

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.)
DENGAN PARAMETER MAKROPATOLOGI DAN PERILAKU
PADA MENCIT PUTIH BETINA**



Oleh:

**Febrilia Islami Putri
20144230A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.)
DENGAN PARAMETER MAKROPATOLOGI DAN PERILAKU
PADA MENCIT PUTIH BETINA**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Febrilia Islami Putri
20144230A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul:

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.)
DENGAN PARAMETER MAKROPATOLOGI DAN PERILAKU
PADA MENCIT PUTIH BETINA**

Oleh :

**Febrilia Islami Putri
20144230A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 29 juni 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan

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

Pembimbing,

Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt.

Penguji :

1. Dr. Jason Merari P, S.Si., MM., M.Si., Apt.
2. Tri Wijayanti, S.Farm., MPH., Apt.
3. Ghani Nurfiana F.S, S.Farm., M.Farm., Apt.
4. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt.

1.
2.
3.
4.

PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT, atas rahmat dan karunia-Nya sehingga karya ini dapat diselesaikan, Sholawat serta salam selalu dicurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW,

Teriring doa, rasa syukur dan segala kerendahan hati

Dengan segala cinta dan kasih sayang kupersembahkan karya ini untuk orang-orang tercinta sepanjang hidupku:

Ayahanda terhebat Suyoto dan Ibunda luar biasa Sunarsih yang senantiasa membimbingku, mendoakanku, memotivasiku dan membahagiakan kalian adalah tujuan utamaku,

Untuk adik-adikku tio dan arsyah yang selalu memberikan do'a, keceriaan, mendukungku dan menantikan keberhasilanku,

Teristimewa sahabat - sahabatku Zainab, Icha, Ani, Putri, Kiki, Kini, Desi, Hilda, Farha, Venin, Fannia dan siapapun yang pernah kukenal dan ikut membantu. Terimakasih telah memberikan dukungan, motivasi dan menemani dalam segala keadaan, Semoga persahabatan kita kelak berlanjut hingga anak cucu,

Ibu Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt. dan Ibu Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing tugas akhir saya, terimakasih banyak atas ilmu, didikan pengalaman, dan motivasi selama penelitian dan penulisan skripsi ini,

Semua staf akademik di Fakultas Farmasi

Almamater tercinta Universitas Setia Budi Surakarta

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain

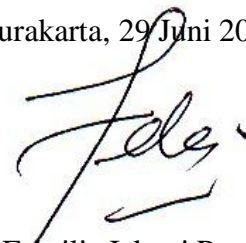
(Q.S. Al Insyirah : 6-7)

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 29 Juni 2018



Febrilia Islami Putri

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini dengan tepat waktu, Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasullulah SAW, keluarga dan sahabatnya. Pembuatan tugas akhir ini berjudul **“UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.) DENGAN PARAMETER MAKROPATOLOGI DAN PERILAKU PADA MENCIT PUTIH BETINA”**. Tugas akhir ini merupakan suatu persyaratan untuk menyelesaikan Program Studi Sarjana Strata Satu (S-1) Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Selanjutnya penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran dalam penulisan tugas akhir ini, baik berupa dorongan moril maupun materil, karena penulis yakin tanpa bantuan dan dukungan tersebut, sulit rasanya bagi penulis untuk menyelesaikan penulisan Tugas Akhir ini, disamping itu ijin penulis untuk menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing utama dan Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt selaku dosen pembimbing pendamping yang telah bersedia membimbing dan mengarahkan dalam penyelesaian tugas akhir ini.
4. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
5. Segenap dosen, karyawan, dan staf Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran dan selesainya skripsi ini.

Surakarta, 25 Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tumbuhan Kitolod	4
1. Klasifikasi tumbuhan.....	4
2. Nama lain tumbuhan	4
3. Morfologi tumbuhan.....	4
4. Kandungan kimia tumbuhan.....	5
5. Kegunaan tumbuhan.....	5
B. Simplisia	5
1. Pengertian simplisia	5
2. Pengumpulan simplisia.....	6
3. Pencucian.....	6
4. Pengeringan simplisia.....	7
C. Ekstraksi	7
1. Pengertian ekstraksi.....	7
2. Pengertian ekstrak	7

3.	Metode ekstraksi	7
4.	Pelarut etanol	8
D.	Uji Toksisitas	9
1.	Uji toksisitas akut oral metode OECD 423.....	10
2.	Uji toksisitas subkronik	11
3.	Uji toksisitas kronik	11
E.	Metode Uji.....	12
1.	<i>Main Test</i>	12
2.	<i>Limit Test</i>	12
F.	Hewan Uji.....	13
1.	Sistematika mencit	13
2.	Karakteristik mencit putih	13
3.	Perlakuan hewan uji	13
4.	Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji	14
5.	Teknik penanganan hewan uji	14
6.	Pemberian tanda pada hewan uji.....	14
7.	Pemberian sediaan uji.....	15
8.	Jenis kelamin mencit	15
9.	Pengamatan gejala hewan percobaan	15
9,1	Perubahan perilaku (<i>behavioral profile</i>).	15
9,2	Perubahan pada <i>neurologi profile</i>	16
9,3	Perubahan pada <i>autonomic profile</i> ,.....	16
G.	Landasan Teori.....	16
H.	Hipotesis	18
I.	Kerangka pikir penelitian	18
BAB III METODE PENELITIAN.....		19
A.	Populasi dan Sampel	19
B.	Variabel Penelitian.....	19
1.	Identifikasi variabel utama	19
2.	Klasifikasi variabel utama	19
3.	Definisi operasional variabel utama	20
C.	Alat dan Bahan.....	20
1.	Bahan.....	20
1.1.	Bahan sampel.	20
1.2.	Bahan kimia.	21
2.	Alat	21
D.	Jalannya Penelitian.....	21
1.	Determinasi tanaman	21
2.	Pengajuan <i>ethical clearance</i>	21
3.	Pembuatan serbuk	22
4.	Pembuatan ekstrak etanol	22
5.	Penetapan susut pengeringan	22
6.	Penetapan kadar air	23
7.	Penetapan berat jenis larutan ekstrak 1%	23
8.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kitolod	23

8.1. Identifikasi saponin.	23
8.2. Identifikasi flavonoid.	23
8.3. Identifikasi alkaloid.	24
8.4. Identifikasi Tanin.	24
9. Pemilihan hewan uji	24
10. Pemberian sediaan uji.....	24
11. Pengamatan hewan uji	25
E. Jalannya penelitian	26
F. Analisis Hasil.....	27
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	28
A. Hasil dan Pembahasan.....	28
1. Determinasi tanaman	28
2. <i>Ethical clearance</i> penelitian	28
3. Hasil pengambilan bahan.....	28
4. Hasil rendemen serbuk tanaman	29
5. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk tanaman	29
6. Hasil penetapan kadar air serbuk	30
7. Hasil uji penetapan berat jenis larutan ekstrak	30
8. Pembuatan ekstrak dan Pemberian Sediaan Uji.....	31
9. Identifikasi kandungan kimia serbuk daun kitolod	32
10. Penetapan dosis	32
B. Uji Toksisitas Akut	32
1. Hasil uji efek toksisitas akut sediaan ekstrak daun kitolod	32
1.1. Hasil monitoring berat badan mencit	33
1.2. Pengamatan Hewan Uji.	34
1.2 Analisa data.....	45
1.3 Hasil rata-rata bobot organ	45
1.4 Hasil pengamatan secara makroskopatologi.....	46
BAB V KESIMPULAN dan SARAN	49
A. Kesimpulan	49
B. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Kitolod (<i>Isotoma longiflora</i>) Sumber: dokumentasi pribadi.....	5
2. Kerangka pikir penelitian.....	18
3. Skema pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun kitolod terhadap mencit putih betina	26
4. Grafik berat badan mencit terhadap waktu dengan kelompok dosis	33
5. Makroskopis dari organ mencit putih betina.....	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Klasifikasi Toksisitas Akut.....	11
2. Pemberian sediaan terhadap hewan uji mencit.....	25
3. Hasil rendemen serbuk tanaman.....	29
4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk tanaman.....	29
5. Hasil penetapan kadar air serbuk.....	30
6. Hasil penetapan berat jenis ekstrak daun kitolod.....	31
7. Hasil persentase rendemen ekstrak.....	31
8. Hasil Skrining Fitokimia ekstrak Daun Kitolod.....	32
9. Rata-rata penimbangan berat badan mencit.....	33
10. Hasil persentase terjadi piloereksi selama 24 jam.....	34
11. Hasil persentase terjadi retasblismen selama 24 jam.....	35
12. Hasil persentase terjadi <i>straub</i> selama 24 jam.....	36
13. Hasil persentase terjadi <i>katalepsi</i> selama 24 jam.....	36
14. Hasil persentase terjadi aktivitas motorik selama 24 jam.....	37
15. Hasil persentase terjadi <i>grooming</i> selama 24 jam.....	37
16. Hasil persentase terjadi rangsangan pineal selama 24 jam.....	38
17. Hasil persentase terjadi rangsangan kornea selama 24 jam.....	38
18. Hasil persentase terjadi <i>flexi</i> selama 24 jam.....	39
19. Hasil persentase terjadi <i>haffner</i> selama 24 jam.....	39
20. Hasil persentase terjadi aktivitas meningkat selama 24 jam.....	40
21. Hasil persentase terjadinya menggelayung selama 24 jam.....	40
22. Hasil persentase terjadinya platform selama 24 jam.....	41

23. Hasil persentase terjadi <i>breathless</i> selama 24 jam.....	41
24. Hasil persentase terjadi lakrimasi selama 24 jam	42
25. Hasil persentase terjadi defekasi dan urinasi selama 24 jam.....	43
26. Hasil persentase terjadi defekasi dan urinasi selama 24 jam.....	43
27. Hasil persentase terjadi <i>ptosis</i> selama 24 jam	44
28. Hasil persentase terjadi mortalitas selama 24 jam	44
29. Rata-rata indeks organ menciit	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi tanaman kitolod	55
Lampiran 2. Ethical Clearance	56
Lampiran 3. Surat keterangan mencit	57
Lampiran 4. Hasil rendemen serbuk	58
Lampiran 5. Hasil rendemen ekstrak	59
Lampiran 6. Hasil perhitungan kadar air serbuk	60
Lampiran 7. Perhitungan Berat Jenis ekstrak	61
Lampiran 8. Uji kandungan zat kimia.....	62
Lampiran 9. Perhitungan dosis	63
Lampiran 10. Berat badan mencit.....	68
Lampiran 11. Foto bahan dan alat	69
Lampiran 12. Penimbangan berat organ mencit.....	72
Lampiran 13. Perhitungan masa indeks organ mencit	73
Lampiran 14. Data berat badan mencit	74
Lampiran 15. Perubahan perilaku hewan uji saraf otonom.....	79
Lampiran 16. Perubahan perilaku hewan uji.....	83
Lampiran 17. Perubahan perilaku perasa/sensori hewan uji	85
Lampiran 18. Perubahan perilaku saraf otot hewan uji	89
Lampiran 19. Perubahan pernafasan hewan uji.....	92
Lampiran 20. Perubahan mata/ocular hewan uji	93
Lampiran 21. Perubahan gastrointestinal/gastrourinasi hewan uji	94
Lampiran 22. Perubahan profil autonomik hewan uji	96

Lampiran 23. Pengamatan adanya mortalitas hewan uji.....	97
Lampiran 24. Hasil uji statistik berat organ mencit.....	98
Lampiran 25. Foto organ mencit	104
Lampiran 26. Data perilaku hewan uji.....	106

INTISARI

PUTRI, FI., 2018, UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.) DENGAN PARAMETER MAKROPATOLOGI DAN PERILAKU PADA MENCIT PUTIH BETINA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) secara empiris digunakan sebagai obat tradisional. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap toksisitas untuk mengetahui keamanan ekstrak etanol daun kitolod. Sehingga dapat dihasilkan suatu obat tradisional yang dapat dipertanggungjawabkan penggunaannya secara ilmiah. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efek toksik, gejala klinis dan kategori toksisitas akut pemberian ekstrak etanol daun kitolod terhadap mencit putih betina.

Ekstrak yang diperoleh diuji toksisitas akutnya secara *in vivo* menggunakan metode OECD dengan parameter makropatologi dan perilaku pada mencit putih betina. Uji dilakukan pada mencit sebanyak 30 ekor dibagi dalam 6 kelompok yaitu kelompok normal dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun kitolod dosis 5, 50, 300, 2000 dan 5000 mg/kgbb yang diberikan secara oral hanya satu kali pemberian pada awal masa penelitian. Pengamatan dilakukan selama 24 jam meliputi gejala toksik dan kematian, dilanjutkan 14 hari meliputi Berat badan, berat organ dan makropatologi.

Hasil pengamatan tidak ditemukan gejala toksik pada semua dosis, pemberian ekstrak daun kitolod tidak menimbulkan kematian pada hewan uji dan memberikan pengaruh terhadap parameter toksisitas akut. Kesimpulan ekstrak daun kitolod termasuk ke dalam kategori toksisitas rendah dengan $LD_{50} > 5000$ mg/kgbb.

Kata kunci : toksisitas akut, ekstrak etanol, daun kitolod.

ABSTRACT

PUTRI, IF., 2018, ACUTE TOXICITY EXTRACT ETHANOL OF KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.) LEAF. WITH MAKROPATOLOGY PARAMETERS AND BEHAVIOR AT WHITE FEMALE. SKRIPSI. PHARMACEUTICAL FACULTY. UNIVERSITY SETIA BUDI. SURAKARTA.

Kitolod leaves (*Isotoma longiflora* L.) are empirically used as traditional medicine. Therefore, it is necessary to research the toxicity to know the safety of ethanol extract of kitolod leaf. So that can be produced a traditional medicine that can be accounted for its use scientifically. The purpose of this study was to investigate the toxic effects, clinical symptoms and acute toxicity categories of ethanol extract of kitolod leaves on female white mice.

The extract obtained was tested for its acute toxicity *invivo* using OECD method with macropathology and behavioral parameters in white female mice. Tests were performed on mice as many as 30 individuals divided into 6 groups, ie normal group and treatment group given ethanol extract of kitolod leaves dosage 5, 50, 300, 2000 and 5000 mg / kgbb administered orally only one feeding at the beginning of study mass. 24 hours observation included toxic and death symptoms, followed by 14 days including weight, organ weight and macropathology.

No toxic symptoms were observed at all doses, giving kitolod leaf extract did not cause death in the test animals and had an effect on acute toxicity parameters. The conclusion of kitolod leaf extract was included in the low toxicity category with LD50 >5000 mg / kgbb.

Keywords: acute toxicity, ethanol extract, kitolod leaf.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Salah satu tanaman di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tumbuhan kitolod. Masyarakat di kota Pekanbaru, Riau dan Bogor terutama daerah pedalaman banyak menggunakan tanaman ini sebagai obat. Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) termasuk suku Campanulaceae berasal dari Hindia Barat menyebar ke berbagai wilayah di belahan dunia, baik di Amerika, Australia, Afrika, Eropa dan Asia (Hutapea *et al.* 1994). Daun tanaman ini mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin. Hasil uji menunjukkan efek anti inflamasi terkuat secara berurutan adalah pada ekstrak air daun, air bunga, dan ekstrak kloroform daun kitolod (Basirun 2010). Daun kitolod mempunyai efek sebagai anti radang (Suparni 2012), obat luka (Hutapea *et al.* 1994). Tanaman kitolod mempunyai aktivitas antikanker serviks. Ekstrak etanol 50% daun kitolod menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 55,78 $\mu\text{g/ml}$, pada konsentrasi 25 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 75 $\mu\text{g/ml}$, dan 125 $\mu\text{g/ml}$ mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks (*Ca Ski Cell Line*) dan pada konsentrasi 125 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan persentase kematian sel Ca Ski yang paling besar, yaitu 72,68% (Aprilita 2016).

Berdasarkan pengalaman empiris yang beredar di masyarakat, tanaman kitolod memang terbukti dapat digunakan sebagai obat tradisional, antara lain obat luka, obat mata, antiinflamasi (Hariana 2008). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap toksisitas untuk mengetahui keamanan ekstrak etanol daun kitolod. Sehingga dapat dihasilkan suatu obat tradisional yang dapat dipertanggungjawabkan penggunaannya secara ilmiah.

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

toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam (BPOM 2014).

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian tentang uji toksisitas akut daun kitolod, sehingga penulis akan mengkaji tentang toksisitas akut ekstrak etanol daun kitolod melalui parameter dari uji toksisitas akut adalah perubahan tingkah laku, makropatologi, berat badan, indeks organ dan kategori toksisitas akut. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada masyarakat tentang keamanan pemakaian tanaman kitolod pengobatan tradisional.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah dan fokus penelitian yang telah diuraikan diatas maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

Pertama, apakah ekstrak etanol daun kitolod berpengaruh terhadap perubahan tingkah laku, berat badan, indeks organ, perubahan makropatologi organ pada mencit putih betina ?

Kedua, bagaimana kategori toksisitas akut ekstrak etanol daun kitolod terhadap mencit putih betina ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan diatas maka tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun kitolod terhadap perubahan tingkah laku, berat badan, indeks organ, perubahan makropatologi organ pada mencit putih betina.

Kedua, untuk mengetahui kategori toksisitas akut pemberian ekstrak etanol daun kitolod terhadap mencit putih betina.

D. Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah menjadi tambahan informasi kepada masyarakat tentang ketoksikan ekstrak etanol daun kitolod terhadap perubahan tingkah laku, berat badan, indeks organ, perubahan makropatologi organ pada mencit putih betina dan menambah informasi dibidang ilmu pengetahuan terutama dibidang farmasi untuk pengembangan penelitian tanaman berkhasiat obat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan Kitolod

1. Klasifikasi tumbuhan

Klasifikasi tumbuhan kitolod (*Isotoma longiflora* L.) menurut Dalimartha, Setiawan (2008) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Ordo : Asterales
Familia : Campanulaceae
Subfamilia : Lobejioideae
Genus : *Isotoma* Lindl
Spesies : *Isotoma Longiflora* L.

2. Nama lain tumbuhan

Tumbuhan kitolod juga memiliki beberapa nama lokal yaitu: kitolod, daun tolod (Sunda), kendali, sangkobak (Jawa).

3. Morfologi tumbuhan

Kitolod merupakan tanaman semak yang memiliki tangkai bunga yang panjang, sesuai dengan nama latinnya (*longiflora*). Mahkotanya berbentuk bintang dan berwarna putih bersih, secara sekilas mirip dengan mahkota melati untuk teh (Ipteknet 2005).

Tinggi tanaman ini sekitar 50 cm, habitat semak, dan merupakan tanaman semusim. Bergetah putih yang rasanya tajam dan mengandung racun, batangnya berbentuk bulat, berkayu, dan berwarna hijau. Daun berbentuk panjang, berwarna hijau, permukaan kasar, ujung runcing, pangkal menyempit, tepi melekok ke dalam, bergigi sampai melekok menyirip, daun merupakan daun tunggal dengan ukuran 2-3 cm dan panjangnya 5-15 cm. Bunga berbentuk lonceng dengan mahkota berbentuk bintang, biji berbentuk bulat telur, berukuran kecil dan

berwarna putih, akar tanaman ini berupa akar tunggang (Ali 2003; Smith 2001). Gambar tanaman kitolod dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kitolod (*Isotoma longiflora*) Sumber: dokumentasi pribadi

4. Kandungan kimia tumbuhan

Ekstrak etanol daun dan bunga kitolod positif mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin (Siregar 2015). Daun kitolod memiliki kandungan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol (Hariana 2008). Tanaman dengan famili *Campanulaceae* memiliki kandungan senyawa alkaloid norlobelanidin, lobelanidin dan isolobelanin (Villegas *et al.* 2014).

5. Kegunaan tumbuhan

Tumbuhan kitolod merupakan tumbuhan yang memiliki banyak kegunaan untuk masalah kesehatan, hal ini dibuktikan dengan adanya berbagai penelitian mengenai aktivitas farmakologi dari setiap kandungan pada berbagai organ tumbuhan kitolod. Studi farmakologi menunjukkan bahwa tumbuhan kitolod memiliki kegunaan sebagai penyakit antikanker atau antineoplastik, antiinflamasi atau antiperadangan, asma, analgesik atau penghilang rasa nyeri, hemostatik atau menghentikan pendarahan, dan mengatasi gangguan pada mata (Ali 2006; Dalimartha 2004).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia merupakan bahan awal pembuatan bahan obat. Mutu bahan obat sangat dipengaruhi oleh mutu simplisia yang digunakan. Oleh karena itu, sumber simplisia, cara pengolahan, dan penyimpanan harus dapat dilakukan dengan cara

yang baik. Simplisia adalah bahan alami yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain dengan suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM 2014).

Menurut Material Medika (MMI 1995), simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan atau bagian hewan zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia. Zat kimia berkhasiat (obat) tidak diperbolehkan digunakan dalam campuran obat tradisional karena obat tradisional diperjualbelikan secara bebas. Dengan sendirinya apabila zat berkhasiat (obat) ini dicampurkan dengan ramuan obat tradisional dapat berakibat buruk bagi kesehatan.

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah daun. Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda tergantung pada bagian yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman saat dipanen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh (Depkes 1985).

3. Pencucian

Pencucian simplisia bertujuan untuk melepaskan kotoran (tanah, debu dan kotoran lainnya) yang melekat pada tanaman obat sehingga mikroba atau kotoran yang dapat merusak dan mengubah komposisi zat pada tanaman dapat dihilangkan (Dalimarta 2008). Cara pencucian juga sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba pada simplisia. Jika air yang digunakan pada simplisia itu kotor maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia bertambah dan air pada simplisia tersebut akan mudah mempercepat pertumbuhan mikroba (Depkes 1985).

4. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan simplisia ialah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan dibawah sinar matahari dan pengeringan teduh (Depkes 1985). Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu, kelembaban udara, kecepatan aliran udara, waktu (lamanya) pengeringan, dan luas permukaan bahan. Pengeringan simplisia harus dilakukan dengan benar agar dapat menghindari terjadinya *face barding* yang berarti bagian luarnya kering tetapi bagian dalamnya masih basah. Hal ini bisa terjadi karena irisan/rajangan bahan simplisia yang terlalu tebal atau suhu pengeringan yang terlalu tinggi dalam waktu yang singkat atau oleh suatu keadaan yang menyebabkan penguapan air di permukaan bahan jauh lebih cepat daripada difusi air dari dalam ke permukaan bahan. Akibatnya bagian luar bahan menjadi keras dan menghambat proses pengeringan lebih lanjut (Katno 2008).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi padat-cair atau *leaching* adalah transfer difusi komponen terlarut dari padatan *inert* kedalam pelarutnya. Proses ini merupakan proses yang bersifat fisik karena komponen terlarut kemudian dikembalikan lagi keadaan semula tanpa mengalami perubahan kimiawi. Ekstrak dari bahan padat dapat dilakukan jika bahan yang diinginkan dapat larut dalam pelarut pengestraksi (Panji 2005).

2. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang paling cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes 1979).

3. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi

dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat dapat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memperoleh metode ekstraksi (Ansel 1989).

Pada penelitian ini dipilih metode maserasi. Maserasi adalah proses penyarian serbuk simplisia dengan cara menempatkan dalam wadah tertutup dan direndam dengan pelarut, lalu dibiarkan berada pada suhu kamar selama minimal 3 hari sambil sering diaduk hingga larut. Setelah beberapa waktu yang ditentukan, maserasi disaring (Handa *et al.* 2008). Kelemahan dari proses maserasi adalah tidak dapat menghasilkan penyarian optimal untuk senyawa senyawa yang kurang larut dalam suhu kamar. Namun karena dilakukan pada suhu kamar, maka hal tersebut menjadi salah satu kelebihan dari maserasi, yakni tidak menyebabkan terjadinya degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas (Depkes 2000).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, dimana dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel. Peristiwa ini terjadi berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes 1986),

Cairan penyari yang biasa digunakan untuk maserasi adalah pelarut yang bersifat non polar, semipolar dan polar. Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan bentuk dan faktor cairan penyari yang baik. Penyari harus memenuhi kriteria, yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif (hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki) dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986).

4. Pelarut etanol

Pemilihan cairan pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat

berkhasiat yang dikehendaki, dan tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat (Depkes 1986).

Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% atau lebih, tidak beracun, netral dan absorbsinya baik. Etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes 1986).

Etanol 70% adalah campuran dua bahan pelarut etanol dan air dengan kadar etanol 70% (v/v). Etanol sangat selektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil larut dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1984).

Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kesesuaian pelarut dalam melarutkan jumlah maksimum zat aktif yang diharapkan larut dan sedikit mungkin untuk unsur yang tidak diharapkan (Ansel 1989).

D. Uji Toksisitas

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

Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia. Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* dapat dipercaya adalah: pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan; cara pemberian sediaan uji, pemilihan dosis uji, efek

samping sediaan uji, teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan (BPOM 2014).

1. Uji toksisitas akut oral metode OECD 423

Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas (BPOM 2014).

Pengujian toksisitas akut dilakukan untuk memperoleh nilai *lethal dose* (LD50) yaitu dosis suatu zat yang dapat memberikan respon kematian sebanyak 50% dari total populasi (Jenova 2009). Metode pengujian toksisitas akut telah dipublikasikan oleh sebuah organisasi internasional yaitu OECD yang didirikan dengan tujuan untuk meningkatkan pembangunan ekonomi antar negara demi terwujudnya stabilitas perekonomian. *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) mengeluarkan berbagai panduan pengujian toksisitas akut yang dilakukan dengan memberikan dosis tunggal sampel uji secara oral kepada hewan uji (Ningrum 2012) (Islamiah 2016). Metode uji yang telah dikeluarkan oleh OECD (yang terkait pengujian toksisitas akut pada tikus yaitu panduan OECD 401, 420, 423, dan 425, dimana setiap panduan mempunyai kelebihan dan kekurangannya masing-masing. OECD 423 yaitu digunakan dosis 2000 atau 5000 mg/kg BB sebagai dosis awalan. *Main test* dilakukan secara bertahap, pada dosis awal diberikan dosis dibawah nilai LD50 sediaan tersebut, tahap berikutnya bergantung kematian hewan uji, jika hewan uji pertama bertahan hidup maka dosis berikutnya ditingkatkan dan jika hewan uji pertama mati dosis berikutnya diturunkan. Peningkatan atau penurunan dosis yang digunakan sesuai dengan faktor 3,2 yang tertera pada panduan OECD 425 (OECD 2008). Toksisitas suatu senyawa dapat diklasifikasikan berdasarkan kategori *Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures* (GHS) yang tercantum dalam *Thirteenth Addendum to The OECD Guidelines for The Testing*

of Chemicals (Anonim 2001). Klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan GHS dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Toksisitas Akut

	Kategori 1	Kategori 2	Kategori 3	Kategori 4	Kategori 5
LD ₅₀	≤ 5 mg/kgbb	>5 mg/kgbb ≤	>50 mg/kgbb	>300 mg/kgbb	>2000 mg/kgbb ≤
Oral		50	≤ 300	≤ 2000	5000

Sumber :Globally harmonized system of classification and labeling of chemicals (GHS) (Nation 2011)

2. Uji toksisitas subkronik

Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam berbagai tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversible* (BPOM 2014).

Dosis uji yang diberikan pada uji toksisitas subkronik sekurang-kurangnya digunakan 3 kelompok dosis yang berbeda, 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok satelit (kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol) untuk uji toksisitas subkronis 28 hari, sedangkan uji toksisitas subkronik 90 hari sekurang-kurangnya digunakan 3 kelompok dosis, 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok satelit (kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol) untuk setiap jenis kelamin. Dosis tertinggi harus menimbulkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan kematian, dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan, sedangkan dosis rendah tidak menimbulkan efek toksik. Batas dosis uji yang diberikan pada uji toksisitas subkronik yaitu 1000 mg/kgbb (BPOM 2014).

3. Uji toksisitas kronik

Tujuan dari uji toksisitas kronik oral adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik. Uji toksisitas kronik oral harus dirancang sedemikian rupa sehingga dapat diperoleh informasi toksisitas secara umum meliputi efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis dan histopatologi (BPOM 2014).

E. Metode Uji

Uji toksisitas akut dilakukan berdasarkan pedoman OECD 425 : *Acute Oral Toxicity Up and Down Procedure*.

1. *Main Test*

Uji utama (*main test*) dilakukan dengan memperhatikan tingkat dosis dimana terjadi kematian pada uji pendahuluan. Tiga hewan uji diberi dosis. Apabila setelah pengamatan 4 jam hewan tersebut tidak menunjukkan mortalitas, maka dosis untuk hewan berikutnya meningkat dengan faktor kenaikan 3,2 kali dosis awal. Jika mati, dosis untuk hewan berikutnya menurun perkembangan dosis yang sama. Setiap hewan harus diamati dengan hati-hati hingga 48 jam sebelum membuat keputusan berapa banyak dosis hewan yang digunakan selanjutnya. Apabila hewan uji diberikan dosis dan tidak ada mortalitas, pemberian dosis dihentikan dan semua hewan uji diamati selama 14 hari.

2. *Limit Test*

Limit test 5000 bertujuan untuk melihat apakah LD₅₀ sampel berada pada rentang 2000 – 5000 mg/kgbb atau berada pada rentang diatas 5000 mg/kgbb. Prosedur pengujian yang dilakukan sama dengan *limit test* 2000. Hanya saja pada *limit test* 5000 apabila terdapat tiga hewan uji tidak menunjukkan mortalitas, maka pemberian dosis dihentikan dan LD₅₀ berada diatas 5000 mg/kgbb. Apabila terdapat tiga hewan uji menunjukkan mortalitas, maka dilakukan *main test* dengan dosis tertinggi 5000 mg/kgbb.

Tujuan dari uji pendahuluan adalah mencari dosis awal yang sesuai untuk uji utama. Dosis awal pada uji pendahuluan dapat dipilih dari tingkatan : 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgbb sebagai dosis yang diharapkan dapat menimbulkan efek toksik. Pemeriksaan menggunakan dosis 5000 mg/kg hanya dilakukan bila benar-benar diperlukan. Diperlukan informasi tambahan yaitu data-data toksisitas *invivo* dan *in vitro* dari zat-zat yang mempunyai kesamaan secara kimiawi dan struktur. Jika informasi tersebut tidak ada, maka dosis awalnya ditentukan sebesar 300 mg/kgbb. Interval waktu pengamatan sekurang-kurangnya 24 jam pada setiap dosis dan semua hewan harus diamati sekurang-kurangnya selama 14 hari. Bila kematian terjadi pada dosis 5 mg/kgbb, sehingga nilai *cutt-off* LD₅₀ adalah 5

mg/kgbb (masuk kategori 1 GHS) maka penelitian sudah harus dihentikan tanpa perlu melakukan uji utama. Namun, jika diperlukan penegasan nilai LD₅₀ maka prosedur tambahan dapat dilakukan sebagai berikut: pada hewan uji kedua diberikan dosis 5 mg/kgbb. Jika hewan kedua ini mati, maka kategori 1 GHS terkonfirmasi dan percobaan dihentikan. Jika hewan ini hidup, maka pemberian bahan uji dosis 5 mg/kgbb secara berurutan dilanjutkan kepada 3 hewan uji lainnya. Interval waktu pemberian antara satu hewan dengan hewan berikutnya harus cukup agar dapat dilakukan penilaian apakah hewan tersebut akan tetap hidup atau tidak. Jika hewan ke-3 mati (jika dihitung dari awal merupakan kematian kedua hewan uji), maka pemberian bahan uji dihentikan dan tidak diteruskan kepada hewan ke-4 dan ke-5. Maka bahan uji masuk kelompok A (kematian 2 atau lebih), dan berlaku klasifikasi pada dosis 5 mg/kgbb (Kategori 1 jika ada 2 atau lebih kematian atau Kategori 2 jika hanya ada 1 kematian).

F. Hewan Uji

1. Sistematika mencit

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih betina dengan sistematika sebagai berikut (Arrington 1972):

Kingdom: Animalia, Filum: Chordata, Kelas: Mamalia, Ordo: Rodentia, Famili: Muridae, Genus: *Mus*, Spesies: *Mus musculus*.

2. Karakteristik mencit putih

Mencit merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium sebagai hewan percobaan, yaitu sekitar 40-80%. Mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya (Moriwaki 1994).

3. Perlakuan hewan uji

Mencit yang dipakai dalam penelitian ini adalah mencit putih betina rentang umur 2-3 bulan dengan berat badan 20 gram. Menghindari stress pada hewan uji saat perlakuan maka, mencit harus diadaptasikan dengan kondisi

laboratorium terlebih dahulu selama 7 hari dan pada hari terakhir dipuaskan selama 12 jam dengan tetap diberi minum, tujuannya adalah agar kondisi hewan uji tetap sama dan untuk mengurangi pengaruh perubahan cuaca terutama temperatur dan kelembapan. Pemberian senyawa pada hewan uji memiliki dosis maksimum yaitu 5000 mg/kgbb.

4. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji

Ruangan yang digunakan untuk percobaan hendaknya memenuhi persyaratan suhu, kelembaban, cahaya dan kebisingan yang sesuai dengan kebutuhan hidup hewan uji, yaitu suhu ruangan diatur menjadi $22^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$, dengan kelembaban relatif 30–70%, dan penerangan 12 jam terang 12 jam gelap. Ruangan harus selalu dijaga kebersihannya. Hewan diberi pakan yang sesuai standar laboratorium dan diberikan tanpa batas (*ad libitum*). Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material yang kedap air, kuat dan mudah dibersihkan, ruang pemeliharaan bebas dari kebisingan. Luas kandang dapat disesuaikan dengan jumlah hewan tikus (berat 100–200 g) memiliki kandang seluas $148,4 \text{ cm}^2$ dan tinggi tinggi 17,8 cm (BPOM 2014).

5. Teknik penanganan hewan uji

Mencit akan menggigit bila ditangkap, terlebih jika merasa takut. Mencit sebaiknya ditangkap dengan memegang ekor pada bagian pangkalnya (bukan pada ujungnya) kemudian ditangkap dan diletakkan diatas alas kasar atau ram kawat, kemudian mencit ditarik pelan-pelan dan cepat kemudian dipegang bagian tengkuknya dengan ibu jari dan jari telunjuk menggunakan tangan kiri, kaki belakang mencit dipegang bersama ekor dengan jari kelingking (BPOM 2014).

Cara pemegangan yang salah dapat menyebabkan antara lain : sediaan uji yang diberikan tidak dapat masuk kedalam lambung tetapi masuk kedalam paru-paru, sehingga mengakibatkan kematian hewan uji. Pemegangan yang salah juga dapat mengakibatkan terjadinya kecelakaan kerja seperti tergigit oleh hewan (BPOM 2014).

6. Pemberian tanda pada hewan uji

Pemberian tanda ini dilakukan untuk mempermudah penelitian, untuk membedakan hewan uji satu dengan yang lain. Tanda dapat berupa titik atau garis pada ekor atau punggung. Pemberian tanda juga dapat dilakukan dengan

menggunakan larutan 10% pikrat atau tinta cina dan pewarna lainnya (BPOM 2014).

7. Pemberian sediaan uji

Pemberian obat secara oral menggunakan spuit diisi dengan sediaan uji dengan volume yang sudah ditentukan, kemudian pegang mencit dan masukkan ujung kanul sampai rongga tekak lalu berikan sediaan uji tersebut secara perlahan agar tidak keluar dari mulut mencit. Tunggu beberapa detik agar sediaan uji masuk semua ke dalam saluran pencernaan baru mencit boleh dibalik dan dikembalikan ke kandangnya (BPOM 2014).

8. Jenis kelamin mencit

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

9. Pengamatan gejala hewan percobaan

Hewan percobaan yang telah diberi perlakuan diamati gejala-gejala klinis yang timbul selama 24 jam dan pengamatan kematian dilanjutkan sampai 14 hari, Penelitian hanya akan mengamati gejala-gejala tertentu yang mudah teramati pada saat pengujian yang dijelaskan sebagai berikut:

9,1 Perubahan perilaku (*behavioral profile*). Pengujian untuk melihat kebiasaan mencit menjilat tubuhnya bila frekuensi meningkat menunjukkan adanya stimulasi SSP atau saraf simpatik dan bila terjadi penurunan adanya depresi, gerakan spontan (*spontaneous activity*) terjadi bila mencit bergerak dengan cepat dan berlari, adanya stimulasi SSP atau ganglia atau neuromuscular dan bila mencit tertidur adanya depresi SSP, reaksi sentuh (*touch respon*) apabila mencit disentuh dengan pensil bila mencit tidak merespon menunjukkan adanya

anestesia, dan reaksi sakit (*pain respon*) yaitu saat ekor mencit dijepit bila mencit tidak merespon menunjukkan adanya analgesik sedasi atau depresi mental.

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

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

G. Landasan Teori

Tumbuhan kitolod merupakan tumbuhan yang memiliki banyak kegunaan untuk masalah kesehatan, hal ini dibuktikan dengan adanya berbagai penelitian mengenai aktivitas farmakologi dari setiap kandungan pada berbagai organ

tumbuhan kitolod. Kandungan tumbuhan kitolod antara lain alkaloid, seperti lobelin, lobelamin, dan isotomin. Memiliki efek terhadap penyakit antikanker atau antineoplastik, antiinflamasi atau antiperadangan, asma, analgesik atau penghilang rasa nyeri, hemostatik atau menghentikan pendarahan, dan mengatasi gangguan pada mata (Ali 2006; Dalimartha 2004). Secara tradisional digunakan sebagai obat gangguan mata seperti mata berair, mata plus, minus, katarak dan glaukoma (Nuraini 2014).

Penelitian menggunakan tanaman kitolod dilakukan oleh (Aprilita 2016). Hasil pemeriksaan kandungan kimia menunjukkan ekstrak etanol 50% daun kitolod menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid-triterpenoid. Hasil menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 55,78 $\mu\text{g/ml}$. Ekstrak etanol 50% daun kitolod pada konsentrasi 25 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 75 $\mu\text{g/ml}$, dan 125 $\mu\text{g/ml}$ mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks (*Ca Ski Cell Line*) dan ekstrak etanol 50% daun kitolod pada konsentrasi 125 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan persentase kematian sel Ca Ski yang paling besar, yaitu 72,68%.

Berbagai penelitian sitotokisitas yang telah dilakukan menyebabkan penggunaan tanaman kitolod sebagai obat tradisional, baik dalam bentuk simplisia maupun sediaan galeniknya yang sebenarnya ditujukan untuk kesehatan perlu diperhatikan keamanannya karena belum diketahui apakah aktivitas tersebut dapat mengakibatkan kematian pada sel sehat atau tidak. Oleh karena itu dilakukan berbagai penelitian antara lain pengujian terhadap toksisitas dan efek samping yang mungkin dapat ditimbulkan. Kematian 50% kelompok hewan uji mati pada sekali pemberian merupakan penentuan toksisitas akut. Pengamatan pada setiap gejala klinis yang timbul setelah perlakuan, perubahan makropatologi, berat badan, indeks organ dan pencatatan jumlah hewan uji yang mengalami kematian. Data berupa kelompok dosis yang mengalami kematian akibat suatu zat yang dipejankan dan dinyatakan dalam LD_{50} , kemudian dosis tersebut dapat diklasifikasikan untuk menentukan peringkat letalitasnya.

H. Hipotesis

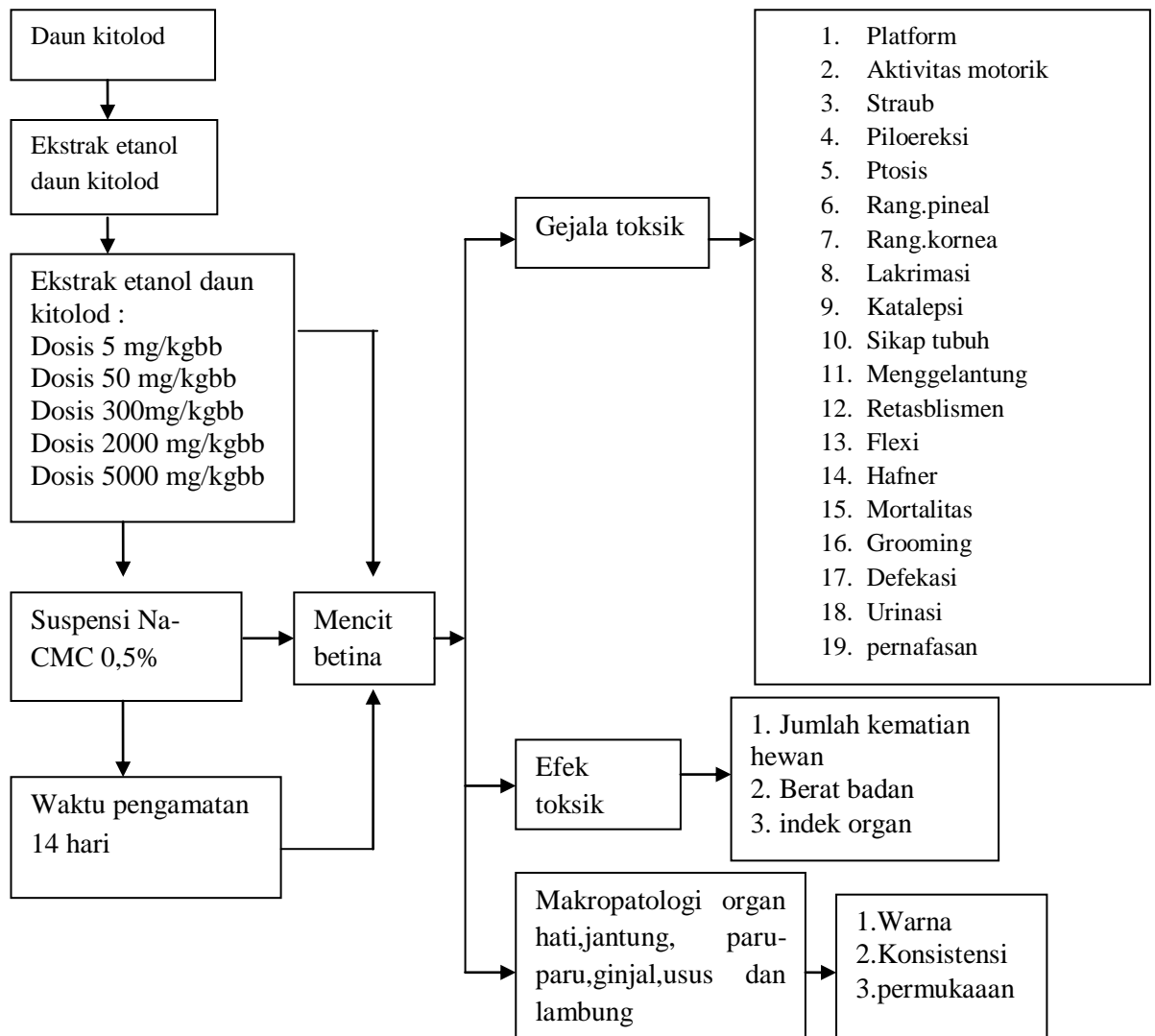
Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan, dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut:

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun kitolod tidak memberikan pengaruh terhadap parameter toksisitas akut.

Kedua, kategori toksisitas akut ekstrak etanol daun kitolod termasuk kedalam kategori toksisitas rendah.

I. Kerangka pikir penelitian

Adapun kerangka pikir dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kerangka pikir penelitian

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun kitolod yang diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun kitolod, bagian kitolod yang diambil adalah daun yang masih segar pada bulan januari 2018, berwarna hijau muda dan bebas dari kotoran yang diambil dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah serbuk daun kitolod dimaserasi dengan pelarut etanol 70% yang diuji toksisitasnya terhadap mencit putih betina.

Variabel utama kedua adalah uji toksisitas akut ekstrak daun kitolod pada mencit putih betina.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama adalah hasil identifikasi semua variabel yang diteliti dan dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kitolod yang digunakan untuk uji toksisitas dengan dosis tertentu.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek ekstrak etanol daun kitolod terhadap uji toksisitas akut pada mencit putih betina.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kondisi fisik dari hewan uji (mencit putih betina) meliputi : berat badan, jenis kelamin, usia, jalur kondisi percobaan dan praktikan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kitolod segar berwarna hijau, tidak rusak, bersih, segar, dan tidak busuk yang diperoleh di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun kitolod adalah serbuk yang didapat dari daun kitolod yang telah dicuci bersih lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50⁰C dan digiling kemudian diayak menggunakan ayakan mesh no 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun kitolod, ekstrak kental daun kitolod yang di peroleh dengan cara maserasi serbuk daun kitolod menggunakan pelarut etanol 70% kemudian diuapkan dengan *rotary evaporation* untuk mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina dengan umur 2-3 bulan dengan berat 20 g.

Kelima, perubahan perilaku yang muncul pada hewan uji toksisitas akut adalah gangguan pada syaraf otonom, sikap tubuh, perubahan saraf otot, perubahan sensori/perasa, respiratori, ocular, profil autonomik, saluran pencernaan dan mortalitas.

Keenam, nilai LD₅₀ adalah ketoksikan suatu bahan terhadap 50% hewan percobaan serta peringkat letalitas dapat diperoleh dengan mengklasifikasikan nilai LD₅₀ pada tabel klasifikasi letalitas berdasarkan klasifikasi bahan kimia (GHS 2011).

Ketujuh, dosis uji toksisitas akut yang digunakan dengan metode *OECD* 425 adalah ekstrak etanol daun kitolod dosis 5 mg/kgbb, 50 mg/kgbb, 300 mg/kgbb, 2000 mg/kgbb dan 5000 mg/kgbb.

Kedelapan, pengamatan makropatologi organ yang di amati secara makroskopis meliputi hati, ginjal, usus, lambung dan jantung.

C. Alat dan Bahan

1. Bahan

1.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kitolod yang diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

1.2. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70% sebagai pelarut untuk maserasi sampel, *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 0,5% untuk kontrol negatif dan *suspending agent*, xylene.

Identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak daun kitolod menggunakan bahan antara lain pereaksi Mayer, aquadest, serbuk magnesium, HCl pekat, alkohol 70%, asam klorida, amil alkohol, FeCl₃ 1%, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pekat.

2. Alat

Alat untuk membuat simplisia seperti blender, ayakan nomor mesh 40. Alat penyari untuk daun kitolod antara lain alat alat gelas, peralatan maserasi, *Vacuum evaporator* (Heidolph laborata 400). Alat yang digunakan untuk mengukur kadar air adalah *sterling-bidwell* (Ohaus), alat yang digunakan untuk susut pengeringan *moisture balance* (Ohaus-MB 23), timbangan elektrik (Ohaus-PA 214), mortir dan stamfer. Alat untuk perlakuan hewan uji yaitu timbangan mencit, spuit oral dan kandang mencit.

Alat yang digunakan untuk identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun kitolod antara lain kertas saring, tabung reaksi, pipet tetes, penangas air dan cawan penguap.

Alat yang digunakan untuk pengamatan perilaku mencit meja platform, pinset, roda putar, alat gelantung, cotton buth.

Alat yang digunakan untuk pemeriksaan makropatologi antara lain pisau bedah, meja bedah, gunting bedah, pinset, cawan petri, dan pins.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman kitolod dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian ini yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret.

2. Pengajuan *ethical clearance*

Ethical clearance yakni keterangan tertulis yang diberikan oleh komisi etik penelitian untuk riset yang melibatkan makhluk hidup (manusia, hewan dan

tumbuhan) yang menyatakan bahwa riset layak dilaksanakan setelah memenuhi persyaratan tertentu. Usulan *ethical clearance* diserahkan kepada Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Rumah Sakit Moewardi.

3. Pembuatan serbuk

Daun kitolod diambil dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dalam keadaan segar, masih muda bebas dari kotoran dan cemaran. Daun kitolod yang sudah diambil kemudian dicuci dengan air bersih lalu ditiriskan. Daun kitolod yang sudah bersih kemudian dikeringkan dengan oven dengan suhu 50°C selama 3 hari hingga didapat daun kitolod yang kering. Setelah dilakukan proses pengeringan, selanjutnya dilakukan perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah daun kitolod. Daun kitolod yang sudah kering digiling dan diayak menggunakan pengayakan mesh no 40 sehingga didapatkan serbuk daun kitolod.

4. Pembuatan ekstrak etanol

Simplisia daun kitolod yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 700 g yang ditambahkan etanol 70% sebanyak 5,250 mL, campuran tersebut didiamkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya, dengan pengocokan tiga kali sehari, pada saat lima hari rendaman diperas dengan kain flannel. Ampas ditambahkan cairan penyari sebanyak 1750 ml kemudian didiamkan selama 2 hari, dengan pengocokan tiga kali sehari dan disaring dengan kain flannel, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan vakum rotary evaporator dan dilanjutkan pada penangas pada suhu 40°C sehingga menjadi ekstrak kental.

5. Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan serbuk daun kitolod menggunakan alat *moisture balance*. Suhu atau temperatur diatur yaitu sebesar 105°C dan waktu pengeringan secara manual hingga kering. Serbuk daun kitolod masing-masing dimasukkan sebanyak 2 g pada neraca timbang. Ditunggu sampai alat berbunyi, menandakan hasil analisa telah selesai. Susut pengeringan memenuhi syarat dimana tidak boleh lebih dari 10%.

6. Penetapan kadar air

Menimbang sebanyak 20 g serbuk kering daun kitolod kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell* kemudian ditambahkan xylene sebanyak 100 mL yang dipanaskan sampai tidak ada tetesan air lagi kemudian dilihat volume tetesan tadi dan dihitung kadarnya dalam satuan persen (Sudarmadji *et al.* 1997).

7. Penetapan berat jenis larutan ekstrak 1%

Penetapan berat jenis Ekstrak daun kitolod sebanyak 1% dalam etanol 70% dengan menggunakan piknometer yang bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan berat piknometer dan berat air yang baru dididihkan, pada suhu 25⁰. Atur hingga suhu zat uji lebih kurang 20⁰C, masukkan kedalam piknometer. Atur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 25⁰C, buang kelebihan zat uji dan timbang. Kurangkan berat piknometer kosong dari berat piknometer yang telah diisi.

Berat jenis suatu zat adalah hasil yang diperoleh dengan membagi berat zat dengan berat air, dalam piknometer, kecuali dinyatakan lain dalam monografi keduanya ditetapkan pada suhu 25⁰C (Depkes 1995).

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kitolod

Identifikasi kandungan senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada daun kitolod. Pengujian kandungan senyawa saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin dibuktikan di Laboratorium Analisis Universitas Setia Budi.

8.1. Identifikasi saponin. Ekstrak etanol daun kitolod ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air panas sama banyak, didinginkan, lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Adawiah 2016).

8.2. Identifikasi flavonoid. Ekstrak etanol daun kitolod, ditambahkan 5 mL aquadest selama satu menit. Kemudian ke dalam larutan dimasukkan 0,1 g serbuk magnesium dan ditambahkan 2 mL larutan alkohol 70% : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini digosok kuat-kuat, kemudian

dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Adawiah 2016),

8.3. Identifikasi alkaloid. Ekstrak etanol daun kitolod sebanyak 2 mL ditambahkan 1 mL HCl 2N dan akuades. Lalu dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk mencampurkan pereaksi mayer dan dragendorff. Filtrat diambil 3 tetes lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer akan menghasilkan endapan putih atau kuning. Selanjutnya filtrat diambil 3 tetes, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, reaksi positif jika terbentuk endapan menggumpal coklat keruh (Harbone 1987).

8.4. Identifikasi Tanin. Ekstrak daun kitolod ditambah 10 mL air panas, kemudian di panaskan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang yang di peroleh di sebut larutan B. Sebanyak 5 mL larutan B ditambah FeCl₃ 1%. Reaksi positif jika terbentuknyawarna biru tua atau hitam kehijauan (Adawiah 2016).

8.5. Identifikasi steroid/triterpenoid. Sebanyak 2 mL filtrat sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 tetes asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat ke dalam tabung tersebut (positif triterpenoid jika terbenbuk cincin kecoklatan, merah atau violet dan positif steroid jika berwarna hijau (Adawiah 2016).

9. Pemilihan hewan uji

Hewan uji yang digunakan untuk penelitian ini adalah mencit putih betina dengan umur 2-3 bulan dengan berat 20 g. Jumlah hewan uji yang digunakan sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok secara acak yang tiap kelompok terdiri atas 5 ekor mencit. Hewan uji tersebut dalam keadaan sehat dan diadaptasi dengan lingkungan laboratorium selama 1 minggu. Hewan uji dipuaskan selama 24 jam dengan diberi air minum.

10. Pemberian sediaan uji

Mencit yang telah ditimbang dan dikelompokkan kemudian diberikan sediaan uji secara oral sesuai dosis yang telah ditentukan, diamati selama 24 jam gejala klinis yang timbul jika tidak ada kematian percobaan dan dilanjutkan

pengamatan sampai hari ke 7 dan 14 untuk memperoleh data berat badan mencit. Diamati perubahan perilaku mencit yang abnormal.

Tabel 2. Pemberian sediaan terhadap hewan uji mencit

Kelompok	CMC Na 0,5%	Dosis 5 mg/kgbb (po)	Dosis 50 mg/kgbb (po)	Dosis 300 mg/kgbb (po)	Dosis 2000 mg/kgbb (po)	Dosis 5000 mg/kgbb (po)
Kontrol negative	√	–	–	–	–	–
Kelompok 1	–	√	–	–	–	–
Kelompok 2	–	–	√	–	–	–
Kelompok 3	–	–	–	√	–	–
Kelompok 4	–	–	–	–	√	–
Kelompok 5	–	–	–	–	–	√

Keterangan : po = per oral

Bobot badan ditimbang hari ke 1, terjadinya kematian diamati. Pengamatan selanjutnya hari ke 7 dan ke 14 ditimbang lagi berat badan mencit untuk melaporkan bobot organ. Hari ke 14 semua mencit yang masih hidup dibedah untuk mendapatkan data indeks massa organ. Adanya kelainan makropatologi dari organ utama pada hewan yang mati maupun yang masih hidup diamati, meliputi jantung, paru-paru, lambung, hati, ginjal dan usus.

Indeks organ mencit dapat dihitung sebagai berikut :

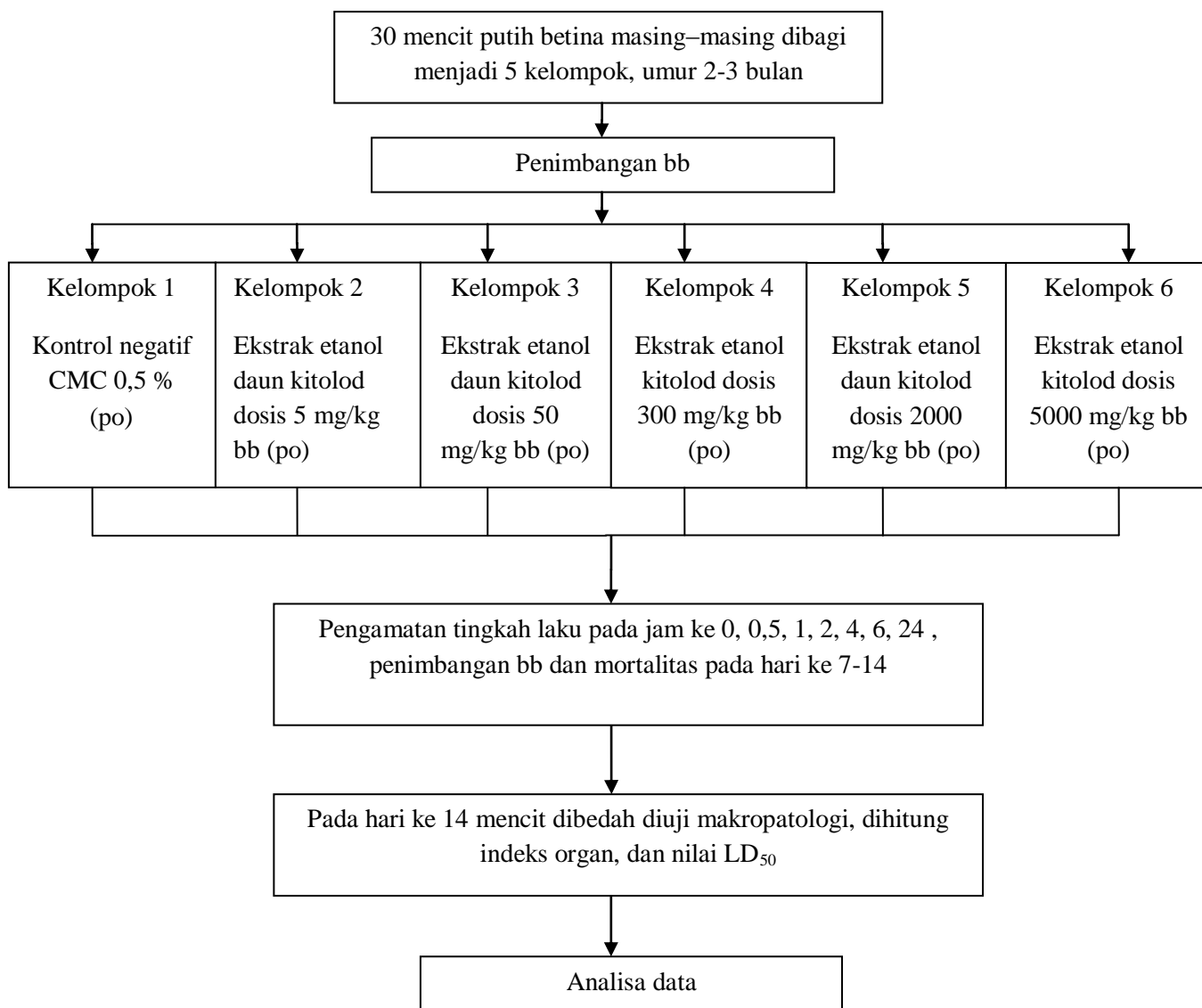
$$\% \text{ Indeks organ} : \frac{\text{Berat organ mencit}}{\text{Berat badan mencit}} \times 100\%$$

11. Pengamatan hewan uji

Setelah hewan uji diberikan dosis ekstrak daun kitolod dilakukan pengamatan perilaku yang muncul terhadap hewan uji pada jam ke 0', 0,5', 1', 2', 4', 6', dan 24 berupa *platform* yakni kemampuan hewan uji melewati garis meja platform, aktivitas motorik merupakan kemampuan mencit memutar roda, *straub* menunjukkan ekor mencit menunjuk kearah atas, *piloereksi* yakni berdirinya bulu pada mencit, *ptosis* menunjukkan kelopak mata akan tertutup sebagian atau seluruhnya, reflek pineal, kornea, *flexi*, *haffner* menunjukkan kemampuan hewan uji menghindar ketika telinga, mata, tangan dan ekor dijepit, lakrimasi yakni pengeluaran air mata, katalepsi menunjukkan kontrol kesadaran, defekasi dan urinasi yakni pengeluaran kotoran dan urin hewan uji, pernafasan menunjukkan nafas pendek dan tersendat, menggelayut menunjukkan kekuatan tangan hewan

uji menggelayung pada alat, aktivitas meningkat menunjukkan kemampuan menaikkan dan menurunkan kepala hewan uji berlebih, retasblismen yakni kemampuan membalikkan tubuh keposisi normal, *grooming* menunjukkan sikap menjilati tubuhnya sendiri, mortalitas yakni kematian pada hewan uji.

E. Jalannya penelitian



Gambar 3. Skema pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun kitolod terhadap mencit putih betina

Keterangan : po = per oral

F. Analisis Hasil

Data dari uji toksisitas tersebut akan diolah secara statistik menggunakan SPSS. Analisis yang digunakan pertama adalah uji distribusi normal (Uji *kolmogorv-Smirnov*), uji *Levene* untuk menguji homogenitas, jika memenuhi uji distribusi maka dilanjutkan uji Anova untuk melihat hubungan antara kelompok perlakuan. Bila ditemukan adanya perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Post-hoc*. Jika uji homogenitas tidak normal maka dilanjutkan uji *kruska wallis*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil dan Pembahasan

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang terdapat pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi tanaman manggis dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Berdasarkan hasil identifikasi surat No. 40/UN27.9.6.4./Lab/2018 telah mendeterminasi tumbuhan kitolod (*Isotoma Longiflora* L.) sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419c-420b-421b-422d-436b-428b-429b-433b-434b-435b-436b-

437a _____ **171. Campulanaceae**

1b _____ **2.Hippobroma**

1a _____ ***Hippobroma longiflora* (L.) G.Don**

Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Ethical clearance penelitian

Ethical Clearance telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Rumah Sakit Moewardi, Surakarta dengan nomor: 247/III/HREC/2018. Penelitian ini telah dinyatakan layak untuk dilaksanakan dengan memberikan perlakuan pada hewan uji mencit galur *Swiss Webster* betina. Hasil *ethical clearance* dapat dilihat pada lampiran 2.

3. Hasil pengambilan bahan

Daun kitolod didapat dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Februari yang dilakukan secara acak. Hasil penimbangan daun kitolod yang diperoleh sebanyak 10 kg. Tanaman yang dipilih hanya daunnya

saja, dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun dengan air mengalir dan ditiriskan kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C untuk menghilangkan kadar air yang terkandung di dalam daun kitolod, pengeringan dilakukan untuk mencegah tumbuhnya kuman, kapang dan khamir yang dapat menyebabkan pembusukan daun.

4. Hasil rendemen serbuk tanaman

Tabel 3. Hasil rendemen serbuk tanaman

Simplisia	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
Daun kitolod	10000	2500	25%

Daun kitolod kering digiling kemudian diayak dengan ayakan mesh no 40 untuk menyeragamkan ukuran serbuk. Tujuan dari penyerbukan ini adalah untuk memperkecil ukuran daun kering sehingga luas permukaan yang kontak dengan pelarut lebih luas agar senyawa yang diekstrak lebih maksimal. Hasil penimbangan daun kitolod kering 2,5 kg. Bobot basah daun kitolod sebesar 10 kg dikeringkan dan diperoleh 2,5 kg yang berarti persentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 25%. Hasil perhitungan rendemen serbuk kering daun kitolod dapat dilihat pada lampiran 4.

5. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk tanaman

Metode penetapan susut pengeringan serbuk daun kitolod dengan cara ditimbang sebanyak 2 gram menggunakan alat *moisture balance* agar mutu dan khasiat daun kitolod tetap terjaga, dengan memanaskan serbuk tanaman dalam *moisture balance* hingga di peroleh hasil susut pengeringan, kadar yang diperoleh tinggi dapat menyebabkan serbuk tanaman mudah di tumbuh jamur dan bakteri akibat reaksi enzimatik. Hasil penetapan susut pengeringan dapat dilihat dalam tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk tanaman

Simplisia	Berat awal (g)	Persentase (%)±SD
	2,00	8,50
Daun kitolod	2,00	8,40
	2,00	8,40
Rata-rata		8,40 ± 0,06

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kitolod didapatkan hasil 8,4%. Susut pengeringan tersebut telah memenuhi syarat susut pengeringan simplisia, dimana proses enzimatis dalam sel terhenti bila kadar air mencapai kurang dari 10%.

6. Hasil penetapan kadar air serbuk

Menimbang sebanyak 20 gram serbuk kering daun kitolod kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell* kemudian ditambahkan xylene sebanyak 100 ml yang dipanaskan sampai tidak ada tetesan air lagi kemudian dilihat volume tetesan tadi dan dihitung kadarnya dalam satuan persen. Jika hasil kurang dari 10% maka hasil dikatakan baik. Hasil penetapan kadar air serbuk dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk

Simplisia	Berat (g)	volume air (ml)	Persentase (%)±SD
	20	1,50	7,50
Serbuk daun kitolod	20	1,60	8,00
	20	1,50	7,50
Rata-rata			7,60 ± 0,29

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui kualitas serbuk yang digunakan atas kandungan air yang dikandungnya. Hal ini dikarenakan air merupakan media tumbuh dan berkembangnya jamur. Nilai batas persyaratan untuk kadar air secara umum dipersyaratkan oleh Kep.Menkes.RI No: 661/Menkes/SK/VII/1994 dimana kadar air tidak boleh melebihi 10%. Kadar air serbuk yang melebihi 10% dapat meningkatkan resiko tumbuhnya jamur pada serbuk. Berdasarkan Tabel 5 didapatkan kadar air yang terkandung dalam serbuk daun kitolod yaitu 7,6% sehingga dapat diketahui ekstrak cukup aman dari kontaminasi jamur selama penyimpanan.

7. Hasil uji penetapan berat jenis larutan ekstrak

Penetapan bobot jenis ekstrak dilakukan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dihitung (Depkes

2000). Hasil penetapan bobot ekstrak yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 6 dan perhitungannya penetapan bobot jenis ekstrak dapat dilihat pada lampiran 7. Hasil penetapan bobot jenis yang diperoleh sebesar 0,80 g/ml. Hasil penetapan berat jenis dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan berat jenis ekstrak daun kitolod

Replikasi	Berat ekstrak (g)	Volume air (ml)	Berat jenis ekstrak (g/ml)
1	39,77	49,74	0,79
2	41,65	50,85	0,82
3	41,79	52,58	0,79
Rata – rata			0,80 ± 0,01

8. Pembuatan ekstrak dan Pemberian Sediaan Uji

Sediaan uji dibuat dalam bentuk suspensi. *Suspending agent* yang digunakan yaitu *CMC-Na* 0,5%. Ekstrak disuspensikan dengan *CMC-Na* 0,5% karena ekstrak tidak larut sempurna dalam air. *CMC-Na* merupakan senyawa yang tidak toksik dan tidak menimbulkan iritan, sehingga dapat dikatakan bahwa zat pembawa tidak berpengaruh pada uji toksisitas ini. Pemberian sediaan uji dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde oral.

Sebanyak 700 gram serbuk daun kitolod diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 5,250 mL dalam botol maserasi. Maserasi dilakukan selama 7 hari dengan pengocokan 3x sehari dan 1,750 mL sebagai pembilas. Maserasi dapat diperoleh dengan menggunakan kain flannel dan kertas saring. Metode maserasi sangat mudah dilakukan dan sangat ekonomis, filtrat yang diperoleh berwarna hijau pekat dengan bau khas daun kitolod bercampur etanol, maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, tujuan dari pemekatan ini untuk menghilangkan sisa pelarut yang terdapat dalam maserat. Hasil yang diperoleh dalam 700 g serbuk mengandung 300 g zat aktif daun kitolod. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun kitolod dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 7. Hasil persentase rendemen ekstrak

Simplisia	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
Ekstrak daun kitolod	700	300	42,85%

9. Identifikasi kandungan kimia serbuk daun kitolod

Ekstrak etanol dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan zat kimia saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, dan triterpenoid. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kitolod dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Skrining Fitokimia ekstrak Daun Kitolod

Kandungan kimia	pereaksi	Pustaka	Hasil
Saponin		Reaksi positif terbentuknya buih, penambahan HCl 2N agar buih tidak hilang (Adawiah 2016)	Positif (+)
Flavonoid	Serbuk Mg+HCl	Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alcohol (Adawiah 2016)	Positif (+)
Alkaloid	Mayer dan dragendrof	Reaksi positif jika terbentuk endapan menggumpal berwarna putih hingga coklat keruh (Harbone 1987)	Positif (+)
Tanin	FeCl ₃ 1%	Reaksi positif ditunjukkan terbentuknya warna hitam kehijauan (Adawiah 2016)	Positif (+)
Steroid/triterpenoid	asetat anhidrat dan asam sulfat	Reaksi positif ditunjukkan terbentuknya cincin berwarna hijau (Adawiah 2016)	Positif (+)

Keterangan : (+) = mengandung golongan senyawa kimia
 (-) = tidak mengandung golongan senyawa kimia

10. Penetapan dosis

Penetapan sediaan uji tunggal dilakukan dengan mencampurkan sediaan uji dengan suspensi CMC-Na 0,5% diberikan sebagai kontrol negatif untuk membandingkan dengan kelompok uji, dosis sediaan uji yang diberikan dikelompokkan menjadi 5 kelompok dosis, setiap kelompok terdiri dari 5 mencit. Terdapat 5 varian dosis, yaitu dosis I 5 mg/kgbb, dosis II 50 mg/kgbb, dosis III 300 mg/kgbb, dosis IV 2000 mg/kgbb dan dosis V 5000 mg/kgbb dengan pemberian tunggal dan diamati gejala klinis selama 24 jam.

B. Uji Toksisitas Akut

1. Hasil uji efek toksisitas akut sediaan ekstrak daun kitolod

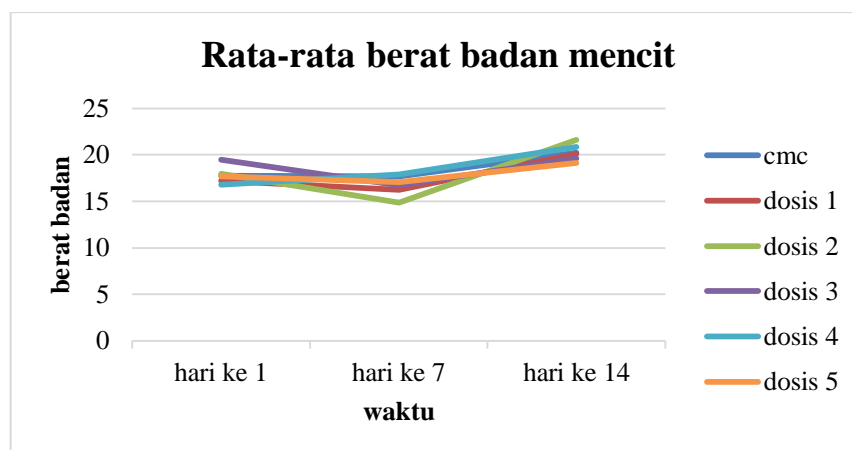
Penelitian ini menggunakan hewan mencit betina umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 30 ekor sebagai hewan uji, pemilihan jenis kelamin betina ini, karena lebih sensitif dibandingkan dengan mencit jantan sehingga lebih menguntungkan bila digunakan untuk uji toksisitas akut.

Mencit yang digunakan aklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk beradaptasi dengan lingkungan tempat uji. Mencit yang telah diaklimatisasi di kelompokan menjadi enam kelompok masing-masing terdiri dari lima ekor mencit. Hewan uji ditimbang berat badan dan dipuasakan terlebih dahulu sebelum diberikan perlakuan sehingga perut mencit dalam keadaan kosong dan tidak mempengaruhi proses pengamatan.

1.1. Hasil monitoring berat badan mencit. Hewan uji ditimbang pada saat sebelum pemberian sediaan uji dan setelah pemberian sediaan uji pada hari ke 1 sebelum pemberian sediaan, hari ke 7 dan 14 setelah pemberian sediaan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui berat badan yang terjadi selama proses pengamatan.

Tabel 9. Rata-rata penimbangan berat badan mencit

kelompok	Hari ke 1 (g) \pm SD	Hari ke 7 (g) \pm SD	Hari ke 14 (g) \pm SD
CMC	17,76 \pm 17.76	17,70 \pm 17.70	20,26 \pm 20.26
Dosis 5 mg	17,18 \pm 17.18	16,26 \pm 16.26	20,12 \pm 20.12
Dosis 50 mg	17,98 \pm 17.98	14,86 \pm 14.86	21,62 \pm 21.62
Dosis 300 mg	19,50 \pm 19.50	16,74 \pm 16.74	19,64 \pm 19.64
Dosis 2000 mg	16,78 \pm 16.78	17,88 \pm 17.88	20,88 \pm 20.88
Dosis 5000 mg	17,66 \pm 17.66	17,04 \pm 17.04	19,16 \pm 19.16



Gambar 4. Grafik berat badan mencit terhadap waktu dengan kelompok dosis

Gambar 5 menunjukkan adanya kenaikan berat hewan uji pada setiap kelompok. Penurunan berat badan hewan uji hari ke 1 sampai hari ke 7, penurunan berat badan dapat dipengaruhi oleh keadaan fisiologis mencit dan lingkungan. Kenaikan berat badan hewan uji pada hari ke 7 sampai hari ke 14 menunjukkan kenaikan yang cukup signifikan. Peningkatan berat badan lebih dipengaruhi oleh masa pertumbuhan karena seiring dengan bertambahnya umur mencit, maka ukuran tubuh juga akan bertambah besar akibat berkembangnya sel.

Selain itu, perubahan berat badan juga dipengaruhi oleh jumlah asupan pakan mencit. Semakin banyak pakan yang dikonsumsi maka berat badan akan meningkat. Data berat badan hari ke 1 dan 14 dianalisis *Paired-Samples T Test* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada kelompok dosis 5 dan 2000 mg/kgbb. Namun pada uji statistik ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa pada berat badan mencit tidak berbeda signifikan. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 14.

1.2. Pengamatan Hewan Uji. Sebelum hewan uji diberikan dosis ekstrak etanol daun kitolod, terlebih dahulu dilakukan uji perilaku pada hewan uji untuk melihat perbandingan perubahan perilaku yang muncul antara sebelum dan sesudah pemberian dosis. Uji perilaku yang diamati berupa *platform*, aktivitas motorik, *straub*, *piloereksi*, *ptiosis*, *refleks kornea*, *refleks pineal*, *lakrimasi*, *katalepsi*, sikap tubuh, menggelayut, *retablismen*, *fleksi*, *hafner*, *mortalitas*, *grooming*, *defekasi*, *urinasi*, pernafasan. Setelah diberikan dosis uji, dilakukan pengamatan terhadap hewan uji mulai dari jam ke 0', 0,5', 1', 2', 4', 6' dan 24' jam. Apabila hewan tidak menunjukkan mortalitas, maka pengamatan dilakukan selama 14 hari.

1.2.1. Perubahan saraf otonom. Pengamatan meliputi *piloereksi*, *retasblismen*, *straub* dan *katalepsi* setelah pemberian sediaan uji pada hewan uji. Pengamatan *piloereksi* merupakan berdirinya bulu-bulu dibagian tubuh mencit yang disebabkan adanya reaksi sensitivitas terhadap sentuhan. Sedangkan *retasblismen* yakni kemampuan tubuh mencit kembali keposisi normal dan *straub* yakni mencit mengalami tremor, *katalepsi* yakni gangguan kesadaran. Pengamatan dilakukan selama 0', 0,5', 1', 2', 4', 6', dan 24 jam.

Tabel 10. Hasil persentase terjadi piloereksi selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya <i>piloereksi</i>						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 50 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	0	0	20	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5000 mg/kgbb	0	40	0	0	0	0	0

Tabel 10 menunjukkan hasil persentasi pengamatan *piloereksi* yaitu 0%, pada jam ke 6' dan 0,5' dosis 300 dan 5000 mg/kgbb terjadi peningkatan. Menunjukkan tidak adanya aktivitas simpatomimetik pada sediaan yang diberikan karena tidak terjadi kompensasi terhadap suhu rendah atau menunjukkan aktivitassimpatomimetik. Sistem saraf otonom merupakan bagian dari sistem saraf motorik yang aktivitasnya tidak dibawah kontrol kesadaran secara langsung. Salah satu jenis transmitor yang bekerja pada sistem saraf otonom adalah asetilkolin, yang disintesis dan dilepaskan oleh saraf kolinergik (Indra 2012). Menurut Ramnaire (2006) dosis dan efek yang berlebihan pada antikolinergik dapat mengakibatkan keracunan antikolinergik atau sindrom antikolinergik, meliputi midriasis pada mata dan kekeringan membran mukosa yang terjadi pada kulit (Christospher *et al.* 2006). Namun hal ini tidak terjadi pada pengujian toksisitas akut yang dilakukan, karena tidak terjadi hampir semua kelompok dosis. Terjadinya peningkatan bisa disebabkan karena faktor fisiologis mencit. Persentase *piloereksi* dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 11. Hasil persentase terjadi retasblismen selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya <i>retasblismen</i>						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 5 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 50 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 300 mg/kgbb	100	80	100	100	100	100	100
Dosis 2000 mg/kgbb	100	100	100	100	80	100	100
Dosis 5000 mg/kgbb	100	100	80	80	100	100	80

Hasil persentase *retasblismen* menunjukkan nilai 100%, menunjukkan kemampuan mengembalikan tubuh keposisi normal mencit normal. Zat aktif tanaman tidak menunjukkan kerusakan pada saraf otonom. Persentase *retasblismen* dianalisis *Kruska Wallis* dengan nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 12. Hasil persentase terjadi *straub* selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya <i>straub</i>						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 50 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	20	0

Hasil tabel 12 pengamatan *straub* yakni 0% dan terjadi peningkatan pada jam ke 6' dosis 5000 mg/kgbb. Menunjukkan ekor mencit menunjuk kearah atas. Terjadinya *straub* bisa terjadi disebabkan oleh faktor fisiologis dari hewan uji. Persentase *straub* dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 13. Hasil persentase terjadi *katalepsi* selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya <i>katalepsi</i>						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 50 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	20

Hasil tabel 13. Pengamatan *katalepsi* juga menunjukkan hasil 0% dan terjadi peningkatan pada dosis 5000 mg/kgbb pada jam ke 24'. Sistem saraf otonom merupakan bagian dari sistem saraf motorik yang aktivitasnya tidak dibawah kontrol kesadaran secara langsung (Imai Indra 2012). Terjadinya *katalepsi* bisa terjadi disebabkan oleh faktor fisiologis dari hewan uji. Persentase *katalepsi* dianalisis *Kruska Wallis* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 15.

1.2.2. Perubahan perilaku. Perubahan perilaku meliputi aktivitas motorik dan *grooming*. Pengamatan ini dilakukan pada jam ke 0', 0,5', 1', 2', 4', 6', dan 24 jam setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 14. Hasil persentase terjadi aktivitas motorik selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya aktivitas motorik						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	60	100	100	100	60	60	100
Dosis 5 mg/kgbb	100	80	80	60	100	100	100
Dosis 50 mg/kgbb	80	60	80	80	100	100	100
Dosis 300 mg/kgbb	100	60	80	80	80	100	100
Dosis 2000 mg/kgbb	100	60	80	60	100	80	80
Dosis 5000 mg/kgbb	100	100	100	80	100	100	100

Hasil menunjukkan bahwa tabel 14 yakni telah terjadi kenaikan aktivitas motorik hampir pada setiap mencit hingga menunjukkan nilai 100% yakni tidak adanya aktivitas penenang atau hipnotik, karena mencit masih mampu memutar roda. Efek hipnotik melibatkan depresi susunan saraf pusat yang lebih menonjol pada sedasi dan ini dapat dicapai dengan sebagian obat sedatif hanya dengan meningkatkan dosis (Katzung 1989). Persentase aktivitas motorik dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel 15. Hasil persentase terjadi grooming selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya aktivitas grooming						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	40	60	40	0	20	20	20
Dosis 5 mg/kgbb	80	80	60	40	0	0	0
Dosis 50 mg/kgbb	20	0	80	0	20	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	100	80	60	80	20	20	20
Dosis 2000 mg/kgbb	80	80	80	20	20	20	20
Dosis 5000 mg/kgbb	0	0	60	40	20	20	20

Pengamatan *grooming* dilihat dari tabel diatas menunjukkan bahwa mencit yang diberikan daun kitolod terjadi perubahan perilaku. Terjadinya *grooming* pada mencit bisa terjadi disebabkan oleh faktor fisiologis dari hewan uji. Persentase *grooming* dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 16.

1.2.3. Perubahan perasa/sensori. Perubahan perasa atau sensoris meliputi rangsangan pineal (telinga), kornea (mata), *flexi* (tangan) dan rangsangan *hafner* (ekor). Pengamatan dilakukan pada jam ke 0', 0,5', 1', 2', 4', 6' dan 24 jam setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 16. Hasil persentase terjadi rangsangan pineal selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya rangsangan pineal						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	100	100	80	100	100	60	60
Dosis 5 mg/kgbb	100	60	60	60	80	80	80
Dosis 50 mg/kgbb	100	100	80	60	80	60	80
Dosis 300 mg/kgbb	100	100	80	60	60	80	100
Dosis 2000 mg/kgbb	100	80	60	60	80	80	80
Dosis 5000 mg/kgbb	80	100	60	20	60	80	80

Berdasarkan tabel 16. Hasil persentase tertinggi yakni 100%. Menunjukkan hewan mengalami kesakitan ketika telinga dijepit, hal ini bisa terjadi disebabkan ketika telinganya dijepit mencit mengalami rasa nyeri. Rasa nyeri akan disertai respon stress, antara lain berupa meningkatnya rasa cemas (Hartwig & Wilson 2006). Pada dasarnya, rasa nyeri merupakan mekanisme pertahanan tubuh. Meskipun nyeri berguna bagi tubuh, namun dalam kondisi tertentu, nyeri dapat menimbulkan ketidaknyamanan bagi penderita (Kee 1994). Persentase rangsangan pineal dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 17.

Tabel 17. Hasil persentase terjadi rangsangan kornea selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya rangsangan kornea						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	100	100	100	100	100	60	60
Dosis 5 mg/kgbb	100	100	80	80	80	60	80
Dosis 50 mg/kgbb	100	60	60	60	80	60	80
Dosis 300 mg/kgbb	100	100	80	60	60	80	100
Dosis 2000 mg/kgbb	80	60	60	80	80	80	80
Dosis 5000 mg/kgbb	80	100	60	20	60	80	80

Berdasarkan tabel 17. Hasil persentase tertinggi yakni 100%. Menunjukkan hewan mengalami kesakitan ketika mata diberi rangsangan, hal ini bisa terjadi disebabkan ketika mata diberi rangsangan mencit mengalami rasa nyeri. Rasa nyeri akan disertai respon stress, antara lain berupa meningkatnya rasa cemas (Hartwig & Wilson 2006). Persentase rangsangan kornea dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 17.

Tabel 18. Hasil persentase terjadi *flexi* selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya rangsangan <i>flexi</i>						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 5 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 50 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 300 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 2000 mg/kgbb	100	100	100	100	80	100	100
Dosis 5000 mg/kgbb	100	100	100	100	100	80	80

Berdasarkan tabel 18. Hasil persentase tertinggi yakni 100%. Menunjukkan hewan mengalami kesakitan ketika tangan dijepit, hal ini bisa terjadi disebabkan ketika tangan dijepit mencit mengalami rasa nyeri. Rasa nyeri akan disertai respon stress, antara lain berupa meningkatnya rasa cemas (Hartwig & Wilson 2006). Pada dasarnya, rasa nyeri merupakan mekanisme pertahanan tubuh. Meskipun nyeri berguna bagi tubuh, namun dalam kondisi tertentu, nyeri dapat menimbulkan ketidaknyamanan bagi penderita (Kee 1994). Persentase *flexi* dianalisis *Kruska Wallis* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 17.

Tabel 19. Hasil persentase terjadi *haffner* selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya rangsangan <i>haffner</i>						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	80	60	80	40	0	0	80
Dosis 5 mg/kgbb	100	80	60	20	20	40	0
Dosis 50 mg/kgbb	0	0	80	80	40	60	80
Dosis 300 mg/kgbb	20	80	40	40	80	0	60
Dosis 2000 mg/kgbb	100	80	60	40	100	80	80
Dosis 5000 mg/kgbb	80	100	80	60	80	80	80

Berdasarkan tabel 19. Menunjukkan hasil persentase *haffner* yakni rata-rata 100%. Menunjukkan hewan mengalami kesakitan ketika ekor dijepit, hal ini bisa terjadi disebabkan ketika ekor dijepit mencit mengalami rasa nyeri. Rasa nyeri akan disertai respon stress, antara lain berupa meningkatnya rasa cemas (Hartwig & Wilson 2006). Pada dasarnya, rasa nyeri merupakan mekanisme pertahanan tubuh. Meskipun nyeri berguna bagi tubuh, namun dalam kondisi tertentu, nyeri dapat menimbulkan ketidaknyamanan bagi penderita (Kee 1994). Persentase *haffner* dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$)

menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 17.

1.2.4. Perubahan saraf otot. Pada gejala toksik ini meliputi aktivitas meningkat, platform dan menggelayung. Pada aktivitas meningkat dilakukan pengamatan selama 24 jam dengan memperhatikan kondisi naik turunnya kepala hewan uji setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 20. Hasil persentase terjadi aktivitas meningkat selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya aktivitas meningkat						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	100	100	100	100	100	100	80
Dosis 5 mg/kgbb	100	100	100	100	60	80	60
Dosis 50 mg/kgbb	100	80	80	100	100	100	100
Dosis 300 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 2000 mg/kgbb	100	100	80	80	80	100	100
Dosis 5000 mg/kgbb	100	100	100	80	100	80	80

Hasil pada tabel diatas menunjukkan aktivitas mencit meningkat dengan persentase 100% maka ekstrak dikatakan tidak memiliki efek hipnotik dan sedatif yang merupakan golongan obat penedepresi susunan saraf pusat (SSP). Efeknya bergantung pada dosis, mulai dari yang ringan yaitu menyebabkan tenang atau kantuk, menidurkan, hingga yang berat yaitu hilangnya kesadaran, keadaan anastesi, koma dan kematian (Gunawan 2007). Persentase aktivitas dianalisis *Kruska Wallis* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 18.

Tabel 21. Hasil persentase terjadinya menggelayung selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya menggelayung						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 5 mg/kgbb	100	100	80	80	100	100	100
Dosis 50 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 300 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 2000 mg/kgbb	100	100	100	100	80	100	100
Dosis 5000 mg/kgbb	100	100	100	100	100	80	80

Hasil pada tabel 21. Menunjukkan aktivitas menggelayung dengan persentase tertinggi 100% yakni dikatakan normal, zat aktif tanaman tidak menunjukkan kerusakan pada saraf otot. Persentase menggelayung dianalisis

Kruska Wallis dengan nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 18.

Tabel 22. Hasil persentase terjadinya platform selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya platform						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 5 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 50 mg/kgbb	100	100	100	100	100	100	100
Dosis 300 mg/kgbb	100	80	100	100	100	100	100
Dosis 2000 mg/kgbb	100	100	100	80	80	80	100
Dosis 5000 mg/kgbb	100	100	100	80	80	100	100

Hasil pada tabel 22. Menunjukkan aktivitas platform dengan persentase tertinggi 100% yakni dapat dikatakan normal. Zat aktif tanaman tidak menunjukkan kerusakan pada saraf otot. Persentase platform dianalisis *Kruska Wallis* dengan nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 18.

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

Tabel 23. Hasil persentase terjadi *breathless* selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya <i>breathless</i>						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 50 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5000 mg/kgbb	0	0	0	20	0	0	0

Hasil pengamatan pada tabel di atas menunjukkan kondisi dimana bernafas pendek dan tersendat tidak timbul pada pengamatan perubahan pernafasan pada 24 jam setelah pemberian sediaan uji. Dosis dan efek yang berlebihan pada antikolinergik dapat mengakibatkan keracunan antikolinergik atau sindrom antikolinergik (Ramnaire 2017), salah satunya adalah kegagalan respirasi (Christopher 2006), sehingga kemungkinan perbedaan dosis dan akumulasi dosis dapat menyebabkan sindrom antikolinergik dan menimbulkan kegagalan respirasi.

Tetapi pada pengujian akut ini, hal ini tidak terjadi pada semua mencit, hanya pada dosis 5000 mg/kgbb, dimana *breathless* bisa saja terjadi karena faktor fisiologis hewan uji. Persentase *breathless* dianalisis *Kruska Wallis* dengan nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 19.

1.2.6. Perubahan mata/ocular. Kondisi perubahan mata meliputi lakrimasi yaitu sekresi atau pengeluaran air mata.

Tabel 24. Hasil persentase terjadi lakrimasi selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya lakrimasi						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 50 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	20	0	0	0	0
Dosis 5000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0

Pengamatan lakrimasi tidak tampak adanya kondisi pengeluaran air mata pada waktu 24 jam, yakni dengan hasil persentase 0% dan terjadi peningkatan pada jam ke 1' dosis 2000 mg/kgbb. Lakrimasi yang teramati pada penelitian ini berupa produksi yang berlebihan dan akumulasi pigmen porfirin (berwarna merah muda-merah-jingga) didaerah sekitar mata. Porifin merupakan kandungan nitrogen organik yang membantu pembentukan substansi penting didalam tubuh seperti hemoglobin. Beberapa jenis porifin dapat ditemukan pada kelenjar Harderian (kelenjar mata) pada mencit. Sekresi porifin disebabkan karena beberapa faktor stress pada mencit seperti nutrisi yang rendah, nyeri/sakit, stress lingkungan (*handling* mencit, sifat agresif mencit lain, banyaknya tikus pada satu kandang), infeksi mata (Reis *et.al.* 2005) . Pada pengujian toksisitas akut ini tidak terjadi lakrimasi pada hewan uji. Persentase lakrimasi dianalisis *Kruska Wallis* dengan nilai signifikan ($p>0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 20.

1.2.7. Perubahan gastrointestinal/gastrourinari. Meliputi pengeluaran feces (defekasi) dan urinasi berkali-kali yang tidak normal. Pengamatan dilakukan selama 24 jam. Pada jam ke 0', 0,5', 1', 2', 4', 6', dan 24 setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 25. Hasil persentase terjadi defekasi dan urinasi selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya defekasi						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	60	60	80	20	20	20	20
Dosis 5 mg/kgbb	80	40	40	0	20	20	20
Dosis 50 mg/kgbb	20	20	20	0	20	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	40	80	80	80
Dosis 2000 mg/kgbb	20	40	20	40	40	40	40
Dosis 5000 mg/kgbb	0	0	0	20	40	40	40

Tabel diatas menunjukkan nilai persentase tertinggi defekasi (pengeluaran kotoran) menunjukkan nilai 80% dapat dikatakan ekstrak terdapat efek antidiare. Menurut Ramsewak (1999), senyawa fitokimia merupakan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman dan memiliki aktivitas fisiologis sehingga banyak digunakan dalam pengobatan dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Aktivitas antibakteri daun dan bunga kitolod mengandung senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin (Dalimarta 2008). Menurut Hanum, Alivia (2016) ekstrak etanolik daun kitolod memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi 100%. *Escherichia coli* merupakan salah satu penyebab diare. Persentase defekasi dianalisis *Kruska Wallis* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 21.

Tabel 26. Hasil persentase terjadi defekasi dan urinasi selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya urinasi						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	0	60	20	20	0	0	0
Dosis 5 mg/kgbb	60	0	40	40	60	60	60
Dosis 50 mg/kgbb	40	0	40	40	20	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	0	60	60	60
Dosis 2000 mg/kgbb	20	20	60	40	0	0	0
Dosis 5000 mg/kgbb	40	100	40	20	40	40	40

Tabel diatas persentase urinasi (pengeluaran urin) menunjukkan nilai persentase tertinggi 100%. Hal ini bisa terjadi karena salah satu senyawa yang terkandung dalam tanaman dapat bekerja langsung pada tubulus dengan cara meningkatkan ekskresi Na^+ dan Cl^- . Dengan meningkatnya ekskresi Na^+ juga akan meningkatkan ekskresi air dan menyebabkan volume urin bertambah (Nessa 2013). Persentase urinasi dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan

($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 21.

1.2.8. Perubahan profil autonomik. Pengamatan gejala klinis *ptosis* adalah adanya perubahan sistem otonom selama 24 jam pertama setelah diberikan sediaan uji pada semua kelompok mencit. Gejala yang dinilai adalah adanya posisi palpebra (*ptosis*).

Tabel 27. Hasil persentase terjadi *ptosis* selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya <i>ptosis</i>						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 50 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	20	0	0	0	0	0	0
Dosis 5000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0

Tabel diatas menunjukkan mencit mengalami *ptosis* yakni 0% dan terjadi peningkatan pada jam ke 0 dosis 2000 mg/kgbb, hal ini bisa disebabkan adanya efek sedasi yang berhubungan dengan analgetik. Mekanisme *ptosis* menekan transmisi simpatik retikula diotak dan merubah permeabilitas membrane sel sehingga mengurangi rangsangan dan menyebabkan rasa kantuk (Sidarta 2007). Persentase *ptosis* dianalisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 21.

1.2.9. Pengamatan adanya mortalitas. Pengamatan gejala klinis terakhir yaitu mortalitas/kematian pada semua kelompok mencit pada jam ke 0, 1, 2, 4, 6 dan 24 setelah pemberian sediaan uji.

Tabel 28. Hasil persentase terjadi mortalitas selama 24 jam

Kelompok perlakuan	Persentase (%) terjadinya mortalitas						
	Jam ke-						
	0	0,5	1	2	4	6	24
Kontrol negatif (CMC 0,5%)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 50 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 300 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 2000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 5000 mg/kgbb	0	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa pemberian dosis ekstrak hingga dosis maksimal tidak menimbulkan kematian. Sehingga toksisitas akut pada sediaan uji ini dapat dikategorikan dalam toksisitas rendah. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 22.

1.2 Analisa data. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif dan kualitatif. Data kualitatif berupa data pengamatan perilaku dan makropatologi. Aktifitas makropatologi dilakukan dengan mengamati organ hati, ginjal, jantung, paru-paru, lambung dan usus. Data kuantatif berupa berat badan dan indeks organ (dianalisis menggunakan ANOVA).

Pengamatan dilanjutkan selama 14 hari untuk melihat adanya kematian dan terjadinya perubahan berat badan pada mencit. Kelompok dosis 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgbb menunjukkan tidak adanya kematian yang terjadi pada hari keempat belas dan berat badan menunjukkan tidak terdapat perubahan drastis terhadap pertumbuhan atau perkembangan bobot badan mencit. Hal yang sama terjadi pada kelompok dosis 5000 mg/kgbb. Pada hari keempat belas tidak menunjukkan adanya kematian yang terjadi. Berdasarkan hal tersebut, maka disimpulkan ekstrak etanol daun kitolod masuk dalam kategori 5 toksisitas rendah.

Pengamatan dilanjutkan pada hari kelima belas dan dilakukan pembedahan terhadap hewan uji untuk melihat indeks organ mencit yang telah diberi sediaan secara oral. Hal ini dilakukan untuk mengamati perubahan yang terjadi pada organ jantung, paru-paru, usus, lambung, hati, dan ginjal secara makroskopik akibat pemberian ekstrak etanol daun kitolod.

Hasil pengamatan indeks organ jantung, paru-paru, lambung, hati, usus dan ginjal menunjukkan bahwa terjadi perubahan warna dan tidak terjadinya pembesaran organ yang berarti pada tiap mencit yang berada pada kelompok dosis 5, 50, 300, 2000 dan 5000 mg/kgbb.

1.3 Hasil rata-rata bobot organ. Mencit ditimbang dari hari pertama sebelum pengujian, hari ke 7 dan hari ke 14 pengamatan. Mencit yang masih hidup selama 14 hari dikorbankan dengan dislokasi leher, cara ini dipilih karena dikhawatirkan apabila menggunakan cara kimia dapat mempengaruhi hasil uji. Mencit kemudian di bedah dan diambil jantung, paru-paru, lambung, hati, usus

dan ginjal. Setelah pembedahan dilakukan penimbangan untuk mendapatkan indeks masa organnya. Hasil perhitungan indeks masa organ pada lampiran 13.

Tabel 29. Rata-rata indeks organ mencit

Kelompok dosis	Jantung (g)	Paru-paru (g)	Lambung (g)	Hati (g)	Ginjal (g)	Usus (g)
CMC	0,48±0,14	0,84±0,09	1,79±0,31	5,77±0,79	1,30±0,05	10,45±1,74
Dosis I	0,43±0,18	0,49±0,15	2,07±0,32	5,42±1,08	1,19±0,21	9,67±1,43
Dosis II	0,54±0,06	0,83±0,09	2,56±0,60	6,72±1,92	1,42±0,29	11,38±0,99
Dosis III	1,03±0,13	1,32±0,15	2,15±0,33	6,16±0,79	1,31±0,24	10,32±0,74
Dosis IV	0,37±0,14	0,87±0,20	2,05±0,91	5,79±0,88	1,24±0,19	10,25±0,97
Dosis V	0,58±0,14	0,66±0,46	2,45±0,76	4,93±1,69	1,24±0,32	11,22±0,59

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







Pemeriksaan indeks organ jantung, paru-paru, lambung, hati, ginjal, dan usus diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh semua data terdistribusi normal ($p>0,05$), dilanjutkan dengan menggunakan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan antara organ yang diberi perlakuan kontrol negatif dengan organ yang diberi perlakuan sediaan uji. Hasil rata-rata bobot organ mencit dapat dilihat pada tabel 29. Dari data di atas tidak terdapat perbedaan bobot organ secara signifikan.

Berdasarkan dari hasil uji ANOVA tidak terdapat perbedaan yang bermakna, sehingga dari hasil uji statistik ini tidak terdapat perbedaan bermakna pada organ jantung, paru-paru, lambung, hati, ginjal dan usus pada semua kelompok perlakuan. Pada uji *Post Hoc Tukey* tidak terlihat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok perlakuan. Hal ini berarti ekstrak daun kitolod tidak menyebabkan perubahan indeks organ pada hewan uji. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada lampiran 13.

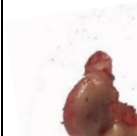
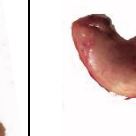




1.4 Hasil pengamatan secara makroskopatologi. Pemeriksaan makroskopatologi adalah pengamatan organ hewan uji dengan kasat mata atau tidak menggunakan alat bantu. Organ yang diamati dalam pemeriksaan makroskopatologi meliputi jantung, paru-paru, lambung, hati, ginjal dan usus. Kelompok dosis 300, 2000 dan 5000 mg/kgbb menunjukkan adanya perbedaan warna organ hati memiliki warna lebih gelap. Meskipun terdapat adanya perubahan warna pada kelompok dosis 300, 2000 dan 5000 mg/kgbb, hal ini tidak bisa digunakan sebagai tolak ukur pengaruh sediaan uji terhadap kerusakan organ, bisa terjadi karena faktor fisiologis dari mencit tersebut.

Hepar memiliki fungsi vital dalam detoksikasi bahan toksik. Hal ini menyebabkan hepar menjadi sering terpapar dengan zat-zat toksik yang mengakibatkan kerusakan sel hepar (Anshor *et al.* 2013). Secara kesehatan organ yang memiliki warna pucat adanya gangguan pada organ tersebut. Warna organ yang pucat akan berdampak pada fungsi dan kinerja organ sehingga akan mempengaruhi metabolisme dari hewan uji tersebut. Menurut Chung *et al.* (1998) injeksi tunggal tanin secara subkutan dengan dosis 700 mg/kgbb menyebabkan kerusakan poliribosom yang signifikan pada hati mencit. Namun beberapa hal yang perlu diperhatikan adalah dalam penelitian tersebut digunakan senyawa tunggal, sementara itu, bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar yang didalamnya mengandung berbagai komponen fitokimia. Interaksi antara dua atau lebih senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak dapat mempengaruhi aksi dari masing-masing senyawa. Efek ini dinamakan efek antagonisme. Dengan adanya efek antagonisme ini, interaksi antara dua senyawa atau lebih menyebabkan efek toksik dari suatu senyawa berkurang bahkan tidak muncul (Klassen & Doull 2010). Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sediaan ekstrak daun kitolod memberi pengaruh warna beberapa organ bila dilihat secara makroskopis. Dapat dilihat pada gambar 6.







HATI

Kontrol cmc	Dosis 5 mg	Dosis 50 mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					





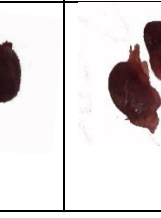

LAMBUNG

Kontrol cmc	Dosis 5 mg	Dosis 50mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					

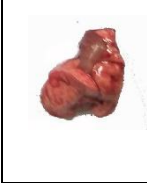
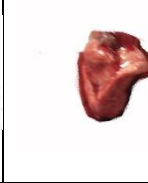
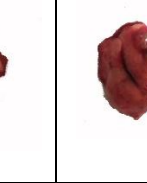
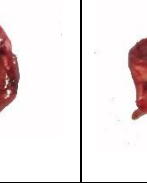


JANTUNG

Kontrol cmc	Dosis 5 mg	Dosis 50 mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					





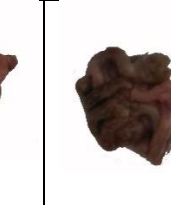
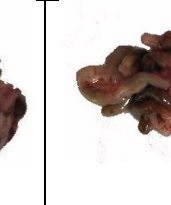
GINJAL

Kontrol cmc	Dosis 5 mg	Dosis 50mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000mg	Dosis 5000 mg
					

PARU-PARU

Kontrol cmc	Dosis 5 mg	Dosis 50 mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					

USUS

Kontrol cmc	Dosis 5 mg	Dosis 50 mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					

Gambar 5. Makroskopis dari organ mencit putih betina

BAB V

KESIMPULAN dan SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak daun kitolod tidak menimbulkan efek toksik pada mencit putih betina.
2. Pemberian ekstrak daun kitolod tidak menimbulkan kematian pada hewan uji dan memberikan pengaruh terhadap parameter toksisitas akut.
3. Pemberian ekstrak daun kitolod termasuk kedalam kategori 5 toksisitas rendah dengan LD₅₀ sebesar >5000 mg/kgbb.

B. Saran

Demi kelanjutan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi disarankan untuk penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas subkronis dan uji toksisitas kronis agar mendapatkan informasi lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah. 2016. Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia, Jurnal (2)1, 63-70.
- Ali, Iskandar, SE, ,2003, *Khasiat & Manfaat Kitolod, Penakluk Gangguan pada Mata*, Depok: PT AgroMedia Pustaka, Hal, 6-7.
- Ali, Iskandar, SE, , 2006, *Khasiat dan Manfaat Kitolod Penakluk Gangguan pada Mata*, Edisi ke-3, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Ansel HC, 1989, *Pengantar bentuk sediaan farmasi*, Ed ke-4 Farida Ibrahim, penerjemah, Jakarta: UI Press.
- Anshor T, dominius A, Irwanda, Imiawan Ml. 2013. Supresi Ekspresi CYP1A1 dan CYP1A2 pada hepatocellular carcinoma melalui potensi formula herbal terkombinasi *Gynura procumbens* dan kulit jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* var.*Microcarpa*) sebagai agen kemopreventif keganasan hepar. *IMKU*. 2(1):1-11.
- Aprilita RYE, 2016, Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 50% Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) Presl.) Terhadap Sel Kanker Serviks (*Ca Ski Cell Line*) Secara In Vitro, Jurnal.
- Arrington L, 1972, *Introductory Laboratory Animal, The Breeding, Care, and Management of Experimental Animal Science*, New York: The Interstate Printersand Publishing, Inc.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2014, Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Non klinik Secara *In Vivo*.
- Bansal T., Jaggi M., Khar RK, and Talegaonkar S., 2009, Emerging significance of flavonoids as P-glycoprotein inhibitors in cancer chemotherapy, *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 12 (1), 46–78.
- Basirun, 2010, Efek Antiinflamsi Ekstrak Daun dan Bunga Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) Presl) Terhadap Inflamasi Buatan pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar, Jurnal.
- Christopher H. 2006. *Manual of overdoses and poisonings*. Lippincott Williams & Wilkins:Philadelphia.
- Chung KT, Wei Cl, Johnson MG. 1998. *Are tannins a double-edged sword in biology and health? Trends in food sciences & technology* 9:168-175.
- Dalimartha S, 2004, *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Kanker*, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta: 1-14, 65-66.

- Dalimartha, Setiawan, 2008, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia 5*, Jakarta:Puspa Swara, ISBN 978-979-1480-18-5.
- Departemen Kesehatan, 1979, *Farmakope Indonesia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1980, *Materia Medika Indonesia Jilid IV*, Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan, p,77, 185.
- Departemen Kesehatan, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 3 – 15.
- Departemen Kesehatan, 1986, *Sediaan Galenik*, Jilid II, Jakarta, Halaman 19-2,2
- Departemen Kesehatan, 1995, *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI, Cetakan Keenam, Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, Halaman 247-251, 297-304, 321-325.
- Departemen Kesehatan, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, 1, 3, Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan,
- Departemen Kesehatan, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia Jilid I*, Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia.
- Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth, editor. 2007. *Farmakologi dan terapi*. Edisi 5. Gaya Baru: Jakarta.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD, 2008, *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, Trieste: International Center for Science and Hight Technology.
- Harborne JB.1987.Metode Fitokimia.Ed ke-2. Diterjemahkan Ibrahim F.Bandung: ITB Bandung Press.
- Hariana A, 2008, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Cetakan ke-5, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hartwig, Wilson, Lorraine M, Marry S, 2006, *Nyeri Dalam Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*.Terjemahan dari Huriawati Hartanto *et all*, Ed 6 Hal : 1063-1103. EGC, Jakarta.
- Hutapea JR, 1994, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia III*, Jakarta: Departemen Kesehatan RI, Hal 69.

- Imai Indra. 2012. Aktivitas Otonom. Jurnal kedokteran Syiah Kuala volume 12 Nomor 3 Desember 2012.
- Ipteknet, 2005, Kitolod, http://www.iptek.net/id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=85 (diakses tanggal 2 September 2017).
- Katno, 2008, *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*, Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Katzung BG.1989. Farmakologi Dasar dan Klinik. Diterjemahkan oleh staff pengajar laboratorium Farmakologi. Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. EGC: Jakarta.
- Kee, Evelyn R. Hayes, 1994, *Farmakologi*, EGC, Jakarta.
- Klassen CD, Doull J. 2010. *Cassarett & Doull's Toxicology. The Basic Sciences of Poisons 7rd edition*. New York: The McGraw-Hill Companies Inc.
- Moriwaki K, 1994, *Genetic in Wild Mice, Its Application to Biomedical Research*, Tokyo: Karger.
- Nessa. 2013. Efek Diuretik dan Daya Larut Batu Ginjal dari Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Zea mays* L.) Fakultas Farmasi, Universitas Andalas. Padang.
- Nuraini DN, 2014, *Aneka Daun Berkhasiat Untuk Obat*, Yogyakarta: Gava Media.
- OECD.2008. Organization for Economic Cooperation and Development Guidelines for the Testing of Chemicals TG 407.132(1):4-13.
- Panji L, Yuliani S, 2005, Teknologi Ekstraksi Minyak Nilam , BB Pasca panen.
- Ramnarine M. 2017. Anticholinergic toxicity. Madscape. <https://emedicine.medscape.com/article/812644.overview>. [02 Juni 2018].
- Ramsewak RS. 1999. *Biologically active carbazole alkaloid from murraya koenigii*. *J Agric Food Chem* 47(2):444-447.
- Reis ER *et al.* 2005. Harderian Gland of Wistar Rats Revised As a Protoporphyrin 1x Producer Braz *J. morphol. Sci.* 22(1):43-51.
- Sidarta I.2007. Ilmu Penyakit Mata. Ed ke-3 Balai Penerbit FKUI: Jakarta.
- Siregar R.M., 2015, Antibacterial Activity of Kitolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm) Leaf and Flower Extact Against Several Conjunctivity Causing Bacteria, *Bogor Agricultural University*, 1 (L), 8.

- Smith, Tony, Dr, 2001, *Dokter di Rumah Anda*, Jakarta : Dian Rakyat.
- Soraya SA, 2013, *Pengujian Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Polifenol dan Flavonoid Total Ekstrak Herba Kitolod (Laurentia longiflora (L.)Petern)*, Universitas Islam Bandung.
- Sudarmadji S, Suparmo, dan Raharjo S, 1997, (eds), *Reinventing the Hidden Miracle of Tempe, Proceedings International Tempe Symposium*, 13-15 Juli 1997, Bali.
- Suparni I., & Wulandari A, 2012, *Herbal Nusantara, 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia*, Yogyakarta: ANDI.
- United Nations-Economic Commission for Europe (UN/ ECE), 2011, *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) 7*, New York and Geneva, United Nations.
- Villegas A., Espinoza J. and Urzua A., 2014, Piperidine alkaloids from *Lobelia polyphylla* Hook. & Arn. (*Campanulaceae*), , Vol 13 (2), 205–212.
- Voigt R, 1984, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wibawa, Indra. 2012. Heat Exchanger. Lampung: Universitas Lampung. Jurnal Teknik Kimia. <https://indrawibawads.files.wordpress.com/2012/01/heat-exchanger.pdf>.
- Wiley J, 2000, *Cell and Tissue Culture for Medical Research*, Doyle, Alan JBG.ed. Baffins Lane Chichester, West Sussex P019 1UD, England.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Determinasi tanaman kitolod



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

Nomor : 40/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Febrilia Islami Putri
NIM : 20144230A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Hippobroma longiflora* (L.) G. Don
Synonym : *Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.
Laurentia longiflora (L.) Peterm.

Familia : Campanulaceae
Subfamilia : Lobelioideae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965) dan Simpson, M.G. (2008):

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419c-420b-421b-422d-436b-428b-429b-433b-434b-435b-436b-437a _____ 171. Campanulaceae
1b _____ 2. *Hippobroma*
1a _____ *Hippobroma longiflora* (L.) G. Don

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi bisa mencapai 0.5 m. Akar : akar tunggang, bercabang, putih kotor. Batang : bulat, sedikit berkayu, lunak hingga keras, kadang bercabang-cabang, bergetah putih seperti susu, permukaan gundul, hijau. Daun : tunggal, tidak bertangkai atau duduk, tersusun spiral; bentuk helaian daun lanset-bulat telur terbalik, panjang 5-17 cm, lebar 1.5-4 cm, pangkal menyempit, tepi bergerigi-berlekuk menyirip, ujung runcing, pertulangan menyirip, permukaan berambut, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda. Bunga : tunggal, terletak di ketiak daun, panjang tangkai bunga kurang dari 2 cm, tebal, berambut; kelopak bunga berbentuk lonceng, berambut, panjang tabung 8-10 mm, bercuping 5, bentuk garis, bergerigi asimetris, panjang 8-18 mm, hijau; mahkota bunga berbentuk lonceng, panjang tabung mahkota 7.5-11 cm, sempit, berambut, cuping mahkota berbentuk lanset, panjang 20-26 mm, putih bersih; benangsari melengkung, di tengah tabung mahkota, berambut; putik 1, tangkai putik panjang, kepala putik 2, hijau. Buah : kotak, berbentuk bola mengerucut, bulat telur terbalik atau ellips, sisa tangkai putik membentuk paruh, panjang buah 11-15 mm, lebar 8-12 mm, berambut, hijau. Biji : bentuk ellips, bulat atau bulat pepat, panjang 0.7 mm, warna coklat cerah hingga merah kecoklatan.

Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

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

Lampiran 2. Ethical Clearance

3/16/2018

Form A2



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



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 247 / III/ HREC / 2018

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

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

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

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.) DENGAN PARAMETER
 MAKROPATOLOGI DAN PERILAKU PADA MENCIT PUTIH BETINA**

Principal Investigator
 Peneliti Utama : Febrilia Islami Putri
 : 20144230A

Location of research
 Lokasi Tempat Penelitian : UNIVERSITAS SETIA BUDI

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 16 Mar 2018

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F.MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 3. Surat keterangan mencit

“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 : Febrilia Islami Putri

Nim : 20144230 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Mencit Swiss Putih

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 30 ekor

Jenis kelamin : Betina

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, 21 Mei 2018

Hormat kami



Sigit Pramono

“ABIMANYU FARM”

Lampiran 4. Hasil rendemen serbuk

Simplisia	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
Daun kitolod	10000	2500	25%

$$\text{Rendemen serbuk} = \frac{2500 \text{ gram}}{10000 \text{ gram}} \times 100\% = 25\%$$

Lampiran 5. Hasil rendemen ekstrak

Simplisia	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun kitolod	700	300	42,85%

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{300 \text{ gram}}{700 \text{ gram}} \times 100\% = 42,85\%$$

Lampiran 6. Hasil perhitungan kadar air serbuk

Berat serbuk (gram)	Kadar (%)
20	7,5
20	8
20	7,5
Rata rata ± SD	7,6 ± 0,29

perhitungan kadar air :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{air (ml)}}{\text{berat serbuk}} \times 100 \%$$

Replikasi 1 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,5}{20} \times 100 \% = 7,5 \%$$

Replikasi 2 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,6}{20} \times 100 \% = 8 \%$$

Replikasi 3 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,5}{20} \times 100 \% = 7,5 \%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{7,5 + 8 + 7,5}{3} = 7,6\%$$

Lampiran 7. Perhitungan Berat Jenis ekstrak

Replikasi 1

Berat piknometer kosong = 27,6677 g

Berat piknometer + aquadest = 77,4045 g

Aquadest = 77,4045 g – 27,6677 g = 49,7368

$$Bj \text{ air} = \frac{49,7368}{1} = 49,7368$$

Berat piknometer kosong = 27,6677 g

Berat piknometer + ekstrak = 67,438 g

Ekstrak = 67,438 gr – 27,6677 gr = 39,7703

$$Bj \text{ ekstrak} = \frac{39,7703}{49,7368} = 0,7996 \text{ g/ml}$$

Replikasi 2

Berat piknometer kosong = 27,6677 g

Berat piknometer + aquadest = 78,5143 g

Aquadest = 78,5143 g – 27,6677 g = 50,8466

$$Bj \text{ air} = \frac{50,8466}{1} = 50,8466$$

Berat piknometer kosong = 27,6677 g

Berat piknometer + ekstrak = 69,322 g

Ekstrak = 69,322 g – 27,6677 g = 41,6543

$$Bj \text{ ekstrak} = \frac{41,6543}{50,8466} = 0,8192 \text{ g/ml}$$

Replikasi 3

Berat piknometer kosong = 27,6677 g

Berat piknometer + aquadest = 80,2454 g

Aquadest = 80,2454 g – 27,6677 g = 52,5777

$$Bj \text{ air} = \frac{52,5777}{1} = 52,5777$$

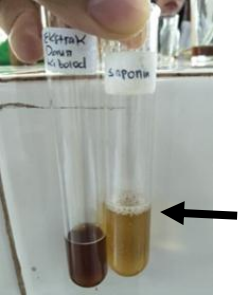
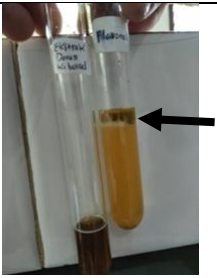




Berat piknometer kosong = 27,6677 g

Berat piknometer + ekstrak = 69,463 g

Ekstrak = 69,463 g – 27,6677 g = 41,7953

$$Bj \text{ ekstrak} = \frac{41,7953}{52,5777} = 0,7949 \text{ g/ml}$$

Lampiran 8. Uji kandungan zat kimia

Identifikasi	Ekstrak
saponin	 <p>+ timbul buih</p>
Flavonoid	 <p>+ warna kuning pada lapisan amil</p>
Alkaloid (mayer dan dragendorf)	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="676 1055 879 1379"> <p>Mayer</p>  <p>+ endapan putih</p> </div> <div data-bbox="1002 1055 1220 1379"> <p>Dragendorf</p>  <p>+ endapan coklat</p> </div> </div>
Tanin	 <p>+ berwarna hitam kehijauan</p>
Steroid/ terpenoid	 <p>+ cincin kecoklatan</p>

Lampiran 9. Perhitungan dosis

Kontrol negatif (CMC) 0,5%

1. 15,4 g volume pemberian = 1 ml
2. 19,3 g volume pemberian = 1 ml
3. 15,8 g volume pemberian = 1 ml
4. 19,6 g volume pemberian = 1 ml
5. 18,8 g volume pemberian = 1 ml

Dosis 5 mg/kgbb

Konversi ke mencit = 5 mg x 0,0026 = 0,013 mg/kgbb

Larutan stok = 0,01% = 10 mg/100 ml (0,1 mg/ml)

1. $\frac{17}{20} \times 0,013 = 0,011 \text{ mg/kgbb}$

Volume pemberian :

$$\frac{0,011}{10} \times 100 \text{ ml} = 0,11 \text{ ml}$$

2. $\frac{16,6}{20} \times 0,013 = 0,010 \text{ ml}$

Volume pemberian :

$$\frac{0,010}{10} \times 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ ml}$$

3. $\frac{17}{20} \times 0,013 = 0,11 \text{ mg/kgbb}$

Volume pemberian :

$$\frac{0,011}{10} \times 100 \text{ ml} = 0,11 \text{ ml}$$

4. $\frac{18,3}{20} \times 0,013 = 0,011 \text{ mg/kgbb}$

Volume pemberian :

$$\frac{0,011}{10} \times 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ ml}$$

5. $\frac{16,6}{20} \times 0,013 = 0,011 \text{ ml}$

Volume pemberian :

$$\frac{0,011}{10} \times 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ ml}$$

Dosis 50 mg/Kgbb

Konversi ke mencit = 50 mg x 0,0026 = 0,13 mg/kgbb

Larutan stok = 0,1% = 100 mg/100 ml (1 mg/ml)

$$1. \frac{18,4}{20} \times 0,13 = 0,12 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,12}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,12 \text{ ml}$$

$$2. \frac{17,6}{20} \times 0,13 = 0,11 \text{ ml}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,11}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,11 \text{ ml}$$

$$3. \frac{18,8}{20} \times 0,13 = 0,12 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,12}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,12 \text{ ml}$$

$$4. \frac{18,3}{20} \times 0,13 = 0,012 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,12}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,12 \text{ ml}$$

$$5. \frac{16,9}{20} \times 0,13 = 0,11 \text{ ml}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,11}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,11 \text{ ml}$$

Dosis 300 mg/kgbb

Konversi ke mencit = 300 mg x 0,0026 = 0,78 mg/kgbb

Larutan stok = 0,1% = 100 mg/100 ml (1 mg/ml)

$$1. \frac{20,9}{20} \times 0,78 = 0,82 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,82}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,82 \text{ ml}$$

$$2. \frac{18,6}{20} \times 0,78 = 0,72 \text{ ml}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,72}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,72 \text{ ml}$$

$$3. \frac{21,1}{20} \times 0,78 = 0,82 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,82}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,82 \text{ ml}$$

$$4. \frac{19,7}{20} \times 0,78 = 0,76 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,76}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,76 \text{ ml}$$

$$5. \frac{17,2}{20} \times 0,78 = 0,67 \text{ ml}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,67}{100} \times 100 \text{ ml} = 0,67 \text{ ml}$$

Dosis 2000 mg/kgbb

Konversi ke mencit = $2000 \text{ mg} \times 0,0026 = 5,2 \text{ mg/kgbb}$

Larutan stok = $1,5 \% = 1500 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ (1,5 mg/ml)

$$1. \frac{14,7}{20} \times 5,2 = 3,82 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{3,82}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

$$2. \frac{16,6}{20} \times 5,2 = 4,31 \text{ ml}$$

Volume pemberian :

$$\frac{4,31}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

$$3. \frac{17,7}{20} \times 5,2 = 4,60 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{4,60}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,31 \text{ ml}$$

$$4. \frac{17,9}{20} \times 5,2 = 4,65 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{4,65}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,31 \text{ ml}$$

$$5. \frac{16,9}{20} \times 5,2 = 4,39 \text{ ml}$$

Volume pemberian :

$$\frac{4,39}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,29 \text{ ml}$$

Dosis 5000 mg/kgbb

Konversi ke mencit = 5000 mg x 0,0026 = 13 mg/kgbb

Larutan stok = 1,5 % = 1500 mg/100 ml (1,5 mg/ml)

$$1. \frac{16,1}{20} \times 13 = 10,46 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{10,46}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,69 \text{ ml}$$

$$2. \frac{15,9}{20} \times 13 = 10,33 \text{ ml}$$

Volume pemberian :

$$\frac{10,33}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,68 \text{ ml}$$

$$3. \frac{17,7}{20} \times 13 = 11,50 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{11,50}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,76 \text{ ml}$$

$$4. \frac{20,1}{20} \times 13 = 13,06 \text{ mg/kgbb}$$

Volume pemberian :

$$\frac{13,06}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,87 \text{ ml}$$

$$5. \frac{18,7}{20} \times 13 = 12,16 \text{ ml}$$

Volume pemberian :

$$\frac{12,16}{1500} \times 100 \text{ ml} = 0,81 \text{ ml}$$

Lampiran 10. Berat badan mencit

Kelompok		Berat badan mencit (g)		
		Hari ke 1	Hari ke 7	Hari ke 14
CMC	1	15,4	19,2	22,6
	2	19,3	15,5	18,6
	3	15,7	16,9	20,4
	4	19,6	19,5	19,6
	5	18,8	17,4	20,1
Dosis I	1	17,7	16,3	20,4
	2	16,6	17,2	19,6
	3	17,1	16,2	21,1
	4	18,3	17,4	21,1
	5	16,2	14,2	18,4
Dosis II	1	18,4	16,6	25,1
	2	17,6	14,4	16,8
	3	18,8	14,4	21,8
	4	18,2	14,4	21,1
	5	16,9	14,5	23,3
Dosis III	1	20,9	18,1	21,2
	2	18,6	15,8	18,6
	3	21,1	18,6	20,2
	4	19,7	17,6	20,2
	5	17,2	13,6	18,0
Dosis IV	1	14,8	15,5	19,6
	2	16,6	18,5	20,7
	3	17,7	17,9	21,1
	4	17,9	18,0	20,8
	5	16,9	19,5	22,2
Dosis V	1	16,1	16,1	18,9
	2	15,8	17,0	19,6
	3	17,7	14,8	17,0
	4	20,0	19,9	19,1
	5	18,7	17,4	21,2

Lampiran 11. Foto bahan dan alat

Taman kitolod



daun kitolod



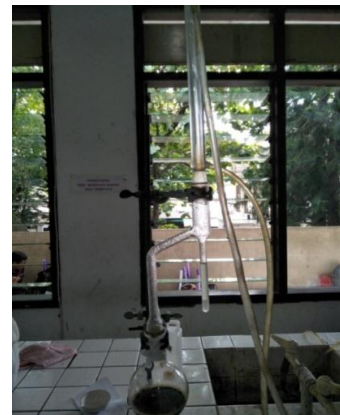
serbuk



Moisture balance



Pompa vakum



Sterling-Bidwell



Botol Maserasi



Evaporator



Kandang mencit



oral sediaan



Penandaan mencit



Pengamatan platform



pengamatan saraf otot



Pengamatan aktivitas motorik



pengamatan sensori



Pembedahan

Lampiran 12. Penimbangan berat organ mencit

Kelompok		Berat organ mencit (g)					
		Jantung	Paru-paru	Lambung	Hati	Ginjal	Usus
CMC	1	0,09	0,16	0,51	1,2	0,30	2,32
	2	0,09	0,15	0,35	1,06	0,24	2,39
	3	0,08	0,17	0,30	1,05	0,28	1,62
	4	0,14	0,19	0,35	1,4	0,24	2,07
	5	0,08	0,18	0,31	1,12	0,26	2,14
Rata-rata±SD		0,09±0,02	0,17±0,02	0,36±0,08	1,16±0,14	0,26±0,03	2,11±0,30
Dosis I	1	0,14	0,07	0,42	0,99	0,24	1,84
	2	0,09	0,13	0,38	0,98	0,19	2,22
	3	0,10	0,12	0,52	1,07	0,21	1,62
	4	0,05	0,07	0,48	1,55	0,29	2,02
	5	0,05	0,10	0,30	0,89	0,26	1,97
Rata-rata±SD		0,08±0,04	0,09±0,03	0,42±0,08	1,09±0,26	0,24±0,04	1,93±0,22
Dosis II	1	0,14	0,20	0,66	1,65	0,26	2,82
	2	0,08	0,14	0,44	1,60	0,28	1,81
	3	0,12	0,19	0,40	1,50	0,32	2,26
	4	0,13	0,15	0,73	0,87	0,36	2,73
	5	0,11	0,22	0,52	1,51	0,28	2,70
Rata-rata±SD		0,12±0,02	0,18±0,03	0,55±0,14	1,43±0,31	0,30±0,04	2,46±0,43
Dosis III	1	0,06	0,27	0,35	1,31	0,23	2,12
	2	0,10	0,23	0,46	1,17	0,26	1,91
	3	0,09	0,32	0,49	1,49	0,26	2,25
	4	0,08	0,26	0,42	1,07	0,27	2,20
	5	0,03	0,22	0,38	1,02	0,26	1,67
Rata-rata±SD		0,07±0,03	0,26±0,04	0,42±0,06	1,21±0,19	0,26±0,02	2,03±0,24
Dosis IV	1	0,06	0,13	0,29	0,85	0,18	1,81
	2	0,10	0,15	0,75	1,30	0,26	2,34
	3	0,08	0,16	0,34	1,25	0,26	1,94
	4	0,09	0,21	0,31	1,20	0,28	2,23
	5	0,02	0,20	0,45	1,47	0,32	2,40
Rata-rata±SD		0,07±0,03	0,17±0,03	0,43±0,19	1,21±0,23	0,26±0,05	2,14±0,26
Dosis V	1	0,12	0,14	0,52	0,47	0,28	1,98
	2	0,14	0,26	0,60	1,32	0,20	2,36
	3	0,11	0,05	0,35	0,77	0,14	1,85
	4	0,07	0,03	0,25	1,21	0,30	2,19
	5	0,11	0,17	0,65	0,97	0,28	2,38
Rata-rata±SD		0,11±0,03	0,13±0,09	0,47±0,17	0,95±0,34	0,24±0,07	2,15±0,23

Lampiran 13. Perhitungan masa indeks organ menciit

Kelompok	Berat organ menciit (%)						
		Jantung	Paru-paru	Lambung	Hati	Ginjal	Usus
CMC	1	0,39	0,71	2,26	5,31	1,33	10,27
	2	0,48	0,81	1,88	5,69	1,29	12,85
	3	0,39	0,83	1,47	5,18	1,37	7,94
	4	0,71	0,97	1,79	7,14	1,22	10,56
	5	0,39	0,87	1,54	5,57	1,29	10,65
Rata-rata±SD		0,48±0,14	0,84±0,09	1,79±0,31	5,77±0,79	1,30±0,05	10,45±1,74
Dosis I	1	0,69	0,34	2,06	4,85	1,17	9,02
	2	0,46	0,66	1,94	5,00	0,96	11,33
	3	0,47	0,57	2,46	5,07	0,99	7,68
	4	0,24	0,33	2,28	7,35	1,37	9,57
	5	0,27	0,54	1,63	4,84	1,41	10,71
Rata-rata±SD		0,43±0,18	0,49±0,15	2,07±0,32	5,42±1,08	1,19±0,21	9,67±1,43
Dosis II	1	0,56	0,79	2,63	6,57	1,04	11,24
	2	0,48	0,83	2,61	9,52	1,67	10,77
	3	0,55	0,87	1,84	6,88	1,47	10,37
	4	0,62	0,71	3,46	4,12	1,71	12,94
	5	0,47	0,94	2,23	6,48	1,20	11,59
Rata-rata±SD		0,54±0,06	0,83±0,09	2,56±0,60	6,72±1,92	1,42±0,29	11,38±0,99
Dosis III	1	0,85	1,27	1,65	6,18	1,09	10,00
	2	0,97	1,24	2,47	6,29	1,39	10,27
	3	1,19	1,58	2,43	7,38	1,29	11,14
	4	1,09	1,29	2,08	5,29	1,34	10,89
	5	1,06	1,22	2,11	5,67	1,44	9,28
Rata-rata±SD		1,03±0,13	1,32±0,15	2,15±0,33	6,16±0,79	1,31±0,14	10,32±0,74
Dosis IV	1	0,28	0,61	1,48	4,34	0,92	9,23
	2	0,54	0,80	3,62	6,29	1,26	11,30
	3	0,45	0,79	1,61	5,92	1,23	9,19
	4	0,39	1,04	1,49	5,77	1,35	10,72
	5	0,17	1,11	2,03	6,62	1,44	10,81
Rata-rata±SD		0,37±0,14	0,87±0,20	2,05±0,91	5,79±0,88	1,24±0,19	10,25±0,97
Dosis V	1	0,63	0,74	2,75	2,49	1,48	10,48
	2	0,71	1,33	3,06	6,73	1,02	12,04
	3	0,65	0,29	2,06	4,53	0,82	10,88
	4	0,37	0,16	1,31	6,34	1,57	11,47
	5	0,52	0,80	3,07	4,58	1,32	11,23
Rata-rata±SD		0,58±0,14	0,66±0,46	2,45±0,76	4,93±1,69	1,24±0,32	11,22±0,59

Lampiran 14. Data berat badan mencit

- Data uji *Paired-sample T Test*

Kelompok cmc

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_harike1	17.76	5	2.040	.912
bb_harike14	20.26	5	1.476	.660

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_harike1 & bb_harike14	5	-.809	.097

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_harike1 - bb_harike14	-2.500	3.349	1.498	-6.658	1.658	-1.669	4	.170

Kelompok 5 mg

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_harike1	17.18	5	.841	.376
bb_harike14	20.12	5	1.143	.511

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_harike1 & bb_harike14	5	.820	.089

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_harike1 - bb_harike14	-2.940	.662	.296	-3.762	-2.118	-9.933	4	.001

Kelompok 50 mg

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_harike1	17.98	5	.743	.332
bb_harike14	21.62	5	3.101	1.387

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_harike1 & bb_harike14	5	.164	.792

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_harike1 - bb_harike14	-3.640	3.068	1.372	-7.450	.170	-2.653	4	.057

Kelompok 300 mg**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_harike1	19.50	5	1.632	.730
bb_harike14	19.64	5	1.307	.584

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_harike1 & bb_harike14	5	.926	.024

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_harike1 - bb_harike14	-.140	.650	.291	-.948	.668	-.481	4	.655

Kelompok 2000 mg**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_harike1	16.78	5	1.232	.551
bb_harike14	20.88	5	.931	.416

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_harike1 & bb_harike14	5	.619	.266

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_harike1 - bb_harike14	-4.100	.982	.439	-5.320	-2.880	-9.333	4	.001

Kelompok 5000 mg**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_harike1	17.66	5	1.764	.789
bb_harike14	19.16	5	1.508	.674

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_harike1 & bb_harike14	5	.139	.823

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_harike1 - bb_harike14	-1.500	2.155	.964	-4.176	1.176	-1.556	4	.195

- Uji ANOVA penimbangan berat badan mencit

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
bb_harike1	2.539	5	24	.056
bb_harike14	1.197	5	24	.340

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
bb_harike1	Between Groups	21.839	5	4.368	2.061	.106
	Within Groups	50.868	24	2.120		
	Total	72.707	29			
bb_harike14	Between Groups	19.228	5	3.846	1.285	.303
	Within Groups	71.800	24	2.992		
	Total	91.028	29			

Lampiran 15. Perubahan perilaku hewan uji saraf otonom Piloereksi

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
piloereksi kontrol negatif	.270	7	.133	.759	7	.016
dosis 5 mg	.287	7	.084	.807	7	.048
dosis 50 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 300 mg	.270	7	.133	.759	7	.016
dosis 2000 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 5000 mg	.256	7	.182	.833	7	.086

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

piloereksi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.838	5	36	.002

ANOVA

piloereksi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	200.000	5	40.000	.840	.530
Within Groups	1714.286	36	47.619		
Total	1914.286	41			

Retasblismen

Tests of Normality^{b,c,d}

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
retasblismen dosis 300 mg	.504	7	.000	.453	7	.000
dosis 2000 mg	.504	7	.000	.453	7	.000
dosis 5000 mg	.360	7	.007	.664	7	.001

a. Lilliefors Significance Correction

b. retasblismen is constant when kelompok = kontrol negatif. It has been omitted.

c. retasblismen is constant when kelompok = dosis 5 mg. It has been omitted.

d. retasblismen is constant when kelompok = dosis 50 mg. It has been omitted.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
retasblismen kontrol negatif	7	24.00
dosis 5 mg	7	24.00
dosis 50 mg	7	24.00
dosis 300 mg	7	21.00
dosis 2000 mg	7	21.00
dosis 5000 mg	7	15.00
Total	42	

Test Statistics^{a,b}

	retasblismen
Chi-Square	9.086
df	5
Asymp. Sig.	.106

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Straub**Tests of Normality**

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
straub kontrol negatif	.323	7	.026	.748	7	.012
dosis 5 mg	.219	7	.200*	.915	7	.432
dosis 50 mg	.366	7	.005	.743	7	.011
dosis 300 mg	.313	7	.037	.782	7	.027
dosis 2000 mg	.291	7	.076	.856	7	.140
dosis 5000 mg	.160	7	.200*	.935	7	.591

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

straub

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.760	5	36	.001

ANOVA

straub

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.619	5	9.524	1.000	.432
Within Groups	342.857	36	9.524		
Total	390.476	41			

Katalepsi

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
katalepsi kontrol negatif	.394	5	.011	.710	5	.012
dosis 5 mg	.229	5	.200*	.903	5	.429
dosis 50 mg	.197	5	.200*	.943	5	.685
dosis 300 mg	.273	5	.200*	.852	5	.201
dosis 2000 mg	.224	5	.200*	.912	5	.482
dosis 5000 mg	.300	5	.161	.921	5	.537

a. Lilliefors Significance Correction

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

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
katalepsi kontrol negatif	7	18.00
dosis 5 mg	7	18.00
dosis 50 mg	7	18.00
dosis 300 mg	7	18.00
dosis 2000 mg	7	18.00
Total	35	

Test Statistics^{a,b}

	katalepsi
Chi-Square	.000
df	4
Asymp. Sig.	1.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Lampiran 16. Perubahan perilaku hewan uji

Aktivitas motorik

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
aktivitasmotorik kontrol negatif	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 5 mg	.338	7	.015	.769	7	.020
dosis 50 mg	.256	7	.182	.833	7	.086
dosis 300 mg	.256	7	.182	.833	7	.086
dosis 2000 mg	.214	7	.200*	.858	7	.144
dosis 5000 mg	.504	7	.000	.453	7	.000

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

aktivitasmotorik

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.974	5	36	.024

ANOVA

aktivitasmotorik

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1219.048	5	243.810	.985	.441
Within Groups	8914.286	36	247.619		
Total	10133.333	41			

Gromming

Tests of Normality

kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
gromming	kontrol negatif	.241	7	.200*	.937	7	.609
	dosis 5 mg	.269	7	.136	.817	7	.060
	dosis 50 mg	.318	7	.031	.671	7	.002
	dosis 300 mg	.271	7	.129	.839	7	.098
	dosis 2000 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
	dosis 5000 mg	.267	7	.140	.894	7	.294

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

Gromming

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.213	5	36	.074

ANOVA

Gromming

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6971.429	5	1394.286	1.586	.189
Within Groups	31657.143	36	879.365		
Total	38628.571	41			

Lampiran 17. Perubahan perilaku perasa/sensori hewan uji Rangsangan pineal

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
rangsanganpineal kontrol negatif	.345	7	.012	.732	7	.008
dosis 5 mg	.338	7	.015	.769	7	.020
dosis 50 mg	.214	7	.200*	.858	7	.144
dosis 300 mg	.258	7	.174	.818	7	.062
dosis 2000 mg	.296	7	.063	.840	7	.099
dosis 5000 mg	.245	7	.200*	.888	7	.263

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

rangsanganpineal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.753	5	36	.589

ANOVA

rangsanganpineal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1533.333	5	306.667	.903	.490
Within Groups	12228.571	36	339.683		
Total	13761.905	41			

Rangsangan kornea

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
rangsangankornea kontrol negatif	.435	7	.000	.600	7	.000
dosis 5 mg	.296	7	.063	.840	7	.099
dosis 50 mg	.338	7	.015	.769	7	.020
dosis 300 mg	.258	7	.174	.818	7	.062
dosis 2000 mg	.296	7	.063	.840	7	.099
dosis 5000 mg	.245	7	.200 [*]	.888	7	.263

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

rangsangankornea

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.928	5	36	.474

ANOVA

rangsangankornea

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2028.571	5	405.714	1.229	.316
Within Groups	11885.714	36	330.159		
Total	13914.286	41			

Flexi

Tests of Normality^{b,c,d,e}

kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
flexi	dosis 2000 mg	.504	7	.000	.453	7	.000
	dosis 5000 mg	.435	7	.000	.600	7	.000

a. Lilliefors Significance Correction

b. flexi is constant when kelompok = kontrol negatif. It has been omitted.

c. flexi is constant when kelompok = dosis 5 mg. It has been omitted.

d. flexi is constant when kelompok = dosis 50 mg. It has been omitted.

e. flexi is constant when kelompok = dosis 300 mg. It has been omitted.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok		N	Mean Rank
flexi	kontrol negatif	7	23.00
	dosis 5 mg	7	23.00
	dosis 50 mg	7	23.00
	dosis 300 mg	7	23.00
	dosis 2000 mg	7	20.00
	dosis 5000 mg	7	17.00
Total		42	

Test Statistics^{a,b}

	flexi
Chi-Square	7.359
df	5
Asymp. Sig.	.195

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Hafner**Tests of Normality**

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hafner kontrol negatif	.236	7	.200*	.806	7	.047
dosis 5 mg	.191	7	.200*	.955	7	.772
dosis 50 mg	.236	7	.200*	.806	7	.047
dosis 300 mg	.160	7	.200*	.935	7	.591
dosis 2000 mg	.267	7	.140	.894	7	.294
dosis 5000 mg	.357	7	.007	.777	7	.024

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

hafner

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.217	5	36	.017

ANOVA

Hafner

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9304.762	5	1860.952	2.064	.093
Within Groups	32457.143	36	901.587		
Total	41761.905	41			

Lampiran 18. Perubahan perilaku saraf otot hewan uji Sikap tubuh

Tests of Normality^b

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
sikaptubuh kontrol negatif	.504	7	.000	.453	7	.000
dosis 5 mg	.345	7	.012	.732	7	.008
dosis 50 mg	.435	7	.000	.600	7	.000
dosis 2000 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 5000 mg	.360	7	.007	.664	7	.001

a. Lilliefors Significance Correction

b. sikaptubuh is constant when kelompok = dosis 300 mg. It has been omitted.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
sikaptubuh kontrol negatif	7	24.64
dosis 5 mg	7	17.21
dosis 50 mg	7	21.79
dosis 300 mg	7	27.50
dosis 2000 mg	7	18.93
dosis 5000 mg	7	18.93
Total	42	

Test Statistics^{a,b}

	sikaptubuh
Chi-Square	5.796
df	5
Asymp. Sig.	.327

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Menggelantung

Tests of Normality^{b,c,d}

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
menggelantung dosis 5 mg	.435	7	.000	.600	7	.000
dosis 2000 mg	.504	7	.000	.453	7	.000
dosis 5000 mg	.435	7	.000	.600	7	.000

a. Lilliefors Significance Correction

b. menggelantung is constant when kelompok = kontrol negatif. It has been omitted.

c. menggelantung is constant when kelompok = dosis 50 mg. It has been omitted.

d. menggelantung is constant when kelompok = dosis 300 mg. It has been omitted.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
menggelantung kontrol negatif	7	24.00
dosis 5 mg	7	18.00
dosis 50 mg	7	24.00
dosis 300 mg	7	24.00
dosis 2000 mg	7	21.00
dosis 5000 mg	7	18.00
Total	42	

Test Statistics^{a,b}

	menggelantung
Chi-Square	6.427
df	5
Asymp. Sig.	.267

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Platform

Tests of Normality^{b,c}

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
rangsanganpineal dosis 5 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 50 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 300 mg	.435	7	.000	.600	7	.000
dosis 5000 mg	.360	7	.007	.664	7	.001

a. Lilliefors Significance Correction

b. rangsanganpineal is constant when kelompok = kontrol negatif. It has been omitted.

c. rangsanganpineal is constant when kelompok = dosis 2000 mg. It has been omitted.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank
platform kelompok negatif	7	23.50
dosis 5 mg	7	23.50
dosis 50 mg	7	23.50
dosis 300 mg	7	23.50
dosis 2000 mg	7	14.50
dosis 5000 mg	7	20.50
Total	42	

Test Statistics^{a,b}

	platform
Chi-Square	11.868
df	5
Asymp. Sig.	.037

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Lampiran 19. Perubahan pernafasan hewan uji

Pernafasan

Tests of Normality^b

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
pernafasan dosis 5 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 50 mg	.504	7	.000	.453	7	.000
dosis 300 mg	.356	7	.008	.742	7	.010
dosis 2000 mg	.407	7	.001	.612	7	.000
dosis 5000 mg	.360	7	.007	.664	7	.001

a. Lilliefors Significance Correction

b. pernafasan is constant when kelompok = kontrol negatif. It has been omitted.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
pernafasan kontrol negatif	7	15.50
dosis 5 mg	7	23.43
dosis 50 mg	7	18.71
dosis 300 mg	7	26.29
dosis 2000 mg	7	21.64
dosis 5000 mg	7	23.43
Total	42	

Test Statistics^{a,b}

	pernafasan
Chi-Square	5.464
df	5
Asymp. Sig.	.362

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Lampiran 20. Perubahan mata/ocular hewan uji

Lakrimasi

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
lakrimasi kontrol negatif	.435	7	.000	.600	7	.000
dosis 5 mg	.504	7	.000	.453	7	.000
dosis 50 mg	.435	7	.000	.600	7	.000
dosis 300 mg	.504	7	.000	.453	7	.000
dosis 2000 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 5000 mg	.504	7	.000	.453	7	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
lakrimasi kontrol negatif	7	22.50
dosis 5 mg	7	19.50
dosis 50 mg	7	22.50
dosis 300 mg	7	19.50
dosis 2000 mg	7	25.50
dosis 5000 mg	7	19.50
Total	42	

Test Statistics^{a,b}

	lakrimasi
Chi-Square	2.563
df	5
Asymp. Sig.	.767

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Lampiran 21. Perubahan gastrointestinal/gastrourinasi hewan uji Defekasi

Tests of Normality

kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
defekasi	kontrol negatif	.352	7	.009	.760	7	.016
	dosis 5 mg	.245	7	.200*	.888	7	.263
	dosis 50 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
	dosis 300 mg	.270	7	.133	.759	7	.016
	dosis 2000 mg	.435	7	.000	.600	7	.000
	dosis 5000 mg	.270	7	.133	.759	7	.016

a. Lilliefors Significance Correction

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

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok		N	Mean Rank
defekasi	kontrol negatif	7	26.14
	dosis 5 mg	7	22.57
	dosis 50 mg	7	12.36
	dosis 300 mg	7	23.79
	dosis 2000 mg	7	26.43
	dosis 5000 mg	7	17.71
Total		42	

Test Statistics^{a,b}

	defekasi
Chi-Square	7.507
df	5
Asymp. Sig.	.186

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Urinasi

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
urinasi kontrol negatif	.311	7	.039	.720	7	.006
dosis 5 mg	.311	7	.039	.720	7	.006
dosis 50 mg	.270	7	.133	.759	7	.016
dosis 300 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 2000 mg	.235	7	.200*	.856	7	.139
dosis 5000 mg	.447	7	.000	.659	7	.001

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

Urinasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.198	5	36	.330

ANOVA

Urinasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6628.571	5	1325.714	2.221	.073
Within Groups	21485.714	36	596.825		
Total	28114.286	41			

Lampiran 22. Perubahan profil autonomik hewan uji

Ptoxis

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ptosis kontrol negatif	.214	7	.200*	.858	7	.144
dosis 5 mg	.296	7	.063	.840	7	.099
dosis 50 mg	.338	7	.015	.769	7	.020
dosis 300 mg	.360	7	.007	.664	7	.001
dosis 2000 mg	.345	7	.012	.732	7	.008
dosis 5000 mg	.256	7	.182	.833	7	.086

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

ptosis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.760	5	36	.001

ANOVA

ptosis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.619	5	9.524	1.000	.432
Within Groups	342.857	36	9.524		
Total	390.476	41			

Lampiran 23. Pengamatan adanya mortalitas hewan uji

Mortalitas

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok		N	Mean Rank
mortalitas	kontrol negatif	7	18.00
	dosis 5 mg	7	18.00
	dosis 50 mg	7	18.00
	dosis 300 mg	7	18.00
	dosis 2000 mg	7	18.00
	Total	35	

Test Statistics^{a,b}

	mortalitas
Chi-Square	.000
df	4
Asymp. Sig.	1.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Lampiran 24. Hasil uji statistik berat organ mencit

Jantung

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jantung
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.45
	Std. Deviation	.155
Most Extreme Differences	Absolute	.087
	Positive	.087
	Negative	-.087
Kolmogorov-Smirnov Z		.477
Asymp. Sig. (2-tailed)		.977

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Jantung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.764	5	24	.585

ANOVA

Jantung

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.219	5	.044	2.224	.085
Within Groups	.474	24	.020		
Total	.693	29			

jantung

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis 2000 mg	5	.34
dosis 300 mg	5	.37
dosis 5 mg	5	.43
kontrol negatif	5	.48
dosis 50 mg	5	.53
dosis 5000 mg	5	.58
Sig.		.117

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Paru – paru

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		paruparu
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.75
	Std. Deviation	.248
Most Extreme Differences	Absolute	.133
	Positive	.103
	Negative	-.133
Kolmogorov-Smirnov Z		.728
Asymp. Sig. (2-tailed)		.664

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

paruparu

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.152	5	24	.007

ANOVA

paruparu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.540	5	.108	2.077	.104
Within Groups	1.247	24	.052		
Total	1.787	29			

paruparu

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis 5 mg	5	.49
dosis 5000 mg	5	.66
dosis 2000 mg	5	.80
dosis 50 mg	5	.83
kontrol negatif	5	.84
dosis 300 mg	5	.87
Sig.		.123

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lambung

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		lambung
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.18
	Std. Deviation	.595
Most Extreme Differences	Absolute	.111
	Positive	.111
	Negative	-.085
Kolmogorov-Smirnov Z		.605
Asymp. Sig. (2-tailed)		.857

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

lambung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.587	5	24	.202

ANOVA

lambung

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.986	5	.397	1.150	.362
Within Groups	8.289	24	.345		
Total	10.276	29			

lambung

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kontrol negatif	5	1.79
dosis 2000 mg	5	2.05
dosis 5 mg	5	2.07
dosis 300 mg	5	2.15
dosis 5000 mg	5	2.45
dosis 50 mg	5	2.55
Sig.		.338

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Ginjal

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ginjal
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.28
	Std. Deviation	.213
Most Extreme Differences	Absolute	.108
	Positive	.077
	Negative	-.108
Kolmogorov-Smirnov Z		.594
Asymp. Sig. (2-tailed)		.872

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

ginjal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.217	5	24	.023

ANOVA

ginjal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.159	5	.032	.663	.655
Within Groups	1.151	24	.048		
Total	1.310	29			

ginjal

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis 5 mg	5	1.19
dosis 2000 mg	5	1.24
dosis 5000 mg	5	1.24
kontrol negatif	5	1.30
dosis 300 mg	5	1.31
dosis 50 mg	5	1.42
Sig.		.567

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Hati**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		hati
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.66
	Std. Deviation	1.084
Most Extreme Differences	Absolute	.085
	Positive	.058
	Negative	-.085
Kolmogorov-Smirnov Z		.467
Asymp. Sig. (2-tailed)		.981

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

hati

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.106	5	24	.383

ANOVA

hati

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.536	5	.907	.736	.604
Within Groups	29.570	24	1.232		
Total	34.107	29			

hati

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis 5000 mg	5	4.93
dosis 5 mg	5	5.42
kontrol negatif	5	5.77
dosis 2000 mg	5	5.79
dosis 50 mg	5	5.86
dosis 300 mg	5	6.16
Sig.		.513

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Usus

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		usus
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	10.55
	Std. Deviation	1.204
Most Extreme Differences	Absolute	.141
	Positive	.094
	Negative	-.141
Kolmogorov-Smirnov Z		.771
Asymp. Sig. (2-tailed)		.592

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

usus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.755	5	24	.591

ANOVA

usus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.395	5	2.079	1.578	.204
Within Groups	31.624	24	1.318		
Total	42.019	29			

usus

Tukey HSD^a







kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis 5 mg	5	9.66
dosis 2000 mg	5	10.25
dosis 300 mg	5	10.32
kontrol negatif	5	10.45
dosis 5000 mg	5	11.22
dosis 50 mg	5	11.38
Sig.		.207

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.







a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 25. Foto organ mencit







HATI

Kontrol CMC	Dosis 5 mg	Dosis 50 mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					







LAMBUNG

Kontrol CMC	Dosis 5 mg	Dosis 50mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					







JANTUNG

Kontrol CMC	Dosis 5 mg	Dosis 50 mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					







GINJAL

Kontrol CMC	Dosis 5 mg	Dosis 50mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000mg	Dosis 5000 mg
					

PARU-PARU

Kontrol CMC	Dosis 5 mg	Dosis 50 mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					

USUS

Kontrol CMC	Dosis 5 mg	Dosis 50 mg	Dosis 300 mg	Dosis 2000 mg	Dosis 5000 mg
					

Lampiran 26. Data perilaku hewan uji

Pengamatan tingkah laku semua kelompok perlakuan pada jam ke 0'

Efek	Negatif	5 mg	50 mg	300 mg	2000 mg	5000 mg
Platform	100	100	100	100	100	100
Aktivitas motorik	60	100	80	100	100	100
Straub	0	0	0	0	0	0
Piloereksi	0	0	0	0	0	0
Ptosis	0	0	0	0	0	0
Refleks pineal	100	100	100	100	100	80
Refleks kornea	100	100	100	100	100	80
Lakrimasi	0	0	0	0	0	0
Katalepsi	0	0	0	0	0	0
Sikap tubuh	100	100	100	100	100	100
Menggelantung	100	100	100	100	100	100
Retasblismen	100	100	100	100	100	100
Flexi	100	100	100	100	100	100
Hafner	80	100	0	20	100	80
Mortalitas	0	0	0	0	0	0
Gromming	40	80	20	100	80	0
Defekasi	60	80	20	0	20	0
Urinasi	0	60	40	0	20	40
Pernafasan	0	0	0	0	0	0

Pengamatan tingkah laku semua kelompok perlakuan pada jam ke 0,5'

Efek	Negatif	5 mg	50 mg	300 mg	2000 mg	5000 mg
Platform	100	100	100	80	100	100
Aktivitas motorik	100	80	60	60	60	100
Straub	0	0	0	0	0	0
Piloereksi	0	0	0	40	0	0
Ptosis	0	0	0	0	0	0
Refleks pineal	100	60	100	100	80	100
Refleks kornea	100	100	60	100	80	100
Lakrimasi	0	0	0	0	0	0
Katalepsi	0	0	0	0	0	0
Sikap tubuh	100	100	80	100	100	100
Menggelantung	100	100	100	100	100	100
Retasblismen	100	100	100	80	100	100
Flexi	100	100	100	100	100	100
Hafner	60	80	0	80	80	100
Mortalitas	0	0	0	0	0	0
Gromming	60	80	0	80	80	0
Defekasi	60	40	20	0	40	0
Urinasi	60	0	0	0	20	100
Pernafasan	0	0	0	0	0	0

Tingkah laku semua kelompok perlakuan pada jam ke 1'

Efek	Negatif	5 mg	50 mg	300 mg	2000 mg	5000 mg
Platform	100	100	100	100	100	100
Aktivitas motorik	100	80	80	80	80	100
Straub	0	0	0	0	0	0
Piloereksi	0	0	0	0	0	0
Ptosis	0	0	0	0	0	0
Refleks pineal	80	60	80	80	60	60
Refleks kornea	100	80	60	80	60	60
Lakrimasi	0	0	0	0	0	0
Katalepsi	0	0	0	0	0	0
Sikap tubuh	100	100	80	100	80	100
Menggelantung	100	80	100	100	100	100
Retasblismen	100	100	100	100	100	80
Flexi	100	100	100	100	100	100
Hafner	80	60	80	40	60	80
Mortalitas	0	0	0	0	0	0
Gromming	40	60	80	60	80	60
Defekasi	80	40	20	0	20	0
Urinasi	20	40	40	0	60	40
Pernafasan	0	0	0	0	0	0

Pengamatan tingkah laku semua kelompok perlakuan pada jam ke 2'

Efek	Negatif	5 mg	50 mg	300 mg	2000 mg	5000 mg
Platform	100	100	100	100	80	80
Aktivitas motorik	100	60	80	80	60	80
Straub	0	0	0	0	0	0
Piloereksi	0	0	0	0	0	0
Ptosis	0	0	0	0	0	0
Refleks pineal	100	60	60	60	60	20
Refleks kornea	100	80	60	60	60	20
Lakrimasi	0	0	0	0	0	0
Katalepsi	0	0	0	0	0	0
Sikap tubuh	100	100	100	100	80	80
Menggelantung	100	80	100	100	100	100
Retasblismen	100	100	100	100	100	80
Flexi	100	100	100	100	100	100
Hafner	40	20	80	40	40	60
Mortalitas	0	0	0	0	0	0
Gromming	0	40	0	80	20	40
Defekasi	20	0	0	40	40	20
Urinasi	20	40	40	0	40	20
Pernafasan	0	0	0	0	0	0

Pengamatan tingkah laku semua kelompok perlakuan pada jam ke 4'

Efek	Negatif	5 mg	50 mg	300 mg	2000 mg	5000 mg
Platform	100	100	100	100	80	80
Aktivitas motorik	60	100	100	80	100	100
Straub	0	0	0	0	0	0
Piloereksi	0	0	0	0	0	0
Ptosis	0	0	0	0	0	0
Refleks pineal	100	80	80	60	80	60
Refleks kornea	100	80	80	60	80	60
Lakrimasi	0	0	0	0	0	0
Katalepsi	0	0	0	0	0	0
Sikap tubuh	100	60	100	100	80	100
Menggelantung	100	100	100	100	80	100
Retasblismen	100	100	100	100	80	100
Flexi	100	100	100	100	80	100
Hafner	0	20	40	80	100	80
Mortalitas	0	0	0	0	0	0
Gromming	20	0	20	20	20	20
Defekasi	20	20	20	80	40	40
Urinasi	0	60	20	60	0	40
Pernafasan	0	0	0	0	0	0

Pengamatan tingkah laku semua kelompok perlakuan pada jam ke 6'

Efek	Negatif	5 mg	50 mg	300 mg	2000 mg	5000 mg
Platform	100	100	100	100	80	100
Aktivitas motorik	60	100	100	100	80	100
Straub	0	0	0	0	0	0
Piloereksi	0	0	0	20	0	0
Ptosis	20	0	0	0	0	0
Refleks pineal	60	60	60	80	80	80
Refleks kornea	60	60	60	80	80	80
Lakrimasi	0	0	20	0	0	0
Katalepsi	0	0	0	0	0	0
Sikap tubuh	100	80	100	100	100	80
Menggelantung	100	100	100	100	100	80
Retasblismen	100	100	100	100	100	100
Flexi	100	100	100	100	100	80
Hafner	0	40	60	0	80	80
Mortalitas	0	0	0	0	0	0
Gromming	20	0	0	20	20	20
Defekasi	20	20	0	80	40	40
Urinasi	0	60	0	60	0	40
Pernafasan	0	0	0	0	0	0

Pengamatan tingkah laku semua kelompok perlakuan pada jam ke 24'

Efek	Negatif	5 mg	50 mg	300 mg	2000 mg	5000 mg
Platform	100	100	100	100	100	100
Aktivitas motorik	100	100	100	100	80	100
Straub	0	0	0	0	20	0
Piloereksi	0	0	0	0	0	0
Ptosis	0	0	0	0	0	0
Refleks pineal	60	80	80	100	80	80
Refleks kornea	60	80	80	100	80	80
Lakrimasi	0	0	0	0	0	0
Katalepsi	0	0	0	0	0	20
Sikap tubuh	80	60	100	100	100	80
Menggelantung	100	100	100	100	100	80
Retasblismen	100	100	100	100	100	80
Flexi	100	100	100	100	100	80
Hafner	80	0	80	60	80	80
Mortalitas	0	0	0	0	0	0
Gromming	20	0	0	20	20	20
Defekasi	20	20	0	80	40	40
Urinasi	0	60	0	60	0	40
pernafasan	0	0	0	0	20	0