

**UJI KADAR BUN DAN KREATININ SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
ORGAN GINJAL SEBAGAI PARAMETER UJI TOKSISITAS SUBKRONIK  
EKSTRAK RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*)**



**Oleh:**

**Lia Dwi Hastawati  
20144262A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**UJI KADAR BUN DAN KREATININ SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
ORGAN GINJAL SEBAGAI PARAMETER UJI TOKSISITAS SUBKRONIK  
EKSTRAK RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*)**

*SKRIPSI*

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

**Oleh:**

**Lia Dwi Hastawati  
20144262A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul

**UJI KADAR BUN DAN KREATININ SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
ORGAN GINJAL SEBAGAI PARAMETER UJI TOKSISITAS SUBKRONIK  
EKSTRAK RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*)**

Oleh :

Lia Dwi Hastawati  
20144262 A

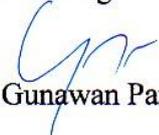
Dipertahankan di hadapan panitia penguji skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta  
Pada tanggal : 5 Juli 2018

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

  
Dekan

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

Pembimbing Utama

  
Dr. Gunawan Pamuji W, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

  
Fitri Kurniasari, M. Farm. , Apt

Penguji:

1. Dr. Rina Herowati, M. Si., Apt

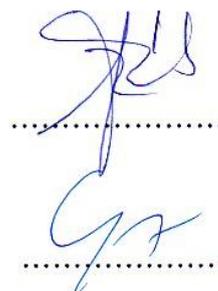
2. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

3. Endang Sri Rejeki M.Si., Apt

4. Dr. Gunawan Pamuji W, M.Si., Apt







## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Masa depan yang cerah tidak akan didapat dengan mudah. Kamu harus mau berkorban untuk mendapatkan hal tersebut. Keberhasilan bukanlah milik orang yang pintar, keberhasilan adalah kepunyaan mereka yang senantiasa berusaha. Kegagalan hanya terjadi bila kita menyerah.*

*Bj. Habibie*

*Kupersembahkan karya ini untuk:*

*Allah SWT, sebagai ungkapan rasa syukurku*

*Kedua orangtuaku yang terkasih, yang selalu membanggakanmu, menuntunku menuju segala hal yang terbaik untukmu*

*Keluarga (Titik Retno, Bayu, Lian) yang selalu mendukung langkahmu*

*Tim cucuma zdoaria (Desi) dan teman-teman yang turut membantu (Ika, Noviana, Fannia, Emy, Rozahana)*

*Seluruh guru dan guru besarku*

*Agama, almamater bangsa dan negaraku tercinta*

## **PERNYATAAN**

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

Saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum, apabila karya tulis ilmiah ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain.

Surakarta, 27 Juni 2018



Lia Dwi Hastawati

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI KADAR BUN DAN KREATININ SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL SEBAGAI PARAMETER UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*) ”**. Skripsi ini disusun untuk meraih gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta.

Selama penyusunan skripsi ini penulis telah banyak mendapat bantuan baik secara moril maupun materil, saran, dan motivasi dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc.,Apt. Selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Gunawan Pamudji. W. M.Si.,Apt selaku pembimbing utama yang telah berkenan membimbing sampai penulis menyelesaikan skripsi ini.
4. Fitri Kurniasari, M.Farm.,Apt selaku pembimbing pendamping yang telah berkenan membimbing sampai penulis menyelesaikan skripsi ini.
5. Dr. Rina Herowati M.Si.,Apt selaku penguji pertama yang bersedia meluangkan waktunya.
6. Fransiska Leviana, M.Sc.,Apt selaku penguji kedua yang bersedia meluangkan waktunya.
7. Endang Sri Rejeki M.Si., Apt selaku penguji ketiga yang bersedia meluangkan waktunya
8. Dosen, asisten dosen, staf laboratorium dan seluruh karyawan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
9. Staf perpustakaan dan tata usaha Universitas Setia Budi Surakarta
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang telah memberikan suport materil maupun spiritual yang tidak dapat disebutkan peneliti satu per satu.

Demikian skripsi ini penulis buat, penulis menyadari bahwa banyak kesalahan dan jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis menerima kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan dan penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi peningkatan kualitas ilmu kefarmasian.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
A. Tanaman Temu Putih ( <i>Curcuma zedoaria</i> ).....	5
1. Definisi .....	5
2. Klasifikasi rimpang Temu Putih.....	5
3. Penyebaran .....	5
4. Kandungan senyawa.....	6
5. Khasiat temu putih.....	6
B. Simplisia .....	7
1. Jenis simplisia.....	7
2. Standarisasi mutu simplisia.....	7
C. Ekstrak dan Metode Ekstraksi .....	8
D. Identifikasi Senyawa .....	10
E. Ginjal .....	13
1. Anatomi dan Fisiologi Ginjal .....	13
2. Fungsi Ginjal .....	13

3.	Metabolisme Ureum .....	14
4.	Metabolisme Kreatinin .....	14
5.	Gangguan pada Ginjal .....	14
F.	Toksisitas .....	15
1.	Uji toksisitas akut.....	16
2.	Uji toksisitas subkronis .....	18
2.1	Uji toksisitas subkronik singkat 28 hari .....	19
3.	Uji toksisitas kronis .....	21
G.	Pemeriksaan Fungsi Ginjal.....	22
H.	Hewan Uji.....	25
I.	Landasan Teori .....	26
J.	Hipotesis .....	28
K.	Kerangka Pikir.....	29
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>		<b>30</b>
A.	Populasi dan Sampel.....	30
B.	Variabel Penelitian .....	30
C.	Alat dan Bahan .....	31
1.	Alat .....	31
2.	Bahan.....	31
3.	Hewan uji .....	32
D.	Tahap Penelitian .....	32
1.	Determinasi .....	32
2.	Pengumpulan bahan dan pembuatan Simplisia .....	32
3.	Pembuatan serbuk rimpang temu putih .....	33
4.	Penetapan kadar air serbuk.....	33
5.	Pembuatan ekstrak etanol rimpang Temu Putih.....	33
6.	Identifikasi senyawa .....	34
6.1.1	Identifikasi senyawa saponin .....	34
6.1.2	Identifikasi senyawa flavonoid.....	34
6.1.3	Identifikasi senyawa alkaloid .....	34
7.	Persiapan hewan uji.....	35
8.	Persiapan perlakuan.....	35
9.	Pengamatan .....	35
10.	Pengambilan darah .....	36
11.	Pemeriksaan kadar BUN .....	36
12.	Pemeriksaan kadar kreatinin .....	36
13.	Pemeriksaan histopatologi organ ginjal .....	36
14.	Analisis Data .....	37
E.	Skema Penelitian .....	39
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>40</b>
A.	Tanaman Temu Putih .....	40
1.	Determinasi tanaman temu putih dan identifikasi rimpang temu putih.....	40
2.	Pembuatan simplisia.....	40

3.	Pembuatan serbuk.....	40
4.	Penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih .....	40
5.	Pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih .....	41
6.	Identifikasi senyawa .....	41
	6.1 Identifikasi fitokimia .....	41
	6.2 Identifikasi kromatografi lapis tipis .....	43
B.	Hasil Uji Toksisitas Subkronis Singkat .....	44
1.	Berat badan .....	44
2.	Blood Urea Nitrogen (BUN) .....	45
3.	Kreatinin plasma.....	47
4.	Histopatologi organ .....	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		56
A.	Kesimpulan.....	56
B.	Saran .....	56
DAFTAR PUSTAKA .....		57
LAMPIRAN.....		64

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kerangka pikir penelitian .....	29
Gambar 2. Skema penelitian .....	39
Gambar 3. Hasil histopatologi ginjal .....	51

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus).....	17
Tabel 2. Kriteria penggolongan sediaan uji.....	17
Tabel 3. Hasil Persentase rimpang temu putih .....	40
Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk rimpang temu putih .....	40
Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak rimpang temu putih.....	41
Tabel 6. Hasil identifikasi fitokimia ekstrak rimpang temu putih.....	41
Tabel 7. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis.....	43
Tabel 8. Hasil rata-rata dan standar deviasi berat badan hewan uji.....	44
Tabel 9. Hasil rata-rata dan standar deviasi kadar <i>blood urea nitrogen</i> (BUN)...	45
Tabel 10. Hasil rata-rata dan standar deviasi kadar serum kreatinin hewan uji ...	48

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman.....	65
Lampiran 2. Surat Keterangan Kesehatan Hewan .....	66
Lampiran 3. Surat Keterangan Etical Clearance .....	67
Lampiran 4. Hasil Histopatologi .....	68
Lampiran 5. Proses Penyerbukan.....	69
Lampiran 6. Proses ekstraksi .....	70
Lampiran 7. Hasil uji fitokimia.....	71
Lampiran 8. kromatografi lapis tipis.....	72
Lampiran 9. Pemeriksaan kadar darah.....	73
Lampiran 10. Gambar organ makroskopis.....	74
Lampiran 11. Mikroskopis organ.....	75
Lampiran 12. Rendemen hasil pembuatan ekstrak etanolik rimpang temuputih.....	78
Lampiran 13. Perhitungan penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih .....	79
Lampiran 14. Data Hasil Penimbangan Berat Badan Hewan Uji Tikus .....	80
Lampiran 15. Rata-rata dan standar deviasi berat badan tikus .....	82
Lampiran 16. Perhitungan volume oral.....	84
Lampiran 17. Data pemeriksaan kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) dan kreatinin.....	92
Lampiran 18. Hasil uji statistik kadar darah .....	96
Lampiran 19. Hasil uji statistik berat badan .....	106
Lampiran 20. Hasil uji statistik skoring kerusakan ginjal.....	108

## INTISARI

### **Hastawati, DL., 2018. UJI KADAR BUN DAN KREATININ SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL SEBAGAI PARAMETER UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*)**

Kandungan senyawa metabolit sekunder temu putih antara lain adalah flavonoid, saponin, alkaloid, tanin. Saponin merupakan salah satu kandungan dalam rimpang temu putih yang telah diteliti dapat meningkatkan kadar BUN, kreatinin serta menyebabkan kerusakan pada ginjal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak rimpang memiliki efek toksik subkronis dilihat dari parameter BUN, kreatinin dan histopatologi ginjal, serta mengetahui berapa dosis yang menimbulkan ketoksikan.

Ekstrak rimpang temu putih diperoleh melalui cara maserasi. Penelitian ini dilakukan dengan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan *pretest* dan *posttest design* menggunakan hewan uji tikus jantan dan betina yang terbagi dalam 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol, 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok satelit dengan dosis uji 250, 500 dan 1000 mg/kg BB. Penelitian dilakukan selama 28 hari ditambah 14 hari untuk kontrol satelit.

Hasil uji toksisitas subkronis singkat terdapat peningkatan kadar BUN sebanyak 3 kali dan kreatinin sebanyak 2 kali dari nilai normal serta perubahan histopatologi organ ginjal berupa radang, degenerasi dan nekrosis. Kerusakan paling besar terjadi pada kelompok dosis 500 mg/kg BB. Pemberian ekstrak rimpang temu putih menyebabkan efek toksik pada kadar BUN dan kreatinin serta gambaran histopatologi ginjal pada uji toksisitas subkronis singkat dengan dosis 500 dan 1000 mg/kg BB.

Kata kunci : *Curcuma zedoaria*, toksisitas subkronik, histopatologi

## ABSTRACT

**Hastawati, DL ,. 2018. BUN AND CREATININE TEST WITH THE FEATURE OF KIDNEY ORGAN HISTOPATOLOGY AS TEST PARAMETER OF SUBCRONIC TOXICITY OF TEMU PUTIH RIZHOME EKSTRAKT (*Curcuma zedoaria*)**

The content of temu putih secondary metabolite compounds include flavonoid, saponin, alkaloids, tannins. Saponin is one of the contents in temu putih rhizome that has been studied to increase the levels of BUN, creatinine and cause damage to the kidneys. The purpose of this study was to determine whether rhizome extract has subchronic toxic effects seen from the parameters of BUN, creatinine level and histopathology of the kidney, and find out how many doses that cause toxicity.

Temu putih rhizome extract was obtained by maceration. This research was conducted by complete randomized design (RAL) method with pretest and posttest design using male and female rats which are divided into 5 groups consist of 1 control group, 3 treatment groups and 1 satellite group with test dose of 250, 500 and 1000 mg / kg BW. The study was conducted for 28 days plus 14 days for satellite control.

Subchronical toxicity test results briefly increased the levels of BUN as much as 3 times and creatinine 2 times of normal value and histopathologic changes of kidney organs such as inflammation, degeneration and necrosis. The greatest damage occurred in the dose group 500 mg / kg . Temu putih rhizome extracts resulted in toxic effects on BUN and creatinine levels as well as kidney histopathologic features in a short subchronical toxicity test at doses of 500 and 1000 mg / kg BW.

Keywords: *Curcuma zedoaria*, subchronic toxicity, histopathology

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Indonesia adalah negara dengan kekayaan alam yang tinggi, baik hewani maupun nabati. Indonesia memiliki berbagai jumlah spesies tanaman. Terdapat 2 juta spesies tanaman yang sudah dikenali diseluruh dunia, 60 persen dari jumlah tersebut berada di Indonesia (Fazri 2015). Keanekaragaman tanaman tersebut dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan makanan, rempah dan sebagian digunakan sebagai obat tradisional. Kebanyakan masyarakat berasumsi bahwa penggunaan obat tradisional lebih aman dibanding dengan obat-obat kimia serta tidak menimbulkan efek samping (Wijayakusuma 2008).

Beberapa kelebihan obat tradisional dibanding dengan obat-obat modern antara lain karena efek sampingnya relatif kecil bila digunakan dalam dosis yang tepat, pada satu tanaman obat memiliki beberapa efek farmakologi, lebih sesuai untuk penyakit-penyakit metabolik degeneratif, komponen dalam satu bahan memiliki keterkaitan efek (Depkes 2008). Hal ini yang mendasari adanya gaya hidup kembali ke alam (*back to nature*). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah temu putih (*Curcuma zedoaria*) yaitu sebagai antidiare. Temu putih berkhasiat sebagai antidiare dalam dosis 250 mg/kg BB (Azam *et al.* 2017). Diare adalah keluarnya tinja yang lunak atau cair dengan frekuensi tiga kali lebih perhari dengan atau tanpa darah atau lendir dalam tinja (WHO 2006).

Beberapa kandungan senyawa rimpang temu putih diantaranya adalah flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dimana senyawa efektif yang memiliki efek sebagai antidiare adalah tanin dan flavonoid (Azam *et al.* 2017). Beberapa senyawa yang terkandung dalam rimpang temu putih tersebut memiliki manfaat sebagai obat tradisional dalam kesehatan namun kemungkinan dapat juga menyebabkan efek toksik (meracuni) bila dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan jangka waktu yang panjang, oleh karena itu perlu dilakukan suatu pengujian untuk memastikan bahwa kelompok senyawa yang terkandung dalam rimpang

temu putih tidak mengakibatkan efek meracuni bila dikonsumsi sebagai bahan obat tradisional dan dalam jangka waktu yang panjang. Pengujian yang dilakukan dapat berupa uji toksisitas. Uji toksisitas merupakan 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 sebagai informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM 2014).

Pada pengujian sebelumnya yang dilakukan oleh Mufidah (2016) diketahui bahwa ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zeodaria*) pada dosis 5000 mg/kg BB tikus tidak memiliki efek toksisitas secara akut (tidak menimbulkan kematian pada hewan uji), uji toksisitas akut merupakan uji yang dilakukan dalam waktu 24-96 jam. Responnya adalah kematian atau bila organisme sangat kecil, hanya *imobillisasi*, untuk memperkuat hasil uji toksisitas sebelumnya serta memastikan keamanan penggunaan ekstrak rimpang temu putih sebagai obat tradisional dalam jangka waktu yang panjang dapat dilakukan uji selanjutnya seperti uji toksisitas subkronis. Uji toksisitas subkronis adalah suatu uji untuk melihat efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral terhadap hewan uji selama sebagian usia hewan uji, namun tidak boleh lebih 10% dari seluruh usia hewan uji. Tujuan dari uji toksisitas subkronis adalah untuk mendapatkan nilai *No Observed –Adverse Effect-Level* (NOAEL), efek toksik yang tidak terlihat pada uji toksisitas akut, efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, serta mempelajari efek kumulatif dan efek *reversibilitas* setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu (BPOM 2014).

Uji toksisitas subkronis dibagi menjadi dua yaitu uji toksisitas subkronis singkat oral 28 hari dan uji toksisitas subkronis 90 hari. Uji toksisitas subkronis singkat 28 hari digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis dipakai dalam bentuk sekali pakai dan berulang dalam waktu kurang dari satu minggu. Uji toksisitas subkronis 90 hari digunakan untuk menguji sediaan uji

yang penggunaannya secara klinis berulang dalam waktu 1 sampai 4 minggu (BPOM 2014).

Salah satu organ vital dalam tubuh yang erat kaitannya dengan toksisitas adalah ginjal. Organ ginjal memiliki fungsi diantaranya mengekskresikan senyawa asing seperti obat, makanan, pestisida dan bahan-bahan eksogen non nutrisi lainnya yang masuk kedalam tubuh (Price dan Wilson 2005), karenanya ginjal rentan terhadap paparan berbagai zat asing, kelainan fungsi ginjal dapat dilihat melalui kadar BUN dan kreatinin. BUN dan kreatinin merupakan parameter yang dapat digunakan untuk melihat kondisi organ ginjal dan merupakan salah satu parameter utama pemeriksaan biokimia klinis dalam uji toksisitas subkronis (BPOM 2014), oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan terhadap kadar BUN dan kreatinin serta histopatologi ginjal untuk melihat apakah ekstrak rimpang temu putih memiliki efek toksisitas subkronis terutama pada organ ginjal.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang penelitian diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- a. Apakah ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) memberikan perubahan terhadap parameter kadar BUN dan kreatinin hewan uji?
- b. Apakah pemberian ekstrak rimpang temu putih pada uji toksisitas subkronis singkat memberikan pengaruh terhadap histopatologi organ ginjal hewan uji?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dilakukanya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) memberi perubahan terhadap kadar BUN dan kreatinin hewan uji.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak rimpang temu putih pada uji toksisitas subkronis singkat terhadap histopatologi organ ginjal.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

1. Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai sarana agar dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian-penelitian selanjutnya mengenai tanaman temu putih maupun uji toksisitas, serta untuk menambah wawasan masyarakat luas mengenai uji toksisitas dan keamanan bahan obat tradisional.
2. Bagi penulis penelitian ini berguna sebagai sarana penerapan dasar ilmu yang telah diperoleh selama proses belajar, dan untuk mengembangkan pengetahuan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Temu Putih (*Curcuma zedoaria*)**

##### **1. Definisi**

Temu putih (*Curcuma zedoaria*) adalah tanaman herbal yang masuk dalam famili *zingiberacea* yang dapat tumbuh pada daerah tropis. Beberapa ciri morfologis yang dapat dipergunakan untuk mengenali temu putih (*Curcuma zedoaria*) adalah terdiri dari batang, daun, bunga, akar, dan rimpang, dimana setiap bagian dari rimpang tanaman herbal ini memiliki khasiat yang berbeda-beda penggunaannya secara tradisional. Temu putih (*Curcuma zedoaria*) merupakan salah satu tanaman herbal yang memiliki kesamaan kandungan kimia dengan herbal kunyit dan jukut. Temu putih merupakan salah satu tumbuhan temu-temuan yang mempunyai tinggi mencapai 100 cm. Rimpang bagian dalam memiliki warna kuning belerang pucat sampai kuning terang, menjadi kecoklatan saat tua memiliki rasa yang sangat tajam dan pahit (Supriadi *et al.* 2001)

##### **2. Klasifikasi rimpang Temu Putih**

Klasifikasi temu putih (*Curcuma zedoaria*)

Divisio : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledonae

Ordo : Zingiberales

Famili : *Zingiberaceae*

Genus : *Curcuma*

Spesies : *Curcuma zedoaria* (Sumber: Dalimartha 2008).

##### **3. Penyebaran**

*Curcuma zedoaria* di Indonesia disebut oleh masyarakat sebagai temu putih. Tumbuhan ini berasal dari Himalaya, India dan tersebar di negara-negara Asia. *Curcuma zedoaria* tumbuh liar di Sumatera, di hutan jati Jawa Timur, banyak dijumpai di Jawa Barat dan Jawa Tengah di ketinggian sampai 1000 dpl (Windono dan Parfati 2002).

Tumbuhan ini berupa tera tahunan, tinggi mencapai 2 cm, tumbuhan tidak berkelompok. Daun berbentuk lanset memanjang berwarna merah lembayung disepanjang tulang tengahnya. Bunga keluar dari rimpang samping, menjulang ke atas membentuk bongkol bunga yang besar. Mahkota bunga berwarna putih, dengan tepi bergaris merah tipis atau kuning. Rimpang temu putih berwarna putih atau kuning muda dengan rasa sangat pahit (Windono dan parfati 2002).

#### **4. Kandungan senyawa**

Rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, (Azam *et al.* 2017). Beberapa senyawa kimia dalam herbal rimpang temu putih yang telah diketahui khasiatnya diantaranya adalah *epicurminol* yang berkhasiat sebagai anti tumor, senyawa monoterpen yang terkandung dalam minyak atsiri berkhasiat sebagai antineoplastik dan dapat menonaktifkan pertumbuhan sel kanker payudara, dan *curcumin* berkhasiat sebagai antioksidan dan antiradang, serta *curcuminol* sebagai hepatoprotektor, Selain itu, kandungan *ethyl p-methoxycinnamat*, *kurkuminoid*, *bisdemothxycurcumin*, *isocurcumenol*, *demothxycurcumin* pada *Curcuma zedoaria* ini dapat menghambat pertumbuhan sel OVCAR-3 (*human ovarian cancer*) leukemia (HL-60) (Putri 2014).

#### **5. Khasiat temu putih**

Pemberian temu putih secara terus menerus selama 33 hari dapat menyebabkan penurunan jumlah mitosis sel-sel spermatogenik pada tubulus kontortus simeniferus testis dan tidak mengganggu kemampuan dalam pembentukan spermatozoa (Handajani 2003). Ekstrak etanol rimpang temu putih pada dosis 750 mg/kg BB mampu menghambat proses karsinogenesis pada mencit betina yang diinduksi benzoapiren (Murwati *et al.* 2004). Temu putih dalam beberapa penelitian telah terbukti memiliki khasiat dalam pengobatan. Temu putih memiliki daya bunuh terhadap pertumbuhan koloni jamur *Trichophyton mentagrophytes* dengan nilai konsentrasi bunuh minimum sebesar 50% (Nuryanti 2016). Susiyanti (2015 ) menyatakan bahwa temu putih mampu menurunkan kadar

asam urat pada wanita menopause dari 6,78 mg/dl menjadi 5,01 mg/dl. Temu putih dapat menonaktifkan perkembangan sel kanker, sebagai antifungi, antiamebic, larvasida, antimikriba, antioksidan, antiplasmodial, antialergi dan analgetik (Putri 2014). Ekstrak etanol temu putih memiliki efek analgetik terhadap nyeri pada tikus yang diinduksi dengan metode *Tail Immersion* dengan dosis efektif 80 mg/kg BB (Syahrudin 2015). Dosis 550 mg temu putih mampu menurunkan rasa nyeri pada penderita *low back pain* (Ittihaada 2017).

## **B. Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan bahan simplisia tidak lebih dari 60<sup>0</sup> (Kemenkes 2013).

### **1. Jenis simplisia**

Simplisia terbagi dalam beberapa jenis, yaitu simplisia segar dan simplisia nabati. Simplisia segar adalah bahan alam segar yang belum dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya (Kemenkes 2013).

### **2. Standarisasi mutu simplisia**

Standarisasi mutu simplisia dilakukan terhadap beberapa parameter, (1) kebenaran jenis (identifikasi senyawa tumbuhan) meliputi parameter makroskopis (deskripsi morfologi simplisia), parameter mikroskopis yang mencakup pengamatan terhadap penampang melintang simplisia atau bagian simplisia dan terhadap fragmen pengenal serbuk simplisia serta reaksi identifikasi, yaitu reaksi warna untuk memastikan identifikasi dan kemurnian simplisia (terhadap irisan atau serbuk simplisia). Kemurnian (bebas kontaminasi kimia maupun biologi) diantaranya harus bebas dari serangga, fragmen atau kotoran hewan, bau dan warnanya tidak boleh menyimpang, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda pengotor lain, tidak boleh mengandung bahan beracun atau berbahaya.

Aturan penstabilan meliputi wadah, penyimpanan, transportasi. Pengawetan simplisia nabati boleh diawetkan dengan menggunakan kloroform, karbon tetraklorida, etilenoksida atau bahan pengawet lain yang sesuai, mudah menguap dan tidak meninggalkan sisa. Wadah dan bungkus tidak boleh mempengaruhi bahan yang disimpan baik secara kimiawi maupun fisika, harus tertutup baik dan rapat. Penyimpanan simplisia sebaiknya terhindar dari cahaya dan penyerapan air. Secara umum standarisasi mutu simplisia dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah: bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering, serta penyimpanan (Gunawan 2010).

### **C. Ekstrak dan Metode Ekstraksi**

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan cara melakukan ekstraksi senyawa aktif dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah disyaratkan. Ekstrak cair adalah sediaan dari simplisia yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet. Produk ekstrak harus memenuhi persyaratan antara lain, parameter standar umum, parameter standar spesifik, dan buku monografi (Depkes 2000).

Ekstrak dibagi menjadi tiga jenis. Pertama ekstrak cair yaitu jika hasil ekstraksi masih bisa dituang dan kadar air lebih dari 30%. Kedua ekstrak kental yaitu ekstrak yang memiliki kadar air antara 5-30%. Ketiga ekstrak kering yaitu ekstrak yang mengandung kadar air kurang dari 5% (Voigt 1994).

Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak terdiri dari faktor biologi diantaranya adalah identitas (spesies), lokasi tumbuhan asal, periode pemanenan hasil tumbuhan, penyimpanan bahan tumbuhan, usia tumbuhan dan bagian yang digunakan, untuk simplisia dari tumbuhan hasil budidaya juga dipengaruhi oleh proses *Good Agricultura Practice* (GAP), untuk simplisia tumbuhan liar (*wild crop*) dipengaruhi oleh proses pengeringan yang umumnya dilakukan dilapangan, serta faktor kimia meliputi jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif

senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif, metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat ekstraksi (diameter dan tinggi alat), ukuran kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, dan kandungan pestisida (Depkes 2000).

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat terlarut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia dapat digolongkan dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain sebagainya. Senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan memudahkan dalam pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Ekstraksi dibuat dari serbuk kering simplisia dengan cara maserasi menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan merupakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia. Jika tidak dinyatakan lain gunakan etanol 70% (Depkes 2008).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya adalah maserasi, maserasi merupakan proses ekstraksi sederhana dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengadukan dalam suhu ruangan (kamar). Maserasi digunakan untuk menyari zat aktif yang mudah larut dalam larutan penyari tidak mengandung stirik benzoin dan lain-lain, pada umumnya maserasi dilakukan dengan cara merendam 10 bagian simplisia dalam 75% bagian penyari (Ditjen POM 2000).

Metode ekstraksi lain selain maserasi adalah perkolasi, refluks, sokletasi, digesti, infus, dekok dan destilasi uap. Perkolasi merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut dari serbuk simplisia yang telah dibasahi. Refluks merupakan ekstraksi yang dilakukan pada temperatur didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan pada residu pertama 3-5 kali. Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi yang berkelanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Digesti merupakan

maserasi kinetik dengan pengadukan kontinyu pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan. Secara umum dilakukan pada suhu 45-50°C (Ditjen POM 2000).

Infus merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada suhu pemanasan air, temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu 15-20 menit (Ditjen POM 2000). Dekok merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan cara yang sama dengan infuse pada waktu lebih lama dan suhu yang lebih tinggi dari titik didih air (Ditjen POM 2000). Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa minyak atsiri dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial. Minyak atsiri akan terikat oleh fase uap air dari ketel secara kontinyu dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah dengan sempurna atau sebagian (Ditjen POM 2000).

## **D. Identifikasi Senyawa**

### **1. Identifikasi Fitokimia**

Menurut Harborne (1984) untuk memperoleh informasi lebih awal mengenai kandungan kelompok senyawa metabolit skunder dapat diidentifikasi menggunakan metode fitokimia. Analisis fitokimia adalah bagian dari ilmu farmakognosi yang mempelajari metode atau cara analisis kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan atau hewan secara keseluruhan atau bagian-bagiannya, termasuk cara isolasi atau pemisahannya (Moelyono 1996). Alasan melakukan uji fitokimia adalah untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek bermanfaat yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diuji dengan sistem biologis (Robinson 1991). Menurut Harborne (1984) senyawa metabolit yang umum terdapat pada tanaman adalah alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, terpenoid dan tanin.

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan. Kadar alkaloid dalam tumbuhan mencapai 10-15%, kebanyakan bersifat racun namun ada pula yang berguna bagi pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa tanpa warna, sering kali bersifat optik aktif,

kebanyakan berbentuk kristal dan hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar (Sabirin *et al.* 1994).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam terutama pada jaringan tumbuhan tinggi. Senyawa ini merupakan produk metabolik sekunder yang terjadi dari sel dan terakumulasi dari tubuh tumbuhan sebagai zat beracun (Robinson 1996). Menurut Markham (1982) flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula sehingga flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan air.

Secara kimia terpenoid larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Steroid adalah terpenoid yang kerangka dasarnya terbentuk dari sistem cincin siklopentana prehidrofenaatrena. Steroid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak dimanfaatkan sebagai obat. Hormon steroid kebanyakan diperoleh dari senyawa-senyawa steroid alam terutama dalam tumbuhan (Djamil 1988).

Harborne (1984) menyatakan bahwa saponin merupakan glikosida triterpen dan sterol. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa yang stabil dalam air dan menghemolisis sel darah merah. Dari segi pemanfaatan saponin sangat ekonomis sebagai bahan baku pembuatan hormon steroid, tetapi kadang-kadang saponin dapat menyebabkan keracunan pada hewan ternak (Robinson 1991).

Secara kimia terdapat dua jenis tanin yaitu tanin terkondensasi atau flavolan dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi tersebar luas dalam tumbuhan *angiospermae* terutama pada tumbuhan-tumbuhan berkayu. Tanin yang terhidrolisis keberadaannya terbatas hanya pada tumbuhan berkeping dua. Cara deteksi tanin yang terhidrolisis adalah dengan mengidentifikasi asam galat/asam elagat dalam ekstrak eter atau etil asetat yang dipekatkan (Harborne 1987).

## **2. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis adalah metode kromatografi paling sederhana dan banyak digunakan. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan

pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT yaitu sebuah bejana tertutup (*chamber*) yang berisis pelarut dan lempeng KLT. Dengan optimasi metode dan menggunakan instrumen komersial yang tersedia, pemisahan yang efisien dan kuantitatif yang akurat dapat dicapai (Wulandari 2011).

Pelaksanaan analisis KLT diawali dengan menotolkan alikuot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal, sampel kemudian dikeringkan. Ujung fase diam, yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) dalam *chamber*. Fase gerak akan bergerak naik, ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan selanjutnya fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung atau dibawah sinar ultraviolet baik dengan penambahan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Wulandari 2011).

Perbedaan migrasi merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase gerak. Berbagai mekanisme pemisahan terlibat dalam penentuan kecepatan migrasi. Kecepatan migrasi tergantung pada sifat fisika kimia dari fase diam, fase gerak serta sampel. Retensi dan selektivitas kromatografi juga ditentukan oleh interaksi antara fase diam, fase gerak dan sampel yang berupa ikatan hidrogen, pasangan elektron donor atau pasangan elektron akseptor (transfer karge), ikatan ion-ion, ikatan ion-dipol dan ikatan *van der waals* (Wulandari 2011).

Deteksi senyawa akan mudah bila senyawa secara alami dapat berwarna atau berflouresensi (menyerap sinat UV), namun terkadang diperlukan penambahan pereaksi penampak noda dengan penyemprotan atau pencelupan. Pada KLT identifikasi awal suatu senyawa didasarkan pada perbandingan nilai Rf dengan standar. Faktor-faktor yang menyebabkan nilai Rf bervariasi meliputi dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban serta metode persiapan KLT sebelumnya (Wulandari 2011).

## **E. Ginjal**

### **1. Anatomi dan Fisiologi Ginjal**

Ginjal merupakan organ berbentuk seperti kacang yang terletak di kedua sisi columna vertebralis. Ginjal kanan sedikit lebih rendah dibanding ginjal kiri, karena tertekan ke bawah oleh hati. Kutub atasnya terletak setinggi iga ke dua belas, sedangkan kutub atas ginjal kiri terletak setinggi iga ke sebelas (Price *et al.* 2005). Dua ginjal terletak pada dua dinding abdomen, diluar rongga peritoneum. Setiap ginjal pada orang dewasa beratnya kira-kira 150 gram dan kira-kira seukuran kepalan tangan. Sisi medial setiap ginjal merupakan daerah lekukan yang disebut hilum tempat letaknya arteri dan vena renalis, cairan limfatik, suplai saraf, dan ureter yang membawa urin akhir dari ginjal ke kandung kemih dimana urin disimpan hingga dikosongkan (Guyton dan Hall 1997).

Jika ginjal dibagi dua dari atas ke bawah dua daerah utama yang dapat digambarkan yaitu korteks dibagian luar dan medulla dibagian dalam. Medulla ginjal terbagi menjadi beberapa massa jaringan berbentuk kerucut yang disebut piramida ginjal (Guyton dan Hall 1997). Ginjal diperdarahi oleh arteri renalis yang letaknya setinggi diskus intravertebralis vertebra lumbal satu dan vertebra lumbal dua. Melalui hilum yang kemudian bercabang membentuk arteri interlobaris, arteri arkuata, arteri interlobularis, dan arteriol feren yang menuju ke kapiler glomerulusarteri renalis memasuki ginjal, sistem renal pada ginjal berjalan parallel dengan sistem arteriol dan membentuk vena interlobularis, vena akuta, vena interlobularis, serta vena renalis (Guyton dan Hall 1997).

### **2. Fungsi Ginjal**

Ginjal adalah organ yang berfungsi mengatur keseimbangan cairan tubuh dengan cara membuang sisa-sisa metabolisme dan menahan zat-zat yang dibutuhkan tubuh. Fungsi ini amat penting bagi tubuh untuk menjaga hemostatis, walaupun ginjal tidak selalu bisa mengatur keadaan cairan tubuh dalam kondisi normal. Pada keadaan minimal, ginjal harus mengeluarkan minimal 0,5 liter air per hari untuk kebutuhan pembuangan racun (Sherwood 2001), ginjal mengekskresikan bahan-bahan kimia asing tertentu misalnya obat-obatan, hormon dan metabolit lain (Price *et al.* 2005). Terdapat tiga proses terpenting dalam fungsi

organ ginjal, yaitu filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus, dan sekresi tubulus. Beberapa penyakit yang dapat terjadi terkait dengan kelainan fungsi ginjal antara lain nefritis, pielonefritis, sistitis, infeksi ginjal, batu dalam kandung kencing, gangguan mikturisi, kegagalan ginjal, hemodialisis, dan uremia. Selain untuk mengatur keseimbangan cairan tubuh ginjal juga berfungsi sebagai pengatur keseimbangan elektrolit, fungsi endokrin serta keseimbangan asam basa (Edmund 2010).

### **3. Metabolisme Ureum**

BUN atau ureum merupakan hasil metabolisme akhir dari protein. Kadar ureum dalam serum darah mencerminkan keadaan keseimbangan antara produksi dan ekskresi. Konsentrasi normal BUN dalam serum darah adalah 8-25mg/dl. Kadar BUN pada pria lebih tinggi dibandingkan wanita karena pria memiliki *lean body mass* yang lebih besar (Corwin 2009). Kadar ureum normal pada hewan uji adalah 15-21 mg/dl (Malole dan Pramono 1989). Kegagalan pada fungsi ginjal dapat menyebabkan peningkatan kadar BUN dalam serum darah, peningkatan kadar BUN dalam serum darah disebut uremia. Uremia dibagi menjadi uremia prerenal dan uremia postrenal, uremia prerenal terjadi karena kegagalan mekanisme sebelum filtrasi glomerulus sedangkan uremia postrenal terjadi ditandai dengan adanya obstruksi saluran urin bagian bawah menyebabkan ekskresi urin dihambat, sehingga ureum dalam urin mengalami peningkatan volume dan berdifusi kembali dalam aliran darah (Ganong 2003).

### **4. Metabolisme Kreatinin**

Produk akhir metabolisme keratin disebut kreatinin. Penurunan fungsi renal dapat menyebabkan peningkatan kadar kreatinin dalam darah. Jika otot mengalami penyusutan secara berangsur serta ginjal mengalami penurunan fungsi secara lambat, ada kemungkinan kadar keratin dalam serum darah tetap sama meskipun jumlah ekskresi setiap 24 jam kurang dari angka normal, umumnya pasien lanjut usia yang mengalami hal tersebut (Corwin 2009).

### **5. Gangguan pada Ginjal**

Fungsi utama ginjal adalah mengekskresikan *nitrogenous waters* seperti ureum, asam urat, kreatinin dan ammonium. Untuk pengujian toksisitas keadaan

fungsi ginjal dapat dinilai melalui parameter urin dan serum darah. Peningkatan kadar ureum disebabkan karena adanya gangguan pada fungsi ginjal, diet tinggi protein serta proses katabolisme protein sedangkan peningkatan kadar kreatinin dalam serum disebabkan karena penurunan laju filtrasi glomerulus (Ganong 2003).

Infeksi virus pada komponen glomerulus, emboli, trombosis, serta deposisi imun kompleks adalah beberapa penyebab terjadinya kerusakan pada ginjal. Kerusakan glomerulus secara morfologis ditandai dengan adanya nekrosa dan proliferasi sel membran, sedangkan secara fungsional dapat dilihat dari penurunan perfusi aliran darah, lolosnya protein makromolekul lain dalam jumlah besar pada filtrat glomerulus. Kerusakan pada ginjal dapat disebabkan karena kegagalan fungsi ginjal itu sendiri, berbagai penyakit degeneratif maupun penggunaan obat. Obat-obat yang dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal salah satunya adalah antibiotik golongan aminoglikosida. Antibiotik golongan aminoglikosida memiliki sifat nefrotoksik atau merusak ginjal, kegagalan fungsi ginjal akibat penggunaan aminoglikosida dapat dilihat dari peningkatan kadar kreatinin plasma yaitu  $> 45$  mol/L selama atau setelah terapi. Berdasarkan urutan tingkat ketoksikan aminoglikosida adalah neomisin > gentamisin > tobramisin > netilmisin > amikasin > streptomisin (Chasani 2008).

## **F. Toksisitas**

Bahaya akibat pemaparan suatu zat pada manusia dapat diketahui dengan mempelajari efek kumulatif, dosis yang menimbulkan efek toksik pada manusia, teratogenik, mutagenik dan lain-lain, hal tersebut umumnya dapat diketahui melalui suatu uji yang disebut uji toksisitas. Uji toksisitas merupakan uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada system biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan sebagai 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 berguna untuk melihat adanya reaksi baik secara biokimia, fisiologi maupun patologi yang terjadi pada

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

Serangkaian uji toksisitas meliputi uji toksisitas akut oral, toksisitas subkronik oral, toksisitas kronik, teratogenik, mutagenik, iritasi mata, sensitivitas kulit, iritasi mukosa vagina, toksisitas akut dermal, toksisitas subkronis dermal (BPOM 2014). Hasil uji toksisitas sangat tergantung pada sifat zat yang diuji. Beberapa ketentuan umum pada uji toksisitas meliputi: Pertama sediaan uji berupa zat kimia memerlukan informasi meliputi, identitas bahan, sifat fisiko-kimia, kemurnian dan kadar cemaran. Kedua sediaan uji berupa simplisia tanaman obat memerlukan informasi meliputi nama latin dan nama daerah tanaman, deskripsi daerah penanaman, bagian tanaman yang digunakan, pemerian simplisia, cara pembuatan dan penanganan simplisia, kandungan kimia simplisia. Pada uji toksisitas dosis uji harus mencakup dosis yang setara dengan dosis penggunaan yang lazim pada manusia. Dosis lain meliputi dengan dosis perkalian tetap yang mencakup dosis yang setara dengan dosis penggunaan lazim pada manusia sampai mencapai dosis yang dipersyaratkan untuk tujuan pengujian atau sampai batas dosis tertinggi yang masih dapat diberikan pada hewan uji (BPOM 2014).

### **1. Uji toksisitas akut**

Uji toksisitas akut merupakan suatu uji untuk mengetahui adanya efek toksik yang muncul dalam waktu yang singkat (selama 24 jam) pada pemberian dosis tunggal atau berulang secara peroral. Prinsip pengujian toksisitas akut adalah dosis diberikan pada beberapa kelompok secara bertingkat dengan satu dosis pada tiap kelompok. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya efek toksik atau kematian hewan uji.

Tujuan uji toksisitas ini adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemberian suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal untuk penetapan dosis, menentukan nilai LD 50, menentukan rancangan uji selanjutnya,

serta penentuan penggolongan bahan atau sediaan dan pelabelan (BPOM 2014). Hasil uji toksisitas akut dievaluasi berdasarkan kriteria bahaya dari *Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixture* (GHS), yang tercantum dalam *Thirteenth Addendum to The OECD Guidelines for The Testing of Chemicals* (2001) pada tabel 1.

**Tabel 1. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus)**

Dosis (mg/kg BB)	kematian	Kategori
5	≥2 dari 5 ekor mati	1
5	≥1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	2
50	≥2 dari 5 ekor mati	3
50	≥1 ekor dengan gejala toksisitas	
300	≥2 dari 5 ekor mati	4
300	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau ≤1 mati	
2000	≥2 dari 5 ekor mati	5
2000	≥1 ekor dengan gejala toksisitas	
	Tidak ada gejala toksisitas	5/unclassified

Obat, obat tradisional bahan lainnya (*Generally Recognized As Safe/GRAS*), seperti bahan pangan dikategorikan seperti dalam tabel 2.

**Tabel 2. Kriteria penggolongan sediaan uji**

Tingkat toksisitas	LD <sub>50</sub> oral (pada tikus)	Klasifikasi
1	≤1 mg/kg	Sangat toksik
2	1-50 mg	Toksik
3	50-500 mg	Toksik sedang
4	500-5000 mg	Toksik ringan
5	5-15 g	Praktis tidak toksik
6	≥15 g	Relative tidak membahayakan

Dosis uji yang digunakan sekurang-kurangnya dalam 3 dosis yang berbeda. Dosis terendah adalah dosis tertinggi yang sama sekali tidak menimbulkan kematian, sedangkan dosis tertinggi adalah dosis terendah yang menimbulkan kematian 100%. 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 (BPOM 2014).

Pengamatan dilakukan setiap hari selama sekurang-kurangnya 14 hari terhadap sistem kardiovaskuler, pernapasan, somatomotor, kulit dan bulu,

mukosa, mata dan sebagainya. Perhatian khusus pada adanya tremor, kejang, salivas, diare, latergi, lemah, tidur dan koma. Pengamatan dilakukan meliputi waktu timbul dan hilangnya gejala toksik serta saat terjadinya kematian. Hewan uji yang sekarat dikorbankan dan dimasukkan dalam perhitungan hewan uji yang mati, hewan ditimbang setidaknya dua kali dalam satu minggu (BPOM 2014).

## **2. Uji toksisitas subkronis**

Uji toksisitas tingkat II atau uji toksisitas subkronis adalah suatu uji untuk melihat efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral terhadap hewan uji selama sebagian usia hewan, namun tidak boleh lebih 10% dari seluruh usia hewan uji. Tujuan dari uji toksisitas subkronis adalah untuk mendapatkan nilai NOAEL (*No Observed – Adverse Effect-Level*), efek toksik yang tidak terlihat pada uji toksisitas akut, efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, serta mempelajari efek kumulatif dan efek *reversibilitas* setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu (BPOM 2014).

Prinsip dari uji ini adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji. Selama pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Pada pengujian bila ada hewan uji yang mati selama belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera dilakukan otopsi, organ dan jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan uji yang masih hidup diotopsi dan selanjutnya dilakukan pengamatan makropatologi pada setiap organ dan jaringan, serta dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi (BPOM 2014). Uji toksisitas subkronik oral dibagi menjadi dua, yaitu uji toksisitas subkronik oral singkat selama 28 hari dan uji toksisitas subkronik oral 90 hari. Uji toksisitas subkronik oral singkat 28 hari dilakukan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis apakah dalam bentuk sekali pakai atau berulang dalam waktu kurang dari satu minggu. Uji toksisitas subkronik oral 90 hari dilakukan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis berulang dalam waktu 1-4 minggu (BPOM 2014).

**2. 1 Uji toksisitas subkronik singkat 28 hari.** Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Strain Sprague Dawley* atau Wistar) atau mencit (*Strain ddY* atau BABL / c dan lain-lainya). Syarat hewan uji meliputi sehat, umur 6-8 minggu. Masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 10 ekor yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk setiap kelompok dosis. Selain itu jika perlu dapat disediakan 2 kelompok tambahan sebagai kontrol satelit minimal 10 hewan per kelompok yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina, untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tertinggi (BPOM 2014).

Dosis yang diujikan sekurang-kurangnya dibagi dalam 3-4 variasi dosis, 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok satelit (kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol). Dosis sediaan uji paling tinggi harus menimbulkan efek toksik tapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat; dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik atau NOAEL (*No Observed –Adverse Effect-Level*). Bila pada dosis 1000 mg/kg BB tidak menimbulkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikan lagi meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai. Sediaan uji diberikan secara peroral dengan volume pemberian 1 ml sediaan uji per 100 gram BB hewan uji, tetapi dalam kondisi tertentu volume pemberian dapat mencapai 2 ml sediaan uji per 100 gram BB hewan uji apabila digunakan pembawa air (BPOM 2014)

Pada akhir percobaan darah diambil menggunakan alat suntik steril dan selalu dijaga agar tidak terkena air (untuk menghindari terjadinya hemolisa). Setelah hewan di anestesi dengan eter darah diambil dari vena jugularis secara perlahan-lahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3–5 ml, satu alat suntik digunakan untuk satu hewan. Sebanyak 0,5 ml darah dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus yang telah diisiantikoagulan (EDTA) sebanyak 10 µl untuk pemeriksaan hematologi, sebanyak 0,5 ml darah untuk pembuatan apusan darah pada penetapan deferensial leukosit. Sisanya dimasukkan kedalam tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tangas es tidak lebih dari 20 menit dan segera disentrifus selama 10

menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20<sup>0</sup>C) untuk pemeriksaan biokimia klinis.

Pemeriksaan biokimia klinis menurut OECD (2001) meliputi: natrium, kalium, glukosa, total-kolesterol, trigliserida, nitrogen urea, kreatinin, total-protein, albumin, GOT (*glutamate oksaloasetat transaminase*), GPT (*glutamat piruvat transaminase*), total bilirubin, *alkaline fosfatase*, *gamma glutamil transpeptidase*, LDH (laktat dehidrogenase), asam empedu (*bile acids*). Sedangkan menurut (WHO 2000). Pemeriksaan biokimia klinis meliputi: fungsi hati (GOT, GPT, Gamma GT) dan fungsi ginjal (nitrogen urea, kreatinin, total-bilirubin). Parameter utama minimal yang harus diperiksa adalah nitrogen urea, kreatinin, GOT dan GPT.

Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap terjadinya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekskresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misal berjalan mundur), kejang dan sebagainya, serta untuk mendeteksi adanya proses penyembuhan kembali pengamatan dilanjutkan pada 14 hari berikutnya. Monitoring terhadap kenaikan berat badan dilakukan seminggu dua kali. Hewan uji ditimbang setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan (BPOM 2014). Kajian yang dilakukan dalam pengumpulan data antara lain adalah: efek yang terjadi pada semua kelompok yaitu terjadinya efek toksik dan derajat toksisitas yang meliputi perubahan berat badan, gejala klinis, parameter hematologi, biokimia klinis, makropatologi dan histopatologi, organ sasaran, kematian dan efek umum lain atau efek yang spesifik (BPOM 2014).

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

### 3. Uji toksisitas kronis

Uji toksisitas kronis adalah uji yang digunakan untuk mendeteksi adanya suatu efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang pada seluruh umur hewan uji. Efek suatu zat disebut kronis, apabila dosis yang masuk masih dalam unit mg/h efeknya dapat bervariasi dari yang sangat ringan sampai sangat berat atau fatal. Tujuan uji toksisitas kronis adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang menimbulkan efek toksik NOAEL (*No Observed –Adverse Effect-Level*). Uji toksisitas kronis dirancang sedemikian rupa agar dapat diperoleh hasil berupa toksisitas secara umum meliputi, efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis, dan histopatologi (BPOM 2014).

Prinsip dari uji toksisitas kronis adalah, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok uji selama tidak kurang dari 12 bulan. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat adanya suatu efek toksik. Hewan yang mati selama periode pemberian hewan uji bila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi, organ dan jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi, semua hewan uji yang masih hidup diotopsi dan selanjutnya dilakukan pengamatan makropatologi pada setiap organ dan jaringan, serta dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi (BPOM 2014).

Pengujian sekurang-kurangnya dilakukan pada 3 kelompok dosis berbeda, 1 kelompok kontrol dan kelompok *ad-interin* (semua dosis dan kelompok kontrol) untuk semua jenis kelamin. Tingkat dosis yang paling tinggi harus menunjukkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan insiden fatal, tingkat dosis menengah menunjukkan tingkat pengaruh toksik sedangkan tingkat dosis paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik NOAEL (*No Observed –Adverse Effect-Level*). Bila pada dosis 1000 mg/kg BB tidak menimbulkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikan lagi (BPOM 2014). Pengamatan dilakukan terhadap adanya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekskresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misal berjalan mundur) selama 12 bulan (BPOM 2014).

## G. Pemeriksaan Fungsi Ginjal

Beberapa pemeriksaan dapat digunakan untuk mengevaluasi fungsi ginjal, dimana pengukuran dilakukan dengan mengukur zat sisa metabolisme tubuh yang di ekskresikan melalui ginjal.

### 1. Pemeriksaan kadar ureum

Ureum merupakan produk akhir katabolisme protein dan asam amino yang diproduksi oleh hati kemudian didistribusikan melalui cairan intraseluler dan ekstraseluler ke dalam darah untuk kemudian difiltrasi oleh glomerulus. Pemeriksaan ureum berguna dalam diagnosis gagal ginjal akut. Pengukuran ureum serum dapat dipergunakan untuk mengevaluasi fungsi ginjal, status hidrasi, menilai keseimbangan nitrogen, menilai progresivitas penyakit ginjal, dan memulai hasil hemodialisis. Peningkatan kadar ureum dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu *pre-renal*, *renal*, dan *post-renal* (Edmund 2010).

Kadar *blood urea nitrogen* (BUN) menunjukkan adanya keseimbangan antara pembentukan urea, katabolisme protein dan sekresi urea oleh ginjal. Peningkatan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) disebabkan karena penurunan proses filtrasi glomerulus sehingga menunjukkan adanya gangguan pada fungsi ginjal. BUN meningkat dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah dikarenakan oleh karena adanya katabolisme jaringan seperti demam, trauma, infeksi dan toxemia (Abubakar dan Hassan 2007). Dehidrasi dapat menyebabkan peningkatan kadar BUN melalui mekanisme penurunan rata-rata filtrasi glomerulus karena adanya gagal ginjal kronis (Braun *et al.* 2008). Azotemia juga turut berperan terhadap peningkatan kadar BUN baik *prerenal*, *renal* maupun *postrenal*. Renal azotemia disebabkan adanya penyakit ginjal yang menyebabkan kerusakan glomerulus sehingga terjadi penurunan GFR. Postrenal azotemia disebabkan obstruksi traktus urinarius. Prerenal azotemia berhubungan dengan penurunan *Glomerular Filtration Rate* (GFR) yang disebabkan adanya penurunan kecepatan aliran darah ke tubulus yang dapat dipengaruhi oleh *acute coronary syndrome* (Kirtane 2005). Syok, dehidrasi dan hipoadrenokortikotisme juga menyebabkan penurunan aliran darah melalui ginjal (Wahyuni dan Bijanti 2006).

## 2. Pemeriksaan kadar kreatinin

Kadar kreatinin tidak hanya tergantung pada masa otot, tetapi juga dipengaruhi oleh aktivitas otot, diet, dan status kesehatan. Penurunan kadar kreatinin dapat terjadi pada kondisi glomerulonefritis, nekrosis tubuler akut, *polycystic kidney disease* akibat gangguan fungsi sekresi kreatinin. Kadar kreatinin berada dalam keadaan relatif konstan sehingga kadar kreatinin dijadikan sebagai penanda filtrasi ginjal yang baik. Kadar kreatinin dapat diketahui dengan cara pengukuran kadar klirens kreatinin dan *estimated glomerular filtration rate* (Edmund 2010).

Jika terjadi disfungsi renal maka kemampuan filtrasi kreatinin akan berkurang dan kreatinin serum akan meningkat. Peningkatan kadar kreatinin 2 kali lipat mengindikasikan adanya penurunan fungsi ginjal sebanyak 50%, dan peningkatan kadar kreatinin serum sebanyak 3 kali lipat menunjukkan adanya kerusakan sebesar 75%. Beberapa penyebab peningkatan kadar kreatinin adalah dehidrasi, kelelahan yang berlebihan, penggunaan obat yang bersifat toksik pada ginjal, disfungsi ginjal disertai infeksi, hipertensi yang tidak terkontrol dan penyakit ginjal. Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari keratin dan fosfokreatin. Kreatinin difiltrasi di glomerulus dan direabsorpsi di tubular. Kreatinin plasma disintesis di otot skelet sehingga kadarnya bergantung pada masa otot dan berat badan (Banerjee 2005). Proses awal biosintesis keratin berlangsung di ginjal dan melibatkan asam amino arginin serta glisin, menurut salah satu penelitian *in vitro* keratin diubah menjadi kreatinin dalam jumlah 1,1% per hari. Proses pembetukan kreatinin tidak melibatkan mekanisme *reuptake* oleh tubuh, sehingga sebagian besar kreatinin diekskresi lewat ginjal (Wulandari 2015).

## 3. Pemeriksaan asam urat

Pemeriksaan lainya terkait dengan fungsi ginjal adalah pemeriksaan kadar asam urat, kadar asam urat dapat digunakan untuk mendiagnosa adanya suatu kelainan seperti *syndrome lesch nyhan* (Edmund 2010).

## 4. Pemeriksaan cystatin C

*Cystatin C* merupakan suatu protein berat molekul rendah yang diproduksi oleh sel-sel berinti. *Cystatin C* terdiri dari 120 asam amino merupakan *cystein*

*proteinase inhibitor*. Kadar *cystatin C* dalam darah yang meningkat akan menggambarkan fungsi ginjal. Kadar *cystatin C* tidak dipengaruhi oleh massa otot, jenis kelamin, usia, ras, obat-obatan, infeksi, diet, ataupun inflamasi. *Cystatin C* dapat digunakan sebagai pengganti kreatinin dan klirens kreatinin dalam menilai dan memantau fungsi ginjal. *Cystatin C* menjadi pilihan parameter yang dapat menilai fungsi ginjal pada kondisi bila pengukuran kreatinin tidak akurat karena adanya gangguan pada metabolisme protein seperti pada sirosis hati, obesitas, dan malnutrisi (Waenen 2002).

### **5. pemeriksaan $\beta_2$ -microglobulin**

pemeriksaan  $\beta_2$  *microglobulin* dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Enzymelinked Immunosorbent Assay* (ELISA). Sekitar 99%  $\beta_2$  *microglobulin* direabsorpsi oleh tubulus proksimal dan dikatabolisme. Pengukuran kadar  $\beta_2$  *microglobulin* serum memberikan informasi gangguan fungsi tubulus pada pasien transplantasi ginjal dan adanya peningkatan kadar  $\beta_2$  *microglobulin* menunjukkan adanya penolakan organ tersebut.  $\beta_2$  *microglobulin* merupakan penanda yang lebih efektif dibandingkan dengan kreatinin serum dalam menilai keberhasilan transplantasi ginjal karena  $\beta_2$  *microglobulin* tidak dipengaruhi oleh masa otot (Edmund 2010).

### **6. Pemeriksaan mikroalbuminemia**

Mikroalbuminemia merupakan kondisi dimana kadar albumin dalam urin sebesar 30-300 mg/24 jam, keadaan ini dapat digunakan sebagai tanda awal untuk mengetahui adanya kelainan fungsi ginjal (Kara 2012).

### **7. Pemeriksaan inulin**

Inulin bersifat *inert* dan dibersihkan secara menyeluruh oleh ginjal. Klirens inulin menggambarkan fungsi filtrasi ginjal karena inulin merupakan zat yang difiltrasi bebas, tidak direabsorpsi, dan tidak disekresikan oleh tubulus ginjal. Pemeriksaan inulin dilakukan dengan 25 ml inulin 10% diinjeksikan secara intravena diikuti dengan pemberian 500 ml inulin 1,5% dengan kecepatan 4ml/menit. Penggunaan inulin untuk menilai fungsi ginjal membutuhkan laju infus intravena yang konstan untuk mempertahankan tingkat plasma dan kadar puncak yang telah dicapai (Gowda 2010).

## 8. Pemeriksaan zat berlabel radioisotop

Kekurangan metode ini adalah terpejan radiasi, biaya mahal, dibutuhkan alat kamera gamma dan tenaga ahli sehingga tidak dapat digunakan secara rutin (Gowda 2010).

### H. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Strain Sprague Dawley* atau Wistar) atau mencit (*Strain ddY* atau BABL / c dan lain-lainnya). Syarat hewan uji meliputi sehat, umur 6-8 minggu. Masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 10 ekor yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina untuk setiap kelompok dosis. Selain itu jika perlu dapat disediakan 2 kelompok tambahan sebagai kontrol satelit minimal 10 hewan per kelompok yang terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina, untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tertinggi (BPOM 2014). Menurut Besselsen (2004) taksonomi tikus adalah:

Kingdom	: Animalia
Divisi	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus L</i>

Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani serta relatif resisten terhadap infeksi. Tikus putih memiliki ciri salah satunya adalah albino, memiliki kepala yang kecil serta ekor yang lebih panjang dari badannya. Tikus putih bila dibandingkan dengan mencit tidak memiliki kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya dan tidak agresif. Tikus putih memiliki suhu tubuh dan laju respirasi normal yaitu 37,5°C dan 210 tiap menit, serta memiliki kegiatan yang tidak bergantung pada aktivitas manusia disekelilingnya. Tikus putih adalah hewan yang tenang namun bila diperlakukan dengan kasar dapat menyerang

pemegang. Tikus hanya memiliki kelenjar keringat pada bagian telapak kaki. Bagian tikus yang digunakan untuk mengurangi panas adalah ekor. Mekanisme perlindungan tikus dengan mengeluarkan ludah dan menutupi bulunya dengan ludah tersebut (Sirois 2005).

### **I. Landasan Teori**

Rimpang Temu Putih memiliki kandungan senyawa diantaranya adalah flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin (Azam *et al.* 2017). Beberapa senyawa metabolit sekunder dalam rimpang temu putih memiliki efek farmakologi salah satunya tanin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antidiare dalam dosis 250 mg/kg BB (Azam *et al.* 2017). Temu putih memiliki efek sebagai anti ulcer dalam dosis 200 mg/kg BB tikus (Ps Gupta *et al.* 2003), selain sebagai anti ulcer temu putih juga memiliki efek sebagai antimikroba seperti dalam penelitian yang dilakukan oleh (Shahriar 2010) yaitu dalam dosis 500 µg/disc mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, negatif dan jamur. Penelitian yang dilakukan oleh Rahmatullah *et al.* (2012) menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temu putih dengan dosis 400 mg/kg BB mampu menurunkan kadar glukosa dalam serum sebanyak 55,1%.

Bahaya akibat pemaparan suatu zat pada manusia dapat diketahui dengan mempelajari efek kumulatif, dosis yang dapat menimbulkan efek toksik pada manusia, efek teratogenik, efek karsinogenik, mutagenik dan lain-lain. Pada penelitian yang dilakukan oleh Mufidah (2016) diketahui bahwa ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zeodaria*) pada uji toksisitas akut dengan jumlah dosis 5000 mg/kg BB tidak menunjukkan efek toksik, juga dikatakan bahwa sediaan uji ekstrak etanolik rimpang temu putih tidak memberikan pengaruh terhadap semua organ hewan uji secara makroskopis. Penelitian yang dilakukan oleh Nani (2017) menyatakan bahwa pada uji toksisitas akut rimpang temu putih menyebabkan terjadinya hemorhagi dan piknosis pada inti pada ginjal. Toksisitas akut perasan temu putih yang dilakukan oleh Dewi (2000) menyatakan bahwa terdapat perubahan organ pada hasil histopatologi organ hati, ginjal, paru, usus, lien dan lambung. Organ hati dan ginjal mengalami perubahan berupa hiperemi, sel radang

PMN dan eritrosit. Perubahan pada hati dan ginjal ini disebabkan karena adanya peradangan yang merupakan respon cedera sel sehingga terjadi peningkatan volume darah pembuluh yang melebar.

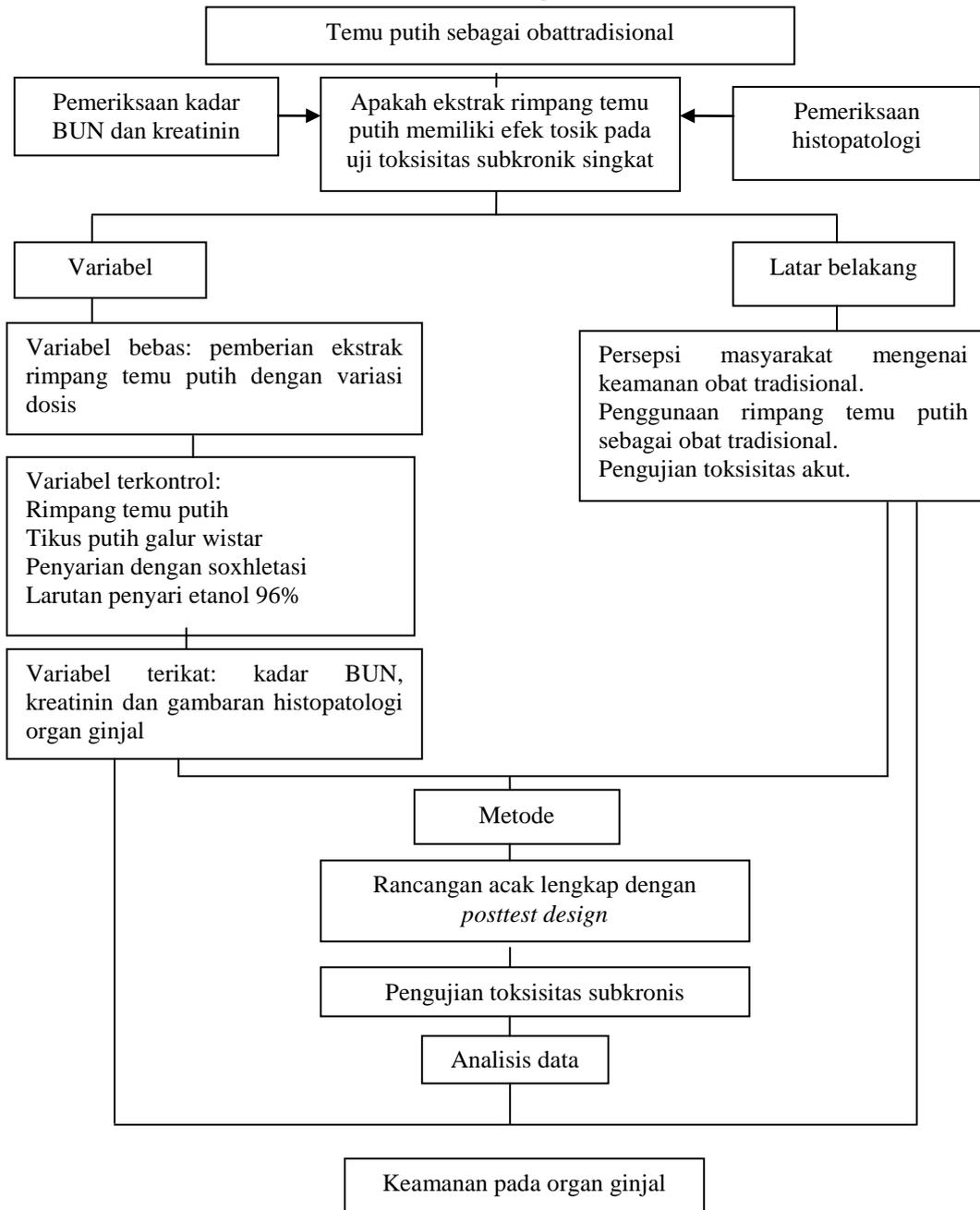
### **J. Hipotesis**

Berdasarkan uraian diatas dapat disusun hipotesis bahwa:

Pertama pemberian ekstrak rimpang temu putih tidak memberikan efek toksik pada hewan uji dilihat dari parameter BUN dan kreatinin.

Kedua ekstrak rimpang temu putih memberikan pengaruh terhadap histopatologi organ ginjal.

## K. Kerangka Pikir



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

### **BAB III**

#### **METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental model rancangan acak lengkap (RAL) dengan *pretest* dan *posttest design* untuk mengetahui efek toksisitas subkronis ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap kadar BUN, kreatinin serta *posttest design* untuk histopatologi ginjal tikus.

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi merupakan keseluruhan objek penelitian (Sabar 2007), dalam penelitian ini populasi yang digunakan adalah rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*), yang diperoleh dari Desa Slahung, Kecamatan Slahung, Kabupaten Ponorogo, Jawa Timur.

Sampel merupakan sebagian dari subyek dalam populasi yang diteliti (Sabar 2007) atau jumlah atau karakteristik yang dimiliki oleh populasi yang diteliti (Sugiyono 2011). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*), yang baik (tidak busuk) dan dipanen pada waktu yang tepat yaitu pada 9-12 bulan setelah penanaman (Sembiring 2007)

#### **B. Variabel Penelitian**

Variabel merupakan atribut, sifat atau nilai dari suatu obyek yang mempunyai variasi tertentu dan ditetapkan oleh seorang peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik suatu kesimpulan (Sugiyono 2011). Variabel dalam suatu penelitian dapat berupa variabel bebas, terikat maupun variabel terkontrol. Variabel bebas merupakan variabel *independent* yang mempengaruhi variabel terikat. Variabel terikat adalah variabel *dependent* yang dipengaruhi keberadaanya oleh variabel bebas. Variabel kontrol merupakan variabel yang membuat konstan hubungan variabel bebas dan variabel terikat, sehingga variabel bebas tidak langsung mempengaruhi variabel terikat (Sugiyono 2011). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

Pertama variabel bebas : yaitu pemberian ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma Zedoaria*) dalam variasi dosis bertingkat. Kedua variabel terikat : kadar BUN, kreatinin serta gambaran histopatologi organ ginjal hewan uji, rasio terhadap berat badan hewan uji. Ketiga variabel terkontrol : hewan uji : tikus putih jantan galur wistar, tanaman uji: rimpang temu putih, metode penyarian: maserasi, dan larutan penyari: etanol 70%.

### C. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan simplisia dan serbuk bahan ekstrak meliputi: pisau, wadah (penampung rajangan bahan baku setelah dirajang) blender, 40 mesh saringan. Alat yang digunakan selama proses ekstraksi adalah botol maserasi, vakum evaporator. Alat yang digunakan pada proses perlakuan terhadap hewan uji meliputi: timbangan tikus, sonde oral, tabung reaksi, *scalpel*, *sputit disposable*, mikropipet, pipet tetes, kandang tikus, sentrifugor, alat pelindung diri meliputi masker, sarung tangan. Alat yang digunakan selama proses pengambilan sampel darah dan pembedahan meliputi: vortex, seperangkat alat bedah, mikroskop, mikrotom, *microhematoktit*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kapas, fotometer stardust, pisau bedah, kantong kasa, botol fiksasi, botol dehidrasi, alat dehidrasi otomatis, kaca objek, inkubator, alat pewarna jaringan, cover glass, blok kayu dan alat potong beku.

#### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih (*Curcuma Zedoaria*), larutan etanol 70%, aquadest, asam asetat, asam sulfat, pewarna *hematoxylin* dan pewarna eosin digunakan untuk pewarnaan preparat organ yang akan diamati, larutan formalin sebagai larutan pengawet organ setelah proses pembedahan, larutan paraffin. Bahan yang digunakan dalam identifikasi senyawa meliputi asam klorida, eluen kloroform, metanol, etil asetat, natrium hidroksida, HCl, n-hexan, kloroform. Pemeriksaan kadar BUN menggunakan pereaksi A yang berisi 120 mM TRIS pH 7,8; 7 mM 2-oksoglutarat; 0,6 nM ADP; >6 KU/I urease; >1 KU/I GLDH, serta pereaksi B meliputi 0,25 mM NADH dan

standar nitrogen urea 50 mg/dL. Campuran 4 bagian pereaksi A yang berisi 0,16 mM natrium hidroksida dan 1 bagian pereaksi B berisi 4,0 mM asam pikrat dan standar kreatinin 2 mg/dL, 4 campuran pereaksi A, 1 pereaksi B setra standar kreatinin digunakan untuk pemeriksaan biokimia klinis dan penetapan kadar kreatinin.

### **3. Hewan uji**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar dengan berat badan 100-200 gram, usia 6-8 minggu, yang terbagi dalam 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus (5 ekor tikus jantan dan 5 ekor tikus betina) (BPOM, 2014).

## **D. Tahap Penelitian**

### **1. Determinasi**

Determinasi dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Biologi Universitas Sebelas Maret. Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk memastikan kebenaran sampel tanaman temu putih dengan ciri-ciri makroskopis dan mencocokkan morfologis yang ada dalam tanaman yang akan diteliti dengan kepustakaan.

### **2. Pengumpulan bahan dan pembuatan Simplisia**

Bahan temu putih yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Slahung, Kecamatan Slahung, Kabupaten Ponorogo Jawa Timur. Beberapa tahapan yang harus dipenuhi sebelum pembuatan simplisia adalah pencarian bahan baku serta menentukan kualitas bahan baku. Bahan baku (rim pang temu putih) disortasi atau dipilih ketika masih dalam keadaan basah atau segar. Kemudian rim pang temu putih dicuci untuk menghilangkan pengotor yang ada pada permukaan rim pang terutama bahan yang tercemar pestisida.

Rim pang temu putih kemudian ditimbang dan dilakukan penetapan kadar zat pada sejumlah bahan yang ditimbang (Kemenkes RI 2010), selanjutnya disaring untuk membersihkan sisa air selama proses pencucian setelah rim pang kering proses selanjutnya adalah proses perajangan, proses ini bertujuan untuk mengurangi volume atau memperkecil dan menipiskan rim pang temu putih agar

pada saat proses pengeringan bahan dapat dikeringkan dengan cepat dan sempurna.

Proses pengeringan dilakukan menggunakan oven dengan suhu 50<sup>0</sup>C. pengeringan bertujuan agar bahan tidak mudah ditumbuhi oleh bakteri atau kapang. Setelah pengeringan dilakukan sortasi yaitu pemilihan bahan yang telah dilakukan setelah proses pengeringan. Pembuatan serbuk dilakukan dengan cara menghaluskan dengan penggiling dan ayakan untuk memperoleh serbuk dengan derajat kehalusan yang seragam (Kemenkes 2010).

### **3. Pembuatan serbuk rimpang temu putih**

Rimpang temu putih yang telah dipilih kemudian dirajang untuk mempermudah proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan menggunakan oven dengan suhu 50<sup>0</sup>C. Pembuatan serbuk dilakukan dengan cara menghaluskan dengan penggiling dan ayakan untuk memperoleh serbuk dengan derajat kehalusan yang seragam (Kemenkes 2010).

### **4. Penetapan kadar air serbuk**

Penetapan kadar air pada serbuk dilakukan dengan menimbang 20 gram serbuk kemudian dimasukkan dalam labu alas bulat pada alat *sterilling-Bidwell*, kemudian ditambahkan *xylene* sebanyak 100 ml dan dipanaskan sampai tidak ada tetesan air. Selanjutnya perhitungan volume kadar air dalam satuan persen (Sudarmadji 2003). Fungsi dari penetapan kadar air adalah untuk menjaga mutu dan khasiat serbuk, serta kelayakan sampel dalam pengujian. Kadar air ditentukan kurang dari 10%.

### **5. Pembuatan ekstrak etanol rimpang Temu Putih**

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga dapat terpisah dari bahan yang tidak dapat larut menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, steroid, dan lain-lain. Senyawa aktif simplisia yang diketahui akan memudahkan pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM 2000). Dalam penelitian ini ekstraksi dibuat dari serbuk kering simplisia dengan cara maserasi, dengan cara memasukan 500 gram bahan kedalam pelarut etanol 70% sebanyak 5000 ml (perbandingan 1:10 w/v),

kemudian diekstraksi selama kurang lebih 5 hari dengan sesekali di gojok (Kemenkes 2008), ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50<sup>0</sup>C. Ekstrak yang diperoleh kemudian dikentalkan menggunakan *vacum rotary* pada suhu 50<sup>0</sup>C dengan kecepatan putaran 75 rpm.

## 6. Identifikasi senyawa

### 6.1 Identifikasi fitokimia

**6.1.1 Identifikasi senyawa saponin.** Ekstrak kental 0,5 g dicampur dengan 10 ml air panas kemudian didinginkan dan dikocok hingga muncul buih. Larutan didiamkan selama 2 menit kemudian ditetaskan HCl 2 N. bila terdapat senyawa saponin dalam ekstrak maka akan terbentuk buih mantap selama 10 menit (Depkes 1995).

**6.1.2 Identifikasi senyawa flavonoid.** Ekstrak kental 0,5 g dilarutkan dalam etanol kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Serbuk Mg dan HCL pekat ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Hasil tersebut ditambah amil alkohol dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Bila terdapat flavonoid maka akan terbentuk warna merah atau coklat pada lapisan amil alkohol (Depkes 1995).

**6.1.3 Identifikasi senyawa alkaloid.** Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan metode *Mayer* dan *Wagner*. Ekstrak sebanyak 3 ml diletakkan dalam cawan porselen kemudian ditambahkan 5 ml HCl 2M dan 5 ml aquadest, lalu dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit. Campuran ekstrak, HCl dan aquades kemudian didinginkan pada temperatur kamar dan disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi 3 bagian A, B, C. filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambah pereaksi Mayer reaksi terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Sedangkan filtrat C ditambah pereaksi Wagner, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat (Agustina 2016).

**6.1.4 Identifikasi senyawa tannin.** Identifikasi senyawa tannin dilakukan dengan melarutkan ekstrak pekat dalam 10 ml aquadest kemudian disaring dan filtrat ditambah dengan 3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Widiastuti 2014).

## **6.2 Kromatografi lapis tipis**

**6.2.1 Kromatografi lapis tipis flavonoid.** Pengujian kromatografi tipis menggunakan analitik menggunakan *silica* G<sub>60</sub> F<sub>254</sub>. Sampel dan baku ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan di elusi dengan fase gerak *n-hexan*:etil asetat (8:2) (Zirconia *et al.* 2015)

**6.2.2 Kromatografi lapis tipis tanin.** Pengujian kromatografi lapis tipis dilakukan dengan cara menotolkan ekstrak pada pelat KLT *silica* gel G 60 F<sub>254</sub> dengan menggunakan mikrokapiler kurang lebih 1 cm dari tepi bawah pelat KLT dan dibiarkan kering. Eluen yang digunakan dalam identifikasi adalah *n*-butanol:asam asetat:air (4:1:5), bercak diamati dengan sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Lestari 2013).

## **7. Persiapan hewan uji**

Pertama hewan uji di aklimasi (adaptasi) dalam laboratorium selama satu minggu sebelum dilakukan perlakuan, kedua pemberian makan dan minum hewan uji selama proses adaptasi, ketiga hewan uji ditimbang berat badannya setelah proses adaptasi, keempat melakukan pengelompokan terhadap hewan uji sesuai dengan perlakuan yang akan dilakukan (BPOM 2014).

## **8. Persiapan perlakuan**

Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok yaitu satu kelompok kontrol negatif, tiga kelompok perlakuan menggunakan ekstrak temu putih dalam tiga variasi dosis bertingkat yaitu dosis rendah, dosis menengah dan dosis tinggi serta kelompok satelit. Kelompok negatif dioral dengan CMC-Na. Kelompok perlakuan dibagi menjadi tiga dosis bertingkat yaitu 250 mg/kg BB untuk kelompok perlakuan II (dosis rendah), 500 mg/kg BB untuk kelompok perlakuan III (dosis menengah), 1000 mg/kg BB untuk kelompok perlakuan IV (dosis tinggi) serta 1000 mg/kg BB untuk kelompok satelit. Perlakuan ini dilakukan selama 28 hari untuk kelompok kontrol negatif dan pemberian ekstrak dengan dosis bertingkat, serta 14 hari berikutnya untuk kelompok kontrol satelit (BPOM 2014).

## **9. Pengamatan**

Pengamatan terjadinya gejala toksik serta gejala klinis yang dilakukan meliputi kulit, bulu, mata, membran mukosa, sekresi, ekskresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh misal berjalan mundur, kejang dan sebagainya.

Pengamatan ini dilakukan selama 28 hari, sedangkan untuk kontrol satelit pengamatan dilanjutkan selama 14 hari untuk melihat adanya proses penyembuhan kembali dari efek toksik. Kenaikan berat badan diperiksa seminggu sekali.

#### **10. Pengambilan darah**

Darah diambil menggunakan mikrohematokrit melalui mata tikus dan selalu dijaga agar tidak terkena air (untuk menghindari terjadinya hemolisa), kemudian darah ditampung (Sutrisna 2010). Darah dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tangas es tidak lebih dari 20 menit dan segera disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

#### **11. Pemeriksaan kadar BUN**

Pengambilan kadar BUN dilakukan pada awal dan akhir pemeriksaan sebagai  $t_0$ ,  $t_{29}$  dan  $t_{42}$  pada kontrol satelit. Metode yang digunakan adalah metode *Jaffe Reaction*. Pengujian dilakukan dengan mereaksikan 10 $\mu\text{L}$  serum dengan pereaksi untuk pemeriksaan BUN sebanyak 1000 $\mu\text{l}$  dalam tabung reaksi 5 ml kemudian diinkubasi dan dihomogenkan menggunakan vortex, sampel yang telah diinkubasi kemudian disedotkan pada aspirator sehingga masuk kedalam kuvet dan selanjutnya pembacaan hasil. Sampel yang telah dibaca hasilnya kemudian disedot kembali menggunakan peristaltik menuju ke pembuangan (Mengko 2013).

#### **12. Pemeriksaan kadar kreatinin**

Metode pengujian untuk menghitung kadar kreatinin adalah metode *kinetic test jaffe reaction*. Serum dengan volume 50 mikroliter direaksikan dengan pereaksi uji untuk pemeriksaan kreatinin sebanyak 1000 mikroliter dalam tabung reaksi 5 ml kemudian diinkubasi dan dihomogenkan dengan *vortex*. Sampel kemudian disedotkan pada aspirator untuk masuk dalam kuvet dan selanjutnya pembacaan hasil. Sampel yang telah dibaca kemudian disedot kembali oleh peristaltik menuju pembuangan (Mengko 2013).

#### **13. Pemeriksaan histopatologi organ ginjal**

Pemeriksaan histopatologi organ ginjal dilakukan setelah pemberian ekstrak selama 28 hari (BPOM 2014). Uji histopatologi dilakukan untuk melihat

adanya kelainan pada organ yang ditimbulkan akibat pemberian sediaan uji. Prosedur pengujian histopatologi meliputi beberapa tahap, diawali dengan fiksasi yaitu proses perendaman dalam larutan formalin 10%, proses ini dilakukan dalam suhu kamar sambil sesekali dilakukan penggojokan. Organ dibiarkan selama satu minggu. Selanjutnya dilakukan pemotongan kasar pada organ, hasil potongan kasar organ dimasukkan kedalam kantong kasa kecil. Masing-masing kantong diberi nomor kode hewan.

Tahap selanjutnya dilakukan fiksasi kedua minimal selama 3 hari pada larutan formalin 10%. Setelah fiksasi kedua untuk menghilangkan formalin dilakukan pencucian terhadap preparat dengan air secara terus menerus paling sedikit selama 6 jam. Proses selanjutnya adalah dehidrasi, proses ini dilakukan dengan menggunakan alat dehidrasi otomatis. Setelahnya dilakukan pembersihan atau penjernihan organ ginjal melalui pemendaman dengan menggunakan paraffin pada suhu 56-58°C pada inkubator atau lemari pemanas.

Tahapan selanjutnya adalah pencetakan, tahap ini dilakukan dengan bantuan potongan logam berbentuk L atau perahu kertas. Dua potongan logam L diletakan diatas kaca sehingga membentuk rongga empat persegi panjang, didalamnya diletakan potongan jaringan kemudian diisi dengan paraffin cair lalu dibiarkan membeku. Blok paraffin lalu diletakan pada blok kayu kemudian dipotong menjadi sayatan tipis menggunakan mikrotom. Tahap akhir dari proses pembuatan preparat ini adalah pemulasan yang bertujuan untuk memulas unsur-unsur sel atau bangunan intersel agar lebih mudah dikenali (BPOM 2014). Skema penelitian dapat dilihat pada gambar 2.

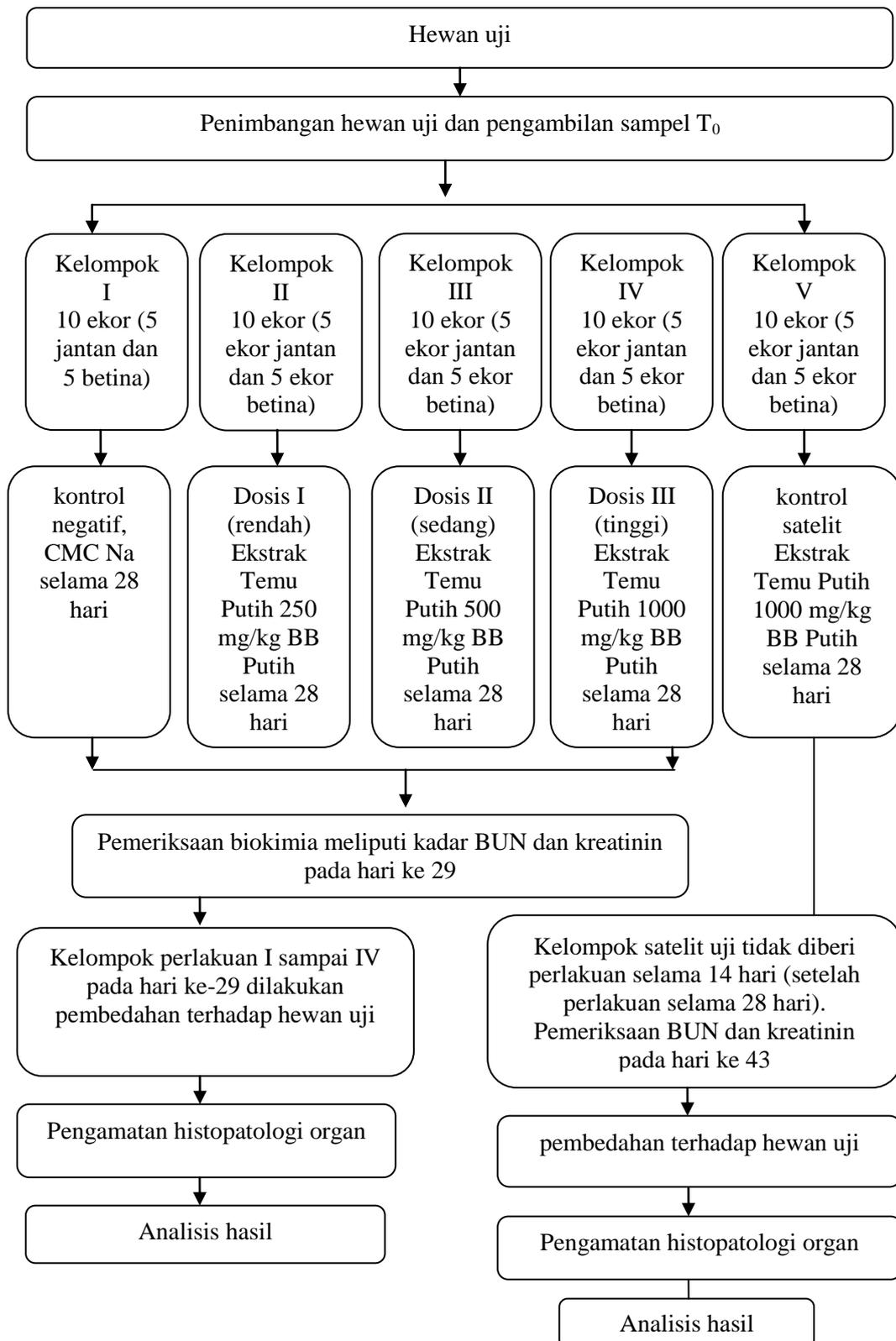
#### **14. Analisis Data**

Analisa hasil pada penelitian ini berdasarkan hasil data pengamatan terhadap gejala toksik yang muncul pada hewan uji, konsentrasi kadar nitrogen urea dan kreatinin, serta presentase kerusakan pada organ ginjal hewan uji. Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (*Kolmogorov smirnov*). Data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dan data tidak terdistribusi tidak normal ( $p < 0,05$ ) .

Analisis hasil data dilanjutkan dengan uji parametrik (One Way ANOVA) untuk mengetahui perbedaan yang bermakna diantara kelompok perlakuan. Apabila hasil One Way ANOVA menunjukkan ( $p > 0,05$ ) memiliki arti bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan (hasil normal) dan jika hasil ( $p < 0,05$ ) memiliki arti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan (hasil tidak normal).

Selanjutnya dilakukan uji Post Hoc, apabila terdapat perbedaan bermakna untuk mengetahui kelompok-kelompok yang memiliki perbedaan tersebut.

### E. Skema Penelitian



Gambar 2. Skema penelitian

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Tanaman Temu Putih**

##### **1. Determinasi tanaman temu putih dan identifikasi rimpang temu putih**

Tanaman temu putih sebelum digunakan sebagai sampel penelitian penelitian terlebih dahulu dilakukan determinasi. Determinasi dilakukan di laboratorium program studi biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta. Hasil pemeriksaan rimpang temu putih memiliki bentuk menjalar, tebal dan berdaging, basah dan aromatik, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, panjang 3-6 cm, diameter 1-2 cm, bercabang-cabang, bagian dalam rimpang berwarna kuning putih, bagian luar berwarna kuning kotor. Hasil determinasi terdapat pada lampiran 1.

##### **2. Pembuatan simplisia**

Persentase berat kering simplisia adalah 25%, yang diperoleh melalui persentase bobot (b/b) antara bobot basah dan bobot kering simplisia. Hasil perhitungan persentase simplisia terdapat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil Persentase rimpang temu putih**

<b>Berat Basah(Kg)</b>	<b>Berat Kering (Kg)</b>	<b>Persentase (%)</b>
10	2,5	25

##### **3. Pembuatan serbuk**

Serbuk halus yang diperoleh setelah proses pengayakan dengan mess no 40 sebanyak 500 g.

##### **4. Penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih**

Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih dihitung setelah dilakukan pengujian sebanyak tiga kali. Perhitungan dapat dilihat pada tabel 4 dan lampiran 12.

**Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk rimpang temu putih**

<b>Replikasi 1</b>	<b>Replikasi 2</b>	<b>Replikasi 3</b>	<b>Rata-rata</b>
8%	9%	8%	8.33%

Berdasarkan data replikasi diperoleh rata-rata kadar air serbuk rimpang temu putih adalah 8,33 % hasil ini sesuai dengan yang tertera dalam monografi yaitu

tidak lebih dari 14% (Kemenkes 2010), sehingga dapat dinyatakan dapat dinyatakan bahwa kadar air serbuk rimpang temu putih telah memenuhi syarat.

## 5. Pembuatan ekstrak etanolik rimpang temu putih

Rimpang temu putih yang digunakan sebagai sampel diperoleh dari Desa Slahung, Kecamatan Slahung, Kabupaten Ponorogo, Jawa Timur Indonesia. Dalam penelitian ini ekstrak diperoleh melalui metode maserasi. Hasil rendemen yang diperoleh adalah 44% hasil ini sesuai dengan monografi temu putih dimana hasil rendemen tidak kurang dari 7,3% (Kemenkes 2010), sehingga dapat dinyatakan bahwa hasil rendemen ekstrak rimpang temu putih telah memenuhi syarat. Hasil rendemen ekstrak rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak rimpang temu putih**

Serbuk (gram)	Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	223	44

## 6. Identifikasi senyawa

**6.1 Identifikasi fitokimia.** Hasil identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temu putih mengandung senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Hasil positif yang diperoleh sesuai dengan literatur yang digunakan. Hasil identifikasi fitokimia ekstrak rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 6 serta hasil gambar pada lampiran 6.

**Tabel 6. Hasil identifikasi fitokimia ekstrak rimpang temu putih**

Golongan	Pengamatan hasil	Interpretasi hasil	Interpretasi literatur
Saponin	Buih atau busa	+	Terbentuk buih mantap selama 10 menit
Flavonoid	Cincin merah	+	Terbentuk warna merah atau coklat pada lapisan amil alkohol
Alkaloid	Endapan putih	+	Dengan pereaksi Mayer terbentuk endapan putih dan endapan coklat pada pereaksi Wagner
Tannin	Hijau kehitaman	+	Terbentuknya warna hijau kehitaman

Saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus hidrofil dan hidrofob. Buih yang timbul pada saat penggojokan karena adanya gugus hidrofil yang

berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob berikatan dengan udara. Penambahan HCl 2N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil berikatan lebih stabil dan menghasilkan buih yang lebih stabil. Hasil pada pengujian ini positif mengandung saponin karena terbentuk busa yang stabil (Simaremare 2014). Hasil identifikasi saponin ini sesuai dengan literatur yang terdapat yang digunakan pada saat pengujian yaitu Depkes 1995, yaitu dengan penambahan HCl 2N pada campuran ekstrak dan sampel akan menghasilkan buih yang stabil selama 10 menit apabila terdapat senyawa saponin.

Pada pengujian fitokimia positif mengandung senyawa flavonoid, adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah jingga, hasil ini sesuai dengan literatur yang digunakan yaitu Depkes 1995, sebagaimana disebutkan dalam literatur bahwa akan terbentuk warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol bila terdapat senyawa alkaloid. Pada pengujian ditambahkan magnesium dan asam klorida yang bereaksi membentuk gelembung-gelembung gas  $H_2$ . Logam Mg dan HCl pekat dalam pengujian ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk warna merah atau jingga (Setyowati 2014).

Pengujian alkaloid menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya endapan putih. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Agustina (2016) yang menyatakan bahwa dengan pereaksi Mayer hasil positif identifikasi ditunjukkan dengan adanya endapan putih. Endapan tersebut diperkirakan adalah kompleks kalium-alkaloid. Larutan merkuriem (II) klorida dan kalium iodide ditambahkan pada saat pembuatan pereaksi Mayer dan bereaksi membentuk endapan merah merkuriem (II) iodide. Kalium yang ditambahkan berlebih akan menyebabkan terbentuknya kalium tetraiodomerkurat (II). Atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas merupakan kandungan yang terdapat dalam alkaloid sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Pada pengujian alkaloid menggunakan pereaksi Mayer diperkirakan nitrogen pada alkaloid bereaksi dengan logam  $K^+$  dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Setyowati 2014).

Pereaksi besi digunakan untuk mengidentifikasi senyawa tanin, penambahan  $\text{FeCl}_3$  10% akan menimbulkan terbentuknya warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan. Perubahan warna yang terjadi saat penambahan  $\text{FeCl}_3$  karena tidak adanya gugus hidroksil pada senyawa tanin (Setyowati 2014). Identifikasi senyawa tanin menunjukkan hasil positif (terbentuk warna hijau kehitaman), hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Widiaastuti (2014) yang menyatakan identifikasi tanin positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.

Pada identifikasi senyawa seharusnya dilakukan identifikasi terhadap kandungan minyak atsiri pada ekstrak rimpang temu putih sebagaimana telah ditetapkan dalam standar farmakope herbal Indonesia. Ekstrak kental rimpang temu putih adalah ekstrak yang dibuat dari rimpang *Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe atau *Zingiberaceae* mengandung minyak atsiri tidak kurang dari 0,70% v/b.

**6.2 Identifikasi kromatografi lapis tipis.** Hasil identifikasi kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoid dan tannin dalam ekstrak rimpang temu putih. Berdasarkan hasil diperoleh nilai Rf tanin untuk sampel adalah 0,86 dan untuk baku adalah 0,88. Rf baku dan sampel pada tanin memiliki sedikit perbedaan dikarenakan sampel belum murni seperti baku yang digunakan. Hasil Rf pada flavonoid adalah 0,41 untuk baku dan sampel, hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak rimpang temu putih terdapat senyawa flavonoid. Baku dalam uji kromatografi lapis tipis flavonoid adalah kuersetin serta asam galat pada tanin. Rf kedua senyawa di atas dapat diterima karena memenuhi syarat nilai Rf yang baik yaitu antara 0,2-0,8 (Wulandari 2011). Hasil gambar dan perhitungan pada tabel 7 dan lampiran 8.

**Tabel 7. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis**

Senyawa	Rf	
	Baku	Sampel
Tannin	0,88	0,86
Flavonoid	0,41	0,41

## B. Hasil Uji Toksisitas Subkronis Singkat

### 1. Berat badan

Berat badan hewan uji diamati setiap seminggu sekali melalui cara penimbangan. Penimbangan berat badan ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan berat badan hewan uji pada waktu sebelum dan selama diinduksi ekstrak rimpang temu putih dan untuk menghitung jumlah dosis yang harus diberikan pada hewan uji. Berdasarkan hasil rata-rata terlihat adanya penurunan berat badan pada kelompok dosis 1000 mg dan satelit. Hewan uji mengalami penurunan berat badan dapat disebabkan karena kurangnya asupan pakan yang diterima oleh hewan uji, namun selama penelitian pemeliharaan hewan uji diperhatikan sehingga hewan uji tidak kekurangan asupan pakan atau minum. Berat badan hewan uji yang menurun tidak dipengaruhi oleh kurangnya asupan pakan atau minum yang diterima. Data rata-rata dan standar deviasi berat badan hewan uji dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8. Hasil rata-rata dan standar deviasi berat badan hewan uji**

Jenis kelamin	Kelompok perlakuan	Berat badan tikus (g) ± SD				
		Hari ke 0	Hari ke 7	Hari ke 14	Hari ke 21	Hari ke 28
Jantan	Kontrol normal	170 ± 27,39	170,4 ± 27,03	170,8 ± 25,82	174 ± 27,52	176,4 ± 27,13
	Dosis 250 mg/kg BB tikus	156 ± 28,81	157,2 ± 27,11	157 ± 23,61	155,6 ± 23	155,4 ± 21,3
	Dosis 500 mg/kg BB tikus	156 ± 25,1	156 ± 25,1	154,8 ± 23,7	152,4 ± 22,35	150,2 ± 22,11
	Dosis 1000 mg/kg BB tikus	148 ± 32,71*	148,2 ± 30,54*	146,6 ± 30,62*	145,6 ± 31,33*	143,6 ± 31,5*
	Kontrol satelit	148 ± 32,71*	147 ± 29,71*	144,2 ± 27,6*	141 ± 26,1*	137,4 ± 24,72*
Betina	Kontrol normal	172 ± 21,68	172,6 ± 20,51	173,4 ± 18	174 ± 15,12	174,6 ± 14
	Dosis 250 mg/kg BB tikus	176 ± 16,73	175 ± 17,1	172,8 ± 6,5	170,4 ± 16,3	168 ± 16,5
	Dosis 500 mg/kg BB tikus	174 ± 25,1	173,2 ± 23,3	172 ± 20,7	171 ± 17,62	170 ± 16,32
	Dosis 1000 mg/kg BB tikus	160 ± 22,4*	160,2 ± 22,03*	159,8 ± 22,43*	157,8 ± 23,2*	155,6 ± 23,8*
	Kontrol satelit	156 ± 8,94*	153 ± 9,2*	152 ± 8,1*	150 ± 8,72*	148,8 ± 9,31*

Keterangan : \*berbeda dengan kontrol

Penurunan berat badan kemungkinan dapat dipengaruhi oleh adanya senyawa saponin, dimana saponin dapat menurunkan berat badan dengan cara melarutkan lemak kedalam air dari jaringan, larutnya lemak dari pembentuk dinding sel mukosa usus menyebabkan terganggunya proses penyerapan dari

nutrien dengan molekul kecil (Agung *et al.* 2014). Pada penelitian yang dilakukan oleh Hidayati (2008) disebutkan bahwa akumulasi tanin bebas dapat mengikat protein dan makromolekul lain yang diperlukan untuk pertumbuhan sehingga menyebabkan penurunan berat badan. Berdasarkan uraian tersebut penurunan berat badan yang terjadi pada hewan uji kemungkinan disebabkan oleh senyawa saponin dan tanin yang terkandung dalam ekstrak rimpang temu putih. Hasil analisis statistik berat badan hewan uji dapat dilihat pada lampiran 19.

## 2. Blood Urea Nitrogen (BUN)

Metabolisme ureum dimulai dari pemecahan protein menjadi asam amino. Asam amino kemudian akan dipecah dan dipakai untuk energi atau disimpan terutama sebagai lemak, pemecahan ini terjadi dihati. Melalui proses deaminasi (pengeluaran gugus asam amino dari asam amino). Ammonia dilepaskan selama proses deaminasi, dikeluarkan dari dari darah hampir seluruhnya dengan diubah menjadi ureum (dua molekul dengan satu molekul karbondioksida). Setelah reaksi pembentukan, ureum berdifusi dari sel hati ke dalam cairan tubuh dan diekskresikan oleh ginjal.

Kadar *blood urea nitrogen* (BUN) menunjukkan adanya keseimbangan antara pembentukan urea, katabolisme protein dan sekresi urea oleh ginjal. Peningkatan kadar BUN disebabkan karena penurunan proses filtrasi glomerulus sehingga menunjukkan adanya gangguan pada fungsi ginjal. Hasil kadar BUN melebihi nilai normal pada hewan uji tikus yaitu lebih dari 15-21 mg/dl (Wati 2015). Hasil analisis statistik kadar BUN dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9. Hasil rata-rata dan standar deviasi kadar blood urea nitrogen (BUN)**

Jenis kelamin	Kelompokdosis	Kadar darah		
		T0	T29	T42 (satelit)
jantan	Kontrol normal	20,4± 1,51	20,4 ±1,14	
	Dosis 250 mg	19,6 ±1,51	36,6 ± 2,30*	
	Dosis 500 mg	19,2± 0,83	46,8 ±2,28*	
	Dosis 1000 mg	20,6±1,51	52,4 ± 3,20*	
	Kontrol satelit	19,8 ± 1,64	52,6 ± 3,09*	51 ± 5,65*
betina	Kontrol normal	20,6 ±1,34	19,8 ± 1,64*	
	Dosis 250 mg	20,8 ± 1,64	39,4 ± 4,39*	
	Dosis 500 mg	21,4 ± 0,89	45,4 ± 3,57*	
	Dosis 1000 mg	20,2 ± 1,34	54,2 ± 2,16*	
	Kontrol satelit	19,8 ± 1,48	54,6 ± 2,96*	19,4 ±1,14**

Keterangan : \* berbeda dengan kontrol

\*\* Berbeda dengan T29

BUN meningkat dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya karena adanya katabolisme jaringan seperti demam, trauma, infeksi, dan toxemia, dehidrasi dan azotemia. Azotemia merupakan salah satu penyebab peningkatan kadar BUN melalui penurunan fungsi GFR yang juga dapat disebabkan oleh dehidrasi, pada penelitian yang dilakukan pemberian pakan dan minum pada hewan uji sudah memenuhi kebutuhan pada hewan uji sehingga kemungkinan terjadinya dehidrasi pada hewan uji kecil. Katabolisme jaringan yang dapat terjadi seperti demam, infeksi, trauma dan toxemia pada pengamatan saat dilakukan penelitian di lapangan tidak ditemukan adanya tanda yang menunjukkan adanya gangguan pada katabolisme jaringan hewan uji.

Berdasarkan data tabel di atas diketahui terdapat peningkatan kadar BUN pada hari pertama pengambilan darah sampai dengan hari ke 29. Peningkatan kadar BUN terjadi pada kelompok 2, 3, 4 dan 5 pada kelompok jantan dan betina. Berdasarkan analisis data yang dilakukan untuk kelompok jantan dan betina diperoleh nilai  $p < 0.05$  sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan BUN pada kelompok kontrol dan perlakuan. Khusus untuk kontrol satelit pengukuran darah dilakukan kembali pada hari ke 42. Hasil yang diperoleh berdasarkan data menunjukkan bahwa rata-rata kadar BUN pada kelompok jantan pada hari ke 29 dan 42 tidak mengalami penurunan atau peningkatan, namun terjadi penurunan rata-rata kadar BUN pada kelompok satelit betina. Hal ini menunjukkan bahwa bila induksi dihentikan kadar BUN dapat turun kembali.

Wientarsih *et.al* (2012) menyatakan bahwa kenaikan kadar ureum dalam darah bisa disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya peningkatan katabolisme protein jaringan disertai dengan keseimbangan nitrogen yang negatif, Pemecahan protein darah yang berlebih, pengurangan eksresi urea karena penurunan laju filtrasi glomerulus dan pengaruh zat kimia toksik. Terdapat hubungan positif antara ureum, kreatinin dan proteiuria. Protein merupakan suatu penanda adanya kerusakan ginjal, kadar protein yang dapat dideteksi dalam jumlah yang stabil adalah albumin urin (Indriani *et. al* 2017). Peneliti pada penelitian ini tidak mengukur volume urin dan uji organoleptis pada urin untuk mengetahui adanya protein yang ikut tereksresi dalam urin maupun uji untuk mengetahui kondisi

albuminemia pada hewan uji, sehingga tidak dapat disimpulkan apakah hewan uji mengalami proteinuria atau tidak.

Rimpang temu putih mengandung beberapa senyawa metabolit skunder yang berkhasiat dalam pengobatan, namun kemungkinan juga dapat menyebabkan efek toksik. Saponin merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam temu putih. Penelitian Wisloff (2008) menyatakan bahwa pemberian ekstrak *Yucca schidigera* yang mengandung saponin dapat menyebabkan peningkatan kadar ureum darah. Ureum juga dapat meningkat pada keadaan salah satunya adalah gagal ginjal atau bila terjadi kerusakan pada ginjal. Radikal bebas juga dapat meningkatkan kadar BUN, peningkatan radikal bebas dan *Reactive oxygen species* (ROS) menginduksi stress oksidatif dalam ginjal akan menyebabkan terjadinya kematian sel dimana isi-isi sel yang keluar akan berikatan dengan protein fibronektin didalam lumen tubular. Proses ini akan menyebabkan terjadinya penyumbatan berupa silinder sehingga BUN tidak dapat dikeluarkan dengan baik (Michael 2013). Analisis data kadar BUN dapat dilihat pada lampiran 18.

### **3. Kreatinin plasma**

Sumber utama kreatinin dalam plasma adalah metabolisme normal kreatin fosfat dalam otot, sebagian besar keratin ditemukan dalam jaringan otot. Otot tidak memiliki kemampuan membuat keratin, keratin diambil dari darah melawan gradien konsentrasi melalui keratin transporter yang tergantung Na dan Cl. Kebutuhan keratin diperoleh dari absorpsi usus dari makanan atau de novo biosintesis keratin. Biosintesis keratin terutama terjadi di ginjal, transfer asam amino arginin dan glisin untuk menghasilkan L-ornitin dan asam guanidinoasetik (GGA) kemudian hati merupakan organ yang menyelesaikan metilasi asam guanidinoasetik (GAA) menjadi keratin. Keratin dan fosfokreatin otot diubah secara nonenzimatik menjadi kreatinin melalui cara penghilangan gugus fosfor yang nantinya akan berdifusi keluar sel dan diekskresikan oleh ginjal. Sifat khas kreatinin ini yang dijadikan sebagai penanda untuk mengukur klirens dan kelainan pada fungsi ginjal. Adanya kelainan pada fungsi ginjal dapat ditandai dengan kenaikan kadar serum kreatinin.

Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari keratin dan fosfokreatin. Jika terjadi disfungsi renal maka kemampuan filtrasi kreatinin akan berkurang dan kreatinin serum akan meningkat. Peningkatan kadar kreatinin serum dua kali lipat mengindikasikan adanya penurunan fungsi ginjal sebesar 50%, dan peningkatan kadar serum kreatinin sebanyak tiga kali lipat menandakan adanya penurunan fungsi ginjal sebanyak 75%. Kadar kreatinin serum pada penelitian ini mengalami peningkatan dimana kadar kreatinin serum melebihi kadar kreatinin normal pada hewan uji tikus yaitu 0,2-0,8 mg/dl (Wati 2015).

Ada beberapa penyebab peningkatan serum kreatinin dalam darah, diantaranya adalah kelelahan yang berlebihan, penggunaan obat yang bersifat toksik pada ginjal, disfungsi ginjal disertai infeksi, hipertensi yang tidak terkontrol dan penyakit ginjal. Data rata-rata dan standar deviasi kadar serum kreatinin terdapat pada tabel 10.

**Tabel 10. Hasil rata-tara dan standar deviasi kadar serum kreatinin hewan uji**

Jenis kelamin	Kelompok dosis	Kadar darah		
		T0	T29	T42
jantan	Kontrol normal	0,36 ± 0,08	0,48 ± 0,08	
	Dosis 250 mg	0,34 ± 0,05	0,8 ± 0,14	
	Dosis 500 mg	0,48 ± 0,08	1,16 ± 0,23*	
	Dosis 1000 mg	0,46 ± 0,11	1,32 ± 0,27*	
	Kontrol satelit	0,38 ± 0,08	1,24 ± 0,23*	1,36 ± 0,15*
betina	Kontrol normal	0,44 ± 0,11	0,48 ± 0,08	
	Dosis 250 mg	0,42 ± 0,08	0,84 ± 0,16	
	Dosis 500 mg	0,36 ± 0,15	1,32 ± 0,29*	
	Dosis 1000 mg	0,42 ± 0,14	1,2 ± 0,22*	
	Kontrol satelit	0,4 ± 0,14	1,1 ± 0,29*	0,30 ± 0,08**

Keterangan : \* berbeda dengan kontrol

\*\* Berbeda dengan T29

Peningkatan kadar serum kreatinin salah satunya adalah kelelahan yang berlebihan, berdasarkan pengamatan yang dilakukan setelah hewan uji diinduksi ekstrak rimpang temu putih hewan uji tidak memiliki aktivitas berlebih dan cenderung tenang, sehingga dapat dinyatakan bahwa peningkatan serum kreatinin pada hewan uji tidak berkaitan dengan aktivitas yang berlebih dari hewan uji. Disfungsi ginjal, hipertensi serta penyakit ginjal juga merupakan parameter yang dapat dijadikan sebagai acuan terhadap adanya peningkatan kadar serum kreatinin, namun peningkatan serum kreatinin yang terjadi pada hewan uji tidak dapat dikatakan disebabkan oleh ketiga faktor tersebut karena dalam penelitian yang dilakukan dilapangan tidak dilakukan pengujian yang dapat digunakan untuk

mengetahui kondisi tersebut misalnya uji biokimia untuk mengetahui adanya disfungsi atau penyakit pada ginjal.

Berdasarkan data tabel terlihat adanya peningkatan kadar kreatinin pada kelompok perlakuan 3, 4, dan 5 pada kelompok jantan dan betina. Berdasarkan analisa data yang dilakukan diperoleh nilai  $p < 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan 1(kontrol) dengan kelompok perlakuan 3, 4 dan 5 pada kelompok jantan dan betina. Khusus untuk kontrol satelit pemeriksaan kadar darah dilakukan kembali pada hari ke 42. Hasil yang diperoleh menunjukkan tidak ada perbedaan kadar kreatinin pada hari ke 29 dan 42, sedangkan pada kelompok betina pada hari ke 42 terjadi penurunan kadar kreatinin.

Peningkatan kadar kreatinin selain disebabkan oleh beberapa faktor yang telah disebutkan juga dapat dikarenakan adanya AKI. *Acute Kidney Injury* (AKI) didefinisikan oleh *Kidney Disease Initiative Global Outcome* (KDIGO) merupakan salah satu dari adanya peningkatan kreatinin serum  $>0,3$  mg/dl dalam 48 jam atau peningkatan kreatinin serum sampai  $>1,5$  kali dari nilai dasar sebelumnya atau diperkirakan telah timbul dalam 7 hari sebelumnya dan volume urin  $<0,5$  mg/kg BB/jam selama 6 jam. Faktor resiko dan beberapa penyebab AKI adalah sepsis, operasi besar, curah jantung yang rendah, hipovolemia serta obat-obatan (KDIGO 2012). Rimpang temu putih mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang berkhasiat dalam pengobatan, namun kemungkinan juga dapat menyebabkan efek toksik. Saponin merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam temu putih. Penelitian Wisloff (2008) menyatakan bahwa pemberian ekstrak *Yucca schidigera* yang mengandung saponin dapat menyebabkan peningkatan kadar kreatinin darah.

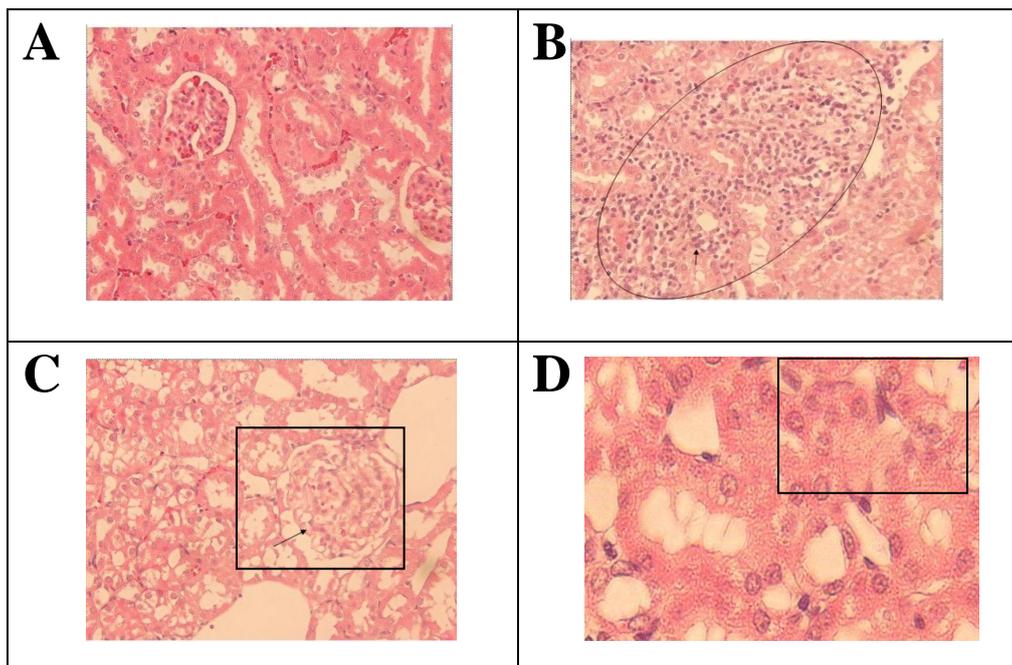
Serum kreatinin dapat meningkat karena adanya radikal bebas. Peningkatan radikal bebas dan *Reactive oxygen species* (ROS) menginduksi stress oksidatif dalam ginjal akan menyebabkan terjadinya kematian sel dimana isi sel yang keluar akan berikatan dengan protein fibronektin di dalam lumen tubular. Proses ini akan menyebabkan terjadinya penyumbatan berupa silinder sehingga

kreatinin tidak dapat dikeluarkan dengan baik (Michael 2013). Analisis data kadar kreatinin dapat dilihat pada lampiran 18.

#### **4. Histopatologi organ**

Histopatologi merupakan cabang ilmu biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi erat kaitannya dengan diagnosis suatu penyakit, karena histopatologi merupakan salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis melalui pengamatan jaringan yang diduga terganggu. Gambaran histopatologi yang diperoleh berdasarkan pengamatan preparat sampel ginjal menunjukkan adanya perubahan pada jaringan ginjal berupa, infiltrasi radang, degenerasi vakuoler dan nekrosis. Perubahan ini terjadi pada tikus jantan kelompok 2, 3, 4 dan 5. Pada kelompok betina perubahan jaringan yang dialami adalah nekrosis.

Radang atau inflamasi adalah suatu respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh kerusakan pada jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat mikrobiologik. Inflamasi berfungsi untuk menghancurkan, mengurangi, atau melokalisasi (sekuster) baik agen yang merusak maupun jaringan yang rusak (Agustina 2015). Degenerasi hidropis adalah degenerasi yang terjadi dengan ciri-ciri sel membengkak hingga ukuran dua kali normal dan bersifat *reversible*. Degenerasi hidropis memiliki gambaran khas berupa vakuola dari ukuran kecil sampai ke besar yang berisi air dan tidak mengandung lemak, merupakan kondisi dimana sitoplasma sel mengandung air (Almunawati *et al.* 2017). Gambaran histopatologi organ dapat dilihat pada gambar 3.



**Gambar 3. Hasil histopatologi ginjal**

Keterangan gambar :

- A : histopatologi ginjal normal
- B : histopatologi ginjal radang
- C : histopatologi ginjal degenerasi
- D : histopatologi ginjal nekrosis

Gambar B merupakan gambaran histopatologi ginjal yang mengalami peradangan. Ciri-ciri yang dapat dilihat berdasarkan gambar diatas adalah adanya inflamasi sel-sel radang akut dan hiperplasia sehingga banyak sel baru yang terlihat, keadaan ini sesuai dengan ciri-ciri mikroskopik pada peradangan akut oleh Sander (2004) dimana salah satunya adalah inflamasi sel-sel radang akut (PMN). Adanya peradangan akan memicu reaksi inflamasi, makrovag yang berada dalam sinovium mensintesa interleukin-6 untuk merangsang pembentukan CRP. CRP tidak akan terbentuk pada keadanan yang normal, CRP terbentuk apabila ada proses inflamasi dan kerusakan jaringan. Kadar CRP ini akan turun kembali setelah sel mengalami perbaikan dari kerusakannya.

Gambar C menunjukkan kondisi degenerasi pada histopatologi organ ginjal. Degenerasi yang terjadi pada ginjal hewan uji adalah degenerasi hidropis atau degenerasi vakuoler. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis organ ginjal ditemukan adanya degenerasi yang ditandai dengan pembesaran sel dan berisi air, kondisi ini sesuai dengan teori dimana secara mikroskopis pada sel yang mengalami degenerasi hidropis akan terlihat adanya ruangan-ruangan jernih di

sitoplasma tetapi tidak sejernih kolagen maupun lemak (Suyanti 2008). Mekanisme terjadinya degenerasi ini karena adanya daya kohesi molekul air dan lemak, dimana daya kohesi molekul lemak lebih kuat daripada molekul air sehingga mampu mendesak inti sel ke pinggir (Berata *et al.* 2015).

Gambar D menunjukkan keadaan nekrosis, nekrosis merupakan kematian sel yang bersifat patologis dari jaringan tubuh tertentu pada hewan yang masih hidup. Tiga penyebab pokok nekrosis adalah virus, kekurangan oksigen, racun-racun (toxin) termasuk toxin kuman, racun-racun yang berasal dari hewan dan tumbuhan serta bahan kimia atausintetik. Nekrosis dapat disebabkan karena adanya stimulus yang berlebihan. Pada penelitian ini kemungkinan nekrosis terjadi karena adanya stimulus yang terlalu berat dan berlangsung lama serta melebihi kapasitas adaptif sel yang menyebabkan kerusakan pada sel karena sel tidak mampu lagi untuk mengkompensasi tuntutan perubahan. Sel yang mengalami kematian dapat dikenali dengan adanya enzim-enzim lisis yang melarutkan berbagai unsur sel serta timbulnya peradangan. Leukosit akan membantu mencerna sel yang mengalami kematian dan selanjutnya akan terjadi perubahan-perubahan secara morfologis.

Perubahan yang terjadi pada hewan uji meliputi infiltrasi radang, degenerasi dan nekrosis kemudian di skoring dan dianalisis menggunakan statistik. Berdasarkan hasil skoring diperoleh nilai  $p > 0,05$  pada kelompok jantan dan betina sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak ada perbedaan antara kontrol dengan kelompok perlakuan. Perubahan organ yang terjadi pada hewan uji kemungkinan dapat disebabkan oleh beberapa senyawa yang terkandung dalam ekstrak rimpang temu putih. Beberapa senyawa yang terkandung dalam ekstrak rimpang temu putih adalah saponin dan tanin. Tanin di dalam tubuh akan didegradasi menjadi asam galat yang dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah ginjal. Saponin memiliki efek hemolisis pada sel darah merah dan juga dapat menyebabkan kerusakan gastrointestinal, kedua senyawa tersebut diduga dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal (Akomolafe *et al.* 2014) serta dalam penelitian Diwan *et al.* (2000) menyatakan bahwa saponin dalam dosis 100-600 mg/kg BB dapat menyebabkan hemoragi jaringan pada ginjal.

Alkaloid merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam rimpang temu putih, pada penelitian Yakubu dan Musa (2012) dikatakan bahwa alkaloid dapat menyebabkan kerusakan struktural pada nefron ginjal tikus hamil dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg BB selama 18 hari. Perubahan pada ginjal juga kemungkinan disebabkan oleh senyawa alkaloid dan tanin, kedua senyawa tersebut memiliki mekanisme merusak ginjal dengan mengubah membran sel dengan cara berinteraksi dengan lapisan lemak dan menghambat transport natrium dengan kekuatan ATP-nya. Apabila transport ion  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-nya pada membrane dihambat maka ion  $\text{Ca}^+$  intrasel meningkat sehingga menyebabkan adanya penimbunan kalsium dalam sitoplasma serta dapat mengaktifkan beberapa enzim seperti *phospholipase*, *protease*, *adenosine*, *triphosphatase* dan *endonulease* (Rasyad 2012). Enzim-enzim tersebut dapat menghambat sintesis ATP dalam mitokondria dan mempengaruhi permeabilitas membran mitokondria sehingga terjadi oksidasi DNA inti dan DNA mitokondria serta menyebabkan pemutusan rantai DNA. Rantai DNA yang telah terputus akan menyebabkan kematian sel yang tidak terprogram atau nekrosis (Sholekha 2013).

Ginjal merupakan organ yang berperan dalam mengatur keseimbangan tubuh, mempertahankan cairan tubuh, dan mengatur pembuangan sisa metabolisme dan zat-zat yang bersifat toksik seperti urea, asam urat, amoniak, kreatinin, garam anorganik, dan juga senyawa obat-obatan yang tidak diperlukan oleh tubuh. Organ ginjal merupakan organ yang rentan terhadap pengaruh zat kimia. Kerentanan ini didasarkan pada posisi dan sirkulasi cairan tubuh (Donatus 2001). Tubulus merupakan bagian ginjal yang paling banyak dan paling mudah mengalami kerusakan pada kasus nefrotoksik. Kerusakan ini dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan-bahan toksik dan karakter tubulus yang memiliki epitel yang lemah dan mudah bocor (Wahyuningsih 2016).

Kerusakan ginjal yang terjadi pada hewan uji kemungkinan terdapat pada bagian tubulus, hal ini ditandai dengan adanya peningkatan kadar BUN dan kreatinin yang menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut tidak dapat diekskresikan secara sempurna oleh ginjal. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Michael (2013) yang menyatakan bahwa ureum dan kreatinin

dapat meningkat karena adanya radikal bebas, peningkatan radikal bebas dan *Reactive oxygen species* (ROS) akan menginduksi stress oksidatif pada ginjal sehingga menyebabkan terjadinya kematian sel dimana isi-isi sel akan keluar dan berikatan dengan protein fibronektin dalam lumen tubular. Ikatan yang terjadi ini akan menyebabkan terjadinya penyumbatan berupa silinder sehingga ureum dan kreatinin tidak dapat dikeluarkan dengan baik.

Ginjal mirip dengan hati apabila mengalami cedera, karena memiliki sel epitel yang dapat beregenerasi tetapi arsitekturnya tidak dapat diperbaiki. Kerusakan epitel tubulus akibat iskemia atau terkena toksin dapat menimbulkan gagal ginjal klinis. Sel epitel yang cukup banyak masih hidup dan dapat membentuk tubulus lagi sehingga fungsi ginjal dapat normal kembali (Sander 2004).

Hasil histopatologi menunjukkan adanya beberapa perubahan yang terjadi pada ginjal hewan uji berupa infiltrasi sel radang, degenerasi vakuoler dan nekrosis, namun berdasarkan skor pada kerusakan yang terjadi diperoleh penurunan nilai skor pada kelompok satelit. Nilai ini sebanding dengan hasil pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin yang juga mengalami penurunan pada kelompok satelit. Data skor yang diperoleh kemudian di uji statistik dan diperoleh hasil  $p > 0,05$  sehingga dapat dinyatakan tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Perubahan yang terjadi pada hewan uji kemungkinan bersifat *reversible* sehingga dapat kembali normal setelah induksi dihentikan.

Pengaruh pemberian ekstrak rimpang temu putih terhadap hewan uji dapat dilihat dari adanya penurunan berat badan hewan uji. Parameter lain yang digunakan adalah pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin, dimana hasil analisis data menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok 1 (sebagai kelompok kontrol) dengan kelompok perlakuan yaitu kelompok 2, 3, 4 dan 5 pada kadar BUN dan kelompok 3, 4, dan 5 pada kadar kreatinin. Peningkatan kadar darah ini terjadi pada kedua kelompok jantan dan betina, namun pada kelompok satelit betina terjadi penurunan kadar BUN dan kreatinin sehingga ditemukan adanya perbaikan pada hasil pemeriksaan histopatologi ginjal. Penurunan kembali kadar BUN dan

kreatinin serta perbaikan dari histopatologi ginjal kelompok satelit ini kemungkinan disebabkan karena respon tubuh yang berbeda dari setiap hewan uji.

Hasil uji toksisitas subkronik singkat menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rimpang temu putih memiliki pengaruh terhadap tikus putih galur wistar dilihat dari parameter berat badan, pengukuran kadar darah meliputi pengukuran kadar BUN dan kreatinin serta histopatologi organ. Histopatologi organ menunjukkan terjadinya perubahan pada sel meliputi radang, degenerasi dan nekrosis. Pada penelitian sebelumnya yaitu uji toksisitas akut, ekstrak rimpang temu putih tidak memiliki efek toksik, sehingga dapat dilanjutkan penelitian yang selanjutnya yaitu uji toksisitas subkronik. Uji toksisitas akut yang sebelumnya telah dilakukan oleh Mufidah (2016) bila dibandingkan dengan uji toksisitas subkronik singkat memiliki perbedaan hasil dimana pada uji toksisitas subkronis singkat terjadi kenaikan kadar BUN dan serum kreatinin serta perubahan pada organ ginjal berupa radang, degenerasi dan nekrosis.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan data penelitian yang telah diperoleh dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak rimpang temu putih memberikan perubahan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin pada hewan uji.
2. Pemberian ekstrak rimpang temu putih pada uji toksisitas subkronis singkat memberikan pengaruh terhadap histopatologi organ ginjal berupa radang, degenerasi dan nekrosis.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa terkandung dalam rimpang temu putih yang dapat menyebabkan perubahan pada kadar bun dan kreatinin serta uji lain untuk memastikan kondisi ginjal dan keamanannya seperti uji biokimia selain BUN dan kreatinin.
2. Perlu dilakukan uji organoleptis dan pengukuran volume urin hewan uji
3. Perlu dilakukan adanya pengamatan terkait pengendalian suhu, makanan dan faktor lainnya.
4. Perlu dilakukan uji toksisitas lanjutan seperti uji toksisitas kronis.
5. Perlu dilakukan identifikasi pada senyawa minyak atsiri yang terkandung dalam rimpang temu putih sebagaimana terdapat pada monografi rimpang temu putih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar MG, Hassan LG. 2007. Toxicological effects of some mosquito coils brands in experimental rats. *J. Toxicology* 4 (1)
- Agung J, Jasaputra DK, Setiabudi E. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* LAMK.) terhadap penurunan berat badan penderita obesitas [Tesis]. Bandung: Universitas Kristen Maranatha hlm 3
- Akomolafe SF, Akinyemi AJ, and Anadozie SO. 2014. Phenolic acids (gallic and tannic acids) modulate antioxidant status and cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *International Scholarly Research Notices*. hlm 7
- Almunawati, Budiman H, Aliza D. 2017. Histoptologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinjeksi formalin. *Jimvet*. 01 (3)
- Ayuningtyas N, Trianto HF, Fitriyaningrum I. 2015. Efek nefrotoksik pemberian ekstrak etanol 70% kaun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*(Aiton) *hassk*) terhadap kadar ureaum dan kreatinin serum tikus galur wistar. *Jurnal Cerebellum* 1(4). hlm 300-301
- Azam G, Noman S. Pavel AM. 2017. Evaluation of anti-diarrhoeal of *Curcuma zedoaria rhizome*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(3).
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM) .2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Banarjee A. 2005. *Renal Physiology In: Clinical Physiology An Examination Primer*. USA. Cambridge University Press
- Berata K, Winaya OBI, Mirah AA, Adyana WB. 2015. *Patologi Veteriner Umum*. Denpasar: Swasta Nulus
- Besselsen DG. 2004. *Biology of Laboratory Radent*. New York : Medical Books
- Chasani S. 2008. Antibiotic Nefrotoksik: Penggunaan pada Gangguan Fungsi Ginjal. Di dalam: *Devisi Ginjal Hipertensi Bagian Ilmu Penyakit Dalam*. Semarang: FK UNDIP/RS Kariadi
- Corwin J, Elisabeth. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC hlm 704-705
- Dalimartha S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Perpustakaan Nasional RI
- Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

- Depkes RI. (1989). *Material Medika Indonesia*. Ed V. Jakarta: Dirjen POM
- Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI hlm 174
- Depkes RI. 2000. *Parameter Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan
- Dewi SR. 2002. Toksisitas akut petasan rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI hlm10-12.
- Diwan FH, Hassan IAA, Mohammed ST. 2000. Effect of saponin on mortality and histopathological changes in mice. *Eastern Mediterranean Health Journal* 6(23) hlm345-351.
- Djamal R. 1988. *Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Negeri Andalas
- Donatus IA. 2001. *Toksikologi Dasar*. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Eatau DL, Klaassen CD. 2001. *Principle of Toxicology. Casarett and Doull's Toxicology : The Basic Science of Poison*. Ed 6. New Yorks: Mc. Graw Hill.
- Edmund L. Kidney function tests. 2010. *Clinical chemistry and molecular diagnosis*. 4th ed. America: Elsevier 797-831.
- Fahrimal Y, Rahmiwati, Aliza D. 2016. Gambaran histopatologis ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan yang diinfeksi trypanosoma evansi dan diberi ekstrak daun sernai (*Wedelia biflora*). *Junal Medika veterinata*: 169
- Fazri, Mohammad. 2015. *Jumlah spesies tumbuhan di Indonesia*. [online].
- Ganong, W. F. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* edisi 20. Jakarta: Buku Kedokteran. EGC hlm 671
- Gowda S, Desai PB, Kulkarni SS, Hull VV, Math AAK, Vernekar SN. 2010. Markers of renal function tests. *N Am J Med Sci* 2(4): 170-3.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya

- Gupta RPS, Ali M, Eranna D, Setty SR. 2003. Evaluation Of Anti-Ulcer Effect Of Root Of *Curcuma Zedoaria* In Rats. *Indian Journal Of Traditional Knoaladge* 2(4)
- Guyton AC, Hall JE. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. edisi 9. Jakarta: EGC. hlm 399
- Handajani SN. 2003. Analisis sitostatika temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) *roscoe*) pada sel-sel spermatogenik mencit (*Mus musculus* L). *Biosmart* 5 (2)
- Harborne T. 1987. *Metode Fitokimia* edisi 2. Bandung: ITB
- Hidayati D. 2008. Pengaruh penambahan yeast pada pemberian lamtoro merah (*Acacia villosa*) terhadap histopatologi ginjal tikus (*Rattus rattus*) [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. hlm 17
- Hidayat M et al. 2016. Subchronic treatment of combination extract detam 1 soybean and jati belanda leaves has no toxic effect on function, weight, and histopathological of wistar rat kidney. *Journal Of Medicine and Health*. 1(4): 349
- Indriani V, Siswandari W, Lestari T. 2017. Hubungan Antara Kadar Ureum, Kreatinin, Klirens Kreatinin dengan Proteinuria pada Penderita Diabetes militus. Di dalam : *prosidimg seminar nasional dan call for papers*. Purwokerto. Fakultas Kedokteran Universitas Jendral Sudirman
- Ittihaada M. 2017. Efektivitas pemberian ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) *Roscoe*) dalam menurunkan rasa nyeri pada penderita low back pain (nyeri pinggang) [tesis]. Surabaya: Universitas Airlangga
- Kara A. 2012. Renal function. *Clinical chemistry 6th ed*. Philadelphia: Wolters Kluwer
- Kemenkes. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. hlm 174
- Kemenkes. 2010. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. hlm 114
- Kemenkes. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. hlm XX
- Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO). 2012. Clinical practice guiline for the evaluation and management of chronic disease kidney

- Kumar V, Cotran R, Robbins SL. 2012. *Buku ajar patologi*. edisi 7 vol 1. Jakarta: EGC
- Lestari, T, Sidik, Y. 2013. Isolasi dan identifikasi senyawa tannin dari ekstrak air kulit batang kelapa gading (*Cococ var. eburnean*). *Jurnal kesehatan bakti tunas husada* 9 (1)
- Malole, M. B. M. dan Pramono, C. S. U. 1989. *Pengantar Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB
- Markham KR. 1982. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. penerjemah: Kokasih Padmawinata. (1988). Bandung :ITB
- Mengko, Richard. 2013. *Instrumentasi Laboratorium Klinik*. Bandung: ITB
- Michael. 2013. Pengaruh ekstrak metanol daun kesum (*Polygonum minus huds*) terhadap peningkatan kadar kreatinin dan ureum serum tikus putih galur wistar terinduksi sisplatin [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungputra
- Moelyono MW. 1996. *Panduan Praktikum analisis Fitokimia*. Bandung: Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA,Universits Padjajaran
- Mufidah HI. 2016. Uji toksisitas akut ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria (berg) Roscoe*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta
- Murwanti R, Meiyanto E, Nurrochmad A, Kristina AS. 2004. Efek ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoary Rosc.*) terhadap pertumbuhan tumor paru pase post inisiasi pada mencit betina diinduksi benzo[a]piren. *Majalah Farmasi Indonesia* 15 (1)
- Mc Bride J, Kraemar WJ. 1999. Free radical, exercise and antioxidant. *Journal Of Strength and conditioning Research* 13(2):175-183
- Nani, F. F. 2017. Uji toksisitas akut peroral ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe*) pada tikus betina wistar [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Nuryanti S. 2016. Aktivitas antifungi temu putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap *trichophyton mentagrophytes*. *As-Syifaa* 8 (2).
- Price SA, Wilson, Lorrain MC, 2005. *Patofisiologi Clinical Concepts of Desiase Process*. Ed 6, Vol 2. Penerjemah: Brahm U. Jakarta: EGC. hlm 867
- Putri MS. 2014. White tumeric (*Curcuma Zedoaria*): its chemical substance and pharmacological benefit. *J Majority*. 3 (7)

- Rahmatullah M et al. 2012. Antihyperglycemic activity evaluation of rhizomes of *Curcuma Zedoaria* (Chrism.) Roscoe and fruits of *Sonneratia Caseolaris* (L.) Engl. *International Journal Of PharmTech.* 10 (1)
- Rasyad AA, Mahendra P, Hamdani Y. 2012. Uji nefrotoksik dari ekstrak etanol biji mahoni (*Swietenia mahagoni jacq*) terhadap tikus putih jantan galur wistar. *Jurnal Penelitian Sains* 15 (2)
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung: IPB press
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Ed 4. Penerjemah; Kosasih Padmawinata. Bandung: IPB press
- Saefudin Dkk. 2014. Potensi antioksidan dan aktivitas antiproliferasi ekstrak temu putih (*Curcuma Zedoaria*) pada sel hela. *Widyariset* 17 (3)
- Sabar R. 2007. *Pengantar Metodologi Penelitian*. Kudus: FKIP, Universitas Muria Kudus
- Sabirin M, Hardjono, Respati S. 1994. *Pengantar Praktikum Kimia Organik II*. Yogyakarta: UGM
- Sander A. 2014. *Atlas Berwarna Patologi Anatomi*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada. hlm 15
- Setyowati WAE, Ariani SRD, Ashandi, Bhakti. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus murr.*) varietas petruk. Di dalam: *Seminar Nasional kimia dan Pendidikan Kimia*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Shahriar M, 2010. Antimicrobial activity of the rhizomes of *Curcuma zedoaria*. *Journal Of Bangladesh academy Of Sciences* 34 (2)
- Sherwood L. 2001. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. Ed VI. Penerjemah; Brahm U Pendit. Terjemahan dari: *Human Pysiology From Cell To System*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm 553
- Simaremare ES. 2014. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal. *Pharmacy.* 11
- Sirois. 2005. *Laboratory Animal Medicine: Principle and procedures*. USA: Elsevier
- Sholekha M. 2013. Pengaruh Ciprofloxacin terhadap ginjal mencit (Mus Musculus) Galur Balb C. [Skripsi]. Malang: FMIPA UM
- Sudha et al. 2008. In vivo studies on evaluation of potential toxicity tannins using albino rats (*Rathus norvegicus*). *Food and Chemical Toxicology* 46(6): 2288-2295

- Sugiyono. 2011. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Afabeta, cv
- Supriadi *et al.* 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia: Penggunaan dan Khasiatnya*. Jakarta: Pustaka populer obor
- Supriono T. 2008. Kandungan beta karoten, polifenol, total dan aktivitas “Merantas” Radikal Bebas Kefir Susu Kacang Hijau (*vigna Radiata*) Oleh pengaruh jumlah starter (*Lactobacillus Bulgarius* dan *Candida Kefir*) dan konsentrasi glukosa. [Tesis]. Semarang: Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Hlm 57-60
- Susiyanti E. 2015. Pengaruh pemberian kunir putih terhadap penurunan asam urat pada wanita menopause. *Jurnal Keperawatan dan Kebidanan*
- Suyanti L. 2008. Gambaran histopatologi hati dan ginjal tikus pada pemberian fraksi asam amino nonprotein lamtoro merah (*Acacia villosa*) pada uji toksisitas akut [Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
- Syahrudin SM, Rahimah BS, Budiman. 2015. Efek Analgetik Ekstrak Etanol kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap Nyeri Akut Pada Tikus yang dengan Metode Tail Immersion. *Prosiding penelitian Sivitas Akademika unisiba (Kesehatan)*. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung
- Tersedia:[http://www. satwa. net/599/jumlah-spesies-tumbuhan-di-indonesia html](http://www.satwa.net/599/jumlah-spesies-tumbuhan-di-indonesia.html). [21 agustus 2017]
- Weanen . 2002. *New marker for kidney disease*. Clinical Chemistry. 3rd ed. USA: Elsevier
- Wahjuni RS, Bijanti, R. 2006. Uji efek samping formula pakan kompli terhadap fungsi hati dan ginjal pedet sapi friesien holstein. *J.Kedokteran Hewan* 22(3)
- Wahyuningsih APS, Maunah I, Winarni D. 2016. Toksisitas kronik polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus vesicolor* pada histologi ginjal dan kadar kreatinin serum *Mus muscular* L [Skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga
- Wati CD. 2015. Uji toksisitas subakut infusa biji *Persea americana Mill.* pada tikus galur spargue dawley terhadap kadar blood urea nitrogen dan kreatinin [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma. hlm 18,20

- Wientarsih I, Madyastuti BF, Prasetyo, Firnanda D. 2012. Gambaran serum ureum dan kreatinin pada tikus putih yaag diberi fraksi etil asetat daun alpukat. *Jurnal Veteriner* 13 (1) : 57-62
- Wijayakusuma. 2008. *Ramuan Lengkap Herbal Taklukan Penyakit*. Jakarta: Pustaka Bunda
- Windono MS, Parfiati N. 2002. *Curcuma zedoaria*, Kajian Pustaka Kandungan Kimia dan Aktivitas Farmakologik. *Artocarpus* 2(1)
- Wisloff H, Uhlig S, Scheie E, Loader J, Wilkins A, Flaoyen A. 2008. Toxicity testing of saponin-containing *Yucca schidigera* Roetzl. juice in relation to hepato- and nephrotoxicity of *Nartheceium ossifragum* (L.) Huds. *Toxicon*
- Word Healt Organisation. 2005. *The Treatment Of Diarrhea: a manual for physicians and other senior healt works*. Genewa: WHO Press
- Wulandari L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: PT. Taman Kampus Presindo. hlm 24
- Wulandari W. 2015. Jalur metabolisme Kreatinin. Available from : <http://www.academia.edu/9986413/45125261-jalur-metabolisme-kreatinin>
- Yakubu MT, Musa IF. 2012. Liver and kidney functional indices of pregnant rats following the administration of the crude alkaloids from *Senna alata* (Linn. Roxb) Leaves. *Iranian Journal of Toxicology* 6(16): 615-625.
- Zirconia A, Kurniasih N, Amalia V. 2015. Identifikasi senyawa flavonoid dari daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan metode Pereaksi Geser. *Al kimiya* 2 (1):11

*L*

*A*

*M*

*P*

*Q*

*R*

*A*

*N*

## Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
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 : 230/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Lia Dwi Hastawati  
NIM : 20144262A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe  
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1968) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-  
35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-  
333b-334b-335a-336a-337b-338a-339b-340a \_\_\_\_\_ 207. Zingiberaceae  
1a-2b-6b-7a \_\_\_\_\_ 12. *Curcuma*  
1b-4b-6a \_\_\_\_\_ *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tegak, tinggi 0.3-0.5(-2) m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, basah dan aromatik, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, panjang 3-6 cm, diameter 1-2 cm, bercabang-cabang, bagian dalam rimpang berwarna kuning-putih, bagian luar berwarna kuning kotor. Akar : melekat pada rimpang, serabut, berwarna putih hingga kuning kotor. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, bulat, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, berbentuk memanjang-lanset, panjang 31-84 cm, lebar 10-18 cm, ujung runcing atau meruncing, pangkal tumpul, tepi rata, berwarna hijau permanen atau hijau dengan ibu tulang daun berwarna ungu kecoklatan, menggulung memanjang ketika masih kuncup, tulang daun menyirip dan terlihat tidak terlalu nyata, permukaan gundul dan licin. Perbungaan : bunga majemuk tipe bulir, biasanya muncul dari daun yang paling bawah, panjang 9-23 cm, lebar 4-6 cm, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat dan tertutupi oleh daun pelindung (brakteola). Bunga : kelopak berambut, panjang 8-13 mm, putih hingga putih kemerahan; panjang mahkota bunga 4.5 cm, tabung mahkota berbentuk seperti corong dan putih atau putih kekuningan, panjang 1.5-2 cm, cuping mahkota berbentuk bulat telur atau memanjang, ujungnya tumpul, berwarna putih atau putih dengan tepi berwarna merah atau ungu, panjang 1.5-2 cm. Buah : berbentuk kapsul, berambut, panjang 2 cm, kering ketika masak. Biji : sedikit hingga banyak.

Surakarta, 22 November 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



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

## Lampiran 2. Surat Keterangan Kesehatan Hewan



**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](http://www.disperten.surakarta.co.id) E-mail [pertanian\\_ska@yahoo.co.id](mailto:pertanian_ska@yahoo.co.id)  
SURAKARTA Kode Pos 57124

### SURAT KETERANGAN KESEHATAN HEWAN

Nomor : 524.3/ 39

Yang bertandatangan di bawah ini **drh. Abdul Aziz MK**. Dokter Hewan yang berwenang di wilayah **Kota Surakarta**, menerangkan bahwa pada hari **Jum'at** tanggal **05** bulan **Januari** tahun **2018** telah memeriksa hewan di bawah ini :

NO	JENIS HEWAN	SUB SPESIES/ TRAH	JUMLAH (ekor)			UMUR ( bln )	Tanda / Warna
			Jtn	Btn	Total		
1	Tikus	Wistar	25	25	50	3 - 4	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 : Lia Dwi Hastawati dan Desi Armayanti, Mahasiswa Setia Budi Surakarta  
Rencana dikirim : Senin, 8 Januari 2018  
Kendaraan : Mobil

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

Surakarta, 05 Januari 2018

Mengetahui  
a.n. KEPALA DINAS PERTANIAN,  
KETAHANAN PANGAN DAN PERIKANAN  
KOTA SURAKARTA  
Sekretaris

**Drs. DJOKO WASKITO RAHARJO, MM**  
Pembina Tingkat I  
NIP. 19620822 1989031009

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. Kepala Balai Karantina Pertanian Surakarta.
4. Arsip

### Lampiran 3. Surat Keterangan Etical Clearance

11/17/2017

Form A2



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

**School of Medicine Sebelas Maret University**  
**Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret**



**ETHICAL CLEARANCE**  
**KELAIKAN ETIK**

Nomor : 1.033 / XI / HREC /2017

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

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

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

**UJI KADAR BUN DAN KREATININ SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL SEBAGAI  
 PARAMETER UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK RIMPANG TEMU PUTIH (Curcuma zedoaria)**

Principal investigator : Lia Dwi Hastawati  
 Peneliti Utama : 20144262A

Location of research : Universitas Setia Budi Surakarta  
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved  
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 17 Nov 2017

**Chairman**  
**Ketua**

*(Signature)*  
**Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F.MM**  
 NIP. 19621022 199503 1 001

## Lampiran 4. Hasil Histopatologi



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
**LABORATORIUM PATOLOGI**  
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
 UNIVERSITAS GADJAH MADA

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

Hal : hasil histopatologi

Kepada

Yth. Sdri. Lia Dwi Hastawati

Fakultas Farmasi

Univ. Setia Budi, Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan hasil histopatologi ginjal tikus adalah sbb.:

No.	Jantan I	Jantan II	Jantan III	Jantan IV	Jantan V
1	-	-	DV, N	-	-
2	-	-	DV, N	-	DV>,N
3	-	R>	DV	N	N
No.	Betina I	Betina II	Betina III	Betina IV	Betina V
1	-	-	-	N	-
2	-	N	N	-	-
3	-	-	N	N	-

Keterangan :

DV : degenerasi vakuoler

R : infiltrasi sel radang

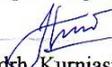
N : nekrosis epitel tubulus

</> : sedikit / banyak

Demikian hasilnya, diucapkan terima kasih atas kerjasamanya.

Yogyakarta, 16 Maret 2018

Senior pathologist,

  
 Prof. drh. Kurniasih, MVSc., PhD

NIP. 19510522 1977032 001

### Lampiran 5. Proses Penyerbukan



**Rimpang temu putih**



**Simplisia rimpang temuputih**



**Serbuk rimpang temu putih**

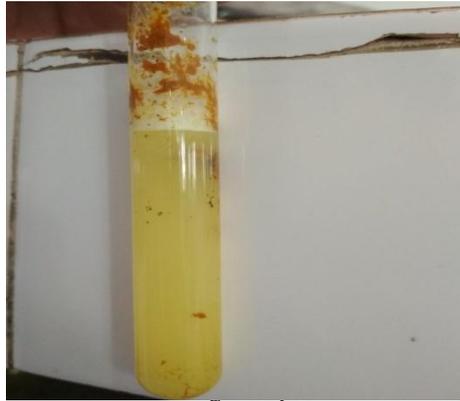
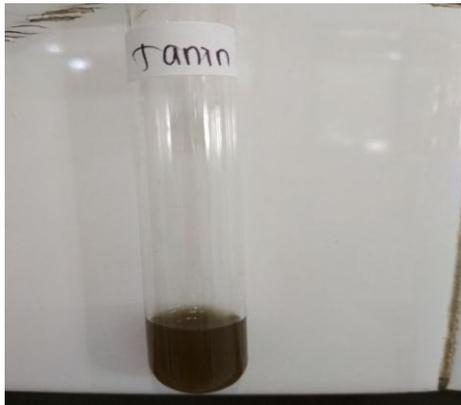
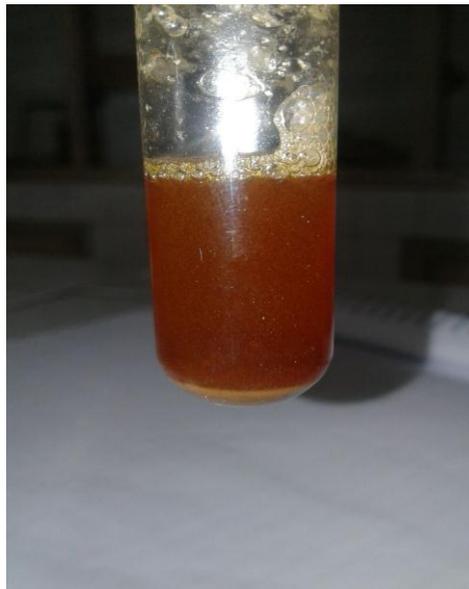
### Lampiran 6. Proses ekstraksi



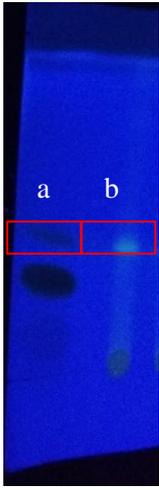
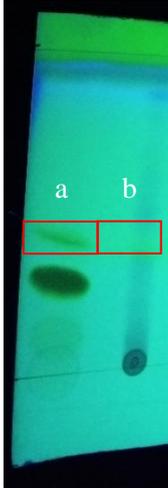
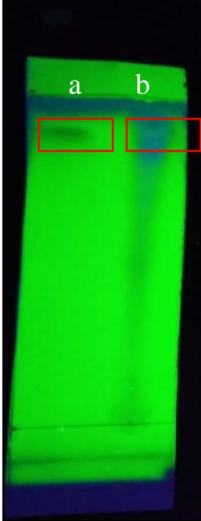
Proses evaporasi



Ekstrak rimpang temu putih

**Lampiran 7. Hasil uji fitokimia****Saponin****Tannin****Flavonoid****Alkaloid**

**Lampiran 8. kromatografi lapis tipis**

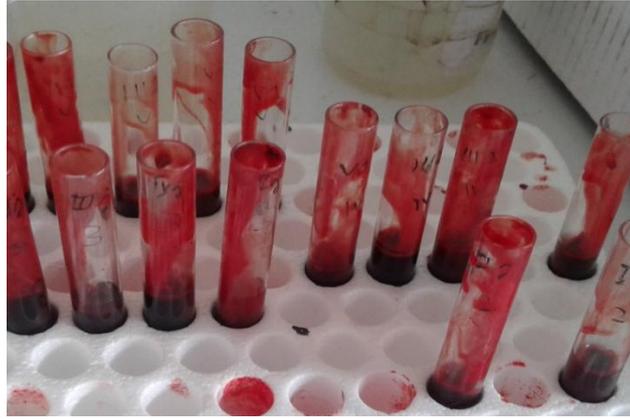
senyawa	UV 366	UV 254	Rf
Flavonoid			$\text{Baku} = \frac{2,5\text{cm}}{6\text{cm}}$ $=0,41$ $\text{sampel} = \frac{2,5\text{cm}}{6\text{cm}}$ $=0,41$
Tannin			$\text{Baku} = \frac{5,3\text{cm}}{6\text{cm}}$ $=0,88$ $\text{sampel} = \frac{5,2\text{cm}}{6\text{cm}}$ $=0,86$

Keterangan:

a : baku

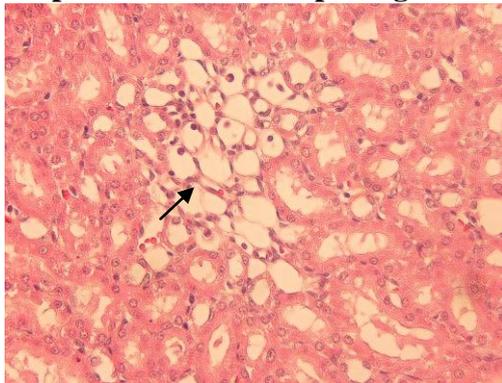
b : sampel

### Lampiran 9. Pemeriksaan kadar darah

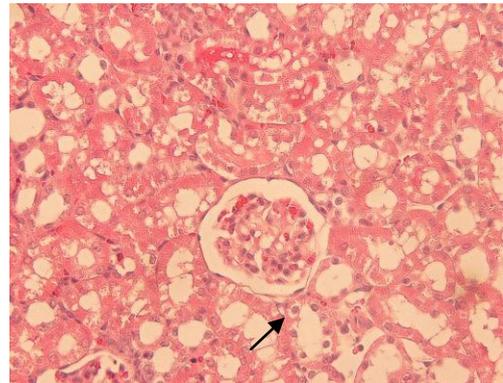


**Lampiran 10. Gambar organ makroskopis**

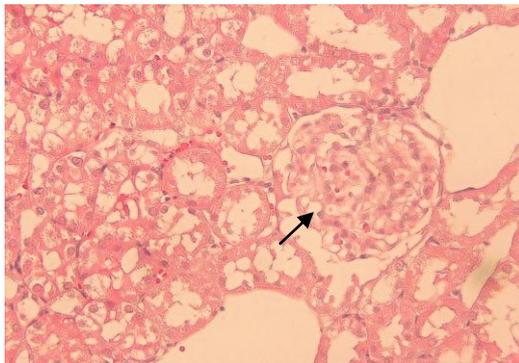
**Lampiran 11. Mikroskopis organ**



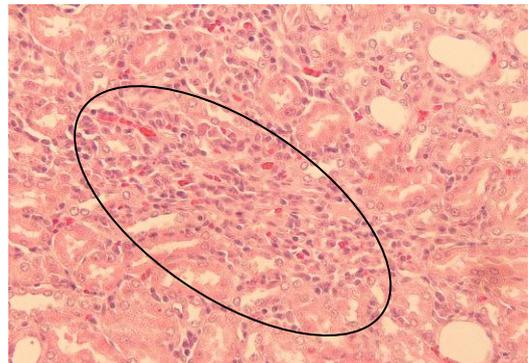
ginjal nekrosis



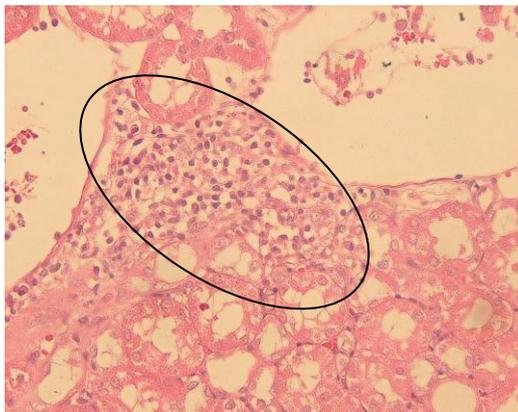
ginjal degenerasi



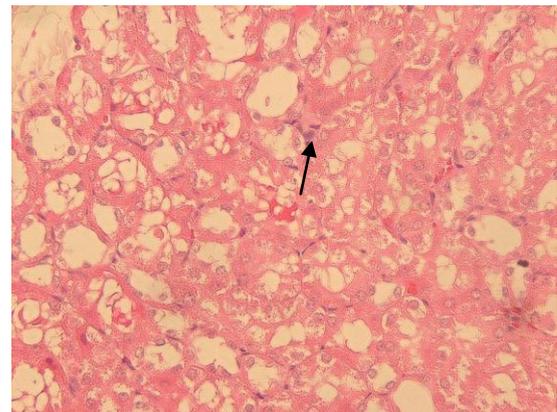
Ginjal degenerasi



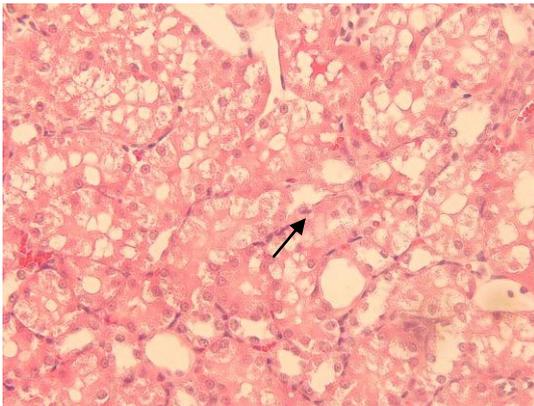
ginjal radang



Ginjal radang



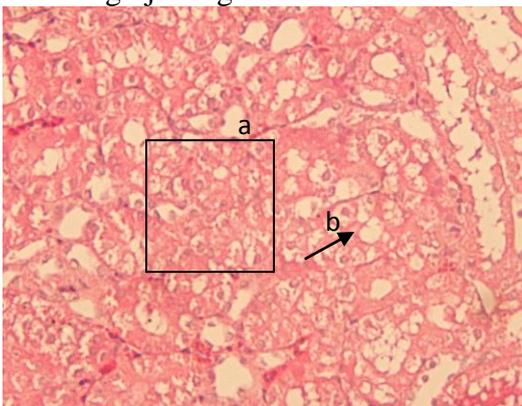
Ginjal radang



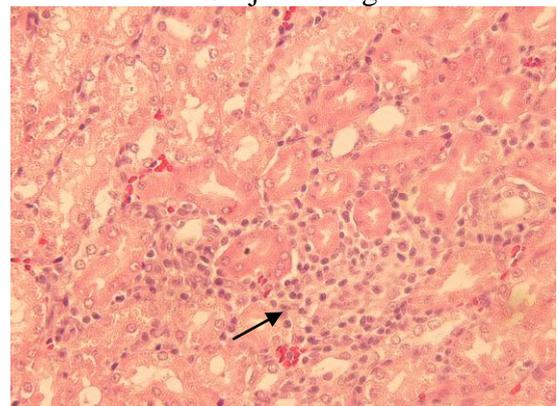
ginjal degenerasi



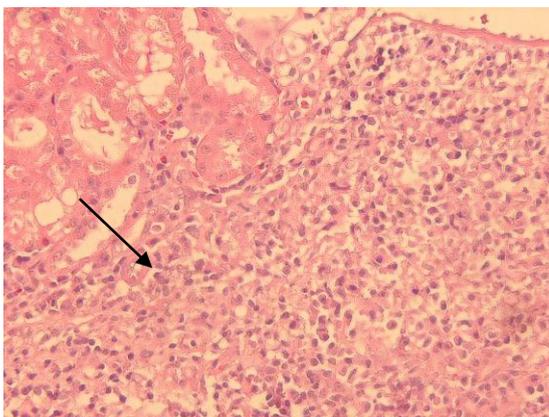
Ginjal radang



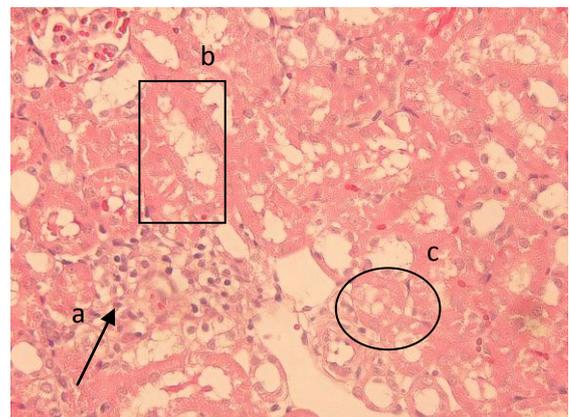
Ginjal nekrosis (a), degenerasi(b)



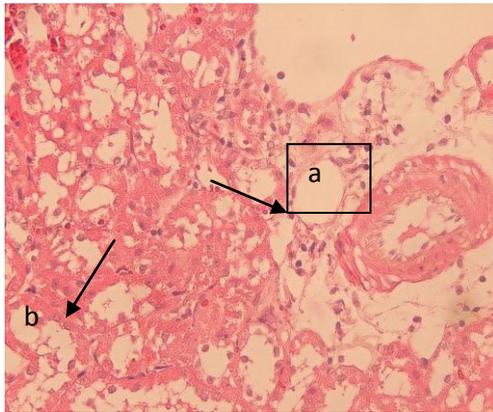
Ginjal radang



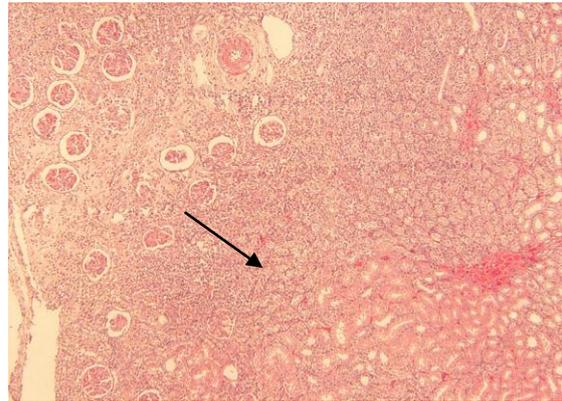
Ginjal radang



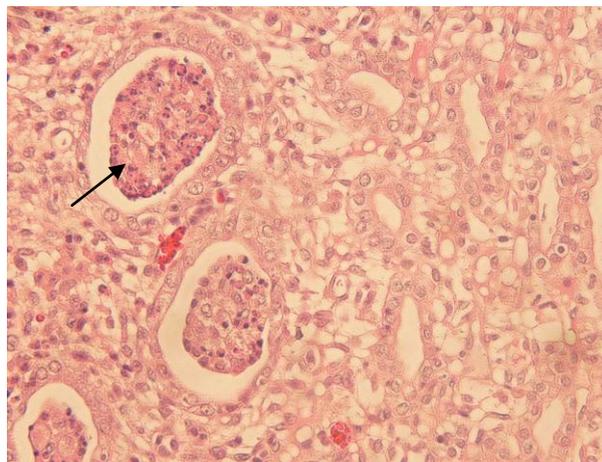
Ginjal. Radang (a),Nekrosis (b),degenerasi (c)



Ginjal radang (a), degenerasi (b)



ginjal radang



Ginjal radang

**Lampiran 12. Rendemen hasil pembuatan ekstrak etanolik rimpang temuputih**

<b>Berat Basah(Kg)</b>	<b>Berat Kering (Kg)</b>	<b>Persentase (%)</b>
10	2,5	25

<b>Serbuk (g)</b>	<b>Ekstrak (g)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
500	223	44%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

$$= \frac{223 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 44\%$$

### Lampiran 13. Perhitungan penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih

#### Replikasi 1

$$\begin{aligned} \text{Jumlah serbuk rimpang temu putih} &= 20 \text{ g} \\ \text{Jumlah pelarut } xylene &= 100 \text{ ml} \\ \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume serbuk mula-mula}} \times 100\% \\ \text{Kadar air} &= \frac{1,6}{20} \times 100\% \\ &= 8\% \end{aligned}$$

#### Replikasi 2

$$\begin{aligned} \text{Jumlah serbuk rimpang temu putih} &= 20 \text{ g} \\ \text{Jumlah pelarut } xylene &= 100 \text{ ml} \\ \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume serbuk mula-mula}} \times 100\% \\ \text{Kadar air} &= \frac{1,8}{20} \times 100\% \\ &= 9\% \end{aligned}$$

#### Replikasi 3

$$\begin{aligned} \text{Jumlah serbuk rimpang temu putih} &= 20 \text{ g} \\ \text{Jumlah pelarut } xylene &= 100 \text{ ml} \\ \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh}}{\text{Volume serbuk mula-mula}} \times 100\% \\ \text{Kadar air} &= \frac{1,6}{20} \times 100\% \\ &= 8\% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata kadar air serbuk rimpang temu putih} = \frac{8\%+9\%+8\%}{3} = 8,33 \pm 0,57\%$$

**Lampiran 14. Data Hasil Penimbangan Berat Badan Hewan Uji Tikus**

Kelompok	Jenis Kelamin	Minggu ke-0	Minggu ke-7	Minggu Ke-14	Minggu ke-21	Minggu ke-28	
Kontrol CMC	Jantan	1	200	204	206	210	214
		2	200	204	204	206	203
		3	150	151	155	160	165
		4	150	150	153	153	155
		5	150	153	155	160	163
	Betina	1	200	200	201	203	203
		2	180	183	182	185	190
		3	195	199	197	195	189
		4	155	153	153	155	157
		5	150	150	153	156	160
Dosis 250 mg/kgBB	Jantan	1	190	193	189	189	180
		2	180	180	182	185	177
		3	150	150	155	153	146
		4	140	140	138	143	140
		5	120	120	125	120	122
	Betina	1	197	199	194	195	191
		2	200	202	200	197	195
		3	180	180	182	183	183
		4	155	158	155	155	157
		5	150	150	153	159	163
Dosis 500 mg/kgBB	Jantan	1	180	180	180	176	172
		2	180	180	176	174	170
		3	150	152	150	153	157
		4	120	120	123	123	120
		5	150	150	151	150	152
	Betina	1	150	153	160	162	165
		2	200	200	204	200	197
		3	195	196	193	191	189
		4	180	180	179	175	172
		5	200	203	200	202	204
Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	1	200	200	195	196	180
		2	150	150	153	155	157
		3	120	123	120	123	120
		4	120	123	125	128	128
		5	150	150	150	155	153
	Betina	1	150	150	155	160	165
		2	155	153	150	148	145
		3	150	150	160	158	160
		4	200	200	198	198	195
		5	150	150	157	155	153
Satelit		1	200	200	203	195	180

Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	2	150	150	158	155	150
		3	120	122	127	120	120
		4	120	120	126	128	125
		5	150	150	152	155	153
	Betina	1	160	165	170	175	173
		2	150	155	160	165	160
		3	150	155	157	157	155
		4	150	156	156	155	155
		5	170	170	167	170	168

**Lampiran 15. Rata-rata dan standar deviasi berat badan tikus**

Kelompok	Jenis Kelamin	Minggu ke-0	Minggu ke-7	Minggu Ke-14	Minggu ke-21	Minggu ke-28	
Kontrol CMC	Jantan	1	200	200	200	205	207
		2	200	200	198	203	205
		3	150	150	153	155	158
		4	150	152	154	157	159
		5	150	150	149	150	153
	Rata-Rata		170	170,4	170,8	174	176,4
	SD		27,39	27,03	25,82	27,51	27,13
	Betina	1	200	198	195	193	190
		2	180	180	178	175	173
		3	150	153	155	158	158
		4	150	150	155	160	165
		5	180	182	184	184	187
	Rata-Rata		172	172,6	173,4	174	174,6
	SD		21,68	20,51	18	15,12	14
Dosis 250 mg/kgBB	Jantan	1	190	189	186	183	180
		2	180	180	177	175	175
		3	150	151	149	147	145
		4	140	143	143	145	147
		5	120	123	130	128	130
	Rata-Rata		156	157,2	157	155,6	155,4
	SD		28,81	27,11	23,61	23	21,3
	Betina	1	160	158	156	154	152
		2	200	200	197	194	192
		3	160	160	159	156	153
		4	180	180	178	175	173
		5	180	177	174	173	170
	Rata-Rata		176	175	172,8	170,4	168
	SD		16,73	17,1	16,5	16,3	16,5
Dosis 500 mg/kgBB	Jantan	1	180	180	177	174	171
		2	180	180	179	175	173
		3	150	150	148	145	143
		4	120	120	122	122	120
		5	150	150	148	146	144
	Rata-Rata		156	156	154,8	152,4	150,2
	SD		25,1	25,1	23,7	22,35	22,17
	Betina	1	150	153	156	159	162
		2	200	200	197	194	193
		3	170	168	167	164	163
		4	150	150	150	153	152
		5	200	195	190	185	180

Kelompok	Jenis Kelamin	Minggu ke-0	Minggu ke-7	Minggu Ke-14	Minggu ke-21	Minggu ke-28	
	Rata-Rata	174	173,2	172	171	170	
	SD	25,1	23,3	20,7	17,62	16,32	
Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	1	200	197	195	193	190
		2	150	147	145	145	142
		3	120	120	118	115	112
		4	120	125	123	120	118
		5	150	152	152	155	156
	Rata-Rata		148	148,2	146,6	145,6	143,6
	SD		32,71	30,54	30,62	31,33	31,5
	Betina	1	150	145	140	135	130
		2	150	149	148	145	144
		3	150	155	156	158	155
		4	200	199	198	196	194
		5	150	153	157	155	155
Rata-Rata		160	160,2	159,8	157,8	155,6	
SD		22,4	22,03	22,43	23,2	23,8	
Satelit Dosis 1000 mg/kgBB	Jantan	1	200	195	190	185	180
		2	150	150	145	140	135
		3	120	120	119	117	117
		4	120	125	127	128	125
		5	150	145	140	135	130
	Rata-Rata		148	147	144,2	141	137,4
	SD		32,71	29,71	27,6	26,1	24,72
	Betina	1	160	155	150	145	140
		2	150	145	146	143	144
		3	150	147	147	145	143
		4	150	150	151	153	155
		5	170	168	166	164	162
Rata-Rata		156	153	152	150	148,8	
SD		8,94	9,2	8,1	8,72	9,31	

### Lampiran 16. Perhitungan volume oral

a. Perhitungan konversi dosis

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 250 \text{ mg/kg BB} &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 250 \text{ mg} \\ &= 50 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

Volume oral (larutan stok 2,5%)

$$\begin{aligned} 2,5\% &= \frac{2,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \\ &= \frac{50 \text{ mg}}{2500 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$= 2 \text{ ml} / 200 \text{ gr BB tikus}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 500 \text{ mg/kg BB} &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 500 \text{ mg} \\ &= 100 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

Volume oral (larutan stok 5%)

$$\begin{aligned} 5\% &= \frac{5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \\ &= \frac{100 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$= 2 \text{ ml}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 1000 \text{ mg/kg BB} &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 1000 \text{ mg} \\ &= 200 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

Volume oral (larutan stok 10%)

$$\begin{aligned} 10\% &= \frac{10 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \\ &= \frac{200 \text{ mg}}{10.000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$= 2 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis Na CMC } 0,5\% = 500 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

Larutan stok yang dibuat adalah 200 ml

$$\begin{aligned} = \text{stok Na CMC } 0,5\% &= \frac{200 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 500 \text{ mg} \\ &= \frac{1000 \text{ mg}}{200 \text{ mg aquadest}} \end{aligned}$$

$$= 1 \text{ g}/200 \text{ ml aquadest}$$

## b. Volume oral/ BB tikus

kelompok	Jenis kelamin	Minggu 0 (gr)	Volume oral (ml)
Kontrol negative (CMC-Na)	jantan	200	3,00
		200	3,00
		150	2,25
		150	2,25
		150	2,25
	betina	200	3,00
		180	2,70
		150	2,25
		150	2,25
		180	2,70
Dosis 250 mg	jantan	190	1,90
		180	1,80
		150	1,50
		140	1,40
		120	1,20
	betina	160	1,60
		200	2,00
		160	1,60
		180	1,80
		180	1,80
Dosis 500 mg	jantan	180	1,80
		180	1,80
		150	1,50
		120	1,20
		150	1,50
	betina	150	1,50
		200	2,00
		170	1,70
		150	1,50
		200	2,00
Dosis 1000 mg	jantan	200	2,00
		150	1,50
		120	1,20
		120	1,20
		150	1,50
	betina	150	1,50
		150	1,50
		150	1,50
		200	2,00
		150	1,50

kelompok	Jenis kelamin	Minggu 0 (gr)	Volume oral (ml)
Kontrolsatelit (dosis 1000 mg)	jantan	200	2,00
		150	1,50
		120	1,20
		120	1,20
		150	1,50
	betina	160	1,60
		150	1,50
		150	1,50
		150	1,50
		170	1,70

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu 7	Volume oral
Kontrol negative ( CMC-Na)	jantan	200	3,00
		200	3,00
		150	2,25
		152	2,28
		150	2,25
	betina	198	2,97
		180	2,70
		153	2,29
		150	2,25
		182	2,73
Dosis 250 mg	jantan	189	1,89
		180	1,80
		151	1,51
		143	1,43
		123	1,23
	betina	158	1,58
		200	2,00
		160	1,60
		180	1,80
		177	1,77
Dosis 500 mg	jantan	180	1,80
		180	1,80
		150	1,50
		120	1,20
		150	1,50
	betina	153	1,53
		200	2,00
		168	1,68
		150	1,50
		195	1,95

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu 7	Volume oral
Dosis 1000 mg	jantan	197	1,97
		147	1,47
		120	1,20
		125	1,25
		152	1,52
	betina	145	1,45
		149	1,49
		155	1,55
		199	1,99
		153	1,53
Kontrolsatelit (dosis 1000 mg)	jantan	195	1,95
		150	1,50
		120	1,20
		125	1,25
		145	1,45
	betina	155	1,55
		145	1,45
		147	1,47
		150	1,50
		168	1,68

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu 14	Volume oral
Kontrol negative ( CMC-Na)	jantan	200	3,00
		198	2,97
		153	2,29
		154	2,31
		149	2,23
	betina	195	2,92
		178	2,67
		155	2,32
		155	2,32
		184	2,76
Dosis 250 mg	jantan	186	1,86
		177	1,77
		149	1,49
		143	1,43
		130	1,30
	betina	156	1,56
		197	1,97
		159	1,59
		178	1,78
		174	1,74

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu 14	Volume oral
Dosis 500 mg	jantan	177	1,77
		179	1,79
		148	1,48
		122	1,22
		148	1,48
	betina	156	1,56
		197	1,97
		167	1,67
		150	1,50
		190	1,90
Dosis 1000 mg	jantan	195	1,95
		145	1,45
		118	1,18
		123	1,23
		152	1,52
	betina	140	1,40
		148	1,48
		156	1,56
		198	1,98
		157	1,57
Kontrolsatelit (dosis 1000 mg)	jantan	190	1,90
		145	1,45
		119	1,19
		127	1,27
		140	1,40
	betina	150	1,50
		146	1,46
		147	1,47
		151	1,51
		166	1,66

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu 21	Volume oral
Kontrol negative ( CMC-Na)	jantan	205	3,075
		203	3,045
		155	2,32
		157	2,35
		150	2,25
	betina	193	2,89
		175	2,62
		158	2,37
		160	2,40
		184	2,76

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu 21	Volume oral
Dosis 250 mg	jantan	183	1,83
		175	1,75
		147	1,47
		145	1,45
		128	1,28
	betina	154	1,54
		194	1,94
		156	1,56
		175	1,75
		173	1,73
Dosis 500 mg	jantan	174	1,74
		175	1,75
		145	1,45
		122	1,22
		146	1,46
	betina	159	1,59
		194	1,94
		164	1,64
		153	1,53
		185	1,85
Dosis 1000 mg	jantan	193	1,93
		145	1,45
		115	1,15
		120	1,20
		155	1,55
	betina	135	1,35
		145	1,45
		158	1,58
		196	1,96
		155	1,55
Kontrolsatelit (dosis 1000 mg)	jantan	185	1,85
		140	1,40
		117	1,17
		128	1,28
		135	1,35
	betina	145	1,45
		143	1,43
		145	1,45
		153	1,53
		164	1,64

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu 28	Volume oral
Kontrol negative ( CMC-Na)	jantan	207	3,105
		205	3,075
		158	2,37
		159	2,38
		153	2,29
	betina	190	2,85
		173	2,59
		158	2,37
		165	2,47
		187	2,80
Dosis 250 mg	jantan	180	1,80
		175	1,75
		145	1,45
		147	1,47
		130	1,30
	betina	152	1,52
		192	1,92
		153	1,53
		173	1,73
		170	1,70
Dosis 500 mg	jantan	171	1,71
		173	1,73
		143	1,43
		120	1,20
		144	1,44
	betina	162	1,62
		193	1,93
		163	1,63
		152	1,52
		180	1,80
Dosis 1000 mg	jantan	190	1,90
		142	1,412
		112	1,12
		118	1,18
		156	1,56
	betina	130	1,30
		144	1,44
		155	1,55
		194	1,94
		155	1,55
Kontrolsatelit (dosis 1000 mg)	jantan	180	1,80
		135	1,35
		117	1,17

Kelompok	Jenis kelamin	Minggu 28	Volume oral
		125	1,25
		130	1,30
	betina	140	1,40
		144	1,44
		143	1,43
		155	1,55
		162	1,62

**Lampiran 17. Data pemeriksaan kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) dan kreatinin**

Data kadar bun hari ke 0

kelompok	Jantan	betina
1	21	20
	18	22
	21	22
	22	19
	20	20
2	20	22
	19	21
	19	21
	22	18
	18	22
3	19	22
	20	21
	20	22
	18	22
	19	20
4	22	21
	21	20
	19	19
	19	19
	22	22
5	19	20
	19	20
	18	19
	22	22
	21	18

## Kadar bun hari ke 29

kelompok	Jantan	betina
1	20	22
	22	19
	19	19
	21	18
	20	21
2	35	38
	38	43
	35	45
	40	36
	35	35
3	46	44
	46	48
	50	41
	48	50
	44	44
4	50	53
	57	57
	49	56
	52	52
	54	53
5	55	55
	56	50
	49	54
	50	56
	53	58

## Kadar bun hari ke 42

kelompok	Jantan	betina
5	48	19
	48	20
	56	18
	58	21
	45	19

## Kadar kreatinin hari ke 0

kelompok	Jantan	betina
1	0,3	0,4
	0,4	0,4
	0,3	0,6
	0,5	0,3
	0,3	0,5
2	0,4	0,5
	0,4	0,3
	0,3	0,4
	0,3	0,4
	0,3	0,5
3	0,4	0,6
	0,5	0,3
	0,6	0,4
	0,5	0,3
	0,4	0,2
4	0,3	0,4
	0,4	0,4
	0,6	0,5
	0,5	0,6
	0,5	0,2
5	0,4	0,5
	0,3	0,3
	0,4	0,3
	0,5	0,3
	0,3	0,6

## Kadar kreatinin hari ke 29

kelompok	Jantan	betina
1	0,4	0,6
	0,5	0,5
	0,5	0,5
	0,4	0,4
	0,6	0,4
2	0,8	0,6
	0,6	0,8
	1,0	0,8
	0,8	1,0
	0,8	1,0
3	1,5	1,6
	1,0	1,6
	0,9	1,2
	1,2	1,3
	1,2	0,9
4	1,2	1,2
	0,9	0,9
	1,5	1,3
	1,4	1,5
	1,6	1,1
5	1,4	1,0
	1,2	0,9
	1,2	0,8
	1,5	1,3
	0,9	1,5

## Kadar kreatinin hari ke 42

kelompok	Jantan	betina
5	1,2	0,3
	1,5	0,5
	1,5	0,4
	1,4	0,4
	1,2	0,3

## Lampiran 18. Hasil uji statistik kadar darah

### 1. Kadar BUN jantan hari ke 0

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK_J_0	KADAR_BUN_JANTAN_0
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	19.9200
	Std. Deviation	1.44338	1.41185
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.223
	Positive	.156	.223
	Negative	-.156	-.138
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	1.113
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.168

#### Test of Homogeneity of Variances

KADAR\_BUN\_JANTAN\_0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.852	4	20	.509

#### ANOVA

KADAR\_BUN\_JANTAN\_0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.640	4	1.660	.806	.536
Within Groups	41.200	20	2.060		
Total	47.840	24			

#### Multiple Comparisons

KADAR\_BUN\_JANTAN\_0  
Tukey HSD

(I) KELOMPOK_J_0	(J) KELOMPOK_J_0	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	.80000	.90774	.900	-1.9163	3.5163
	3.00	1.20000	.90774	.681	-1.5163	3.9163
	4.00	-.20000	.90774	.999	-2.9163	2.5163
	5.00	.60000	.90774	.962	-2.1163	3.3163
2.00	1.00	-.80000	.90774	.900	-3.5163	1.9163
	3.00	.40000	.90774	.992	-2.3163	3.1163
	4.00	-1.00000	.90774	.804	-3.7163	1.7163
	5.00	-.20000	.90774	.999	-2.9163	2.5163
3.00	1.00	-1.20000	.90774	.681	-3.9163	1.5163
	2.00	-.40000	.90774	.992	-3.1163	2.3163
	4.00	-1.40000	.90774	.549	-4.1163	1.3163
	5.00	-.60000	.90774	.962	-3.3163	2.1163
4.00	1.00	-.20000	.90774	.999	-2.5163	2.9163
	2.00	1.00000	.90774	.804	-1.7163	3.7163
	3.00	1.40000	.90774	.549	-1.3163	4.1163
	5.00	.80000	.90774	.900	-1.9163	3.5163
5.00	1.00	-.60000	.90774	.962	-3.3163	2.1163
	2.00	.20000	.90774	.999	-2.5163	2.9163
	3.00	.60000	.90774	.962	-2.1163	3.3163
	4.00	-.80000	.90774	.900	-3.5163	1.9163

## 2. Kadar BUN jantan hari ke 29

		KELOMPOK_JANTAN_0	KADAR_BUN_JANTAN_29
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	41.7600
	Std. Deviation	1.44338	12.61705
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.192
	Positive	.156	.141
	Negative	-.156	-.192
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.958
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.318

**Test of Homogeneity of Variances**

KADAR\_BUN\_JANTAN\_29

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.647	4	20	.202

**ANOVA**

KADAR\_BUN\_JANTAN\_29

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3694.960	4	923.740	147.092	.000
Within Groups	125.600	20	6.280		
Total	3820.560	24			

**Multiple Comparisons**KADAR\_BUN\_JANTAN\_29  
Tukey HSD

(I) KELOMPOK_JANTAN_0	(J) KELOMPOK_JANTAN_0	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-16.20000*	1.58493	.000	-20.9427	-11.4573
	3.00	-26.40000*	1.58493	.000	-31.1427	-21.6573
	4.00	-32.00000*	1.58493	.000	-36.7427	-27.2573
	5.00	-32.20000*	1.58493	.000	-36.9427	-27.4573
2.00	1.00	16.20000*	1.58493	.000	11.4573	20.9427
	3.00	-10.20000*	1.58493	.000	-14.9427	-5.4573
	4.00	-15.80000*	1.58493	.000	-20.5427	-11.0573
3.00	1.00	26.40000*	1.58493	.000	21.6573	31.1427
	2.00	10.20000*	1.58493	.000	5.4573	14.9427
	4.00	-5.60000*	1.58493	.016	-10.3427	-.8573
4.00	1.00	32.00000*	1.58493	.000	27.2573	36.7427
	2.00	15.80000*	1.58493	.000	11.0573	20.5427
	3.00	5.60000*	1.58493	.016	.8573	10.3427
5.00	1.00	-20.0000	1.58493	1.000	-4.9427	4.5427
	2.00	32.20000*	1.58493	.000	27.4573	36.9427
	3.00	16.00000*	1.58493	.000	11.2573	20.7427
5.00	3.00	5.80000*	1.58493	.012	1.0573	10.5427
	4.00	.20000	1.58493	1.000	-4.5427	4.9427

## 3. Kadar BUN betina hari ke 0

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPO_BETINA_0	KADAR_BUN_BETINA_0
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	20.5600
	Std. Deviation	1.44338	1.35647
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.216
	Positive	.156	.144
	Negative	-.156	-.216
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	1.079
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.195

## Test of Homogeneity of Variances

KADAR\_BUN\_BETINA\_0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.254	4	20	.904

## ANOVA

KADAR\_BUN\_BETINA\_0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.360	4	1.840	1.000	.431
Within Groups	36.800	20	1.840		
Total	44.160	24			

## Multiple Comparisons

KADAR\_BUN\_BETINA\_0

Tukey HSD

(I) KELOMPO_BETINA_0	(J) KELOMPO_BETINA_0	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-.20000	.85790	.999	-2.7672	2.3672
	3.00	-.80000	.85790	.881	-3.3672	1.7672
	4.00	.40000	.85790	.990	-2.1672	2.9672
	5.00	.80000	.85790	.881	-1.7672	3.3672
2.00	1.00	.20000	.85790	.999	-2.3672	2.7672
	3.00	-.60000	.85790	.954	-3.1672	1.9672
	4.00	.60000	.85790	.954	-1.9672	3.1672
3.00	1.00	.80000	.85790	.881	-1.7672	3.3672
	2.00	.60000	.85790	.954	-1.9672	3.1672
	4.00	1.20000	.85790	.635	-1.3672	3.7672
4.00	1.00	1.60000	.85790	.367	-.9672	4.1672
	2.00	-.40000	.85790	.990	-2.9672	2.1672
	3.00	-.60000	.85790	.954	-3.1672	1.9672
5.00	1.00	-1.20000	.85790	.635	-3.7672	1.3672
	2.00	-.40000	.85790	.990	-2.1672	2.9672
	3.00	.40000	.85790	.990	-2.1672	2.9672
5.00	1.00	-1.00000	.85790	.770	-3.5672	1.5672
	2.00	-1.60000	.85790	.367	-4.1672	.9672
	3.00	-1.60000	.85790	.367	-4.1672	.9672
5.00	4.00	-.40000	.85790	.990	-2.9672	2.1672

## 4. Kadar BUN betina hari ke 29

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK_BETINA_29	KADAR_BUN_BETINA_29
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	42.6800
	Std. Deviation	1.44338	13.34703
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.150
	Positive	.156	.139
	Negative	-.156	-.150
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.748
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.631

## Test of Homogeneity of Variances

KADAR\_BUN\_BETINA\_29

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.321	4	20	.092

## ANOVA

KADAR\_BUN\_BETINA\_29

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4082.240	4	1020.560	105.648	.000
Within Groups	193.200	20	9.660		
Total	4275.440	24			

## Multiple Comparisons

KADAR\_BUN\_BETINA\_29  
Tukey HSD

(I) KELOMPOK_BETINA_29	(J) KELOMPOK_BETINA_29	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-19.60000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	-25.4821	-13.7179
	3.00	-25.60000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	-31.4821	-19.7179
	4.00	-34.40000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	-40.2821	-28.5179
	5.00	-34.80000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	-40.6821	-28.9179
2.00	1.00	19.60000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	13.7179	25.4821
	3.00	-6.00000 <sup>*</sup>	1.96571	.044	-11.8821	-.1179
	4.00	-14.80000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	-20.6821	-8.9179
	5.00	-15.20000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	-21.0821	-9.3179
3.00	1.00	25.60000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	19.7179	31.4821
	2.00	6.00000 <sup>*</sup>	1.96571	.044	.1179	11.8821
	4.00	-8.80000 <sup>*</sup>	1.96571	.002	-14.6821	-2.9179
	5.00	-9.20000 <sup>*</sup>	1.96571	.001	-15.0821	-3.3179
4.00	1.00	34.40000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	28.5179	40.2821
	2.00	14.80000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	8.9179	20.6821
	3.00	8.80000 <sup>*</sup>	1.96571	.002	2.9179	14.6821
	5.00	-.40000	1.96571	1.000	-6.2821	5.4821
5.00	1.00	34.80000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	28.9179	40.6821
	2.00	15.20000 <sup>*</sup>	1.96571	.000	9.3179	21.0821
	3.00	9.20000 <sup>*</sup>	1.96571	.001	3.3179	15.0821
	4.00	.40000	1.96571	1.000	-5.4821	6.2821

5. Kadar kreatinin jantan hari ke 0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK_JANTAN_0	KELOMPOK_KREATININ_JANTAN_0
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	.4040
	Std. Deviation	1.44338	.09781
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.216
	Positive	.156	.216
	Negative	-.156	-.157
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	1.081
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.193

Test of Homogeneity of Variances

KELOMPOK\_KREATININ\_JANTAN\_0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.606	4	20	.663

ANOVA

KELOMPOK\_KREATININ\_JANTAN\_0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.078	4	.019	2.553	.071
Within Groups	.152	20	.008		
Total	.230	24			

Multiple Comparisons

KELOMPOK\_KREATININ\_JANTAN\_0  
Tukey HSD

(i)	KELOMPOK_JANTAN_0	(j)	KELOMPOK_JANTAN_0	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
1.00		2.00		.02000	.05514	.996	-.1450	.1850
		3.00		-.12000	.05514	.229	-.2850	.0450
		4.00		-.10000	.05514	.394	-.2650	.0650
		5.00		-.02000	.05514	.996	-.1850	.1450
2.00		1.00		-.02000	.05514	.996	-.1850	.1450
		3.00		-.14000	.05514	.121	-.3050	.0250
		4.00		-.12000	.05514	.229	-.2850	.0450
		5.00		-.04000	.05514	.948	-.2050	.1250
3.00		1.00		.12000	.05514	.229	-.0450	.2850
		2.00		.14000	.05514	.121	-.0250	.3050
		4.00		.02000	.05514	.996	-.1450	.1850
		5.00		.10000	.05514	.394	-.0650	.2650
4.00		1.00		.10000	.05514	.394	-.0650	.2650
		2.00		.12000	.05514	.229	-.0450	.2850
		3.00		-.02000	.05514	.996	-.1850	.1450
		5.00		.08000	.05514	.604	-.0850	.2450
5.00		1.00		.02000	.05514	.996	-.1450	.1850
		2.00		.04000	.05514	.948	-.1250	.2050
		3.00		-.10000	.05514	.394	-.2650	.0650
		4.00		-.08000	.05514	.604	-.2450	.0850

## 6. Kadar kreatinin jantan hari ke 29

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK JANTAN_29	KADAR KREATININ JANTAN_29
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	1.0000
	Std. Deviation	1.44338	.37193
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.145
	Positive	.156	.099
	Negative	-.156	-.145
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.723
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.673

Test of Homogeneity of Variances

KADAR\_KREATININ\_JANTAN\_29

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.536	4	20	.230

ANOVA

KADAR\_KREATININ\_JANTAN\_29

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.480	4	.620	14.762	.000
Within Groups	.840	20	.042		
Total	3.320	24			

Multiple Comparisons

KADAR\_KREATININ\_JANTAN\_29  
Tukey HSD

(i) KELOMPOK_JANTAN_29	(j) KELOMPOK_JANTAN_29	Mean Difference (i- j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-.32000	.12961	.138	-.7079	.0679
	3.00	-.68000 <sup>*</sup>	.12961	.000	-1.0679	-.2921
	4.00	-.84000 <sup>*</sup>	.12961	.000	-1.2279	-.4521
	5.00	-.76000 <sup>*</sup>	.12961	.000	-1.1479	-.3721
2.00	1.00	.32000	.12961	.138	-.0679	.7079
	3.00	-.36000	.12961	.077	-.7479	.0279
	4.00	-.52000 <sup>*</sup>	.12961	.005	-.9079	-.1321
	5.00	-.44000 <sup>*</sup>	.12961	.021	-.8279	-.0521
3.00	1.00	.68000 <sup>*</sup>	.12961	.000	.2921	1.0679
	2.00	.36000	.12961	.077	-.0279	.7479
	4.00	-.16000	.12961	.732	-.5479	.2279
	5.00	-.08000	.12961	.971	-.4679	.3079
4.00	1.00	.84000 <sup>*</sup>	.12961	.000	.4521	1.2279
	2.00	.52000 <sup>*</sup>	.12961	.005	.1321	.9079
	3.00	.16000	.12961	.732	-.2279	.5479
	5.00	.08000	.12961	.971	-.3079	.4679
5.00	1.00	.76000 <sup>*</sup>	.12961	.000	.3721	1.1479
	2.00	.44000 <sup>*</sup>	.12961	.021	.0521	.8279
	3.00	.08000	.12961	.971	-.3079	.4679
	4.00	-.08000	.12961	.971	-.4679	.3079

## 7. Kadar kreatinin betina hari ke 0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK_ BETINA_0	KADAR_ KREATININ_ BETINA_0
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	.4080
	Std. Deviation	1.44338	.12220
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.172
	Positive	.156	.172
	Negative	-.156	-.134
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.858
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.453

Test of Homogeneity of Variances

KADAR\_KREATININ\_BETINA\_0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.536	4	20	.711

ANOVA

KADAR\_KREATININ\_BETINA\_0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.018	4	.005	.271	.893
Within Groups	.340	20	.017		
Total	.358	24			

Multiple Comparisons

KADAR\_KREATININ\_BETINA\_0  
Tukey HSD

(I) KELOMPOK_BETINA_0	(J) KELOMPOK_BETINA_0	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	.02000	.08246	.999	-.2268	.2668
	3.00	.08000	.08246	.865	-.1668	.3268
	4.00	.02000	.08246	.999	-.2268	.2668
	5.00	.04000	.08246	.988	-.2068	.2868
2.00	1.00	-.02000	.08246	.999	-.2668	.2268
	3.00	.06000	.08246	.948	-.1868	.3068
	4.00	.00000	.08246	1.000	-.2468	.2468
3.00	1.00	-.08000	.08246	.865	-.3268	.1668
	2.00	-.06000	.08246	.948	-.3068	.1868
	4.00	-.06000	.08246	.948	-.3068	.1868
	5.00	-.04000	.08246	.988	-.2868	.2068
4.00	1.00	-.02000	.08246	.999	-.2668	.2268
	2.00	.00000	.08246	1.000	-.2468	.2468
	3.00	.06000	.08246	.948	-.1868	.3068
5.00	1.00	-.04000	.08246	.988	-.2868	.2068
	2.00	-.02000	.08246	.999	-.2668	.2268
	3.00	.04000	.08246	.988	-.2068	.2868
	4.00	-.02000	.08246	.999	-.2668	.2268

## 8. Kadar kreatinin betina hari ke 29

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK_BETINA_29	KADAR_KREATININ_BETINA_29
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	.9880
	Std. Deviation	1.44338	.36892
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.094
	Positive	.156	.094
	Negative	-.156	-.081
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.468
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.981

## Test of Homogeneity of Variances

KADAR\_KREATININ\_BETINA\_29

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.999	4	20	.134

## ANOVA

KADAR\_KREATININ\_BETINA\_29

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.238	4	.560	10.887	.000
Within Groups	1.028	20	.051		
Total	3.266	24			

## Multiple Comparisons

KADAR\_KREATININ\_BETINA\_29  
Tukey HSD

(I) KELOMPOK_BETINA_29	(J) KELOMPOK_BETINA_29	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-.36000 <sup>*</sup>	.14339	.128	-.7891	.0691
	3.00	-.84000 <sup>*</sup>	.14339	.000	-1.2691	-.4109
	4.00	-.72000 <sup>*</sup>	.14339	.001	-1.1491	-.2909
	5.00	-.62000 <sup>*</sup>	.14339	.003	-1.0491	-.1909
2.00	1.00	.36000	.14339	.128	-.0691	.7891
	3.00	-.48000 <sup>*</sup>	.14339	.024	-.9091	-.0509
	4.00	-.36000	.14339	.128	-.7891	.0691
	5.00	-.26000	.14339	.394	-.6891	.1691
3.00	1.00	.84000 <sup>*</sup>	.14339	.000	.4109	1.2691
	2.00	.48000 <sup>*</sup>	.14339	.024	.0509	.9091
	4.00	.12000	.14339	.916	-.3091	.5491
	5.00	.22000	.14339	.553	-.2091	.6491
4.00	1.00	.72000 <sup>*</sup>	.14339	.001	.2909	1.1491
	2.00	.36000	.14339	.128	-.0691	.7891
	3.00	-.12000	.14339	.916	-.5491	.3091
	5.00	.10000	.14339	.955	-.3291	.5291
5.00	1.00	.62000 <sup>*</sup>	.14339	.003	.1909	1.0491
	2.00	.26000	.14339	.394	-.1691	.6891
	3.00	-.22000	.14339	.553	-.6491	.2091
	4.00	-.10000	.14339	.955	-.5291	.3291

## 9. Kadar kreatinin betina kelompok satelit

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		KELOMPOK_ BETINA_ SATELIT	KADAR_ KREATININ_ BETINA_29
N		10	10
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1.5000	.7400
	Std. Deviation	.52705	.42999
Most Extreme Differences	Absolute	.329	.212
	Positive	.329	.212
	Negative	-.329	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		1.039	.669
Asymp. Sig. (2-tailed)		.230	.762

**Test of Homogeneity of Variances**

KADAR KREATININ SATELIT BETINA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.377	1	8	.274

**ANOVA**

KADAR KREATININ SATELIT BETINA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	1	.000	.094	.027
Within Groups	.003	8	.000		
Total	.003	9			

## 10. Kadar kreatinin jantan kelompok satelit

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		KELOMPOK_ JANTAN_ SATELIT	KADAR_ KREATININ_ JANTAN_ SATELIT
N		10	10
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1.5000	1.3000
	Std. Deviation	.52705	.19437
Most Extreme Differences	Absolute	.329	.203
	Positive	.329	.197
	Negative	-.329	-.203
Kolmogorov-Smirnov Z		1.039	.643
Asymp. Sig. (2-tailed)		.230	.802

**Test of Homogeneity of Variances**

KADAR\_KREATININ\_JANTAN\_SATELIT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.395	1	8	.547

**ANOVA**

KADAR\_KREATININ\_JANTAN\_SATELIT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.036	1	.036	.947	.359
Within Groups	.304	8	.038		
Total	.340	9			

## 11. Kadar Bun jantan kelompok satelit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK_ JANTAN_ SATELIT	KADAR_BUN_ JANTAN_ SATELIT
N		10	10
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1.5000	51.8000
	Std. Deviation	.52705	4.36654
Most Extreme Differences	Absolute	.329	.168
	Positive	.329	.160
	Negative	-.329	-.168
Kolmogorov-Smirnov Z		1.039	.532
Asymp. Sig. (2-tailed)		.230	.940

KADAR\_BUN\_SATELIT\_JANTAN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.245	4	20	.909

ANOVA

KADAR\_BUN\_SATELIT\_JANTAN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	4	.001	.945	.459
Within Groups	.019	20	.001		
Total	.022	24			

## 12. Kadar BUN betina kelompok satelit

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK_ BETINA_ SATELIT	KADAR_BUN_ BETINA_ SATELIT
N		10	10
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	1.5000	37.0000
	Std. Deviation	.52705	18.67262
Most Extreme Differences	Absolute	.329	.304
	Positive	.329	.304
	Negative	-.329	-.257
Kolmogorov-Smirnov Z		1.039	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.230	.313

Test of Homogeneity of Variances

KADAR\_BUN\_BETINA\_SATELIT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.933	1	8	.202

ANOVA

KADAR\_BUN\_BETINA\_SATELIT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3097.600	1	3097.600	613.386	.000
Within Groups	40.400	8	5.050		
Total	3138.000	9			

## Lampiran 19. Hasil uji statistik berat badan

### 1. Berat badan jantan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		BERAT_BADA
		N
N		125
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	156.9840
	Std. Deviation	26.84783
Most Extreme Differences	Absolute	.153
	Positive	.153
	Negative	-.109
Kolmogorov-Smirnov Z		1.716
Asymp. Sig. (2-tailed)		.106

### Multiple Comparisons

BERAT\_BADAN  
Tukey HSD

(I) KELOMPOK_JANTAN	(J) KELOMPOK_JANTAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KONTROL	250 MG	18.6800	7.87242	.131	-3.1910	40.5510
	500 MG	19.4000	7.87242	.107	-2.4710	41.2710
	1000 MG	26.0000 <sup>*</sup>	7.87242	.011	4.1290	47.8710
	SATELIT	25.8000 <sup>*</sup>	7.87242	.012	3.9290	47.6710
250 MG	KONTROL	-18.6800	7.87242	.131	-40.5510	3.1910
	500 MG	.7200	7.87242	1.000	-21.1510	22.5910
	1000 MG	7.3200	7.87242	.885	-14.5510	29.1910
	SATELIT	7.1200	7.87242	.895	-14.7510	28.9910
500 MG	KONTROL	-19.4000	7.87242	.107	-41.2710	2.4710
	250 MG	-.7200	7.87242	1.000	-22.5910	21.1510
	1000 MG	6.6000	7.87242	.918	-15.2710	28.4710
	SATELIT	6.4000	7.87242	.926	-15.4710	28.2710
1000 MG	KONTROL	-26.0000 <sup>*</sup>	7.87242	.011	-47.8710	-4.1290
	250 MG	-7.3200	7.87242	.885	-29.1910	14.5510
	500 MG	-6.6000	7.87242	.918	-28.4710	15.2710
	SATELIT	-.2000	7.87242	1.000	-22.0710	21.6710
SATELIT	KONTROL	-25.8000 <sup>*</sup>	7.87242	.012	-47.6710	-3.9290
	250 MG	-7.1200	7.87242	.895	-28.9910	14.7510
	500 MG	-6.4000	7.87242	.926	-28.2710	15.4710
	1000 MG	.2000	7.87242	1.000	-21.6710	22.0710

## 2. Berat badan betina

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		BERAT_BADA
		N
N		125
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	172.9280
	Std. Deviation	19.61450
Most Extreme Differences	Absolute	.193
	Positive	.193
	Negative	-.142
Kolmogorov-Smirnov Z		2.159
Asymp. Sig. (2-tailed)		.386

## Multiple Comparisons

BERAT\_BADAN  
Tukey HSD

(I) KELOMPOK_BETINA	(J) KELOMPOK_BETINA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KONTROL	250 MG	.4400	5.35149	1.000	-14.4274	15.3074
	500 MG	-8.2400	5.35149	.539	-23.1074	6.6274
	1000 MG	15.1600 <sup>*</sup>	5.35149	.043	.2926	30.0274
	SATELIT	16.8000 <sup>*</sup>	5.35149	.019	1.9326	31.6674
250 MG	KONTROL	-.4400	5.35149	1.000	-15.3074	14.4274
	500 MG	-8.6800	5.35149	.487	-23.5474	6.1874
	1000 MG	14.7200	5.35149	.054	-.1474	29.5874
	SATELIT	16.3600 <sup>*</sup>	5.35149	.023	1.4926	31.2274
500 MG	KONTROL	8.2400	5.35149	.539	-6.6274	23.1074
	250 MG	8.6800	5.35149	.487	-6.1874	23.5474
	1000 MG	23.4000 <sup>*</sup>	5.35149	.000	8.5326	38.2674
	SATELIT	25.0400 <sup>*</sup>	5.35149	.000	10.1726	39.9074
1000 MG	KONTROL	-15.1600 <sup>*</sup>	5.35149	.043	-30.0274	-.2926
	250 MG	-14.7200	5.35149	.054	-29.5874	.1474
	500 MG	-23.4000 <sup>*</sup>	5.35149	.000	-38.2674	-8.5326
	SATELIT	1.6400	5.35149	.998	-13.2274	16.5074
SATELIT	KONTROL	-16.8000 <sup>*</sup>	5.35149	.019	-31.6674	-1.9326
	250 MG	-16.3600 <sup>*</sup>	5.35149	.023	-31.2274	-1.4926
	500 MG	-25.0400 <sup>*</sup>	5.35149	.000	-39.9074	-10.1726
	1000 MG	-1.6400	5.35149	.998	-16.5074	13.2274

### Lampiran 20. Hasil uji statistik skoring kerusakan ginjal

Skoring perubahan ginjal pada tikus jantan

Kelompok	Jumlah sel			Total kerusakan	sel normal	Total kerusakan
	Radang	Degenerasi	Nekrosis			
Negatif 1	0	0	0	0	100	0
Negatif 2	0	0	0	0	100	0
Negatif 3	0	0	0	0	100	0
Rata rata					<b>100</b>	<b>0</b>
250 mg 1	0	0	0	0	100	0
250 mg 2	0	0	0	0	100	0
250 mg 3	0	0	0	0	100	0
Rata-rata					<b>100</b>	<b>0</b>
500 mg 1	0	42	33	75	25	75
500 mg 2	0	21	21	42	58	42
500 mg 3	0	19	0	19	81	19
Rata-rata					<b>54,66</b>	<b>45,33</b>
1000 mg 1	0	0	0	0	100	0
1000 mg 2	0	0	0	0	100	0
1000 mg 3	0	0	42	42	54	42
Rata-rata					<b>84</b>	<b>16</b>
Satelit 1	0	0	0	0	100	0
Satelit 2	0	53	18	71	29	71
Satelit 3	0	0	18	18	82	18
Rata-rata					<b>70,33</b>	<b>29,67</b>

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		HIATOPATOL OGI_GINJAL	HISTOPATOL OGI_GINJAL_ JANTAN
N		15	15
Normal Parameters <sup>a, b</sup>	Mean	3.0000	17.8000
	Std. Deviation	1.46385	26.89450
Most Extreme Differences	Absolute	.153	.346
	Positive	.153	.346
	Negative	-.153	-.254
Kolmogorov-Smirnov Z		.592	1.340
Asymp. Sig. (2-tailed)		.875	.055

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Test of Homogeneity of Variances**

HIATOPATOLOGI\_GINJAL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.149 <sup>a</sup>	1	9	.177

**ANOVA**

HIATOPATOLOGI\_GINJAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.278	5	2.256	1.084	.430
Within Groups	18.722	9	2.080		
Total	30.000	14			

## Skoring perubahan ginjal pada tikus betina

kelompok	Jumlah sel			Total kerusakan	sel normal	Total kerusakan
	Radang	Degenerasi	Nekrosis			
Negatif 1	0	0	0	0	100	0
Negatif 2	0	0	0	0	100	0
Negatif 3	0	0	0	0	100	0
Rata rata					<b>100</b>	<b>0</b>
250 mg 1	0	0	0	0	100	0
250 mg 2	0	0	24	24	76	24
250 mg 3	0	0	0	0	100	0
Rata-rata					<b>92</b>	<b>8</b>
500 mg 1	0	0	0	0	100	0
500 mg 2	0	0	51	51	49	51
500 mg 3	0	0	45	45	55	45
Rata-rata					<b>68</b>	<b>32</b>
1000 mg 1	0	0	54	54	46	54
1000 mg 2	0	0	0	0	100	0
1000 mg 3	0	0	42	42	58	42
Rata-rata					<b>68</b>	<b>32</b>
Satelit 1	0	0	0	0	100	0
Satelit 2	0	0	0	0	100	0
Satelit 3	0	0	0	0	100	0
Rata-rata					<b>100</b>	<b>0</b>

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		HISTOPATOL OGI	HISTOPATOL OGI_GINJAL_ BETINA
N		15	15
Normal Parameters <sup>a, b</sup>	Mean	3.0000	14.4000
	Std. Deviation	1.46385	22.12239
Most Extreme Differences	Absolute	.153	.409
	Positive	.153	.409
	Negative	-.153	-.258
Kolmogorov-Smirnov Z		.592	1.585
Asymp. Sig. (2-tailed)		.875	.013

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## Ranks

HISTOPATOLOGI	N	Mean Rank
HISTOPATOLOGI_ GINJAL_BETINA	3	5.50
	3	7.33
	3	10.83
	3	10.83
	3	5.50
Total	15	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	HISTOPATOL OGI_GINJAL_ BETINA
Chi-square	6.167
df	4
Asymp. Sig.	.187

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
HISTOPATOLOGI