

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN CABE RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) PADA MENCIT PUTIH
BETINA**



oleh :

**Irwan Prasetyo
19133787A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN CABE RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) PADA MENCIT PUTIH
BETINA**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)*

Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

oleh :

**Irwan Prasetyo
19133787A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN CABE RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) PADA MENCIT PUTIH
BETINA**

Oleh :

**Irwan Prasetyo
19133787A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 24 mei 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan

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

Pembimbing,

Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Meta Kartika Untari, M. Sc., Apt.

Penguji :

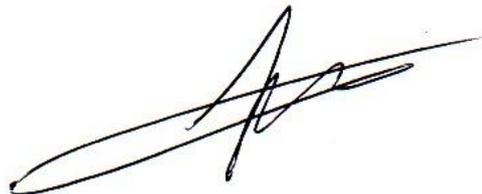
1. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt.
2. Yane Dila Keswara, S.Farm., M.Sc., Apt.
3. Vivin Nopiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt.
4. Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si., Apt.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 21 Mei 2017



Irwan Prasetyo

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Almahumah. Sri lestari, kedua orang tuaku, Ayahananda Suwandi dan ibunda Indrarini, dengan cinta, kasih sayang, perhatian, bimbingan dan doa beliau, skripsi ini dapat di selesaikan dan tak lupa adik saya ari prasetyo.
2. Buat ibu dosen Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si., Apt selaku dosen pembimbing utama dan Meta Kartika Untari, M. Sc., Apt selaku dosen pembimbing pendamping yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan bimbingan, nasehat, ilmu, dan motivasi selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
3. Sahabat saya yang memberikan dukungan Syaifudin juhri, Sholikin, Bondan, Satya, Wisanu, Anjas, Nugroho, Naren, Ponki, Reky, Satrio, Doni, Ade, Dita, Gotik, Ana, Saras, Ria, Zulfa, Riska, Revani, Ratna, Septyas, Atmita, Resa, Devi,.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan kasih dan sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN CABE RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) PADA MENCIT PUTIH BETINA**”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis meyakini bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan berbagai pihak. Oleh sebab itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan 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. Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si., Apt selaku dosen pembimbing utama dan Meta Kartika Untari, M. Sc., Apt selaku dosen pembimbing pendamping yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan bimbingan, nasehat, ilmu, dan motivasi selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
5. Segenap dosen, karyawan, dan staf Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran dan selesainya skripsi ini.

Surakarta, 24 Mei 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMABAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Kegunaan Penelitian.....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Tanaman Cabe Rawit	3
1. Sistematika tanaman	3
2. Nama lain tanaman	3
3. Deskripsi tanaman	3
4. Khasiat tanaman	4
5. Kandungan kimia	4
B. Metode Ekstraksi Simplisia	5
1. Pengertian simplisia	5
2. Pengeringan	5

C. Metode Penyarian	5
D. Toksisitas	7
1. Uji toksisitas akut	7
2. Uji toksisitas subronik	9
3. Uji toksisitas kronik	10
E. Metode Uji Toksisitas Akut	10
1. Metode konvensional	11
2. <i>Fixed dose method</i>	12
F. Binatang Percobaan	13
1. Sistematika tikus	13
2. Karakteristik utama tikus	13
3. Perlakuan binatang percobaan	13
4. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji	14
5. Teknik penanganan dan pemberian obat secara oral	14
6. Jenis kelamin tikus	15
7. Pengamatan gejala hewan percobaan	15
G. Landasan Teori	18
H. Hipotesis	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	20
A. Populasi dan Sampel	20
B. Variabel Penelitian	20
1. Identifikasi variabel utama	20
2. Klasifikasi variabel utama	20
3. Definisi operasional variabel utama	21
C. Bahan dan Alat	22
1. Bahan	22
2. Alat	22
D. Jalannya Penelitian	22
1. Determinasi tanaman	22
2. Pengambilan, pengeringan dan pembuatan serbuk	22
3. Identifikasi kandungan kimia serbuk	23
4. Penetapan kemebaran	23
5. Penetapan kadar air	24
6. Pembuatan ekstrak etanol daun cabe rawit	24
7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak	25
8. Uji bebas etanol	25
9. Pemilihan hewan uji	25
10. Pengujian toksisitas daun cabe rawit	26
E. Analisis Hasil	30

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	31
A. Hasil dan Pembahasan Penelitian	31
1. Determinasi tanaman	31
2. Hasil pengambilan bahan	31
3. Hasil rendemen serbuk tanaman	31
4. Hasil penetapan kelembaban serbuk tanaman	32
5. Identifikasi kandungan kimia serbuk daun cabe rawit	32
6. Hasil penetapan kadar serbuk tanaman	33
7. Pembuatan ekstrak	34
8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabe rawit	34
9. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit	35
10. Penetapan dosis	36
B. Hasil dan Pembahasan Uji Toksisitas Akut	36
1. Hasil uji efek toksisitas akut sediaan ekstrak daun cabe rawit	36
2. Hasil pengamatan gejala toksik	37
3. Hasil rata-rata bobot organ	41
4. Pengamatan makroskopatologi	42
BAB V KESIMPULAN dan SARAN	44
A. Kesimpulan	44
B. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun cabe rawit	24
2. Skema pengujian toksisitas akut	29
3. Makrospatologi organ	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kalsifikasi potensi ke toksikan akut	8
2. Hubungan tanda-tanda keracunan	17
3. Perubahan perilaku	27
4. Hasil rendemen serbuk	31
5. Hasil penetapan kelembaban serbuk	32
6. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk	33
7. Hasil penetapan kadar air serbuk	34
8. Hasil persentase rendemen ekstrak	34
9. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak	35
10. Hasil uji bebas etanol	36
11. Hasil persentase kematian hewan uji	37
12. Hasil perubahan perilaku <i>grooming</i>	38
13. Hasil perubahan perilaku <i>haffner</i>	38
14. Hasil uji pina reflek	39
15. Hasil uji respon terhadap rangsangan	40
16. Hasil uji <i>ptosis</i>	40
17. Rata-rata bobot organ mencit	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Determinasi tanaman cabe rawit	49
2. Hasil rendemen serbuk	50
3. Uji kandungan zat kimia	51
4. Hasil rendemen ekstrak	53
5. Surat keterangan mencit	54
6. Perhitungan dosis	55
7. Berat badan mencit	61
8. Foto bahan dan alat	62
9. Penimbangan berat organ mencit	64
10. perhitungan masa indeks organ mencit	65
11. Tabel probit	66
12. Perubahan perilaku hewan uji	67
13. Hasil uji statistik berat organ mencit	70
14. Foto organ mencit	79

DAFTAR SINGKATAN

Kg	: Kilogram
BB	: Berat badan
LD ₅₀	: Lethal Dose
Mg	: mili gram
g	: gram
LC ₅₀	: Lethal Concentration
µg	: micro gram
no	: nomor

INTISARI

PRASETYO, I., 2017, UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN CABE RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) PADA MENCIT PUTIH BETINA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITASSETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) secara empiris banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat jerawat. Selain itu, daun cabe rawit juga digunakan sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efek toksik, mengetahui nilai LD₅₀ dan gejala klinis pada ekstrak etanol daun cabe rawit.

Ekstrak yang diperoleh diuji toksisitas akutnya menggunakan mencit sebanyak 35 ekor dibagi dalam 7 kelompok yaitu kontrol normal, kontrol negatif, dan perlakuan diberi ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 5 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, 2000 mg/kg BB, dan dosis 5000 mg/kg BB yang diberikan secara oral hanya satu kali pemberian pada awal masa penelitian. Pengamatan dilakukan setiap hari meliputi gejala toksik, kematian mencit, LD₅₀, BB, berat organ dan makropatologi.

Hasil pengamatan tidak ditemukan gejala toksik pada semua dosis. Pada uji statistik tidak ada perbedaan yang signifikan antara masa indeks organ dan perubahan perilaku dengan pemberian ekstrak daun cabe rawit ($p > 0,05$). Terdapat perubahan warna organ pada kelompok dosis 2000 mg/kg BB dan dosis 5000 mg/kg BB. Kesimpulan ekstrak daun cabe rawit tidak toksik, ekstrak tergolong tidak toksik untuk pemberian tunggal dengan LD₅₀ sebesar 5000 mg/Kg BB dan mempengaruhi gejala klini, makroskopatologi pada mencit putih betina.

Kata kunci: uji toksisitas akut, LD₅₀, ekstrak etanol, daun cabe rawit

ABSTRACT

PRASETYO, I., 2017, ACUTE TOXICITY TO EXTRACT ETHANOL OF CABE RAWIT LEAF (*Capsicum frutescens L.*) ON WHITE WHITE FEMALE, THIRIPSY, PHARMACEUTICAL FACULTY, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Chili leaves (*Capsicum frutescens L.*) is empirically widely used by the community as an acne medicine. In addition, chili pepper leaf is also used as an antioxidant. The purpose of this research is to know the toxic effect, to know the value of LD50 and clinical symptoms on ethanol extract of chili leaf.

The extract obtained was tested for acute toxicity using mice as much as 35 individuals divided into 7 groups: normal control, negative control, and treated with ethanol extract of chili leaves dose 5 mg / kg, 50 mg / kg, 300 mg / kg, 2000 Mg / kg BW, and a dose of 5000 mg / kg BW administered orally only once at the beginning of the study period. Daily observations included toxic symptoms, mortality of mice, LD50, BB, organ weight and macropathology.

No toxic symptoms were observed at all doses. In the statistical test, there was no significant difference between the time of the organ index and the behavior change with the giving of chili leaf extract ($p > 0,05$). There was a change of organ color in group of dose 2000 mg / kg BW and dose 5000 mg / kg BW. The conclusion of chili leaf extract was not toxic, the extract classified as non toxic for single administration with LD50 of 5000 mg / Kg BW and influenced clini phenomenon, macrospatology in female white mice.

Keywords: acute toxicity test, LD50, ethanol extract, chili leaf

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Bentuk pengobatan terhadap berbagai penyakit terus dikembangkan baik secara modern maupun tradisional. Salah satu bentuk pengobatan yang saat ini banyak digunakan adalah pengobatan tradisional menggunakan bahan-bahan yang berasal dari tanaman. Khasiat berbagai tanaman obat tersebut telah banyak dibuktikan melalui pengalaman empiris dari banyaknya penyakit yang dapat disembuhkan, juga telah banyak dilakukan penelitian-penelitian ilmiah mengenai tanaman-tanaman memiliki khasiat pengobatan.

Obat tradisional merupakan produk yang terbuat dari bahan alam yang jenis dan sifat kandungannya sangat beragam dan secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Depkes 2007). Penggunaan tanaman obat sebagai obat alternatif dalam pengobatan oleh masyarakat khususnya di Indonesia semakin meningkat, sehingga diperlukan penelitian agar penggunaannya sesuai dengan kaidah pelayanan kesehatan, yaitu secara medis harus dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah tentang khasiat, keamanan, dan standar kualitasnya.

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai bahan baku obat adalah daun cabe rawit, tanaman ini termasuk keluarga *Capsicum*. Berdasarkan penelitian (Yunita 2012) daun cabe rawit mengandung senyawa glikon dan flavonoid. Secara empiris daun cabe rawit sering digunakan untuk obat jerawat . Setelah diteliti ternyata daun cabe rawit ini memiliki khasiat sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} fraksi teraktif dari ekstrak metanol yaitu 72,07 $\mu\text{g/ml}$ (Yunita 2012) dan antibakteri pada konsentrasi 70%, 80%, 90% , 100% ekstrak daun cabe rawit terbukti memberikan daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* (Rahim *et al.* 2014).

Penelitian mengenai toksisitas dari tanaman daun cabe rawit ini belum ada sehingga perlu diteliti lebih lanjut agar dapat diketahui batas keamanan dari tanaman daun cabe rawit tersebut untuk penggunaan obat herbal dan tidak

menimbulkan efek berbahaya bagi masyarakat dan diharapkan ke depannya dapat dikembangkan menjadi sebuah produk yang aman untuk masyarakat. Parameter dari uji toksisitas akut adalah gejala klinis, makropatologi, berat badan, indeks organ dan nilai LD₅₀. Prinsip uji toksisitas akut ini yang dilakukan pada hewan percobaan yang sehat diberikan ekstrak daun cabe rawit.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol daun cabe rawit mempunyai efek toksik akut terhadap mencit putih betina?

Kedua, berapakah harga LD₅₀ ekstrak etanol daun cabe rawit terhadap mencit putih betina?

Ketiga, apakah ekstrak etanol daun cabe rawit berpengaruh terhadap gejala klinis, berat badan, indeks organ, perubahan makropatologi organ pada mencit putih betina?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui ada tidaknya efek toksik akut pada ekstrak etanol daun cabe rawit terhadap mencit putih betina.

Kedua, untuk mengetahui harga LD₅₀ pemberian ekstrak etanol daun cabe rawit terhadap mencit putih betina.

Ketiga, untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun cabe rawit pada gejala klinis, berat badan, indeks organ, perubahan makropatologi organ pada mencit putih betina.

D. Kegunaan Penelitian

Manfaat bagi peneliti dapat mengidentifikasi nilai LD₅₀ dari ekstrak etanol daun cabe rawit terhadap tikus putih betina galur wistar yang digunakan dalam uji toksisitas akut dan hasil nilai LD₅₀ ekstrak yang di peroleh dapat menjadi pertimbangan bagi penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Cabai Rawit

1. Klasifikasi tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Klasifikasi tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida (Dicotyledoneae)
Subkelas	: Asteridae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Solanaceae
Marga	: Capsicum
Jenis	: <i>Capsicum frutescens</i> L.
Sinonim	: <i>Capsicum fastigiantum</i> Blume. <i>Capsicum minimum</i> Roxb. (Yunita 2012).

2. Nama lain tanaman cabai rawit

Tanaman cabe rawit di Indonesia, dikenal dengan nama daerah leudeuaarum (Sumatra), lombok rawit (Jawa), cabai cengek (Sunda), cabhi letek (Madura), lada marica (Makasar), dan berbagai nama daerah lainnya (Dalimartha 2002).

3. Deskripsi tanaman

Tanaman cabai rawit berupa tanaman perdu setinggi 50 cm sampai 150 cm, batang berbuku-buku atau bagian atasnya bersudut, tidak berbulu. Daun berbentuk bundar telur sampai lonjong atau bundar telur meruncing. Mahkota bunga berbentuk bintang, berwarna putih, putih kehijauan atau kadang-kadang ungu, garis tengahnya 1,75 mm sampai 2 mm. Kelopak bunga

berbulu dan tidak berbulu, panjang 2 mm sampai 3 mm. Buah tegak kadang hibrid buah merunduk, berbentuk bulat telur, jorong panjang 0,75 mm sampai 1,50 mm, lebar 2,5 cm sampai 12 cm, buah muda berwarna hijau tua putih kehijauan dan putih, apabila masak berwarna merah terang. Cabai rawit diperbanyak dengan biji (Yunita 2012).

Ada tiga varietas cabai rawit, yakni: (1) cabai rawit atau cengek leutik: buahnya kecil, berdiri tegak pada tangkainya, yang muda berwarna hijau, setelah tua berubah jadi merah; (2) cengek domba atau cengek bodas: buahnya lebih besar dari cengek leutik, yang muda berwarna putih setelah tua berubah jadi jingga; (3) ceplik: buahnya besar, yang muda berwarna hijau setelah tua berubah jadi merah (Yunita 2012).

Tanaman cabai rawit berasal dari Amerika di daerah tropik. Tumbuh di Pulau Jawa dan daerah lainnya di Indonesia. Di Jawa tanaman cabai rawit tumbuh di dataran rendah hingga pegunungan, yaitu pada ketinggian tempat 0,5 m sampai 1.250 m di atas permukaan laut. Tanaman ini sering ditanam orang atau tumbuh secara liar di tepi tegalan, di pekuburan, dan di hutan yang terbuka (Yunita 2012).

4. Khasiat

Kapsaisin dan dihidrokapsaisin merupakan komponen penyusun kapsaisinoid dalam jumlah lebih dari 80% (Perucka & Materska 2001). Sifat analgesik kapsaisinoid digunakan dalam produksi sediaan seperti salep maupun plester untuk mengatasi iritasi, pada reumatik, lumbago, dan lain-lain. Krim kapsaisin mampu mengatasi sakit kepala pada osteoarthritis, pascaneuralgia herpes, dan neuropatik diabetik. Selain itu, kapsaisinoid mempengaruhi metabolisme lemak, yang terpenting terutama dalam diet kaya lemak dan karbohidrat (Perucka & Materska 2001).

5. Kandungan kimia

Tanaman cabai rawit mengandung saponin, flavonoid, dan tanin. Bagian buah mengandung vitamin C, alanin, asam askorbat, beta karoten, asam kafeat, kampesterol, kapsaisin, kapsantin, hesperidin, histidin, lutein,

metionin, mirsen, asam miristat, asam p-kumarat, asam palmitat, asam pentadekanoat, kuersetin, skopoletin, stigmasterol, terpinen-4-ol, tokoferol, triptofan. Bagian batang mengandung asam klorogenat. Bagian biji mengandung asam miristat dan asam palmitat. Bagian daun cabe rawit mempunyai senyawa flavonoid dan senyawa glikon (Yunita 2012).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman eksudat tanaman, atau gabungan dari ketiganya. Simplisia hewani adalah zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI 1985).

2. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan simplisia ialah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan di bawah sinar matahari dan pengeringan teduh. Kelemahan pengeringan di bawah sinar matahari yaitu membutuhkan suhu dan kelembaban yang tidak terkontrol, membutuhkan tempat yang luas dan terbuka sehingga kemungkinan terjadi kontaminasi mikroba lebih besar. Pengeringan di tempat teduh biasanya digunakan untuk bahan baku simplisia yang kandungan utamanya minyak atsiri atau senyawa lain yang sifatnya termolabil (Depkes RI 1985).

C. Metode Penyarian

Penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein

dan lain-lain. Metode penyarian yang digunakan bergantung pada wujud dan kandungan zat alam yang akan disari. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus mempunyai kemampuan dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang diinginkan (Depkes RI 1986).

Proses ekstraksi adalah proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut terpilih dimana zat tersebut larut. Ekstrak adalah sediaan berupa kering, kental dan cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari. Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut (Ansel 2011).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Carian penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria berikut ini yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan terbakar, dan selektif (hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki serta tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat (Depkes RI 1986).

Etanol 70% adalah campuran dua bahan pelarut etanol dan air dengan kadar etanol 70% (v/v). Etanol sangat selektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil larut dalam cairan pengestraksi (Voigt 1984). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah 70% untuk menyari daun cabe rawit.

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

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 manusia.

Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/ sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia. Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* dapat dipercaya adalah: pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan; cara pemberian sediaan uji; pemilihan dosis uji; efek samping sediaan uji; teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan (BPOM 2014)

Penelitian toksikologi biasanya dibagi menjadi tiga kategori yaitu:

1. Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir

percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas (BPOM 2014).

LD₅₀ adalah suatu besaran yang diturunkan secara statistik, guna menyatakan dosis tunggal sesuatu senyawa yang diperkirakan dapat mematikan atau menimbulkan efek toksik yang berarti pada 50% hewan coba setelah perlakuan (WHO 1993). LD₅₀ merupakan tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal. Beberapa pendapat menyatakan tidak setuju, bahwa LD₅₀ masih dapat digunakan untuk uji toksisitas akut. Namun demikian, ada beberapa kalangan yang setuju, bahwa LD₅₀ masih dapat digunakan untuk uji toksisitas akut dengan pertimbangan antara lain jika dilakukan dengan baik, uji toksisitas akut tidak hanya mengukur LD₅₀, tetapi juga memberikan informasi tentang waktu kematian, penyebab kematian, gejala-gejala sebelum kematian, organ yang terkena efek, dan kemampuan pemulihan design penelitian subakut. Uji LD₅₀ tidak menggunakan waktu yang lama (Loomis 1978).

Hasil dari uji LD₅₀ yang harus dilaporkan selain jumlah hewan yang mati, juga harus disebutkan durasi pengamatan. Bila pengamatan dilakukan dalam 24 jam setelah perlakuan, maka hasilnya tertulis LD₅₀ 24 jam. Namun seiring LD₅₀ dilakukan dalam 24 jam pertama sehingga penulisan hasil test LD₅₀ saja sudah cukup untuk mewakili test LD₅₀ yang diamati dalam 24 jam. Pada umumnya, semakin kecil nilai LD₅₀, semakin toksik senyawa tersebut. Demikian juga sebaliknya, semakin besar nilai LD₅₀, semakin rendah toksisitasnya. Potensi ketoksikan akut senyawa pada pada hewan coba dibagi menjadi beberapa kelas, adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Klasifikasi potensi ketoksikan akut (BPOM 2014).

Tingkat toksisitas	Klasifikasi	LD ₅₀ (mg/KgBB)
1	Luar biasa toksik	≤ 1
2	Sangat toksik	1 – 50
3	Cukup toksik	50 – 500
4	Sedikit toksik	500 – 5000
5	Praktis tidak toksik	5000 – 15000
6	Relatif kurang berbahaya	≥ 15000

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi nilai LD₅₀ antara lain spesies, strain, jenis kelamin, umur, berat badan, gender, kesehatan nutrisi, dan isi perut hewan coba. Teknis pemberian juga mempengaruhi hasil, antara lain waktu pemberian, suhu lingkungan, kelembaban, sirkulasi udara. Tidak luput kesalahan manusia juga dapat mempengaruhi hasil ini. Sehingga sebelum melakukan penelitian, ada baiknya kita memperhatikan faktor – faktor yang mempengaruhi hasil ini (Hodgson & Ernest 2000).

2. Uji toksisitas subkronik

Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversibel*. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi, dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi (BPOM 2014).

Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi. Tujuan uji toksisitas subkronis oral adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut; informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut.

3. Uji toksisitas kronik

Uji toksisitas kronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sampai seluruh umur hewan. Uji toksisitas kronis pada prinsipnya sama dengan uji toksisitas subkronis, tetapi sediaan uji diberikan selama tidak kurang dari 12 bulan. Tujuan dari uji toksisitas kronis oral adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang selama waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik. Uji toksisitas kronis harus dirancang sedemikian rupa sehingga dapat diperoleh informasi toksisitas secara umum meliputi efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis dan histopatologi (BPOM 2014).

Parameter dari uji toksisitas akut adalah LD_{50} yang dapat digunakan untuk mengklasifikasikan ketoksikan suatu senyawa, dan gejala-gejala klinis yang timbul selama percobaan. *Lethal Dose 50%* (LD_{50}) adalah suatu dosis dalam suatu senyawa yang akan menimbulkan kematian pada 50% hewan uji. LD_{50} merupakan suatu harga sebenarnya yang diperoleh secara statistika. Gambaran estimasi yang paling baik dari dosis yang diperlukan untuk dapat menimbulkan kematian pada 50% hewan uji maka selalu disertai purata estimasi dari harga kesalahan, seperti probabilitas kisaran nilainya (Loomis 1978).

E. Metode Uji Toksisitas Akut

Pada awalnya toksistas akut diuji menggunakan metode konvensional, namun metode ini mempunyai kelemahan yaitu hewan uji yang dibutuhkan dalam menentukan parameter akhir cukup banyak, dimana bertentangan dengan *animal welfare*. Oleh karena itu pada tahun 1984 telah dibuat metode alternatif dimana hewan yang digunakan jumlahnya lebih sedikit yaitu metode *Up and Down Procedure*, *Fixed Dose Method* dan *Toxic Class Method*. Jumlah hewan yang digunakan pada uji alternatif lebih sedikit dibandingkan dengan metode konvensional (BPOM 2014).

1. Metode konvensional

Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lainnya). Syarat hewan uji adalah sehat, umur 5-6 minggu untuk mencit, 8-12 minggu untuk tikus. Sekurang-kurangnya 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor dengan jenis kelamin sama (jantan atau betina). Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak melebihi 20% dari rata-rata berat badan. Jika digunakan hewan uji berkelamin betina, maka hewan uji tersebut harus nullipara dan tidak sedang bunting. Dosis uji yang digunakan sekurang-kurangnya adalah 3 dosis berbeda. Dosis terendah adalah dosis tertinggi yang sama sekali tidak menimbulkan kematian, sedangkan dosis tertinggi adalah dosis terendah yang menimbulkan kematian 100 %. Dengan interval dosis yang mampu menghasilkan rentang toksisitas dan angka kematian. Data ini akan diperoleh suatu kurva dosis-respon yang dapat digunakan untuk menghitung nilai LD₅₀.

Batas uji metode konvensional ini adalah bila hingga dosis 5000 mg/Kg BB (pada tikus) tidak menimbulkan kematian, maka uji tidak perlu dilanjutkan dengan menggunakan dosis bahan uji yang lebih tinggi. Pengamatan dilakukan tiap hari selama sekurang-kurangnya 14 hari terhadap sistem kardiovaskuler, pernafasan, somatomotor, kulit, bulu, mukosa, mata. Perhatian khusus diberikan akan adanya tremor, kejang, salivasi, diare, letargi, lemah, tidur dan koma. Pengamatan meliputi waktu timbul dan hilangnya gejala toksik serta saat terjadinya kematian. Hewan uji yang sekarat dikorbankan dan dimasukkan dalam perhitungan sebagai hewan yang mati. Hewan ditimbang sedikitnya 2 kali dalam 1 minggu. Nilai LD₅₀ dihitung dengan metode *Thompson & Weil*, *Litchfield & Wilcoxon*, *Miller & Tainter*, regresi linear/probit atau metode statistik lainnya. Semua hewan yang mati, baik yang mati dengan sendirinya atau yang mati dalam keadaan moribound digabungkan jumlahnya untuk penghitungan nilai LD₅₀ (BPOM 2014).

2. *Fixed dose method*

Metode ini digunakan untuk bahan uji dengan derajat toksisitas sedang dan dosis yang dipilih adalah yang tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat atau iritatif/ korosif. Prinsip dari metode *fixed dose* ini adalah Sekelompok hewan uji dengan jenis kelamin yang sama diberikan dosis bertingkat menggunakan metode fixed doses antara lain: 5, 50, 300 dan 2000 mg/Kg BB (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/Kg BB). Dosis awal dipilih berdasarkan uji pendahuluan sebagai dosis yang dapat menimbulkan gejala toksisitas ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik yang berat atau kematian. Prosedur ini dilanjutkan hingga mencapai dosis yang menimbulkan efek toksik atau ditemukan tidak lebih dari 1 kematian, atau tidak tampak efek toksik hingga dosis yang tertinggi atau adanya kematian pada dosis yang lebih rendah. Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lainnya). Kriteria hewan uji yaitu hewan sehat dan dewasa, hewan betina harus yang belum pernah beranak dan tidak sedang bunting, pada permulaan uji setiap hewan harus berumur 8-12 minggu dengan variasi berat badan tidak boleh melebihi 20% dari rata-rata berat badan (BPOM 2014).

Tujuan dari uji pendahuluan adalah mencari dosis awal yang sesuai untuk uji utama. Dosis awal pada uji pendahuluan dapat dipilih dari tingkatan *fixed dose*: 5, 50, 300 dan 2000 mg/Kg BB sebagai dosis yang diharapkan dapat menimbulkan efek toksik. Pemeriksaan menggunakan dosis 5000 mg/Kg hanya dilakukan bila benar-benar diperlukan. Diperlukan informasi tambahan yaitu data-data toksisitas *in vivo* dan *in vitro* dari zat-zat yang mempunyai kesamaan secara kimiawi dan struktur. Jika informasi tersebut tidak ada, maka dosis awalnya ditentukan sebesar 300 mg/Kg BB. Interval waktu pengamatan sekurang-kurangnya 24 jam pada setiap dosis dan semua hewan harus diamati sekurang – kurangnya selama 14 hari (BPOM 2014). Pengamatan yang dilakukan termasuk pada: kulit, bulu, mata, membran mukosa dan juga sistem pernafasan, sistem syaraf otonom, sistem syaraf pusat, aktivitas somatomotor serta tingkah laku. Pengamatan lain pada kondisi: gemetar, kejang, salivasi, diare, lemas, tidur dan

koma. Penelitian ini menggunakan metode *fixed dose* karena sebagai dosis awal yang dapat menimbulkan gejala toksisitas ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik yang berat atau kematian.

F. Binatang Percobaan

1. Sistematika mencit

Kedudukan mencit dalam sistematika adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Subclass	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus Musculus</i> (Sugiyanto 1995).

2. Karakteristik utama mencit

Kehadiran manusia akan menghambat aktivitas mencit, dalam laboratorium mencit mudah ditangani, mencit bersifat penakut, fotofobik, cenderung berkumpul dengan semuanya, punya kecenderungan untuk bersembunyi dan akan lebih aktif pada malam hari. (Sugiyanto 1995).

3. Perlakuan binatang percobaan

Mencit yang dipakai dalam penelitian ini adalah mencit putih betina rentang umur 2-3 bulan dengan berat badan 20 g. Menghindari stres pada hewan uji saat perlakuan maka, mencit harus diadaptasikan dengan kondisi laboratorium terlebih dahulu selama 7 hari dari pada hari terakhir dipuasakan selama 12 jam tapi tetap diberi minum, tujuannya adalah agar kondisi hewan uji tetap sama dan untuk mengurangi pengaruh perubahan cuaca terutama temperatur dan kelembapan. Pemberian senyawa pada hewan coba memiliki dosis maksimum yaitu 5000mg/Kg BB (Kram 2006) dan batas maksimum volume cairan yang boleh diberikan pada hewan uji (Nurlaila 1992).

4. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji

Ruangan yang digunakan untuk percobaan hendaknya memenuhi persyaratan suhu, kelembaban, cahaya dan kebisingan yang sesuai dengan kebutuhan hidup hewan uji, yaitu suhu ruangan diatur menjadi $22^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$, dengan kelembaban relatif 30–70%, dan penerangan 12 jam terang 12 jam gelap. Ruangan harus selalu dijaga kebersihannya. Hewan diberi pakan yang sesuai standar laboratorium dan diberikan tanpa batas (*ad libitum*). Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material yang kedap air, kuat dan mudah dibersihkan, ruang pemeliharaan bebas dari kebisingan. Luas area kandang perekor hewan untuk mencit 20 g luas alas kandang $148,4 \text{ cm}^2$, tinggi 17,8 cm (BPOM 2014).

5. Teknik penanganan dan pemberian obat secara oral

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

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

Cara pemegangan yang salah dapat menyebabkan antara lain: 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 (BPOM 2014).

6. Jenis kelamin mencit

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

7. Pengamatan gejala hewan percobaan

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

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

Perubahan pada *neurologi profile*. Perubahan pada *central excitasi* yang terdiri dari penilaian respon ketegangan (*straub respon*) terlihat pada ekor yang tegang terlihat kaku dan tegak lurus dengan lantai karena stimulasi SSP khususnya sumsum tulang belakang, gemetar (*tremor*), kejang (*convulsion*). Perubahan pada *motor incoordinator* yang terdiri dari penilaian gejala *abduksi*

yang dapat terlihat dari kaki hewan uji yang terbuka menunjukkan adanya depresi SSP atau fungsi neuromuskular, sempoyongan (*ataksia*) yang terlihat dari cara berjalan mencit, dan reaksi refleks (*righting refleks*) yaitu kemampuan mencit untuk membalikkan diri apabila mencit diletakkan terlentang dilantai. Perubahan pada refleks hewan uji dapat berupa pina refleks yaitu gerakan menghindari rangsangan pada telinga, refleks korne yaitu gerakan menghindari rangsangan mekanis pada kornea mata, dan refleks epsilateral jika bantalan jari kaki yang dipijat dengan pinset maka terlihat usaha melipatnya jari kaki mencit.

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

Tabel 2. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ badan beserta sistem urat syaraf (Harmita & Radji 2005)

No.	Sistem	Tanda-tanda Keracunan
1.	Syaraf otonom	<i>Exophthalmos</i> (mata memerah), hidung berlendir, liur keluar, mencret, sering kencing, poliereksi dan <i>relaxed nictitating membrane</i> .
2.	Perilaku	Kurang tenang, gelisah, posisi duduk kepala mendongak, memandang kosong kedepan, kepala menunduk, depresi berat, kaki menggaruk-garuk, terengah-engah, mudah terganggu, sikap bermusuhan agresif maupun defensif, ketakutan, bingung, dan aktivitas aneh.
3.	Perasa/Sensory	Sensitif terhadap rasa sakit, <i>rigthing</i> , kornea labirin (rongga telinga), refleks setempat dan kaki belakang, sensitif terhadap sura dan sentuhan, nistagmus, dan <i>ponation</i> .
4.	Syaraf otot	Aktivitas meningkat atau menurun, <i>fasciculation</i> , gemetar, kejang-kejang, tidak bisa digerakkan, <i>prostation</i> , ekor membengkok ke bawah ke muka, kaki belakang lemah, reflek jelek <i>ophisthotonus</i> , kedutan, dan kematian.
5.	Urat darah jantung	Detak jantung naik atau turun, sianosis, penyumbatan / gangguan urat darah jantung, pelebaran urat darah jantung, pendarahan.
6.	Respiratory/ Pernafasan	<i>Hypopnea</i> , <i>dyspnea</i> , megap-megap, dan <i>apnea</i> .
7.	Ocular/mata	Midriasis, miosis, lakrimasi, ptosis, nistagmus, siklopledia, dan <i>pupillary light</i> refleksi.
8.	Gastrointestinal/ gastrourinary	Air liur keluar terus, mencret, kotoran dan air seni berdarah, sembelit, <i>rhinorrhea</i> , kencing dan buang air besar tidak terkontrol.
9.	Cutaneous (kulit)	Alopesia, piloereksi, gemeter seperti anjing badannya basah, eritema, edema, nekrosis (bercak-bercak), dan bengkak.

G. Landasan Teori

Sebagai obat tradisional, *Capsicum frutescens* dikatakan memiliki efek tonik, stimulan kuat untuk jantung dan aliran darah, antirheumatik, antikoagulan, antitrombosis, stomakikum (meningkatkan nafsu makan), *rubefacient* (mengakibatkan inflamasi dan kemerahan pada kulit sehingga sering digunakan sebagai campuran obat gosok), anestetik, antihaemorroidal, dan antiseptik (Astawan & Kasih 2008).

Kandungan capsaicin dalam *Capsicum frutescens* dalam kadar tertentu dapat bersifat toksik dan menimbulkan ancaman kesehatan. Ancaman kesehatan tersebut dapat berupa reaksi inflamasi, gangguan fungsi sel, bahkan sampai kematian sel (Gozomora 2009). Selain capsaicin, beberapa senyawa yang terkandung dalam buah cabai rawit adalah alkaloid, flavonoid, dan sterol atau terpenoid dan biji cabai rawit mengandung beberapa senyawa golongan alkaloid yaitu solanine, solamidine, solamargine, solasodine, solasomine, serta mengandung capsacidin yang termasuk golongan steroid saponin. Pada kadar tertentu, senyawa tersebut di duga dapat bersifat toksik (Alex 2013).

Berdasarkan penelitian (Andika & Suhardjono 2010), pemberian ekstrak etanol buah cabai rawit memiliki potensi toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$, yaitu sebesar $93.397 \mu\text{g/ml}$. Toksisitas akut merupakan uji tunggal yang terdiri atas pemberian suatu senyawa pada hewan uji pada satu waktu untuk menentukan gejala dan tingkat letalitas suatu senyawa. Parameter dari uji toksisitas akut adalah gejala-gejala klinis yang muncul, dan nilai LD_{50} . LD_{50} merupakan tahapan awal untuk menentukan keamanan suatu zat aktif yang akan dikonsumsi oleh manusia dengan menentukan besarnya dosis yang dapat menyebabkan kematian pada 50% populasi penggunaan suatu bahan (Loomis 1978). Uji toksisitas akut dapat dilakukan sebagai langkah awal untuk mengetahui adanya sifat toksik yang dapat timbul dengan cepat pada penggunaan daun cabai rawit.

Prinsip uji toksisitas akut ini yang dilakukan pada hewan percobaan yang sehat diberikan ekstrak daun cabai rawit secara oral dengan dosis yang dapat

menyebabkan kematian 50% kelompok hewan uji mati pada sekali pemberian dan diberi kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan sediaan uji. Pengamatan pada setiap gejala klinis yang timbul setelah perlakuan, perubahan makropatologi, berat badan, indeks organ dan pencatatan jumlah hewan uji yang mengalami kematian. Data berupa kelompok dosis yang mengalami kematian akibat suatu zat yang dipejankan dan biasanya dinyatakan dalam LD₅₀, kemudian dosis tersebut dapat diklasifikasikan untuk menentukan peringkat letalitasnya.

H. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini, yaitu :

Pertama, pemberian ekstrak etaol menunjukkan toksisitas akut yang ditunjukkan pada nilai LD₅₀.

Kedua, nilai LD₅₀ dari ekstrak daun cabe rawit pada dosis 500 - 5.000 mg/Kg BB.

Ketiga, ekstrak daun cabe rawit berpengaruh terhadap gejala klinis, berat badan, indeks organ, perubahan makrospatologi organ pada mencit putih betina.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabe rawit yang diambil dari Desa Sidorejo, Kecamatan Geneng, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur.

Sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah Daun Cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.), bagian cabe yang diambil adalah daun yang masih segar, berwarna hijau muda dan bebas dari kotoran yang diambil dari Desa Sidorejo, Kecamatan Geneng, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah serbuk daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) dimaserasi dengan pelarut etanol 70% yang diuji toksisitasnya terhadap mencit putih betina.

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

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

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

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

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

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun cabe rawit segar yang berwarna hijau, tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua diperoleh dari Desa Sidorejo, Kecamatan Geneng, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur.

Kedua, serbuk daun cabe rawit adalah serbuk yang di dapat dari daun cabe rawit yang telah di cuci bersih lalu di keringkan dengan oven pada suhu 50⁰ C dan diblender kemudian diayak menggunakan ayakan mesh no 40.

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

Keempat, gejala-gejala klinis yang muncul pada hewan uji toksisitas akut adalah gangguan pada syaraf otonom, syaraf otot, perilaku, perasa, urat darah pada jantung, mata, saluran pencernaan dan kulit.

Kelima, nilai LD₅₀ adalah ketoksikan suatu bahan terhadap 50% hewan percobaan serta peringkat letalitas dapat diperoleh dengan mengklasifikasikan nilai LD₅₀ pada tabel klasifikasi letalitas menurut (Loomis 1978).

Keenam, dosis uji toksisitas akut yang digunakan dengan metode *fixed dose* adalah ekstrak etanol daun cabe awit dosis 5 mg/Kg BB, ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 50 mg/Kg BB, ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 300 mg/200Kg BB, ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 2000 mg/Kg BB ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 5000 mg/Kg BB.

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

Kedelapan, indeks organ di peroleh dari perbandingan berat organ dengan berat badan dihitung sehingga diperoleh indeks organ dalam %.

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

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabe rawit yang diambil dari Desa Sidorejo, Kecamatan Geneng, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur. Bahan penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%, aquades, larutan CMC-Na 0,5% (Merck). Bahan uji toksisitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih betina rentang umur 2-3 bulan dengan berat 20 g.

2. Alat

Alat preparasi dan pembuatan ekstrak seperti timbangan, mesin penggiling, oven, ayakan no 40, kertas saring, gelas ukur, *rotary evaporator*, corong kaca, *beaker glass*, sonde lambung, wadah maserat, kain flannel, batang pengaduk, bejana maserat, spuit, *water bath*. Alat untuk hewan uji seperti bak plastik, tempat makan dan minum, timbangan tikus. Alat yang digunakan untuk pengujian toksisitas pinset, tali, *cotton bud*.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

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

2. Pengambilan, pengeringan bahan dan pembuatan serbuk

Daun cabe rawit diambil dari daerah Sidorejo, Kecamatan Geneng, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur, dalam keadaan segar, masih muda bebas dari kotoran dan cemaran. Daun cabe rawit yang sudah diambil kemudian dicuci dengan air bersih lalu ditiriskan. Daun cabe rawit yang sudah bersih kemudian dikeringkan dengan oven dengan suhu 50° C selama 3 hari hingga didapat daun cabe rawit yang kering. Setelah dilakukan proses pengeringan, selanjutnya dilakukan perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabe

rawit. Daun cabe rawit yang sudah kering digiling dan diayak menggunakan pengayakan mesh no 40 sehingga didapatkan serbuk daun cabe rawit.

3. Identifikasi kandungan kimia serbuk daun cabe rawit

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

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

Identifikasi flavonoid. Ekstrak etanol daun cabe rawit, ditambahkan 5 mL aquadest selama satu menit. Kemudian ke dalam larutan dimasukkan 0,1 g serbuk magnesium dan ditambahkan 2 mL larutan alkohol 70% : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Adawiah 2016).

Identifikasi alkaloid. Ekstrak etanol daun cabe rawit ditambah dengan sedikit HCl 2N dipanaskan lalu tambah larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna jingga sampai merah coklat (Adawiah 2016).

Identifikasi Tanin. Ekstrak daun cabe rawit ditambah 10 ml air panas, kemudian di panaskan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang di peroleh di sebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah FeCl_3 1%. Reaksi positif jika terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan (Adawiah 2016).

4. Penetapan kelembaban serbuk tanaman

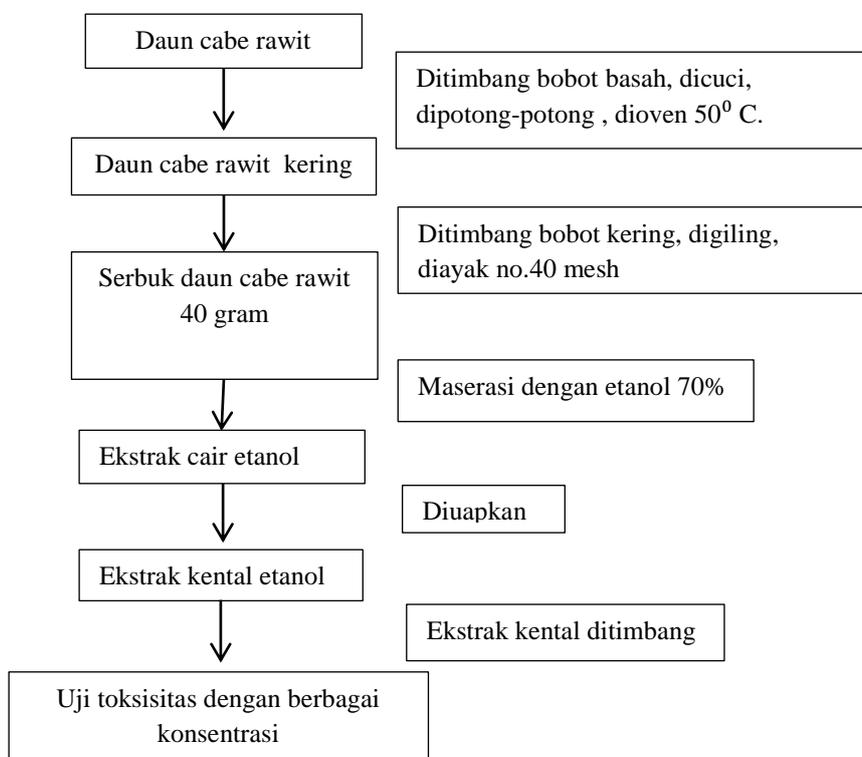
Metode penetapan kelembaban serbuk daun cabe rawit dengan cara ditimbang sebanyak 2 gram menggunakan alat *moisture balance* dimaksudkan agar mutu dan khasiat daun cabe rawit tetap terjaga. Dengan memanaskan serbuk tanaman dalam *moisture balance* hingga diperoleh kadar kelembaban.

5. Penetapan kadar air

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

6. Pembuatan ekstrak etanolik daun cabe rawit

Simplisia daun cabe rawit yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 600 g, serbuk daun cabe rawit dibasahi dengan 4,5 L cairan penyari etanol 70%, 1,5 L sebagai pembilas dan maserasi selama 3 – 5 hari dengan pengocokan tiga kali sehari. Selanjutnya pada saat lima hari rendaman diperas dengan kain pemeras kemudian hasil perasan dipenangas air hingga diperoleh maserat yang agak kental. Selanjutnya dilakukan pemekatan dengan menggunakan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI 2008).



Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun cabe rawit

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabe rawit

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

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

Identifikasi flavonoid. Ekstrak etanol daun cabe rawit, ditambahkan 5 mL aquadest selama satu menit. Kemudian ke dalam larutan dimasukkan 0,1 g serbuk magnesium dan ditambahkan 2 mL larutan alkohol 70% : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Adawiah 2016).

Identifikasi alkaloid. Ekstrak etanol daun cabe rawit ditambah dengan sedikit HCl 2N dipanaskan lalu tambah larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna jingga sampai merah coklat (Adawiah 2016).

Identifikasi Tanin. Ekstrak daun cabe rawit ditambah 10 ml air panas, kemudian di panaskan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang di peroleh di sebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah FeCl_3 1%. Reaksi positif jikater bentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan (Adawiah 2016).

8. Uji bebas etanol

Ekstrak daun cabe rawit ditambahkan CH_3COOH dan ditambahkan H_2SO_4 lalu panaskan. Hasil bebas etanol ditandai dengan tidak berbau etanol.

9. Pemilihan hewan uji

Hewan uji yang digunakan untuk penelitian ini adalah mencit putih betina dengan umur 2-3 bulan dengan berat 20 g. Hewan uji diperoleh dari laboratorium

Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta. Hewan uji tersebut dalam keadaan sehat dan diadaptasi dengan lingkungan laboratorium selama 1 minggu. Hewan uji dipuaskan selama 24 jam dengan diberi air minum.

10. Pengujian toksisitas daun cabe rawit

Mencit yang telah diaklimatisasi selama kurang lebih satu minggu di dalam laboratorium ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal pada ekornya, mencit sebanyak 35 ekor yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor mencit. Mencit yang digunakan adalah mencit putih betina berumur 2-3 bulan dengan bobot 20 g yang diperoleh dari Universitas Setia Budi Surakarta. Jenis kelamin dipilih betina karena mencit betina lebih sensitif dibanding betina jantan.

Normal	: diberi pakan dan minum standar
CMC	: diberi pakan dan minum standar + kontrol negatif CMC 0,5%
Dosis I	: diberi pakan dan minum standar + ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 5 mg/Kg BB per oral
Dosis II	: diberi pakan dan minum standar + ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 50 mg/Kg BB per oral
Dosis III	: diberi pakan dan minum standar + ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 300 mg/Kg BB per oral
Dosis IV	: diberi pakan dan minum standar + ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 2000 mg/Kg BB per oral
Dosis V	: diberi pakan dan minum standar + ekstrak etanol daun cabe rawit dosis 5000 mg/Kg BB per oral

Mencit yang telah ditimbang dan dikelompokkan kemudian diberikan sediaan uji sesuai dosis yang telah ditentukan, diamati selama 24 jam gejala klinis yang timbul jika tidak ada kematian percobaan dan dilanjutkan sampai 7-14 hari untuk memperoleh data berat badan mencit. Gejala klinis diamati dari perubahan perilaku mencit yang abnormal dari biasanya seperti pada tabel 3.

Tabel 3. Perubahan perilaku mencit yang abnormal

Gejala klinis	Keterangan
<i>grooming</i>	kebiasaan mencit dalam menjilat tubuhnya
Gerakan spontan	cara mencit berjalan dengan cepat, normal atau tertidur
Reaksi sentuh	mencit diberi sentuhan dengan pensil dan diamati dengan cara ekor mencit dijepit dengan pinset hingga mencit mengeluarkan suara
Perubahan sistem saraf yang abnormal	biasanya seperti adanya ketegangan saat mencit diletakkan dilantai dan ekornya terlihat kaku.
Tremor	dengan memegang mencit lalu diamati anggota tubuh mencit yang terlihat bergetar
Kejang	tubuh mencit diletakkan diatas meja dan terlihat kaku
Abduksi	melihat perilaku mencit yang membuka kakinya saat berjalan diatas meja
Ataksia reflek	meletakkan mencit dengan posisi terlentang diatas meja kemudian dilihat kemampuan mencit untuk dapat membalikkan badannya
Pina reflek	menyentuh telinga mencit dengan <i>cotton bud</i> dan ada respon dari mencit.
Reflek kornea	menusuk mata mencit dengan <i>cotton bud</i>
Reflek epsilateral perubahan sistem otonom yang abnormal	menjepit kaki mencit dengan pinset untuk melihat respon mencit melipat jari kakinya seperti perubahan alat optik diamati adanya perbesaran atau penyempitan pupil mata
Uji palbebra	kelopak mata mencit menutup, membuka lebar atau normal
Menggeliat	perilaku mencit yang merapatkan perutnya pada lantai

Bobot badan ditimbang 1 minggu 2 kali dan pada akhir percobaan, terjadinya kematian diamati. Adanya kelainan makropatologi dari organ utama pada hewan yang mati maupun yang masih hidup diamati, meliputi jantung, paru-paru, lambung, hati, ginjal dan usus

Nilai LD₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus probit yaitu :

$$y = a + bx$$

Dimana:

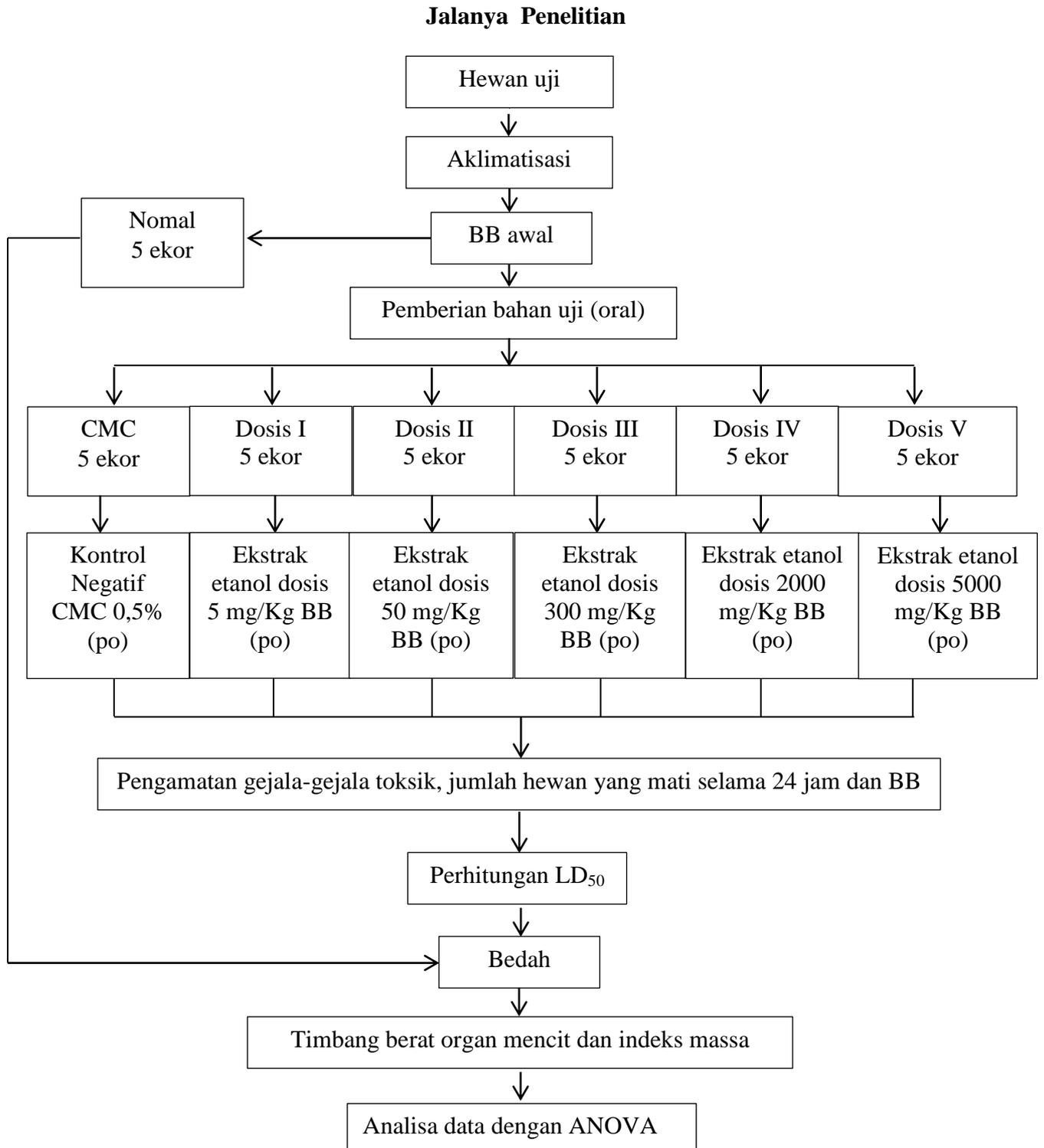
y = probit = 5 \longrightarrow 50% kematian = LD₅₀

bx = log dosis

Indeks organ mencit dapat dihitung sebagai berikut :

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

Pengamatan selanjutnya hari ke 7 dan ke 14 ditimbang lagi berat badan tikus untuk melaporkan bobot organ. Hari ke 14 semua tikus yang masih hidup dibedah untuk mendapatkan data indeks massa organ.



Gambar 2. Skema pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun cabe rawit terhadap mencit putih betina

Keterangan: po = per oral

E. Analisis Hasil

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

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil dan Pembahasan

1. Determinasi tanaman

Determinasi cabe rawit dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 15 Maret 2017. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman yang di ambil dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dengan tanaman lain yang sejenis. Berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan, disimpulkan bahwa sampel yang dibawa adalah cabe rawit. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengambilan bahan

Cabe rawit didapat dari Desa Sidorejo, Kecamatan Geneng, Kabupaten Ngawi, Jawa Timur pada bulan Februari yang dilakukan secara acak. Hasil penimbangan daun cabe rawit yang diperoleh sebanyak 10,5 kg. Daun cabe rawit yang dipilih hanya daunnya saja, dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun dengan air yang mengalir dan ditiriskan kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40⁰C untuk menghilangkan kadar air yang terkandung di dalam daun cabe rawit. Pengeringan dilakukan untuk mencegah tumbuhnya kuman, kapang dan khamir yang dapat menyebabkan pembusukan daun.

3. Hasil rendemen serbuk tanaman

Tabel 4. Hasil rendemen serbuk tanaman

Simplisia	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
Daun cabe rawit	10500	2300	21,9%

Daun cabe rawit kering digiling kemudian diayak dengan ayakan mesh no 40 untuk menyeragamkan ukuran serbuk. Tujuan dari penyerbukan ini adalah untuk memperkecil ukuran daun kering sehingga luas permukaan yang kontak

dengan pelarut lebih luas agar senyawa yang diekstrak lebih maksimal. Hasil penimbangan daun cabe rawit kering 2,3 kg. Bobot basah daun cabe rawit sebesar 10,5 kg dikeringkan dan diperoleh 2,3 kg yang berarti persentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 21,9%. Hasil perhitungan rendemen serbuk kering daun cabe rawit dapat dilihat pada lampiran 2.

4. Hasil penetapan kelembaban serbuk tanaman

Metode penetapan kelembaban serbuk daun cabe rawit dengan cara ditimbang sebanyak 2 gram menggunakan alat *moisture balance* agar mutu dan khasiat daun cabe rawit tetap terjaga. Dengan memanaskan serbuk tanaman dalam *moisture balance* hingga di peroleh kadar kelembaban. Kadar kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan serbuk tanaman mudah di tumbuhi jamur dan bakteri akibat reaksi enzimatik. Hasil penetapan kadar kelembaban dapat dilihat dalam tabel 5.

Tabel 5. Hasil penetapan kelembaban serbuk tanaman

Simplisia	Berat awal (g)	Persentase (%)
	2,00	4,00
Daun cabe rawit	2,00	4,00
	2,00	4,20
Rata-rata		4,06

- Hasil penetapan kelembaban serbuk daun cabe rawit didapatkan hasil 4,2%. Kelembaban tersebut telah memenuhi syarat kelembaban simplisia, dimana proses enzimatik dalam sel terhenti bila kadar air mencapai kurang dari 10%.

5. Identifikasi kandungan kimia serbuk daun cabe rawit

Ekstrak etanol dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan zat kimia saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun cabe rawit dapat di lihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk

Kandungan kimia	Identifikasi	Pustaka	Pengamatan
Saponin	1 ml filtrat atau 1 g ekstrak + air panas kocok kuat-kuat selama 10 detik	Reaksi positif terbentuknya buih, penambahan HCL 2N agar buih tidak hilang (Adawiah 2016)	Terbentuk buih di permukaan
Flavonoid	1 ml filtrat atau 1 g ekstrak + 5ml aquadest 0,1 g + serbuk magnesium dan ditambahkan 2 mL larutan alkohol 70% : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah.	Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol. (Adawiah 2016).	Adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.
Alkaloid	1 ml filtrat atau 1 g ekstrak + sedikit HCL 2N dipanaskan lalu tambah larutan Mayer	Reaksi positif jika terbentuk endapan menggumpal berwarna jingga sampai merah coklat (Adawiah 2016).	Terbentuk warna coklat pudar
Tanin	1 ml filtrat atau 1 g ekstrak + 10 ml air panas kemudian panaskan selama 15 menit dan saring. Filtrat yang di peroleh atau larutan B. 5 ml larutan B +FeCl ₃ 1%.	Reaksi positif ditunjukkan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan (Adawiah 2016).	Terbentuk warna coklat pekat

6. Hasil penetapan kadar serbuk tanaman

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

Tabel 7. Hasil penetapan kadar air serbuk

Simplisia	Berat (g)	Persentase (%)
	20,00	7,00
Serbuk daun cabe rawit	20,00	7,00
	20,00	7,00
Rata-rata		7,00

7. Pembuatan ekstrak

Serbuk daun cabe rawit yang di gunakan sebanyak 600 g dengan pelarut etanol 70% sebanyak 4,5 L dalam botol maserasi. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan pengocokan 3x sehari dan 1,5 L sebagai pembilas. Maserasi dapat diperoleh dengan menggunakan kain flanel. Metode maserasi sangat mudah dilakukan dan sangat ekonomis. Filtrat yang diperoleh berwarna coklat pekat dengan bau khas daun cabe rawit bercampur etanol. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Tujuan dari pemekatan ini untuk menghilangkan sisa pelarut yang terdapat dalam maserat. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun cabe rawit dapat di lihat pada lampiran 3.

Tabel 8. Hasil persentase rendemen ekstrak

Simplisia	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
Ekstrak daun cabe rawit	600	210,5	35,08

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabe rawit

Ekastrak etanol dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan zat kimia saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun cabe rawit dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak cabe rawit

Kandungan kimia	Identifikasi	Pustaka	Pengamatan
Saponin	1 ml filtrat atau 1 g ekstrak + air panas kocok kuat-kuat selama 10 detik	Reaksi positif terbentuknya buih, penambahan HCL 2N agar buih tidak hilang (Adawiah 2016)	Terbentuk buih di permukaan
Flavonoid	1 ml filtrat atau 1 g ekstrak + 5ml aquadest 0,1 g + serbuk magnesium dan ditambahkan 2 mL larutan alkohol 70% : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah.	Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Adawiah 2016).	Adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.
Alkaloid	1 ml filtrat atau 1 g ekstrak + sedikit HCl 2N dipanaskan lalu tambah larutan Mayer	Reaksi positif jika terbentuk endapan menggumpal berwarna jingga sampai merah coklat (Adawiah 2016).	Terbentuk warna coklat pudar
Tanin	1 ml filtrat atau 1 g ekstrak + 10 ml air panas kemudian panaskan selama 15 menit dan saring. Filtrat yang di peroleh atau larutan B. 5 ml larutan B +FeCl ₃ 1%.	Reaksi positif ditunjukkan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan (Adawiah 2016).	Terbentuk warna coklat pekat

9. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit

Uji bebas etanol pada ekstrak daun cabe rawit ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi uji toksisitas pada hewan uji.

Tabel 10. hasil uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit

Tes esterifikasi	Hasil
Ekstrak daun cabe rawit + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat panaskan	Ekstrak daun cabe rawit tidak berbau entanol

Tabel menunjukkan bahwa maserat dari daun cabe rawit sudah bebas dari etanol 70% yang digunakan sebagai pelarut, sehingga ekstrak dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.

10. Penetapan dosis

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

B. Hasil dan pembahasan Uji Toksisitas Akut

1. Hasil uji efek toksisitas akut sediaan ekstrak daun cabe rawit

Penelitian ini menggunakan hewan mencit putih betina umur 2-3 bulan dengan berat badan 20 g sebanyak 35 ekor sebagai hewan uji. Pemilihan jenis kelamin betina ini, karena lebih sensitif dibandingkan dengan mencit jantan sehingga lebih menguntungkan bila digunakan untuk uji toksisitas akut.

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

Mencit diberi perlakuan sesuai kelompok yang telah ditentukan. Pengamatan intensif dilakukan selama 24 jam pada waktu ke 0, ¹/₂, 1, 2, 4, 6 dan

24 jam untuk melihat gejala-gejala toksik. Tidak terjadi kematian dalam waktu 24 jam pada semua kelompok perlakuan, sehingga pengamatan dilanjutkan sampai hari ke 14. Terjadi kematian pada waktu ke 6 dan 24 pada kelompok dosis 5000 mg/Kg BB sebanyak 2 ekor mencit nomor 1 dan 3.

Tabel 11. Hasil persentase kematian hewan uji

No	Kelompok	Dosis (mg/KgBB)	Jumlah hewan mati	Presentase kematian
1	Normal	-	0	0
2	Kontrol negatif (CMC)	-	0	0
3	Dosis I	5 mg/Kg BB	0	0
4	Dosis II	50 mg/Kg BB	0	0
5	Dosis III	300 mg/Kg BB	0	0
6	Dosis IV	2000 mg/Kg BB	0	0
7	Dosis V	5000 mg/Kg BB	2	40

Tabel 11 menunjukkan presentase hewan uji ekstrak daun cabe rawit tiap kelompok uji. Berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa dengan pemberian dosis sediaan tunggal sampai dosis maksimal yang diberikan secara peroral ternyata hanya menimbulkan kematian pada hewan uji sebanyak 2 ekor mencit. Sehingga toksisitas akut pada sediaan uji ini tidak dapat ditentukan. Oleh karena itu, untuk penentuan ketoksikan akut menggunakan LD_{50} semua, yaitu di nilai dari dosis tertinggi yang dapat diberikan pada hewan uji, jadi nilai LD_{50} sediaan tunggal ekstrak daun cabe rawit untuk hewan uji mencit lebih besar dari 5000 mg/Kg BB termasuk dalam kategori praktisi tidak toksik.

2. Hasil pengamatan gejala toksik

Hasil perubahan perilaku. Pengamatan gejala toksik yang pertama adalah perilaku hewan uji selama 24 jam pertama setelah pemberian sediaan pada semua kelompok. Hal ini yang dinilai adalah adanya *grooming* dan *haffner*. *Grooming* adalah perilaku hewan uji yang menjilat tubuh yang di sebabkan oleh stimulasi SSP atau saraf sistem dan terjadi penurunan adanya depresi pada hewan uji. Perbedaan *grooming* dengan kebiasaan hewan uji menjilat tubuhnya sendiri adalah *grooming* terlihat seperti hewan stres berat sedangkan kebiasaan mencit

menjilat tubuhnya sendiri dikarenakan tubuhnya basah bertujuan mengeringkan badannya.

Tabel 12. Hasil perubahan perilaku *grooming* pada hewan uji

Kelompok	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
CMC	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II	0	0	0	0	0	1	0
Dosis III	0	0	0	0	1	2	0
Dosis IV	0	0	0	0	2	3	0
Dosis V	0	0	0	0	1	4	0

Tabel 12 menunjukkan adanya perubahan perilaku mencit berupa *grooming*. Mekanisme *grooming* terjadi karena adanya pacuan hormon adrenalin mengakibatkan mencit menjadi stres (Albert 2009). Dilihat dari tabel di atas menunjukkan bahwa mencit yang diberikan ekstrak daun cabe rawit menunjukkan adanya perubahan perilaku. Berdasarkan analisis menggunakan SPSS tidak ada perbedaan dalam perilaku ini.

Perubahan perilaku yang kedua adalah *haffner*. *Haffner* adalah reaksi terhadap rasa sakit pada saat ekor mencit di jepit dengan pinset. Bila mencit tidak merespon rasa sakit maka sediaan tersebut menunjukkan adanya sifat analgesik yang terkandung pada sediaan tersebut.

Tabel 13. Hasil perubahan perilaku *haffner* pada hewan uji

Kelompok	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
CMC	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III	0	0	0	0	0	0	0
Dosis IV	0	0	0	0	2	2	0
Dosis V	0	0	0	2	3	1	0

Tabel 13 menunjukkan adanya perbedaan pada kelompok dosis IV dan dosis V memiliki respon lebih lambat dibandingkan dengan kontrol normal. Hal ini menunjukkan perbedaan onset pada hewan uji. Flavonoid memiliki berbagai

fungsi diantaranya adalah untuk analgesik (Robinson 1995). Mekanisme analgesik sendiri menghambat kerja dari enzim siklooksigenase agar tidak terbentuknya prostaglandin (Mutschler 1999), sehingga respon hewan uji terhadap rangsangan lebih lama dibanding kelompok normal. Demikian adanya kandungan analgesik pada ekstrak daun cabe rawit yang membuat merelaksasi otot pada hewan uji sehingga mencit tidak merasakan sakit. Berdasarkan analisis menggunakan SPSS tidak ada perbedaan dalam perilaku ini.

Hasil perubahan profil neurogikal. Pengamatan gejala klinis yang kedua yaitu adanya perubahan sistem syaraf selama 24 jam pertama setelah pemberian sediaan uji pada semua kelompok mencit. Hal yang dinilai adalah adanya tremor, pina reflek, reflek kornea.

Perubahan sistem syaraf pada mencit yang pertama adalah adanya tremor. Parameter tremor yang dinilai adalah pada saat mencit dalam keadaan diam maupun saat beraktifitas ada bagian tubuh mencit yang bergetar. Pada penelitian ini menunjukkan tidak adanya tremor pada hewan uji pada hewan uji.

Perubahan sistem syaraf pada yang mencit kedua yaitu adanya respon terhadap rangsangan yang diberikan pada telinga mencit. Dari hasil uji pina reflek ini menunjukkan lambatnya respon mencit pada dosis III, dosis IV dan dosis V di bandingkan dengan kelompok normal. Mekanisme terjadi karena tidak adanya impuls yang di hantarkan syaraf ke otak walaupun terjadi suaram masuk melalui lubang telinga dan di teruskan oleh tulang-tulang pendengaran (Andrina 2003). Hal ini menunjukkan adanya bahwa mengalami gangguan pada SSP akibat pemberian ekstrak daun cabe. Berdasarkan analisis menggunakan SPSS tidak ada perbedaan dalam perilaku ini. Hasil bisa di lihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil uji pina reflek pada hewan uji

Kelompok	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
CMC	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III	0	0	0	0	1	1	0
Dosis IV	0	0	0	1	1	1	0
Dosis V	0	0	1	2	2	1	0

Perubahan sistem syaraf pada mencit yang ketiga adalah respon terhadap rangsangan yang diberikan pada kornea mencit. Hasil dari penelitian ini menunjukkan adanya gangguan hewan uji pada dosis III, dosis IV dan dosis V. Mekanisme gangguan respon terhadap kornea dikarenakan sel saraf tidak dapat menerima impuls sehingga tidak adanya impuls-impuls yang masuk pada serabut motorik menyebabkan organ motorik tidak bekerja (Syaifuddin 2009). Ekstrak daun cabe rawit dapat menyebabkan melemahnya syaraf mata pada hewan uji sehingga syaraf tidak dapat merespon adanya rangsangan dari luar. Berdasarkan analisis menggunakan SPSS tidak ada perbedaan dalam perilaku ini. Hasil bisa dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji respon terhadap rangsangan kornea pada hewan uji

Kelompok	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
CMC	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III	0	0	0	0	1	1	0
Dosis IV	0	0	0	0	2	1	0
Dosis V	0	0	0	2	1	2	0

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

Tabel 16. Hasil uji *ptosis* pada hewan uji

Kelompok	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
CMC	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II	0	0	0	1	2	0	0
Dosis III	0	0	1	3	2	0	0
Dosis IV	0	1	2	3	1	2	0
Dosis V	0	3	3	2	1	1	0

Tabel 16 menunjukkan perubahan perilaku mencit *ptosis*. *Ptosis* adalah menutupnya mata mencit seperti mengantuk, hal ini bisa disebabkan adanya efek

sedasi yang berhubungan dengan analgesik. Mekanisme ptosis menekan transmisi simpatik retikula di otak dan merubah permeabilitas membran sel sehingga mengurangi rangsangan dan menyebabkan rasa kantuk (Sidarta 2007). Sebelum diberi perlakuan kelompok hewan uji tidak menunjukkan adanya *ptosis*. Kelompok dosis II, dosis III, dosis IV dan dosis V menunjukkan gejala *ptosis* dilihat dari matanya yang mengantuk. Pada jam ke setengah menunjukkan ptosis pada kelompok dosis IV dan dosis V. Jam pertama menunjukkan ptosis pada kelompok dosis III, dosis IV dan dosis V.

Jam kedua menunjukkan *ptosis* pada kelompok dosis II, dosis III, dosis IV dan dosis V. Jam keempat menunjukkan ptosis pada dosis II, dosis III, dosis IV dan dosis V. Jam keenam menunjukkan ptosis pada dosis IV dan dosis V. Adanya perbedaan waktu munculnya *ptosis* disebabkan karena perbedaan tingkatan dosis yang diberikan pada hewan uji.

3. Hasil rata-rata bobot organ

Mencit ditimbang dari hari pertama sebelum pengujian, hari ke 7 dan hari ke 14 pengamatan. Mencit yang masih hidup selama 14 hari dibius dengan eter, kemudian di bedah dan diambil jantung, paru-paru, lambung, hati, usus dan ginjal. Setelah pembedahan dilakukan penimbangan untuk mendapatkan indeks masa organnya. Hasil perhitungan indeks masa organ pada lampiran 8.

Tabel 17. Rata-rata bobot organ mencit

Kelompok dosis	Jantung (g)	Paru-paru (g)	Lambung (g)	Hati (g)	Ginjal (g)	Usus (g)
Normal	0,286±0,037	0,398±0,041	0,53±0,106	0,6±0,027	0,278±0,021	2,6±0,158
CMC	0,27±0,026	0,394±0,020	0,552±0,037	0,584±0,021	0,272±0,013	2,66±0,313
Dosis I	0,272±0,010	0,378±0,017	0,564±0,013	0,578±0,008	0,272±0,008	2,7±0,122
Dosis II	0,274±0,016	0,378±0,014	0,574±0,023	0,574±0,016	0,276±0,015	2,78±0,130
Dosis III	0,29±0,02	0,392±0,028	0,59±0,018	0,596±0,028	0,286±0,024	2,9±0,158
Dosis IV	0,29±0,032	0,39±0,033	0,57±0,018	0,588±0,016	0,292±0,026	2,756±0,371
Dosis V	0,294±0,015	0,388±0,019	0,584±0,011	0,598±0,014	0,292±0,013	2,94±0,194

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

P>0,05 = ada perbedaan

Data berat organ mencit yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan antara organ yang diberi perlakuan kontrol normal dan kontrol negatif dengan organ yang diberi perlakuan sediaan

uji. Hasil rata-rata bobot organ mencit dapat dilihat pada tabel 17 . Dari data di atas tidak terdapat perbedaan bobot organ secara signifikan.

Syarat dari uji ANOVA adalah terdistribusi normal dan homogen. Jika data sudah terdistribusi normal dan homogen dapat di lanjutkan uji ANOVA satu arah, tujuan pengujian ini untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna dari masing-masing kelompok uji dengan kelompok normal dan kelompok negatif.

Berdasarkan dari hasil uji ANOVA tidak terdapat perbedaan yang bermakna, sehingga dari hasil uji statistik ini tidak terdapat perbedaan bermakna pada organ jantung, paru-paru, lambung, hati, ginjal dan usus pada semua kelompok perlakuan.

4. Hasil pengamatan secara makroskopatologi

Pemeriksaan makroskopatologi adalah pengamatan organ hewan uji dengan kasat mata atau tidak menggunakan alat bantu. Organ yang diamati dalam pemeriksaan makroskopatologi meliputi jantung, paru-paru, lambung, hati, ginjal dan usus. Kelompok dosis IV dan dosis V menunjukkan adanya perbedaan warna organ seperti lambung, hati, ginjal dan usus memiliki warna lebih pucat. Mekanisme senyawa flavonoid dapat dipandang sebagai perubah warna, bau dan penyebab toksik dengan cara menghambat enzim siklooksigenase sedangkan saponin dapat menghambat kerja enzim proteolitik yang menyebabkan penurunan daya cerna makanan dan menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. Sehingga berpengaruh terhadap proses biokimiawi pada organ hewan uji.

Bahan toksik yang merusak endotel kapiler dapat menghambat penggumpalan darah sehingga terjadi pendarahan dan toksin uremik yang dapat merusak endotel pembuluh darah (Zachary 2007). Faktor lain yang menyebabkan dinding vaskula lemah sehingga pembuluh darah rentan untuk bocor dan mempengaruhi warna organ menjadi lebih pucat (Shapiro 2010). Secara kesehatan organ yang memiliki warna pucat adanya gangguan pada organ tersebut. Warna organ yang pucat akan berdampak pada fungsi dan kinerja organ sehingga akan mempengaruhi metabolisme dari hewan uji tersebut. Penelitian ini dapat

disimpulkan bahwa sediaan ekstrak daun cabe rawit memberi pengaruh warna beberapa organ bila dilihat secara makroskopis. Dapat dilihat pada gambar 3.



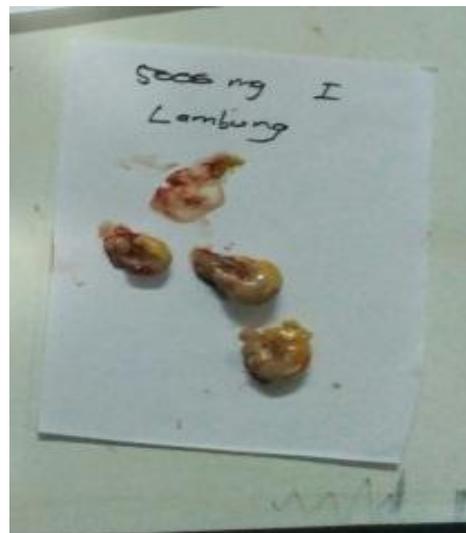
A



B



C



D

Gambar 3. Makroskopatologi dari organ mencit putih betina

Keterangan :a (usus)

b (hati)

c (ginjal)

d (lambung)

BAB V
KESIMPULAN dan SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak daun cabe rawit tidak menimbulkan efek toksik pada mencit putih betina.
2. Pemberian ekstrak daun cabe rawit dapat dikatakan tidak toksik untuk pemberian tunggal dengan LD₅₀ sebesar 5000 mg/Kg BB.
3. Pemberian ekstrak daun cabe rawit mempengaruhi gejala klinis dan makroskopatologi pada mencit putih betina.

B. Saran

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

DAFTAR PUSTAKA

- [BPOM]. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedomanan Uji Toksisitas Nonklinik Secara *In Vivo*.
- [Depkes RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 3 – 15
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- [Depkes RI]. 2007. Kebijakan Obat Tradisional Nasional. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [Depkes RI]. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia* Jilid I. Jakarta: Departemen kesehatan Republik Indonesia.
- Adawiah. 2016. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia, (2)1, 63-70
- Alex, S.2013. *Usaha Tani Cabai*. Yogyakarta: Pustaka baru Press.
- Andika. 2010. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Cabai Rawit (Capsicum frutescens) Terhadap Larva Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Jurnal.
- Ansel HC. 2011. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Astawan, Made., Kasih, Andreas L. (2008). *Khasiat warna-warni Makanan*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Dalimarta, Setiawan. 2002. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Jakarta. Trubus Agriwidya. Hlm 53-57.
- Gozomora.2009. Pengukuran kadar capsaicin cabe. 11oktober 2014. 07:59
- Harmita DR, Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Hodgson, Ernest. A Textbook of Modern Toxicology. 2nd ed. Singapore: McGraw – hill Book Co; 2000. p. 292 – 295
- Ilyas, Sidarta. Ilmu Penyakit Mata. FKUI. edisi 3. 2007
- Jacobson-Kram, Keller KA. 2006. Toxicology Testing.Handbook. Washington DC: Ork Basel. P. 1-20

- Loomis TA. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi 3. Donatus IA. Semarang: IKIP Semarang Press. Terjemahan dari: *essentials of Toxicology*. Hal. 1-4, 20, 22.
- Maramis, Willy F. Dan Albrt A. Maramis. Catatan Ilmu Kedokteran Jiwa. Ed. Ke-2. Surabaya: Airlangga University Presss, 2009: 83-101
- McGavin MD, Zachary JF. 2007. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Edisi ke-4. USA: Mosby Elsevier.
- Murni, Adrina. 2003. Fakultas Kedokteran Bagian Ilmu Penyakit Telinga Hidung Tenggorokan Universitas Sumatera Utara
- Mutschler, E. 1999. *Dinamika Obat*. Bandung :ITB
- Nurlaila, Donatus IA, Sugiyanto, Wahyono D, Suhardjono D. Petunjuk Praktikum Toksikologi . 1st ed. Yogyakarta: Laboratorium Fafmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi, Universitas Gajah mada; 1992. Hal. 3 – 5, 16 - 30
- Perucka, I., and Matersaka, M. (2001). Phenylalanine amonia-lyase and antioxidant activities of lipophilic fraction of fresh peper fruits *Capsicum annum L*. *Journal of Innovative Food Sciense &Emerging Technologies* 2: 189-192.
- Rahim, Abdul.,dkk. 2014. *Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Cabe Rawit (Capsicum frutescens L) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus dengan Metode Difusi: Uji Pendahuluan Potensi Tanaman Obat Tradisional Sebagai Alternatif Pengobatan Infeksi Saluran Pernafasan*. Semarang. Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan tinggi*. Terjemahan Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung.
- Shapiro LS. 2010. *Pathology and Parasitology for Veterinary Tecnicians*. Edisi ke-2. USA: Delmar
- Sudarmadji S, Suparmo, dan Raharjo S. 1997. (eds). *Reinventing the Hidden Miracle of Tempe. Proceedings International Tempe Symposium*.13-15 Juli 1997.Bali
- Sugiyatno. 1995. *Petunjuk Praktikum Fitokimia dan Toksikologi*. Edisi IV. Fakultas Farmasi. UGM. Lab. Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta.
- Syaifudin. 2009. *Anatomi Tubuh Manusia Untuk Mahasiswa Keperawatan* Edisi 3. Jakarta: Salemba Medika

Voigt R. 1984. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

World Health Organization. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine. Manila: Regional Office for Western Pacific; 1993

Yunita.2012.*Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Ekstrak Daun Cabe Rawit (Capsicum frutescens L.) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Fraksi Teraktif*. Skripsi. Universitas Indonesia.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi tanaman cabe rawit



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

Nomor : 60/UN27.9.6.4/Lab/2017
 Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
 Lampiran : -

Nama Pemesan : Irwan Prasetyo
 NIM : 19133787A
 Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Capsicum frutescens* L.
Familia : Solanaceae

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

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414b-757b-758c-766b-767b-768b-771b-772a-773a-774b-775b-776a-777a-778a

179. Solanaceae

1c-4b-6b-7b-8b-11a-12c-13b-15b-16a

6. *Capsicum*

1b-2a *Capsicum frutescens* L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.5-1.5 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : segiempat ketika muda tetapi bulat ketika tua, lunak tetapi seringkali berkayu pada bagian pangkal, bercabang, percabangan monopodial, permukaan batang gundul, hijau hingga hijau abu-abuan. Daun : tunggal, tersebar atau tersusun spiral, helaian bentuk bulat telur memanjang atau lanset memanjang atau elips-lanset, panjang 1.5-12 cm, lebar 0.5-5.5 cm, pangkal daun meruncing, tepi daun rata, ujung daun meruncing hingga meruncing-tumpul, daging daun tipis, permukaan daun gundul, permukaan atas hijau, permukaan bawah hijau muda, pertulangan menyirip; tangkai daun bulat, hijau, panjang 0.5-3.5 cm, permukaan gundul. Bunga : tunggal atau 2-3, di ketiak daun, berkelamin biseksual; tangkai bunga bulat, gundul, panjang 10-18 mm; kelopak bunga berbentuk lonceng, bercuping 5, ujungnya runcing, permukaan gundul, hijau; mahkota bunga berbentuk bintang, diameter 0.75-1.5 cm, tersusun oleh 5 daun mahkota, berbentuk bulat telur-segitiga, ujungnya runcing, permukaan gundul, putih kehijauan, jarang ungu; benangsari 5, kepala sari ungu, panjang 2-2.5 mm, panjang tangkai sari 1.5 mm; kepala putik sedikit menebal, putih, panjang tangkai putik 4 mm. Buah : buni, bulat telur memanjang, ujungnya tumpul atau membulat, panjang 0.75-2.5 cm, lebar 3.5-12 mm, masih muda hijau dan ketika masak merah cerah, rasanya pedas, permukaan licin dan mengkilat, sisa kelopak bunga masih melekat dan menutupi pangkal buah, hijau. Biji : pipih, kecil, banyak, licin, putih kekuningan, diameter 2-2.5 mm.

Surakarta, 15 Maret 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
 Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui
 Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setvaningsih, M.Si.

Lampiran 2. Hasil rendemen serbuk

Simplisia	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
Daun cabe rawit	10500	2300	21,9%

$$\text{Rendemen serbuk} \frac{2300 \text{ gram}}{10500 \text{ gram}} \times 100\% = 21,9\%$$

Lampiran 3. Uji kandungan zat kimia

Serbuk



Saponin (+)

Ekstrak



Saponin (+)



Flavonoid (+)



Flavonoid (+)



Alkoloid (-)



Alkoloid (-)



Uji bebas etanol

Lampiran 4. Hasil rendemen ekstrak

Simplisia	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun cabe rawit	600	210,5	35,08

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{210,5 \text{ gram}}{600 \text{ gram}} \times 100\% = 35,08\%$$

Lampiran 5. Surat keterangan mencit



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 5 7 1 2 4

SURAT KETERANGAN KESEHATAN HEWAN

Nomor : 524.3/ 1-206

Yang bertandatangan di bawah ini **drh. Abdul Aziz MK**, Dokter Hewan yang berwenang di wilayah **Kota Surakarta**, menerangkan bahwa pada hari **Jum'at** tanggal **17** bulan **Maret** tahun **2017** telah memeriksa hewan di bawah ini :

NO	JENIS HEWAN	SUB SPESIES/ TRAH	JUMLAH (ekor)			UMUR (bln)	Tanda / Warna
			Jtn	Btn	Total		
1	Tikus	Mencit	0	35	35	2 - 3	Putih

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

KETERANGAN :

Nama pemilik/pengirim : Sdr. Yulianto Ratno Saputro
 No KTP/SIM pemilik/pengirim : 3372053007720003
 No telp. Pemilik/pengirim : 082133998945
 Alamat pemilik/pengirim : Sumber RT 04 RW 03 Surakarta.
 Daerah asal hewan : Sumber RT 04 RW 03 Surakarta.
 Daerah tujuan : Surakarta
 Nama dan alamat Penerima : Sdr. Irwan Prasetyo, Mahasiswa Universitas Setia Budi Surakarta.
 Rencana dikirim : Jum'at, 17 Maret 2017
 Kendaraan : Mobil.

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

Surakarta, 17 Maret 2017

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



drh. EVY NURWULANDARI

Pembina
 NIP. 197010806 19980303 2 004

Dokter Hewan Berwenang,

drh. ABDUL AZIZ MK

NIP. 198102428 200501 1 006

Tembusan Yth. :

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

Lampiran 6. Perhitungan dosis

Kontrol negatif (CMC) 0,5%

1. 16,8 g volume pemberian = 1 ml
2. 20,3 g volume pemberian = 1 ml
3. 16,5 g volume pemberian = 1 ml
4. 15,6 g volume pemberian = 1 ml
5. 18,2 g volume pemberian = 1 ml

Dosis 5 mg/Kg BB

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

Larutan stok = 0,0012% = 1,2 mg/100ml (0,012 mg/ml)

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

Volume pemberian :

$$\frac{0,011}{0,012} \times 1 \text{ ml} = 0,92 \text{ ml}$$

$$2. \frac{18,6}{20} \times 0,013 = 0,012 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,012}{0,012} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

$$3. \frac{16,2}{20} \times 0,013 = 0,011 \text{ mg/kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,011}{0,012} \times 1 \text{ ml} = 0,92 \text{ ml}$$

$$4. \frac{16}{20} \times 0,013 = 0,010 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,010}{0,012} \times 1 \text{ ml} = 0,83 \text{ ml}$$

$$5. \frac{17}{20} \times 0,013 = 0,011 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,011}{0,012} \times 1 \text{ ml} = 0,92 \text{ ml}$$

Dosis 50 mg/Kg BB

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

Larutan stok = 0,014% = 14 mg/100ml (0,14 mg/ml)

$$1. \frac{17,2}{20} \times 0,13 = 0,11 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,11}{0,14} \times 1 \text{ ml} = 0,79 \text{ ml}$$

$$2. \frac{16}{20} \times 0,13 = 0,10 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,10}{0,14} \times 1 \text{ ml} = 0,74 \text{ ml}$$

$$3. \frac{17}{20} \times 0,13 = 0,11 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,11}{0,14} \times 1 \text{ ml} = 0,79 \text{ ml}$$

$$4. \frac{16}{20} \times 0,13 = 0,10 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,10}{0,14} \times 1 \text{ ml} = 0,74 \text{ ml}$$

$$5. \frac{21,6}{20} \times 0,13 = 0,14 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,14}{0,14} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

Dosis 300 mg/Kg BB

Konversi ke mencit = $300 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,78 \text{ mg/Kg BB}$

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

$$1. \frac{18,2}{20} \times 0,78 = 0,71 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,71}{1} \times 1 \text{ ml} = 0,71 \text{ ml}$$

$$2. \frac{22,3}{20} \times 0,78 = 0,87 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,87}{1} \times 1 \text{ ml} = 0,87 \text{ ml}$$

$$3. \frac{17}{20} \times 0,78 = 0,66 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,66}{1} \times 1 \text{ ml} = 0,66 \text{ ml}$$

$$4. \frac{20,5}{20} \times 0,78 = 0,80 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,80}{1} \times 1 \text{ ml} = 0,80 \text{ ml}$$

$$5. \frac{16,8}{20} \times 0,78 = 0,66 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{0,66}{1} \times 1 \text{ ml} = 0,66 \text{ ml}$$

Dosis 2000 mg/Kg BB

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

Larutan stok = 0,6 % = 600 mg/100ml (6 mg/ml)

$$1. \frac{16,5}{20} \times 5,2 = 4,3 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{4,3}{6} \times 1 \text{ ml} = 0,72 \text{ ml}$$

$$2. \frac{22,8}{20} \times 5,2 = 5,9 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{5,9}{6} \times 1 \text{ ml} = 0,98 \text{ ml}$$

$$3. \frac{16,5}{20} \times 5,2 = 4,3 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{4,3}{6} \times 1 \text{ ml} = 0,72 \text{ ml}$$

$$4. \frac{16,4}{20} \times 5,2 = 4,3 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{4,3}{6} \times 1 \text{ ml} = 0,72 \text{ ml}$$

$$5. \frac{21,2}{20} \times 5,2 = 5,5 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{5,5}{6} \times 1 \text{ ml} = 0,92 \text{ ml}$$

Dosis 5000 mg/Kg BB

Konversi ke mencit = $5000 \text{ mg} \times 0,0026 = 13 \text{ mg/Kg BB}$

Larutan stok = 1,14% = 1400 mg/100ml (14 mg/ml)

$$1. \frac{17}{20} \times 13 = 11 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{11}{14} \times 1 \text{ ml} = 0,79 \text{ ml}$$

$$2. \frac{17,7}{20} \times 13 = 11,5 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{11,5}{14} \times 1 \text{ ml} = 0,82 \text{ ml}$$

$$3. \frac{20}{20} \times 13 = 13 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{13}{14} \times 1 \text{ ml} = 0,93 \text{ ml}$$

$$4. \frac{21,5}{20} \times 13 = 13,9 \text{ mg/Kg BB}$$

Volume pemberian :

$$\frac{13,9}{14} \times 1 \text{ ml} = 0,99 \text{ ml}$$

5. $\frac{18,8}{20} \times 13 = 12,2 \text{ mg/Kg BB}$

Volume pemberian :

$$\frac{12,2}{14} \times 1 \text{ ml} = 0,87 \text{ ml}$$

Lampiran 7. Berat badan mencit

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

Lampiran 8. Foto bahan dan alat



Daun basah



Daun kering



Serbuk



Ekstrak



Maserasi

*Moisture balance*



Sterling-Bidwell



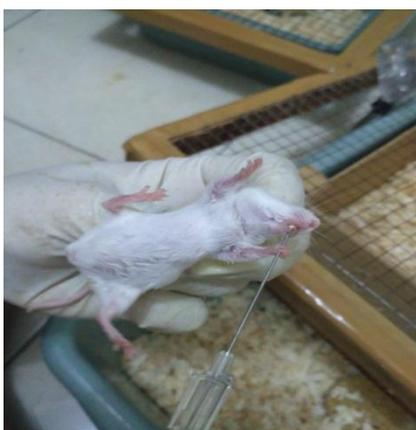
Evaporator



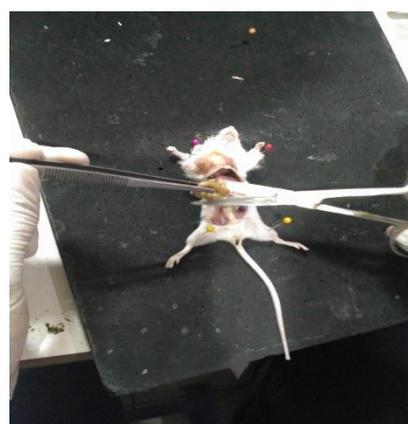
Penandaan mencit



Kandang mencit



Oral sediaan



Pembedahan

Lampiran 9. Penimbangan berat organ menciit

Kelompok		Berat organ menciit (g)					
		Jantung	Paru-paru	Lambung	Hati	Ginjal	Usus
Normal	1	0,33	0,46	0,63	0,64	0,31	2,8
	2	0,28	0,38	0,59	0,6	0,27	2,6
	3	0,32	0,42	0,6	0,61	0,29	2,7
	4	0,25	0,36	0,4	0,57	0,26	2,5
	5	0,25	0,37	0,43	0,58	0,26	2,4
Rata-rata±SD		0,286±0,037	0,398±0,041	0,53±0,106	0,6±0,027	0,278±0,021	2,6±0,158
CMC	1	0,24	0,38	0,51	0,59	0,27	2,5
	2	0,31	0,43	0,6	0,61	0,29	3
	3	0,26	0,38	0,57	0,58	0,26	2,4
	4	0,26	0,39	0,52	0,55	0,26	2,4
	5	0,28	0,39	0,56	0,59	0,28	3
Rata-rata±SD		0,27±0,026	0,394±0,020	0,552±0,037	0,584±0,021	0,272±0,013	2,66±0,313
Dosis I	1	0,27	0,39	0,57	0,58	0,27	2,7
	2	0,29	0,4	0,58	0,59	0,26	2,9
	3	0,27	0,36	0,55	0,57	0,28	2,6
	4	0,26	0,36	0,55	0,57	0,27	2,6
	5	0,27	0,38	0,57	0,58	0,28	2,7
Rata-rata±SD		0,272±0,010	0,378±0,017	0,564±0,013	0,578±0,008	0,272±0,008	2,7±0,122
Dosis II	1	0,28	0,38	0,57	0,57	0,27	2,7
	2	0,26	0,36	0,55	0,56	0,26	2,7
	3	0,27	0,38	0,58	0,58	0,28	2,8
	4	0,26	0,37	0,56	0,56	0,27	2,7
	5	0,3	0,4	0,61	0,6	0,3	3
Rata-rata±SD		0,274±0,016	0,378±0,014	0,574±0,023	0,574±0,016	0,276±0,015	2,78±0,130
Dosis III	1	0,28	0,39	0,58	0,59	0,28	2,9
	2	0,32	0,43	0,62	0,62	0,32	3,1
	3	0,27	0,37	0,59	0,58	0,27	2,8
	4	0,3	0,41	0,59	0,56	0,3	3
	5	0,28	0,36	0,57	0,63	0,26	2,7
Rata-rata±SD		0,29±0,02	0,392±0,028	0,59±0,018	0,596±0,028	0,286±0,024	2,9±0,158
Dosis IV	1	0,27	0,37	0,56	0,57	0,27	2,8
	2	0,33	0,44	0,6	0,61	0,33	3,2
	3	0,26	0,37	0,57	0,58	0,28	2,28
	4	0,27	0,36	0,56	0,6	0,27	2,5
	5	0,32	0,41	0,59	0,58	0,31	3
Rata-rata±SD		0,29±0,032	0,39±0,033	0,57±0,018	0,588±0,016	0,292±0,026	2,756±0,371
Dosis V	1	0,28	0,37	0,57	0,58	0,28	2,7
	2	0,29	0,39	0,58	0,59	0,29	2,8
	3	0,29	0,38	0,58	0,6	0,3	3
	4	0,32	0,42	0,6	0,62	0,31	3,2
	5	0,29	0,38	0,59	0,6	0,28	3
Rata-rata±SD		0,294±0,015	0,388±0,019	0,584±0,011	0,598±0,014	0,292±0,013	2,94±0,194

Lampiran 10. perhitungan masa indeks organ menciit

Kelompok		Berat organ menciit (%)					
		Jantung	Paru-paru	Lambung	Hati	Ginjal	Usus
Normal	1	1,43	2,00	2,73	2,78	1,34	12,17
	2	1,51	2,05	3,18	3,24	1,45	14,05
	3	1,53	2,01	2,88	2,93	1,39	12,98
	4	1,42	2,05	2,28	3,25	1,48	14,28
	5	1,47	2,17	2,52	3,41	1,52	14,11
Rata-rata±SD		1,48±0,04	2,07±0,06	2,72±0,34	3,12±0,25	1,44±0,07	13,52±0,91
CMC	1	1,38	2,19	2,94	3,41	1,56	14,45
	2	1,46	2,02	2,83	2,87	1,36	14,15
	3	1,48	2,17	3,25	3,31	1,48	13,71
	4	1,44	2,16	2,88	3,05	1,44	13,33
	5	1,41	1,96	2,82	2,97	1,41	15,15
Rata-rata±SD		1,44±0,03	2,10±0,10	2,95±0,18	3,12±0,23	1,45±0,07	14,16±0,69
Dosis I	1	1,51	2,19	3,20	3,25	1,51	15,16
	2	1,43	1,98	2,87	2,92	1,28	14,35
	3	1,50	2,00	3,05	3,16	1,55	14,44
	4	1,52	2,11	3,23	3,35	1,58	15,29
	5	1,46	2,05	3,081081	3,13	1,51	14,594
Rata-rata±SD		1,49±0,04	2,06±0,08	3,08±0,14	3,16±0,16	1,49±0,11	14,77±0,43
Dosis II	1	1,53	2,07	3,11	3,11	1,47	14,75
	2	1,44	2,00	3,05	3,11	1,44	15,00
	3	1,46	2,06	3,15	3,15	1,52	15,21
	4	1,52	2,17	3,29	3,29	1,58	15,88
	5	1,35	1,80	2,74	2,70	1,35	13,51
Rata-rata±SD		1,464±0,07	2,02±0,13	3,07±0,20	3,07±0,22	1,47±0,08	14,87±0,86
Dosis III	1	1,45	2,02	3,00	3,05	1,45	15,02
	2	1,40	1,88	2,71	2,71	1,40	13,59
	3	1,50	2,05	3,27	3,22	1,50	15,55
	4	1,42	1,95	2,80	2,66	1,42	14,28
	5	1,62	2,09	3,31	3,66	1,51	15,69
Rata-rata±SD		1,48±0,08	2,00±0,08	3,02±0,27	3,06±0,40	1,45±0,04	14,83±0,88
Dosis IV	1	1,56	2,15	3,25	3,31	1,56	16,27
	2	1,42	1,89	2,58	2,62	1,42	13,79
	3	1,52	2,17	3,35	3,41	1,64	13,41
	4	1,54	2,05	3,20	3,42	1,54	14,28
	5	1,42	1,83	2,63	2,58	1,38	13,39
Rata-rata±SD		1,49±0,06	2,02±0,15	3,00±0,37	3,07±0,42	1,51±0,10	14,23±1,20
Dosis V	1	1,64	2,17	3,35	3,41	1,64	15,88
	2	1,58	2,13	3,16	3,22	1,58	15,30
	3	1,45	1,90	2,90	3,00	1,50	15,00
	4	1,42	1,87	2,67	2,76	1,38	14,28
	5	1,43	1,88	2,92	2,97	1,38	14,85
Rata-rata±SD		1,50±0,10	1,99±0,14	3,00±0,26	3,07±0,24	1,50±0,11	15,06±0,58

Lampiran 11. Tabel probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,65	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33

Lampiran 12. Perubahan perilaku hewan uji

*Grooming***Test of Homogeneity of Variances**

grooming

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,583	6	42	,000

ANOVA

grooming

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4,571	6	,762	1,167	,342
Within Groups	27,429	42	,653		
Total	32,000	48			

*Haffer***Test of Homogeneity of Variances**

haffner

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
17,901	6	42	,000

ANOVA

haffner

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5,388	6	,898	2,588	,032
Within Groups	14,571	42	,347		
Total	19,959	48			

Ptoxis**Test of Homogeneity of Variances**

ptosis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10,491	6	42	,000

ANOVA

ptosis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16,286	6	2,714	3,837	,004
Within Groups	29,714	42	,707		
Total	46,000	48			

Pina reflek**Test of Homogeneity of Variances**

pinareflek

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
20,136	6	42	,000

ANOVA

pinareflek

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4,531	6	,755	3,964	,003
Within Groups	8,000	42	,190		
Total	12,531	48			

Rangsangan kornea

Test of Homogeneity of Variances

perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,056	2	46	,010

ANOVA

perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39,557	2	19,779	5,816	,006
Within Groups	156,443	46	3,401		
Total	196,000	48			

Lampiran 13. Hasil uji statistik berat organ mencit

Jantung**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		bobotorgan
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,4815
	Std. Deviation	,07077
	Absolute	,133
Most Extreme Differences	Positive	,133
	Negative	-,088
Kolmogorov-Smirnov Z		,784
Asymp. Sig. (2-tailed)		,570

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

bobotorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,843	6	28	,127

ANOVA

bobotorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,017	6	,003	,516	,791
Within Groups	,153	28	,005		
Total	,170	34			

bobotorganTukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kelompok negatif (CMC)	5	1,4388
dosis II (50mg/kgBB)	5	1,4645
kelompok normal	5	1,4772
dosis I (5mg/kgBB)	5	1,4883
dosis III (300mg/kgBB)	5	1,4938
dosis IV (2000mg/kgBB)	5	1,4986
dosis V (5000mg/kgBB)	5	1,5092
Sig.		,740

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Paru-paru**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Bobotorgan
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2,0396
	Std. Deviation	,11204
	Absolute	,100
Most Extreme Differences	Positive	,094
	Negative	-,100
Kolmogorov-Smirnov Z		,593
Asymp. Sig. (2-tailed)		,873

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

bobotorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,928	6	28	,111

ANOVA

bobotorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,050	6	,008	,618	,714
Within Groups	,377	28	,013		
Total	,427	34			

bobotorgan

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis V (5000mg/kgBB)	5	1,9928
dosis III (300mg/kgBB)	5	2,0015
dosis IV (2000mg/kgBB)	5	2,0223
dosis II (50mg/kgBB)	5	2,0240
kelompok normal	5	2,0614
dosis I (5mg/kgBB)	5	2,0686
kelompok negatif (CMC)	5	2,1065
Sig.		,713

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lambung

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		bobotorgan
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2,9819
	Std. Deviation	,26501
	Absolute	,111
Most Extreme Differences	Positive	,081
	Negative	-,111
Kolmogorov-Smirnov Z		,658
Asymp. Sig. (2-tailed)		,780

- a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

bobotorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,866	6	28	,122

ANOVA

bobotorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,447	6	,074	1,075	,401
Within Groups	1,941	28	,069		
Total	2,388	34			

bobotorgan

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kelompok normal	5	2,7256
kelompok negatif (CMC)	5	2,9505
dosis V (5000mg/kgBB)	5	3,0043
dosis IV (2000mg/kgBB)	5	3,0058
dosis III (300mg/kgBB)	5	3,0251
dosis II (50mg/kgBB)	5	3,0729
dosis I (5mg/kgBB)	5	3,0891
Sig.		,336

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

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

		bobotorgan
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3,1014
	Std. Deviation	,26866
	Absolute	,102
Most Extreme Differences	Positive	,083
	Negative	-,102
Kolmogorov-Smirnov Z		,604
Asymp. Sig. (2-tailed)		,859

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

bobotorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,287	6	28	,064

ANOVA

bobotorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,045	6	,007	,087	,997
Within Groups	2,409	28	,086		
Total	2,454	34			

bobotorganTukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
dosis III (300mg/kgBB)	5	3,0656
dosis IV (2000mg/kgBB)	5	3,0746
dosis V (5000mg/kgBB)	5	3,0748
dosis II (50mg/kgBB)	5	3,0750
kelompok normal	5	3,1255
kelompok negatif (CMC)	5	3,1275
dosis I (5mg/kgBB)	5	3,1668
Sig.		,998

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Ginjal**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		bobotorgan
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,4770
	Std. Deviation	,08762
	Absolute	,061
Most Extreme Differences	Positive	,056
	Negative	-,061
Kolmogorov-Smirnov Z		,359
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

bobotorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,844	6	28	,547

Usus

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		bobotorgan
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	14,4938
	Std. Deviation	,91134
	Absolute	,082
Most Extreme Differences	Positive	,062
	Negative	-,082
Kolmogorov-Smirnov Z		,486
Asymp. Sig. (2-tailed)		,972

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

bobotorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,762	6	28	,606

ANOVA

bobotorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,921	6	1,487	2,155	,078
Within Groups	19,317	28	,690		
Total	28,238	34			

bobotorganTukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kelompok normal	5	13,5224
kelompok negatif (CMC)	5	14,1602
dosis IV (2000mg/kgBB)	5	14,2325
dosis I (5mg/kgBB)	5	14,7716
dosis III (300mg/kgBB)	5	14,8323
dosis II (50mg/kgBB)	5	14,8735
dosis V (5000mg/kgBB)	5	15,0640
Sig.		,084

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

ANOVA

bobotorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,020	6	,003	,393	,877
Within Groups	,241	28	,009		
Total	,261	34			

bobotorganTukey HSD^a

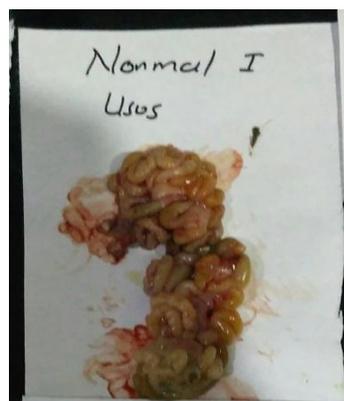
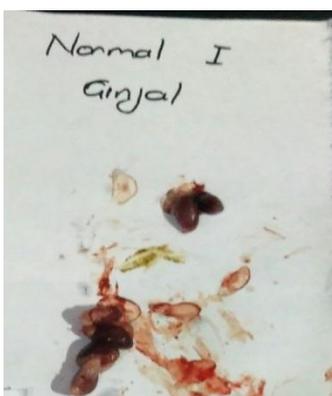
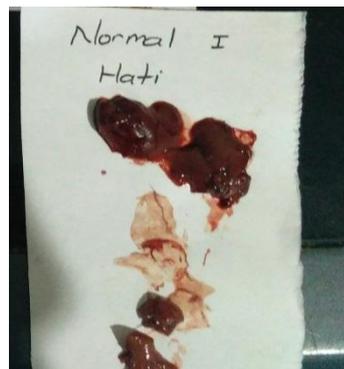
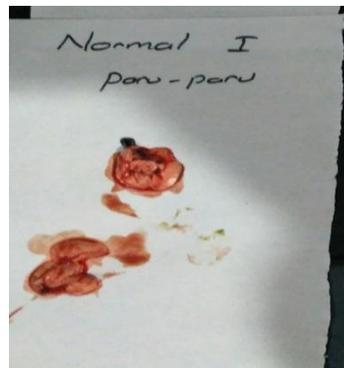
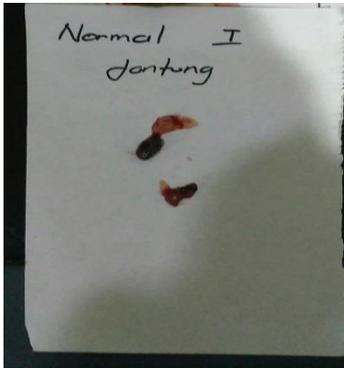
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kelompok normal	5	1,4433
kelompok negatif (cmc)	5	1,4546
dosis III (300mg/kgBB)	5	1,4589
dosis II (50mg/kgBB)	5	1,4762
dosis I (5mg/kgBB)	5	1,4923
dosis V (5000mg/kgBB)	5	1,5004
dosis IV (2000mg/kgBB)	5	1,5132
Sig.		,892

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

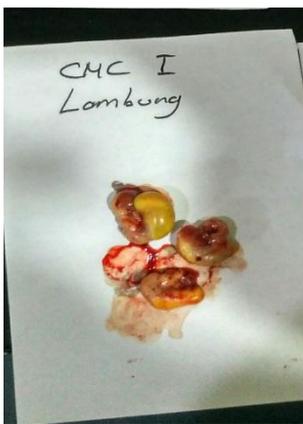
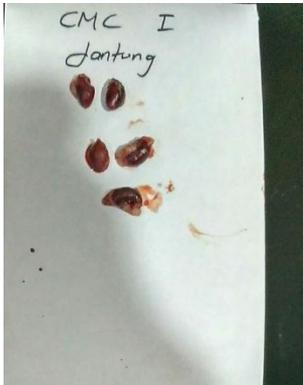
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 14. Foto organ mencit

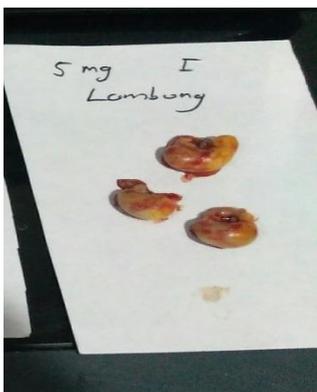
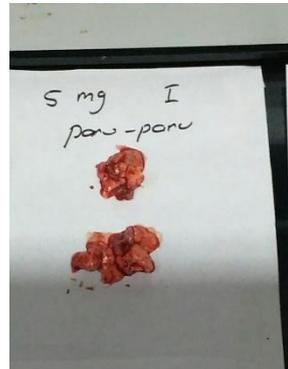
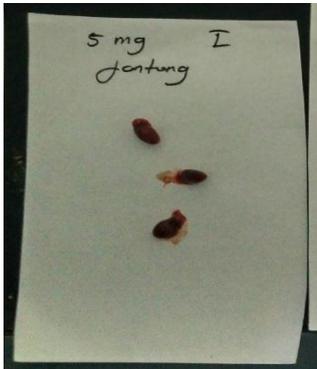
Normal



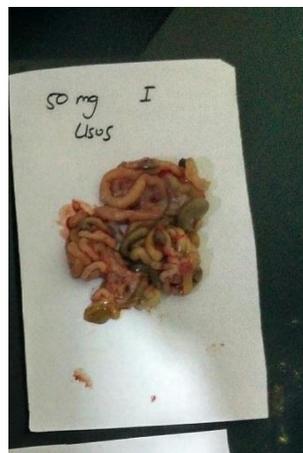
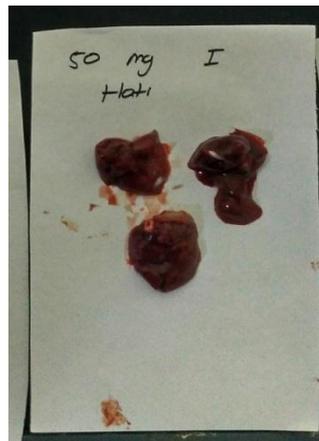
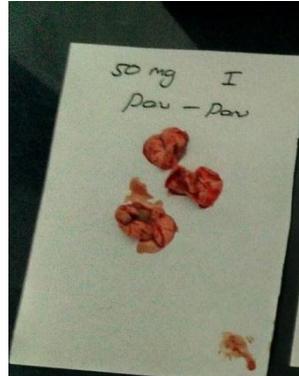
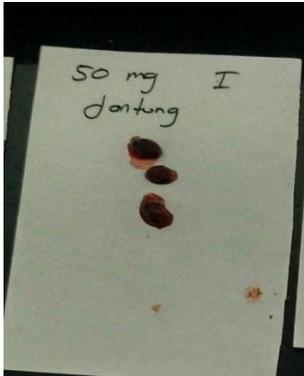
CMC I



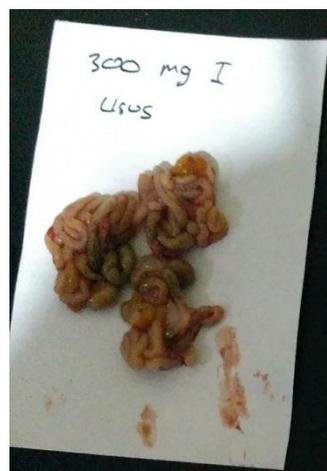
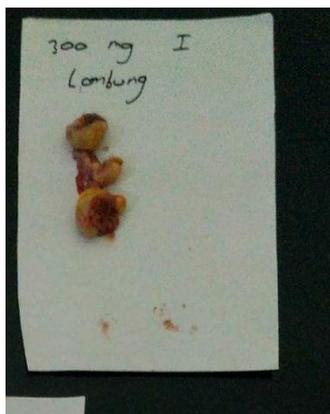
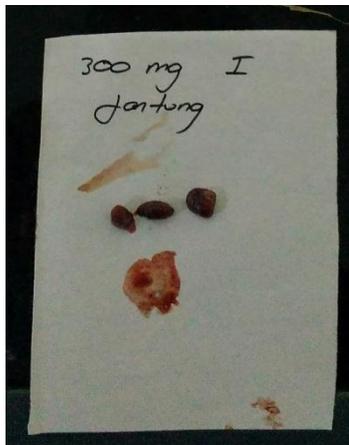
Dosis I



Dosis II



Dosis III



Dosis IV



Dosis V

