

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK SINGKAT EKSTRAK ETANOL
RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Val.)
DENGAN PARAMETER BUN, KREATININ, DAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH**



Oleh:

**Irvan Adhika Nur Efendi
20144257A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK SINGKAT EKSTRAK ETANOL
RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Val.)
DENGAN PARAMETER BUN, KREATININ, DAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Irvan Adhika Nur Efendi
20144257A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK SINGKAT EKSTRAK ETANOL
RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Val.)
DENGAN PARAMETER BUN, KREATININ DAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH**

Oleh :

**Irvan Adhika Nur Efendi
20144257A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 5 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. DARR. A. Oetari, SU.,MM., M. Sc., Apt.

Pembimbing,

Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt
Penguji:

1. Dr. Wiwin Herdwiani, S.F., M.Sc., Apt.

1.....

2. Sunarti, M.Sc., Apt.

2.....

2.....

3. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

3.....

4. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt.

4.....

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim...

*Sukses bukan hanya milik mereka yang cerdas dan pintar,
tetapi juga milik mereka yang mau bekerja keras mewujudkan impiannya
Cara terbaik untuk mewujudkan impian
adalah dengan menyadarinya, sadar bahwa impian kita harus terlaksana
dalam kehidupan nyata*

Karya tulis ini kupersembahkan kepada :

Allah SWT, Bapak & Ibu tercinta dan keluarga besar yang terkasih,

Teman-teman seperjuangan yang selalu memberikan dukungan, doa dan semangat

Dosen pembimbing dan seluruh dosen Universitas Setia Budi

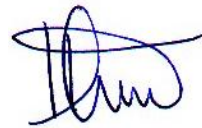
Almamater, Bangsa dan Negara

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 5 Juli 2018



Irvan Adhika Nur Efendi

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah hirabbil alamin, segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena dengan Rahmat, Nikmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“UJI TOKSISITAS SUBKRONIK SINGKAT EKSTRAK ETANOL RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Val.) DENGAN PARAMETER BUN, KREATININ, DAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH”**. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.) Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis dengan senang hati menyampaikan terima kasih 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. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik atas bimbingan, nasehat, motivasi dan pengarahan selama perkuliahan.
4. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, memberi nasehat, petunjuk dan bimbingan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
5. Endang Sri Rejeki M.Si.,Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, memberi nasehat, petunjuk dan bimbingan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
6. Dr. Wiwin Herdwiani, S.F., M.Sc., Apt., Sunarti, M.Sc., Apt. dan Fransiska Leviana, M.Sc., Apt. selaku penguji I, II, dan III yang telah menyediakan waktu untuk menguji serta memberikan saran dan kritik demi kesempurnaan skripsi.

7. Segenap dosen, asisten & staff Laboratorium, serta karyawan perpustakaan yang telah banyak membantu dan menyediakan fasilitas demi kelancaran skripsi.
8. Teman seperjuangan khususnya tim toksisitas, keluarga wapala exess, dan teman-teman angkatan 2014 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberi dorongan dan informasi yang penulis perlukan dalam menyusun skripsi.
9. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan skripsi.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi dan jauh dari kata sempurna, oleh karena itu kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dibidang obat tradisional kedepannya.

Surakarta, 5 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Lempuyang Wangi.....	4
1. Klasifikasi tanaman	4
2. Nama daerah	4
3. Deskripsi tanaman	4
4. Kandungan kimia	5
5. Khasiat dan kegunaan.....	5
B. Simplisia	6
1. Pengertian simplisia	6
2. Cara pembuatan simplisia.....	6
C. Ekstraksi	6
1. Pengertian ekstraksi.....	6
2. Metode ekstraksi	7
2.1 Maserasi.....	7
2.2 Perkolasi.	7

2.3	Sokletasi.....	7
2.4	Digesti.....	8
3.	Pelarat.....	8
D.	Toksisitas.....	8
1.	Uji toksisitas akut.....	8
2.	Uji toksisitas subkronik.....	9
2.1	Uji toksisitas subkronik singkat oral 28 hari.....	9
2.2	Uji toksisitas subkronik oral 90 hari.....	10
3.	Uji toksisitas kronik.....	10
E.	Tinjauan Hewan Uji.....	11
1.	Sistematika tikus.....	11
2.	Karakteristik utama tikus.....	11
3.	Jenis kelamin.....	12
4.	Cara memegang (<i>handling</i>) tikus.....	12
5.	Pengambilan darah tikus.....	12
F.	Ginjal.....	13
1.	Pengertian dan fungsi ginjal.....	13
2.	Anatomi dan fisiologi ginjal.....	13
3.	Metabolisme ginjal.....	15
3.1	Metabolisme ureum.....	15
3.2	Metabolisme kreatinin.....	15
4.	Gangguan pada ginjal.....	16
G.	Histologi Ginjal.....	16
1.	Tinjauan umum kerusakan jaringan.....	17
2.	Gambaran sel setelah cedera.....	17
2.1	Perubahan hidrofobik.....	17
2.2	Perubahan melemak.....	18
H.	Landasan Teori.....	18
I.	Hipotesis.....	20
BAB III	METODE PENELITIAN.....	21
A.	Populasi dan Sampel.....	21
B.	Variabel Penelitian.....	21
1.	Identifikasi variabel utama.....	21
2.	Klasifikasi variabel utama.....	21
3.	Definisi operasional variabel utama.....	22
C.	Bahan dan Alat.....	23
1.	Bahan.....	23
2.	Alat.....	23
D.	Jalannya Penelitian.....	23
1.	Determinasi tanaman lempuyang wangi.....	23
2.	Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk rimpang lempuyang wangi.....	23
3.	Penetapan susut pengeringan serbuk rimpang lempuyang wangi.....	24
4.	Penetapan kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi.....	24

5.	Pembuatan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi	24
6.	Test bebas etanol ekstrak rimpang lempuyang wangi.....	25
7.	Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (<i>Zingiber aromaticum</i> Val.)	25
7.1	Identifikasi alkaloid.....	25
7.2	Identifikasi flavonoid.....	25
7.3	Identifikasi saponin.....	26
7.4	Identifikasi tanin.....	26
8.	Pembuatan sediaan uji	26
8.1	Suspensi CMC 0,5%.....	26
8.2	Larutan ekstrak 2,5 g/100ml.....	26
8.3	Larutan ekstrak 4 g/100ml.....	26
9.	Persiapan hewan uji.....	26
10.	Pengamatan.....	27
11.	Penentuan sediaan dosis uji	27
12.	Pengambilan sampel darah	27
13.	Pemeriksaan kadar <i>Blood Ureum Nitrogen</i> (BUN)	28
14.	Pemeriksaan kadar kreatinin.....	29
15.	Penimbangan dan penetapan persen indeks organ	29
16.	Pemeriksaan histopatologi.....	30
E.	Skema Penelitian.....	32
F.	Analisis Data.....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		34
A.	Tanaman Lempuyang Wangi.....	34
1.	Hasil determinasi tanaman lempuyang wangi	34
2.	Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk	34
3.	Hasil penetapan susut pengeringan rimpang lempuyang wangi	35
4.	Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi	35
5.	Pembuatan ekstrak.....	36
6.	Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang lempuyang wangi	36
7.	Penentuan dosis uji.....	37
B.	Hasil Uji Toksisitas Subkronis Singkat.....	38
1.	Pengamatan	38
1.2.	Pengamatan gejala toksik.....	40
1.2.1.	Perubahan perilaku.....	40
1.2.2.	Tingkat kematian.....	42
2.	Uji kadar <i>Blood Ureum Nitrogen</i> (BUN)	42
3.	Uji kadar kreatinin.....	44
4.	Hasil penimbangan organ dan penetapan indeks organ	46
5.	Hasil pemeriksaan histopatologi	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		52
A.	Kesimpulan.....	52
B.	Saran.....	52

DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	56

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.	Tanaman <i>Zingiber aromaticum</i> Val.	4
Gambar 2.	Anatomi ginjal (Cheuck 2013).....	13
Gambar 3.	Pengambilan serum	28
Gambar 4.	Pemeriksaan kadar <i>Blood Ureum Nitrogen</i> (BUN).....	28
Gambar 5.	Pemeriksaan kadar kreatinin	29
Gambar 6.	Histopatologi.....	31
Gambar 7.	Skema uji toksisitas subkronis singkat 28 hari	32
Gambar 8.	Grafik rata-rata berat badan tikus jantan	39
Gambar 9.	Grafik rata-rata berat badan tikus betina	39
Gambar 10.	Histogram rata-rata kadar BUN tikus jantan	43
Gambar 11.	Histogram rata-rata kadar BUN tikus betina	43
Gambar 12.	Histogram rata-rata kadar kreatinin tikus jantan.....	45
Gambar 13.	Histogram rata-rata kadar kreatinin tikus betina.....	45
Gambar 14.	Histogram rata-rata persen indeks organ ginjal tikus jantan.....	47
Gambar 15.	Histogram rata-rata persen indeks organ ginjal tikus betina.....	47
Gambar 16.	Histogram rata-rata nilai skoring pengamatan histopatologi ginjal tikus jantan dan betina	49
Gambar 17.	Histopatologi ginjal radang (1) dan ginjal normal (2).....	49
Gambar 18.	Histopatologi ginjal nekrosis (1) dan ginjal normal (2)	50

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1.	Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang lempuyang wangi.....	35
Tabel 2.	Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan rimpang lempuyang wangi.....	35
Tabel 3.	Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi.....	36
Tabel 4.	Hasil perhitungan rendemen ekstrak rimpang lempuyang wangi	36
Tabel 5.	Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang lempuyang wangi.....	36
Tabel 6.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak rimpang lempuyang wangi secara kualitatif	37
Tabel 7.	Hasil rata-rata berat badan tikus jantan dan betina	38
Tabel 8.	Hasil persentase keaktifan pada tikus	41
Tabel 9.	Hasil persentase <i>grooming</i> pada tikus.....	41
Tabel 10.	Hasil persentase kematian pada tikus	42
Tabel 11.	Hasil rata-rata kadar BUN tikus jantan dan tikus betina	43
Tabel 12.	Hasil rata-rata kadar kreatinin tikus jantan dan betina.....	44
Tabel 13.	Hasil rata-rata persen indeks organ ginjal pada tikus jantan dan betina	46
Tabel 14.	Hasil rata-rata nilai skoring pengamatan histopatologi ginjal tikus jantan dan betina	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan simplisia.....	57
Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman lempuyang wangi	58
Lampiran 3. Sertifikasi hewan uji.....	59
Lampiran 4. Surat keterangan ethical clearance	60
Lampiran 5. Hasil pengamatan histopatologi.....	61
Lampiran 6. Foto bahan untuk penelitian	62
Lampiran 7. Foto alat untuk penelitian	63
Lampiran 8. Identifikasi senyawa ekstrak rimpang lempuyang wangi.....	66
Lampiran 9. Foto jalannya penelitian	67
Lampiran 10. Hasil rendemen kering dan ekstrak.....	69
Lampiran 11. Hasil penetapan susut pengeringan rimpang lempuyang wangi....	70
Lampiran 12. Hasil penetapan kadar air rimpang lempuyang wangi	71
Lampiran 13. Penentuan dosis uji.....	72
Lampiran 14. Volume pemberian sediaan	74
Lampiran 15. Penimbangan berat badan tikus	76
Lampiran 16. Kadar BUN	78
Lampiran 17. Kadar kreatinin.....	80
Lampiran 18. Persen indeks organ ginjal.....	82
Lampiran 19. Hasil skoring pengamatan histopatologi ginjal.....	83
Lampiran 20. Pengamatan mikroskopis organ ginjal	84
Lampiran 21. Hasil uji statistik	87

INTISARI

EFENDI, IAN, 2018, UJI TOKSISITAS SUBKRONIK SINGKAT EKSTRAK ETANOL RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Val.) DENGAN PARAMETER BUN, KREATININ, DAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) merupakan tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional, salah satunya sebagai analgetik. Penelitian sebelumnya telah dilakukan uji toksisitas akut dengan nilai LD₅₀ sebesar 866,96 mg/kgBB mencit (toksik sedang). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi dosis dan efek toksisitas subkronis singkat terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin serta gambaran histopatologi ginjal tikus.

Ekstrak rimpang lempuyang wangi diperoleh dari hasil maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus jantan dan 25 ekor tikus betina, yang terbagi atas 5 kelompok. Kelompok pertama kontrol negatif diberi larutan CMC-Na 0,5%, 3 kelompok perlakuan diberi sediaan ekstrak lempuyang wangi dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan kelompok satelit diberi 500 mg/kgBB. Penelitian ini berlangsung selama 28 hari dan ditambah 14 hari pada kelompok satelit. Pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin dilakukan pada awal perlakuan dan akhir perlakuan. Pada akhir pemeriksaan hewan uji dikorbankan untuk uji histopatologi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak lempuyang wangi dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB maupun kelompok satelit tidak memberikan efek toksik pada organ ginjal tikus jantan dan betina yang dilihat dari hasil pemeriksaan kadar BUN, kreatinin, dan gambaran histopatologi ginjal.

Kata kunci : Toksisitas subkronik, ekstrak lempuyang wangi, BUN, kreatinin, histopatologi ginjal.

ABSTRACT

EFENDI, IAN, 2018, 28-DAY SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF EXTRACT LEMPUYANG WANGI RHIZOME (*Zingiber aromaticum* Val.) WITH BUN, CHREATININE PARAMETERS, AND HISTOPHATOLOGY OF KIDNEY WHITE RATS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Lempuyang wangi rhizome (*Zingiber aromaticum* Val.) is a plant widely used as a traditional medicine, one of them as analgesic. The previous study has a LD₅₀ 866,96 mg/kgBB mice (toxicity medium). This study to determine the reaction of variation dosage and effects of subchronic short toxicity on levels of Blood Urea Nitrogen (BUN) and creatinine with histopathology images of kidney rats.

Extract lempuyang wangi rhizome was obtained by maceration using 96% ethanol solvent. This study used 25 male rats and 25 female rats, was divided into 5 groups. The first group of negative control was given 0.5% CMC-Na solution, 3 treatment groups were given a dosage of 125 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, 500 mg/kgBW, and the satellite group was given 500 mg/kgBW. The study lasted for 28 days and added 14 days in the satellite group. Examination of BUN and creatinine levels was performed at the beginning of treatment and the end of treatment. At the end of the examination the test animals were sacrificed for histopathological tests.

The study showed that the administration of lempuyang wangi rhizome extract dose 125 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, 500 mg/kgBW or satellite group did not give toxic effect on kidney and female kidney organ seen from BUN, creatinine, and histopathology kidney.

Keywords : Subchronic toxicity, extract lempuyang wangi, BUN, chreatinine, histopathology kidney.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Di Indonesia terdapat berbagai macam tanaman obat, salah satu jenis tanaman yang akan dijadikan objek penelitian yaitu rimpang lempuyang wangi yang memiliki nama latin *Zingiber aromaticum* Val., tanaman ini termasuk dalam suku Zingiberaceae. Secara empirik, lempuyang wangi merupakan tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat di Jawa dan Sumatra karena dapat mengobati demam, reumatik, sakit perut, kepala pusing dan nyeri. Pengobatan nyeri menggunakan obat herbal lebih aman digunakan serta dapat meminimalkan efek samping terhadap penggunaan obat sintetis (Sudarsono *et al.* 2002).

Obat analgetik dikenal dan banyak digunakan sebagai obat pereda nyeri. Masyarakat banyak menggunakan obat analgetik untuk meredakan sakit kepala, gigi, demam dan nyeri ringan. Penggunaan obat anti nyeri secara berkala dapat menimbulkan efek samping seperti resiko iritasi, pendarahan saluran cerna dan hepatotoksik (Puspitasari *et al.* 2003).

Rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) masih satu marga dengan rimpang lempuyang pahit (*Zingiber americana* BL.) memiliki kandungan kimia dan khasiat yang hampir sama sebagai analgetik. Rimpang *Zingiber aromaticum* Val. juga masih jarang digunakan masyarakat jadi perlu pengkajian lebih lanjut (Pudjiastuti *et al.* 2000). Rimpang tanaman ini mengandung minyak atsiri yang tersusun dari a-kurkumen, bisabolen, zingiberen, kariofilen, seskuifelandren, zerumbon, limonen, kamfer; di samping itu zat pedas gingerol, saogaol, zingeron, paradol, heksahidrokurkumin, dihidrogingerol; informasi lain menyebutkan damar, tanin, resin, pati, dan gula. Khasiat rimpang ini untuk obat asma, mengurangi rasa nyeri, membersihkan darah, dan menambah nafsu makan. Hasil penelitian pada dosis 8,5 mg/20gBB mencit telah menunjukkan efek analgetik (Rohimah 2015).

Uji toksisitas dilakukan untuk menilai efek ketoksikan pada suatu zat. Dalam penelitian ini, akan dilakukan uji toksisitas subkronis singkat oral selama

28 hari untuk melihat efek yang ditimbulkan selama penggunaan jangka pendek selama 28 hari sebagai analgetik. Pengujian sediaan uji analgetik secara pra klinis tidak membutuhkan waktu panjang (BPOM 2014). Penelitian toksisitas akut ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi diperoleh nilai LD₅₀ sebesar 866,96 mg/kgBB mencit, sehingga tingkat ketoksikannya dapat dikategorikan toksik sedang. Pengujian histopatologi menunjukkan adanya kerusakan paling parah pada dosis 1000 mg/kgBB mencit berupa nekrosis pada organ hati dan ginjal (Rasyid *et al.* 2012).

Ginjal merupakan salah satu organ yang menjadi sasaran utama dari efek ketoksikan karena organ ini berperan dalam mengeluarkan buangan metabolisme dan mengekskresikan xenobiotik dan metabolitnya. Efek toksik yang muncul beranekaragam seperti perubahan kimia hingga kematian sel yang umumnya akan muncul sebagai perubahan fungsi ginjal sampai gagal ginjal (Lu 1995). Pada analisis darah dapat dilakukan pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin yang menjadi parameter untuk menilai fungsi ginjal normal. Kadar BUN dan kreatinin dalam darah akan meningkat jumlahnya jika terjadi gangguan (Corwin 2009). Pemeriksaan histopatologi dilakukan untuk mengamati perubahan ginjal yang tidak tampak dengan pengamatan mikroskopis dengan mengambil sampel jaringan atau mengamati jaringan setelah kematian terjadi.

Belum adanya penelitian tentang uji toksisitas subkronik lempuyang wangi merupakan salah satu alasan dilakukannya penelitian ini sehingga peneliti akan mengkaji tentang toksisitas subkronik singkat selama 28 hari ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) melalui parameter BUN, kreatinin, dan gambaran histopatologi ginjal tikus putih. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi manfaat kepada masyarakat tentang keamanan pemakaian rimpang lempuyang wangi untuk analgetik.

B. Perumusan Masalah

Pertama, apakah pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) secara subkronik singkat selama 28 hari menimbulkan efek toksik terhadap parameter BUN dan kreatinin tikus putih?

Kedua, apakah pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) secara subkronik singkat selama 28 hari dapat menimbulkan efek toksik terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih?

Ketiga, apakah terdapat pengaruh variasi dosis ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) terhadap kerusakan ginjal tikus putih?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui efek toksik subkronik singkat selama 28 hari pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) terhadap parameter BUN dan kreatinin tikus putih.

Kedua, untuk mengetahui efek toksik subkronik singkat selama 28 hari pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus.

Ketiga, untuk mengetahui pengaruh variasi dosis ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) terhadap kerusakan ginjal tikus putih.

D. Kegunaan Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah menjadi tambahan informasi dibidang farmasi untuk pengembangan penelitian tanaman berkhasiat obat agar dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian-penelitian selanjutnya mengenai tanaman lempuyang wangi, serta untuk menambah wawasan masyarakat luas mengenai uji toksisitas dan keamanan bahan obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Lempuyang Wangi



Gambar 1. Tanaman *Zingiber aromaticum* Val.

1. Klasifikasi tanaman

Klasifikasi tanaman *Zingiber aromaticum* Val. menurut Herbie (2015) sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Bangsa : Zingiberales
Suku : Zingiberaceae
Marga : Zingiber
Jenis : *Zingiber aromaticum* Val.

2. Nama daerah

Zingiber aromaticum Val. disebut juga lempuyang wangi oleh masyarakat Jakarta, Jawa Tengah, dan Sumatera. Masyarakat Sunda menyebut sebagai lempuyang ruum sedangkan masyarakat Madura menyebut sebagai lempuyang room (Herbie 2015).

3. Deskripsi tanaman

Zingiber aromaticum Val. merupakan tumbuhan berbatang semu, tingginya kurang lebih 1 m. Daun berbentuk lanset dengan panjang 14-40 cm dan lebar 3-8,5 cm, bagian pangkal daun berbentuk bulat telur atau runcing,

permukaan daun bagian atas berbulu dengan panjang bulu 4-5 mm. Bunganya berupa mayang tersembul di atas tanah, gagang bunga lebih panjang daripada mayang, ramping dan sangat kuat, bersisik, berbentuk lanset. Sisik berwarna merah dengan panjang sisik 3-6,5 cm. Daun pelindung lebih panjang daripada kelopak bunga, berbentuk jorong dengan ujung yang rata, berbulu rapat berwarna hijau kemerahan atau merah gelap, tetapi pada bagian tepi hampir tak berbulu, panjang daun pelindung 1,5-4 cm dan lebar 1,25-4 cm. Mayang berbentuk bulat telur, panjangnya 3,5-10,5 cm, lebar 1,75-5,5 cm, panjang kelopak bunga 13-17 mm. Mahkota bunga berwarna kuning terang atau putih kekuningan, tinggi tabung 2-3 cm, berbentuk bulat telur, dan rata pada bagian ujung. Kepala sari berbentuk jorong, berwarna kuning terang panjangnya 8-10 mm (Herbie 2015).

4. Kandungan kimia

Zingiber aromaticum Val. mengandung protein 3,8 %, air 10,7 %, lemak 11,8 %, kadar abu 2,6 %, dan karbohidrat 70,9 %. Sudarsono *et al.* (2002) menyebutkan bahwa rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) terkandung minyak atsiri yang tersusun dari kurkumen, bisabolen, zingiberen, kariofilen, seskuifelandren, zerumbon, limonen, kamfer zat pedas berupa gingerol, dihidrogingerol, shogaol, zingeron, dan paradol, serta senyawa lain yang berupa heksahidrokurkumin, dihidrogingerol, damar, tanin, resin, pati, dan gula. Senyawa metabolit yang terdapat pada rimpang *Zingiber aromaticum* Val. antara lain : alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri.

5. Khasiat dan kegunaan

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val. berkhasiat sebagai obat asma, merangsang membran mukosa lambung, mengurangi rasa nyeri, pembersih darah, menambah nafsu makan, pereda kejang, untuk mengobati penyakit empedu, penyakit kuning, radang sendi, batuk rejan, kolera, anemia, malaria, penyakit syaraf, nyeri perut, mengatasi penyakit yang disebabkan cacing, dan masuk angin. Ekstrak air dan ekstrak etanol rimpang *Zingiber aromaticum* Val. terbukti memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim CYP3A4. Pada pemakaian luar, digunakan untuk mengatasi rasa nyeri (Sudarsono *et al.* 2002).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga kecuali dinyatakan lain, umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh atau bagian eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Cara pembuatan simplisia

Proses pembuatan simplisia dimulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah untuk penilaian hasil panen ketika tanaman masih segar, dilakukan pencucian yang berguna untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar pestisida. Pengubahan bentuk dilakukan untuk memperluas permukaan bahan baku. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengemasan dan penyimpanan bahan yang akan digunakan (Sugiarto 2013).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi (istilah yang sering digunakan dalam kefarmasian) adalah proses pemisahan bagian aktif yang berkhasiat obat dari jaringan tanaman (dan hewan) dengan menggunakan pelarut selektif sesuai dengan standar ekstraksi (Handa *et al.* 2008). Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan

massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Haryati 2005).

Tujuan pembuatan ekstrak tumbuhan obat adalah untuk menstandarisasi kandungan dari tanaman obat tersebut sehingga menjamin kesegaran mutu, keamanan, dan khasiat produk akhir. Keuntungan penggunaan ekstrak dibandingkan dengan simplisia asalnya adalah penggunaannya bisa lebih simpel, dari segi bobot pemakaiannya lebih sedikit dibandingkan dengan bobot tumbuhan aslinya (Haryati 2005).

2. Metode ekstraksi

2.1 Maserasi. Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan didalam dan diluar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, metanol, etanol-air atau pelarut lainnya. Remaserasi berarti dilakukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Mukoginta *et al.* 2013).

2.2 Perkolasi. Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembang bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (Mukoginta *et al.* 2013).

2.3 Sokletasi. Sokletasi merupakan proses ekstraksi yang menggunakan penyarian berulang dan pemanasan. Serbuk dibungkus dengan kertas saring dan diikat, dimasukkan ke dalam ekstraktor soklet. Pelarut etanol dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Alat soklet dirangkai dengan kondensor. Ekstraksi dilakukan sekitar 10 jam hingga cairan tidak berwarna. Ekstrak yang didapat dievaporasi menggunakan *evaporator* pada suhu 50⁰C sampai diperoleh ekstrak pekat (Mukoginta *et al.* 2013).

2.4 Digesti. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50⁰C (Mukoginta *et al.* 2013).

3. Pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif. Faktor utama untuk pertimbangan pemilihan cairan pelarut yaitu: selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan (BPOM 2000).

Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengestrasi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid (Arifianti *et al.* 2014).

Etanol digunakan sebagai cairan penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman (Tiwari *et al.* 2011).

D. 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 pada manusia (BPOM 2014).

1. Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut merupakan uji untuk menentukan Dosis Lethal (LD₅₀) dan menunjukkan organ sasaran yang mungkin mengalami kerusakan. LD₅₀ didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan percobaan (BPOM 2014). Pengamatan hewan uji

dilakukan sejak masa persiapan hewan uji, sebelum diberi perlakuan. Perlakuan berupa pemberian obat pada masing-masing hewan uji dengan dosis tunggal. Batas dosis harus dipilih sedemikian rupa dengan harapan dapat menimbulkan respon pada 10–90% hewan uji. Evaluasi terhadap kelainan tingkah laku, stimulasi atau depresi SSP, aktivitas motorik, dan pernapasan tikus untuk mendapatkan gambaran tentang sebab kematian (Setiabudy 2007).

2. Uji toksisitas subkronik

Uji toksisitas subkronik adalah pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversible* (BPOM 2014).

2.1 Uji toksisitas subkronik singkat oral 28 hari. Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis apakah dalam bentuk sekali pakai atau berulang dalam waktu kurang dari satu minggu (BPOM 2014). Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Strain Sprague Dawley* atau *Wistar*) atau mencit (*Strain ddY* atau *BALB/c* dan lain-lainnya). Syarat hewan uji meliputi sehat, umur 6-8 minggu. Masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 10 ekor yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk setiap kelompok dosis. Selain itu jika perlu dapat disediakan 2 kelompok tambahan sebagai kontrol satelit minimal 10 hewan per kelompok yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina, untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tertinggi (BPOM 2014).

Dosis yang diujikan sekurang-kurangnya dibagi dalam 3-4 variasi dosis, 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok satelit (kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol). Dosis sediaan uji paling tinggi harus menimbulkan efek toksik tapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat; dosis menengah

menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik. Bila pada dosis 1000 mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikan lagi meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai. Sediaan uji diberikan secara peroral dengan volume pemberian 1ml sediaan uji per 100 gram BB hewan uji, tetapi dalam kondisi tertentu volume pemberian dapat mencapai 2ml sediaan uji per 100 gram BB hewan uji apabila digunakan pembawa air (BPOM 2014).

Pada akhir percobaan darah diambil menggunakan alat suntik steril dan selalu dijaga agar tidak terkena air (untuk menghindari terjadinya hemolisa). Darah diambil dari venajugularis secara perlahan-lahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3–5 ml, satu alat suntik digunakan untuk satu hewan. Dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tangas es tidak lebih dari 20 menit dan segera disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis.

Hasil uji ketoksikan subkronis akan memberikan informasi yang bermanfaat tentang efek utama senyawa uji dan organ sasaran yang dipengaruhinya. Selain itu juga dapat diperoleh informasi tentang perkembangan efek toksik yang lambat berkaitan dengan takaran yang tidak teramati pada uji ketoksikan akut. Kekekabatan antar kadar senyawa pada darah dan jaringan terhadap perkembangan luka toksik dan keterbalikan efek toksik (Donatus 2005). Tujuan utama dari uji ini adalah untuk mengungkapkan dosis tertinggi yang diberikan tanpa memberikan efek merugikan serta mengetahui pengaruh senyawa kimia terhadap badan dalam pemberian berulang (Eatau dan Klassen 2001).

2.2 Uji toksisitas subkronik oral 90 hari. Uji toksisitas subkronis oral 90 hari digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis berulang dalam waktu 1-4 minggu (BPOM 2014).

3. Uji toksisitas kronik

Uji toksisitas kronik untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sampai seluruh umur hewan misalnya 18

bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, dan 7 – 10 tahun untuk anjing dan monyet. Namun, mencit tidak digunakan dalam penelitian ini karena ukurannya yang sangat kecil (Lu 1995).

Uji toksisitas kronis oral pada prinsipnya sama dengan uji toksisitas subkronis tetapi sediaan uji diberikan selama tidak kurang dari 12 bulan. Tujuan dari uji toksisitas kronis oral adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang selama waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (BPOM 2014).

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. Tinjauan Hewan Uji

1. Sistematika tikus

Sistematika hewan percobaan dalam penelitian ini sebagai berikut :

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Familia	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> (Akbar 2010).

2. Karakteristik utama tikus

Tikus putih yang digunakan untuk percobaan laboratorium yang dikenal ada tiga macam galur yaitu Sprague Dawley, Long Evans, dan Wistar. Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di

antaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan hidup terhadap arsenik tiroksid (Akbar 2010).

3. Jenis kelamin

Pada prinsipnya jenis hewan yang digunakan untuk uji toksisitas harus dipertimbangkan berdasarkan sensitivitas, cara metabolisme sediaan uji serupa dengan manusia, kecepatan tumbuh serta cara penanganan sewaktu dilakukan percobaan. Hewan yang digunakan harus sehat, jelas asal, jenis dan galur, jenis kelamin, usia, serta berat badan harus jelas. Digunakan hewan muda dewasa, dengan variasi bobot tidak lebih dari 20%. Pada umumnya untuk uji toksisitas subkronis digunakan tikus jantan dan betina (BPOM 2014).

4. Cara memegang (*handling*) tikus

Cara memegang hewan uji jenis rodensia berbeda antara tikus dan mencit pada saat pemberian sediaan uji secara oral. Memegang tikus biasanya dengan cara mengangkat tikus dari kandang pada pangkal ekornya. Biarkan tikus mencengkeram alas kasar atau kawat, dipegang dengan tangan kiri dari belakang tubuhnya atau punggungnya di dekat kepala, di antara jari tengah dan telunjuk pada tengkuk tikus, sedang ibu jari, jari manis dan kelingking. Cara pemegangan yang salah dapat menyebabkan sediaan uji yang diberikan tidak dapat masuk ke dalam lambung tetapi masuk ke dalam paru-paru, sehingga mengakibatkan kematian hewan uji. Pemegangan yang salah juga dapat mengakibatkan terjadinya kecelakaan kerja seperti tergigit oleh hewan uji (BPOM 2014).

5. Pengambilan darah tikus

Pengambilan darah dilakukan selama penelitian berlangsung melalui mata (*sinus orbitalis*) menggunakan mikrohematokrit sebanyak 2 ml dengan batas pengambilan sampai 5 ml. Darah dimasukkan ke dalam tabung tabung mikrosentrifus, segera disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000

rpm. Serum yang terbentuk kemudian dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku pada suhu (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis hewan uji (BPOM 2014).

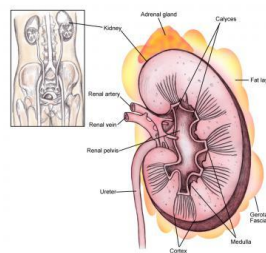
F. Ginjal

1. Pengertian dan fungsi ginjal

Ginjal merupakan organ vital kelenjar endokrin yang sedikitnya mengeluarkan tiga hormon dan juga berfungsi mempertahankan keseimbangan air, garam, dan elektrolit dalam tubuh dengan cara memfiltrasi darah, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan non elektrolit, serta mengekskresikan kelebihan sebagai urin (Corwin 2009).

Ginjal memiliki dua fungsi utama yaitu fungsi ekskresi dan fungsi nonekskresi. Fungsi ekskresi pada ginjal yaitu mempertahankan osmolaritas plasma, mempertahankan keseimbangan kadar asam dan basa pada cairan tubuh, mempertahankan keseimbangan garam-garam dan zat-zat lain dalam tubuh dan mengeluarkan sisa metabolisme hasil akhir sari protein ureum, kreatinin, dan amoniak. Fungsi noneksresi ginjal yaitu menghasilkan renin yang penting untuk mengatur tekanan darah, menghasilkan hormon eritroprotein yang berfungsi untuk stimulasi produksi sel darah merah oleh sumsum tulang dan prostaglandin, metabolisme vitamin D menjadi bentuk aktifnya, dan degradasi insulin (Sherwood 2011).

2. Anatomi dan fisiologi ginjal



Gambar 2. Anatomi ginjal (Cheuck 2013).

Ginjal terletak di *retroperitonium vertebralis lumbalis*, dibungkus oleh kapsula yang dapat bergerak bebas pada permukaannya. Ginjal kanan lebih rendah daripada ginjal kiri karena pada sebelah kanan terdapat hati yang menekan ginjal. Pada umumnya ginjal berbentuk menyerupai kacang dengan *hilus renalis* yaitu

tempat masuknya pembuluh darah dan keluarnya ureter. Ginjal orang dewasa panjangnya 12 – 13 cm, dengan lebar 6 cm dan berat antara 120 – 150 gram (Ganong 2003).

Ginjal terbentuk atas korteks di bagian luar yang berwarna coklat terang dan medula di bagian dalam yang berwarna coklat gelap. Korteks mengandung jutaan alat penyaring yang disebut nefron. Nefron terbentuk oleh suatu jaringan ikat yang memiliki fungsi dasar membersihkan plasma darah dari substansi yang tidak diinginkan oleh tubuh yang berasal dari hasil metabolisme urea, kreatinin, asam urat, dan ion-ion natrium, kalium, klorida, serta ion-ion hidrogen dalam jumlah yang berlebihan (Sherwood 2011). Medula ginjal tersusun atas massa-massa triangular yang disebut piramida ginjal dengan basis menghadap korteks dan bagian apeks yang menonjol ke medial. Piramida berguna untuk mengumpulkan hasil ekskresi yang kemudian disalurkan ke tubulus kolektivus menuju pelvis ginjal (Tortora & Derrickson 2011).

Ginjal menjalankan fungsi yang vital sebagai pengatur volume dan komposisi kimia darah dan lingkungan dalam tubuh dengan mengekskresikan zat terlarut dan air secara selektif. Fungsi vital ginjal dapat tercapai dengan filtrasi plasma darah melalui glomerulus dengan reabsorpsi sejumlah zat terlarut dan air dalam jumlah yang sesuai di sepanjang tubulus ginjal. Kelebihan zat terlarut dan air akan diekskresikan keluar tubuh dalam urin melalui sistem pengumpulan urin (Price & Wilson 2005). Menurut Sherwood (2011), ginjal memiliki fungsi yaitu mempertahankan keseimbangan air di dalam tubuh, memelihara volume plasma yang sesuai sehingga sangat berperan dalam pengaturan jangka panjang tekanan darah arteri, membantu memelihara keseimbangan asam basa di dalam tubuh, mengekskresikan produk-produk sisa metabolisme dalam tubuh, mengekskresikan senyawa asing seperti obat-obatan.

Proses pembentukan urin di dalam tubuh khususnya di dalam nefron terbagi atas tiga proses utama yaitu proses filtrasi, reabsorpsi, dan ekskresi. Pembentukan urin dimulai dengan filtrasi sejumlah besar cairan yang hampir bebas protein dari kapiler glomerulus ke kapsula Bowman. Sebagian zat dalam plasma, kecuali protein, akan difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya

dalam filtrat glomerulus hampir sama dengan plasma. Awalnya zat akan difiltrasi secara bebas oleh kapiler glomerulus, kemudian direabsorpsi parsial, reabsorpsi lengkap, dan kemudian akan diekskresikan (Sherwood 2011).

3. Metabolisme ginjal

3.1 Metabolisme ureum. Ureum dalam darah atau *Blood Urea Nitrogen* (BUN) merupakan hasil protein normal yang berasal dari asam amino ornitin yang bergabung dengan molekul CO₂ untuk membentuk sitrulin. Sitrulin bergabung dengan sitrulin lain membentuk arginin yang dipecah menjadi ureum dan ornitin. Ureum berdifusi dari sel hati ke cairan tubuh, dipekatkan dalam urin dan diekskresikan melalui ginjal, sedangkan ornitin dipakai lagi dalam siklus berulang. Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar normal BUN pada tikus wistar adalah 15-21 mg/dl.

Meningkatnya kadar ureum dalam darah disebut uremia, yang disebabkan karena ekskresi ureum yang terhambat oleh kegagalan fungsi ginjal sehingga kadar BUN meningkat. Uremia prerenal berarti produksi ureum meningkat yang disebabkan oleh perombakan protein. Gangguan peredaran darah yang menurunkan fungsi ginjal juga disebut sebagai uremia prerenal. Uremia postrenal terjadi jika terdapat obstruksi pada saluran urin bagian bawah sehingga ekskresi urin terhambat dan ureum dalam urin yang terbungkus mendifusi balik ke dalam aliran darah (Ganong 2003).

3.2 Metabolisme kreatinin. Kreatinin merupakan produk akhir dari metabolisme kreatin yang disintesis oleh hati dari metionin, glisin, dan arginin. Kreatin terdapat hampir di semua otot rangka, terikat secara reversibel dengan fosfat dalam bentuk fosfokreatin yang merupakan senyawa penyimpan energi. Sebagian kecil dari kreatin secara ireversibel berubah menjadi kreatinin yang tidak mempunyai fungsi sebagai zat berguna dan beredar dalam darah untuk diangkut di ginjal. Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar kreatinin normal pada tikus adalah 0,2-0,8 mg/dl dan akan bertambah jika terdapat kerusakan pada ginjal. Peningkatan dua kali lipat kadar kreatinin serum mengindikasikan adanya penurunan fungsi ginjal sebesar 50%, demikian juga peningkatan kadar kreatinin

tiga kali lipat mengisyaratkan penurunan fungsi ginjal sebesar 75% (Soeparman *et al.* 2001).

4. Gangguan pada ginjal

Kerusakan pada struktur ginjal dapat berupa pembendungan struktur sel polimorfonuklear, kariolisis pada sel parenkim dan sel endotel, penyempitan celah antara kapsula Bowmen dan medula ginjal, atrofi dan hipertrofi glomerulus, penyempitan pada lumen duktus kontritus, dan akhirnya dapat menyebabkan terhambatnya proses pembentukan urin karena kemampuan filtrasi glomerulus menurun, sehingga timbul racun metabolisme dalam darah terutama limbah metabolisme nitrogen seperti urea dan kreatinin, serta meningkatnya tekanan darah (Corwin 2009).

Kerusakan ginjal juga bisa disebabkan oleh adanya deposisi imun kompleks, trombosis, emboli, dan inveksi virus pada komponen glomerulus yang dapat menyebabkan kerusakan secara morfologis yang ditandai dengan terjadinya nekrosis dan ploriferasi dari sel membran. Rusaknya glomerulus secara fungsional ditandai dengan berkurangnya perfusi aliran darah, lolosnya protein dan makromolekul lain dalam jumlah yang besar pada filtrat glomerulus. Kerusakan pada glomerulus juga dapat berupa atrofi dan fibrosis sehingga menyebabkan atrofi sekunder pada tubulus renalis (Underwood 1999).

G. Histologi Ginjal

Histologi merupakan cabang ilmu biologi anatomi. Kata histologi berasal dari bahasa Yunani yaitu *histos* berarti jaringan dan *logos* berarti ilmu, jadi histologi merupakan ilmu yang mempelajari tentang struktur dari hewan secara terperinci diamati menggunakan mikroskop pada jaringan yang diiris tipis dan mempelajari hubungan antara struktur pengorganisasian sel dan jaringan serta fungsi-fungsi yang mereka lakukan. Jaringan merupakan sekumpulan sel yang tersimpan dalam suatu kerangka struktur atau matriks yang mempunyai suatu kesatuan organisasi yang mampu mempertahankan keutuhan dan penyesuaian terhadap lingkungan diluar batas dirinya (Bavelander *et al.* 1998).

1. Tinjauan umum kerusakan jaringan

Efek kegagalan atau pengurangan proses pertumbuhan yang berupa penyusutan ukuran morfologi organ dan jaringan setelah proses pemaparan disebut hipoplasia. Penambahan ukuran organ atau jaringan yang disebabkan rangsang tertentu, namun bila rangsangan hilang ukuran organ dapat kembali disebut hiperplasia. Hipoplasia adalah kondisi bawaan sedangkan hiperplasia adalah kondisi pertumbuhan sel yang berlebih di kemudian hari. Hiperplasia berbeda dengan hipertrofi, perbedaan keduanya yaitu hiperplasia merupakan peningkatan jumlah sel, sedangkan hipertrofi adalah peningkatan ukuran sel (Underwood 1999).

Nekrosis (dari bahasa Yunani berarti "mati") adalah kematian dini sel dan jaringan hidup. Nekrosis ini disebabkan oleh faktor eksternal, seperti infeksi, racun atau trauma. Hal ini berbeda dengan apoptosis, yang merupakan penyebab alami kematian sel. Apoptosis sering memberikan efek yang menguntungkan untuk organisme, nekrosis hampir selalu merugikan, dan dapat berakibat fatal. Sel-sel yang mati karena nekrosis biasanya tidak mengirimkan sinyal kimia yang sama untuk sistem kekebalan sel-sel yang mengalami apoptosis. Hal ini untuk mencegah fagositosis terdekat dari lokasi dan menyelimuti sel-sel mati, yang mengarah ke terbentuknya sel jaringan yang mati dan puing-puing pada atau di dekat lokasi kematian sel (Underwood 1999).

2. Gambaran sel setelah cedera

Sel dapat mengalami cedera baik reversibel maupun ireversibel melalui berbagai cara dan efeknya pada jaringan yang bergantung pada: lamanya cedera, sifat alami penyebab cedera, proporsi dan jumlah sel yang terpapar, kemampuan jaringan untuk beregenerasi, dan apabila cedera bersifat fatal terhadap sel maka akan terjadi nekrosis yang disebut nekrosis koagulativa. Kemungkinan lain kerusakan intraseluler akan memicu apoptosis. Dua gambaran perubahan seluler subletal yang umumnya terlihat yaitu perubahan hidrofobik dan perubahan lemak (Underwood 1999).

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

terjadi penimbunan cairan. Derajat yang ringan dari pembengkakan intraseluler disebut bengkak keruh. Perubahan hidrofobik umumnya merupakan akibat adanya gangguan metabolisme seperti usia atau keracunan bahan kimia. Perubahan ini bersifat reversibel, walaupun dapat berubah menjadi ireversibel apabila penyebab cederanya menetap (Underwood 1999).

2.2 Perubahan melemak. Vakuolisasi sel sering disebabkan oleh penimbunan tetesan lipid sebagai akibat gangguan fungsi ribosom dan *uncoupling* lipid dari metabolisme protein (Underwood 1999).

H. Landasan Teori

Uji toksisitas adalah uji yang dilakukan untuk menilai efek ketoksikan pada suatu zat. Uji toksisitas secara *in vivo* berdasarkan lamanya pengujian dibagi menjadi tiga, yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis, dan uji toksisitas kronis. Uji toksisitas subkronis bertujuan untuk mengetahui efek toksik serta hubungan dosis dan toksikan pada organ vital makhluk hidup pada pemberian berulang dalam jangka waktu 28 atau 90 hari (BPOM 2014).

Uji toksisitas subkronik adalah pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis apakah dalam bentuk sekali pakai atau berulang dalam waktu kurang dari satu minggu (BPOM 2014).

Rimpang lempuyang wangi atau *Zingiber aromaticum* Val. merupakan salah satu tanaman herba yang mengandung komponen-komponen kimia antara lain minyak atsiri, saponin, flavonoid dan tanin. Rimpang *Zingiber aromaticum* Val. berkhasiat untuk mengurangi rasa nyeri dan kandungan kimia rimpang *Zingiber aromaticum* Val. seperti saponin dan flavonoid dapat menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Sudarsono *et al.* 2002).

Pemberian ekstrak etanol lempuyang wangi pada mencit pada dosis 8,5 mg/20gBB: 17 mg/20gBB: 25,5 mg/20gBB dan 34 mg/20gBB menghasilkan daya analgetik berturut-turut sebesar 45,53%; 28,84%; 43,74% dan 36,35% . Sedangkan efektivitas analgetik sebesar 53,57%; 33,93%; 51,46% dan 42,47%. Hasil penelitian pada dosis 8,5 mg/20 gBB mencit menunjukkan efektivitas analgetik paling tinggi. Uji kandungan kimia menunjukkan ekstrak etanol *Zingiber aromaticum* Val. mengandung flavonoid, tannin, dan saponin (Widiasari 2015).

Pada penelitian toksisitas akut ekstrak etanol wangi diperoleh nilai LD₅₀ sebesar 866,96 mg/kgBB, sehingga tingkat ketoksikannya menurut Doull's dan Casaret dapat dikategorikan toksik sedang. Pengujian histopatologi menunjukkan adanya kerusakan paling parah pada dosis 1000 mg/kgBB berupa nekrosis pada organ hati dan ginjal (Rasyid *et al.* 2012).

Prinsip dari metode toksisitas subkronik yaitu dilakukan pada tikus yang sehat diberikan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi secara oral dengan 5 kelompok hewan uji yang terdiri dari masing-masing 5 tikus betina dan 5 tikus jantan, terdapat kelompok satelit yang diberi perlakuan dosis tinggi selama 28 hari dan dilanjutkan 14 hari tanpa perlakuan untuk mengetahui efek tertunda yang terjadi. Dosis sediaan uji paling tinggi harus menimbulkan efek toksik tapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat; dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik. Bila pada dosis 1000 mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikan lagi meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai

Ekskresi ginjal memegang tanggung jawab utama untuk eliminasi sebagian besar obat. Ginjal merupakan salah satu organ yang menjadi sasaran utama dari efek ketoksikan karena organ ini berperan dalam mengeluarkan buangan metabolisme dan mengekskresikan xenobiotik dan metabolitnya (Lu 1995). Tes fungsi ginjal untuk mengetahui adanya gangguan dalam organ ginjal seperti BUN dan kreatinin. Efek samping dari ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi saat ini belum diketahui secara spesifik sehingga perlu dilakukan penelitian

mengenai efek samping terhadap organ seperti ginjal. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi terhadap perubahan kadar BUN dan kreatinin serta gambaran histopatologi ginjal tikus putih.

Rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol teknis 96% v/v yang bersifat cenderung polar diharapkan dapat menyari zat-zat yang bersifat non polar yang diduga dapat memberikan efek analgetik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah sebagai bahan tanaman obat yang berfungsi sebagai pengobatan analgetik yang aman.

I. Hipotesis

Pertama, pemberian ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi tidak menimbulkan efek toksik ditinjau dari perubahan biokimia ginjal (*Blood Urea Nitrogen* dan kreatinin) pada uji toksisitas subkronis singkat (28 hari) menggunakan tikus putih.

Kedua, pemberian ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi tidak menimbulkan efek toksik ditinjau dari perubahan terhadap histopatologi ginjal pada uji toksisitas subkronis singkat (28 hari) menggunakan tikus putih.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi dengan variasi dosis berbeda tidak menimbulkan kerusakan ginjal tikus putih.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau yang diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dari daerah Sleman, Yogyakarta.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lempuyang wangi yang diambil dari tanaman *Zingiber aromaticum* Val. diambil rimpang yang masih segar, sudah tua, berbau khas yang diperoleh pada bulan Februari 2018 dari daerah Sleman, Yogyakarta yang diperoleh dalam keadaan bersih dan kering.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi dalam berbagai variasi dosis. Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah hasil uji toksisitas subkronik ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi meliputi pengamatan berat badan, pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin, serta pemeriksaan secara histopatologi pada ginjal tikus putih jantan dan betina. Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah hewan uji tikus putih.

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 pada penelitian ini adalah variabel yang diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi dalam berbagai variasi dosis yang diberikan pada tikus putih jantan dan betina.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria dalam penelitian. Variabel tergantung yang digunakan pada

penelitian ini adalah efek toksisitas subkronik ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi meliputi pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin, serta dilakukan pemeriksaan secara histopatologi ginjal terhadap tikus putih jantan dan betina.

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya. Variabel terkontrol yang digunakan pada penelitian ini adalah berat badan, usia, lingkungan hidup, dan perlakuan oleh peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, rimpang lempuyang wangi adalah rimpang dari tanaman lempuyang wangi yang diperoleh dari daerah Sleman, Yogyakarta.

Kedua, ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi adalah hasil ekstraksi dari rimpang lempuyang wangi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% yang selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator*.

Ketiga, pemberian subkronik singkat adalah pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi satu kali sehari selama 28 hari berturut-turut pada waktu yang sama secara peroral.

Keempat, variasi dosis ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi yang diujikan pada hewan uji tikus putih jantan dan betina sebesar 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB.

Kelima, uji efek toksisitas subkronis yang diamati merupakan pengamatan yang dilakukan terhadap pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin dari serum darah, serta dilakukan pemeriksaan histopatologi ginjal tikus putih jantan dan betina setelah pemberian ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi selama 28 hari ditambah 14 hari pada kelompok satelit.

Keenam, tikus putih adalah tikus putih jantan dan betina galur wistar berumur 2-3 bulan dengan kisaran berat badan antara 150-300 gram dalam keadaan baik yang diperoleh dari pasar burung Depok.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) yang segar dan berbau khas. Pelarut terdiri dari etanol 96%, aquadest, larutan CMC-Na 0,5%, asam asetat, asam sulfat, pewarna hematoxylin, dan pewarna eosin digunakan untuk pewarnaan preparat organ yang akan diamati, larutan formalin sebagai larutan pengawet organ setelah proses pembedahan, larutan paraffin serta hewan uji tikus putih jantan dan betina galur wistar rentang umur 2-3 bulan dengan kisaran berat 150-300 gram.

2. Alat

Peralatan yang digunakan terdiri dari kandang tikus lengkap dengan tempat makan dan minum, blender, ayakan no.40, botol maserasi, oven, timbangan analitik, gelas ukur, beaker gelas, mesin penggiling, erlenmeyer, *vaccum rotary evaporator*, corong kaca, kertas saring, gelas ukur, mikrohematokrit, mikrotube, *microtom*, objek glass, dan deg glass, sonde oral, spuit, mikropipet, tabung sentrifuge, tabung reaksi, mikropipet, fotometer *Star Dust FC.DiaSys*, vortex, mikroskop, alat pewarna jaringan, alat pelindung diri meliputi masker dan sarung tangan, seperangkat alat bedah meliputi scalpel, pinset, gunting, jarum, dan meja lilin.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman lempuyang wangi

Tahap pertama dari penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman lempuyang wangi. Tujuan determinasi tanaman adalah untuk menetapkan kebenaran sampel ciri-ciri morfologi pada penelitian ini terhadap kepustakaan. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret.

2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk rimpang lempuyang wangi

Tanaman lempuyang wangi yang masih segar kemudian dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan sisa kotoran yang menempel pada tumbuhan. Rimpang lempuyang wangi selanjutnya dikeringkan

dengan oven sinar matahari yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air agar lempuyang wangi tidak mudah ditumbuhi jamur dan/atau bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang dapat mengurangi zat aktif, serta agar memudahkan pada proses penggilingan maupun penyimpanan (Gunawan & Mulyani, 2004).

Simplisia dikeringkan lebih lanjut ke dalam oven dengan suhu 40°C, dan kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40. Tujuan simplisia dibuat bentuk serbuk adalah untuk memperbesar luas permukaan kontak serbuk dengan pelarut pada saat ekstraksi, sehingga senyawa aktif akan terekstrak lebih banyak dan prosesnya lebih cepat.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk rimpang lempuyang wangi

Susut pengeringan serbuk rimpang lempuyang wangi diukur dengan menggunakan alat *moisture balance*. Penggunaan alat ini dengan cara: alat dipanaskan dahulu selama kurang lebih 10 menit kemudian meletakkan 2 gram serbuk rimpang lempuyang wangi yang akan diuji ke atas wadah aluminium secara merata. Kemudian alat dinyalakan dan diatur suhu 105 °C kemudian ditunggu sampai alat selesai membaca susut pengeringan dan dicatat nilai yang terbaca pada alat. Penetapan susut pengeringan serbuk rimpang lempuyang wangi dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

4. Penetapan kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi

Penetapan kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Serbuk rimpang lempuyang wangi kemudian ditimbang sebanyak 30 gram, dimasukkan ke dalam labu destilasi. Pelarut xylen sebanyak 50 ml ditambahkan ke dalam labu hingga serbuk terendam dalam pelarut tersebut. Alat *Sterling-Bidwell* dipasangkan pada labu dan selanjutnya labu dipanaskan. Pemanasan dihentikan bila air pada penampung tidak menetes lagi, kemudian kadar air diukur dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Penetapan kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Kadar air yang memenuhi persyaratan adalah kurang dari 10% (Sudarmadji *et al.* 1997).

5. Pembuatan ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi

Ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi dibuat dengan menggunakan metode maserasi. Serbuk rimpang lempuyang wangi ditimbang sebanyak 1.500

gram kemudian dimasukkan ke dalam botol maserasi. Pembuatan ekstrak dengan perbandingan berat serbuk : volume pelarut = 1:7,5 w/v. Pelarut etanol 96% yang digunakan untuk maserasi sebanyak 11.250 ml ke dalam botol yang berisi serbuk. Maserasi dilakukan selama 5 hari setelah itu disaring menggunakan kain flannel dan kertas saring pada corong Buchner. Serbuk residu direndam dengan etanol 96% selama 2 hari dan disaring kembali. Kemudian hasilnya dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator* pada suhu maksimal 50°C sampai etanol menguap dan terpisah dengan ekstrak tersebut sehingga diperoleh ekstrak pekat. Selanjutnya di oven selama 3 hari. Kemudian ditimbang dan dihitung rendemen.

6. Test bebas etanol ekstrak rimpang lempuyang wangi

Ekstrak yang telah pekat harus diuji apakah sudah bebas dari etanol atau belum dengan uji esterifikasi dengan menambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Ekstrak bebas dari pelarut etanol ditunjukkan dengan tidak terbentuknya bau ester yang khas dari etanol pada uji esterifikasi.

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.)

7.1 Identifikasi alkaloid. Uji alkaloid dilakukan dengan metode Mayer dan Wagner. Sampel sebanyak 3 ml diletakkan dalam cawan porselen kemudian ditambahkan 5 ml HCl 2 M dan 5 ml aquades kemudian dipanaskan di penangas air selama 2 menit. Sampel didinginkan pada suhu kamar dan disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 3 bagian A, B dan C. Filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambah pereaksi Mayer, reaksi positif jika terbentuk endapan berwarna putih atau kuning. Filtrat C ditambah pereaksi Wagner, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat (Agustina *et al.* 2016).

7.2 Identifikasi flavonoid. Sebanyak 3 ml sampel diuapkan kemudian dicuci dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 ml etanol kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 3 bagian A, B dan C. Filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambahkan larutan H₂SO₄ pekat kemudian dipanaskan pada penangas air, jika terjadi perubahan warna hijau kekuning-kuningan menunjukkan adanya flavonoid. Filtrat C ditambahkan larutan NaOH 10%. Terjadi warna biru-ungu menunjukkan adanya flavonoid (Agustina *et al.* 2016).

7.3 Identifikasi saponin. Sebanyak 3 ml sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif terdapat saponin jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil, tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida (Agustina *et al.* 2016).

7.4 Identifikasi tanin. Sebanyak 3 ml sampel ditambah dengan 2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Hasil positif terdapat kandungan tanin jika terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman. (Agustina *et al.* 2016).

8. Pembuatan sediaan uji

8.1 Suspensi CMC 0,5%. Suspensi CMC konsentrasi 0,5% sebanyak 0,5 gram CMC ditaburkan ke dalam mortir yang berisi 30 ml aquadest panas dan didiamkan selama 15 menit hingga memperoleh massa yang transparan lalu digerus sampai homogen. Selanjutnya diencerkan dengan menggunakan aquadest dan dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 ml.

8.2 Larutan ekstrak 2,5 g/100ml. Larutan ekstrak dibuat dengan melarutkan 2,5 gram ekstrak rimpang lempuyang wangi disuspensikan ke dalam suspensi CMC 0,5% sebanyak 100 ml untuk variasi dosis 125 mg/kgBB dan 250mg/kgBB.

8.3 Larutan ekstrak 4 g/100ml. Larutan ekstrak dibuat dengan melarutkan 4 gram ekstrak rimpang lempuyang wangi disuspensikan ke dalam suspensi CMC 0,5% sebanyak 100 ml untuk variasi dosis 500 mg/kgBB.

9. Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih dengan kisaran berat 150-300 gram, berumur 2-3 bulan dan sehat. Jumlah hewan uji yang digunakan sebanyak 50 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok secara acak yang tiap kelompok terdiri atas 10 ekor (5 ekor jantan dan 5 ekor betina). Tiap tikus ditimbang dan diberikan tanda pengenal dan diadaptasi dengan lingkungan laboratorium selama satu minggu. Sebelum digunakan, hewan uji dipuasakan selama 8-24 jam dengan diberi air minum. Apabila semua hewan uji sudah dipersiapkan, bisa dilakukan penelitian dengan pemberian bahan uji.

10. Pengamatan

Pengamatan terjadinya gejala toksik yang dilakukan meliputi perubahan tingkah laku normal meliputi keaktifan dan *grooming* serta ada atau tidaknya kematian pada hewan uji. Pengamatan ini dilakukan selama 28 hari, sedangkan untuk kontrol satelit pengamatan dilanjutkan selama 14 hari untuk melihat adanya proses penyembuhan kembali dari efek toksik. Kenaikan berat badan diperiksa seminggu sekali.

11. Penentuan sediaan dosis uji

Pengujian toksisitas subkronik yang dilakukan selama 28 hari sesuai dosis yang telah ditentukan dan dilanjutkan pengamatan kelompok satelit selama 42 hari untuk mengetahui efek toksik tertunda yang bersifat *reversible*. Volume maksimal larutan uji yang dapat diberikan pada tikus adalah 5 ml.

Sediaan obat diberikan secara oral dengan pembagian dosis pada hewan uji dengan variasi sebagai berikut:

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

Kelompok II : kelompok perlakuan dosis rendah 125 mg/kgBB

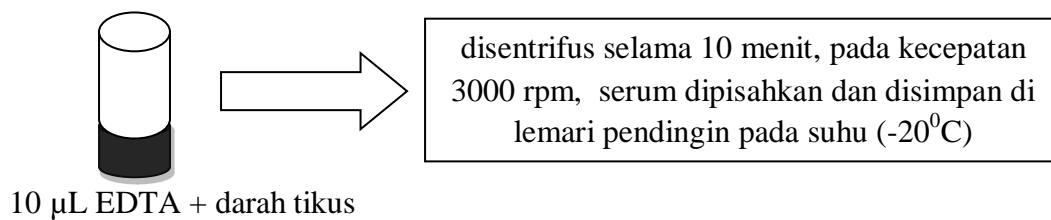
Kelompok III : kelompok perlakuan dosis sedang 250 mg/kgBB

Kelompok IV : kelompok perlakuan dosis tinggi 500 mg/kgBB

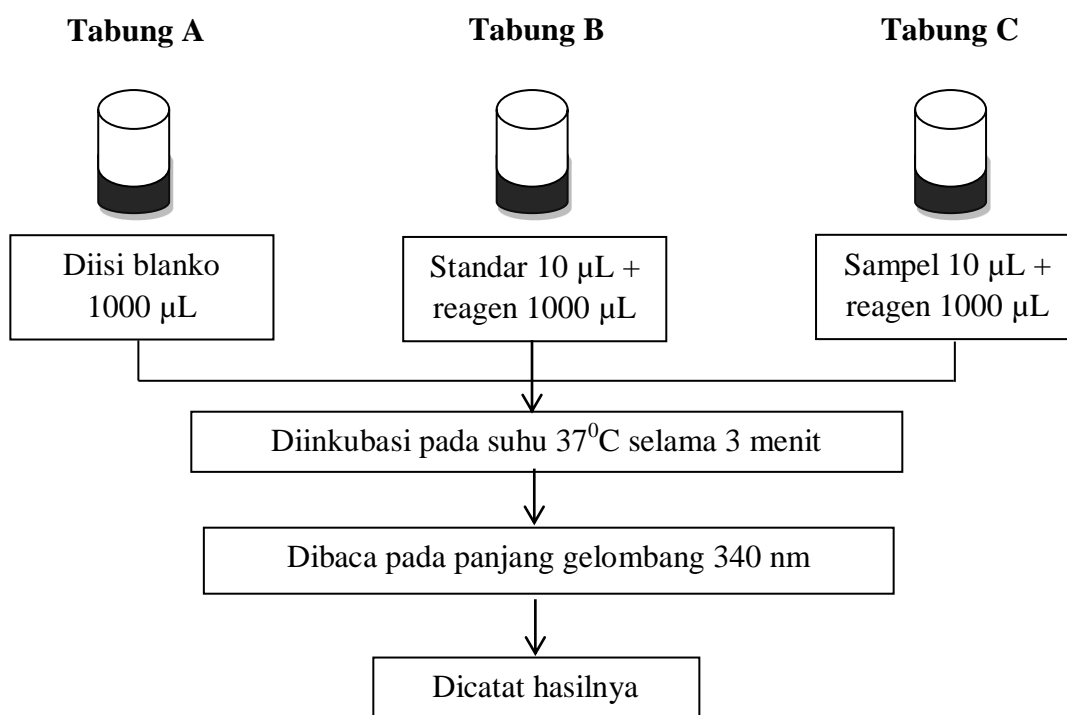
Kelompok V : kelompok satelit dosis tinggi 500 mg/kgBB.

12. Pengambilan sampel darah

Pengambilan darah dilakukan selama penelitian berlangsung untuk mengetahui nilai parameter biokimia klinis hewan uji. Darah diambil di awal penelitian (T_0), pada hari ke 28 (T_{28}) serta untuk kelompok satelit pengambilan darah pada hari ke 42 (T_{42}). Darah diambil melalui mata (*sinus orbitalis*) menggunakan mikrohematokrit sebanyak 2 ml dengan batas pengambilan sampai 5 ml. Darah dimasukkan ke dalam tabung tabung mikrosentrifus yang telah diisi antikoagulan (EDTA) sebanyak 10 μ L segera disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Serum yang terbentuk kemudian dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku pada suhu (-20°C) untuk pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin.

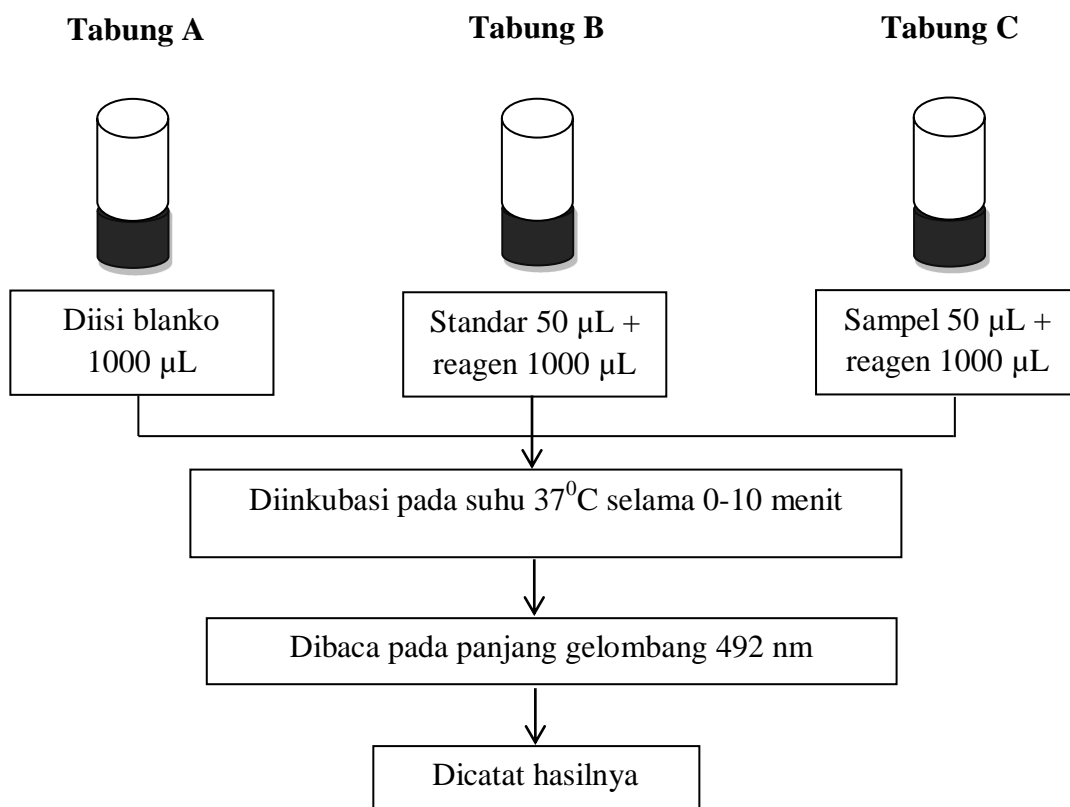
Tabung reaksi**Gambar 3. Pengambilan serum.****13. Pemeriksaan kadar *Blood Ureum Nitrogen* (BUN)**

Pemeriksaan kadar BUN dilakukan pada awal penelitian (T_0), pada hari ke 28 (T_{28}), serta untuk kelompok satelit dilakukan pengambilan darah pada hari ke 42 (T_{42}). Pemeriksaan kadar ureum dilakukan dengan menyiapkan tiga tabung reaksi dimana tabung pertama diisi dengan reagen blanko sebanyak 1000 μ L, tabung kedua diisi 10 μ L larutan standar dan 1000 μ L monoreagen (perbandingan 4:1 reagen 1 dan 2) sebagai standar, tabung ketiga diisi 10 μ L sampel dan 1000 μ L monoreagen, divortex dan diinkubasi pada suhu ruangan 37°C selama 3 menit, kemudian dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 340 nm (BPOM 2014).

**Gambar 4. Pemeriksaan kadar *Blood Ureum Nitrogen* (BUN).**

14. Pemeriksaan kadar kreatinin

Pemeriksaan kadar kreatinin dilakukan pada awal penelitian (T_0), pada hari ke 28 (T_{28}), serta untuk kelompok satelit dilakukan pengambilan darah pada hari ke 42 (T_{42}). Pemeriksaan kreatinin dalam darah dilakukan dengan menyiapkan tiga tabung reaksi dimana tabung pertama diisi dengan aquadest sebanyak 1000 μL , tabung kedua diisi dengan larutan standar 50 μL ditambah monoreagen (perbandingan 4:1 reagen 1 dan 2), tabung ketiga diisi dengan 50 μL sampel ditambah 1000 μL monoreagen, divortex dan diinkubasi pada suhu ruangan 37°C selama 0-10 menit dan dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 492 nm (BPOM 2014).



Gambar 5. Pemeriksaan kadar kreatinin.

15. Penimbangan dan penetapan persen indeks organ

Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dan organnya diambil untuk dihitung berat organ dan persen indeks organ. Hewan uji dikorbankan dengan cara *decapitation* (perusakan otak lewat leher). *Decapitation* dilakukan dengan jalan

memotong kepala hewan dengan menggunakan peralatan tajam dengan tujuan untuk memutus kepekaan saraf tulang belakang.

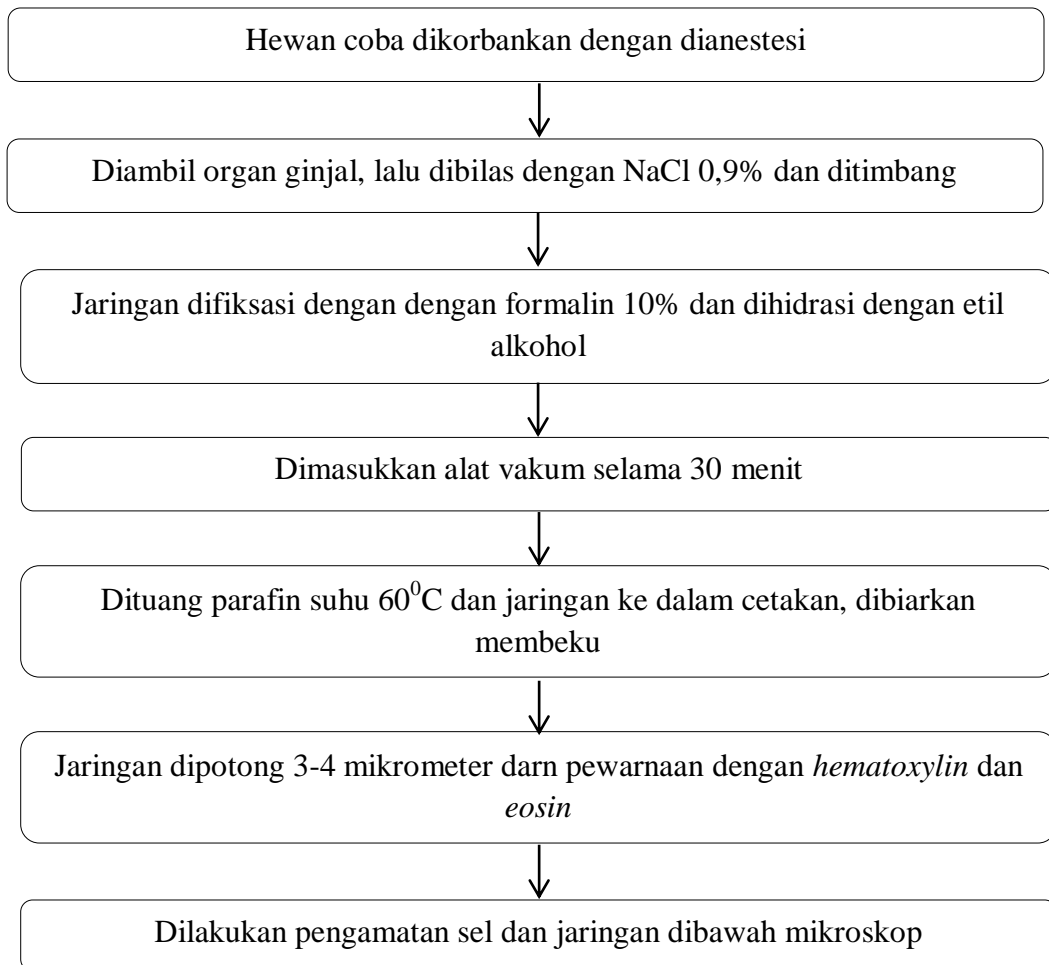
Selanjutnya hewan uji dibedah untuk diambil organnya. Organ yang akan diambil pada penelitian ini adalah ginjal. Organ diambil kemudian dikeringkan pada kertas penyerap dan segera ditimbang untuk mendapatkan berat organ, sedangkan yang dianalisis adalah persen indeks organ, yaitu berat organ dibagi berat badan dikalikan dengan 100% atau dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ indeks organ} = \frac{\text{berat organ}}{\text{berat badan}} \times 100\% \text{ (BPOM 2014).}$$

16. Pemeriksaan histopatologi

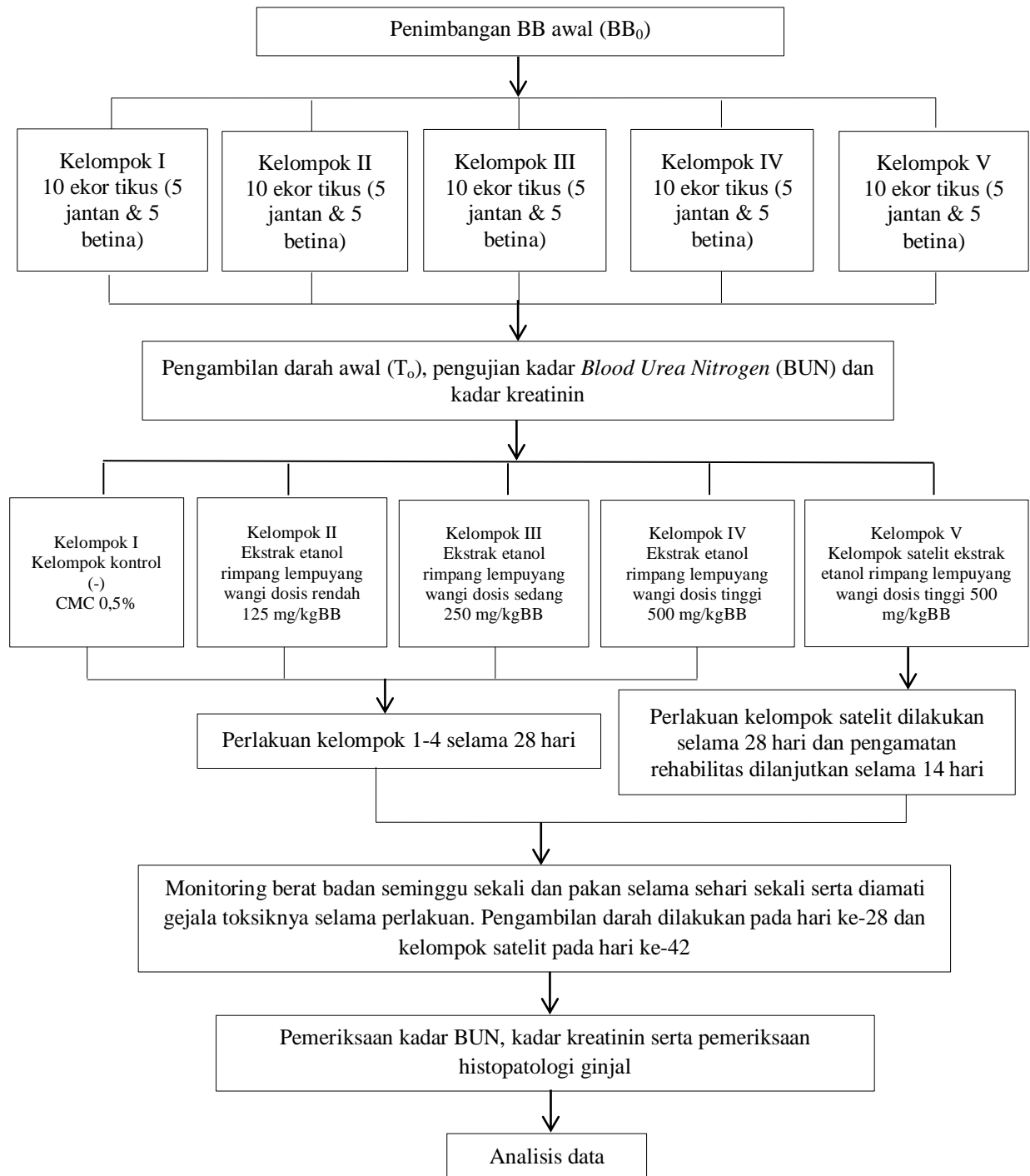
Hari ke 28 dan 42 (kelompok satelit) masing-masing kelompok diambil 3 hewan uji untuk tiap kelompok jantan maupun betina dikorbankan dan dibedah kemudian diambil organ ginjalnya. Jaringan yang diambil difiksasi dengan *bouin* bertujuan agar preparat tidak rusak (posisinya bergeser, membusuk atau rusak). Jaringan yang telah difiksasi dimasukkan ke dalam larutan etanol bertingkat dengan kadar etanol 70-100% agar menghilangkan air dalam jaringan (dehidrasi). Selanjutnya jaringan dipindahkan ke dalam *xylol* untuk menghilangkan etanol (dealkoholisasi). Proses selanjutnya dimasukkan ke dalam paraffin panas yang menginfiltirasi jaringan yang berlangsung selama 12-16 jam. Setelah jaringan mengeras dilanjutkan pemotongan jaringan dengan mikrotom dan ketebalan jaringan 3-5 mikrometer.

Tahap selanjutnya merupakan pengecatan, lapisan tersebut diletakkan di atas kaca objek untuk dilakukan pengecatan. Pewarnaan yang digunakan adalah *hematoxylin* dan *eosin*, selanjutnya dikeringkan. *Hematoxylin* akan memberikan warna biru pada nukelus dan *eosin* akan memberikan warna merah muda pada sitoplasma. Kemudian diberi satu tetes cairan perekat, ditutup dan diamati dibawah mikroskop (Muntaha 2001).



Gambar 6. Histopatologi.

E. Skema Penelitian



Gambar 7. Skema uji toksisitas subkronis singkat 28 hari.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa data pengamatan terhadap perubahan berat badan, konsumsi pakan, gejala toksik, kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin. Pada akhir penelitian didapatkan data dari pemeriksaan histopatologi ginjal meliputi berat organ dan persen indeks organ. Semua data tersebut diuji statistika dengan metode uji *Kolmogrov-Smirnov*, sedangkan kehomogenan varian diuji dengan uji *Levene*. Apabila $P > 0.05$, maka data terdistribusi normal dan homogen untuk setiap varian dan dilanjutkan dengan uji parametrik *Two Way Anova*. Apabila data tidak terdistribusi normal maka diuji dengan non-parametrik. Jika terdapat perbedaan yang bermakna, dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) atau uji *Tukey* dengan taraf kepercayaan 95%. Apabila data terdistribusi tidak normal, maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan jika perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji *Mann-Withney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS statistik 17.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Lempuyang Wangi

1. Hasil determinasi tanaman lempuyang wangi

Tanaman sebelum digunakan sebagai sampel terlebih dahulu dilakukan determinasi. Determinasi tanaman lempuyang wangi telah dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta. Hasil determinasi tanaman berdasar surat nomor 43/UN27.9.6.4/Lab/2018 menunjukkan bahwa sampel tersebut adalah benar lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.). Hasil determinasi tanaman lempuyang wangi dapat dilihat pada lampiran 2.

2. Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk

Rimpang yang digunakan berasal dari tanaman lempuyang wangi yang segar dan berbau khas yang di peroleh dari Merapi Farma Herbal daerah Sleman, Yogyakarta pada bulan Februari 2018. Rimpang yang digunakan adalah rimpang yang sudah tua, tidak terlalu muda dan masih segar serta bebas dari hama. Rimpang lempuyang wangi dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran dan cemaran kemudian diangin-anginkan. Hasil penimbangan rimpang lempuyang wangi basah diperoleh sebesar 10.000 gram. Rimpang lempuyang wangi dikeringkan pada oven. Pengerian harus dijaga pada suhu konstan 50°C dalam oven, bila suhunya terlalu tinggi maka dapat terjadi kerusakan senyawa aktif dan bila suhu terlalu rendah maka pengerian menjadi tidak sempurna dan dapat terjadi pembusukan.

Pengerian ini bertujuan untuk mengurangi kadar air, untuk mencegah kerusakan zat aktif yang terkandung dalam tanaman, mencegah tumbuhnya kuman, kapang dan khamir yang dapat menyebabkan pembusukan rimpang serta dapat mencegah bekerjanya enzim dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Bahan yang sudah dikeringkan dapat mempermudah dalam tahap selanjutnya yaitu proses penyerbukan.

Rimpang lempuyang wangi yang telah kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan ayakan nomor 40. Tujuan dari pengayakan ini agar partikel yang dihasilkan menjadi seragam sehingga pengestraksian dapat

berlangsung efektif dan lebih maksimal. Hasil penimbangan rimpang lempuyang wangi kering sebesar 2.000 gram. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang lempuyang wangi dapat dilihat dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang lempuyang wangi

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
10.000	2.000	20

Rimpang lempuyang wangi sebanyak 10.000 gram kondisi basah dikeringkan pada suhu 50°C kemudian diperoleh 2.000 gram rimpang lempuyang wangi kering (rendemen 20%). Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 10.

3. Hasil penetapan susut pengeringan rimpang lempuyang wangi

Serbuk rimpang lempuyang wangi masing-masing ditimbang sebanyak 2 g, kemudian kandungan lembab diukur dengan menggunakan alat *Moisture balance*. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk rimpang lempuyang wangi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan rimpang lempuyang wangi

Replikasi	Penimbangan (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2	5,5
2	2	7,0
3	2	6,5
Rata-rata± SD		6,33 ± 0,76

Penetapan susut pengeringan rimpang lempuyang wangi yang ditimbang sebanyak 2 gram kemudian diukur susut pengeringan menggunakan alat *Moisture balance*, persentase rata-rata susut pengeringan serbuk rimpang lempuyang wangi adalah 6,33%. Hal ini menunjukkan bahwa susut pengeringan serbuk rimpang lempuyang wangi memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10%. Kelembaban yang terlalu tinggi pada serbuk akan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri serta perubahan kimiawi yang dapat merusak serbuk. Hasil replikasi susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 11.

4. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi

Kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi diukur menggunakan *Sterling-Bidwell* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi

Replikasi	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Persen (%)
1	30	1,80	6,00
2	30	1,70	5,67
3	30	1,75	5,83
Rata-rata ± SD			5,83 ± 0,16

Kadar air serbuk rimpang lempuyang wangi yang diperoleh menggunakan alat *Sterling bidwell*. Rata-rata kadar air yang diperoleh dari serbuk rimpang lempuyang wangi adalah 5,83%. Kadar air dalam rimpang lempuyang wangi memenuhi persyaratan yaitu tidak melebihi 10%. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan perubahan kerja enzim dan perubahan kimia zat aktif sehingga menurunkan mutu serbuk dan akan mudah ditumbuhi oleh jamur (Gunawan & Mulyani 2004). Hasil replikasi kadar air dilihat pada lampiran 12.

5. Pembuatan ekstrak

Ekstrak rimpang lempuyang wangi dibuat dari serbuk kering simplisia lempuyang wangi dengan cara maserasi dengan cara memasukkan 1.500 gram bahan ke dalam pelarut etanol 96% sebanyak 11.250 ml (perbandingan 1:7,5 w/v). Data hasil perhitungan ekstrak rimpang lempuyang wangi dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil perhitungan rendemen ekstrak rimpang lempuyang wangi

Serbuk (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1.500	40,44	133,96	93,52	6,23

Hasil perhitungan rendemen ekstrak rimpang lempuyang wangi sebesar 6,23% dan perhitungan dapat dilihat pada lampiran 10.

6. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang lempuyang wangi

Uji bebas etanol pada ekstrak rimpang lempuyang wangi bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi uji toksisitas pada hewan uji. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang lempuyang wangi

Test esterifikasi	Hasil	Pustaka
Larutan uji + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat dipanaskan	Negatif (tidak berbau ester)	Negatif (tidak berbau ester)

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak rimpang lempuyang wangi sudah bebas dari etanol, hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas sehingga ekstrak dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.)

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi dilakukan secara kualitatif, ini bertujuan untuk membuktikan kandungan kimia yang ada dalam ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi. berdasarkan pengamatan dan pustaka dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak rimpang lempuyang wangi secara kualitatif

Senyawa	Hasil	Keterangan	Pustaka
Alkaloid	Endapan berwarna coklat	+	Endapan coklat
Flavonoid	Kuning	+	Merah kekuningan
Saponin	Busa stabil	+	Busa stabil
Tanin	Warna biru kehitaman	+	Biru kehitaman

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi menunjukkan bahwa rimpang lempuyang wangi positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Pada penelitian ini tidak dilakukan identifikasi minyak atsiri pada lempuyang wangi, sehingga perlu pengembangan penelitian lebih lanjut terkait dengan identifikasi senyawa tersebut. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi dapat dilihat pada lampiran 8.

7. Penentuan dosis uji

Pembuatan sediaan uji dilakukan dengan mencampurkan sediaan uji dengan suspensi CMC-Na 0,5%. Suspensi ini ditambahkan dengan tujuan untuk meningkatkan kelarutan dari masing-masing ekstrak dalam air. Volume maksimal larutan yang dapat diberikan pada hewan uji tikus dengan berat badan 150-300 gram secara oral adalah sebesar 5 ml.

Berdasarkan literatur BPOM (2014) menerangkan bahwa dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji tikus tidak lebih dari 1000 mg/kgBB hewan uji. Dosis yang digunakan berdasarkan dosis efektif ekstrak rimpang lempuyang wangi sebagai analgetik yaitu 125 mg/kgBB. Dosis yang diberikan

pada hewan uji adalah dosis rendah 125 mg/kgBB, dosis sedang 250 mg/kgBB, dan dosis tinggi 500 mg/kgBB, sedangkan untuk kelompok kontrol negatif diberikan suspensi CMC-Na 0,5%. Pemberian sediaan uji kepada hewan uji berdasarkan berat badan hewan uji diawal pengujian. Perhitungan dosis uji pada tikus dapat dilihat pada lampiran 13.

B. Hasil Uji Toksisitas Subkronis Singkat

1. Pengamatan

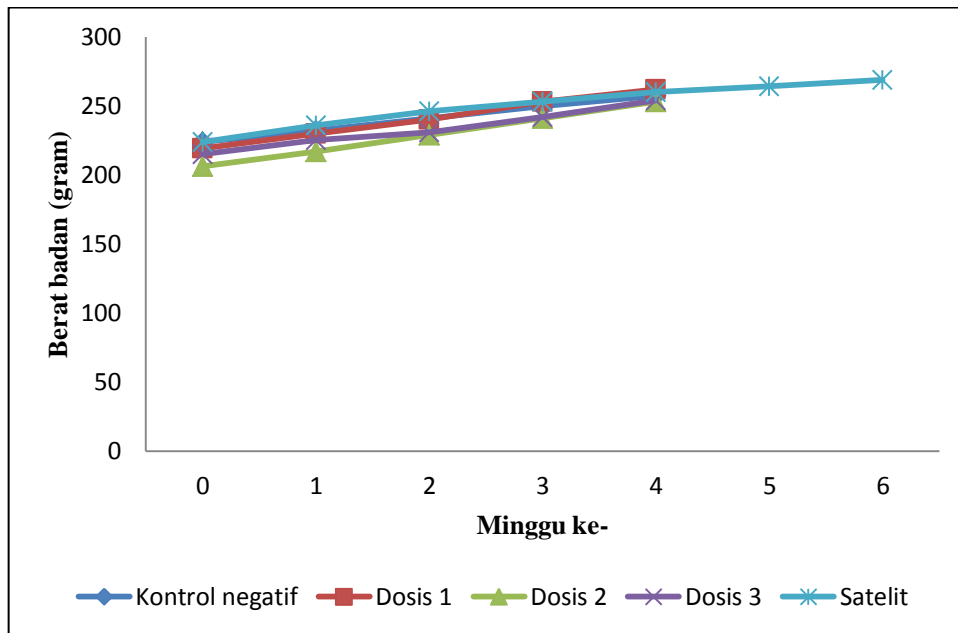
1.1 Pengamatan berat badan. Pengamatan berat badan hewan uji dilakukan setiap minggu ke-0 sampai dengan minggu ke-6 dengan cara penimbangan. Penimbangan berat badan ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan berat badan hewan uji pada waktu sebelum dan selama diberikan ekstrak rimpang lempuyang wangi. Konsumsi pakan hewan uji diberikan sehari sekali, setiap kandang diberi pakan sebanyak kurang lebih 100 gram, karena di dalam kandang terdapat lebih dari satu hewan uji sejenis maka tidak dapat ditentukan jumlah konsumsi pakan setiap hewan uji. Data hasil rata-rata (*Mean*) berat badan tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil rata-rata berat badan tikus jantan dan betina

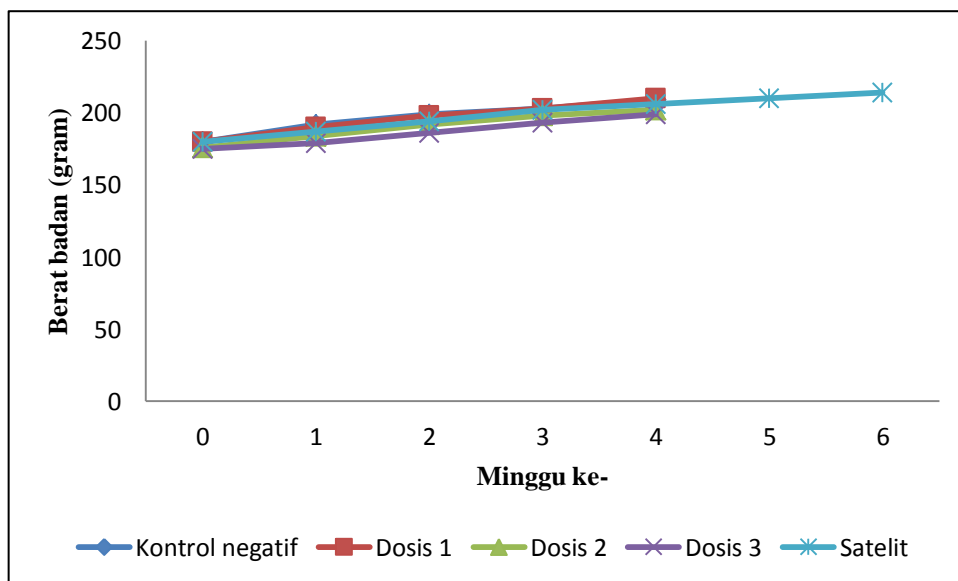
		Minggu ke- (gram \pm SD)						
Jantan	0	1	2	3	4	5	6	
Kontrol negatif	224 \pm 6,5	232 \pm 7,5	241 \pm 9,6	250 \pm 12,2	257 \pm 12,0			
Dosis 1	219 \pm 8,9	230 \pm 9,3	240 \pm 9,3	253 \pm 5,7	262 \pm 5,7			
Dosis 2	206 \pm 8,2	217 \pm 6,7	229 \pm 8,2	241 \pm 8,9	253 \pm 7,5			
Dosis 3	215 \pm 15	225 \pm 11,7	231 \pm 14,7	242 \pm 16,0	254 \pm 17,8			
Satelit	224 \pm 9,6	236 \pm 13,4	246 \pm 12,4	253 \pm 13,5	260 \pm 11,7	264 \pm 11,4	269 \pm 10,8	
Betina	0	1	2	3	4	5	6	
Kontrol negatif	180 \pm 9,3	192 \pm 8,3	199 \pm 7,4	203 \pm 7,5	209 \pm 8,2			
Dosis 1	180 \pm 7,9	190 \pm 7,9	198 \pm 13,0	203 \pm 13,0	210 \pm 15,8			
Dosis 2	176 \pm 14,3	184 \pm 15,5	192 \pm 14,8	198 \pm 16,0	202 \pm 13,0			
Dosis 3	175 \pm 8,2	179 \pm 9,6	186 \pm 8,9	193 \pm 10,3	199 \pm 9,6			
Satelit	180 \pm 10,0	187 \pm 7,5	194 \pm 8,9	202 \pm 11,5	206 \pm 13,8	210 \pm 13,2	214 \pm 10,8	

Keterangan :

Kontrol negatif : Kontrol negatif CMC-Na 0,5%
 Dosis 1 : Dosis 125 mg/kgBB tikus
 Dosis 2 : Dosis 250 mg/kgBB tikus
 Dosis 3 : Dosis 500 mg/kgBB tikus
 Satelit : Satelit dosis 500 mg/kgBB tikus



Gambar 8. Grafik rata-rata berat badan tikus jantan.



Gambar 9. Grafik rata-rata berat badan tikus betina.

Berdasarkan grafik diatas terlihat adanya kenaikan berat badan hewan uji setiap minggunya. Hewan uji mengalami kenaikan berat badan kemungkinan disebabkan karena faktor asupan pakan yang diterima oleh hewan uji dan juga pemeliharaan diperhatikan sehingga hewan uji tidak kekurangan asupan pakan atau minum. Data berat badan kelompok kontrol negatif mempunyai perbedaan

dengan kelompok dosis 500 mg/kgBB. Data berat badan hewan uji yang diperoleh selama penelitian kemudian dianalisis dengan menggunakan uji statistik.

Data hasil penelitian berat badan tikus jantan dan betina dianalisis menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk melihat normalitasnya, hasil data diperoleh nilai signifikansi semua kelompok $\geq 0,05$ (H_0 diterima) yang berarti data terdistribusi normal, dilanjutkan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitasnya, didapatkan nilai probabilitas $\geq 0,05$ (H_0 diterima) yang berarti data homogen. Hasil analisis dilanjutkan uji *Tukey* varian satu arah *One way ANOVA* pada berat badan tikus jantan dan betina terhadap kelompok perlakuan. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah terhadap pengaruh pemberian ekstrak rimpang lempuyang wangi pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada uji ini didapatkan nilai signifikansi tikus jantan pada kelompok dosis 250 mg/kgBB dan satelit terdapat perbedaan yang signifikan dilihat dari perbandingan dengan kelompok kontrol negatif. Sedangkan pada tikus betina pada kelompok dosis 500 mg/kgBB terdapat perbedaan yang signifikan dilihat dari perbandingan dengan kelompok kontrol negatif.

Dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak rimpang lempuyang wangi terhadap perubahan berat badan tikus baik jantan maupun betina ditunjukkan dengan tidak adanya perbedaan antara semua kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif dan peningkatan berat badan yang dialami oleh hewan uji lebih dipengaruhi oleh asupan pakan tikus dan proses bertambahnya umur tikus. Data berat badan tikus dapat dilihat pada lampiran 15.

1.2. Pengamatan gejala toksik. Pengamatan gejala toksik dilakukan selama 28 hari dan ditambah 14 hari untuk kelompok satelit. Pengamatan gejala toksik pada penelitian ini meliputi perubahan perilaku normal seperti keaktifan dan *grooming* serta dilakukan pengamatan kematian hewan uji.

1.2.1. Perubahan perilaku. Pengamatan gejala toksik yang diamati pada perubahan perilaku normal berupa keaktifan dan *grooming* menunjukkan adanya aktivitas pada hewan uji tikus yang diamati selama perlakuan. Aktivitas yaitu

sikap hewan uji yang melakukan kebiasaan atau aktivitas normal. Data persentase perilaku keaktifan dan *grooming* tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 8 dan 9.

Tabel 8. Hasil persentase keaktifan pada tikus

Kelompok perlakuan	Persentase (%) keaktifan hewan uji						
	Minggu ke-						
	0	1	2	3	4	5	6
JANTAN							
Kontrol negatif	100	100	100	100	100		
Dosis 1	100	100	100	100	100		
Dosis 2	100	100	100	100	100		
Dosis 3	100	100	100	100	100		
Satelit	100	100	100	100	100	100	100
BETINA							
Kontrol negatif	100	100	100	100	100		
Dosis 1	100	100	100	100	100		
Dosis 2	100	100	100	100	100		
Dosis 3	100	100	100	100	100		
Satelit	100	100	100	100	100	100	100

Keterangan :

0 : Persentase keaktifan rendah

50 : Persentase keaktifan sedang

100 : Persentase keaktifan tinggi

Tabel 9. Hasil persentase *grooming* pada tikus

Kelompok perlakuan	Persentase (%) <i>grooming</i>						
	Minggu ke-						
	0	1	2	3	4	5	6
JANTAN							
Kontrol negatif	100	100	100	100	100		
Dosis 1	100	100	100	100	100		
Dosis 2	100	100	100	100	100		
Dosis 3	100	100	100	100	100		
Satelit	100	100	100	100	100	100	100
BETINA							
Kontrol negatif	100	100	100	100	100		
Dosis 1	100	100	100	100	100		
Dosis 2	100	100	100	100	100		
Dosis 3	100	100	100	100	100		
Satelit	100	100	100	100	100	100	100

Keterangan :

0 : Persentase *grooming* rendah

50 : Persentase *grooming* sedang

100 : Persentase *grooming* tinggi

Berdasarkan tabel diatas pengamatan selama pemberian sediaan uji dan pengamatan satelit, semua hewan uji baik kelompok kontrol maupun kelompok

dosis perilaku normal terlihat persentase keaktifan dan *grooming* sebesar 100%. Hal ini dapat diartikan bahwa tidak terjadi perbedaan aktivitas tikus dilihat dari pengamatan perilaku. Sehingga pemberian sediaan uji ekstrak rimpang lempuyang wangi dinyatakan tidak mempengaruhi penurunan perilaku normal.

1.2.2. Tingkat kematian. Pengamatan selanjutnya adalah ada tidaknya kematian pada hewan uji selama perlakuan menunjukkan tidak adanya kematian pada hewan uji baik pada kelompok kontrol negatif maupun pada kelompok perlakuan pada tikus jantan dan betina. Data persentase kematian tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil persentase kematian pada tikus

Kelompok perlakuan	Persentase (%) kematian hewan uji						
	Minggu ke-						
	0	1	2	3	4	5	6
JANTAN							
Kontrol negatif	0	0	0	0	0		
Dosis 1	0	0	0	0	0		
Dosis 2	0	0	0	0	0		
Dosis 3	0	0	0	0	0		
Satelit	0	0	0	0	0	0	0
BETINA							
Kontrol negatif	0	0	0	0	0		
Dosis 1	0	0	0	0	0		
Dosis 2	0	0	0	0	0		
Dosis 3	0	0	0	0	0		
Satelit	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan :

0 : Persentase kematian 0 %

50 : Persentase kematian 50 %

100 : Persentase kematian 100 %

Dari tabel diatas menunjukkan kematian hewan uji tidak ada. Total persentase kematian hewan uji jantan dan betina adalah 0%, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang lempuyang wangi tidak menyebabkan ketoksikan dilihat dari hasil pengamatan tidak ada kematian hewan uji.

2. Uji kadar *Blood Ureum Nitrogen* (BUN)

Kadar BUN memberikan gambaran adanya keseimbangan antara pembentukan urea dan katabolisme protein serta ekskresi urea oleh ginjal. Data hasil rata-rata kadar BUN tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil rata-rata kadar BUN tikus jantan dan tikus betina

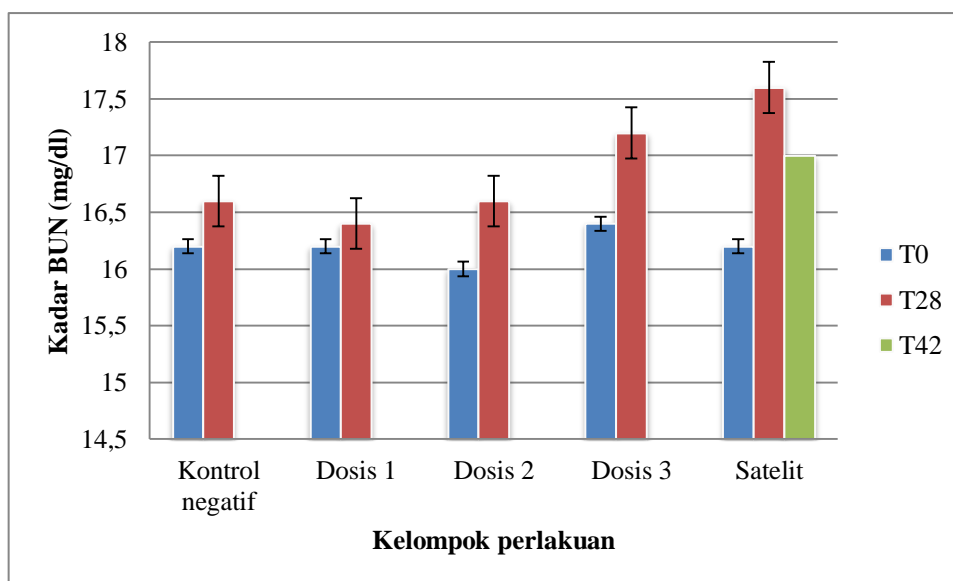
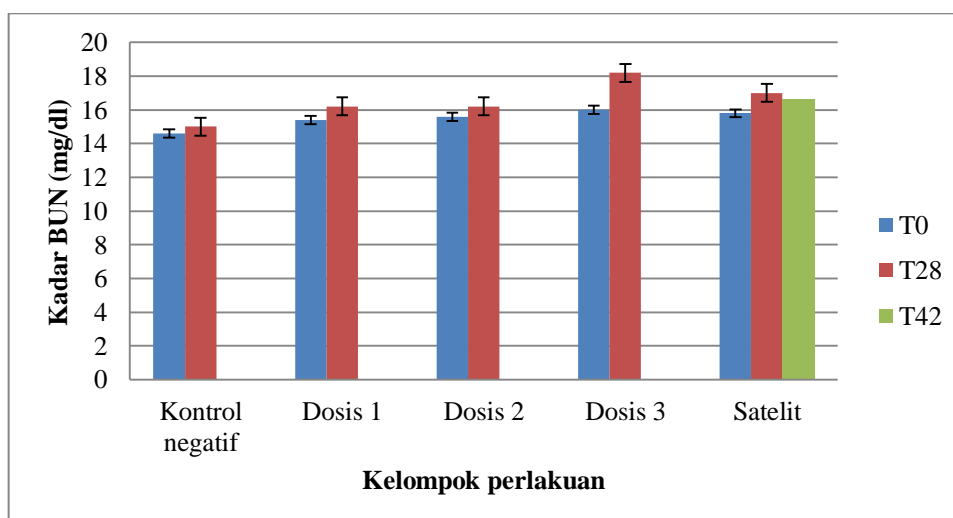
Jenis kelamin	Waktu	Kadar BUN (mg/dl)				
		Kontrol negatif	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Satelit
Jantan	T ₀	16,20±1,48	16,20±1,30	16,00±0,71	16,40±1,34	16,20±0,84
	T ₂₈	16,60±0,55	16,40±1,67	16,60±0,89	17,20±1,92	17,60±0,89
	T ₄₂					17,00±1,58
Betina	T ₀	14,60±1,14	15,40±1,14	15,60±1,14	16,00±1,22	15,80±0,84
	T ₂₈	15,00±1,58	16,20±1,64	16,20±1,30	18,20±1,64	17,00±0,71
	T ₄₂					16,60±0,55

Keterangan :

T₀ : Pemeriksaan kadar BUN sebelum perlakuan / hari ke-0

T₂₈ : Pemeriksaan kadar BUN setelah perlakuan / hari ke-28

T₄₂ : Pemeriksaan kadar BUN masa *reversible* / hari ke-42

**Gambar 10. Histogram rata-rata kadar BUN tikus jantan.****Gambar 11. Histogram rata-rata kadar BUN tikus betina.**

Dari grafik diatas menunjukkan adanya peningkatan kadar BUN pada kelompok dosis dan kelompok kontrol baik jantan maupun betina. Data hasil penelitian kadar BUN pada T_0 dan T_{28} pada tikus jantan dan betina dianalisis uji normalitas terlebih dahulu. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data kadar BUN terdistribusi normal. Uji distribusi normal menggunakan uji *shapiro wilk*. Dari uji *shapiro wilk* data terdistribusi normal yang ditunjukkan dengan semua kelompok perlakuan nilai $p > (0,05)$, dilanjutkan untuk mengetahui homogenitas dari data dengan uji *levene*, dari data uji *levene* didapatkan hasil $p > 0,05$ (H_0 diterima). Data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan analisa satu arah *One way ANOVA* dan didapatkan hasil $p > 0,05$ berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelima kelompok variasi perlakuan.

Nilai rata-rata kadar BUN normal untuk tikus wistar pada hari ke 28 dan pada hari ke 42 kadar BUN juga masih berada pada batas normal. Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar normal BUN pada tikus wistar adalah 15-21 mg/dl. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi tidak menimbulkan efek toksik karena kadar BUN baik jantan maupun betina mengalami peningkatan tetapi masih dalam rentang kadar BUN normal. Data kadar BUN dapat dilihat pada lampiran 16.

3. Uji kadar kreatinin

Uji kadar kreatinin dalam darah dilakukan untuk mengetahui tingkat fungsi renal yang apabila fungsi renal berkurang maka kadar kreatinin dalam darah meningkat. Data hasil rata-rata kadar kreatinin tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil rata-rata kadar kreatinin tikus jantan dan betina

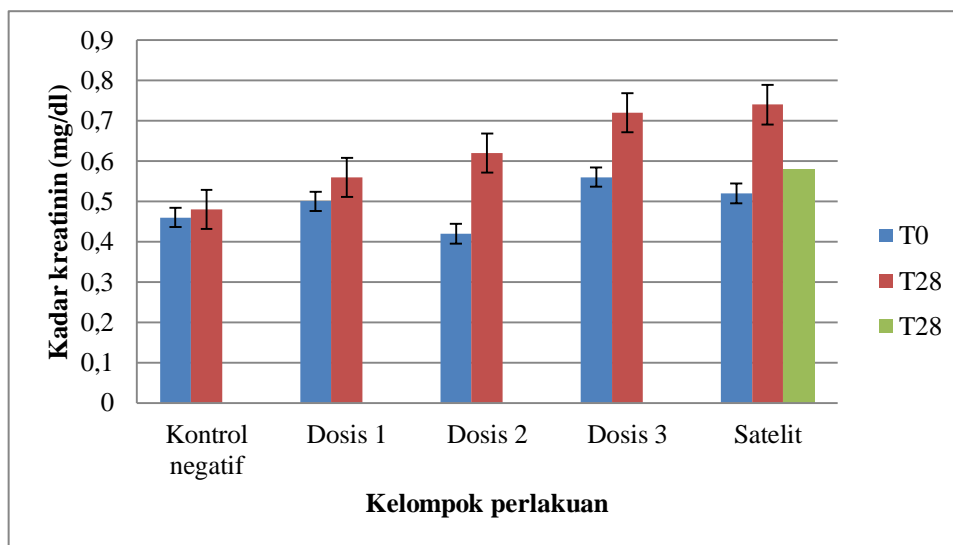
Jenis kelamin	Waktu	Kadar kreatinin (mg/dl)				
		Kontrol negatif	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Satelit
Jantan	T_0	$0,46 \pm 0,15$	$0,50 \pm 0,16$	$0,42 \pm 0,08$	$0,56 \pm 0,11$	$0,52 \pm 0,08$
	T_{28}	$0,48 \pm 0,08$	$0,56 \pm 0,15$	$0,62 \pm 0,13$	$0,72 \pm 0,15$	$0,74 \pm 0,15$
	T_{42}					$0,58 \pm 0,13$
Betina	T_0	$0,58 \pm 0,08$	$0,60 \pm 0,16$	$0,54 \pm 0,11$	$0,56 \pm 0,15$	$0,50 \pm 0,07$
	T_{28}	$0,62 \pm 0,08$	$0,64 \pm 0,11$	$0,66 \pm 0,13$	$0,76 \pm 0,05$	$0,72 \pm 0,13$
	T_{42}					$0,62 \pm 0,08$

Keterangan :

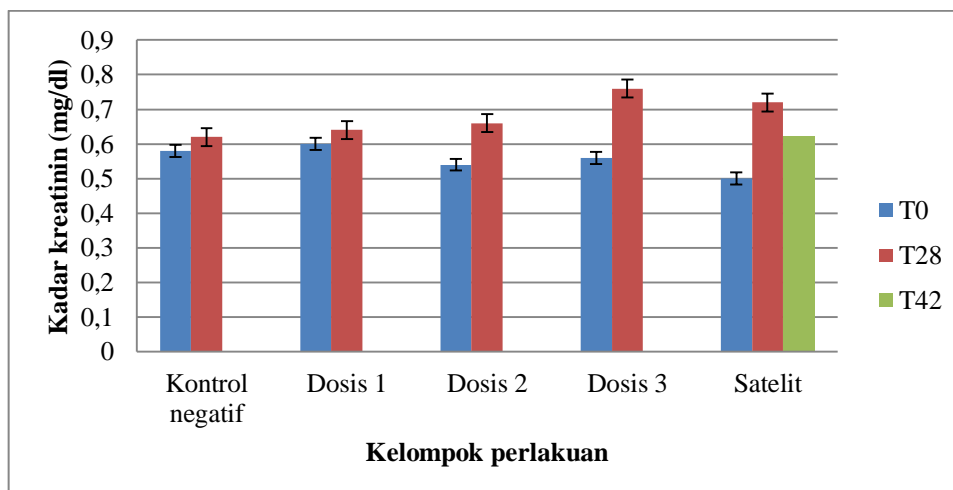
T_0 : Pemeriksaan kadar kreatinin sebelum perlakuan / hari ke-0

T_{28} : Pemeriksaan kadar kreatinin setelah perlakuan / hari ke-28

T_{42} : Pemeriksaan kadar kreatinin masa *reversible* / hari ke-42



Gambar 12. Histogram rata-rata kadar kreatinin tikus jantan.



Gambar 13. Histogram rata-rata kadar kreatinin tikus betina.

Dari grafik di atas menunjukkan adanya peningkatan kadar kreatinin. Data hasil penelitian kadar kreatinin pada T_0 dan T pada tikus jantan dan betina dianalisis uji normalitas terlebih dahulu. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data kadar kreatinin terdistribusi normal. Uji distribusi normal menggunakan uji *shapiro wilk*. Dari uji *shapiro wilk* data terdistribusi normal yang ditunjukkan dengan semua kelompok perlakuan nilai $p > (0,05)$, dilanjutkan untuk mengetahui homogenitas dari data dengan uji *levene*, dari data uji *levene* didapatkan hasil $p > 0,05$ (H_0 diterima). Data terdistribusi normal dan

homogen maka dilakukan analisa satu arah *One way ANOVA* dan didapatkan hasil $p > 0,05$ berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelima kelompok variasi perlakuan.

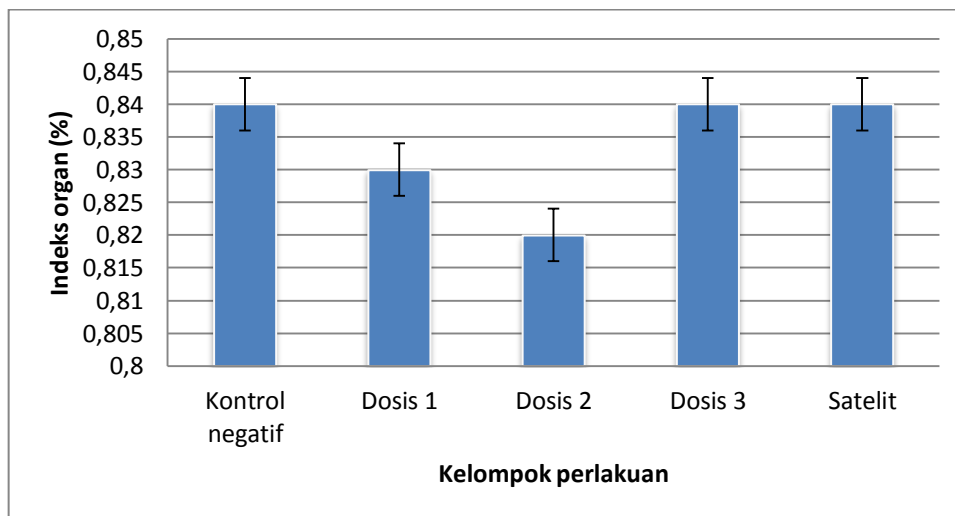
Nilai rata-rata kadar kreatinin semua perlakuan masih berada pada rentang kadar kreatinin normal pada hari ke 28 untuk kelompok dosis 125, 250 dan 500 mg/kgBB. Pada hari ke 42, kelompok satelit juga mengalami peningkatan tetapi masih berada pada rentang normal. Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar kreatinin normal pada tikus adalah 0,2-0,8 mg/dl. Terjadinya peningkatan kadar kreatinin tikus pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan ekstrak rimpang lempuyang wangi dapat dipengaruhi oleh massa otot karena tikus berada pada masa pertumbuhan sehingga massa otot juga akan meningkat karena kreatinin merupakan produk dari metabolisme keratin otot (Sacher and Richard 2004). Data kadar kreatinin dapat dilihat pada lampiran 17.

4. Hasil penimbangan organ dan penetapan indeks organ

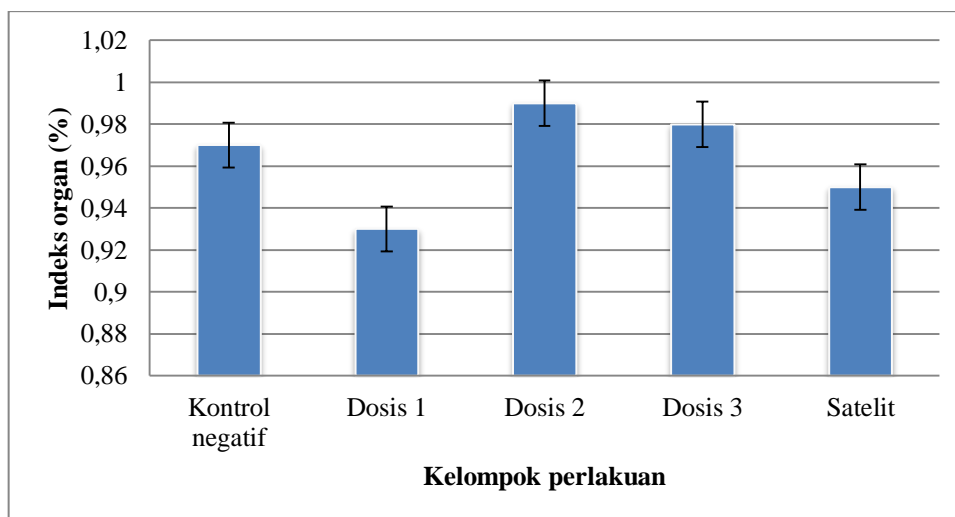
Berat organ relatif merupakan berat organ absolut dibanding berat badan (BPOM 2014). Pemeriksaan persen indeks organ relatif ginjal dilakukan dengan cara menimbang bobot organ ginjal dan selanjutnya melakukan perhitungan dengan cara membagi bobot organ dengan berat badan hewan uji dan dikalikan 100% untuk mencari persen indeks organ relatif ginjal. Data hasil rata-rata persen indeks organ ginjal tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil rata-rata persen indeks organ ginjal pada tikus jantan dan betina

Kelompok perlakuan	Rata-rata % indeks organ \pm SD
JANTAN	
Kontrol negatif	0,84 \pm 0,02
Dosis 1	0,83 \pm 0,02
Dosis 2	0,82 \pm 0,04
Dosis 3	0,84 \pm 0,02
Satelit	0,84 \pm 0,03
BETINA	
Kontrol negatif	0,97 \pm 0,04
Dosis 1	0,93 \pm 0,02
Dosis 2	0,99 \pm 0,06
Dosis 3	0,98 \pm 0,04
Satelit	0,95 \pm 0,05



Gambar 14. Histogram rata-rata persen indeks organ ginjal tikus jantan.



Gambar 15. Histogram rata-rata persen indeks organ ginjal tikus betina.

Data grafik diatas menunjukkan hasil rata-rata persen indeks organ tidak ada perbedaan selisih yang tinggi antar kelompok perlakuan. Pengamatan persen indeks organ ginjal hewan uji jantan dan betina yang diperoleh dianalisis secara statistik. Kelompok uji jantan dan betina menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi tidak berpengaruh terhadap persentase indeks organ ginjal tikus jantan dan betina. Data persen indeks organ dapat dilihat pada Lampiran 18.

5. Hasil pemeriksaan histopatologi

Hewan uji yang telah diberikan perlakuan dengan pemberian oral ekstrak rimpang lempuyang wangi pada masing-masing kelompok dosis dan diuji biokimia pada awal dan minggu keempat ditambah 14 hari pada kelompok satelit, kemudian pada akhir penelitian hewan uji dibedah dan diambil organ ginjalnya. Masing-masing kelompok diambil 6 tikus untuk dibedah kemudian dilakukan pengamatan secara mikroskopi dengan uji histopatologi pada organ ginjal yang telah diambil. Pada pembuatan preparat histopatologi diambil 3 ekor jantan dan 3 ekor betina untuk melihat apakah ada pengaruh pemberian ekstrak lempuyang wangi pada kerusakan organ ginjal pada tikus.

Pemeriksaan preparat histopatologi ginjal dibuat dalam skoring didasarkan pada acuan dari buku Indonesia Medicus Veterinus. Perubahan histopatologi yang diamati berupa adanya infiltrasi sel radang dan nekrosis. Variabel perubahan histopatologi ginjal yang diamati kemudian diskoring. Variabel skoring histopatologi untuk infiltrasi sel radang dan nekrosis pada jaringan ginjal sebagai berikut :

0 : infiltrasi sel radang/nekrosis tidak ada

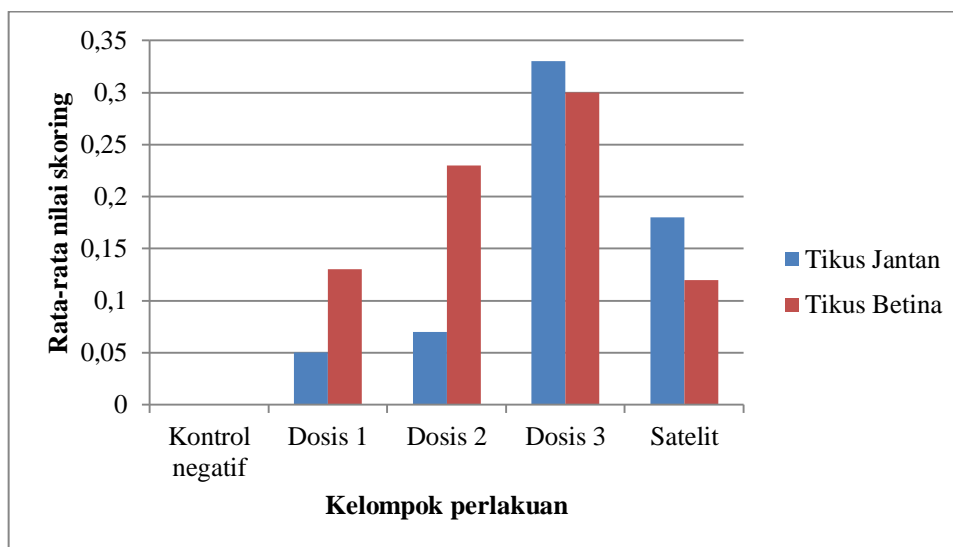
1 : infiltrasi sel radang/nekrosis sedikit (ringan)

2 : infiltrasi sel radang/nekrosis menyebar (multifocal)

Pada pengamatan ini dapat dilihat bahwa terjadi penurunan dari dosis tertinggi ke dosis satelit, hal itu menunjukkan kemungkinan *reversible* pada kerusakan yang terjadi pada organ ginjal. Data hasil rata-rata skoring pengamatan histopatologi tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil rata-rata nilai skoring pengamatan histopatologi ginjal tikus jantan dan betina

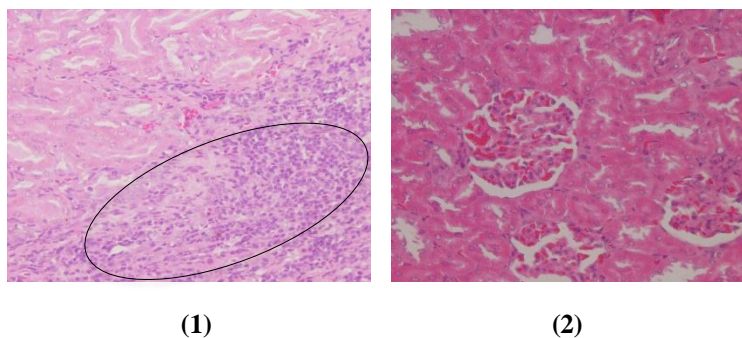
Jenis kelamin	Rata-rata skoring histopatologi ginjal \pm SD				
	Kontrol negatif	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Satelit
Jantan	0 \pm 0	0,05 \pm 0,09	0,07 \pm 0,12	0,33 \pm 0,30	0,18 \pm 0,31
Betina	0 \pm 0	0,13 \pm 0,23	0,23 \pm 0,29	0,3 \pm 0,52	0,12 \pm 0,21



Gambar 16. Histogram rata-rata nilai skoring pengamatan histopatologi ginjal tikus jantan dan betina.

Gambaran histopatologi yang diperoleh berdasarkan pengamatan preparat sampel ginjal menunjukkan adanya perubahan pada jaringan ginjal berupa, infiltrasi radang, dan nekrosis. Perubahan ini terjadi pada tikus jantan dan betina kelompok 2,3,4 dan 5. Data hasil skoring dapat dilihat pada Lampiran 19.

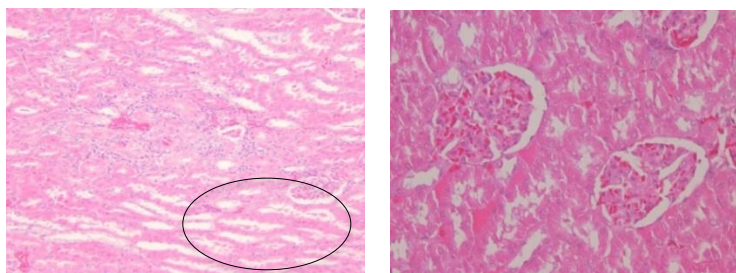
Skoring hasil pengamatan histopatologi ginjal di akhir penelitian selanjutnya dianalisis secara statistik. Kelompok uji jantan dan betina menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan satelit ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi pada dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB berpengaruh terhadap kerusakan ginjal tikus tetapi pada kelompok satelit terdapat perbaikan atau bersifat *reversible*.



Gambar 17. Histopatologi ginjal radang (1) dan ginjal normal (2).

Radang ialah reaksi reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas (*injury*). Dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, syaraf, cairan dan sel-sel tubuh ditempat jejas (*injury*). Ciri-ciri mikroskopik radang akut diantaranya adalah inflamasi sel-sel radang akut (PMN), vasodilatasi, dan edema. Radang atau inflamasi adalah suatu respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh kerusakan pada jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat mikrobiologik. Tanda terjadinya proses inflamasi atau radang adalah terjadinya pembengkakan atau edema, kemerahan, panas, nyeri, dan perubahan fungsi.

Berdasarkan pengamatan organ secara mikroskopis diketahui bahwa organ ginjal mengalami radang atau inflamasi yang ditandai dengan adanya serbukan sel leukosit PMN yang menyolok (Sulistiyawati 2011). Radang yang terjadi pada jaringan yang diperiksa dapat dilihat melalui pembesaran pada sel dan hiperplasia, sehingga pada jaringan yang radang akan terlihat lebih banyak sel.



(1)

(2)

Gambar 18. Histopatologi ginjal nekrosis (1) dan ginjal normal (2).

Nekrosis merupakan sel-sel yang mengalami perubahan yang mengarah pada kematian sel, yang disebabkan oleh adanya zat toksik yang masuk bersama dengan aliran darah menuju ke ginjal pada hewan yang masih hidup. Nekrosis adalah proses degenerasi yang sudah lanjut sedemikian rupa sehingga melampaui kemampuan reversibilitas suatu sel. Hal ini disebabkan karena proses tersebut telah melibatkan dan merusak inti. Berdasarkan uraian tersebut dapat dinyatakan bahwa penyebab nekrosis dengan degenerasi adalah sama, namun kadarnya lebih besar dengan waktu kontak dengan sel berjalan lebih lama. Tiga penyebab pokok nekrosis adalah virus, kekurangan oksigen, racun-racun (toxin) termasuk toxin kuman, racun-racun yang berasal dari hewan dan tumbuhan serta bahan kimia

atau sintetik. Perubahan inti sel nekrosis berupa piknosis ditandai dengan melisutnya inti sel dan meningkatnya basofil.

Berdasarkan pengamatan organ secara mikroskopis diketahui bahwa organ ginjal mengalami nekrosis yang ditandai dengan adanya lubang-lubang akibat lisis yang dapat menyebabkan kebocoran ginjal (Sulistyawati 2011). Nekrosis yang terjadi pada jaringan yang diperiksa dapat dilihat melalui pembesaran pada sel yang lisis, sehingga pada jaringan yang nekrosis terlihat lebih banyak sel yang mengalami lisis.

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Rasyid *et al.* (2013) yaitu uji toksisitas akut ekstrak rimpang lempuyang wangi dapat dilanjutkan penelitian selanjutnya uji toksisitas subkronik dengan variasi dosis dibawah batas LD₅₀ uji toksisitas akut. Penelitian uji toksisitas subkronik singkat ekstrak rimpang lempuyang wangi yang telah dilakukan didapatkan hasil tidak ada perbedaan kenaikan kadar BUN dan kreatinin serta kerusakan pada organ ginjal relatif kecil.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, pemberian ekstrak rimpang lempuyang wangi selama 28 hari secara oral tidak menimbulkan efek toksik terhadap organ ginjal tikus putih dilihat dari parameter BUN dan kreatinin.

Kedua, pemberian ekstrak rimpang lempuyang wangi selama 28 hari secara oral tidak menimbulkan efek toksik terhadap organ ginjal dilihat dari gambaran histopatologi tikus jantan dan betina galur wistar.

Ketiga, pemberian ekstrak rimpang lempuyang wangi dengan variasi dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB tidak menimbulkan kerusakan terhadap organ ginjal dilihat dari parameter BUN, kreatinin, dan gambaran histopatologi.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian toksisitas subkronik ekstrak rimpang lempuyang wangi dengan waktu yang lebih lama, yaitu 90 hari untuk melihat efek toksik yang dapat menyebabkan kerusakan pada organ ginjal.

Kedua, perlu dilakukan pengembangan uji toksisitas subkronik dengan parameter lain seperti pemeriksaan kadar asam urat, albumin, glukosa, total-kolesterol, dan trigliserida.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa yang menyebabkan efek toksisitas pada ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina S, Ruslan, Wiraningtyas A. 2016. Skrining fitokimia tanaman obat di Kabupaten Bima. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry* 4(1):71-76.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press. Hal 4-5.
- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengestrasi terhadap kadar sinestein dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* benth. *E-Journal Planta Husada* 2: 1-4.
- Bavelander G, Gerrit, Judith A, Rameley J. 1988. *Dasar-Dasar Histologi*. Edisi 8. Jakarta: Erlangga.
- BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal: 3-5, 10-11.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis secara In Vivo*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal: 3-5.
- Cheuck L. 2013. *Kidney Anatomy. E-Medicine Medscape*.
- Corwin EJ. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Dewoto HR. 2007. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57(7): 205-211.
- Donatus IA. 2005. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. 117-149. 187-197. Yogyakarta: Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik. Fakultas Farmasi UGM.
- Eatau DL, Klassen CD. 2001. *Principle of Toxicology, In Klassen C.D. (Ed), Casarett and Doull's Toxicology : The Basic Science of Poison*, 6th Ed, Mc. Graw Hill, New Yorks.
- Ganong WF. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 22. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: International Center for Science and Hight Technology.

- Haryati S. 2005. Standarisasi ekstrak tumbuhan obat Indonesia, salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli Indonesia. InfoPOM. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Herbie T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: Penerbit Octopus Publishing House. Hal: 516-517.
- Lu FC. 1995. *Toksikologi Dasar, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Malole, MBM, Ansel, Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi, IPB.
- Mukoginta, Pratiwi E, Runtuwene MRJ, Wehantouw F. 2013. Pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas penangkal radikal bebas ekstrak metanol kulit biji pinang yaki (*Areca vestiara* Giseke). *Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat* 2: 109-113.
- Muntiha M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin, Temu Teknis Non Peneliti. Hal: 156-163.
- Price, Wilson. 2005. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi VI (2). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Pudjiastuti B, Dzulkarnain, Nuratmi B. 2000. Uji analgetik infus rimpang lempuyang pahit (*Zingiber amaricans* BL.) pada mencit putih. *Cermin Dunia Kedokteran* 129: 39-41.
- Puspitasari H, Listyawati S, Widiyani T. 2003. Aktivitas analgetik ekstrak umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) pada mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan. *Biofarmasi* 1(2): 50-57.
- Rasyid M, Usmar, Subehan. 2012. Uji toksisitas akut ekstrak etanol lempuyang wangi pada mencit. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 16(1): 13-20.
- Rohimah I. 2015, Uji analgetik fraksi n-heksan rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dan identifikasi kandungan kimia secara kromatografi lapis tipis [Tugas Akhir]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Setiabudy R. 2007. *Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. Jakarta: Universitas Indonesia. Hal: 824-827.
- Sherwood L. 2011. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi VI. Pendit BU, penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Human Pysiology From Cells to Systems*.

- Soeparman, Susalit E, Kapojos JE, Lubis HR. 2001. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberti.
- Sudarsono, Gunawan D, Wahyuono S, Donatus IA, Purnomo. 2002, *Pusat Studi Obat Tradisional*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. Hal: 41-45.
- Sugiarto. 2013. Uji toksisitas subkronik minyak kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex BI.) terhadap parameter hematologi pada tikus [Tugas Akhir]. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Sulistyawati. 2011. *Asuhan Kebidanan pada Masa Kehamilan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and Extraction. *A Review: Internationale Scientia* 1(1): 98-106.
- Tortora GJ, Derrickson B. 2011. Principles of anatomy and physiology. *Hoboken: John Wiley & Sons Inc* 13(1): 322.
- Underwood JCE. 1999. *Patologi*. Edisi 2. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Widiasari N. 2015, Uji Daya Analgetik dan Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) secara Kromatografi Lapis Tipis [Tugas Akhir]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan simplisia



SURAT KETERANGAN SIMPLISIA

Kami yang bertanda tangan di bawah ini, menerangkan bahwa simplisia yang didapatkan dari CV. MERAPI FARMA HERBAL adalah benar simplisia dari :

Tanaman : Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.)

Berat basah : 10 kg

Berat kering : 2 kg

Pengeringan : Oven sinar matahari

Lama pengeringan : ±7 hari

Bagian yang diambil : Rimpang

Berasal dari : Tempuran Magelang Jawa Tengah

Demikian surat keterangan ini kami buat, semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 12 Februari 2018



MERAPI FARMA HERBAL

Pembibitan, Penjualan Tanaman Obat, Produksi dan Outlet Jamu, Wisata Agro

Jl. Kaliurang Km.21.5 Hargobinangun, Pakem Sleman Yogyakarta Telp.0274-896111, Fax: 0274- 896111

Outlet jamu

Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 8.8, Kamdanen, Sariharjo, Ngaglik, Sleman Yogyakarta Telp: 0274-866928

Website : www.merapifarmaherbal.com

e-mail : merapifarmaherbal@gmail.com

Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman lempuyang wangi



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

Nama Pemesan : Irvan Andhika Nur Efendi
NIM : 20144257A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Smith var. *aromaticum* (Val.) Theilade
Synonym : *Zingiber aromaticum* Val.
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a **207. Zingiberaceae**
1a-2b-6a **1. Zingiber**
1a-2a-3a-4a-5b *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Smith
3 *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Smith var. *aromaticum* (Val.) Theilade

Deskripsi Tumbuhan :

Habitat : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi 1-1.5 m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, diameter 2-5 cm, bercabang-cabang, bagian luar permukaannya tidak rata, berkerut, warnanya coklat muda kekuningan, bagian dalamnya berwarna kuning muda sampai kuning kecoklatan, rasanya pahit dan pedas, aromanya sangat wangi. Akar : melekat pada rimpang, tipe akar serabut, berwarna putih hingga kuning kotor atau coklat kekuningan. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, helaian berbentuk lanset sempit memanjang hingga garis, panjang 14-40 cm, lebar 3-8.5 cm, berwarna hijau permanen, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung sangat runcing atau meruncing, tepi rata, pangkal runcing atau tumpul, pertulangan daun menyirip, permukaan daun berambut pada kedua permukaan terutama pada ibu tulang daun; ligula tegak, memanjang, ujungnya tumpul, tipis seperti selaput, permukaannya berambut, panjang 1.5-3 cm. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa tandan berbentuk ovoid, panjangnya 2-2.5 kali lebarnya, ujungnya runcing, terletak di ujung batang (terminal); panjang ibu tangkai bunga 9-31 cm; braktea berbentuk bulat telur lebar, ujungnya rata; kelopak berbentuk tabung, panjang kelopak bunga 13-17 mm; mahkota bunga berwarna kuning terang atau kuning gelap, panjang tabung mahkota bunga 2-3 cm, cuping mahkota bunga berbentuk bulat telur memanjang, panjang 1.5-2.5 cm, lebar 1-2 cm; kepala sari berbentuk lanset memanjang, kuning terang, panjang 8-10 mm; bibir bunga (*labellum*) berbentuk bulat telur hingga membulat, panjang 12-20 mm, lebar 15-20 mm, warnanya oranye. Buah : berupa buah buni, berbentuk bulat telur terbalik, panjang 12 mm, diameter 8 mm, berwarna merah. Biji : bijinya kecil-kecil, berbentuk bulat memanjang, panjang 4 mm, dan berwarna hitam ketika masak.

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



Lampiran 3. Sertifikasi hewan uji



**PEMERINTAH KOTA SURAKARTA
DINAS PERTANIAN,
KETAHANAN PANGAN DAN PERIKANAN**

JL. Yap Tjwan Bing (Jagalan) No. 26 Telp. (0271) 656816 – Fax. (0271) 656816
Website www.disperten.surakarta.co.id E-mail pertanian_ska@yahoo.co.id
SURAKARTA Kode Pos 57124

SURAT KETERANGAN KESEHATAN HEWAN

Nomor : 524.31/691

Yang bertandatangan di bawah ini **drh. ABDUL AZIZ. MK.** Dokter Hewan yang berwenang di wilayah **Kota Surakarta**, menerangkan bahwa pada hari **Jum,at** tanggal **9**, bulan **Maret** tahun **2018** telah memeriksa hewan di bawah ini :

NO	JENIS HEWAN	SUB SPESIES/ TRAH	JUMLAH (ekor)			UMUR (bln)	Tanda / Warna
			Jtn	Btn	Total		
1	Tikus	Wistar	25	25	50	2-3	Putih

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

KETERANGAN :

Nama pemilik/pengirim : Sdr. Yuliyanto Ratno Saputro
No KTP/SIM pemilik/pengirim : 0
No telp. Pemilik/pengirim : 082 133 998 945
Alamat pemilik/pengirim : Sumber Rt. 04 / rw.3 Banjarsari Surakarta
Daerah asal hewan : Pasar Burung Depok Manahan, Surakarta.
Daerah tujuan : Surakarta
Nama dan alamat penerima : Sdr. Irfan Andhika N E dan Bima Orbita Universitas Setiabudi Sarakarta.
Rencana dikirim : Jum,at 9 Maret 2018
Kendaraan : Mobil.

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

Surakarta, 9 Maret 2018

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

Drh. EVY NURWULANDARI
Pembina
NIP. 19700806 199803 2 004

Dokter Hewan Berwenang,

drh. ABDUL AZIZ, MK.
NIP. 19810428 200501 1 006

Tembusan Yth. :

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

Lampiran 4. Surat keterangan ethical clearance



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)

Health Research Ethics Committee

FAKULTAS KEDOKTERAN

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Faculty of Medicine Universitas Muhammadiyah Surakarta

Komplek kampus 4 UMS Gonilan Kartasura, Telp.(0271)716844, Fax.(0271)724883 Surakarta 57102, email:kepk@ums.ac.id

ETHICAL CLEARANCE LETTER

Surat Kelaiakan Etik

No. 1192/A.1/KEPK-FKUMS/V/2018

Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FK UMS, setelah menelaah rancangan penelitian yang diusulkan menyatakan bahwa:

Health Research Ethics Committee Faculty of medicine of Universitas Muhammadiyah Surakarta, after reviewing the research design, state that:

Penelitian dengan judul:

The research proposal with topic:

UJI TOKSISITAS SUBKRONIK SINGKAT EKSTRAK ETANOL RIMPANG LEMPUYANG WANGI (Zingiber Aromaticum Val.) TERHADAP FUNGSI ORGAN GINJAL TIKUS PUTIH

Peneliti:

The researcher:

Nama/ Name : **Irvan Adhika Nur Efendi**

Alamat/ Address : Dalon RT 03/X Plesungan, Gondangrejo Karanganyar

Institusi/ Institution : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Telah memenuhi deklarasi Helsinki 1975 dan Pedoman nasional etik penelitian kesehatan Departemen Kesehatan RI 2004

Has met the declaration of Helsinki 1975 and national health research ethics Department of Health of the Republic of Indonesia in 2004

dan dinyatakan lolos etik

and ethically approve



Surakarta, 05 Mei 2018

Ketua/Chairman,

Prof. Dr. dr. EM. Sutrisna, M,Kes.

Lampiran 5. Hasil pengamatan histopatologi



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
LABORATORIUM PATOLOGI
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
 UNIVERSITAS GADJAH MADA

Jl. Fauna, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Tlp. (0274) 9061103, 560862 Fax. 560861

No. : 50 / VI / PA / 2018
 Hal : Hasil pemeriksaan histopatologi

Tgl. Terima : 25 April 2018

Nama pengirim : Irvan Adhika Nur Efendi
 Alamat : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

Anamnesa :

Telah dilakukan pemeriksaan histopatologi organ ginjal tikus untuk penelitian yang berjudul " Uji toksisitas subkronik singkat ekstrak etanolik rimpang lempuyang wangi terhadap fungsi organ ginjal tikus putih".

Hasil Pemeriksaan Histopatologis :

Kode	Perubahan Ginjal	Kode	Perubahan Ginjal
L I 1	Tap	P I 1	Tap
L I 2	Tap	P I 2	Tap
L I 3	Tap	P I 3	Tap
L II 1	Tap	P II 1	Nekrosis <
L II 2	Tap	P II 2	Tap
L II 3	Nekrosis <	P II 3	Tap
L III 1	Tap	P III 1	Nekrosis <
L III 2	Tap	P III 2	Tap
L III 3	Nekrosis <	P III 3	Nekrosis <, Radang <
L IV 1	Nekrosis >	P IV 1	Tap
L IV 2	Tap	P IV 2	Tap
L IV 3	Nekrosis >, Radang <	P IV 3	Nekrosis >, Radang >
L V 1	Tap	P V 1	Tap
L V 2	Tap	P V 2	Tap
L V 3	Nekrosis >	P V 3	Nekrosis <

Keterangan tabel :

Tap : Tak ada perubahan patologi yang spesifik
 Nekrosis : Nekrosis pada epitel tubuli ginjal
 Radang : Infiltrasi sel radang limfosit pada daerah interstitial ginjal
 <> : Sedikit / banyak

Yogyakarta, 5 Juni 2018
 Ketua Departemen Patologi

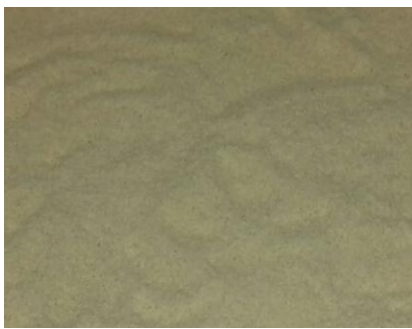
Drh. Sitarina Widyarini, MP.,PhD.
 NIP. 196609161992032003

Lampiran 6. Foto bahan untuk penelitian

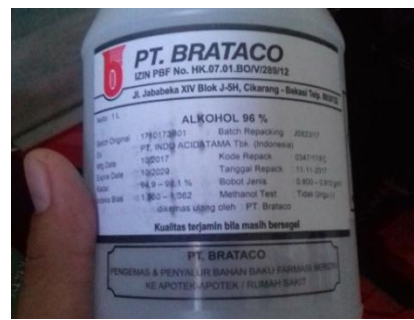
Rimpang basah



Rimpang kering



Serbuk halus



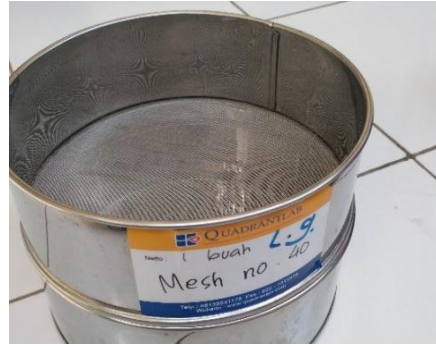
Etanol 96%



Xylen

Lampiran 7. Foto alat untuk penelitian

Alat evaporator



Ayakan mesh no. 40



Timbangan analitik



Oven

Alat *Moisture balance*Alat *Sterling bidwell*



Botol maserasi



Sonde oral



Alat penimbang tikus



Pipa kapiler



Alat sentrifuse



Spektrofotometer



Alat vortex



Mikropipet



Reagen BUN



Reagen kreatinin



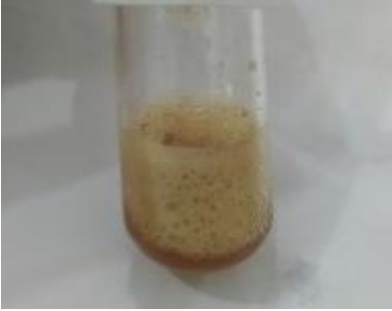



Mikroskop



Mikrotom

Lampiran 8. Identifikasi senyawa ekstrak rimpang lempuyang wangi

Senyawa	Ekstrak
Alkaloid	
Flavonoid	
Saponin	
Tanin	

Lampiran 9. Foto jalannya penelitian

Ekstrak kental



Sediaan uji



Kandang tikus



Penyondean tikus



Pembedahan tikus



Organ ginjal



Ginjal yang diawetkan formalin



Preparat histopatologi

Lampiran 10. Hasil rendemen kering dan ekstrak

Rendemen kering

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
10.000	2.000	20

Rimpang lempuyang wangi basah = 10.000 g

Rimpang lempuyang wangi kering = 2.000 g

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen kering} &= \frac{2.000}{10.000} \times 100\% \\ &= 20,00 \% \end{aligned}$$

Rendemen ekstrak

Serbuk (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1.500	40,44	133,96	93,52	6,23

Perhitungan berat ekstrak :

$$\begin{array}{r} \text{Berat wadah + ekstrak} = 133,96 \text{ g} \\ \text{Berat wadah kosong} = 40,44 \text{ g} \\ \hline \text{Berat ekstrak} = 93,52 \text{ g} \end{array}$$

Perhitungan % rendemen ekstrak :

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen ekstrak} &= \frac{93,52 \text{ g}}{1.500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,23 \% \end{aligned}$$

Lampiran 11. Hasil penetapan susut pengeringan rimpang lempuyang wangi

Replikasi	Penimbangan (g)	Susut pengeringan (%)
1	2	5,5
2	2	7,0
3	2	6,5
Rata-rata ± SD		6,33 ± 0,76

Perhitungan :

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata susut pengeringan} &= \frac{5,5\% + 7,0\% + 6,5\%}{3} \\ &= 6,33 \%\end{aligned}$$

Lampiran 12. Hasil penetapan kadar air rimpang lempuyang wangi

Replikasi	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Persen (%)
1	30	1,80	6,00
2	30	1,70	5,67
3	30	1,75	5,83
Rata-rata ± SD			5,83 ± 0,16

Penimbangan :

Jumlah serbuk = 30 g

Jumlah pelarut xylen = 50 ml

Perhitungan :

Replikasi I : Jumlah air yang diperoleh 1,80 ml

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

$$\text{Kadar air} = \frac{1,80 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 6 \%$$

Replikasi II : Jumlah air yang diperoleh 1,70 ml

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

$$\text{Kadar air} = \frac{1,70 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 5,67 \%$$

Replikasi III : Jumlah air yang diperoleh 1,75 ml

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

$$\text{Kadar air} = \frac{1,75 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 5,83 \%$$

$$\text{Rata-rata kadar air dalam minyak} = \frac{1,80\% + 1,70\% + 1,75\%}{3} = \frac{5,25\%}{3} = 1,75 \%$$

Lampiran 13. Penentuan dosis uji

1. Suspensi CMC-Na 0,5%

Konsentrasi CMC-Na 0,5% = 0,5 gram/100ml

Serbuk CMC-Na ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian disuspensikan dengan aquadest panas pada 100 ml, diaduk sampai homogen. Suspensi CMC-Na digunakan sebagai kontrol negatif dan *suspending agent*.

2. Larutan stok ekstrak rimpang lempuyang wangi

Larutan stok ekstrak etanol rimpang lempuyang wangi dibuat dalam konsentrasi 2,5% dan 4%. Ekstrak kental lempuyang wangi yang ditimbang sebesar 2,5 gram untuk konsentrasi 2,5% dan 4 gram untuk konsentrasi 4%. Masing-masing ekstrak yang telah ditimbang disuspensikan pada 0,5 gram CMC-Na yang sudah dilarutkan 100 ml aquadest sampai homogen.

- Kadar larutan stok 2,5% = 2,5 gram/100ml
= 2.500 mg/100ml
= 25 mg/ml

Dosis = 125 mg/kgBB
= 25 mg/200gBB

Sehingga volume pemberian untuk dosis rendah = $\frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$
= 1 ml

- Kadar larutan stok 2,5 % = 2,5 gram/100ml
= 2.500 mg/100ml
= 25 mg/ml

Dosis = 250 mg/kgBB
= 50 mg/200gBB

Sehingga volume pemberian untuk dosis sedang = $\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$
= 2 ml

- Kadar larutan stok 4 % = 4 gram/100ml
= 4.000 mg/100ml
= 40 mg/ml

$$\text{Dosis} = 500 \text{ mg/kgBB}$$

$$= 100 \text{ mg/200gBB}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberian untuk dosis tinggi} &= \frac{100 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

3. Pembagian volume oral

Sediaan larutan yang diberikan secara oral dengan pembagian dosis pada hewan uji dengan variasi sebagai berikut :

- Kelompok I : kontrol negatif (-) CMC-Na 0,5%
 - Dosis oral CMC-Na = 2 ml/200gBB tikus
- Kelompok II : perlakuan dosis rendah 125 mg/kgBB (stok 2,5%).
 - Dosis oral ekstrak 125 mg/kgBB = 1 ml/200gBB tikus
- Kelompok III : perlakuan dosis sedang 250 mg/kgBB (stok 2,5%).
 - Dosis oral ekstrak 250 mg/kgBB = 2 ml/200gBB tikus
- Kelompok IV : perlakuan dosis tinggi 500 mg/kgBB (stok 4%).
 - Dosis oral ekstrak 500 mg/kgBB = 2,5 ml/200gBB tikus
- Kelompok V : satelit dosis tinggi 500 mg/kgBB (stok 4%).
 - Dosis oral ekstrak 500 mg/kgBB = 2,5 ml/200gBB tikus

Lampiran 14. Volume pemberian sediaan

Data volume pemberian sediaan ekstrak lempuyang wangi tikus jantan

Kelompok perlakuan	Tikus	BB T0 (gram)	Vol. (ml)	BB T7 (gram)	Vol. (ml)	BB T14 (gram)	Vol. (ml)	BB T21 (gram)	Vol. (ml)
Dosis 1	1	240	1,2	245	1,2	255	1,3	270	1,4
	2	210	1,1	225	1,1	230	1,2	250	1,3
	3	220	1,1	235	1,2	250	1,3	255	1,3
	4	210	1,1	220	1,1	230	1,2	245	1,2
	5	240	1,2	250	1,3	260	1,3	270	1,4
Dosis 2	1	215	2,2	220	2,2	230	2,3	235	2,4
	2	200	2,0	210	2,1	215	2,2	230	2,3
	3	200	2,0	210	2,1	230	2,3	250	2,5
	4	200	2,0	220	2,2	235	2,4	240	2,4
	5	215	2,2	225	2,3	235	2,4	250	2,5
Dosis 3	1	240	3,0	245	3,1	255	3,2	265	3,3
	2	210	2,6	225	2,8	230	2,9	240	3,0
	3	200	2,5	220	2,8	225	2,8	240	3,0
	4	200	2,5	205	2,6	205	2,6	210	2,6
	5	215	2,7	220	2,8	230	2,9	245	3,1
Satelit	1	245	3,1	255	3,2	265	3,3	275	3,4
	2	240	3,0	245	3,1	255	3,2	260	3,3
	3	235	2,9	245	3,1	255	3,2	265	3,3
	4	210	2,6	215	2,7	225	2,8	230	2,9
	5	220	2,8	230	2,9	245	3,1	255	3,2

Keterangan.

Dosis 1 = Kelompok dosis 125 mg ekstrak rimpang lempuyang wangi.

Dosis 2 = Kelompok dosis 250 mg ekstrak rimpang lempuyang wangi.

Dosis 3 = Kelompok dosis 500 mg ekstrak rimpang lempuyang wangi.

Satelit = Kelompok dosis 500 mg ekstrak rimpang lempuyang wangi.

T0 = Berat badan tikus hari ke-0

T7 = Berat badan tikus hari ke-7

T14 = Berat badan tikus hari ke-14

T21 = Berat badan tikus hari ke-21

Vol. = Volume pemberian

Data volume pemberian sediaan ekstrak lempuyang wangi tikus jantan

Kelompok perlakuan	Tikus	BB T0 (gram)	Vol. (ml)	BB T7 (gram)	Vol. (ml)	BB T14 (gram)	Vol. (ml)	BB T21 (gram)	Vol. (ml)
Dosis 1	1	190	1,0	200	1,0	210	1,1	215	1,1
	2	175	0,9	185	0,9	190	1,0	195	1,0
	3	180	0,9	190	1,0	200	1,0	205	1,0
	4	170	0,9	180	0,9	180	0,9	185	0,9
	5	185	0,9	195	1,0	210	1,1	215	1,1
Dosis2	1	175	1,8	180	1,8	190	1,9	200	2,0
	2	155	1,6	160	1,6	170	1,7	175	1,8
	3	180	1,8	195	2,0	200	2,0	200	2,0
	4	175	1,8	185	1,9	190	1,9	195	2,0
	5	195	2,0	200	2,0	210	2,1	220	2,2
Dosis 3	1	165	2,1	170	2,1	180	2,3	185	2,3
	2	185	2,3	195	2,4	200	2,5	210	2,6
	3	170	2,1	175	2,2	180	2,3	185	2,3
	4	180	2,3	180	2,3	190	2,4	195	2,4
	5	170	2,1	175	2,2	180	2,3	190	2,4
Satelit	1	185	2,3	190	2,4	200	2,5	210	2,6
	2	165	2,1	175	2,2	180	2,3	185	2,3
	3	190	2,4	195	2,4	200	2,5	210	2,6
	4	185	2,3	190	2,4	200	2,5	210	2,6
	5	175	2,2	185	2,3	190	2,4	195	2,4

Keterangan.

Dosis 1 = Kelompok dosis 125 mg ekstrak rimpang lempuyang wangi.

Dosis 2 = Kelompok dosis 250 mg ekstrak rimpang lempuyang wangi.

Dosis 3 = Kelompok dosis 500 mg ekstrak rimpang lempuyang wangi.

Satelit = Kelompok dosis 500 mg ekstrak rimpang lempuyang wangi.

T0 = Berat badan tikus hari ke-0

T7 = Berat badan tikus hari ke-7

T14 = Berat badan tikus hari ke-14

T21 = Berat badan tikus hari ke-21

Vol. = Volume pemberian

Lampiran 15. Penimbangan berat badan tikus

Data berat badan tikus jantan

Kelompok perlakuan	Tikus	Minggu ke- (gram)						
		0	1	2	3	4	5	6
Kontrol negatif	1	230	240	255	265	270		
	2	225	235	240	255	260		
	3	220	230	235	240	250		
	4	230	235	245	255	265		
	5	215	220	230	235	240		
Rata-rata		224	232	241	250	257		
Dosis 1	1	225	235	245	255	265		
	2	210	220	230	250	260		
	3	220	235	250	255	260		
	4	210	220	230	245	255		
	5	230	240	245	260	270		
Rata-rata		219	230	240	253	262		
Dosis 2	1	215	220	230	235	250		
	2	200	210	215	230	250		
	3	200	210	230	250	265		
	4	200	220	235	240	245		
	5	215	225	235	250	255		
Rata-rata		206	217	229	241	253		
Dosis 3	1	240	245	255	265	270		
	2	210	225	230	240	265		
	3	200	220	225	240	260		
	4	210	215	215	220	225		
	5	215	220	230	245	250		
Rata-rata		215	225	231	242	254		
Satelit	1	235	245	250	255	265	270	275
	2	230	245	255	260	260	265	270
	3	225	245	255	265	270	275	275
	4	210	215	225	230	240	245	250
	5	220	230	245	255	265	265	275
Rata-rata		224	236	246	253	260	264	269

Data berat badan tikus betina

Kelompok perlakuan	Tikus	Minggu ke- (gram)						
		0	1	2	3	4	5	6
Kontrol negatif	1	185	190	200	205	215		
	2	190	205	210	215	220		
	3	185	195	200	200	205		
	4	170	185	195	195	205		
	5	170	185	190	200	200		
Rata-rata		180	192	199	203	209		
Dosis 1	1	190	200	210	215	220		
	2	175	185	190	195	205		
	3	180	190	200	205	215		
	4	170	180	180	185	185		
	5	185	195	210	215	225		
Rata-rata		180	190	198	203	210		
Dosis 2	1	175	180	190	200	205		
	2	155	160	170	175	185		
	3	180	195	200	200	205		
	4	175	185	190	195	195		
	5	195	200	210	220	220		
Rata-rata		176	184	192	198	202		
Dosis 3	1	165	170	180	185	195		
	2	185	195	200	210	210		
	3	170	175	180	185	185		
	4	180	180	190	195	205		
	5	170	175	180	190	200		
Rata-rata		175	179	186	193	199		
Satelit	1	185	190	200	210	210	215	220
	2	165	175	180	185	185	190	200
	3	190	195	200	210	220	225	225
	4	185	190	200	210	215	215	220
	5	175	185	190	195	200	205	205
Rata-rata		180	187	194	202	206	210	214

Lampiran 16. Kadar BUN

Data kadar BUN jantan

Kelompok perlakuan	Tikus	Kadar BUN (mg/dl)		
		T ₀	T ₂₈	T ₄₂
Kontrol negatif	1	16	17	
	2	16	16	
	3	17	17	
	4	14	16	
	5	18	17	
Rata-rata		16,2	16,6	
Dosis 1	1	15	17	
	2	17	15	
	3	16	15	
	4	15	16	
	5	18	19	
Rata-rata		16,2	16,4	
Dosis 2	1	16	18	
	2	16	16	
	3	17	16	
	4	15	16	
	5	16	17	
Rata-rata		16	16,6	
Dosis 3	1	15	15	
	2	17	20	
	3	15	17	
	4	17	16	
	5	18	18	
Rata-rata		16,4	17,2	
Satelit	1	17	17	17
	2	16	18	18
	3	16	19	19
	4	17	17	16
	5	15	17	15
Rata-rata		16,2	17,6	17

Data kadar BUN betina

Kelompok perlakuan	Tikus	Kadar BUN (mg/dl)		
		T ₀	T ₂₈	T ₄₂
Kontrol negatif	1	15	17	
	2	14	13	
	3	16	15	
	4	15	16	
	5	13	14	
Rata-rata		14,6	15	
Dosis 1	1	17	17	
	2	15	14	
	3	15	15	
	4	16	17	
	5	14	18	
Rata-rata		15,4	16,2	
Dosis 2	1	14	16	
	2	16	15	
	3	15	17	
	4	16	15	
	5	17	18	
Rata-rata		15,6	16,2	
Dosis 3	1	15	17	
	2	16	21	
	3	15	18	
	4	16	18	
	5	18	17	
Rata-rata		16	18,2	
Satelit	1	17	16	17
	2	15	18	16
	3	16	17	17
	4	16	17	16
	5	15	17	17
Rata-rata		15,8	17	16,6

Lampiran 17. Kadar kreatinin

Data kadar kreatinin jantan

Kelompok perlakuan	Tikus	Kadar kreatinin (mg/dl)		
		T ₀	T ₂₈	T ₄₂
Kontrol negatif	1	0,7	0,6	
	2	0,5	0,4	
	3	0,4	0,5	
	4	0,3	0,4	
	5	0,4	0,5	
Rata-rata		0,46	0,48	
Dosis 1	1	0,4	0,6	
	2	0,6	0,5	
	3	0,3	0,8	
	4	0,7	0,4	
	5	0,5	0,5	
Rata-rata		0,5	0,56	
Dosis 2	1	0,4	0,8	
	2	0,5	0,5	
	3	0,5	0,6	
	4	0,4	0,7	
	5	0,3	0,5	
Rata-rata		0,42	0,62	
Dosis 3	1	0,6	0,7	
	2	0,5	0,5	
	3	0,4	0,8	
	4	0,6	0,7	
	5	0,7	0,9	
Rata-rata		0,56	0,72	
Satelit	1	0,5	0,8	0,7
	2	0,4	0,5	0,5
	3	0,5	0,8	0,6
	4	0,6	0,7	0,7
	5	0,6	0,9	0,4
Rata-rata		0,52	0,74	0,58

Data kadar kreatinin betina

Kelompok perlakuan	Tikus	Kadar kreatinin (mg/dl)		
		T ₀	T ₂₈	T ₄₂
Kontrol negatif	1	0,6	0,7	
	2	0,5	0,5	
	3	0,6	0,6	
	4	0,7	0,7	
	5	0,5	0,6	
Rata-rata		0,58	0,62	
Dosis 1	1	0,4	0,5	
	2	0,6	0,7	
	3	0,5	0,6	
	4	0,8	0,8	
	5	0,7	0,6	
Rata-rata		0,6	0,64	
Dosis 2	1	0,6	0,6	
	2	0,5	0,6	
	3	0,7	0,9	
	4	0,5	0,6	
	5	0,4	0,6	
Rata-rata		0,54	0,66	
Dosis 3	1	0,7	0,7	
	2	0,4	0,8	
	3	0,4	0,8	
	4	0,6	0,7	
	5	0,7	0,8	
Rata-rata		0,56	0,76	
Satelit	1	0,6	0,6	0,7
	2	0,5	0,9	0,5
	3	0,5	0,8	0,6
	4	0,4	0,6	0,7
	5	0,5	0,7	0,6
Rata-rata		0,5	0,72	0,62

Lampiran 18. Persen indeks organ ginjal

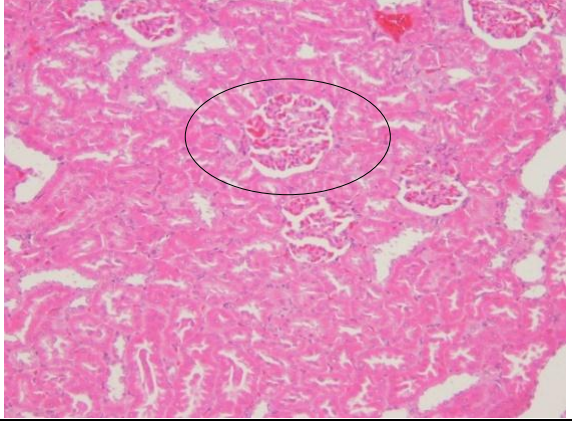
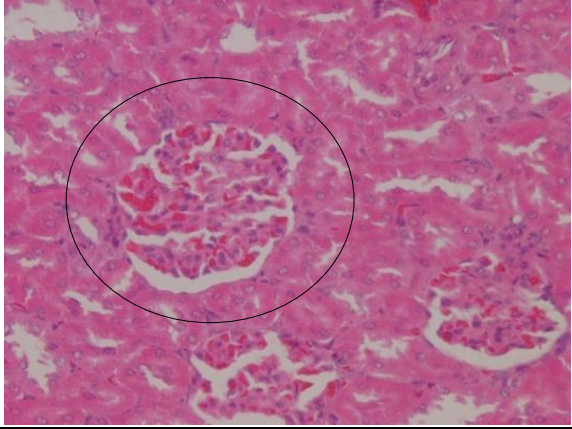
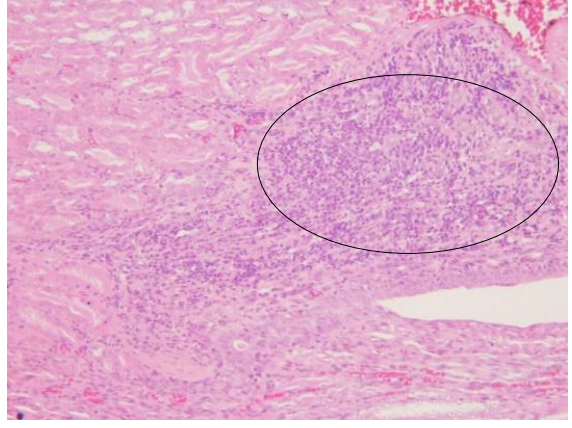
Kelompok perlakuan	BB tikus (gram)	Berat ginjal (gram)	% Indeks organ
Jantan			
Kontrol negatif	270	2,33	0,86
Kontrol negatif	260	2,12	0,82
Kontrol negatif	250	2,08	0,83
Dosis 1	265	2,22	0,84
Dosis 1	260	2,19	0,84
Dosis 1	260	2,09	0,80
Dosis 2	250	1,96	0,78
Dosis 2	250	2,15	0,86
Dosis 2	265	2,19	0,83
Dosis 3	270	2,21	0,82
Dosis 3	265	2,23	0,84
Dosis 3	260	2,21	0,85
Satelit	275	2,39	0,87
Satelit	270	2,22	0,82
Satelit	275	2,27	0,83
Betina			
Kontrol negatif	215	2,10	0,98
Kontrol negatif	220	2,03	0,92
Kontrol negatif	205	2,05	1,00
Dosis 1	220	2,09	0,95
Dosis 1	205	1,90	0,93
Dosis 1	215	1,98	0,92
Dosis 2	205	1,89	0,92
Dosis 2	185	1,88	1,02
Dosis 2	205	2,12	1,03
Dosis 3	195	2,00	1,03
Dosis 3	210	2,02	0,96
Dosis 3	185	1,78	0,96
Satelit	220	2,15	0,98
Satelit	200	1,97	0,99
Satelit	225	2,03	0,90

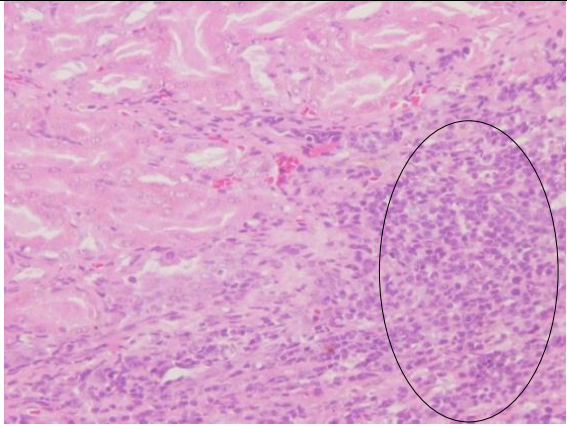
$$\% \text{ Indeks organ} = \frac{\text{Berat ginjal}}{\text{Berat badan tikus}} \times 100\%$$

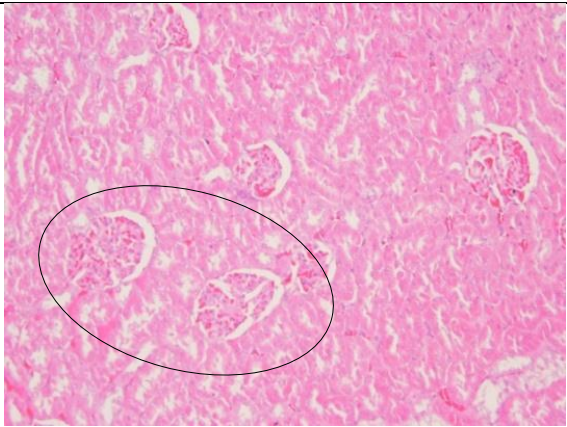
Lampiran 19. Hasil skoring pengamatan histopatologi ginjal

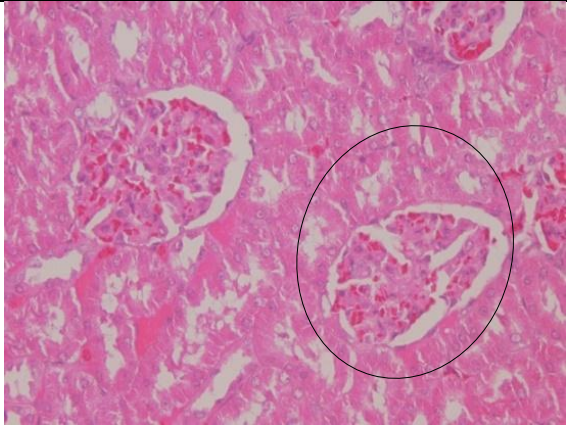
Kelompok perlakuan	Sel normal		Radang		Nekrosis		Total			Rata-rata
	N	Skor	N	Skor	N	Skor	N	Skor	Nilai	
LI 1	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0
LI 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
LI 3	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
LII 1	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0,05
LII 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
LII 3	85	0	0	0	15	1	100	15	0,15	
LIII 1	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0,07
LIII 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
LIII 3	79	0	0	0	21	1	100	21	0,21	
LIV 1	81	0	0	0	19	2	100	38	0,38	0,33
LIV 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
LIV 3	63	0	14	1	23	2	100	60	0,6	
LV 1	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0,18
LV 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
LV 3	73	0	0	0	27	2	100	54	0,54	
PI 1	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0
PI 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
PI 3	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
PII 1	61	0	0	0	39	1	100	39	0,39	0,13
PII 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
PII 3	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
PIII 1	69	0	0	0	31	1	100	31	0,31	0,23
PIII 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
PIII 3	43	0	34	1	23	1	100	57	0,57	
PIV 1	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0,30
PIV 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
PIV 3	55	0	12	2	33	2	100	90	0,9	
PV 1	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0,12
PV 2	100	0	0	0	0	0	100	0	0	
PV 3	64	0	0	0	36	1	100	36	0,36	

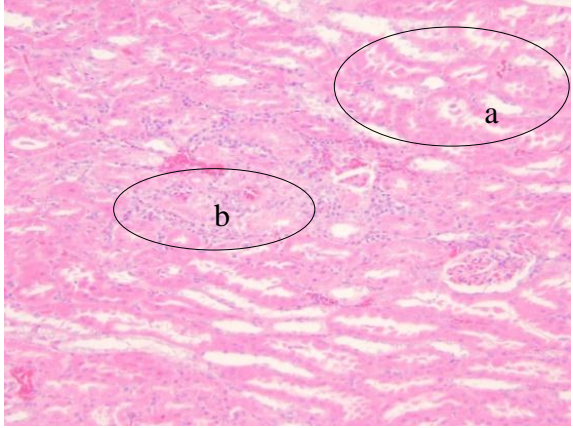
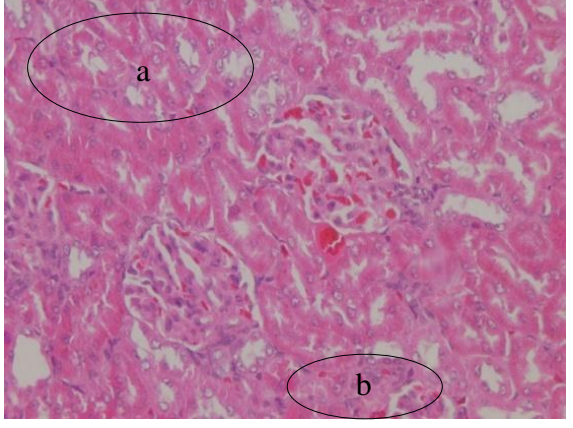
Lampiran 20. Pengamatan mikroskopis organ ginjal

Perbesaran 200 kali	
	<p>Keterangan</p> <p>Sel normal</p>
Perbesaran 400 kali	
	<p>Keterangan</p> <p>Sel normal</p>
Perbesaran 200 kali	
	<p>Keterangan</p> <p>Radang</p>

Perbesaran 400 kali	
	Keterangan Radang

Perbesaran 200 kali	
	Keterangan Sel normal

Perbesaran 400 kali	
	Keterangan Sel normal

Perbesaran 200 kali	
	<p>Keterangan</p> <p>a. : Nekrosis b. : Radang</p>
Perbesaran 400 kali	
	<p>Keterangan</p> <p>a. : Nekrosis b. : Radang</p>

Lampiran 21. Hasil uji statistik

BERAT BADAN JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB
N		135
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	239.74
	Std. Deviation	19.242
Most Extreme Differences	Absolute	.086
	Positive	.086
	Negative	-.082
Kolmogorov-Smirnov Z		1.002
Asymp. Sig. (2-tailed)		.268

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai Sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:BB

F	df1	df2	Sig.
.562	26	108	.954

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

Kesimpulan : Nilai Sig > 0,05 data homogen.

Multiple Comparisons

BB
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Dosis 125	.00	3.115	1.000	-8.64	8.64
	Dosis 250	11.60*	3.115	.003	2.96	20.24
	Dosis 500	7.40	3.115	.130	-1.24	16.04
	Dosis 500 (Satelit)	-9.49*	2.884	.012	-17.49	-1.48
Dosis 125	Kontrol Negatif	.00	3.115	1.000	-8.64	8.64
	Dosis 250	11.60*	3.115	.003	2.96	20.24
	Dosis 500	7.40	3.115	.130	-1.24	16.04
	Dosis 500 (Satelit)	-9.49*	2.884	.012	-17.49	-1.48
Dosis 250	Kontrol Negatif	-11.60*	3.115	.003	-20.24	-2.96
	Dosis 125	-11.60*	3.115	.003	-20.24	-2.96
	Dosis 500	-4.20	3.115	.662	-12.84	4.44
	Dosis 500 (Satelit)	-21.09*	2.884	.000	-29.09	-13.08
Dosis 500	Kontrol Negatif	-7.40	3.115	.130	-16.04	1.24
	Dosis 125	-7.40	3.115	.130	-16.04	1.24
	Dosis 250	4.20	3.115	.662	-4.44	12.84
	Dosis 500 (Satelit)	-16.89*	2.884	.000	-24.89	-8.88
Dosis 500 (Satelit)	Kontrol Negatif	9.49*	2.884	.012	1.48	17.49
	Dosis 125	9.49*	2.884	.012	1.48	17.49
	Dosis 250	21.09*	2.884	.000	13.08	29.09
	Dosis 500	16.89*	2.884	.000	8.88	24.89

Nilai sig > 0,05 terdapat perbedaan yang signifikan

Nilai sig < 0,05 tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Kesimpulan : Data mean different yang memiliki (*) terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok perbandingan.

BERAT BADAN BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BB
N		135
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	194.07
	Std. Deviation	15.188
Most Extreme Differences	Absolute	.088
	Positive	.088
	Negative	-.074
Kolmogorov-Smirnov Z		1.021
Asymp. Sig. (2-tailed)		.248

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai Sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:BB

F	df1	df2	Sig.
.537	26	108	.965

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

Kesimpulan : Nilai Sig > 0,05 data homogen.

Multiple Comparisons

BB
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Dosis 125	.40	3.194	1.000	-8.46	9.26
	Dosis 250	6.20	3.194	.302	-2.66	15.06
	Dosis 500	10.40	3.194	.013	1.54	19.26
	Dosis 500 (Satelit)	-2.40	2.957	.927	-10.60	5.80
Dosis 125	Kontrol Negatif	-.40	3.194	1.000	-9.26	8.46
	Dosis 250	5.80	3.194	.370	-3.06	14.66
	Dosis 500	10.00	3.194	.019	1.14	18.86
	Dosis 500 (Satelit)	-2.80	2.957	.878	-11.00	5.40
Dosis 250	Kontrol Negatif	-6.20	3.194	.302	-15.06	2.66
	Dosis 125	-5.80	3.194	.370	-14.66	3.06
	Dosis 500	4.20	3.194	.682	-4.66	13.06
	Dosis 500 (Satelit)	-8.60	2.957	.035	-16.80	-.40
Dosis 500	Kontrol Negatif	-10.40	3.194	.013	-19.26	-1.54
	Dosis 125	-10.00	3.194	.019	-18.86	-1.14
	Dosis 250	-4.20	3.194	.682	-13.06	4.66
	Dosis 500 (Satelit)	-12.80	2.957	.000	-21.00	-4.60
Dosis 500 (Satelit)	Kontrol Negatif	2.40	2.957	.927	-5.80	10.60
	Dosis 125	2.80	2.957	.878	-5.40	11.00
	Dosis 250	8.60	2.957	.035	.40	16.80
	Dosis 500	12.80	2.957	.000	4.60	21.00

Nilai sig > 0,05 terdapat perbedaan yang signifikan

Nilai sig < 0,05 tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Kesimpulan : Data mean defferent yang memiliki (*) terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok perbandingan.

KADAR BUN JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BUN
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16.20
	Std. Deviation	1.080
Most Extreme Differences	Absolute	.173
	Positive	.173
	Negative	-.171
Kolmogorov-Smirnov Z		.867
Asymp. Sig. (2-tailed)		.439

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.278	4	20	.312

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

BUN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.400	4	.100	.072	.990
Within Groups	27.600	20	1.380		
Total	28.000	24			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

KADAR BUN JANTAN T28

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BUN
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16.88
	Std. Deviation	1.269
Most Extreme Differences	Absolute	.222
	Positive	.222
	Negative	-.138
Kolmogorov-Smirnov Z		1.112
Asymp. Sig. (2-tailed)		.169

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.934	4	20	.144

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

BUN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.040	4	1.260	.750	.570
Within Groups	33.600	20	1.680		
Total	38.640	24			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

KADAR BUN BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BUN
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	15.48
	Std. Deviation	1.122
Most Extreme Differences	Absolute	.186
	Positive	.186
	Negative	-.174
Kolmogorov-Smirnov Z		.928
Asymp. Sig. (2-tailed)		.356

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.144	4	20	.963

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

BUN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.840	4	1.460	1.197	.343
Within Groups	24.400	20	1.220		
Total	30.240	24			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

KADAR BUN BETINA T28

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BUN
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16.52
	Std. Deviation	1.686
Most Extreme Differences	Absolute	.212
	Positive	.150
	Negative	-.212
Kolmogorov-Smirnov Z		1.060
Asymp. Sig. (2-tailed)		.211

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.183	4	20	.349

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

BUN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.840	4	6.960	3.446	.027
Within Groups	40.400	20	2.020		
Total	68.240	24			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

KADAR KREATININ JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kreatinin
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.492
	Std. Deviation	.1222
Most Extreme Differences	Absolute	.174
	Positive	.174
	Negative	-.132
Kolmogorov-Smirnov Z		.871
Asymp. Sig. (2-tailed)		.434

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.800	4	20	.539

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.058	4	.015	.973	.444
Within Groups	.300	20	.015		
Total	.358	24			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

KADAR KREATININ JANTAN T28

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kreatinin
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.624
	Std. Deviation	.1589
Most Extreme Differences	Absolute	.222
	Positive	.222
	Negative	-.146
Kolmogorov-Smirnov Z		1.112
Asymp. Sig. (2-tailed)		.168

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.354	4	20	.838

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.238	4	.059	3.228	.034
Within Groups	.368	20	.018		
Total	.606	24			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

KADAR KREATININ BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kreatinin
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.556
	Std. Deviation	.1158
Most Extreme Differences	Absolute	.206
	Positive	.206
	Negative	-.133
Kolmogorov-Smirnov Z		1.029
Asymp. Sig. (2-tailed)		.241

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.941	4	20	.143

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.030	4	.007	.507	.731
Within Groups	.292	20	.015		
Total	.322	24			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

KADAR KREATININ BETINA T28

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kreatinin
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.680
	Std. Deviation	.1118
Most Extreme Differences	Absolute	.243
	Positive	.243
	Negative	-.157
Kolmogorov-Smirnov Z		1.214
Asymp. Sig. (2-tailed)		.105

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.890	4	20	.488

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.068	4	.017	1.466	.250
Within Groups	.232	20	.012		
Total	.300	24			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

PERSENTASE INDEKS ORGAN GINJAL JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		IndeksOrgan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.8327
	Std. Deviation	.02344
Most Extreme Differences	Absolute	.161
	Positive	.111
	Negative	-.161
Kolmogorov-Smirnov Z		.624
Asymp. Sig. (2-tailed)		.831

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

IndeksOrgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.989	4	10	.457

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

IndeksOrgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	4	.000	.222	.920
Within Groups	.007	10	.001		
Total	.008	14			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

PERSENTASE INDEKS ORGAN GINJAL BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		IndeksOrgan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.9660
	Std. Deviation	.04273
Most Extreme Differences	Absolute	.134
	Positive	.134
	Negative	-.097
Kolmogorov-Smirnov Z		.517
Asymp. Sig. (2-tailed)		.952

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

IndeksOrgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.078	4	10	.159

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data homogen.

ANOVA

IndeksOrgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.006	4	.002	.783	.562
Within Groups	.019	10	.002		
Total	.026	14			

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.

HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Skoring
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	14.7000
	Std. Deviation	24.40343
Most Extreme Differences	Absolute	.393
	Positive	.393
	Negative	-.273
Kolmogorov-Smirnov Z		2.154
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

Test distribution is Normal.

Kesimpulan : Nilai sig < 0,05 data tidak terdistribusi normal.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Skoring	30	14.7000	24.40343	.00	90.00
HistopatologiGinjal	30	3.00	1.438	1	5

Ranks

	HistopatologiGinjal	N	Mean Rank
Skoring	1	6	10.50
	2	6	14.83
	3	6	17.42
	4	6	19.25
	5	6	15.50
Total		30	

Test Statistics^{a,b}

	Skoring
Chi-Square	4.748
df	4
Asymp. Sig.	.314

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

HistopatologiGinjal

Kesimpulan : Nilai sig > 0,05 data tidak ada perbedaan yang signifikan.