmos</i> (mata memerah), hidung berlendir, liur keluar, mencret, sering kencing, piloereksi dan <i>relaxed nictating membrane</i> .
Perilaku	Kurang tenang, gelisah, posisi duduk kepala mendongak, memandang kosong ke depan, kepala menunduk, depresi berat, kaki menggaruk-garuk, terengah-engah, mudah terganggu, sikap bermusuhan agresif maupun defensif, ketakutan, bingung, aktivitas aneh.
Perasa / Sensory	Sensitif terhadap rasa sakit, <i>righting</i> , kornea labirin (rongga telinga), refleks setempat dan kiki belakang, sensitif terhadap suara dan sentuhan, nigtamus, <i>ponation</i> .
Syaraf otot	Aktivitas meningkat atau menurun, <i>fasciculation</i> , gemetar, kejang-kejang, tidak bias digerakkan, <i>prostation</i> , ekor membengkok ke bawah kemuka, kaki belakang lemah, refleks jelek <i>ophisthonus</i> , kedutan, kematian.
Urat darah jantung	Detak jantung naik atau turun, sianosis, penyumbatan/gangguan urat darah jantung, pelebaran urat jantung, pelebaran urat darah jantung, perdarahan.
Respiratory / Pernafasan	<i>Hypopnea</i> , <i>dyspenia</i> , megap-megap, <i>apnea</i> .
Ocular / Mata	Midriasis, miosis, lakrimasi, ptosis, nistagmus, siklopedia, <i>pupillary light refleks</i> .
Gastrointestinal / Gastrourinary	Air liur keluar terus, mencret, kotoran dan air seni berdarah, sembelit, <i>rhinorrhea</i> , kencing dan buang air besar tidak terkontrol.
Cutaneous (kulit)	Alopesia, piloereksi, gemetar seperti anjing badannya basah, eritema, edema, nekrosis, (bercak-bercak), bengkak.

Data kuantitatif yang diperoleh dari uji ketoksikan akut adalah LD_{50} . LD_{50} berguna untuk mengevaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja, sebagai perencanaan penelitian selanjutnya seperti pengujian toksisitas kronik, dan toksisitas sub kronik, serta memberikan informasi tentang mekanisme toksisitas

(Lu 1995). Serta untuk menetapkan dosis yang akan membunuh 50% binatang dan menentukan “slope” (kemiringan) dari kurva dosis vs respon (Harmita & Radji 2004). Berikut klasifikasi zat kimia berdasarkan toksisitas relatif (Lu 1995).

Tabel 2. Klasifikasi zat kimia berdasarkan toksisitas relatif (Lu 1995).

Kategori	LD ₅₀
Super toksik	5 mg/kg atau kurang
Sangat toksik	5-50 mg/kg
Toksik	50-500 mg/kg
Cukup toksik	0,5-5 g/kg
Sedikit toksik	5-15 g/kg
Praktis tidak toksik	>15 g/kg

Besaran LD₅₀ dapat ditentukan selama uji toksisitas berlangsung tergantung dari lama pemberian senyawa uji kepada hewan uji, waktu pemberian senyawa uji, serta frekuensi respon pada masing-masing hewan uji. Nilai dari LD₅₀ dapat ditentukan dengan menggunakan beberapa rumus, diantaranya sebagai berikut:

Metode Weil, CS (Harmita & Radji 2004)

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

Keterangan :

- m : harga LD₅₀
- D : dosis terkecil yang digunakan
- d : log r (kelipatan dosis)
- f : faktor

Metode Farmakope III (Depkes 1979)

$$m = a - b (\sum pi - 0,5) \dots\dots\dots \text{(Persamaan 2)}$$

Keterangan :

m : $\log LD_{50}$

a : logaritma dosis terendah yang dapat menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok

b : beda logaritma dosis yang berurutan

p_i : jumlah hewan yang mati menerima dosis, i dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i .

Metode grafik probit (Harmita & Radji 2004)

$$y = a + b \cdot x \dots \dots \dots \text{(Persamaan 3)}$$

Keterangan :

y : probit = 5 (50% kematian = LD50)

bx : log dosis

Menentukan dosis dalam uji toksisitas akut menurut BPOM (2014) terdapat dua metode, yaitu metode konvensional, dan metode *fixed dose*. Metode konvensional merupakan metode yang menggunakan minimal 3 dosis yang berbeda. Dosis terendah adalah dosis yang tertinggi tidak menimbulkan kematian, dan dosis tertinggi adalah dosis terendah yang dapat menimbulkan kematian 100%. Bila dosis telah mencapai 5000 mg/kgBB hewan uji (pada tikus) tidak menimbulkan kematian, maka uji tidak perlu dilanjutkan dengan menggunakan dosis bahan uji yang lebih tinggi. Sedangkan metode *fixed dose* adalah metode yang menggunakan dosis bertingkat antara lain 5, 50, 300, 2000 mg/kgBB hewan uji (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kgBB hewan uji) (BPOM 2014).

Penelitian ini dosis ditentukan menggunakan metode *fixed dose*. Perhitungan dari metode ini berupa nilai perkiraan (*cut off*) karena tidak memungkinkan perhitungan dari LD₅₀ yang tepat. Dalam penentuan LD₅₀ perlu dipilih setidaknya dua kelompok dosis yang mampu menyebabkan kematian lebih tinggi dari 0% dan lebih rendah dari 100%. Pada metode ini penggunaan jumlah hewan uji dan dosis telah ditetapkan. Metode ini tidak hanya memperhatikan jumlah kematian hewan uji tetapi juga memperhatikan gejala-gejala klinis keracunan yang terjadi pada hewan uji.

E. Organ Sasaran

Pada pemeriksaan pascamati, dilakukan pada semua hewan yang mati, dan beberapa hewan yang hidup, terutama hewan yang tampak sakit pada akhir percobaan, hal ini dilihat secara makroskopis dengan menimbang berat organ. Penimbangan berat organ dilakukan untuk mengetahui bila kematian tidak segera terjadi setelah pemberian zat kimia, serta berat organ juga merupakan salah satu indikator yang berguna untuk toksisitas. Organ yang biasa ditimbang adalah hati, ginjal, jantung, lambung, usus (Lu 1995).

1. Hati

Hati merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh, yang memiliki berat rata-rata sekitar 1500 gram atau 2,5 % berat badan pada orang dewasa normal. Secara anatomi, hati terletak di tulang rusuk ke tiga anterior di dalam rongga abdominal. Bagian anterior pada permukaan hati dibatasi oleh lengkung diafragma, sedangkan posteriornya dibatasi oleh perut dan duodenum (Green 1996).

Hati berfungsi penting untuk mempertahankan hidup dan berperan hampir di setiap fungsi metabolik tubuh. Fungsi utama hati adalah pembentukan dan ekskresi empedu yang meliputi metabolisme garam empedu, dan metabolisme pigmen empedu. Selain itu hati juga berperan penting dalam metabolisme karbohidrat, protein, lemak, penyimpanan vitamin dan mineral, metabolisme steroid, dan detoksifikasi (Price & Wilson 2006). Pemeriksaan hati dapat dilakukan secara makroskopik, yaitu dengan melihat warna dan penampilan, seperti perlemakan hati atau sirosis, dan berat organ merupakan salah satu kriteria paling peka untuk toksisitas (Lu 1995).

2. Jantung

Jantung berfungsi sebagai pompa yang mengalirkan darah ke jaringan. Jantung memiliki empat ruangan utama yaitu atrium kiri, dan atrium kanan, serta ventrikel kiri, dan kanan. Atrium kanan berfungsi sebagai tempat penyimpanan darah dan sebagai penyalur darah dari vena-vena sirkulasi sistemik ke dalam ventrikel kanan, dan kemudian ke paru-paru. Atrium kiri berfungsi untuk menerima darah yang mengandung oksigen dari paru-paru melalui ke empat vena pulmonalis. Ventrikel kanan menghasilkan kontraksi bertekanan rendah yang cukup untuk mengalirkan darah ke dalam arteria pulmonalis. Ventrikel kiri menghasilkan tekanan yang cukup tinggi untuk mengatasi tahanan sirkulasi sistemik, dan mempertahankan aliran darah ke jaringan-jaringan perifer (Price & Wilson 2006).

3. Ginjal

Ginjal merupakan organ vital yang berperan penting dalam mempertahankan kestabilan lingkungan dalam tubuh. Ginjal mengatur keseimbangan cairan tubuh, elektrolit, dan asam basa dengan cara filtrasi darah, reabsorpsi selektif air, elektrolit, dan non elektrolit, serta mengekskresi kelebihan sebagai urin. Ginjal juga mengeluarkan sampah metabolisme (seperti urea, kreatinin, dan asam urat) dan zat kimia asing, mengskresi renin (untuk mengatur tekanan darah), mengsekresi bentuk aktif vitamin D (untuk mengatur kalsium), serta mengsekresi eritroprotein (untuk sintesis eritrosit) (Price & Wilson 2006). Pemeriksaan ginjal dapat dilakukan secara makroskopik dapat dilakukan dengan cara menimbang berat ginjal dan ditentukan pada akhir penelitian toksisitas akut dan subkronis. Perbedaan berat ginjal hewan uji dengan berat ginjal hewan pembanding akan menunjukkan lesi ginjal (Lu 1995).

4. Lambung

Secara anatomis lambung terletak pada oblik kiri ke kanan menyilang di abdomen atas tepat di bawah diafragma. Lambung terbagi atas *fundus*, *korpus*, dan *antrum pilorikum* atau *pilorus*. Lambung terdiri dari empat lapisan yaitu *tunika serosa* atau lapisan luar, muskularis, submukosa, mukosa (Price & Wilson 2006).

Tunika serosa atau lapisan luar merupakan bagian peritoneum viseralis. Dua lapisan peritoneum viseralis menyatu pada kurvatura minor lambung dan duodenum dan terus memanjang ke hati membentuk *omentum minus* (Price & Wilson 2006).

Muskularis yang tersusun dari tiga lapis yaitu lapisan longitudinal di bagian luar, lapisan sirkulasi di bagian tengah, dan lapisan oblik di bagian di bagian

dalam. Berbagai macam kombinasi susunan serabut otot akan berkontraksi untuk memecah makanan menjadi partikel-partikel yang kecil, mengaduk, dan mencampur makanan dengan cairan lambung, kemudian mendorong ke arah duodenum (Price & Wilson 2006).

Submukosa tersusun atas jaringan areolar longgar yang menghubungkan lapisan mukosa dan lapisan muskularis. Jaringan ini memungkinkan mukosa bergerak dengan gerakan peristaltic. Mukosa merupakan bagian dalam lambung yang tersusun dari lipatan-lipatan longitudinal yang disebut *rugae*, sehingga memungkinkan terjadi distensi lambung saat diisi makanan (Price & Wilson 2006)

5. Usus

Usus halus merupakan suatu tabung yang kompleks, berlipat-lipat, dan membentang dari piloris hingga katup ileosekal. Usus halus dibagi menjadi duodenum, jejunum, dan ileum. Panjang duodenum sekitar 25 cm mulai dari pilorus sampai jejunum. Pemisahan duodenum dengan jejunum ditandai dengan adanya ligamentum yang berperan sebagai ligamentum suspensorium (penggantung). Jejunum terletak di regio midabdominalis sinistra, sedangkan ileum terletak di region abdominalis dekstra sebelah bawah (Price & Wilson 2006).

Dinding usus halus terdiri dari 4 lapisan dasar. Peritoneum mempunyai lapisan viseral, parietal, dan ruang yang terletak diantara lapisan-lapisan tersebut yang dinamakan sebagai rongga peritoneum. Mesentrium merupakan bagian yang menyongkong pembuluh darah dan limfe untuk menyuplai ke usus. Omentum

majus merupakan lapisan ganda peritoneum yang menggantung dari kurvatura major lambung dan berjalan turun di depan visera abdomen. Omentum minus merupakan lipatan peritoneum yang terbentang dari kurvatura minor lambung dan bagian atas duodenum menuju hati membentuk ligamentum suspensorium hepatogastrika dan ligamentum hepatoduodenale. Omentum biasanya mengandung banyak lemak dan kelenjar limfe yang membantu melindungi rongga peritoneum terhadap infeksi (Price & Wilson 2006).

F. Hewan uji

1. Mencit

Mencit (*Mus musculus* L.) termasuk mamalia pengerat (rodensia) yang cepat berkembangbiak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar, serta sifat anatomi dan fisiologinya terkarakteristik dengan baik. Mencit memiliki ciri-ciri berupa bentuk tubuh kecil, berwarna putih, memiliki siklus estrus teratur yaitu 4-5 hari (Akbar 2010).

2. Sistematika Hewan Uji

Sistematika mencit (*Mus musculus* L.) menurut Akbar (2010) adalah sebagai berikut:

Phylum	: Chordota
Sub phylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae

Genus : Mus

Species : *Mus musculus*

3. Karakteristik hewan uji

Hewan uji yang biasa digunakan dalam penelitian adalah tikus dan mencit. Karena kedua hewan tersebut mudah didapat, ukurannya yang kecil, harganya murah, mudah ditangani, dan data toksikologinya relatif banyak (Lu 1995). Prinsip dari hewan uji yang akan digunakan adalah harus dipertimbangkan sensitivitas, cara metabolisme sediaan uji yang serupa dengan manusia. Berikut adalah kriteria hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas menurut BPOM 2014 :

Tabel 3. Kriteria hewan uji (BPOM 2014)

No	Jenis hewan	Bobot minimal	Rentang umur
1	Mencit	20 g	6-8 minggu
2	Tikus	120 g	6-8 minggu
3	Marmut	250 g	4-5 minggu
4	Kelinci	1800 g	8-9 bulan

Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah mencit betina karena sedikit lebih sensitif dibandingkan mencit betina. Sehingga sangat cocok untuk menggunakan mencit betina dalam uji toksisitas, tetapi apabila bahan uji (menurut literatur) secara toksikologi menunjukkan bahwa mencit jantan lebih sensitif, maka jenis kelamin jantan digunakan untuk uji (BPOM 2014).

4. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji

Ruangan yang digunakan sebaiknya memiliki suhu sekitar 22°C, dengan kelembapan relatif 30-70%, penerangan 12 jam terang 12 jam gelap, ruangan harus bersih, untuk mencit memiliki luas kandang 77,4 cm², tinggi 12,7 cm² (BPOM 2014).

5. Cara dan lama pemberian zat uji

Secara umum pemberian obat pada hewan uji dapat digunakan jalur oral karena jalur ini merupakan jalur yang sering dipakai manusia dalam mengkonsumsi obat. Selain itu pemberian senyawa melalui oral secara cepat akan diabsorpsi dari saluran cerna dan akan didistribusikan keseluruh organ dalam tubuh sehingga apabila senyawa uji diberikan secara berulang-ulang maka pada organ tertentu akan mengakibatkan toksik (Loomis1978). Dalam pemberian peroral pada hewan uji diberikan dengan menggunakan sonde (Harmita & Radji 2004).

6. Mengorbankan hewan uji

Pembunuhan dilakukan sedemikian rupa sehingga hewan mengalami seminimal mungkin. Dapat dilakukan dengan pemberian anestesi dengan dosis berlebih. Secara intravena untuk mencit, marmot, dan tikus dengan menggunakan kloroform, CO₂, N₂, dan inhalasi. Dapat juga secara fisik atau disembelih (Lu 1995).

G. Landasan Teori

Tanaman rimpang temu putih dapat dimanfaatkan sebagai salah satu tanaman obat tradisional, yang mengandung senyawa minyak atsiri, flavonoid,

saponin. Kandungan kimia yang terdapat dalam rimpang dan daun temu putih mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol (Depkes 1993). Flavonoid bertindak sebagai penampung radikal hidroksi dan superoksida serta melindungi membran lipid terhadap reaksi yang merusak (Robinson 1995). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air, sehingga pada konsentrasi yang rendah saponin dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah dan sangat beracun untuk ikan (Robinson 1995). Minyak atsiri memiliki bau yang khas yang berbeda-beda dari setiap tanaman. Minyak atsiri mudah menguap dalam suhu kamar, tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan baik pengaruh udara maupun sinar matahari (Gunawan & Mulyani 2004).

Berdasarkan penelitian Rita dkk (2012) isolasi ekstrak etanolik temu putih menggunakan metode GC-MS didapatkan 8 komponen senyawa utama yaitu asam benzoat, tetradekana, heksadekana, 3-metilheptadekana, oktadekana, 2-metileikosan, normal-dokosan, dan heneikosan. Dalam minyak atsiri terdiri dari 19 senyawa dengan 8 senyawa mayor antara lain kamfen (4,77%), beta pinen (4,16%), 1,3,3-trimetil sineol (7,27%), kamfor (8,27%), 1-etenil-1-metil-2,4 bis (1-metiletenil) sikloheksana (4,35%), kurkuzen (7,72%), germakron (21,85%), dan velleral (24,29%) (Rita dkk 2011).

Paramapojn & Gritsanapan (2009) mengidentifikasi senyawa ekstrak temu putih menggunakan metode HPLC, dan menunjukkan terdapat senyawa kurkumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, akan tetapi pada metode TLC dan HPLC menunjukkan bahwa komponen utama pada temu putih adalah

demethoxycurcumin, dan komponen utama kedua adalah kurkumin. Akar, dan rimpang pada temu putih mengandung senyawa terpenoid aktif, yaitu sesquiterpenes curcumenol, dan dihydrocurdione yang dianalisis menggunakan metode TLC dan HRCG. Diantara senyawa tersebut curcumenol memiliki konsentrasi nilai hambat 64%, sedangkan dihydrocurdione memiliki konsentrasi hambat 46% hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa tersebut mampu bertindak sebagai analgesik (Pamplona dkk 2006).

Menurut Alexander dkk (2001) pengaruh ekstrak rimpang temu putih terhadap kadar asam urat pada kelinci dapat menghasilkan dosis 0,9-3,6 g/1,5 kgBB untuk menurunkan kadar asam urat yang sangat nyata dibandingkan dengan kontrol negatif, dan dengan dosis 3,6 g/1,5 kgBB memiliki efek yang jauh lebih besar daripada kontrol positif. Sedangkan pada penelitian Aditiningrum (2015) uji toksisitas ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap larva udang dan embrio ikan zebra dapat menghasilkan dosis 588.29 ppm, dan 215.21 ppm membuktikan terjadinya toksisitas baik dengan metode BSLT maupun dengan metode ZFET.

Penelitian lain menunjukkan bahwa kurkumin merupakan bahan aktif dalam rimpang temu putih yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker, dan pada ekstrak etanol temu putih dapat menghambat pertumbuhan tumor paru pada mencit (Murwanti dkk 2004), dan juga mampu menghambat sel kanker ovarium manusia (Syu dkk 1998). Menurut Huang dkk (1995) temu putih dapat menghambat pembentukan sel tumor (berefek sitostatis pada sel kanker), akan tetapi dari penelitian ini dapat diketahui pula bahwa ekstrak metanol temu putih

mempunyai efek sitotastik pada sel-sel normal yang aktif mengadakan proliferasi yang dalam penelitian ini adalah spermatogenik testis.

Metode yang digunakan untuk ekstraksi pada rimpang temu putih adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol 70% berfungsi sebagai pelarut yang digunakan untuk melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil (Depkes 1986).

Keterpaparan toksikan merupakan suatu efek yang tidak diinginkan yang menyebabkan informasi tentang mekanisme biologi dan dalam kondisi zat kimia tersebut berbahaya (Loomis 1978). Uji toksisitas akut merupakan derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat (7-14 hari) setelah pemberian dalam dosis tunggal. Salah satu tujuan dari uji toksisitas akut yaitu untuk memperoleh nilai LD_{50} (LD_{50} merupakan besar dosis yang dapat menyebabkan kematian (letal dose) pada 50% hewan uji. LD_{50} merupakan dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan uji. Kegunaan nilai LD_{50} salah satunya adalah dapat mengklasifikasikan zat kimia yang sesuai dengan toksisitas relatifnya. Berdasarkan klasifikasinya suatu zat dikatakan praktis tidak toksik apabila memiliki nilai $LD_{50} > 15$ g/kgBB, dan zat dikatakan super toksik apabila nilai $LD_{50} < 5$ mg/kgBB hewan uji atau kurang. Nilai dari LD_{50} dapat dihitung dengan metode Thompson & Weil, Litchfield & Wilcoxon, Miller & Trainer, regresi linier/probit atau dengan menggunakan metode statistik lainnya (BPOM 2014).

Penentuan dosis toksik menurut BPOM (2014) terdapat dua metode, yaitu metode konvensional, dan metode *fixed dose*. Metode konvensional merupakan

metode yang menggunakan minimal tiga dosis berbeda. Dosis terendah adalah dosis tertinggi yang sama sekali tidak menimbulkan kematian, sedangkan dosis tertinggi adalah dosis terendah yang mampu menimbulkan kematian 100%, serta batas uji dosis yang digunakan adalah 5000 mg/kgBB hewan uji. Metode *fixed dose* merupakan metode yang menggunakan dosis bertingkat, antara lain : 5, 50, 300, 2000 mg/kgBB hewan uji (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kgBB hewan uji).

Tujuan dari uji toksisitas akut adalah untuk mengetahui besaran nilai LD_{50} , dapat mengetahui organ sasaran yang mungkin dirusak dan melihat efek toksik secara spesifik, serta dapat memberikan petunjuk tentang dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama (Harmita& Radji 2004).

H. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini, yaitu pertama, pemberian ekstrak etanolik temu putih dengan dosis lebih dari 5000 mg/kgBB hewan ujimenunjukkan efek toksik terhadap mencit putih betina.

Kedua, nilai LD_{50} dari ekstrak etanolik temu putih lebih dari 5000 mg/kgBB hewan ujitermasuk dalam klasifikasi cukup toksik.

Ketiga, ekstrak etanolik rimpang temu putih berpengaruh terhadap berat badan dan indeks organ pada mencit putih betina.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang dilakukan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih yang diambil secara acak, dipilih yang bersih, dan segar diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah pada bulan Januari 2016.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik dari rimpang temu putih dalam berbagai variasi dosis. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah besaran kisaran dosis lethal tengah (LD_{50}), dan gejala toksik pada mencit. Variabel ketiga dalam penelitian ini adalah hewan uji dan kondisi percobaan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali. Variabel bebas dalam adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik rimpang temu putih yang diberikan pada mencit dalam berbagai variasi dosis toksik.

Variabel tergantung adalah variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek toksisitas akut ekstrak etanolik rimpang temu putih terhadap mencit dengan melihat gejala atau efek toksik, serta nilai LD₅₀.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah berat badan, usia, lingkungan tempat hidup, dan perlakuan oleh peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, rimpang temu putih merupakan tanaman segar yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk rimpang temu putih merupakan rimpang temu putih yang diambil, dan dicuci dengan air mengalir dilanjutkan pengeringan dengan cara dioven pada suhu 40-50°C setelah kering dibuat serbuk dengan cara diblender kemudian diayak menggunakan ayakan no. 40.

Ketiga, ekstrak etanolik rimpang temu putih merupakan hasil maserasi ekstrak etanolik rimpang temu putih menggunakan pelarut etanol 70%, dan diuapkan hingga didapat ekstrak kental.

Keempat, dosis ekstrak etanolik rimpang temu putih di dapat dari metode *fixed dose* , yaitu 5, 50, 300, 2000, 5000 mg/kgBB hewan uji yang diberikan pada hewan uji

Kelima, hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah mencit putih betina yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Keenam, efek toksik yang diamati pada mencitputih betina yaitu gejala toksik meliputi tremor, kejang, *grooming*, dll, yaitu pada 30 menit setelah pemberian ekstrak etanolik rimpang temu putih, dan dilanjutkan pengamatan selama 24 jam.

Ketujuh, pengamatan terhadap hewan uji dilanjutkan sampai 14 hari untuk menentukan nilai LD₅₀. LD₅₀ ditentukan dengan cara menghitung jumlah hewan uji yang mengalami kematian, apabila hewan uji selama 14 hari tidak mengalami kematian, maka hewan uji dikorbankan dengan cara dibedah, kemudian ditimbang organ hati, usus, jantung, ginjal, lambung, limfa, dan paru-paru.

C. Bahan dan Alat

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat yang digunakan untuk membuat simplisia yaitu oven, blender, dan ayakan no. 40. Alat yang

digunakan untuk membuat ekstraksi maserasi yaitu gelas piala, batang pengaduk, penangas air, kain flannel, kertas saring, corong gelas, beaker glass, corong Buncher, vakum *rotary evaporator*.

Alat yang digunakan untuk pelakuan pada hewan uji antara lain adalah kandang mencit, neraca elektrik digunakan untuk perlakuan pada hewan uji, spuit injeksi 1,0 ml, jarum oral (kanul), dan seperangkat alat bedah (scalpel, pinset, gunting, jarum, dan meja lilin).

2. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih yang diambil di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat tradisional(B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah yang masih segar. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina umur 6-8 minggu. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etanol 70%. Kontrol negatif yang digunakan adalah Na CMC 0,5%.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dalam penelitian adalah menetapkan kebenaran rimpang temu putih yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis yang dilakukan determinasi di Universitas Setia Budi Surakarta, Jawa Tengah.

2. Pengambilan bahan

Rimpang temu putih diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat tradisional(B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah dalam keadaan segar. Pengambilan rimpang temu putih

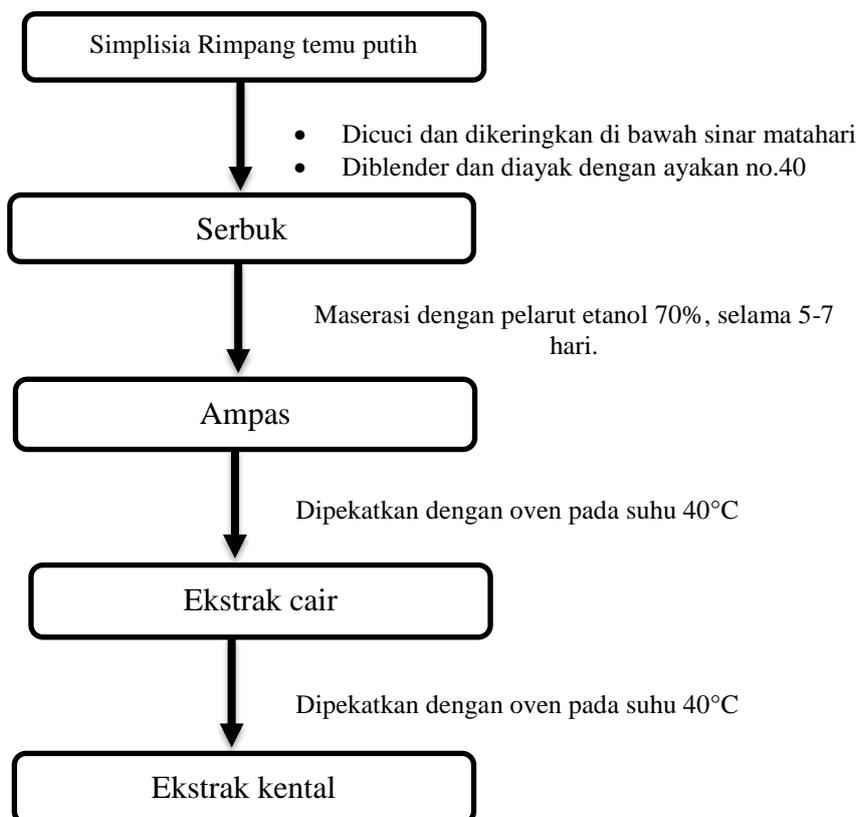
dilakukan saat rimpang masih segar. Rimpang yang telah dipanen kemudian dilakukan pencucian menggunakan air bersih dan ditiriskan. Rimpang dirajang halus, dikeringkan dengan oven pada suhu 40-50°C. Pembuatan serbuk menggunakan ayakan no 40. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian.

3. Penetapan kadar air serbuk

Penetapan kadar air pada serbuk menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Cara kerja dari alat tersebut adalah serbuk ditimbang sebanyak 20 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell*, kemudian ditambahkan *xylene* sebanyak 100 ml dan dipanaskan sampai tidak ada tetesan air lagi. Selanjutnya dilihat volume tetesan dan dihitung kadarnya dalam satuan persen (Sudarmadji *et al.* 2003). Penetapan kadar air digunakan untuk menjaga mutu dan khasiat serbuk tetap terjaga, serta untuk mengetahui kelayakan sampel dalam pengujian. Kadar air yang ditentukan kurang dari 10%.

4. Pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih

Ekstraksi pada penelitian ini adalah menggunakan metode maserasi, yaitu dengan cara serbuk rimpang temu putih sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam bejana kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 3750 ml. Maserasi dilakukan selama \pm 5 hari dengan penggojokkan 3-5 kali sehari. Campuran tersebut lalu disaring dengan menggunakan kain flanel sehingga didapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.



Gambar 1.Skema pembuatan ekstrak etanol temu putih.

5. Uji bebas etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji sudah bebas etanol atau belum dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 1978).

6. Identifikasi senyawa ekstrak etanolik rimpang temu putih

Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan dalam ekstrak rimpang temu putih. Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk menetapkan keberadaan senyawa kimi dalam ekstrak rimpang temu

putih. Identifikasi kandungan senyawa kimia dalam ekstrak etanolik meliputi senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.

6.1. Identifikasi flavonoid. Serbuk dan ekstrak rimpang temu putih ditambah serbuk Mg dan ditambahkan 2 ml larutan etanol. Dicampur dan dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai adanya warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol (Robinson 1995).

6.2. Identifikasi tanin. Serbuk dan ekstrak rimpang temu putih ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Reaksi positif akan terbentuk warna hijau violet (Depkes 1995).

6.3. Identifikasi saponin. Masukkan serbuk dan ekstrak rimpang temu putih dalam tabung reaksi, tambahkan air panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik terbentuk buih yang mantab selama tidak kurang dari 10 detik, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Buih yang timbul tidak akan hilang jika ditambah asam klorida (Depkes 1978).

6.4. Identifikasi alkaloid. Dua ml serbuk dan ekstrak rimpang temu putih masing-masing ditambahkan dengan 1ml HCl 2%, kemudian larutan dibagi tiga sama banyak dalam tabung reaksi lain. Tabung reaksi I sebagai pembanding, tabung reaksi II ditambah 2 tetes reagen dragendroff, hasil positif ditunjukkan dengan adanya kekeruhan atau endapan coklat. Tabung reaksi III adalah serbuk dan ekstrak masing-masing ditambahkan 1 ml HCl 2% dan reagen mayer, hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan putih kekuningan (Robinson 1995).

6.5. Identifikasi minyak atsiri. Larutan ekstrak \pm 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dua tetes asam sulfat pekat. Positif jika menunjukkan warna ungu (Gunawan & Mulyani 2004).

7. Prosedur kerja

7.1. Persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih betina dengan berat badan \pm 20 gram, berumur 6-8 minggu sebanyak 30 ekor. Masing-masing mencit ditimbang dan diberi tanda pengenal, kemudian dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Hewan uji mencit didapat dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi. Hewan yang diperoleh dalam keadaan sehat dan sudah diadaptasikan dalam lingkungan Universitas Setia Budi selama \pm 1 minggu. Sebelum diberi perlakuan hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 14-18 jam dan hanya diberikan minum. Setelah semua dipersiapkan, mencit dapat segera dilakukan penelitian dengan pemberian sediaan zat uji.

7.2. Penetapan dosis. Penetapan dosis dalam penelitian ini , mengacu pada metode *fixed dose* dengan menggunakan dosis bertingkat, yaitu :5, 50, 300, 2000, dan 5000 mg/kgBBhewan uji, dan kelompok kontrol negatif diberikan Na CMC 0,5%.(BPOM 2014).

7.3. Perlakuan hewan uji. Mencit putih betina yang telah dipuaskan, dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdapat 5 ekor hewan uji pembagian sebagai berikut :

Kontrol negatif : diberi Na CMC 0,5%

- Kelompok I : diberi dosis tunggal ekstrak etanol rimpang temu putih sebanyak 5 mg/kgBB hewan uji.
- Kelompok II : diberi dosis tunggal ekstrak etanol rimpang temu putih sebanyak 50 mg/kgBB hewan uji.
- Kelompok III : diberi dosis tunggal ekstrak etanol rimpang temu putih sebanyak 300 mg/kgBB hewan uji.
- Kelompok IV : diberi dosis tunggal ekstrak etanol rimpang temu putih sebanyak 2000 mg/kgBB hewan uji.
- Kelompok V : diberi dosis tunggal ekstrak etanol rimpang temu putih sebanyak 5000 mg/kgBB hewan uji.

Hewan uji yang telah ditimbang dan dikelompokkan kemudian diberikan sediaan uji sesuai dengan dosis yang telah ditentukan, diamati selama 24 jam gejala klinis yang timbul jika tidak ada kematian dilanjutkan sampai 7-14 hari untuk memperoleh data berat badan mencit.

Penentuan nilai LD₅₀:

Nilai LD₅₀ dihitung menggunakan rumus Probit, yaitu :

$$Y = a + b \cdot x \dots\dots\dots \text{(Persamaan 4)}$$

Dimana : y = probit = 5 (50% kematian = LD50)

b x = log dosis

8. Pengamatan dan pemeriksaan

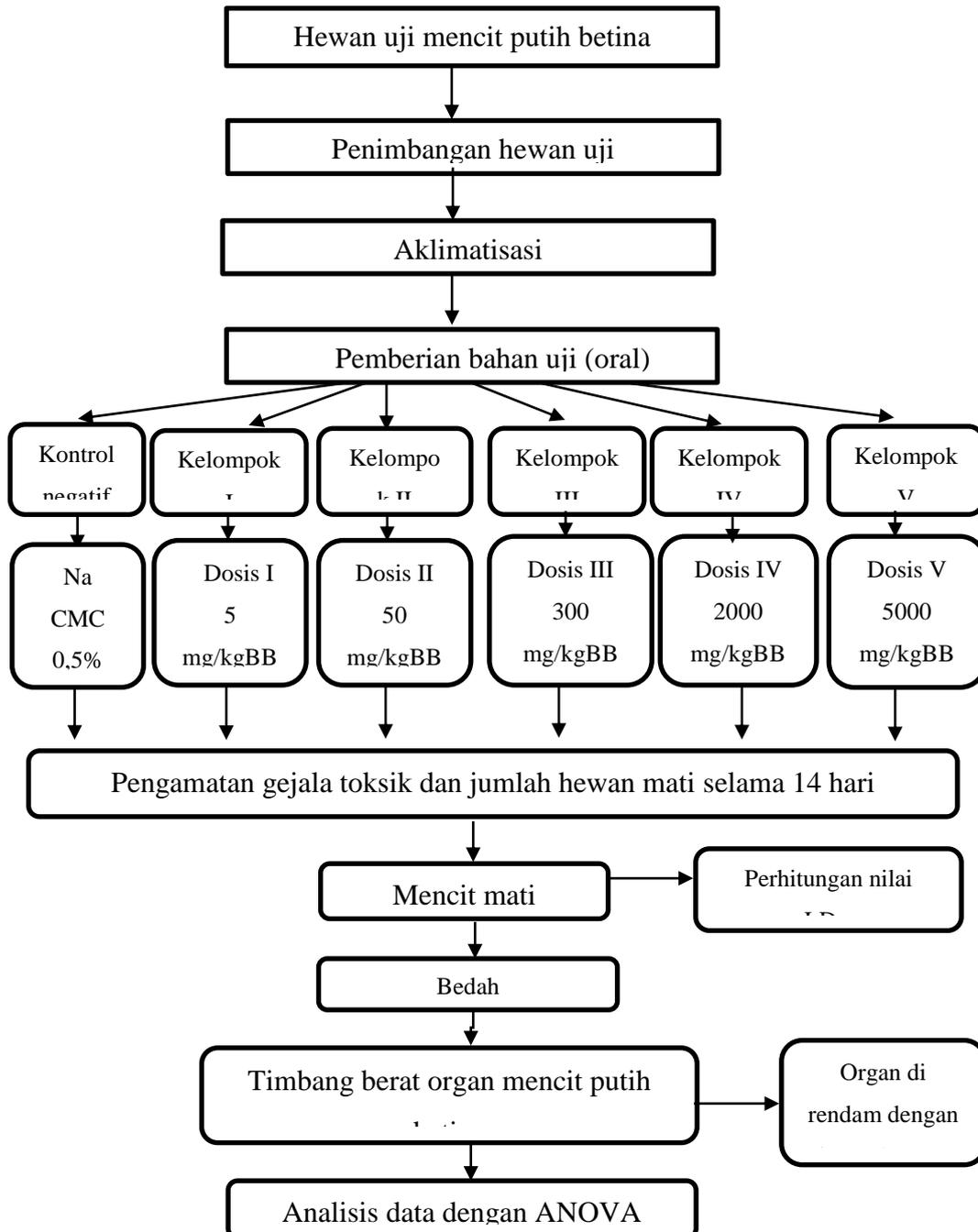
Pengamatan hewan uji dilakukan pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji, dan dilanjutkan selama 24 jam pertama, apabila hewan uji tidak ada yang mati pengamatan dilanjutkan sehari sekali setelah itu selama 14

hari. Hal-hal yang perlu diamati adalah gejala klinis diamati dari perilaku hewan uji yang abnormal dari biasanya, seperti:

8.1. Perubahan perilaku (*behavioral profile*). Uji *grooming* yaitu melihat kebiasaan mencit menjilat tubuhnya bila frekuensi meningkat menunjukkan adanya stimulasi SSP atau saraf simpatik dan bila terjadi penurunan adanya depresi, gerakan spontan terjadi bila mencit bergerak dengan cepat dan berlari adanya stimulasi SSP, dan bila mencit sampai tertidur, reaksi sentuh apabila mencit disentuh dengan pensil bila mencit tidak merespon menunjukkan adanya anestesi, serta reaksi sakit yaitu saat ekor mencit dijepit sampai mencicit bila tidak ada respon maka menunjukkan adanya analgesik sedasi.

8.2 Perubahan pada *neurological profile*. Perubahan central excitasi terdiri dari penilaian respon ketegangan terlihat pada ekor yang tegang terlihat kaku, dan tegak lurus dengan lantai karena stimulasi SSP khususnya gemetar (tremor), kejang (convulsion). Perubahan pada motor incoordinator yang dapat terlihat dari kaki hewan uji yang terbuka menunjukkan adanya depresi SSP atau fungsi neuromuscular, sempoyongan (ataksia) yang terlihat dari cara berjalan mencit, dan reaksi refleks yaitu kemampuan mencit untuk membalikkan diri apabila mencit diletakkan terletang dilantai. Perubahan refleks hewan uji dapat berupa pina refleks yaitu gerakan menghindari rangsangan pada telinga, refleks kornea yaitu gerakan menghindari rangsangan mekanis pada kornea mata, dan refleks epsilateral jika bantalan jari kaki yang dipijat dengan pinset maka terlihat usaha melipat jari kaki.

8.3 Perubahan pada autonomic. Perubahan gejala umum seperti, menggeliat tanda bahwa terjadinya iritasi peritoneal dimana mencit akan merapatkan perutnya pada lantai, piroleksi dengan tanda berdirinya bulu mencit, perubahan warna kulit menjadi pucat.



Gambar 2. Skema pengujian ekstrak etanol rimpang temu putih.

E. Analisis Data

Data yang diperoleh diolah secara statistik dengan menggunakan SPSS. Analisis pertama dilakukan dengan uji distribusi normal (Uji *Shapiro-Wilk*), kemudian diuji homogenitasnya dengan uji *Levene*, jika data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan analisa varian satu arah ANOVA untuk melihat hubungan antara kelompok perlakuan, dan apabila ditemukan perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Post-hoc*. Jika data tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan, dan apabila tidak ditemukan perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Rimpang Temu Putih

1. Hasil determinasi tanaman rimpang temu putih

Determinasi tanaman rimpang temu putih telah dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis dan mengetahui kebenaran tumbuhan yang diteliti. Berdasarkan hasil determinasi, dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman rimpang temu putih. Hasil determinasi selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk rimpang temu putih

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih yang diambil dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah pada bulan Februari 2016. Rimpang temu putih yang diambil dalam keadaan masih segar dengan kondisi fisik baik seperti tidak terserang hama penyakit, dan jumlah bahan yang diperoleh sebanyak 6500 gram rimpang temu putih segar.

Proses selanjutnya adalah rimpang temu putih dicuci dengan air bersih yang mengalir hingga bersih dan terbebas dari kotoran, ditiriskan, dan ditimbang. Rimpang bersih diiris tipis-tipis kemudian dikeringkan dalam oven suhu 40°C selama 7 hari hingga rimpang mudah dipatahkan dan didapatkan rimpang yang

benar-benar kering dengan tujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukkan oleh jamur dan bakteri. Berat rimpang setelah dikeringkan dalam oven adalah 1250 gram. Rimpang yang telah dikeringkan kemudian dihitung bobot kering terhadap berat basah sehingga diperoleh rendemen rimpang temu putih adalah 19,23%. Hasil Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 9.

Rimpang yang sudah kering kemudian dibuat serbuk dengan cara dihaluskan dengan mesin penggiling kemudian diblender dan diayak menggunakan ayakan no. 40. Pembuatan serbuk bertujuan untuk mendapatkan luas permukaan partikel serbuk lebih besar yang kontak dengan pelarut sehingga proses penyarian akan lebih efektif.

3. Hasil penetapan kadar air serbuk

Penetapan kadar air terhadap rimpang temu putih pada penelitian ini menggunakan alat *Sterling Bidwell* dengan pelarut xylen. Xylen digunakan sebagai pelarut karena memiliki titik didih lebih tinggi daripada air dan tidak bercampur dengan air sehingga memudahkan dalam penetapan kadar air.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air dalam serbuk rimpang temu putih

No.	Berat awal (g)	Volume akhir (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,9	9,5
2	20	1,6	8
3	20	1,4	7
Rata-rata			8,17 ± 1,25

Rata-rata penetapan kadar air dalam serbuk rimpang temu putih adalah 8,17%. Kadar air serbuk rimpang temu putih sudah memenuhi syarat kurang dari 10%. Kadar air simplisia disyaratkan kurang dari 10% untuk mencegah terjadinya

pembusukkan oleh jamur, bakteri, bekerjanya enzim, dan terjadinya perubahan kimia yang dapat menurunkan kualitas simplisia (Depkes 1985^a). Perhitungan kadar air dapat dilihat pada Lampiran 11.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih

Metode penyarian dalam metode ini adalah dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Metode maserasi merupakan metode yang paling sederhana. Maserasi merupakan proses pembuatan ekstraksi dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokkan atau pengadukkan pada suhu ruang dengan cara merendam simplisia dalam pelarut selama ± 5 hari. Setelah 5 hari dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtratnya.

Pelarut yang digunakan pada proses maserasi ini adalah etanol 70%. Etanol 70% bersifat lebih polar karena terdiri dari campuran etanol dan air. Senyawa yang terkandung dalam simplisia dapat tertarik dalam etanol dan dapat pula yang tertarik dalam air. Pelarut etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida saponin, glikosida flavonoid, kurkumin, mukarin, antrakuinon, steroid, damar, dan klorofil, sedangkan lemak, saponin, dan tanin hanya sedikit yang larut (Depkes 1986).

Setelah proses maserasi dilanjutkan proses pengentalan menggunakan vakum *rotary evaporator*. Prinsip kerja alat ini adalah berdasarkan pada penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu dibawah titik didih. Tujuan dari alat tersebut adalah untuk menghilangkan pelarut yang terdapat pada filtrat sehingga diperoleh ekstrak kental dari rimpang temu putih. Setelah didapat ekstrak kental, maka dapat dihitung rendemennya cara perhitungan

rendemen ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 10. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih

Simplisia (g)	Berat wadah kosong (g)	Berat wadah + ekstrak (g)	Ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	184,8	228,1	43,3	8,66

Ekstrak rimpang temu putih yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan pelarut 70% adalah 43,3 gram dan rendemen ekstrak yang didapat adalah 7,14%.

5. Hasil uji bebas etanol

Ekstrak rimpang temu putih dilakukan uji bebas etanol. Hasil uji bebas etanol dalam ekstrak rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang temu putih

Tes bebas alkohol	Pustaka	hasil
	(Praeparandi 1979)	
Ekstrak + H ₂ SO ₄ ^{conc} +CH ₃ COOH, dipanaskan	tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol	tidak adanya bau ester yang khas dari etanol

Hasil tes bebas etanol pada tabel 6 menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temu putih sudah terbebas dari pelarutnya yaitu etanol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Uji bebas etanol ekstrak rimpang temu putih bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak mengandung etanol, sehingga tidak mempengaruhi uji toksisitas pada hewan uji

6. Hasil identifikasi kandungan kimia

Hasil analisis kandungan senyawa kimia ekstrak etanolik rimpang temu putih secara kualitatif dilakukan di Laboratorim Universitas Setia Budi. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia pada serbuk, dan ekstrak rimpang temu putih. Hasil uji identifikasi pada penelitian ini berdasarkan pengamatan dan pustaka.

Tabel 7. Hasil idetifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanolik rimpang temu putih secara kualitatif.

Senyawa	Hasil			Pustaka	
	Pereaksi	Serbuk	Ekstrak		Ket
Saponin	10 ml filtrat digojok kuat-kuat selama 10 detik.	+	+	+	Terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm di tambah HCl 2 N buih tidak hilang (Depkes 1978)
Flavonoid	0,1 g Serbuk, 10 ml ekstrak + serbuk Mg + 2 ml larutan etanol, digojok kuat-kuat biarkan memisah 10 ml ekstrak, 0,1 g + sedikit lar.HCl 2N, dibagi menjadi 3,yaitu 1 digunakan sebagai	+	+	+	Merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (Robison 1995)
Alkaloid	pembanding, 2 + lar. <i>gragendorf</i> , kekeruhan atau endapan coklat, 3 + 1 ml HCl + reagen mayer, endapan putih	+	+	+	Ditambah reagen dragendorf terdapat kekeruhan atau endapan coklat (Robinson 1995)
Tanin	0,1 g serbuk, 10 ml ekstrak + 3 tetes FeCl 1%, warna hijau violet	-	-	-	Hijau violet/ biru tua (Depkes 1995)
Minyak atsiri	2 ml ekstrak, 0,1 g serbuk + 2 tetes asam sulfat pekat	+	+	+	Warna ungu (Gunawan & Mulyani 2004)

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanolik rimpang temu putih dapat dilihat bahwa flavonoid, saponin, alkaloid, dan minyak atsiri dinyatakan positif karena dapat kesesuaian hasil pengamatan dengan pustaka, sedangkan tanin dinyatakan negatif karena pada hasil diperoleh tidak ada tanda yang menunjukkan adanya kandungan senyawa tersebut. Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanolik rimpang temu putih mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, dan minyak atsiri.

B. Hasil Uji Toksisitas Akut

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina sebanyak 30 ekor, dengan berat badan \pm 20 gram dengan usia 6-8 minggu. Pemilihan jenis kelamin betina, karena memiliki tingkat sensitivitas yang lebih baik dibandingkan dengan jenis kelamin jantan, sehingga jenis kelamin betina lebih menguntungkan bila digunakan sebagai uji toksisitas (BPOM 2014).

Mencit yang digunakan diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari dengan tujuan agar mencit tersebut dapat beradaptasi dengan lingkungan sekitarnya. Mencit yang sudah diadaptasikan dibagi menjadi enam kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor mencit. Sebelum diberi perlakuan mencit ditimbang berat badan masing-masing hewan uji untuk menentukan volume pemberian sediaan uji menggunakan sonde, dan mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 14- 18 jam sehingga perut mencit dalam keadaan kosong dan tidak mempengaruhi pada proses pengamatan.

Pengamatan intensif dilakukan selama 24 jam pada waktu ke 0, $\frac{1}{2}$, 1, 2, 6, 12, 24 jam untuk melihat gejala toksik yang terjadi. Gejala toksik yang umumnya

terjadi yaitu tremor, grooming, aktivitas spontan, piroleksi, selain itu perubahan berat badan, jumlah hewan uji yang mati pada masing-masing kelompok, pengamatan organ, meliputi hati, paru-paru, limfa, jantung, usus, lambung, dan ginjal secara makroskopis. Dalam penelitian ini semua hewan uji dalam waktu 24 jam tidak mengalami kematian, sehingga pengamatan dilanjutkan sampai 14 hari, hal tersebut dilakukan untuk mengetahui adanya efek toksik yang tertunda pada hewan uji.

1. Hasil uji efek toksisitas akut ekstrak rimpang temu putih

Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini salah satunya adalah perubahan perilaku pada mencit setelah pemberian ekstrak rimpang temu putih sampai mengalami kematian. Pengamatan ini hanya dilakukan selama 24 jam.

Tabel 8. Gejala toksik yang teramati

Dosis	Tanda ketoksikan
Kontrol negatif	Mencit , dan 5 <i>Grooming</i>
	Mencit 2,3, dan 4 <i>Grooming</i> , aktivitas spontan, dan tremor
Dosis I	Mencit 1,3, dan 4 Setengah jam setelah pemberian sediaan uji mencit mengalamigrooming
	Mencit 2, dan 5 <i>Grooming</i> , aktivitas spontan
Dosis II	Mencit 1,2, dan 3 Tremor, piroleksi
	Mencit 4 <i>Grooming</i> , aktivitas spontan, tremor, dan piroleksi
	Mencit 5 <i>Grooming</i> , aktivitas spontan, dan piroleksi
Dosis III	Mencit 1 <i>Grooming</i> , piroleksi
	Mencit 2, dan 3 <i>Grooming</i> , tremor, piroleksi,
	Mencit 4 <i>Grooming</i> , aktivitas spontan, piroleksi
Dosis IV	Mencit 5 <i>Grooming</i> , aktivitas spontan, tremor, piroleksi
	Mencit 1,3, dan 4 <i>Grooming</i> , aktivitas spontan, tremor, piroleksi
	Mencit 2, dan 5 <i>Grooming</i> , tremor, piroleksi
Dosis V	Mencit 1,4, dan 5 <i>Grooming</i> , tremor, piroleksi

Bahan asing yang berasal dari luar tubuh khususnya zat kimia dapat menimbulkan efek toksik ketika masuk kedalam tubuh. Mekanismenya melalui 2 cara, yaitu secara langsung (toksik intra sel), dan secara tidak langsung (toksik ekstra sel). Toksik intra sel adalah toksisitas yang mulai dengan interaksi langsung antara zat kimia atau metabolit dengan reseptornya melalui membran sel, DNA, protein, dan energi. Toksisitas ekstra sel terjadi secara tidak langsung dengan mempengaruhi lingkungan sel sasaran tetapi dapat berpengaruh pada sel sasaran melalui sistem syaraf, dan sistem imun.

Berdasarkan hasil gejala toksik yang diperoleh pada tabel diatas, terlihat adanya perubahan perilaku pada mencit. Gejala toksik yang timbul setelah pemberian ekstrak rimpang temu putih, berhubungan dengan sistem saraf pusat. Sistem saraf pusat mengalami depresi sehingga menimbulkan gerakan-gerakan yang tidak terkontrol seperti tremor/ gemeteran, dan *grooming*.

Timbulnya gejala toksik pada mencit selain karena pengaruh tingginya dosis, dapat juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan disekitarnya. Faktor-faktor tersebut dapat berupa makanan, minuman, kondisi kandang, faktor stres mencit, serta faktor internal lain misalnya daya tahan dan kerentanan mencit.

2. Hasil perhitungan berat badan mencit putih betina

Selama pengamatan, hewan uji ditimbang setiap seminggu sekali untuk mengetahui perubahan berat badan yang terjadi. Perubahan berat badan merupakan salah satu kriteria pengamatan pada uji toksisitas akut untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh ekstrak terhadap berat badan hewan uji, selain itu

penimbangan berat badan pada hari pertama bertujuan untuk menentukan volume pemberian tiap hewan uji.

Berdasarkan hasil rata-rata berat badan menunjukkan bahwa berat badan hewan uji di setiap minggunya mengalami kenaikan, hal ini berarti ekstrak temu putih tidak mempengaruhi berat badan hewan uji, dan kenaikan berat badan pada hewan uji, berarti ekstrak temu putih tidak memiliki efek toksisitas. Hasil penimbangan dapat dilihat pada lampiran 13 menunjukkan bahwa pada data berat badan mencit pada hari-1 tidak terdistribusi normal, sedangkan pada hari ke-7, dan hari -14 data berat badan mencit terdistribusi normal. Data berat badan mencit yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* yang menunjukkan hasil pada hari ke-7 dan hari ke-14 tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap berat badan hewan uji disetiap kelompok. Data yang tidak terdistribusi normal dilanjutkan uji *Kruskal-Wallis*, menunjukkan bahwa pada hari ke-1 memiliki nilai signifikansi $>0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil rata-rata berat badan pada tabel 8 menunjukkan adanya peningkatan. Hal ini berarti ekstrak rimpang temu putih tidak mempengaruhi berat badan mencit putih betina.

Tabel9. Hasil rata-rata berat badan dapat dilihat pada tabel berikut :

Kelompok	Rata-rata berat badan \pm SD (n=5)		
	Hari-1	Hari-7	Hari-14
Kontrol negatif	24,074 \pm 5,074	25,204 \pm 4,331	25, 880 \pm 3,860
Dosis I (5 mg/kgBB)	20,59 \pm 0,443	22,93 \pm 1,297	25,736 \pm 1,798
Dosis II (50mg/kgBB)	21,63 \pm 1,699	22,358 \pm 0,953	24,018 \pm 2,419
Dosis III (300mg/kgBB)	21,036 \pm 0,537	22,66 \pm 1,177	24,412 \pm 1,53

Dosis IV (2000mg/kgBB)	21,744 ± 1,211	24,234 ± 1,372	26,802 ± 2,155
Dosis V (5000mg/kgBB)	20,708 ± 1,040	20,76 ± 0,952	21,818 ± 1,845

3. Hasil perhitungan LD₅₀

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah hewan uji yang mati selama 14 hari menunjukkan bahwa dengan pemberian sediaan uji tunggal secara peroral pada mencit putih betina sampai dengan dosis maksimal yang dapat diberikan secara teknis pada hewan uji yaitu 5000mg/kgBB hewan ujiternyata tidak menimbulkan kematian pada hewan uji, sehingga ketoksikan akut pada sediaan uji ini tidak dapat ditentukan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat dikatakan bahwa ekstrak rimpang temu putih memiliki nilai LD₅₀ lebih dari 5000 mg/kgBB, yang sesuai dengan teori termasuk klasifikasi praktis tidak toksik (Lu 1995). Jumlah hewan uji yang mati pada pemberiaan sediaan uji ekstrak etanolik rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 10. di bawah ini.

Tabel 10. Hasil jumlah hewan uji yang mati

Kelompok	Dosis sediaan uji (mg/kgBB)	Jumlah hewan uji	Jumlah hewan uji yang mati	LD₅₀
Kontrol negatif	0,5%	5	0	
Dosis I	5 mg/kgBB	5	0	Lebih dari dosis tertinggi 5000 mg/kgBB
Dosis II	50 mg/kgBB	5	0	
Dosis III	300 mg/kgBB	5	0	
Dosis IV	2000mg/kgBB	5	0	
Dosis V	5000mg/kgBB	5	0	

4. Hasil penimbangan berat organ

Berdasarkan pengamatan setelah hari ke-14 hewan uji yang masih hidup dikorbankan dengan cara dibius menggunakan kloroform, kemudian dibedah untuk diambil paru-paru, hati, jantung, ginjal, usus, limfa, dan lambung, kemudian

ditimbang dan dihitung indeks massa organ. Hasil penimbangan berat organ hewan uji dapat dilihat pada lampiran 14. dari data yang didapat dapat diperoleh hasil indeks masing-masing organ, dan tabel dibawah ini adalah rata-rata indeks berat organ. Parameter indeks organ ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh senyawa uji terhadap perkembangan organ.

Tabel 11. Hasil rata-rata indeks massa organ hewan uji

Kelompok	Rata-rata indeks berat organ (gram)±SD (n=5)						
	Paru-paru	Jantung	Hati	Ginjal	Usus	Limfa	Lambung
Kelompok negatif	0,0086 ± 0,0026	0,0056*± 0,0015	0,0443 ± 0,0086	0,0325 ± 0,0465	0,1123 ± 0,0078	0,0100 ± 0,0027	0,0206*± 0,0035
Dosis I	0,0080 ± 0,0018	0,0034*± 0,0003	0,0490 ± 0,0071	0,0145 ± 0,0019	0,1296 ± 0,0142	0,0055 ± 0,00156	0,0485*± 0,2015
Dosis II	0,0077 ± 0,0012	0,0050 *± 0,0013	0,0404 ± 0,008	0,0149 ± 0,0022	0,1055 ± 0,0197	0,0080 ± 0,0032	0,0240*± 0,0088
Dosis III	0,077 ± 0,0022	0,0030*± 0,0003	0,0445 ± 0,009	0,0121 ± 0,0017	0,1126 ± 0,0223	0,0104 ± 0,0034	0,0371*± 0,0088
Dosis IV	0,0059 ± 0,0016	0,0024*± 0,0006	0,0463 ± 0,0081	0,0123 ± 0,0026	0,1091 ± 0,0085	0,0072 ± 0,0028	0,0271*± 0,0078
Dosis V	0,0086 ± 0,002	0,0044*± 0,001	0,0582 ± 0,0082	0,0176 ± 0,0035	0,1331 ± 0,0223	0,0105 ± 0,0014	0,0321*± 0,0075

Keterangan : P<0,05 = ada perbedaan (*), P>0,05 = tidak ada perbedaan

Berdasarkan rata-rata indeks berat organ, dapat dilihat bahwa organ lambung memiliki perbedaan berat antar kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan senyawa kimia yang masuk ke dalam tubuh sebagian besar masuk melalui rute oral sehingga organ lambung dapat terpapar senyawa toksik pada awal pemejanaan. Saluran cerna merupakan tempat utama absorpsi racun atau senyawa yang diberikan secara oral. Senyawa tersebut tidak akan sebagai racun apabila belum diabsorpsi oleh saluran cerna, kecuali apabila senyawa tersebut bersifat iritatif terhadap saluran cerna (Donatus, 2005). Salah satu gangguan pada saluran cerna

adalah gastritis, yaitu suatu peradangan mukosa lambung yang dapat bersifat akut, kronik, difus, dan lokal (Price, dan Wilson 2002).

Data perhitungan indeks masing-masing organ yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *SPSS*. Pada organ hati, paru, jantung, usus, dan limfa menunjukkan bahwa data indeks berat organ tersebut normal, sehingga dilanjutkan uji *One Way Anova*. Hasil uji *Anova* menunjukkan data indeks organ hati, paru, usus, dan limfa memiliki nilai signifikansi $>0,05$ yang berarti tidak menunjukkan adanya perbedaan pada data indeks berat organ tersebut, sedangkan pada data indeks organ jantung menunjukkan nilai signifikansi $<0,05$ yang berarti adanya perbedaan, dan dapat dilanjutkan uji *Post hoc*. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa data indeks berat organ jantung tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

Data organ ginjal, dan lambung menunjukkan bahwa data indeks berat organ tersebut tidak terdistribusi normal, sehingga dilanjutkan uji *Kruskall-Wallis*. Dari hasil uji tersebut menunjukkan bahwa data indeks organ ginjal memiliki nilai signifikansi $>0,05$ yang berarti data indeks organ tersebut tidak memiliki perbedaan antar kelompok, sedangkan pada data indeks organ lambung memiliki nilai signifikansi $<0,05$ yang berarti ada perbedaan dan dilanjutkan uji *Man-Whitney*. Hasil uji tersebut menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis I, II, dan III.

5. Hasil pemeriksaan organ secara makroskopis

Organ mencit yang sudah ditimbang dilakukan pengamatan secara makroskopis yang meliputi bentuk dan warna organ. Dari hasil pengamatan secara

makroskopis terlihat tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis. Semua organ tidak mengalami kerusakan pada semua mencit. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa sediaan uji ekstrak etanolik rimpang temu putih tidak memberikan pengaruh terhadap semua organ hewan uji bila dilihat secara makroskopis, seperti terlihat pada lampiran 7.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanolik rimpang temu putih pada dosis 5000 mg/kgBB hewan uji tidak menunjukkan efek toksisitas akut terhadap mencit putih betina.
2. Nilai LD₅₀ yang didapat dari hasil uji toksisitas akut ekstrak rimpang temu putih yaitu lebih besar dari 5000 mg/kgBB hewan uji, sehingga dapat dikategorikan cukup toksik.

3. Ekstrak temu putih mempegaruhi kenaikan berat badan hewan uji, dan perhitungan indeks organ lambung menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok.

B. Saran

Berdasarkan analisa data dan kesimpulan, penulis memberikan saran, yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji toksisitas dengan metode yang berbeda agar di dapatkan informasi lebih mendalam sehingga dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPOM]. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 7 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secara In Vivo*. Jakarta: Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. Hlm 16-26.
- [Depkes]. 1978. *Farmakope Indonesia*. Edisi III Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm XXX, 65, 96, 672.
- [Depkes]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 519.
- [Depkes]. 1985^a. *Tanaman Obat Indonesia*. Jilid ke-1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 15.
- [Depkes]. 1985^b. *Cara Membuat Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 7.
- [Depkes]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 3-5, 17.
- [Depkes]. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 167.
- [Depkes]. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 324-325, 327.
- Aditioningrum, Kurnia Alysia. 2015. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih Terhadap Larva Udang Dan Embrio Ikan Zebra Yang Menggunakan Metode Uji BSLT, ZFET, Serta Analisis Dengan Instrumen KCKT dan GC-MS[Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Akbar, Budhi. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press. Hlm 6.
- Alexander, Dewi., Alam, Gemini., Kondar, Willem. 2001. Pengaruh Ekstrak Rimpang Temu putih (Curcuma zedoaria) Terhadap Kadar Asam Urat Pada Kelinci. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, Vol: 15, No : 2, hlmn : 89-94.
- Anief, Moh. 2000. *Ilmu Meracik Obat*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press. Hal 169.
- Ansel C.H. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi ke-4. Farida, Ibrahim, penerjemah; Jakarta: UI-press. Hlm 605-608.
- Dalimartha, Setiawan. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Puspa Swara. Hlm 170-173.
- Dede, Sukandar., Hermanto, S., Lestari, Emi. 2007. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Jakarta: Universitas UIN Syarif Hidayatullah, Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Hlmn 63-70.
- Donatus, I.A. 2005. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada, Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi. Hlm 117-149, 187-197.
- Ganiswara. 1995. *Farmakologi dan Terapi edisi 4*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 755-766.

- Green, L. Earl. 1996. *Biology Of The Laboratory Mouse Second Revised Edition*. New York: Dover Publication Inc. hlm 755.
- Gunawan, Didik & Mulyani, Sri. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 67-69.
- Handajani, Noor Soesanti. 2003. Aktivitas Sitostatika Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe) pada Sel-sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus* L.). *BioSmart*, Volume 5, No: 2, hlmn : 120-123.
- Harmita & Maksum Radji. 2004. *Analisis Hayati*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA, Universitas Indonesia. Hlm 47-55.
- Hedrawati, Anindita Rosenda Eka. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sactum Linn.*) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST) [Tesis]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Huang, M.T., M. Ms, Y.R. Lou, Y.P. Lu, R. Chang, H. Newemark, and A.H. Coney. 1995. Inhibitory Effect Of Curcumin On Tumorigenesis in Mice. *Proceeding ISCP*: 47-63.
- Loomis, S.L. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi III. Donatus, I.A, penerjemah. Insitut Keguruan dan Ilmu Pengetahuan. Semarang: Semarang Press. Hlm 228-233.
- Lu, C. Frank. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Jakarta: UI Press. Hlm 86-93.
- Muhlisah, Fauziah. 1999. *Temu-Temuan Dan Empon-Empon (Budi Daya dan Manfaatnya)*. Yogyakarta: Penerbit Kanisus. Hlm 77-79.
- Mursito, Bambang. 2001. *Ramuan Tradisional Untuk Gangguan Ginjal*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 138.
- Mursito, Bambang. 2007. *Ramuan Tradisional Untuk Gangguan Ginjal*. Cetakan 5. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 77.
- Murwanti, Retno., Meiyanto, Edy., Nurrochmad, Arief. and Kristina, Susi Ari. 2004. Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) Terhadap Pertumbuhan Tumor Paru Fase Post Inisiasi Pada Mencit Betina Diinduksi Benzo(a)piren. *Majalah Farmasi Indonesia*, 15(1), 7-12.
- Pamplona, Chistiane Regina., Souza, Marcia Maria de., Machado, Marina da Silvia., Filho, Valdir Cechinel., Navarro, Dionezine., Yunes, Rosendo Augusto., Monache, Franco Delle., and Niero, Rivaldo. 2006. Seasonal Variation and Analgesic Properties of Different Part From *Curcuma zedoaria* Roscoe (*Zingiberaceae*) Grow in Brazil. *Z.Naturforsh*, 61C, hlmn: 6-10.
- Paramapojn, Sompol & Gritsanapan, Wandee. 2009. Free Radical Scavenging Activity Determination and Quantitative Analysis Of Curcumin in *Curcuma zedoaria* Rhizome Extracts by HPLC Method. *Current Science*, Vol. 97, No. 77: hlmn : 1069-1073.
- Pinilih, Woro Dyah. 2006. Aktivitas Antiproliferasi Subfraksi C1 Rimpang Temu Putih Pada Sel Lestari Tumor Secara In Vitro [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Prasetyo, Samuel Meinardus Dwi. 2014. Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih Dengan Pengujian Aktivitas Sebagai Antiinflamasi [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

- Price, Sylvia Anderson & Wilson, Lorraine McCarty. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Edisi 5 & 6. Terjemahan dari *Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes*. Alih bahasa: Brahm U. Pendit, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari, Dewi Asih Maharani. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm 467, 769-795.
- Putra S., Data. 2010. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih Terhadap Gambaran Klinis Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*) Pada Proses Pembentukan Tumor Mammary Yang Diinduksi Dengan Metil N-Nitrosourea[Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Rahman, Syarifah Nur Syed Abdul., Wahid, Norhanom Abdul., Nurestri, Sri. 2013. In Vitro Morphological Assessment of Apoptosis Induced by Antiproliferative Constituents from the Rhizomes of *Curcuma zedoaria*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*: hlmn: 1-14.
- Rita, Wiwik Susanah. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *Bukit Jimbaran: Universitas Udayana, Jurusan Kimia FMIPA*. Hlmn: 20-26.
- Rita, Wiwik Susanah., Swantara, I Made Dira., Sughita, I Made., Puspawati, Ni Made., Setiani, Lestari Mamik. 2011. Uji Toksisitas dan Analisis Kandungan Senyawa Minyak Atsiri Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *Universitas Udayana, Jurusan Kimia FMIPA, jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian*. Hlm 97-102.
- Rita, Wiwik Susanah., Bawa, I G.A. Gede., Wirastiningsih, Ni Luh Putu Lilis. 2012. Skrining Awal Antitumor Melalui Pendekatan Uji Toksisitas Kandungan Senyawa Dalam Ekstrak n-heksana Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *Bukit Jimbaran: Universitas Udayana, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. Hlmn: 55-61.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kokasih Padmawinata. ITB Press. Bandung. Hlm 71-72, 156-157, 191-193.
- Rukmana, Rahmat. 2004. *Temu-temuan Apotik Hidup di Pekarangan*. Yogyakarta: Kanisius. Hlm 60.
- Sembiring, Wulan Sari RG dan Suarnella, Dodo Tandil. 2012. Effectiveness Of White Tumeric *Curcuma zedoaria* Rhizome Essential Oil As Larvacide On *Aedes Aegypti*. *Jurnal Epidemiologi dan Penyakit Bersumber Binatang (Epidemiology and Zoonosis Journal)*, Vo. 4, No. 2, hlmn.80-86.
- Smith BJ, Mangkoewidjojo S. 1998. *Pemeliharaan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 37-57.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta. Hlm64-66.

- Sumardjo, Damin. 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm 565.
- Supriadi dkk. 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia Penggunaan dan Khasiatnya*. Edisi I. Pustaka Populer. Hlm 135.
- Syamsuni.2006. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, hlmn: 47-48.
- Syu, Wan-Jr., Shen, Chien-Chan., Don, Ming Jaw., Ou, Jun Chih., Lee, Gene Hsiang., and Sun, Chang Ming. 1998. Cytotoxicity Of Curcuminoids and Some Novel Compounds From Curcuma zedoaria. *Journal of Natural Product*, 61(12), hlm 1531-1534.
- Verawati, Anis. 2003. *Pengenalan & Pengembangan Temu Putih*. Malang: Universitas Brawijaya. Hlm 17-27.
- Voigt, Rudolf. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan Oleh Soenandadi Noerono Soewandhi. Edisi Ke-5. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press. Hlm 561-563, 565-567.

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman rimpang temu putih



No : 044/DET/UPT-LAB/29/II/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Harum Indah M
NIM : 18123686 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Temu putih / *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe**

Determinasi berdasarkan : Backer : Flora of Java

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b
– 42b – 44b – 45b – 46c – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a
– 75b – 76b – 333b – 334b – 335a – 337b – 338a – 339b – 340a. familia 207. Zingiberaceae.

1a – 2b – 6b – 7a. 12. *Curcuma*. 1a – 2a. *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe

Deskripsi :

Habitus : Herba, tinggi sampai 2 m.

Batang : Semu, lunak, bulat, hijau, membentuk rimpang.

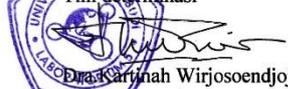
Daun : Tunggal, lonjong, ujung meruncing, pangkal tumpul, tepi rata, panjang 15-21 cm, lebar 4-6 cm, permukaan atas tulang daun berwarna ungu.

Bunga : majemuk, di ketiak daun, mahkota putih, benangsari melekat pada mahkota.

Buah : Kotak.

Akar : Serabut.

Pustaka : Backer c.A. & Brink R.C.B. (1965); *Flora of Java* (Spermatophytes only).
N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands

Surakarta, 29 Februari 2016
Tim determinasi

Dina Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

"ABIMANYU FARM"

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

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

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Harun Indah Mufidah
Nim : 18123686 A
Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Mencit Swiss
Umur : 2-3 bulan
Jenis kelamin : Betina
Jumlah : 30 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, 20 Mei 2016

Hormat kami



Sigit Pramono
"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Gambar rimpang temu putih



Tanaman rimpang temu putih



Rimpang temu putih



Rimpang temu putih kering



Serbuk rimpang temu putih

Lampiran 4. Alat maserasi dan Sterling bidwel rimpang temu putih



Botol maserasi



Alat rotary evaporator



Mesin penggiling



Proses Sterling Bidwell

Lampiran 5. Ekstrak rimpang temu putih dan uji bebas etanol



Ekstrak rimpang temu putih



Hasil uji identifikasi bebas etanol

Lampiran 6. Perlakuan hewan uji



Pemberian peroral



Mencit putih betina

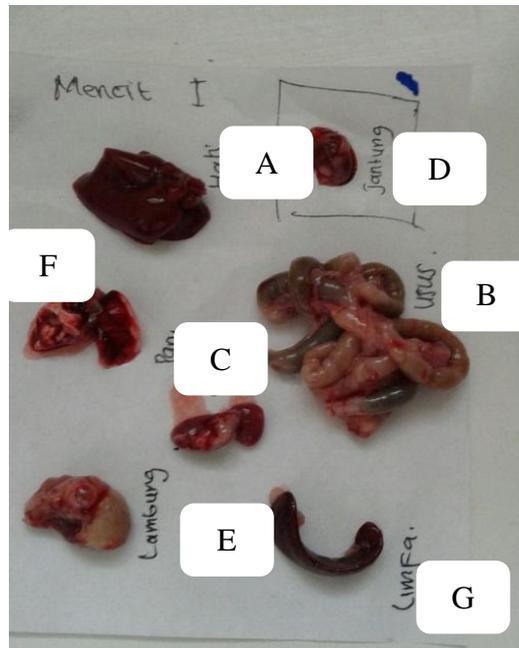


Proses pembedahan

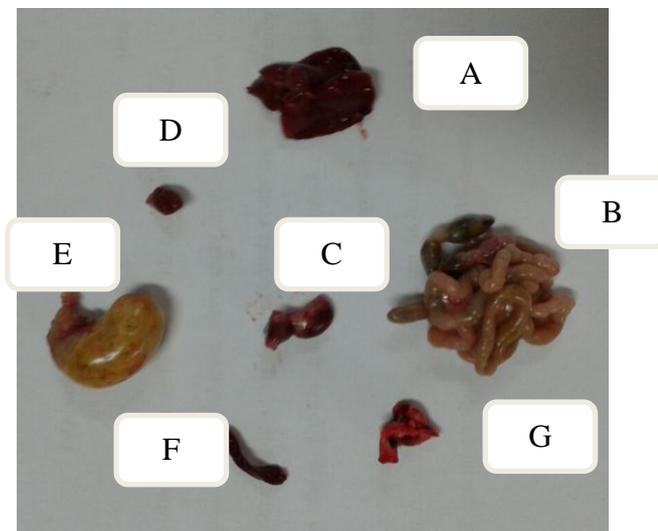


Mencit yang sudah dibedah

Lampiran 7. Gambar organ hewan uji

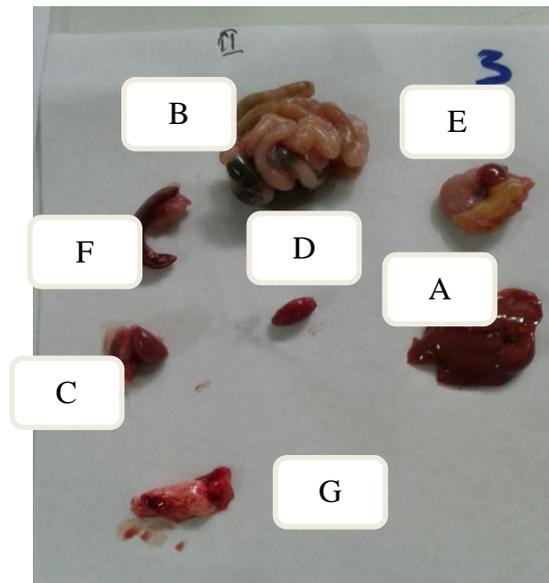


Gambar 14. kontrol negatif no. 2

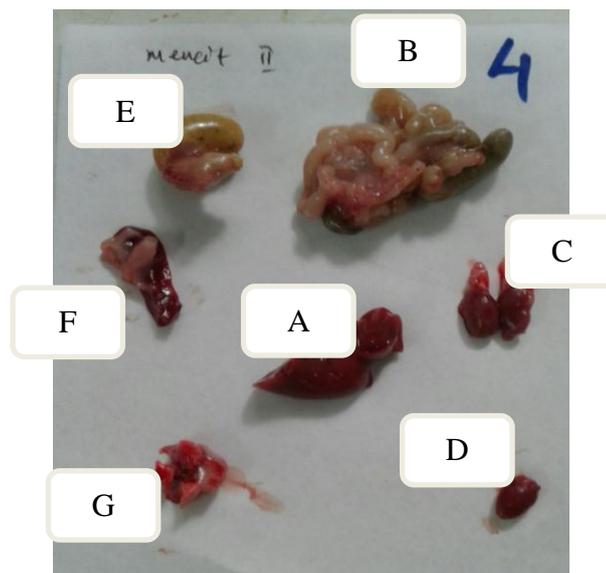


Gambar no. 15 kelompok dosis I mencit no.2

Keterangan : A = Hati B = Usus, C = Ginjal, D = Jantung,
 E = Lambung, F = Limfa, G = paru

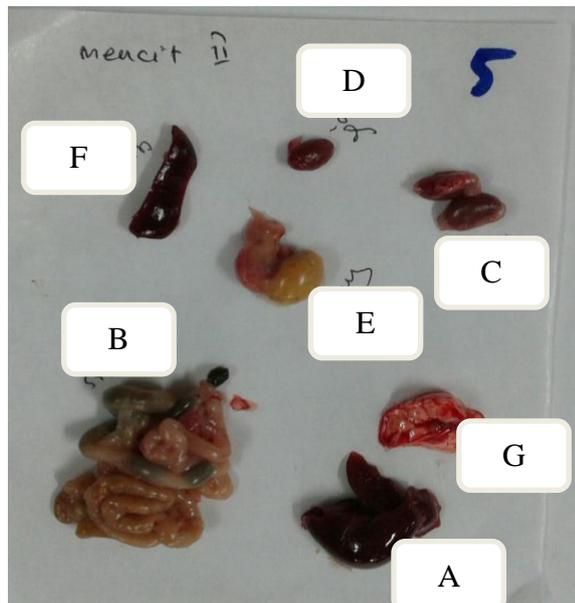


Gambar 16. Kelompok dosis II mencit no.2

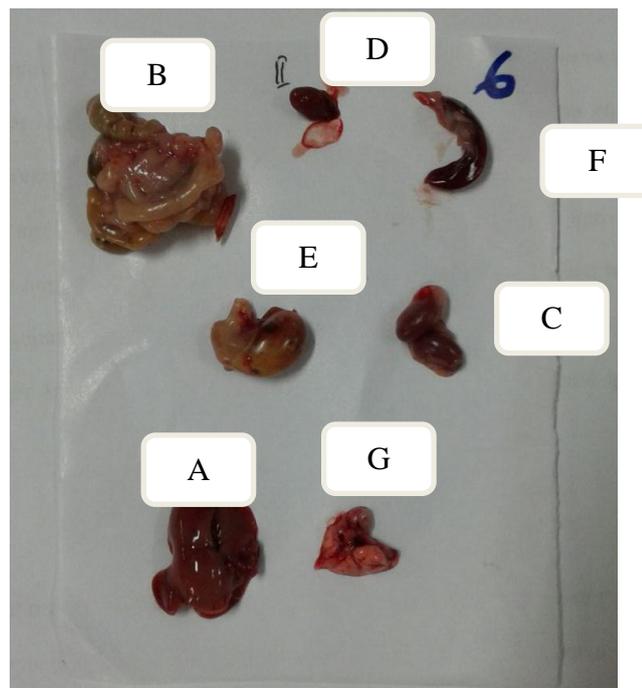


Gambar 17. Kelompok dosis III mencit no.2

Keterangan : A = Hati B = Usus, C = Ginjal, D = Jantung,
 E = Lambung, F = Limfa, G = paru



Gambar 18. Kelompok dosis IV mencit no.2



Gambar 19. Kelompok dosis V mencit no.2

Keterangan : A = Hati B = Usus, C = Ginjal, D = Jantung,
 E = Lambung, F = Limfa, G = paru

Lampiran 8. Uji identifikasi ekstrak rimpang temu putih



Serbuk



Ekstrak

Gambar 20. Uji identifikasi saponin



Serbuk

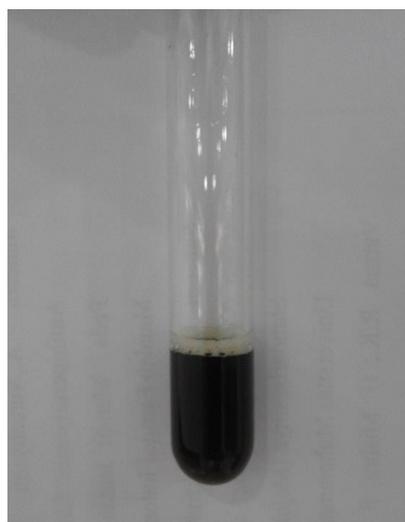


Ekstrak

Gambar 21. Uji identifikasi flavonoid



Serbuk

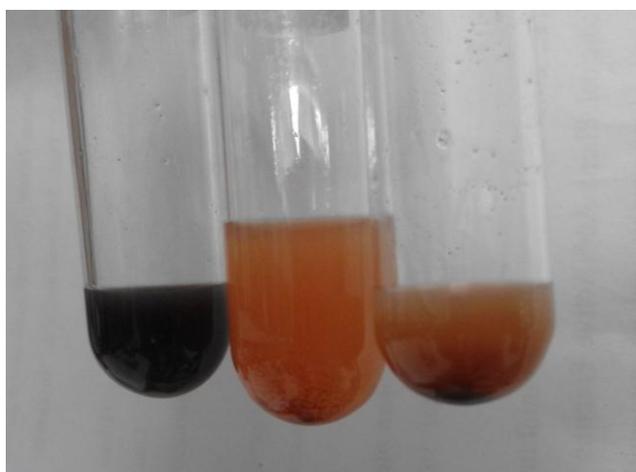


Ekstrak

Gambar 22. Uji identifikasi tanin



Serbuk



Ekstrak

Gambar 23. Uji identifikasi alkaloid

Lampiran 9. Hasil persentase rendemen berat kering terhadap berat basah rimpang temu putih

Data hasil penelitian diperoleh data sebagai berikut :

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Persentase (%)
6500	1250	19,23

Perhitungan % rendemen berat kering terhadap berat basah :

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat kering (g)}}{\text{Berat basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1250 \text{ g}}{6500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 19,23\% \end{aligned}$$

Jadi, persentase rendemen berat kering terhadap berat basah rimpang temu putih adalah 19,23%

Lampiran 10. Hasil rendemen ekstrak etanolik rimpang temu putih

Dari hasil penelitian diperoleh data sebagai berikut :

Berat simplisia (g)	Berat wadah kosong (g)	Berat wadah + ekstrak (g)	Ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	184.8	228.1	43.3	8.66

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{43,3 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 8.66 \% \end{aligned}$$

Jadi, persentase rendemen ekstrak etanolik rimpang temu putih adalah 8.66 %

Lampiran 11. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih

Dari hasil penelitian dapat diperoleh :

No.	Berat awal (gr)	Volume akhir (ml)	Kadar air (%)
1	20	1.9	9.5
2	20	1.6	8
3	20	1.4	7
Rata-rata			8.17

$$\text{Kadar air no.1} = \frac{1,9 \text{ ml}}{20 \text{ gram}} \times 100 \% = 9.5 \%$$

$$\text{Kadar air no.2} = \frac{1,6 \text{ ml}}{20 \text{ gram}} \times 100 \% = 8 \%$$

$$\text{Kadar air no.3} = \frac{1,4 \text{ ml}}{20 \text{ gram}} \times 100 \% = 7 \%$$

$$\text{Rata-rata kadar air serbuk rimpang temu putih adalah} = \frac{(9.5+8+7)\%}{3} = 8.17 \%$$

Jadi, hasil rata-rata penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih adalah 8.17%

Lampiran 12. Perhitungan volume pemberian

❖ Kelompok I (CMC Na 0,5%)

$$\text{Larutan stock} : \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ ml}}$$

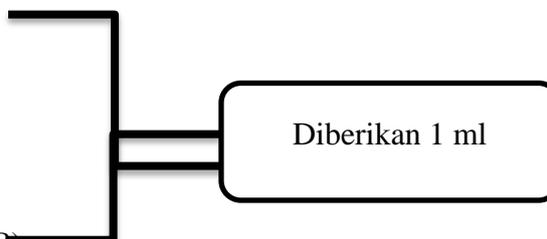
Mencit 1: 32,91 g

Mencit 2: 20,04 g

Mencit 3: 21,91 g

Mencit 4: 23,25g

Mencit 5: 22,26 g



❖ Kelompok II (5 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock} : \frac{0,05 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{50 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{20 \text{ ml}}$$

$$\text{Dosis} : 5 \text{ mg/kgBB} = 0.1 \text{ mg/20gBB}$$

Contoh perhitungan kelompok II mencit 1

$$\text{Dosis untuk mencit 20.41g} = \frac{20.41 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0.1 \text{ mg} = 0.102 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0.102 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0.204 \text{ ml}$$

❖ Kelompok III (50 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock} : \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{100 \text{ mg}}{20 \text{ ml}}$$

$$\text{Dosis} : 50 \text{ mg/kgBB} = 1 \text{ mg/20gBB}$$

Contoh perhitungan kelompok III mencit 2

$$\text{Dosis untuk mencit } 20.43 \text{ g} = \frac{20.43 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1 \text{ mg} = 1.021 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{1.021 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0.204 \text{ ml}$$

❖ Kelompok IV (300 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock : } \frac{5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{1000 \text{ mg}}{20 \text{ ml}}$$

$$\text{Dosis : } 300 \text{ mg/kgBB} = 6 \text{ mg}/20\text{gBB}$$

Contoh perhitungan kelompok IV mencit 3

$$\text{Dosis untuk mencit } 21.14 \text{ g} = \frac{21.14 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 6 \text{ mg} = 6.342 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{6.342 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0.126 \text{ ml}$$

❖ Kelompok V (2000 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock : } \frac{5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{1000 \text{ mg}}{20 \text{ ml}}$$

$$\text{Dosis : } 2000 \text{ mg/kgBB} = 40 \text{ mg}/20\text{gBB}$$

Contoh perhitungan kelompok V mencit no.4

$$\text{Dosis untuk mencit } 20.93 \text{ g} = \frac{20.93 \text{ mg}}{20 \text{ g}} \times 40 \text{ mg} = 41.86 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{41.86 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0.83 \text{ ml}$$

❖ Kelompok VI (5000 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock : } \frac{50 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{5 \text{ g}}{10 \text{ ml}}$$

$$\text{Dosis : } 5000 \text{ mg/kgBB} = 100 \text{ mg}/20\text{gBB}$$

Contoh perhitungan kelompok VI mencit 5

$$\text{Dosis untuk mencit } 20.05 \text{ g} = \frac{20.05 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100 \text{ mg} = 100.25 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{100.25 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0.2 \text{ ml}$$

Lampiran 13. Hasil penimbangan berat badan mencit putih betina

Berat badan mencit

Kelompok	No. Hewan uji	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14
Kontrol negatif	1	32,91	32,74	32,52
	2	20,04	21,72	22,68
	3	21,91	23,20	24,02
	4	23,25	24,28	25,63
	5	22,26	24,08	24,55
I	1	20,41	21,55	22,82
	2	20,03	21,67	25,15
	3	20,61	23,18	26,90
	4	20,65	23,72	26,87
	5	21,25	24,53	26,94
II	1	20,51	21,06	21,65
	2	20,43	21,72	21,40
	3	21,12	22,84	26,04
	4	21,53	22,73	24,39
	5	24,56	23,44	26,61
III	1	20,91	22,74	25,56
	2	21,67	24,47	25,75
	3	21,14	22,52	24,68
	4	21,25	22,38	24,13
	5	20,21	21,19	21,94
IV	1	22,57	24,32	26,62
	2	21,73	24,12	27,30
	3	20,24	22,62	24,03
	4	20,93	23,72	26,08
	5	23,25	26,39	29,98
V	1	22,41	22,22	24,36
	2	20,06	20,19	21,59
	3	21,01	21,24	22,93
	4	20,01	20,06	20,10
	5	20,05	20,09	20,11

Lampiran 14. Hasil penimbangan berat organ mencit putih betina

Kelompok	No. hewan uji	Berat organ mencit						
		Paru-paru	Jantung	Hati	Ginjal	Usus	Limfa	Lambung
Kontrol negatif	1	0,32	0,19	1,54	0,28	3,87	0,32	0,64
	2	0,29	0,14	0,7	0,28	2,31	0,23	0,52
	3	0,16	0,08	1	0,32	2,78	0,14	0,58
	4	0,18	0,15	1,17	0,34	2,7	0,34	0,55
	5	0,15	0,07	1,34	0,32	2,9	0,28	0,37
I	1	0,14	0,08	1,35	0,32	3,4	0,15	1,3
	2	0,25	0,08	1,1	0,39	3,42	0,13	1,27
	3	0,2	0,09	1,2	0,38	3,14	0,17	0,92
	4	0,17	0,09	1,13	0,32	3,2	0,08	2,04
	5	0,26	0,11	1,39	0,46	3,35	0,18	0,66
II	1	0,18	0,09	1,12	0,36	2,78	0,15	0,66
	2	0,18	0,11	0,93	0,34	2,56	0,28	0,64
	3	0,18	0,13	1,01	0,38	2,79	0,2	0,86
	4	0,14	0,12	0,89	0,3	2,1	0,12	0,56
	5	0,16	0,05	0,8	0,3	2,24	0,14	0,3
III	1	0,14	0,07	0,93	0,33	2,06	0,12	0,7
	2	0,21	0,08	0,95	0,25	2,68	0,23	0,93
	3	0,22	0,07	0,98	0,27	2,71	0,29	0,82
	4	0,26	0,07	1,29	0,31	3,1	0,26	1,22
	5	0,12	0,08	1,24	0,31	3,03	0,3	0,7
IV	1	0,19	0,07	1,05	0,39	2,91	0,32	0,92
	2	0,13	0,07	1,29	0,29	3,01	0,21	0,6
	3	0,12	0,08	1	0,33	2,63	0,15	0,47
	4	0,12	0,04	1,06	0,3	3,14	0,13	0,55
	5	0,25	0,06	0,81	0,25	2,89	0,16	1,07
V	1	0,13	0,09	1,12	0,32	2,35	0,24	0,53
	2	0,2	0,08	1,16	0,34	2,75	0,25	0,82
	3	0,24	0,13	1,43	0,39	3,29	0,25	0,92
	4	0,17	0,11	1,32	0,44	2,97	0,17	0,55
	5	0,14	0,07	1,28	0,41	3,03	0,24	0,67

ampiran 15. Hasil perhitungan indeks berat organ mencit putih betina

Kelompok	No. hewan uji	Indeks berat organ mencit (%)						
		Paru-paru	Jantung	Hati	Ginjal	Usus	Limfa	Lambung
Kontrol negatif	1	0.0098	0.0098	0.0473	0.0086	0.1190	0.0098	0.0196
	2	0.0127	0.0061	0.0317	0.0123	0.1018	0.0101	0.0229
	3	0.0066	0.0033	0.0424	0.1157	0.1157	0.0058	0.0241
	4	0.0073	0.0058	0.0456	0.0132	0.1069	0.0132	0.0214
	5	0.0067	0.0028	0.0545	0.0130	0.1181	0.0114	0.0150
Rata-rata		0.0086	0.0056	0.0443	0.0325	0.1123	0.0100	0.0206
I	1	0.0061	0.0035	0.0591	0.0140	0.1511	0.0065	0.0578
	2	0.0099	0.0031	0.0457	0.0155	0.1359	0.0051	0.0504
	3	0.0081	0.0033	0.0468	0.0141	0.1167	0.0063	0.3420
	4	0.0063	0.0033	0.0420	0.0119	0.1198	0.0029	0.0759
	5	0.0096	0.0040	0.0515	0.0170	0.1243	0.0066	0.0244
Rata-rata		0.0080	0.0034	0.0490	0.0145	0.1296	0.0055	0.0485
II	1	0.0083	0.0046	0.0517	0.0166	0.1284	0.0069	0.0304
	2	0.0084	0.0051	0.0434	0.0158	0.1196	0.0130	0.0299
	3	0.0069	0.0049	0.0387	0.0145	0.1071	0.0099	0.0299
	4	0.0057	0.0049	0.0364	0.0143	0.0881	0.0049	0.0299
	5	0.0060	0.0056	0.0315	0.0135	0.0841	0.0052	0.0139
Rata-rata		0.0070	0.0050	0.0404	0.0149	0.1055	0.0080	0.0240
III	1	0.0054	0.0027	0.0363	0.0129	0.0805	0.0046	0.0297
	2	0.0081	0.0031	0.0368	0.0097	0.1040	0.0089	0.0361
	3	0.0089	0.0028	0.0397	0.0109	0.1098	0.0117	0.0332
	4	0.0107	0.0029	0.0534	0.0128	0.1305	0.0107	0.0505
	5	0.0054	0.0036	0.0565	0.0141	0.1381	0.0159	0.0360
Rata-rata		0.0077	0.0030	0.0445	0.0121	0.1126	0.0104	0.0371
IV	1	0.0071	0.0026	0.0394	0.0146	0.1093	0.0120	0.0345
	2	0.0047	0.0025	0.0472	0.0106	0.1101	0.0076	0.0248
	3	0.0049	0.0033	0.0774	0.0137	0.1094	0.0062	0.0195
	4	0.0046	0.0015	0.0406	0.0145	0.1203	0.0049	0.0210
	5	0.0083	0.0020	0.0270	0.0083	0.0963	0.0053	0.0356
Rata-rata		0.0059	0.0024	0.0463	0.0123	0.1091	0.0072	0.0271
V	1	0.0053	0.0036	0.0459	0.0131	0.0964	0.0098	0.0217
	2	0.0120	0.0037	0.0537	0.0157	0.1273	0.0115	0.0379
	3	0.0104	0.0056	0.0623	0.0170	0.1434	0.0109	0.0401
	4	0.0084	0.0054	0.0656	0.0218	0.1477	0.0084	0.0273
	5	0.0069	0.0034	0.0636	0.020	0.1506	0.0119	0.0331
Rata-rata		0.0086	0.0044	0.0582	0.0176	0.1331	0.0105	0.0321

Lampiran 16. Contoh perhitungan indeks massa organ mencit

$$\text{Rumus indeks massa organ} = \frac{\text{Berat organ (gram)}}{\text{Berat badan (gram)}} \times 100\%$$

Mencit no.2 kelompok II (ekstrak rimpng temu putih 5 mg/kgBB)

- ❖ Paru-paru $= \frac{0.25 \text{ gram}}{25.15 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0099 \%$
- ❖ Jantung $= \frac{0.08 \text{ gram}}{25.15 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0031 \%$
- ❖ Hati $= \frac{1.15 \text{ gram}}{25.15 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0457 \%$
- ❖ Ginjal $= \frac{0.39 \text{ gram}}{25.15 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0155 \%$
- ❖ Usus $= \frac{3.42 \text{ gram}}{25.15 \text{ gram}} \times 100\% = 0.1359 \%$
- ❖ Limfa $= \frac{0.13 \text{ gram}}{25.15 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0051 \%$
- ❖ Lambung $= \frac{1.27 \text{ gram}}{25.15 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0504 \%$

Lampiran 17. Pengamatan gejala toksisitas

❖ Grooming

Kelompok	No. Hewan uji	Jam pengamatan						
		Jam ke-0	Jam ke-0.5	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-6	Jam ke-12	Jam ke-24
Kontrol negatif	1	-	√	√	√	-	-	-
	2	-	√	-	-	-	-	-
	3	-	√	√	√	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	√	-	-	-	-	-
Dosis I	1	-	√	√	√	-	-	-
	2	-	√	√	√	-	-	-
	3	-	-	√	√	-	-	-
	4	-	√	√	√	-	-	-
	5	-	√	√	√	-	-	-
Dosis II	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	√	√	√	-	-	-
	5	-	√	√	√	√	-	-
Dosis III	1	-	√	√	√	-	-	-
	2	-	-	√	√	√	-	-
	3	-	-	√	√	√	-	-
	4	-	-	√	√	-	-	-
	5	-	√	√	√	√	-	-
Dosis IV	1	-	√	√	√	-	-	-
	2	-	√	√	√	-	-	-
	3	-	√	√	√	-	-	-
	4	-	√	√	√	-	-	-
	5	-	√	√	√	-	-	-
Dosis V	1	-	√	√	√	-	-	-
	2	-	√	√	√	-	-	-
	3	-	√	√	√	-	-	-
	4	-	√	√	√	-	-	-
	5	-	√	√	√	-	-	-

Keterangan : √ = mengalami kejadian toksisitas

- = tidak mengalami kejadian toksisitas

❖ Aktivitas spontan

Kelompok	No. Hewan uji	Jam pengamatan						
		Jam ke-0	Jam ke - 0.5	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-6	Jam ke-12	Jam ke-24
Kontrol negatif	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	√	√	-	-	-
	3	-	√	-	-	-	-	-
	4	-	√	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	√	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	√	-	-	-	-	-
Dosis II	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	-	√	-	-	-	-
Dosis III	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	√	-	-	-	-	-
	5	-	√	-	-	-	-	-
Dosis IV	1	-	√	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	√	-	-	-	-	-
	4	-	√	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-
Dosis V	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	√	-	-	-	-	-
	3	-	√	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : √ = mengalami kejadian toksisitas

- = tidak mengalami kejadian toksisitas

❖ Tremor

Kelompok	No. Hewan uji	Jam pengamatan						
		Jam ke-0	Jam ke -0.5	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-6	Jam ke-12	Jam ke-24
Kontrol negatif	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	√	-	-	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	√	-	-	-	-	-
Dosis I	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	--
Dosis II	1	-	-	√	-	-	-	-
	2	-	√	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-
Dosis III	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	√	-	-	-	-
	3	-	-	√	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	√	-	-	-	-
Dosis IV	1	-	√	-	-	-	-	-
	2	-	√	-	-	-	-	-
	3	-	-	√	-	-	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	√	-	-	-	-	-
Dosis V	1	-	-	√	-	-	-	-
	2	-	√	-	-	-	-	-
	3	-	-	√	-	-	-	-
	4	-	√	-	-	-	-	-
	5	-	√	-	-	-	-	-

Keterangan : √ = mengalami kejadian toksisitas

- = tidak mengalami kejadian toksisitas

❖ Piroleksi

Kelompok	No. Hewan uji	Jam pengamatan						
		Jam ke-0	Jam ke -0.5	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-6	Jam ke-12	Jam ke-24
Kontrol negatif	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-
Dosis II	1	-	-	-	-	-	√	√
	2	-	-	-	-	-	√	√
	3	-	-	-	-	-	√	√
	4	-	-	-	-	-	√	√
	5	-	-	-	-	-	√	√
Dosis III	1	-	-	-	-	-	√	√
	2	-	-	-	-	-	√	√
	3	-	-	-	-	-	√	√
	4	-	-	-	-	-	√	√
	5	-	-	-	-	-	√	√
Dosis IV	1	-	-	-	-	√	√	√
	2	-	-	-	-	√	√	√
	3	-	-	-	-	√	√	√
	4	-	-	-	-	√	√	√
	5	-	-	-	-	√	√	√
Dosis V	1	-	-	-	-	√	√	√
	2	-	-	-	-	√	√	√
	3	-	-	-	-	√	√	√
	4	-	-	-	-	√	√	√
	5	-	-	-	-	√	√	√

Keterangan : √ = mengalami kejadian toksisitas

- = tidak mengalami kejadian toksisitas

Lampiran 18. Uji statistik berat badan hari ke-1.

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap data kenaikan berat badan mencit putih betina pada hari ke-1

		Tests of Normality					
Dosis		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hari 1	kontrol negatif	.364	5	.029	.765	5	.041
	dosis I	.246	5	.200*	.961	5	.813
	dosis II	.323	5	.095	.775	5	.050
	dosis III	.207	5	.200*	.958	5	.791
	dosis IV	.152	5	.200*	.977	5	.921
	dosis V	.333	5	.072	.771	5	.046

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : H_0 ditolak sehingga data kenaikan berat badan mencit putih betina pada hari pertama tidak terdistribusi normal. Dilanjutkan dengan uji *Kruskall-Wallis* karena tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji ANAVA

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap data kenaikan berat badan mencit putih betina pada hari ke-1

Test of Homogeneity of Variances

Hari 1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.537	5	24	.015

Nilai signifikai < 0,05

Kesimpulan : Ho ditolak sehingga varian data berat badan pada hari pertama tidak homogen.

3. Uji *Kruskal-Wallis*

Kruskal-Wallis Test

		Ranks	
Dosis		N	Mean Rank
Hari 1	kontrol negatif	5	21.50
	dosis I	5	10.30
	dosis II	5	16.80
	dosis III	5	15.10
	dosis IV	5	19.30
	dosis V	5	10.00
Total		30	

Test Statistics^{a,b}

	hari 1
Chi-Square	7.073
df	5
Asymp. Sig.	.215

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: dosis

Nilai signifikansi > 0,05

Kesimpulan : Ho diterima, berarti terdapat tidak perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok.

Lampiran 19. Uji statistik berat badan hari ke-7

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap data kenaikan berat badan mencit putih betina pada hari ke-7

Tests of Normality

Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hari 7 kontrol negatif	.346	4	.	.818	4	.139
dosis I	.242	5	.200 [*]	.867	5	.256
dosis II	.221	5	.200 [*]	.956	5	.782
dosis III	.266	5	.200 [*]	.872	5	.275
dosis IV	.257	5	.200 [*]	.884	5	.328
dosis V	.269	5	.200 [*]	.819	5	.115

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data berat badan mencit putih betina pada hari ketujuh terdistribusi normal.

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap data kenaikan berat badan mencit putih betina pada hari ke-7

Test of Homogeneity of Variances

Hari 7

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.285	5	23	.022

Nilai signifikan < 0,05

Kesimpulan : Ho ditolak, berarti data kenaikan berat badan pada hari ke-7 pada tiap kelompok tidak homogen.

3. Uji ANAVA satu arah terhadap berat badan mencit putih hari ke-7

ANOVA

Hari 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.322	5	6.064	1.138	.369
Within Groups	122.546	23	5.328		
Total	152.868	28			

Nilai signifikansi > 0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga terdapat tidak ada perbedaan disetiap data berat badan mencit putih betina pada hari ke-7

4. Uji Post hoc (SNK) terhadap berat bdan mencit putih betina pada hari ke-7

Hari 7

Student-Newman-Keuls^{a,b}

Dosis	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
dosis V	5	22.0200	
dosis II	5	22.5760	
dosis I	5	22.8400	
dosis III	5	23.1100	
dosis IV	5	23.1940	
kontrol negatif	4	25.4850	
Sig.		.224	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.800.

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

Nilai signifikansi > 0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga terdapat tidak ada perbedaan yang bermakna disetiap data berat badan mencit putih betina pada hari ke-7

Lampiran 20. Uji statistik berat badan hari ke-14.

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap data kenaikan berat badan mencit putih betina pada hari ke-14

Tests of Normality

Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hari 14 kontrol negatif	.303	4	.	.861	4	.264
dosis I	.227	5	.200*	.911	5	.473
dosis II	.234	5	.200*	.892	5	.367
dosis III	.188	5	.200*	.975	5	.905
dosis IV	.179	6	.200*	.983	6	.966
dosis V	.223	5	.200*	.906	5	.442

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data berat badan mencit putih betina pada hari keempat belas terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap data kenaikan berat badan mencit putih betina pada hari ke-14

Homogeneity of Variances

Hari 14

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.680	5	24	.178

Nilai signifikansi > 0,05

Kesimpulan : Ho diterima, berarti terdapat data kenaikan berat badan pada hari ke-14 pada tiap kelompok homogen.

3. Uji ANAVA satu arah terhadap berat badan mencit putih hari ke-14

ANOVA

Hari 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	66.050	5	13.210	2.114	.099
Within Groups	149.999	24	6.250		
Total	216.049	29			

Kesimpulan : Ho diterima sehingga terdapat tidak ada perbedaan disetiap data berat badan mencit putih betina pada hari ke-14.

4. Uji Post hoc (SNK) terhadap berat bdan mencit putih betina pada hari ke-14

hari14

Student-Newman-Keuls^{a,b}

dosis	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis V	5	21.8180
dosis II	5	24.0840
dosis I	5	25.2580
dosis III	5	25.3460
dosis IV	6	25.9917
kontrol negatif	4	26.2125
Sig.		.100

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.932.
- The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Nilai signifikasi > 0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga terdapat tidak ada perbedaan yang bermakna disetiap data berat badan mencit putih betina pada hari ke-14.

Lampiran 21. Uji statistik indeks berat organ ginjal

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap berat organ ginjal pada mencit putih betina

Tests of Normality

dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ginjal kontrol	.461	5	.001	.589	5	.000
negatif						
dosis I	.196	5	.200*	.977	5	.916
dosis II	.188	5	.200*	.930	5	.596
dosis III	.263	5	.200*	.940	5	.666
dosis IV	.287	5	.200*	.898	5	.400
dosis V	.182	5	.200*	.965	5	.843

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho ditolak sehingga data berat organ ginjal pada mencit putih betina tidak terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap berat organ ginjal pada mencit putih betina

Test of Homogeneity of Variances

ginjal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.240	5	24	.001

Nilai signifikansi < 0,05

Kesimpulan : H_0 ditolak sehingga varian data indeks berat organ ginjal tidak homogen.

3. Uji *Kruskal-Wallis*

Kruskal-Wallis Test

Ranks

dosis	N	Mean Rank
ginjal kontrol	5	13.40
negatif		
dosis I	5	18.20
dosis II	5	16.60
dosis III	5	9.60
dosis IV	5	11.40
dosis V	5	23.80
Total	30	

Test Statistics^{a,b}

	ginjal
Chi-Square	8.608
df	5
Asymp. Sig.	.126

a. Kruskal Wallis Test

Test Statistics^{a,b}

	ginjal
Chi-Square	8.608
df	5
Asymp. Sig.	.126

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
dosis

Nilai signifikansi > 0,05

Kesimpulan : Ho diterima, berarti terdapat tidak ada perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok.

Lampiran 22. Uji statistik indeks berat organ hati

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap indeks berat organ hati pada mencit putih betina

Tests of Normality

dosis		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hati	kontrol	.210	5	.200 [*]	.963	5	.829
	negatif						
	dosis I	.232	5	.200 [*]	.942	5	.680
	dosis II	.185	5	.200 [*]	.973	5	.895

dosis III	.292	5	.189	.815	5	.107
dosis IV	.281	5	.200*	.881	5	.315
dosis V	.290	5	.198	.880	5	.311

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data berat organ hati pada mencit putih betina terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap berat organ hati pada mencit putih betina

Test of Homogeneity of Variances

hati

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.099	5	24	.387

Nilai signifikansi > 0,05

Kesimpulan : Ho diterima, berarti data indeks organ hati pada tiap kelompok homogen.

3. Uji ANAVA satu arah terhadap indeks organ hati pada mencit putih

ANOVA

hati

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	5	.000	1.641	.188
Within Groups	.003	24	.000		
Total	.004	29			

Nilai signifikansi >0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga terdapat tidak ada perbedaan disetiap data indeks organ hati pada mencit putih betina.

4. Uji Post hoc (SNK) terhadap indeks berat organ hati pada mencit putih betina

hati

Student-Newman-Keuls^a

dosis	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis II	5	.040340
kontrol negatif	5	.044300
dosis III	5	.044540
dosis IV	5	.046320
dosis I	5	.049020
dosis V	5	.058220
Sig.		.126

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

hatiStudent-Newman-Keuls^a

dosis	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis II	5	.040340
kontrol negatif	5	.044300
dosis III	5	.044540
dosis IV	5	.046320
dosis I	5	.049020
dosis V	5	.058220
Sig.		.126

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga terdapat tidak ada perbedaan bermakna disetiap data indeks berat organ hati pada mencit putih betina.

Lampiran 23. Uji statistik indeks berat organ jantung

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap indeks berat organ jantung pada mencit putih betina

Tests of Normality

dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jantung kontrol	.223	5	.200*	.914	5	.494
negatif						
dosis I	.258	5	.200*	.885	5	.334
dosis II	.227	5	.200*	.927	5	.579
dosis III	.232	5	.200*	.885	5	.334
dosis IV	.172	5	.200*	.984	5	.955
dosis V	.326	5	.089	.790	5	.067

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data berat organ jantung pada mencit putih betina terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap indeks berat organ jantung pada mencit putih betina

Test of Homogeneity of Variances

jantung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.686	5	24	.004

Nilai signifikansi <0,05

Kesimpulan : Ho ditolak sehingga varian data indeks berat organ jantung pada tidak homogen.

3. Uji ANAVA satu arah terhadap indeks organ jantung pada mencit putih

ANOVA

jantung

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	4.607	.004
Within Groups	.000	24	.000		
Total	.000	29			

Nilai signifikansi < 0,04

Kesimpulan : Ho ditolak sehingga terdapat ada perbedaan disetiap data indeks berat organ jantung pada mencit putih betina.

Lampiran 24. Uji statistik indeks berat organ limfa

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap indeks berat organ limfa pada mencit putih betina

Tests of Normality

dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
limfa kontrol	.262	5	.200 ^{**}	.942	5	.680
negatif						
dosis I	.300	5	.160	.801	5	.082
dosis II	.223	5	.200 ^{**}	.899	5	.403
dosis III	.173	5	.200 ^{**}	.987	5	.967
dosis IV	.245	5	.200 ^{**}	.840	5	.166
dosis V	.211	5	.200 ^{**}	.934	5	.622

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data berat organ jantung pada mencit putih betina terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap indeks berat organ limfa pada mencit putih betina

Test of Homogeneity of Variances

limfa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.069	5	24	.402

Nilai signifikasinya $>0,05$

Kesimpulan : Ho diterima sehingga varian data indeks berat organ jantung homogen.

3. Uji ANAVA satu arah terhadap indeks organ limfa pada mencit putih

ANOVA

limfa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	2.562	.054
Within Groups	.000	24	.000		
Total	.000	29			

Nilai signifikansi $>0,05$

Kesimpulan : Ho diterima sehingga tidak terdapat ada perbedaan disetiap data indeks berat organlimfa pada mencit putih betina.

4. Uji Post hoc (SNK) terhadap indeks berat organ limfa pada mencit putih betina

limfa

Student-Newman-Keuls^a

dosis	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis I	5	.005480
dosis IV	5	.007200
dosis II	5	.007980
kontrol negatif	5	.010060
dosis III	5	.010360
dosis V	5	.010500
Sig.		.096

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

limfa

Student-Newman-Keuls^a

dosis	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis I	5	.005480
dosis IV	5	.007200
dosis II	5	.007980
kontrol negatif	5	.010060
dosis III	5	.010360
dosis V	5	.010500
Sig.		.096

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Nilai signifikansi >0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga tidak ada perbedaan yang bermakna disetiap data indeks berat organ limfa pada mencit putih betina.

Lampiran 25. Uji statistic indeks berat organ paru

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap indeks berat organ paru pada mencit putih betina

Tests of Normality

dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.

paru kontrol negatif	.293	5	.187	.837	5	.157
dosis I	.230	5	.200*	.870	5	.268
dosis II	.238	5	.200*	.872	5	.274
dosis III	.241	5	.200*	.901	5	.413
dosis IV	.328	5	.084	.815	5	.107
dosis V	.150	5	.200*	.981	5	.938

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data berat organ jantung pada mencit putih betina terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap indeks berat organ paru pada mencit putih betina

Test of Homogeneity of Variances

paru

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.025	5	24	.425

Nilai signifikansi >0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga varian data indeks berat organ paru homogen.

3. Uji ANAVA satu arah terhadap indeks organ paru pada mencit putih

ANOVA

paru

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	1.183	.347
Within Groups	.000	24	.000		

ANOVA

paru

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	1.183	.347
Within Groups	.000	24	.000		
Total	.000	29			

Nilai signifikansi >0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga tidak terdapat ada perbedaan disetiap data indeks berat organ paru pada mencit putih betina

4. Uji Post hoc (SNK) terhadap indeks berat organ limfa pada mencit putih betina

paru

Student-Newman-Keuls^a

dosis	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis IV	5	.005920
dosis II	5	.007060
dosis III	5	.007700
dosis I	5	.008000
dosis V	5	.008600
kontrol negatif	5	.008620

Sig.		.363
------	--	------

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Nilai signifikansi >0,363

Kesimpulan : Ho diterima sehingga terdapat ada perbedaan yang bermakna disetiap data indeks berat organ paru pada mencit putih betina.

Lampiran 26. Uji statistik indeks berat organ usus

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap indeks berat organ usus pada mencit putih betina

Tests of Normality

dosis		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
usus	kontrol negatif	.273	5	.200*	.871	5	.269
	dosis I	.246	5	.200*	.903	5	.426
	dosis II	.216	5	.200*	.923	5	.551
	dosis III	.184	5	.200*	.958	5	.797
	dosis IV	.310	5	.130	.898	5	.396
	dosis V	.278	5	.200*	.836	5	.154

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data berat organ usus pada mencit putih betina terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap indeks berat organ usus pada mencit putih betina

Test of Homogeneity of Variances

usus			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.965	5	24	.121

Nilai signifikansi >0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga varian data indeks berat organ usus homogen.

3. Uji ANAVA satu arah terhadap indeks organ usus pada mencit putih betina

ANOVA

usus					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.003	5	.001	2.278	.079
Within Groups	.007	24	.000		
Total	.010	29			

Nilai signifikansi >0,05

Kesimpulan : Ho diterima sehingga tidak terdapat ada perbedaan disetiap data indeks berat organ paru pada mencit putih betina

4. Uji Post hoc (SNK) terhadap indeks berat organ usus pada mencit putih betina

ususStudent-Newman-Keuls^a

dosis	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis II	5	.105460
dosis IV	5	.109080
kontrol negatif	5	.112300
dosis III	5	.112580
dosis I	5	.129560
dosis V	5	.133080
Sig.		.142

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Nilai signifikansi >0,142

Kesimpulan : Ho diterima sehingga terdapat ada perbedaan yang bermakna disetiap data indeks berat organ paru pada mencit putih betina.

Lampiran 27. Uji statistik indeks berat organ lambung

1. Uji normalitas (*Saphiro-wilk*) terhadap indeks berat organ lambung pada mencit putih betina

Tests of Normality

dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
lambung kontrol	.189	5	.200*	.927	5	.576
negatif						
dosis I	.403	5	.008	.688	5	.007
dosis II	.466	5	.001	.578	5	.000
dosis III	.350	5	.044	.838	5	.159
dosis IV	.238	5	.200*	.857	5	.219
dosis V	.181	5	.200*	.952	5	.748

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data berat organ lambung pada mencit putih betina terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap indeks berat organ lambung pada mencit putih betina

Test of Homogeneity of Variances

lambung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.954	5	24	.001

Nilai signifikansi < 0,05

Kesimpulan : Ho ditolak sehingga varian data indeks berat organ lambung tidak homogen.

3. Uji *Kruskal-Wallis*

Kruskal-Wallis Test

Ranks

dosis	N	Mean Rank
lambung kontrol	5	5.80
negatif		
dosis I	5	24.60
dosis II	5	12.60
dosis III	5	20.80
dosis IV	5	12.00
dosis V	5	17.20
Total	30	

Test Statistics^{a,b}

	lambung
Chi-Square	14.758
df	5
Asymp. Sig.	.011

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
dosis

Nilai signifikansi <0,05

Kesimpulan : Ho ditolak , berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok.

4. Uji Mann-Whitney

Ranks

dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung kontrol negatif	5	3.00	15.00
dosis I	5	8.00	40.00
Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
-------	---	-----------	--------------

lambung	kontrol negatif	5	4.00	20.00
	dosis II	5	7.00	35.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	20.000
Z	-1.586
Asymp. Sig. (2-tailed)	.113
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	dosis III	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	kontrol negatif	5	4.40	22.00
	dosis IV	5	6.60	33.00
Total		10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	22.000
Z	-1.149
Asymp. Sig. (2-tailed)	.251
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	kontrol negatif	5	3.40	17.00
	dosis V	5	7.60	38.00
Total		10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	2.000

Wilcoxon W	17.000
Z	-2.193
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung dosis I	5	7.20	36.00
dosis II	5	3.80	19.00
Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.798
Asymp. Sig. (2-tailed)	.072
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung dosis I	5	6.80	34.00
dosis III	5	4.20	21.00
Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.358
Asymp. Sig. (2-tailed)	.175
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	dosis I	5	7.40	37.00
	dosis IV	5	3.60	18.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	18.000
Z	-1.984
Asymp. Sig. (2-tailed)	.047
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	dosis I	5	7.20	36.00
	dosis V	5	3.80	19.00
Total		10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.776
Asymp. Sig. (2-tailed)	.076
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	dosis II	5	3.80	19.00
	dosis III	5	7.20	36.00
Total		10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.798
Asymp. Sig. (2-tailed)	.072

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a
--------------------------------	-------------------

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	dosis II	5	5.40	27.00
	dosis IV	5	5.60	28.00
Total		10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-.106
Asymp. Sig. (2-tailed)	.916
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	dosis II	5	4.60	23.00
	dosis V	5	6.40	32.00
Total		10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-.952
Asymp. Sig. (2-tailed)	.341
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung dosis III	5	7.20	36.00
dosis IV	5	3.80	19.00
Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.776
Asymp. Sig. (2-tailed)	.076
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
-------	---	-----------	--------------

lambung	dosis III	5	6.20	31.00
	dosis V	5	4.80	24.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.731
Asymp. Sig. (2-tailed)	.465
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	dosis III	5	6.20	31.00
	dosis V	5	4.80	24.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.731
Asymp. Sig. (2-tailed)	.465
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.731
Asymp. Sig. (2-tailed)	.465
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

dosis		N	Mean Rank	Sum of Ranks
lambung	dosis IV	5	4.40	22.00
	dosis V	5	6.60	33.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	lambung
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	22.000
Z	-1.149
Asymp. Sig. (2-tailed)	.251
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: dosis