

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) DAN JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.)  
TERHADAP FUNGSI GINJAL TIKUS PUTIH**



Oleh :

**Arvinda Tribudi Susetyo  
19133871A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) DAN JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.)  
TERHADAP FUNGSI GINJAL TIKUS PUTIH**

**SKRIPSI**

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



**Oleh :**

**Arvinda Tribudi Susetyo  
19133871A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN**

berjudul:

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domesticae* Val.) dan JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.) TERHADAP FUNGSI GINJAL TIKUS PUTIH**

Oleh

**Arvinda Tribudi Susetyo  
19133871A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal: 20 Juli 2017



Dekan

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

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

Pembimbing Utama,

Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping,

Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt

Penguji:

1. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt

1.....

2. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

2.....

3. Meta Kartika Untari, M.Sc., Apt

3.....

4. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

4.....

## HALAMAN PERSEMBAHAN

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

Karya tulis ini kupersembahkan kepada :

1. Allah SWT yang selalu memberiku kesehatan dan kelacaran dalam kehidupan ini.
2. Bapak dan ibuk (Sudjono., S.Pd dan Supiyah., S.Pd) yang ku sayangi sepenuh hati, dua motivator yang selalu memberikan semangat kepadaku serta, do'a dan segalanya.
3. Kedua kakak dan adikku (Avit, Arvian dan Avita, Ardian) yang menjadikan alasan untuk aku selalu menjadi lebih baik.
4. Keluarga besar ku yang selalu memotivasi dan mendo'akanku dikala dekat maupun jauh.
5. Teman terdekat ku (Dessy Tripuji Rahayu), terimakasih telah menjadi yang terbaik, tersabar, dan menyemangatiku.
6. Sahabat dan keluarga kedua ku di Kost Elite (Anca, Anton, Patrik, Acit, Uwik, Imam, Angga, Syahdat) yang selalu memberikan semangat, do'a dan selalu membantuku, sukses untuk kita semua.
7. Teman-teman KKN 03 "Mojosongo" (Hardono, Anjar, Alvin, Lintang, Gotik, Murni, Enna, Nana, Desi) terimakasih atas semua kebersamaan, pengalaman dan kekeluargaan yang pernah kita lalui bersama.
8. Semua teman-temanku baik dekat maupun jauh yang selalu memberi dukungan, doa, dan semangat.
9. 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 kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 20 Juli 2017



Arvinda Tribudi Susetyo

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI TOKSISITAS SUBKRONIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) DAN JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.) TERHADAP FUNGSI GINJAL TIKUS PUTIH”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa 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 Univesrsitas Setia Budi.
3. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, memberi nasehat, petunjuk dan bimbingan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
4. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, memberi nasehat, petunjuk dan bimbingan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
5. Segenap dosen, asisten & staff laboratorium, serta karyawan perpustakaan yang telah banyak membantu dan menyediakan fasilitas demi kelancaran skripsi.
6. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bantuan dari pihak-pihak terkait untuk menyelesaikan skripsi ini. Namun penulis juga menyadari sepenuhnya bahwa karya tulis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran. Akhirnya, penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat

bagi masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, 20 Juli 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN .....	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. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
A. Rimpang Kunyit ( <i>Curcuma domesticae</i> Val.) .....	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama daerah.....	5
3. Morfologi tanaman .....	5
4. Kegunaan tanaman .....	6
5. Kandungan kimia kunyit .....	6
B. Rimpang Jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.).....	6
1. Sistematika tanaman.....	6
2. Nama daerah.....	7
3. Morfologi tanaman .....	7
4. Kegunaan tanaman .....	7
5. Kandungan kimia jahe.....	7
C. Simplisia .....	8
1. Pengertian.....	8



2.	Pembuatan simplisia.....	8
D.	Ekstrak.....	9
1.	Pengertian ekstraksi.....	9
2.	Metode soxhletasi.....	10
3.	Pelarut.....	10
E.	Binatang Percobaan.....	11
1.	Sistematika tikus.....	11
2.	Karakteristik tikus.....	11
3.	Jenis kelamin.....	12
4.	Cara memegang hewan uji dan penandaan.....	12
5.	Pengambilan darah tikus.....	12
F.	Uji Toksisitas.....	13
1.	Pengujian toksisitas.....	13
2.	Uji toksisitas akut.....	13
3.	Uji toksisitas subkronik.....	13
4.	Uji toksisitas kronik.....	14
G.	Ginjal.....	14
1.	Pengertian ginjal.....	14
2.	Fisiologi ginjal.....	15
3.	Metabolisme ginjal.....	15
3.1	Metabolisme ureum.....	15
3.2	Metabolisme kreatinin.....	16
3.3	Gangguan pada ginjal.....	16
H.	Histologi Ginjal.....	17
I.	Landasan Teori.....	17
J.	Hipotesis.....	19
BAB III METODE PENELITIAN.....		20
A.	Populasi dan Sampel.....	20
B.	Variabel Penelitian.....	20
1.	Identifikasi variabel utama.....	20
2.	Klasifikasi variabel utama.....	20
3.	Definisi operasional variabel utama.....	21
C.	Alat dan Bahan.....	22
1.	Alat.....	22
2.	Bahan.....	22
D.	Jalannya Penelitian.....	22
1.	Determinasi.....	22
2.	Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk.....	22
3.	Penetapan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit dan rimpang jahe.....	23
4.	Penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe.....	23
5.	Pembuatan ekstrak.....	23
6.	Test bebas etanolik ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe.....	24

7.	Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.) dan jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.).....	24
7.1.	Identifikasi flavonoid.....	24
7.2.	Identifikasi alkaloid.....	24
7.3.	Identifikasi tanin.....	25
8.	Pembuatan sediaan uji.....	25
8.1	Larutan Tween 80 2 %.....	25
8.2	Larutan kombinasi ekstrak 4 g/ 100 mL.....	25
8.3	Larutan kombinasi ekstrak 7 g/ 100 mL.....	25
9.	Prosedur penelitian.....	25
9.1	Persiapan hewan uji.....	25
9.2	Uji efek toksisitas subkronik.....	26
9.3	Pengambilan sampel darah.....	26
9.4	Pemeriksaan kadar kreatinin.....	27
9.5	Pemeriksaan kadar <i>Blood Ureum Nitrogen</i> (BUN). ....	27
9.6	Pemeriksaan histopatologi.....	28
E.	Analisa Data.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		31
1.	Hasil determinasi rimpang kunyit dan jahe.....	31
2.	Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk.....	31
3.	Hasil penetapan susut pengeringan rimpang kunyit dan jahe.....	32
4.	Hasil Penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan rimpang jahe.....	33
5.	Pembuatan ekstrak.....	33
6.	Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang kunyit dan jahe.....	34
7.	Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.) dan jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.).....	34
8.	Penentuan dosis.....	35
9.	Hasil uji subkronik singkat.....	35
9.1.	Pengamatan berat badan.....	35
9.2.	Uji kadar kreatinin.....	37
9.3	Uji kadar <i>Blood Ureum Nitrogen</i> (BUN).....	39
9.4	Hasil pemeriksaan histopatologi.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		43
A.	Kesimpulan.....	43
B.	Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....		44
LAMPIRAN.....		47

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pemeriksaan kreatinin.....	27
Gambar 2. Skema pemeriksaan ureum.....	28
Gambar 3. Histopatologi .....	29
Gambar 4. Skema uji toksisitas subkronik.....	30

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang kunyit dan jahe.....	32
Tabel 2. Hasil rata- rata penetapan susut pengeringan rimpang kunyit dan jahe.	32
Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit.....	33
Tabel 4. Hasil perhitungan rendemen ekstrak rimpang kunyit dan jahe.....	33
Tabel 5. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang kunyit dan jahe.....	34
Tabel 6. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe secara kualitatif. ....	34
Tabel 7. Hasil rata-rata berat badan tikus jantan dan betina .....	36
Tabel 8. Hasil rata-rata kadar kreatinin tikus jantan dan tikus betina .....	37
Tabel 9. Hasil analisa statistik rata-rata kadar BUN tikus jantan dan tikus betina	39
Tabel 10. Hasil pengamatan ginjal pada 100 sel hewan uji .....	41

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi rimpang kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.).....	48
Lampiran 2. Hasil determinasi rimpang jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.) .....	49
Lampiran 3. Sertifikasi hewan uji .....	50
Lampiran 4. Surat pembuatan preparat histopatologi .....	51
Lampiran 5. Foto rimpang kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.) dan rimpang jahe ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.).....	52
Lampiran 6. Foto pembuatan ekstrak.....	53
Lampiran 7. Hasil ekstrak .....	54
Lampiran 8. Identifikasi senyawa ekstrak rimpang kunyit dan jahe.....	55
Lampiran 9. Perlakuan hewan uji .....	56
Lampiran 10. Foto pemeriksaan darah.....	57
Lampiran 11. Foto histopatologi.....	58
Lampiran 12. Hasil rendemen kering.....	59
Lampiran 13. Hasil penetapan susut pengeringan rimpang kunyit dan jahe .....	60
Lampiran 14. Hasil penetapan kadar air rimpang kunyit dan jahe .....	61
Lampiran 15. Hasil rendemen ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe .....	63
Lampiran 16. Penentuan dosis uji .....	64
Lampiran 17. Penimbangan berat badan tikus .....	68
Lampiran 18. Kadar BUN.....	70
Lampiran 19. Kadar kreatinin .....	72
Lampiran 20. Hasil uji statistik .....	74
Lampiran 21. Lampiran histopatologi.....	82

## INTISARI

**SUSETYO, AT., 2016, UJI TOKSISITAS SUBKRONIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) DAN JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.) TERHADAP FUNGSI GINJAL TIKUS PUTIH, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) merupakan tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional, salah satunya sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas subkronis terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin dan gambaran histopatologi organ ginjal tikus.

Kombinasi ekstrak rimpang kunyit diperoleh dari hasil soxhletasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus jantan dan 25 ekor tikus betina, yang terbagi atas 5 kelompok. Kelompok pertama kontrol negatif diberi larutan Tween 80 2%, 3 kelompok perlakuan diberi sediaan kombinasi ekstrak kunyit dan jahe dengan dosis 400 mg/KgBB, 700 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB, dan kelompok satelit diberi 1000 mg/KgBB. Penelitian ini berlangsung selama 28 hari dan ditambah 14 hari pada kelompok satelit. Pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin dilakukan pada awal perlakuan dan akhir perlakuan. Pada akhir pemeriksaan hewan uji dikorbankan untuk uji histopatologi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak kunyit dan jahe dosis 400 mg/KgBB, 700 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB maupun kelompok satelit tidak memberikan efek toksik pada organ ginjal tikus jantan dan betina yang dilihat dari hasil pemeriksaan kadar BUN, kreatinin dan gambaran histopatologi ginjal.

---

**Kata kunci :** Toksisitas subkronik, kunyit, jahe, ginjal

## ABSTRACT

**SUSETYO, AT., 2017. SUBCHRONIC TOXICITY TESTS OF THE COMBINATION EXTRACT TUMERIC RHIZOME (*Curcuma domestica* VAL.) AND GINGER (*Zingiber officinale* Rosc.) ON THE PARAMETER OF KIDNEY FUNCTION IN WHITE RATE, THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Tumeric rhizome (*Curcuma domestica* Val.) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) were a plant many used as a traditional medicine, one of them as anti-inflammatory. This research aimed to determine the effects of subchronic toxicity toward toxic symptoms and the levels of Blood Urea Nitrogen (BUN) and creatinine also histopathology image of kidney in rats.

The combination extract of tumeric and ginger rhizome was obtained from soclethlet product using 70% ethanol solvent. This research used 25 male rats and 25 female rats, divided into 5 groups. The first group of negative control was given tween 80 2% solution, 3 treatment groups were given combination of tumeric and ginger extract at 400 mg / KgBW, 700 mg / KgBW, 1000 mg / KgBW, and the satellite group was given 1000 mg / KgBW. The research lasted for 28 days and added 14 days in the satellite group. The examination of BUN and creatinine levels was performed at the beginning of treatment and the end of treatment The end of observation animals was sacrificed for the histopathology test.

The results of this research was a combination of extracts of tumeric and ginger dose of 400 mg / KgBB, 700 mg / KgBB, 1000 mg / KgBB or satellite group did not give toxic effect on renal organ male and female rats seen from examination of BUN, creatinin and also kidney histopathology image.

---

**Keywords** : Subchronic toxicity, turmeric, ginger, kidney

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

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

Obat tradisional sejak dahulu baik di Indonesia maupun negara-negara lainnya dan sampai sekarang tetap dimanfaatkan dan bahkan cenderung meningkat. Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, dan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan sebagai pengobatan. Saat ini semakin banyak masyarakat yang menggunakan bahan alam sebagai obat, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai uji keamanan obat tradisional tersebut (Depkes RI 2000).

Kunyit merupakan salah satu tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional. Kunyit mempunyai kandungan kurkumin yang mempunyai aktivitas sangat luas, antara lain sebagai antioksidan, anti hepatotoksik, antiinflamasi dan antirematik. Kurkumin juga dilaporkan menimbulkan sifat antiinflamasi pada mencit yang diinduksi karagenin (Sudjarwo 2003).

Konsumsi kunyit dalam bentuk sediaan jamu tradisional dipercaya masyarakat mampu mengobati berbagai penyakit, sehingga konsumsi kunyit sering dilakukan secara rutin dan tidak terkontrol, sebagian besar masyarakat menganggap penggunaan obat herbal tidak berbahaya. Anggapan ini tidak sepenuhnya benar karena kemungkinan timbulnya efek merugikan tetap ada, terlebih lagi bila digunakan dalam jangka panjang, sehingga tidak dapat dipastikan penggunaan kunyit tersebut aman atau toksik terutama pada hati dan ginjal karena terdapat kandungan senyawa di dalam kunyit yang diduga bersifat hepatotoksik (Balaji dan Chempakan 2010).

Penelitian Winarsih *et al.* (2012) membuktikan bahwa pada uji intoksikasi akut fraksi etil asetat dan n-hexan ekstrak rimpang kunyit pada mencit diperoleh nilai LD<sub>50</sub> fraksi n-hexan adalah 19,50 g/kgBB dan LD<sub>50</sub> fraksi etil asetat adalah 27,98 g/kgBB. Dosis toksik akut fraksi etil asetat dan fraksi n-hexan yang diberikan adalah 7,5;15;30 dan 60 g/kg bobot badan. Persentase perubahan



tertinggi terjadi pada organ lambung yaitu 100% yang ditemukan pada kelompok yang diberi fraksi n-hexan dengan dosis tertinggi (60 g/kgBB). Secara histopatologi pemberian ekstrak kunyit dengan dosis toksik meningkatkan jumlah sel parietal dan degenerasi pada lambung. Pada hati dan ginjal pemberian kunyit dosis toksik mengakibatkan nekrosis sel parenkim.

Salah satu tanaman berkhasiat lainnya adalah jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). Rimpang jahe banyak digunakan sebagai ramuan obat-obatan, bahan makanan dan minuman. Ekstrak jahe terbukti mampu menurunkan tanda inflamasi eritema pada tikus putih galur wistar dengan luka bakar derajat II, tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan menggunakan silver sulfadiazine (Susila *et al.* 2014).

Konsumsi tanaman jahe di masyarakat perlu diperhatikan karena dosis yang berlebih dapat menyebabkan beberapa efek samping, jahe memiliki efek samping dapat mencegah agregasi trombosit. Hal ini sangat berbahaya, terutama pada masa kehamilan, karena bisa menyebabkan perdarahan (Chandra 2002).

Penelitian Mulyaningsih *et al.* (1999) membuktikan bahwa minyak atsiri jahe dapat menyebabkan kematian ada hewan uji tikus dengan dosis toksik jahe pada mencit 3,125 mg/kgBB dan dosis toksik pada tikus adalah 12,99 mg/kgBB. Mekanisme yang bertanggung jawab atas kematian hewan uji kemungkinan disebabkan oleh terjadinya kontraksi otot polos pada sistem pernafasan.

Menurut Singh (2014) kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe dengan perbandingan 1:1 pada dosis (100, 200 dan 400 mg/kgBB secara oral). Kombinasi kedua ekstrak tumbuhan menunjukkan efek aktivitas antiinflamasi pada tikus yang terlebih dahulu disuntik karegenan pada kaki tikus tersebut. Pada dosis 400 mg menghasilkan efek antiinflamasi yang sangat efektif dalam menghambat inflamasi yang terjadi.

Uji toksisitas digunakan untuk memberikan informasi mengenai derajat ketoksikan suatu sediaan uji tersebut apabila terjadi pemaparan pada manusia. Uji toksisitas yang dilakukan adalah uji toksisitas subkronis, dimana uji toksisitas subkronis adalah pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada

hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan (BPOM RI 2014).

Toksisitas suatu zat dapat diidentifikasi melalui target organ dengan berbagai parameter, salah satunya adalah dengan melihat gambaran histopatologi organ tersebut. Salah satu organ yang penting pada manusia adalah ginjal, karena ginjal merupakan organ vital yang berfungsi membuang bahan sisa terutama senyawa nitrogen seperti urea dan kreatinin yang dihasilkan dari metabolisme makanan oleh tubuh, bahan asing dan produk sisanya melalui pembentuk dan ekskresi urin. Kreatinin dan ureum merupakan salah satu hasil buangan dari ginjal yang difiltrasi oleh glomerulus didalam ginjal dan jika terdapat gangguan pada fungsi filtrasi ginjal maka kadar kreatinin dan ureum dalam darah akan meningkat dan kenaikan ini dapat digunakan sebagai indikator gangguan fungsi ginjal (Corwin 2009). Pada penelitian ini akan dikaji tentang uji toksisitas subkronik singkat 28 hari kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan parameter BUN, kreatinin, dan histopatologi organ ginjal.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat diambil suatu permasalahan sebagai berikut: pertama, apakah pemberian kombinasi ekstrak kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dengan dosis 400, 700, 1000 mg/kg BB yang di papar selama 28 hari menyebabkan efek toksik terhadap organ ginjal yang ditinjau dari parameter BUN (*Blood Ureum Nitrogen*) dan kreatinin pada tikus putih ?

Kedua, apakah pemberian kombinasi ekstrak kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dengan dosis 400, 700, 1000 mg/kg BB yang di papar selama 28 hari menyebabkan efek toksik terhadap organ ginjal yang ditinjau dari parameter histopatologi ?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah pertama, mengetahui pengaruh toksisitas yang ditimbulkan kombinasi ekstrak kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe

(*Zingiber officinale* Rosc.) selama 28 hari dengan dosis 400, 700, 1000 mg/kg BB terhadap organ ginjal yang ditinjau dari parameter BUN dan kreatinin pada tikus putih.

Kedua, mengetahui pengaruh toksisitas yang ditimbulkan kombinasi ekstrak kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) selama 28 hari dengan dosis 400, 700, 1000 mg/kg BB ditinjau dari parameter histopatologi ginjal.

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

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu penunjang keamanan pemanfaatan kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe sebagai obat tradisional, mampu memberikan informasi kepada masyarakat tentang toksisitas kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe terhadap organ ginjal apabila dikonsumsi secara terus menerus dalam jangka waktu yang relatif lama dan juga mampu memberikan informasi takaran dosis yang sesuai dan aman sebagai bahan obat tradisional jika digunakan dalam jangka waktu 28 hari.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.)**

##### **1. Sistematika tanaman**

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub-divisio	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Species	: <i>Curcuma domestica</i> Val. (Winarto 2004).

##### **2. Nama daerah**

Nama daerah untuk kunyit yaitu kunyir, temu kuning, kunir, kunir betis (Jawa), kunir, koneng, koneng temen (Sunda), konyet, temu koneng (Madura), kuning, hunik (Batak), kuminu, unin, unine, uninum (Ambon), kunidi (Sulawesi Utara), kurlai, tunin, guraci, kumine, kumino, uninum (Maluku), rame, nikwai, mingguai, jaw, kandeifu (Irian), cekuh (Bali), kuning (Gayo), huni (Bima), kunidi (Sulawesi Utara), janar, kunyit (Banjar), unyi (Bugis), cahang (Dayak), dan humo poto (Gorontalo) (Winarto 2004).

##### **3. Morfologi tanaman**

Tanaman kunyit tumbuh bercabang dengan tinggi 40-100 cm. Batang merupakan batang semu, tegak, bulat, membentuk rimpang dengan warna hijau kekuningan dan tersusun dari pelepah daun (agak lunak). Daun tunggal, bentuk bulat telur (lanset) memanjang hingga 10-40 cm, lebar 8-12,5 cm dan pertulangan menyirip dengan warna hijau pucat. Berbunga majemuk yang berambut dan bersisik dari pucuk batang semu, panjang 10-15 cm dengan mahkota sekitar 3 cm dan lebar 1,5 cm, berwarna putih/kekuningan. Ujung dan pangkal daun runcing, tepi daun yang rata. Kulit luar rimpang berwarna jingga kecoklatan, daging buah merah jingga kekuning-kuningan (Winarto 2004).

#### 4. Kegunaan tanaman

Beberapa manfaat kunyit diantaranya adalah memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, memberi perlindungan terhadap serangan jantung dan stroke dengan mengurangi pembentukan bekuan darah, melindungi hati, dan membantu pencernaan lemak dengan meningkatkan produksi empedu (Sumiati 2004).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak etanol kunyit putih memiliki efek antiinflamasi dalam menghambat edema telapak kaki tikus yang diinduksi *carrageenan*. Rata-rata hambatan reaksi inflamasi pada kelompok kontrol positif, dosis 1, 2 dan 3 pada jam ke lima secara berturut-turut adalah 0,46 ml; 0,57 ml; 0,52 ml dan 0,51 ml. Ekstrak etanol kunyit putih memiliki efek antiinflamasi dengan dosis paling dominan yaitu 900 mg/kgBB (Meltyza *et al.* 2015).

#### 5. Kandungan kimia kunyit

Kandungan kimia kunyit terdiri atas karbohidrat (69,4%), protein (6,3%), lemak (5,1%), mineral (3,5%), dan moisture (13,1%). Minyak esensial (5,8%) dihasilkan dengan destilasi uap dari rimpang yaitu  $\alpha$ -phellandrene (1%), sabinene (0,6%), cineol (1%), borneol (0,5%), zingiberene (25%) dan sesquiterpines (53%). Kurkumin (diferuloylmethane) (3-4%) merupakan komponen aktif dari kunyit yang berperan untuk warna kuning, dan terdiri dari kurkumin I (94%), kurkumin II (6%) and kurkumin III (0,3%) (Winarto 2004).

### B. Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)

#### 1. Sistematika tanaman

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Sub-divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledon
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiberis
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i> Rosc. (Harmono dan Andoko 2005).

## **2. Nama daerah**

Nama daerah jahe antara lain Aceh (halia), Batak karo (bahing), Lampung (jahi), Sumatra Barat (sipadeh atau sipodeh), Jawa (jae), Sunda (jahe), Madura (jhai), Bugis (pese) dan Irian (lali), Gorontalo (melito), Ternate (geraka), Nusa Tenggara (jae, reja, alia, lea) (Muhlisah 2005).

## **3. Morfologi tanaman**

Jahe merupakan herba, tegak, tinggi sekitar 30-100 cm, batang semu, beralur, berwarna hijau. Daun tunggal, berwarna hijau tua. Helai daun berbentuk lanset, tepi rata, ujung runcing, dan pangkalnya tumpul. Panjang daun lebih kurangnya 20-40 cm dan lebarnya sekitar 2-4 cm. Rimpangnya bercabang-cabang, tebal dan agak melebar, berwarna merah sampai jingga. Bagian dalam rimpang berserat agak kasar, berwarna kuning muda dengan ujung merah muda. Rimpang berbau khas dan rasanya pedas menyegarkan (Harmono dan Andoko 2005).

## **4. Kegunaan tanaman**

Rimpang jahe (*Zingiber Officinale* Rosc.) yang berasa pedas digunakan untuk meningkatkan nafsu makan, peluruh keringat, batuk, gangguan pencernaan atau muntah-muntah dan memiliki potensi sebagai antiinflamasi (Wiraharja *et al.* 2011).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa oleoresin jahe memberikan efek antiinflamasi pada jaringan ginjal tikus yang mengalami perlakuan stres. Efek antiinflamasi tersebut terlihat sangat nyata pada dosis 60 mg/kgBb/hari selama 7 hari perlakuan dan 80 mg/kgBB/hari selama 3 dan 7 hari perlakuan. Pemberian oleoresin setelah stress dapat mengurangi radikal bebas yang muncul dalam jumlah sangat tinggi tersebut, yang selanjutnya berdampak pada pengurangan kerusakan sel akibat radikal bebas, termasuk inflamasi yang terjadi pada ginjal. Penelitian ini menyatakan bahwa semakin tinggi dosis dan lama perlakuan oleoresin semakin besar efek penurunannya jumlah sel inflamasi (Wresdiyati *et al.* 2003).

## **5. Kandungan kimia jahe**

Rimpang jahe mengandung komponen minyak menguap (*volatile oil*), minyak tak menguap (*non volatile oil*) dan pati. Senyawa fenol jahe merupakan

bagian dari komponen oleoresin, yang berpengaruh dalam sifat pedas jahe. Senyawa terpenoida merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau, dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan minyak atsiri. Monoterpenoid merupakan biosintesa senyawa terpenoida, disebut juga senyawa *essence* dan memiliki bau spesifik. Senyawa monoterpenoid banyak dimanfaatkan sebagai antiseptik, ekspektoran, spasmolitik, sedatif, dan bahan pemberi aroma makanan dan parfum. Senyawa-senyawa metabolit sekunder golongan fenolik, flavanoida, terpenoida dan minyak atsiri yang terdapat pada ekstrak jahe diduga merupakan golongan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Nursal 2006).

### **C. Simplisia**

#### **1. Pengertian**

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60<sup>0</sup>C. Simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia (Kemenkes RI 2010).

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

Proses pembuatan simplisia dimulai dengan pengumpulan bahan baku dan menentukan kualitas bahan baku. Bahan yang telah dikumpulkan tersebut disortasi basah atau dipilah ketika tanaman masih segar, kemudian dicuci untuk membersihkan kotoran yang melekat pada bahan terutama untuk bahan-bahan yang telah tercemar pestisida. Selanjutnya bahan baku ditimbang dan dilakukan

penetapan kadar zat yang saksama pada sejumlah bahan yang ditimbang (Kemenkes RI 2010).

Pengeringan hampa udara dilakukan pada tekanan udara 20 mmHg dengan menggunakan *desikator vacum* atau piston pengering. Pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, serta mencegah aktivitas enzim yang bisa menguraikan kandungan zat aktif dalam bahan tersebut. Setelah itu dilakukan sortasi kering yang merupakan proses pemilihan bahan setelah dikeringkan. Pembuatan serbuk simplisia dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang telah dikeringkan dilakukan dengan menggunakan alat penggiling atau ayakan yang dapat membantu untuk mengolah simplisia hingga memiliki derajat kehalusan yang seragam (Kemenkes RI 2010).

## **D. Ekstrak**

### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif yang berkhasiat obat dari komponen tidak aktif atau *inert* di dalam jaringan tanaman atau hewan menggunakan pelarut yang selektif, sesuai dengan standar prosedur ekstraksi. Standar prosedur ekstraksi bertujuan untuk mencapai efek terapi yang diinginkan dan untuk menghilangkan bahan yang tidak diinginkan dengan pelarut yang selektif tersebut (Handa *et al.* 2008).

Cairan penyari dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang dapat menarik senyawa berkhasiat atau senyawa aktif dengan optimal, sehingga senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan zat pembawa lainnya. Proses penyarian dilakukan dengan tujuan memudahkan standarisasi kandungan zat aktifnya sehingga dapat menjamin keseragaman mutu, keamanan, dan khasiat produk akhir. Penggunaan ekstrak dinilai lebih efektif, praktis dan sederhana dibandingkan dengan penggunaan simplisia langsung dilihat dari segi bobot, dimana bobot pemakaian ekstrak jauh lebih kecil dibandingkan dengan bobot tumbuhan asalnya (Anief 2000). Ekstraksi terbagi atas beberapa cara yaitu cara dingin (maserasi, perkolasi), cara panas (refluks, soxhlet, digesti, infus), dan



pengeringan beku (*freeze drying*). Metode ekstraksi yang dipilih dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dengan cara soxhletasi.

## **2. Metode soxhletasi**

Soxhletasi adalah ekstraksi yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Penggunaan pelarut pada proses soxhletasi dapat dihemat karena terjadi sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas (BPOM RI 2000).

Keuntungan dari metode soxhletasi adalah proses ekstraksi yang kontinu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani 2014).

## **3. Pelarut**

Cairan penyari yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah penyari yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Penyari tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya. Faktor utama yang menjadi pertimbangan dalam pemilihan cairan penyari adalah selektifitas, ekonomis, kemudahan bekerja, ramah lingkungan dan aman. Dalam hal keamanan untuk manusia atau hewan coba, cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi *Pharmaceutical grade*. Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air, alkohol (etanol) atau campuran (air dan alkohol) (Depkes RI 2000).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70 %. Etanol dipilih karena sifatnya yang dapat melarutkan flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, polifenol, steroid dan saponin yang terkandung dalam tanaman yang dicari. Etanol

juga memiliki kelebihan karena lebih selektif, dan tidak dapat ditumbuhi oleh kapang dan mikroorganisme (Voigt 1994). Prinsip kelarutan yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar demikian juga sebaliknya pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar, dan pelarut organik akan melarutkan senyawa organik.

### **E. Binatang Percobaan**

Hewan uji yang digunakan adalah tikus karena tikus memiliki kemiripan yang dekat dengan manusia. Tikus yang digunakan adalah tikus jantan dan betina putih galur Wistar berumur 6-8 minggu dengan berat 150–200 g.

#### **1. Sistematika tikus**

Taksonomi tikus putih :

Fillum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Sub Kelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Myomorpha
Marga	: Muridae
Sub family	: Murinae
Genus	: Ratus
Jenis	: <i>Ratus norvegicus</i> (Akbar 2010).

#### **2. Karakteristik tikus**

Tikus mempunyai telapak kaki yang lebih besar, mudah diamati dan diukur volume kakinya. Tikus putih memiliki ciri morfologi berbulu halus dan lembut, bentuk hidung kerucut, dan bentuk badan silindris. Di Asia habitatnya di hutan dan tepatnya daerah bersemak, dan ditenakkan (Priyambodo 2003).

Tikus tergolong hewan yang makan pada malam hari (*nocturnal*) dan tidur pada siang hari. Kualitas makanan tikus merupakan faktor penting yang mempengaruhi kemampuan tikus mencapai potensi genetik untuk tumbuh, berbiak serta aktifitas hidup sehari-hari. Tikus mengkonsumsi makanan dalam

sehari tiap ekor berkisar 12-20 g dan konsumsi minum 20-45 ml air (Sudrajat 2008).

### **3. Jenis kelamin**

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

### **4. Cara memegang hewan uji dan penandaan**

Cara memegang hewan uji jenis rodensia berbeda antara tikus dan mencit pada saat pemberian sediaan uji secara oral. Pemegangan yang benar sangat diperlukan sewaktu pemberian sediaan uji, karena pemegangan yang salah dapat berakibat fatal. Cara pemegangan yang salah dapat menyebabkan antara lain: sediaan uji yang diberikan tidak dapat masuk kedalam lambung tetapi masuk kedalam paru-paru, sehingga mengakibatkan kematian hewan uji. Disisi lain, pemegangan yang salah juga dapat mengakibatkan terjadinya kecelakaan kerja seperti tergigit.

Penandaan dilakukan dengan tujuan membedakan antara hewan satu dengan yang lainnya. Penandaan biasanya dilakukan pada bagian kepala, punggung, ekor, kaki kanan depan, kaki kiri depan, kaki kanan belakang, kaki kiri belakang, dan ekor (BPOM RI 2014).

### **5. Pengambilan darah tikus**

Darah diambil dari sinus orbitalis secara perlahan-lahan menggunakan pipa kapiler sebanyak 3-5 mL, satu pipa kapiler digunakan untuk satu hewan. Darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus, didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit, disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-200<sup>0</sup>C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM RI 2014).

## F. Uji Toksisitas

### 1. Pengujian toksisitas

Uji toksisitas terdiri atas dua jenis yaitu toksisitas umum (akut, subkronis, kronis) dan toksisitas khusus (teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik). Dalam uji toksisitas perlu dibedakan obat tradisional yang dipakai secara singkat dan yang dipakai dalam jangka waktu lama. Uji toksisitas merupakan suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia (BPOM RI 2014).

### 2. Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut merupakan uji untuk menentukan Lethal Dosis ( $LD_{50}$ ), dan memperlihatkan organ sasaran yang mungkin mengalami kerusakan.  $LD_{50}$  didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan percobaan. Nilai  $LD_{50}$  berguna antara lain untuk menentukan klasifikasi zat kimia berdasarkan toksisitas relatif. Berdasarkan nilai  $LD_{50}$ , klasifikasi suatu zat terdiri atas super toksik, sangat toksik, toksik, cukup toksik, sedikit toksik dan tidak toksik.

Pengujian toksisitas akut yang diberikan oral digunakan untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai  $LD_{50}$  suatu bahan atau sediaan, serta penentuan penggolongan bahan atau sediaan dan pelabelan. Klasifikasi suatu zat terdiri atas super toksik, sangat toksik, toksik, cukup toksik, sedikit toksik dan tidak toksik (BPOM RI 2014).

### 3. Uji toksisitas subkronik

Uji toksisitas subkronik ialah untuk mengevaluasi dan menggolongkan segala efek senyawa apabila senyawa itu diberikan kepada hewan uji secara berulang-ulang, diberikan sekali sehari selama waktu tiga hingga empat bulan.

Pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Prinsip dari uji toksisitas subkronik oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit yang dilakukan selama 14 hari setelah akhir pemberian sediaan uji untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversible* (BPOM RI 2014).

#### **4. Uji toksisitas kronik**

Uji toksisitas untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sampai seluruh umur hewan. Uji toksisitas kronik pada prinsipnya sama dengan uji toksisitas subkronik, tetapi sediaan uji diberikan selama tidak kurang dari 12 bulan. Tujuan dari uji toksisitas kronik oral adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang selama waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (BPOM RI 2014).

### **G. Ginjal**

#### **1. Pengertian ginjal**

Ginjal adalah sepasang organ saluran kemih yang terletak dirongga retroperitoneal bagian atas. Bentuknya menyerupai kacang dengan sisi cekungnya menghadap ke medial. Pada sisi ini terdapat hilus ginjal yaitu tempat struktur-struktur pembuluh darah, sistem limfatik, sistem saraf dan ureter menuju dan meninggalkan ginjal (Setiadi 2007).

Ginjal merupakan organ kedua setelah hepar, yang paling sering menjadi sasaran perusakan oleh zat-zat kimia. Hal ini disebabkan banyak zat kimia yang diekskresikan melalui urin (Gerhastuti 2009).

Ginjal merupakan suatu organ yang terletak retroperitoneal pada dinding abdomen di kanan dan kiri columna vertebralis setinggi vertebra T12 hingga L3. Ginjal kanan terletak lebih rendah dari yang kiri karena besarnya lobus hepar. Ginjal dibungkus oleh tiga lapis jaringan. Jaringan yang terdalam adalah kapsula

renalis, jaringan pada lapisan kedua adalah adiposa, dan jaringan terluar adalah fascia renal. Ketiga lapis jaringan ini berfungsi sebagai pelindung dari trauma dan memfiksasi ginjal (Tortora 2011).

Ginjal memiliki korteks ginjal di bagian luar yang berwarna coklat terang dan medula ginjal di bagian dalam yang berwarna coklat gelap. Korteks ginjal mengandung jutaan alat penyaring disebut nefron. Setiap nefron terdiri atas glomerulus dan tubulus. Medula ginjal terdiri dari beberapa massa-massa triangular disebut piramida ginjal yang berguna untuk mengumpulkan hasil ekskresi yang kemudian disalurkan ke tubulus kolektivus menuju pelvis ginjal (Tortora 2011).

## **2. Fisiologi ginjal**

Ginjal menjalankan fungsi yang vital sebagai pengatur volume dan komposisi kimia darah dan lingkungan dalam tubuh dengan mengekresikan zat terlarut dan air secara selektif. Fungsi vital ginjal dicapai dengan filtrasi plasma darah melalui glomerulus dengan reabsorpsi sejumlah zat terlarut dan air dalam jumlah yang sesuai di sepanjang tubulus ginjal. Kelebihan zat terlarut dan air dieksresikan keluar tubuh dalam urin melalui sistem pengumpulan urin (Price and Wilson 2012).

Tiga proses utama akan terjadi di nefron dalam pembentukan urin, yaitu filtrasi, reabsorpsi, dan sekresi. Pembentukan urin dimulai dengan filtrasi sejumlah besar cairan yang hampir bebas protein dari kapiler glomerulus ke kapsula bowman. Kebanyakan zat dalam plasma, kecuali protein, difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrat glomerulus dalam kapsula bowman hampir sama dengan plasma. Awalnya zat akan difiltrasi secara bebas oleh kapiler glomerulus tetapi tidak difiltrasi, kemudian direabsorpsi parsial, reabsorpsi lengkap dan akan dieksresi (Sherwood 2011).

## **3. Metabolisme ginjal**

**3.1 Metabolisme ureum.** Ureum dalam darah atau *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) merupakan hasil protein normal yang berasal dari asam amino ornitin yang bergabung dengan molekul CO<sub>2</sub> untuk membentuk sitrulin. Sitrulin bergabung dengan sitrulin lain membentuk arginin yg dipecah menjadi ureum dan

ornitin. Ureum berdifusi dari sel hati ke cairan tubuh, dipekatkan dalam urin dan dieksresikan melalui ginjal sedangkan ornitin dipakai lagi dalam siklus berulang (Corwin 2009).

Konsentrasi normal *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) dalam serum untuk pria 8-25 mg/dL sedikit lebih tinggi dari pada wanita disebabkan pria memiliki *lean body mass* yang lebih besar (Corwin 2009). Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar ureum normal pada tikus adalah 15-21 mg/dL.

**3.2 Metabolisme kreatinin.** Kreatinin adalah produk akhir dari metabolisme kreatinin yang disintesis oleh hati dari mention, glisin dan arginin. Kreatinin mempunyai fungsi sebagai zat yang berguna dan beredar dalam darah untuk diangkut di ginjal. Kadar normal kreatinin untuk pria adalah 0,6-1,3 mg/dL dan untuk wanita 0,5-1 mg/dL. Jika fungsi ginjal menjadi lambat dan masa otot menyusut maka ada kemungkinan kadar kreatinin tetap sama di dalam serum, meskipun ekskresi per 24 jam kurang dari normal hal ini biasa didapat pada pasien lanjut usia (Corwin 2009).

Ureum lebih cepat meningkat dibandingkan dengan kreatinin dalam serum karena berkurangnya fungsi ginjal, kerusakan pada ginjal menyebabkan kadar ureum meningkat dan kadar kreatinin cenderung konstan. Jika kadar kreatinin meningkat maka akan terjadi ekskresi melalui saluran cerna. Kreatinin yang diekskresikan melalui urin tidak dipengaruhi oleh jenis kelamin, umur, aktivitas dan diet (Corwin 2009). Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar kreatinin normal pada tikus adalah 0,2-0,8 mg/dL.

**3.3 Gangguan pada ginjal.** Gangguan ginjal diakibatkan adanya benda asing yang masuk ke dalam ginjal dan merusak struktur ginjal berupa pembendungan struktur *polymorphonuclear cell*, *karyolisis*, pada sel parenkim dan sel endotel, penyempitan celah antara kapsul Bowman dan medulla ginjal, atrofi dan hipertrofi glomerulus, penyempitan pada lumen duktus kontortus yang dapat menyebabkan terhambatnya proses pembentukan urin karena kemampuan filtrasi glomerulus menurun sehingga timbul racun metabolisme dalam darah terutama limbah metabolisme nitrogen seperti urea dan kreatinin serta meningkatkan tekanan darah (Corwin 2008).

## H. Histologi Ginjal

Histologi adalah ilmu yang mempelajari tentang struktur jaringan secara detail menggunakan mikroskop pada sediaan jaringan yang dipotong tipis, salah satu dari cabang-cabang biologi. Salah satu jaringan yang digunakan adalah jaringan ginjal. Ginjal merupakan organ sasaran utama efek toksik selain hati dimana uji fungsi ginjal selain dilakukan analisis urin dan darah, juga pemeriksaan secara morfologis dan histologis. Histologi mencakup pengetahuan mengenai berbagai jaringan, sel dan sistem organ (Leeson *et al.* 1995).

Satuan fungsi ginjal terdiri atas nefron dan duktus koligentes yang menampung curahan nefron, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa di bagian korteks setiap ginjal terdapat jutaan nefron. Nefron ini terdiri atas dua komponen, yaitu korpuskulum renal dan tubuli distal (tubulus kontortus proksimal, ansa henle, tubulus kontortus distal dan tubulus koligentes) (Eroschenko 2010).

Pada paparan rendah akan terjadi perubahan pada tubulus proksimal. Terdapat dua perubahan morfologi diantaranya adalah perubahan reversibel yaitu degenerasi sel tubulus dan yang paling berat adalah nekrosis hati dan ginjal. Perubahan histopatologi ginjal diantaranya piknosis dan sitoplasma bervakuol dari epitelium tubular distal, piknosis nucleus sel tubuh Henle *ascending* dan *descending* pada kortikomedular *junction*, kontraksi dari nukleus dan peningkatan granularitas sitoplasma epitelium tubulus proksimal, pemisahan dan kerusakan dari uretelium pelvis, piknosis nukleus sel glomerulus, pembentukan ruang jernih disekitar loop Henle dalam medula, piknosis sel alveolar, piknosis dan kerusakan epitelium bronkiolus.

## I. Landasan Teori

Uji toksisitas subkronik adalah pengujian yang dilakukan untuk mengevaluasi dan menggolongkan segala efek senyawa apabila senyawa itu diberikan kepada hewan uji sedikitnya tiga tingkat dosis secara berulang-ulang, diberikan sekali sehari dengan jangka waktu kurang dari tiga bulan (selama 28 sampai 90 hari) (Harmita *et al.* 2005).



Penelitian Winarsih *et al.* (2012) membuktikan bahwa pemberian secara oral pada uji intoksikasi akut fraksi etil asetat dan n-hexan ekstrak rimpang kunyit pada mencit diperoleh nilai LD<sub>50</sub> fraksi n-hexan adalah 19,50 mg/kgBB dan LD<sub>50</sub> fraksi etil asetat adalah 27,98 g/kgBB. Secara histopatologi pemberian ekstrak kunyit dengan dosis toksik meningkatkan jumlah sel parietal dan degenerasi pada lambung. Pada hati dan ginjal pemberian kunyit dosis toksik mengakibatkan nekrosis sel parenkim.

penelitian Mulyaningsih *et al.* (1999) membuktikan bahwa pemberian secara oral minyak atsiri jahe dapat menyebabkan kematian pada hewan uji tikus dengan dosis toksik jahe pada mencit 3,125 mg/kgBB dan dosis toksik pada tikus adalah 12,99 mg/kgBB. Mekanisme yang bertanggung jawab atas kematian hewan uji disebabkan oleh terjadinya kontraksi otot polos pada sistem pernafasan.

Uji toksisitas subkronik singkat digunakan untuk menguji efek toksik yang ditimbulkan dalam dosis tertentu. Uji toksisitas singkat dilakukan selama 28 hari pemberian sediaan uji dan ditambahkan 14 hari sebagai kelompok satelit yang digunakan untuk mengetahui efek tertunda yang bersifat *refersible* (BPOM RI 2014). Pengamatan dilakukan dengan melihat parameter kadar BUN, kreatinin dan gambaran histopatologi organ ginjal.

Prinsip dari metode toksisitas subkronik yaitu dilakukan pada tikus yang sehat diberikan kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe (1:1) secara oral dengan 5 kelompok hewan uji yang terdiri dari masing-masing 5 tikus betina dan 5 tikus jantan, terdapat kelompok satelit yang diberi perlakuan dosis tinggi selama 28 hari dan dilanjutkan 14 hari tanpa perlakuan untuk mengetahui efek tertunda yang terjadi.

Organ sasaran dari uji toksisitas subkronik salah satunya adalah ginjal. Ginjal merupakan organ yang berfungsi mengekskresikan ureum, asam urat, kreatinin dan ammonium. Studi toksisitas fungsi ginjal dapat dievaluasi melalui urinális dan serum darah. Serum darah yang diperiksa adalah kreatinin dan ureum (Corwin 2009).

Kadar kreatinin diperiksa dengan metode Jaffe dimana pada suasana alkali kreatinin membentuk warna merah jingga dengan asam pikrat, adsorben dari

warna ini proporsional dengan konsentrasi kreatinin sampel. Kadar normal kreatinin untuk pria adalah 0,6-1,3 mg/dL dan untuk wanita 0,5-1 mg/dL (Corwin 2009). Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar kreatinin normal pada tikus adalah 0,2-0,8 mg/dL.

Kadar ureum diperiksa dengan metode Berhelot dengan mengukur *Blood Urea Nitrogen* (BUN). Prinsip dari metode Berhelot adalah ureum dihidrolisis dengan air dan urase membentuk ammonia dan CO<sub>2</sub>. Konsentrasi normal *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dalam serum untuk pria 8-25 mg/dL sedikit lebih tinggi daripada wanita disebabkan pria memiliki *lean body mass* yang lebih besar (Corwin 2009). Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar ureum normal pada tikus adalah 15-21 mg/dL.

## **J. Hipotesis**

Berdasarkan permasalahan dalam penelitian ini dapat disusun hipotesis sebagai berikut: pertama, kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domesticae* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) tidak menimbulkan efek toksik ditinjau dari parameter kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin tikus putih.

Kedua, kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domesticae* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) tidak menimbulkan efek toksik yang ditinjau dari parameter histopatologi organ ginjal tikus putih.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kunyit (*Curcuma domesticae* Val.) dan tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit dan rimpang jahe yang diambil dari tanaman *Curcuma domesticae* Val. dan *Zingiber officinale* Rosc. dan diambil rimpang yang masih segar serta berbau khas yang diperoleh pada bulan Januari 2017 dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

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

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah variasi dosis dari kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan ekstrak etanol rimpang jahe yang diperoleh dari metode soxhletasi dengan pelarut etanol 70 %.

Variabel utama kedua adalah hasil uji toksisitas subkronik secara biokimia meliputi pemeriksaan serum *Blood Ureum Nitrogen* (BUN), kreatinin plasma, dan pemeriksaan secara histopatologi terhadap organ ginjal tikus putih.

Variabel utama ketiga adalah hewan uji dan kondisi percobaan.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diidentifikasi ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol. Variabel bebas yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan variasi dosis.

Variabel tergantung dalam percobaan ini adalah variabel yang menjadi persoalan yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung adalah pengaruh

variasi dosis kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe serta efek toksik yang terjadi dengan pemeriksaan kadar BUN, kreatinin plasma tikus putih.

Variabel terkontrol adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel terikat selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah gambaran tentang histopatologi organ ginjal tikus putih.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, rimpang kunyit dan rimpang jahe adalah rimpang dari tanaman kunyit dan jahe yang diperoleh dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk rimpang kunyit dan jahe adalah rimpang yang sudah mengalami pengeringan, dan diblender kemudian diayak dengan derajat halus nomor 40.

Ketiga, ekstrak rimpang kunyit dan jahe adalah ekstrak kental rimpang kunyit dan rimpang jahe yang dihasilkan dari metode soxhletasi dengan pelarut etanol 70 %.

Keempat, dosis untuk uji toksisitas subkronik yang digunakan dengan perbandingan 1:1 dari kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe adalah 400 mg/kgBB, 700 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB dan kelompok kontrol negatif.

Keempat, efek toksik adalah efek terhadap organ ginjal yang ditetapkan melalui pemeriksaan secara biokimia terhadap kadar ureum dan kadar kreatinin plasma yang diambil dari serum darah tikus putih jantan dan betina setelah pemberian kombinasi ekstrak kunyit dan jahe secara oral.

Kelima, hewan uji adalah hewan yang digunakan adalah tikus putih yang memiliki berat badan antara 150-200 gram dan dalam keadaan baik.

Keenam, histopatologi adalah metode yang dipakai untuk mengamati efek toksik yang terjadi pada organ ginjal setelah pemberian kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe secara oral selama 28 hari.

Ketujuh, pengamatan mikroskopi adalah pengamatan yang dilakukan dengan bantuan alat mikroskop karena tidak dapat dilihat secara langsung dengan mata telanjang.

### **C. Alat dan Bahan**

#### **1. Alat**

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan adalah alat soxhlet, oven, batang pengaduk, kertas saring, penangas air, botol penampung dan corong gelas, evaporator (Heidolp WB 4000), corong Buchner, *Moisture Balance*, *sterling bidwell* dan *vaccum rotary evaporator*, *canul*, sonde lambung, Spektrofotometer UV Vis, alat bedah, objek glass, lampu bunsen, timbangan analitik, sentrifugator, mikroskop cahaya, pipet pasteur, mikrotom, mortir, stamper dan tabung reaksi.

#### **2. Bahan**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit (*Curcuma domesticate* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.), etanol 70 %, tween 80 2%, aquadest, bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat antara lain aquadestilata, NaCl 0,9%, alkohol, formalin, kloroform, parafin, etil-alkohol, eosin. Pemeriksaan biokimia menggunakan reagen kit. Pemeriksaan kreatinin R1, sodium hidroksid, R2, asam pikrat, standart. Pemeriksaan ureum R1, buffer phosphate, sodium salicylate, sodium nitroprusside, R2, buffer phosphate, sodium hydroxide, sodium hypochlorite, Urase, standart.

### **D. Jalannya Penelitian**

#### **1. Determinasi**

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel rimpang kunyit dan rimpang jahe berkaitan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman kunyit (*Curcuma domesticae* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). Determinasi tanaman bertujuan untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

#### **2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk**

Rimpang kunyit dan rimpang jahe yang segar dan berbau khas diambil dari pertanian daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

Rimpang kunyit dan rimpang jahe dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel. Proses pengeringan bertujuan

untuk mengurangi kadar air agar tidak mudah ditumbuhi oleh batang atau bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang dapat mengurangi zat aktif dan memudahkan proses penggilingan maupun penyimpanan.

Pengeringan dilakukan dengan cara di oven pada suhu 50°C sampai kering. Setelah kering dihaluskan dengan blender untuk dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40, dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah. Bentuk serbuk mempunyai kemampuan kontak dengan pelarut lebih besar, cairan penyari dapat masuk ke dalam pori-pori lebih baik sehingga zat aktif dapat terserap sempurna.

### **3. Penetapan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit dan rimpang jahe**

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

### **4. Penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe**

Penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Penggunaan alat ini dengan cara menimbang serbuk rimpang kunyit dan jahe sebanyak 30 gram, dimasukkan kedalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylen sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, selanjutnya dipanaskan. Pemanasan dihentikan bila air pada penampung tidak menetes lagi (kurang lebih 1 jam). kemudian diukur kadar air dengan melihat volume pada skala alat tersebut dan dihitung persentase air dari berat serbuk. Penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

### **5. Pembuatan ekstrak**

Metode soxhletasi dilakukan dengan langkah sebagai berikut: serbuk jahe ditimbang 20 g dan serbuk kunyit 20 g, masing-masing serbuk dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam tabung soxhlet secara terpisah.

Pelarut etanol 70% sebanyak 200 mL (perbandingan 1;10 w/v) dimasukkan ke dalam labu soxhletasi. Alat soxhlet dirangkai dengan kondensor. Ekstraksi dilakukan sampai cairan tidak bewarna kurang lebih selama 8 jam. Ekstrak jahe dan ekstrak kunyit dikentalkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50<sup>0</sup>C dengan kecepatan putaran 75 rpm (Mokoginta *et al.* 2013). Hasil yang diperoleh ditimbang berat ekstraknya menggunakan timbangan analitik kemudian dihitung rendemen ekstraknya.

#### **6. Test bebas etanolik ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe**

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

#### **7. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)**

**7.1. Identifikasi flavonoid.** Untuk mengetahui kandungan flavonoid dilakukan pengujian terhadap ekstrak, 3 mL sampel diuapkan kemudian dicuci dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 mL etanol kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 3 bagian A, B dan C. Filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambahkan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat kemudian dipanaskan pada penangas air, jika terjadi perubahan warna hijau kekuning-kuningan menunjukkan adanya flavonoid. Filtrat C ditambahkan larutan NaOH 10%. Jika terjadi warna biru-ungu menunjukkan adanya flavonoid (Agustina *et al.* 2016).

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

**7.3. Identifikasi tanin.** Untuk mengetahui kandungan tanin dilakukan pengujian terhadap ekstrak. Sebanyak 3 mL sampel ditambah dengan 2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Hasil positif terdapat kandungan tanin jika terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman (Agustina *et al.* 2016).

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

## **8. Pembuatan sediaan uji**

**8.1 Larutan Tween 80 2 %.** Larutan dibuat dengan melarutkan 2 mL tween 80 yang disuspensikan dalam air sebanyak 100 mL untuk kontrol negatif.

**8.2 Larutan kombinasi ekstrak 4 g/ 100 mL.** Larutan kombinasi ekstrak dibuat dengan melarutkan 4 gram ekstrak yang terdiri atas 2 gram ekstrak rimpang kunyit dan 2 gram ekstrak rimpang jahe yang disuspensikan dalam suspensi Tween 80 2% sebanyak 100 mL untuk dosis 400 mg/kgBB.

**8.3 Larutan kombinasi ekstrak 7 g/ 100 mL.** Larutan kombinasi ekstrak dibuat dengan melarutkan 10 gram yang terdiri atas 3,5 gram ekstrak rimpang kunyit dan 3,5 gram ekstrak rimpang jahe yang disuspensikan kedalam suspensi Tween 80 2% sebanyak 100 mL untuk dosis 700 dan 1000 mg/kgBB.

## **9. Prosedur penelitian**

**9.1 Persiapan hewan uji.** Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dan betina dengan berat 150-200 gram, berumur 6-8 minggu sebanyak 50 ekor (25 ekor jantan dan 25 ekor betina). Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok 10 ekor untuk kelompok dosis, kelompok satelit dan kelompok kontrol. Hewan uji diadaptasikan terhadap lingkungan selama satu minggu dan diperiksa kondisi kesehatannya. Sebelum digunakan dalam penelitian, hewan uji dipuasakan makan selama 8-24 jam dengan diberi air minum. Kelompok 1 diberikan suspensi Tween 80 2% sebagai kontrol negatif. Kelompok 2 diberikan kombinasi ekstrak



etanol rimpang kunyit dan jahe dengan dosis rendah 400 mg/kgBB. Kelompok 3 diberikan kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan dosis sedang 700 mg/kgBB. Kelompok 4 diberikan kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dengan dosis tinggi 1000 mg/kgBB. Kelompok 5 diberikan kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dosis 1000 mg/kgBB sebagai kelompok satelit.

Pengujian toksisitas subkronik kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan rimpang jahe dilakukan selama 28 hari untuk melihat efek toksiknya dan dilanjutkan selama 14 hari untuk kelompok satelit. Pada awal percobaan, berat badan ditimbang dan diambil darahnya sebagai ( $T_0$ ) dan ( $T_{28}$ ) hari untuk pemeriksaan ureum dan kreatinin.

**9.2 Uji efek toksisitas subkronik.** Tikus yang telah diaklimatisasi selama kurang lebih satu minggu di laboratorium ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal pada ekornya. Tikus yang digunakan sebanyak 50 ekor (25 ekor jantan dan 25 ekor betina) yang masing-masing kelompok terdiri atas 10 ekor tikus. Tikus yang digunakan adalah tikus putih berumur 6-8 minggu dengan bobot 150-200 gram yang diperoleh dari laboratorium Universitas Setia Budi.

Kelompok I : Kontrol negatif Tween 80 2%

Kelompok II : Kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe 400 mg/KgBB (Kunyit dan jahe 50:50).

Kelompok III : Kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe 700 mg/KgBB (Kunyit dan jahe 50:50).

Kelompok IV : Kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe 1000 mg/KgBB (Kunyit dan jahe 50:50).

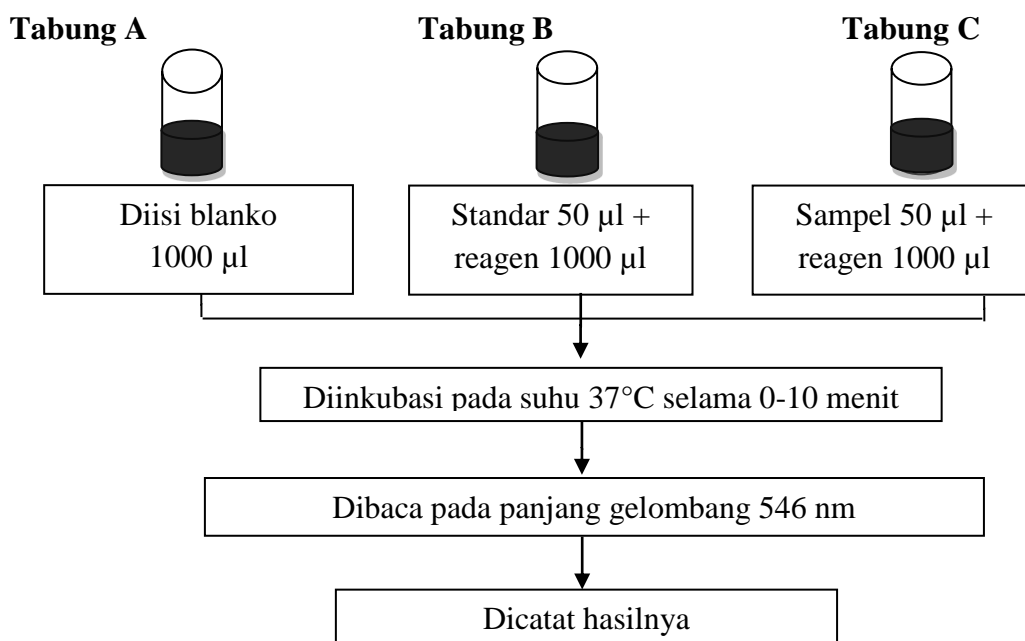
Kelompok V : Kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe 1000 mg/KgBB (Kunyit dan jahe 50:50).

Tikus yang telah ditimbang dan dikelompokkan kemudian diberikan sediaan uji selama 28 hari sesuai dosis yang telah ditentukan dan dilanjutkan pengamatan kelompok satelit sampai 14 hari kedepan untuk mengetahui efek toksik tertunda yang bersifat *reversible*.

**9.3 Pengambilan sampel darah.** Darah diambil melalui *sinus orbitalis* secara perlahan-lahan menggunakan mikrohematokrit sebanyak 2 mL. Volume

maksimal pengambilan darah tikus adalah 5 mL/kg. Pengambilan darah dilakukan dua kali yaitu pada awal percobaan ( $T_0$ ), dan pada akhir percobaan ( $T_{28}$ ) hari. Darah yang telah diperoleh sebanyak 2 mL dimasukkan dalam tabung mikrosentrifus yang telah diisi antikoagulan (EDTA) sebanyak 10  $\mu$ L segera disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, selanjutnya serum dipisahkan lalu disimpan dalam lemari beku untuk pemeriksaan kadar kreatinin dan BUN. Pada pemeriksaan BUN dan kreatinin sampel diambil serumnya.

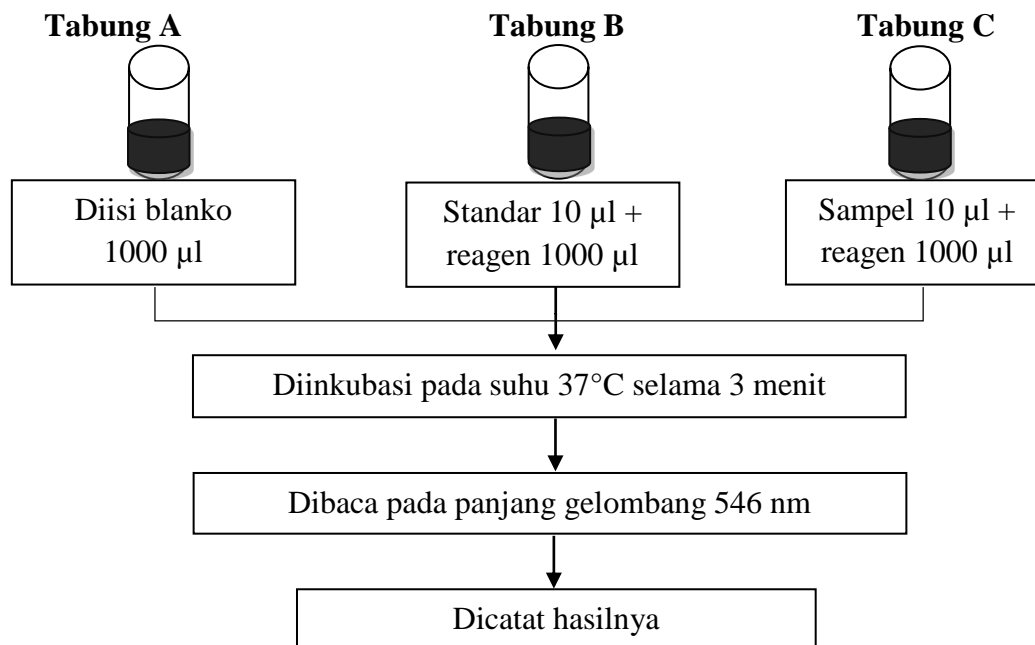
**9.4 Pemeriksaan kadar kreatinin.** Pemeriksaan kreatinin dalam darah dilakukan dengan menyiapkan tiga tabung raksi dimana tabung pertama diisi dengan aquadest sebanyak 1000  $\mu$ l, tabung kedua diisi dengan larutan standart 50  $\mu$ l ditambah monoreagen (perbandingan 4:1 reagen 1 dan 2), tabung ketiga diisi dengan 50  $\mu$ l sampel ditambah 1000  $\mu$ l monoreagen, divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 0-10 menit, kemudian dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm.



Gambar 1. Skema pemeriksaan kreatinin

**9.5 Pemeriksaan kadar Blood Ureum Nitrogen (BUN).** Pemeriksaan kadar ureum dalam darah dilakukan dengan menyiapkan tiga buah tabung reaksi dimana tabung pertama diisi dengan 1000  $\mu$ l reagen sebagai belanko, tabung kedua diisi 10  $\mu$ l larutan standart dan 1000  $\mu$ l monoreagen (perbandingan 4:1

reagen 1 dan 2) sebagai standar, tabung ketiga diisi 10  $\mu\text{l}$  sampel dan 1000  $\mu\text{l}$  monoreagen, divortex dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 3 menit, kemudian dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm.

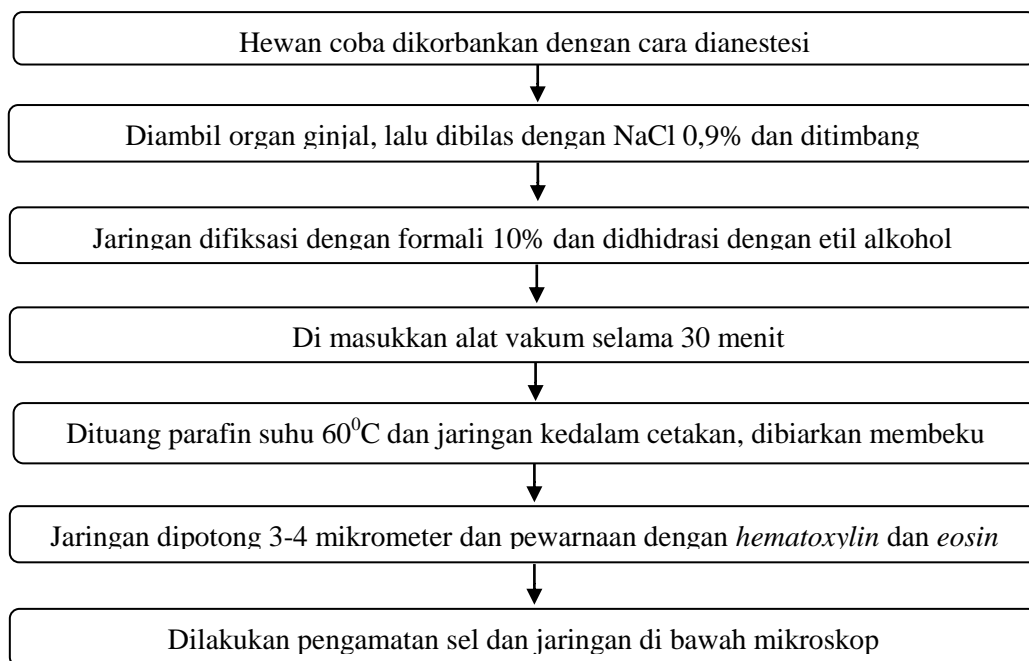


Gambar 2. Skema pemeriksaan ureum

**9.6 Pemeriksaan histopatologi.** Pemeriksaan histopatologi pada hewan uji dilakukan pada hari ke 28 dengan cara tikus yang masih hidup dikorbkan dengan cara dianastesi dan diambil organ ginjalnya kemudian dibilas dengan natrium klorida 0,9% (NaCl) lalu ditimbang dan difiksasi dalam pot berisi formalin 10%, proses fiksasi dimaksudkan agar preparat tidak mudah rusak. Sampel jaringan kemudian didehidrasi dengan menggunakan etil-alkohol untuk menghilangkan kelebihan zat fiksasi. Dilanjutkan dengan penghilangan udara dari jaringan dengan menggunakan mesin vakum selama 30 menit. Proses selanjutnya dituangkan parafin cair suhu  $60^{\circ}\text{C}$  kedalam cetakan yang berisi jaringan, dibiarkan membeku pada mesin pendingin. Blok parafin yang dipotong dengan menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan 3-4 mikrometer.

Tahap selanjutnya dilakukan pengecatan, lapisan tersebut diletakkan di atas kaca objek untuk dilakukan pengecatan. Pewarnaan yang digunakan adalah hematoxylin dan eosin, selanjutnya dikeringkan. Hematoxylin akan memberikan warna biru dan eosin akan memberikan warna merah muda. Diberi satu tetes

cairan perekat dan ditutup dengan kaca penutup kemudian diamati dibawah mikroskop (Muntiha 2001).

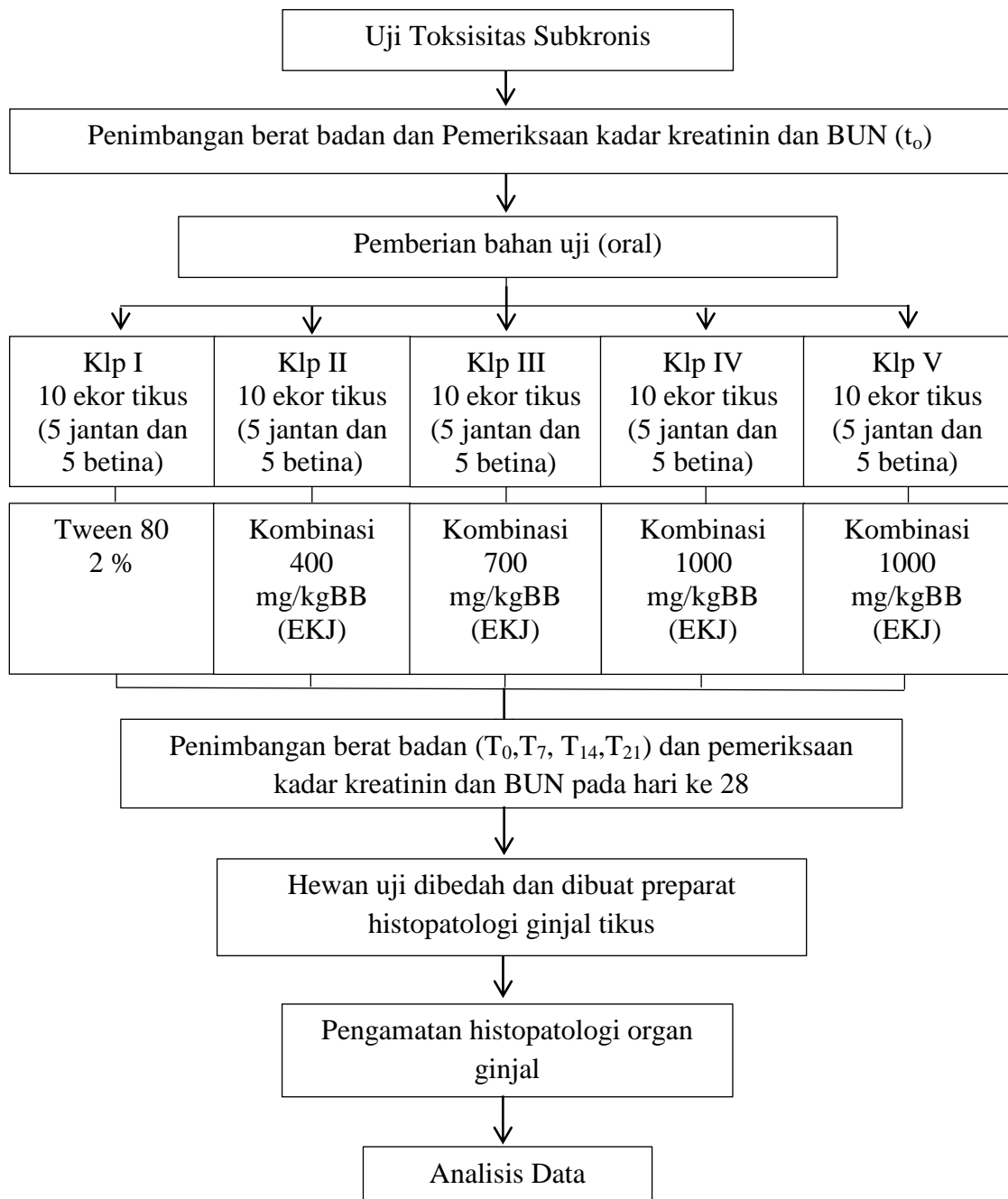


**Gambar 3. Histopatologi**

### **E. Analisa Data**

Data yang diperoleh adalah data kuantitatif yang berasal dari penimbangan berat badan tikus dan hasil pemeriksaan biokimia klinis kadar BUN dan kreatinin dari serum darah yang di ambil pada awal sebelum percobaan ( $t_0$ ), setelah 28 hari pemberian oral ( $t_{28}$ ) dan kelompok satelit setelah hari ke 42 ( $t_{42}$ ). Data dianalisis dengan uji *Shapiro Wilk* untuk melihat distribusi tiap kelompok sedangkan kehomogenan varian di uji dengan *levene* menggunakan taraf kepercayaan 95%. Apabila data terdistribusi normal dan homogen untuk tiap variannya maka dilakukan analisa satu arah (ANOVA) untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan, jika terdapat perbedaan bermakna maka dilakukan uji *Tukey HSD* dengan taraf kepercayaan 95%, apabila data terdistribusi tidak normal maka dilakukan uji *Kruskal-Walis*, jika terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Untuk melihat ada tidaknya perubahan parameter di awal dan di akhir

penelitian seiring berjalannya waktu maka dilakukan analisa *Paired Sample T-Test*, bila data yang didapatkan homogen dan terdistribusi normal. Dilakukan uji *Wilcoxon Test*, jika data yang didapatkan tidak homogen dan tidak terdistribusi normal.



**Gambar 4. Skema uji toksisitas subkronik**

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **1. Hasil determinasi rimpang kunyit dan jahe**

Tanaman sebelum digunakan sebagai sampel terlebih dahulu dilakukan determinasi. Determinasi tanaman kunyit dan jahe telah dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta. Hasil determinasi tumbuhan no 59/UN27.9.6.4/Lab/2017 menunjukkan bahwa sampel tersebut adalah benar jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dan no 58/UN27.9.6.4/Lab/2017 menunjukkan bahwa sampel tersebut benar kunyit (*Curcuma domestiza* Val.). Hasil determinasi tanaman kunyit dapat dilihat pada lampiran 1 dan tanaman jahe pada lampiran 2.

#### **2. Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk**

Rimpang yang digunakan berasal dari tanaman kunyit dan tanaman jahe yang segar dan berbau khas yang di peroleh dari pertanian Wonogiri, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017. Rimpang yang digunakan adalah rimpang yang sudah tua, tidak terlalu muda dan masih segar serta bebas dari hama. setelah disortasi kunyit dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran dan cemaran kemudian diangin-anginkan. Hasil penimbangan rimpang jahe segar yang diperoleh sebesar 19.000 gram. Hasil penimbangan rimpang kunyit segar yang diperoleh sebesar 16.500 gram. Rimpang kunyit dan jahe dikeringkan pada oven. Pengeringan harus dijaga pada suhu konstan 50°C dalam oven, karena bila suhunya terlalu tinggi maka dapat terjadi kerusakan senyawa aktif dan bila suhu terlalu rendah maka pengeringan menjadi tidak sempurna, akibatnya terjadi proses pembusukan.

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

Rimpang kunyit dan jahe yang telah kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan ayakan nomor 40. Tujuan dari pengayakan ini agar partikel yang dihasilkan menjadi seragam sehingga pengekstraksian dapat berlangsung efektif dan lebih maksimal. Hasil penimbangan rimpang kunyit kering sebesar 2.200 gram dan rimpang jahe kering sebesar 2.100 gram. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang kunyit dan rimpang jahe dapat dilihat dalam tabel 1.

**Tabel 1. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah rimpang kunyit dan jahe.**

Tanaman	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen %
Rimpang kunyit	16.500	2.200	13,34
Rimpang jahe	19.000	2.100	11,05

Rimpang kunyit sebanyak 16.500 g kondisi basah dikeringkan pada suhu 50°C kemudian diperoleh 2.200 g rimpang kunyit kering (rendemen 13,34%). Rimpang jahe sebanyak 19.000 g kondisi basah dikeringkan pada suhu 50°C dan diperoleh rimpang jahe kering sebanyak 2.100 g (rendemen 11.05%). Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 12.

### 3. Hasil penetapan susut pengeringan rimpang kunyit dan jahe

Serbuk rimpang kunyit dan jahe masing-masing ditimbang sebanyak 2 g, kemudian kandungan lembab diukur dengan menggunakan alat *Moisture balance*. Kelembaban yang terlalu tinggi pada serbuk akan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri serta perubahan kimiawi yang dapat merusak serbuk. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk rimpang kunyit dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Hasil rata- rata penetapan susut pengeringan rimpang kunyit dan jahe**

Bahan	Rata- rata (%) $\pm$ SD
Rimpang kunyit	6,16 $\pm$ 0,288
Rimpang jahe	8,70 $\pm$ 0,288

Penetapan susut pengeringan rimpang kunyit dan jahe yang ditimbang masing-masing sebanyak 2 gram kemudian diukur susut pengeringan menggunakan alat *Moisture balance*, persentase rata-rata susut pengeringan serbuk rimpang kunyit adalah 6,16% dan serbuk rimpang jahe adalah 8,7%. Hal ini menunjukkan bahwa susut pengeringan serbuk rimpang kunyit dan jahe memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10%. Hasil replikasi susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 13.

#### 4. Hasil Penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit dan rimpang jahe

Kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe diukur menggunakan *Sterling-Bidwell*.

**Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk rimpang kunyit**

Bahan	Rata- rata (%) $\pm$ SD
Rimpang kunyit	4,72 $\pm$ 0,09
Rimpang jahe	6,07 $\pm$ 0,08

Kadar air serbuk rimpang kunyit dan jahe yang diperoleh menggunakan alat *Sterling bidwell* dengan perbandingan berat serbuk basah sebelum dipanaskan dan serbuk kering setelah dipanaskan menggunakan *Sterling bidwell* inilah yang menjadi pengukuran susut pengeringannya. Kadar air yang diperoleh dari serbuk rimpang kunyit adalah 4,72% dan serbuk rimpang jahe adalah 6,07%. Kadar air dalam rimpang kunyit dan jahe memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 10%. Hasil replikasi kadar air dilihat pada lampiran 14.

#### 5. Pembuatan ekstrak

Serbuk rimpang kunyit dan jahe digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol rimpang kunyit dan rimpang jahe. Untuk mendapatkan suatu ekstrak, harus dilakukan dengan proses ekstraksi. Ekstraksi bahan alam digunakan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam.

Proses ekstraksi bisa menggunakan berbagai macam metode, dan dalam penelitian ini digunakan metode soxhletasi dengan pelarut etanol 70%, karena merupakan metode ekstraksi terbaik untuk memperoleh hasil ekstrak yang banyak dan pelarut yang sedikit. Masing-masing serbuk dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam tabung soklet secara terpisah. Pelarut etanol 70% sebanyak 250 mL (perbandingan 1;10 w/v) dimasukkan ke dalam labu sokletasi. Alat soklet dirangkai dengan kondensor dan labu alas bulat yang diberi 3 batu didih kemudian ditambah etanol 70%  $\pm$  250 ml untuk mencapai 1,5 sirkulasi. Penyarian dilakukan sampai pelarut yang terdapat dalam klongong berwarna bening atau ( $\pm$  30 kali sirkulasi). Data hasil perhitungan ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil perhitungan rendemen ekstrak rimpang kunyit dan jahe.**

Bahan	Serbuk (g)	Ekstrak (g)	Rendemen %
Rimpang kunyit	830	145,100	17,48
Rimpang jahe	790	159,390	20,17



Hasil perhitungan randemen ekstrak rimpang kunyit dan jahe menunjukkan persentase rendemen dari ekstrak rimpang kunyit sebesar 17,48% dan ekstrak rimpang jahe sebesar 20,17% dan perhitungan dapat dilihat pada lampiran 15.

## 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang kunyit dan jahe

Uji bebas etanol pada ekstrak rimpang kunyit dan jahe bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi uji toksisitas pada hewan uji.

**Tabel 5. Hasil uji bebas etanol ekstrak rimpang kunyit dan jahe**

Bahan	Hasil
Rimpang kunyit	Negatif (tidak berbau ester)
Rimpang jahe	Negatif (tidak berbau ester)

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe sudah bebas dari etanol, hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas sehingga ekstrak dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 7.

## 7. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)

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

**Tabel 6. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe secara kualitatif.**

Senyawa	Standar	Hasil		Hasil analisa
		Kunyit	Jahe	
Flavonoid	Merah kekuningan	+	+	Kuning
Alkaloid	Endapan coklat	+	-	Endapan berwarna coklat
Tanin	Biru kehitaman	-	+	Warna biru kehitaman
Saponin	Busa stabil	-	+	Busa stabil

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe menunjukkan bahwa rimpang kunyit positif mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid tetapi senyawa tanin dan saponin negatif. Rimpang jahe positif

mengandung senyawa flavonoid, tannin dan saponin tetapi senyawa alkaloid negatif. Pada penelitian ini tidak dilakukan identifikasi minyak atsiri pada jahe dan senyawa kurkumin pada kunyit, sehingga perlu pengembangan penelitian lebih lanjut terkait dengan identifikasi senyawa tersebut. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dapat dilihat pada lampiran 8.

## **8. Penentuan dosis**

Pembuatan sediaan uji dilakukan dengan mencampurkan sediaan uji dengan suspensi tween 80 2%. Suspensi ini ditambahkan dengan tujuan untuk meningkatkan kelarutan dari masing-masing ekstrak dalam air. Volume maksimal larutan yang dapat diberikan pada hewan uji tikus dengan berat badan 150-200 gram secara oral adalah sebesar 5 mL.

Berdasarkan literatur BPOM RI (2014) menerangkan bahwa dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji tikus tidak lebih dari 1000 mg/KgBB hewan uji. Dosis yang digunakan berdasarkan dosis efektif ekstrak rimpang kunyit dan jahe sebagai antiinflamasi yaitu 400 mg/kgBB. Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah dosis rendah 400 mg/kgBB, dosis sedang 700 mg/kgBB, dan dosis tinggi 1000 mg/kgBB, sedangkan untuk kelompok kontrol negatif diberikan suspensi tween 80 2%. Pemberian sediaan uji kepada hewan uji berdasarkan berat badan hewan uji diawal pengujian. Perhitungan dosis dapat dilihat pada lampiran 16.

## **9. Hasil uji subkronik singkat**

**9.1. Pengamatan berat badan.** Pengamatan berat badan hewan uji dilakukan setiap minggu ke-1 sampai dengan minggu ke-6 dengan cara penimbangan. Data berat badan yang diperoleh dianalisis dengan statistik menggunakan SPSS. Hasil rata-rata (*Mean*) berat badan tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 7.

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

Betina	Minggu ke (g ± SD)						
	0	1	2	3	4	5	6
Kontrol	155± 3,53	161± 4,18	170± 5,00	176± 4,18	185± 3,53		
Dosis 1	159± 4,18	164± 4,18	169± 4,18	177± 5,70	183± 7,53		
Dosis 2	159± 6,51	165± 5,00	170± 5,00	175± 5,00	180± 5,00		
Dosis 3	154± 4,18	159± 4,18	165± 5,00	170± 5,40	177± 5,70		
Satelit	160± 5,00	166± 4,18	171± 4,18	177± 5,70	184± 6,51	186±4,18	181± 6,51
Jantan	Minggu ke (g ± SD)						
	0	1	2	3	4	5	6
Kontrol	160± 3,53	166± 4,18	175± 5,00	181± 4,18	190± 3,53		
Dosis 1	166± 4,18	171± 4,18	176± 4,18	183± 7,58	190± 7,90		
Dosis 2	164± 6,51	170± 5,00	175± 5,00	180± 5,00	185± 5,00		
Dosis 3	159± 4,18	164± 4,18	170± 5,00	175± 5,00	181± 4,74		
Satelit	164± 4,18	169± 4,18	174± 5,47	179± 4,18	188± 5,70	192±5,70	196± 6,51

**Keterangan :**

Kelompok Kontrol negatif : Tween 80 2%

Kelompok Dosis I : 400 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 700 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

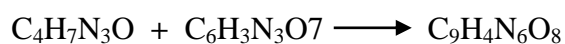
Dari tabel 7 diketahui bahwa ada peningkatan berat badan tikus disetiap minggu pada semua kelompok baik kelompok jantan maupun kelompok betina. Data dari pengamatan berat badan hewan uji yang diperoleh selama penelitian kemudian dianalisis dengan menggunakan uji statistik.

Data hasil penelitian berat badan tikus jantan dan betina dianalisis menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk melihat normalitasnya, hasil data diperoleh nilai signifikansi semua kelompok  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti data terdistribusi normal, dilanjutkan uji *levene* untuk mengetahui homogenitasnya, didapatkan nilai probabilitas  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti data homogen. Hasil analisis dilanjutkan uji varian satu arah *One way ANOVA* pada berat badan tikus jantan dan betina terhadap kelompok perlakuan. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif. pada uji ini didapatkan nilai signifikansi semua kelompok perlakuan  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti semua kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif.

Peningkatan berat badan lebih dipengaruhi oleh masa pertumbuhan karena seiring dengan bertambahnya umur tikus, maka ukuran tubuh juga akan

bertambah besar akibat berkembangnya sel. Selain itu, perubahan berat badan juga dipengaruhi oleh jumlah asupan pakan tikus. Semakin banyak pakan yang dikonsumsi maka berat badan akan meningkat (Santika 2004). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe terhadap perubahan berat badan tikus baik jantan maupun betina ditunjukkan dengan tidak adanya perbedaan antara semua kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif dan peningkatan berat badan yang dialami oleh hewan uji lebih dipengaruhi oleh asupan pakan tikus dan proses bertambahnya umur tikus. Data berat badan tikus jantan dan betina dapat dilihat pada lampiran 17.

**9.2. Uji kadar kreatinin.** Uji kadar kreatinin dalam darah dilakukan untuk mengetahui tingkat fungsi renal yang apabila fungsi renal berkurang maka kadar kreatinin dalam darah meningkat. Prinsip pemeriksaan kadar kreatinin dengan menggunakan reaksi Jaffe ialah reaksi antara kreatinin dengan asam pikrat dalam suasana basa akan membentuk kompleks kreatinin pikrat yang berwarna kuning jingga.



Kreatinin      Asam pikrat      Kompleks kreatinin pikrat

Data hasil rata-rata kadar kreatinin tikus jantan dan betina dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8. Hasil rata-rata kadar kreatinin tikus jantan dan tikus betina**

Jenis hewan	Waktu	Kadar kreatinin (mg/dL)				
		Kontrol	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Satelit
Betina	t0	0,52±0,08	0,54±0,11	0,60±0,21	0,64±0,11	0,60±0,15
	t1	0,56±0,11	0,58±0,08	0,62±0,10	0,64±0,11	0,62±0,16
Jantan	t0	0,42±0,12	0,46±0,15	0,50±0,16	0,58±0,14	0,50±0,15
	t1	0,44±0,11	0,48±0,03	0,56±0,15	0,64±0,13	0,58±0,13

**Keterangan :**

T0 : Pemeriksaan kadar kreatinin awal

T1 : Pemeriksaan kadar kreatinin akhir

Kelompok Kontrol negatif : Tween 80 2%

Kelompok Dosis I : 400 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 700 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

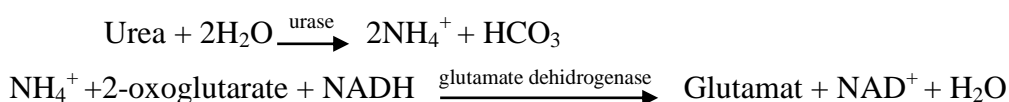
Dari tabel 8 menunjukkan bahwa kadar kreatinin pada kelompok kontrol negatif dan kelompok dosis baik jantan maupun betina mengalami peningkatan dari sesudah perlakuan. Data dari hasil penelitian kemudian dianalisis menggunakan uji statistik. Data hasil penelitian kadar kreatinin tikus betina dan dianalisis menggunakan *Shapiro Wilk* diperoleh semua nilai signifikansi  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti data terdistribusi normal, dilanjutkan uji *Levene* diperoleh nilai probabilitas  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti data homogen untuk tiap variannya. Hasil analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji varian satu arah *One way ANOVA*. Analisis varian satu arah digunakan untuk mengetahui kadar kreatinin berbeda atau tidak antara kelompok perlakuan dosis dengan kelompok kontrol negatif. Pada uji ini didapatkan nilai signifikansi  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif.

Data hasil penelitian kadar kreatinin tikus jantan dianalisis menggunakan *Shapiro Wilk* diperoleh nilai signifikansi semua kelompok  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti data terdistribusi normal, dilanjutkan uji *Levene* diperoleh nilai probabilitas  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti data homogen untuk tiap variannya. Hasil analisis dilanjutkan uji *One way ANOVA*, hasil dari kadar kreatinin tikus jantan dan betina didapatkan hasil berbeda tidak bermakna dengan nilai signifikansi  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) antar kelompok perlakuan, yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif.

Data hasil kadar kreatinin dianalisis menggunakan *Paired T-test*, uji ini digunakan karena subjek perlakuan pada penelitian ini sama tetapi diberikan perlakuan yang berbeda. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe terhadap kadar kreatinin darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan pada setiap kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa kadar kreatinin darah sebelum dan sesudah perlakuan didapatkan hasil berbeda tidak bermakna dengan nilai probabilitas  $\geq 0,025$  ( $H_0$  diterima) baik pada tikus betina maupun jantan, yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif.

Nilai rata-rata kadar kreatinin semua perlakuan masih berada pada rentang kadar kreatinin normal pada hari ke 28 untuk kelompok dosis 400, 700 dan 1000 mg/kg BB. Pada hari ke 42, kelompok satelit juga mengalami peningkatan namun masih berada pada rentang normal. Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar kreatinin normal pada tikus adalah 0,2-0,8 mg/dL. Terjadinya peningkatan kadar kreatinin tikus pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe dapat dipengaruhi oleh massa otot karena tikus berada pada masa pertumbuhan sehingga massa otot juga akan meningkat karena kreatinin merupakan produk dari metabolisme keratin otot (Sacher and Richard 2004). Data kadar kreatinin dapat dilihat pada lampiran 19.

**9.3 Uji kadar *Blood Ureum Nitrogen* (BUN).** Kadar BUN memberikan gambaran adanya keseimbangan antara pembentukan urea dan katabolisme protein serta ekskresi urea oleh ginjal. Pada gangguan fungsi ginjal konsentrasi urea plasma akan meningkatkan adanya penurunan filtrasi glomerulus (Sherwood 2002). Pengukuran kadar BUN dilakukan dengan metode *GLDH Coupled Enzymatic* dengan reaksi sebagai berikut:



Hasil analisa statistik kadar *BUN* (tabel 9).

**Tabel 9. Hasil analisa statistik rata-rata kadar BUN tikus jantan dan tikus betina**

Jenis hewan	Waktu	Kadar BUN (mg/dL)				
		Kontrol	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Satelit
Betina	t0	14,60±1,14	15,00±1,00	15,60±1,14	16,80±1,64	16,00±0,70
	t1	15,00±1,58	15,40±1,51	15,80±1,64	18,20±1,64*	16,60±1,14
Jantan	t0	15,40±1,67	15,60±1,51	16,00±1,00	16,80±1,48	16,60±1,14
	t1	15,60±1,34	16,00±1,00	16,40±1,14	17,20±1,92	17,00±1,58

**Keterangan :**

T0 : Pemeriksaan kadar BUN awal

T1 : Pemeriksaan kadar BUN akhir

Kelompok Kontrol negatif : Tween 80 2%

Kelompok Dosis I : 400 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 700 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

\* : Terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ )

Dari tabel 9 menunjukkan adanya peningkatan kadar BUN pada kelompok dosis dan kelompok kontrol baik jantan maupun betina. Data hasil penelitian

kadar BUN tikus betina dianalisis menggunakan *Shapiro Wilk* diperoleh nilai signifikansi semua kelompok  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti data terdistribusi normal, dilanjutkan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitasnya, didapatkan nilai probabilitas  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti data homogen untuk tiap variannya. Hasil analisis dapat dilanjutkan uji varian satu arah *One way ANOVA*, pada uji ini didapatkan nilai signifikansi  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif. Sedangkan pada tikus betina terhadap kelompok perlakuan didapatkan hasil perbedaan secara bermakna dengan nilai probabilitas  $\leq 0,05$  ( $H_0$  ditolak) antar perlakuan, sehingga dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan secara signifikan. Berdasarkan hasil analisa menunjukkan bahwa kelompok dosis 1000 mg/kgBB berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol negatif.

Data hasil kadar BUN dianalisis menggunakan *Paired T-test*, uji ini digunakan karena subjek perlakuan pada penelitian ini sama tetapi diberikan perlakuan yang berbeda. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe terhadap kadar BUN darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan pada setiap kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa kadar BUN darah sebelum dan sesudah perlakuan didapatkan hasil berbeda tidak bermakna dengan nilai probabilitas  $\geq 0,025$  ( $H_0$  diterima) baik pada tikus betina maupun jantan, yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif.

Nilai rata-rata kadar BUN normal untuk tikus wistar pada hari ke 28 dan pada hari ke 42 kadar BUN juga masih berada pada batas normal. Menurut penelitian Malole *et al.* (1989) kadar normal BUN pada tikus wistar adalah 15-21 mg/dL. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak rimpang etanol rimpang kunyit dan jahe tidak menimbulkan efek toksik karena kadar BUN baik jantan maupun betina mengalami peningkatan dalam rentang kadar BUN normal. Data kadar BUN dapat dilihat pada lampiran 18.

**9.4 Hasil pemeriksaan histopatologi.** Hewan uji yang telah diberikan perlakuan dengan pemberian oral kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe

pada masing-masing kelompok dosis dan diuji biokimia pada awal dan minggu keempat ditambah 14 hari pada kelompok satelit, kemudian pada akhir penelitian hewan uji dibedah dan diambil organ ginjalnya. Masing-masing kelompok diambil 2 tikus untuk di bedah kemudian dilakukan pengamatan secara mikroskopi dengan uji histopatologi pada organ ginjal yang telah diambil. Pada pembuatan preparat histopatologi hanya diambil 1 ekor jantan dan 1 ekor betina sehingga tidak dapat dilakukan pengujian secara statistik.

**Tabel 10. Hasil pengamatan ginjal pada 100 sel hewan uji**

Jenis	Kelompok	Normal	Piknosis	Karioreksis	Kariolisis	Total Kerusakar
Betina	Kontrol	89	6	5	0	11
	Dosis 1	88	8	5	0	13
	Dosis 2	84	8	8	0	16
	Dosis 3	69	19	12	0	31
	Satelit	82	10	8	0	18
Jantan	Kontrol	91	5	4	0	9
	Dosis 1	88	5	7	0	12
	Dosis 2	74	15	11	0	26
	Dosis 3	82	9	9	0	18
	Satelit	83	7	6	0	13

Histologi organ dilakukan untuk melihat adanya nekrosis pada organ ginjal. Nekrosis merupakan sel-sel yang mengalami perubahan yang mengarah pada kematian sel, yang disebabkan oleh adanya zat toksik yang masuk bersama dengan aliran darah menuju ke ginjal. Proses terjadinya nekrosis diawali dengan destruksi epitel tubulus akibat kontak dengan zat toksin. Perubahan secara mikroskopis akan tampak pada perubahan intinya yang kehilangan gambaran kromatin, menjadi keriput, tidak vesikuler lagi, inti lebih padat, bewarna gelap (piknosis), inti sel terbagi atas fragmen-fragmen, robek (karioreksis), inti sel yang mati dan hilang disebabkan oleh aktivitas DNase sehingga basophil kromatin memudar (kariolisis) (Himawan 1992).

Hasil pengamatan mikroskopis yang dilihat dari 100 sel organ ginjal hewan uji tikus jantan dan betina setelah pemberian kombinasi ekstrak rimpang kunyit dan jahe menunjukkan adanya kerusakan yang terjadi akibat sel yang mengalami piknosis dan karioreksis pada kelompok kontrol negatif, kelompok dosis dan satelit. Perhitungan sel yang mengalami kerusakan dihitung berdasarkan jumlah 100 sel yang diamati dari masing-masing preparat.



Dari tabel 10 menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan baik kontrol negatif, kelompok dosis dan satelit jumlah sel normal lebih banyak dibandingkan dengan jumlah sel yang mengalami kerusakan. Jumlah kerusakan tertinggi terjadi pada masing-masing kelompok hewan uji yaitu 31 sel pada kelompok betina dan 26 sel pada kelompok jantan.

Pada pengamatan ini dapat dilihat bahwa terjadi penurunan dari dosis tertinggi ke dosis satelit, hal itu menunjukkan kemungkinan *reversible* pada kerusakan yang terjadi pada organ ginjal. Kerusakan pada hewan uji kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor seperti sulit beradaptasi dengan lingkungan baru atau adanya penyakit bawaan dari tikus itu sendiri yang tidak teridentifikasi saat pemilihan dan pemeliharaan. Hasil pengamatan histologi dapat dilihat pada lampiran 21.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, pemberian kombinasi rimpang kunyit dan jahe selama 28 hari secara oral tidak menimbulkan efek toksik terhadap organ ginjal tikus putih dari parameter BUN dan kreatinin.

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

#### **B. Saran**

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

Kedua, perlu dilakukan pengembangan uji toksisitas subkronik dengan parameter lain seperti uji kadar asam urat dan albumin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina S, Ruslan, Wiraningtyas A. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry* 4(1):71-76.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press. Hlm 4-5
- Anief M. 2000. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hlm 169-171.
- Balaji S, Chempakam B. 2010. Toxicity prediction of compounds from turmeric (*Curcuma longa* L.). *Food Chem Toxicol* 48(10):2951-9.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hlm: 3-5, 10-11.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Corwin JE. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- Chandra K, Einarson A, Koren G. 2002. Taking ginger for nausea and vomiting during pregnancy. *Can Fam Physician* 48:1441-1442.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Edisi I. Jakarta: Dirjen Pengawas Obat dan Makanan Direktorat Pengawas Obat Tradisional.
- Eroschenko. 2010. *Atlas Histologi di Fiore*. Edisi 11. Jakarta: EGC.
- Gerhastuti BC. 2009. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral Selama 30 hari Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Wistar. [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Harmono, Andoko A. 2005. *Budidaya dan Peluang Bisnis Jahe*. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hlm 74.
- Handa S. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italy: International Centre For Science and High Technology. Hlm 22.
- Himawan S. 1992. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: UI Press.
- [Kemenkes] Kementrian Kesehatan. 2010. *Suplemen 1 Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.

- Leeson Thomas S, Leeson Roland C, Paparo Anthony A. 1996. *Buku Ajar Histology*. Edisi ke 5. Jakarta: EGC.
- Malole MBM dan Pramono CSV. 1989. *Penggunaan Hewan Percobaan di laboratorium*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- Meltyza E, Indriyanti RA, Rahiman SB. 2014. Perbandingan Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit Putih (*Curcuma zedoria*) dengan Natrium Diklofenak pada Tikus yang Diinduksi dengan *Carrageenan*. Prosiding Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung. Hlm: 112-118.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan* 7(2): 361-363.
- Muhlisah F. 2005. Temu-temuan dan Empon-emponan. *Budidaya dan Manfaatnya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Mukoginta EP, Runtuwene MR, Wehantouw F. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca Vestiarra Giseke*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat* 2(4):109-113.
- Mulyaningsih B, Pramono S, Suhardjono D. 1999. Uji Toksisitas Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber Officinae* Rosc.) sebagai antiparasit pada hewan uji mencit dan tikus. *Barkala Ilmu Kedokteran* 31(2): 71-76.
- Nursal W, Wilda S. 2006. Bioaktivitas Jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biogenesis* 2(2): 64-66.
- Price AS, Wilson ML. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Volume ke-6. Jakarta: EGC.
- Priyambodo S. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu Seri Agrikat*. Volume ke-6. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sacher RA, Richard A. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. EGC. Hlm 291-293.
- Setiadi. 2007. *Konsep dan Penulisan Riset Keperawatan*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Santika AS. 2014. Perbandingan Laju Pertumbuhan Berat Badan Tikus Jantan dan Betina Serta Kadar Hormon Tiroditeronin dan Tiroksin dalam Darah, [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.

- Sherwood, Lauralee. 2011. *Fisiologi Manusia*. Jakarta: EGC.
- Singh R, Mehta A, Mehta P, Patel JR. 2014. In Vivo Evaluation for Anti-inflammatory Activities of Hydro Alcoholic Combined Extracts of *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* Rhizomes. *Journal of Novel Research in Pharmacy & Technology* 1(2):13-19.
- Sudjarwo SA. 2003. The Signal Transduction of Curcumin as Anti Inflammatory Agent in Cultured Fibroblast. *Jurnal Kedokteran YARSI* 12(2): 112.
- Sudrajat J. 2008. Profil Lemak, Kolesterol Darah, Dan Respon Fisiologi Tikus Wistar Yang Diberi Ransum Mengandung Gulai Daging Sapi Lean [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sumiati T, Adnyana IK. 2004. *Kunyit, Si Kuning Kaya Manfaat*. Bandung: Departemen Farmasi ITB.
- Susila HA, Sumarno, Dina Dewi SLI. 2014. Efek Ekstrak Jahe (*Zingiberofficinale* Rosc.) terhadap Penurunan Tanda Inflamasi Eritema pada Tikus Putih (*Rattus novvergicus*) Galur Wistar dengan Luka Bakar Derajat II. *Jurnal Ilmu Keperawatan FKUB* 1(4): 217.
- Tortora GJ, Derrickson B. 2011. *Principles of Anatomy and Physiology Maintenance and Continuity of the Human Body 13 th Edition*. Amerika Serikat: John Wiley & Sons Inc.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi 5. Soendani N, penerjemah; Moch S, editor. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Winarsih W, Wientarsih I, Sulistyawati NP, Wahyudina I. 2012. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Rimpang Kunyit pada Mencit: Kajian Histopatologi Lambung, Hati dan Ginjal. *Jurnal Veteriner* 13(4): 1411-8327.
- Winarto WP. 2004. *Khasiat dan Manfaat Kunyit*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Wiraharja RS, Heidy, Rustam S, Iskandar M. 2011. Kegunaan Jahe Untuk Mengatasi Gejala Mual dalam Kehamilan. *Journal of Medicine* 10(3): 32-32.
- Wresdiyati T, Astawan M, Adnyane KM. 2003. Aktivitas Antiinflamasi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) pada Ginjal Tikus yang Mengalami Perlakuan Stres. *Jurnal Teknologi dan Pangan* 14(2): 113-120.

LAMPYRA

## Lampiran 1. Hasil determinasi rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.)



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](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 58/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Arvinda Tribudi Susetyo  
NIM : 19133871A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Curcuma longa* L.  
Synonym : *Curcuma domestica* Val.  
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-  
35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-  
334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a 207. Zingiberaceae  
1a-2b-6b-7a 12. Curcuma  
1a-2b-3a Curcuma longa L.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : herba menahun, dengan rimpang yang basah dan aromatik, rimpang bagian luar berwarna oranye hingga oranye coklat, bagian tengah oranye hingga kuning tua. 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, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, berbentuk ellips atau lonjong-menjorong sampai lonjong-melanset, panjang 20-55 cm, lebar 12.5-19 cm, berwarna hijau permanen secara keseluruhan, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung runcing atau meruncing, pangkal runcing hingga tumpul, tepi rata; tulang daun menyirip. Bunga : terletak di ujung (terminal), terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa bunga majemuk tipe bulir, terdiri atas 3-7 bunga, tertutup oleh daun pelindung bunga (braktea); braktea berwarna putih hingga hijau muda, seringkali bertotol-totol coklat pada bagian ujungnya; kelopak berbentuk tabung silindris pendek, bercuping 2-3, kelopak hijau keputihan; tabung mahkota berbentuk seperti corong, cuping mahkota berbentuk oval atau memanjang, berwarna putih; labellum bulat telur, panjang 15-16 mm, lebar 16-17 mm, berwarna oranye; staminoda berwarna oranye. Buah : berbentuk kapsul, kering hingga basah. Biji : bulat, sedikit hingga banyak.

Surakarta, 15 Maret 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyahi, 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.

## Lampiran 2. Hasil determinasi rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)



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](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 59/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Arvinda Tribudi Susetyo  
NIM : 19133871A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Zingiber officinale* 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-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a  
207. Zingiberaceae  
1a-2b-6a 1. Zingiber  
1a-2b-6a-7a *Zingiber officinale* Roscoe

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.3-1 m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, diameter 2-5 cm, bercabang-cabang, bagian luar permukaannya tidak rata, berkerut, warnanya putih keabu-abuan tetapi bagian rimpang yang berbatasan dengan pangkal batang semu berwarna merah, bagian dalamnya berwarna kuning muda sampai jingga, rasanya pedas. Akar : melekat pada rimpang, tipe akar serabut, berwarna putih hingga kuning kotor atau coklat kekuningan. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau, pangkal batang semu merah. Daun : tunggal, tersusun berseling, helaian berbentuk lanset sempit memanjang hingga garis, panjang 15-23 cm, lebar 8-15 mm, berwarna hijau permanen, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung sangat runcing atau meruncing, tepi rata, pangkal runcing atau sedikit tumpul, pertulangan daun menyirip, permukaan daun berambut pada ibu tulang daun, selebihnya gundul; ligula tegak, memanjang, ujungnya tumpul, tipis seperti selaput, permukaannya gundul, panjang 0.75-1 cm; tangkai daun berambut, panjang 2-4 mm. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa bulir berbentuk bulat telur sempit, ujungnya runcing, panjang 3.5-5 cm, lebar 1.5-1.75 cm, terletak di ujung batang (terminal) yang berdaun atau tidak; ibu tangkai bunga hampir gundul, panjangnya mencapai 25 cm; braktea banyak, berbentuk bulat telur terbalik dengan ujungnya membulat, permukaan gundul, hijau muda, panjang sekitar 2.5 cm, lebar 1-1.25 cm; kelopak berbentuk tabung, taju kelopak bunga ujungnya tumpul; mahkota bunga berwarna kuning kehijauan, panjang tabung mahkota bunga 2-2.5 cm, cuping mahkota bunga berbentuk sempit, ujungnya runcing, panjang 1.5-2.5 cm, lebar 2-3.5 mm; kepala sari berwarna ungu, panjang 9 mm; tangkai putik bercabang 2, memajang; bibir bunga (*labellum*) berbentuk membulat hingga bulat telur terbalik, panjang 12-15 mm, lebar 13 mm, warnanya ungu gelap. Buah : berupa buah buni, berbentuk bulat telur terbalik. Biji : bijinya kecil-kecil, berbentuk bulat memanjang, dan berwarna hitam ketika masak.

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Surakarta, 15 Maret 2017  
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 3. Sertifikasi hewan uji

#### "ABIMANYU FARM"

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

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

---

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Arvinda Tribudi Susetyo

Nim : 19133871 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Putih Galur Wistar

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 50 ekor

Jenis kelamin : 25 Jantan dan 25 Betina

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 6 Juli 2017

Hormat kami



Sigit Pramono  
 "ABIMANYU FARM"

#### Lampiran 4. Surat pembuatan preparat histopatologi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
LABORATORIUM HISTOLOGI

#### SURAT KETERANGAN

13/ UN27.6.6.2.1/2017

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta menerangkan bahwa mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : Arvinda Tribudi Susetyo  
Nim : 19133871A  
Fakultas : Farmasi  
Universitas : Setia Budi  
Judul Skripsi : Uji toksisitas subkronik kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan jahe (*Zingiber officinale* Rose.) terhadap fungsi ginjal tikus putih.

Telah melaksanakan kegiatan pembuatan preparat di Bagian Laboratorium Histologi FK UNS.

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 3 Mei 2017  
Kepala Bagian Histologi FK UNS



Muthmainah, dr., M.Kes.  
NIP. 19660702 199802 2 001

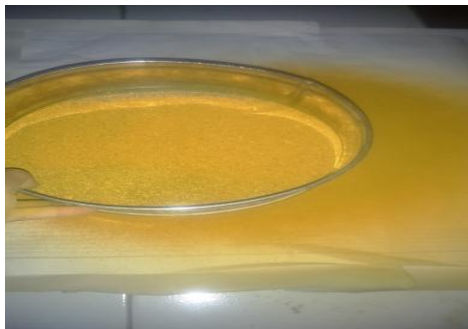
**Lampiran 5. Foto rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rosc.)**



**Rimpang kunyit**



**Rimpang jahe**



**Serbuk rimpang kunyit**



**Serbuk rimpang jahe**

**Lampiran 6. Foto pembuatan ekstrak****Proses Moisture balance****Proses sterling-Bidweel****Proses soxhletasi kunyit****Proses soxhletasi jahe****Proses evaporasi kunyit****Proses evaporasi jahe**

**Lampiran 7. Hasil ekstrak**



**Ekstrak rimpang kunyit**



**Ekstrak rimpang jahe**



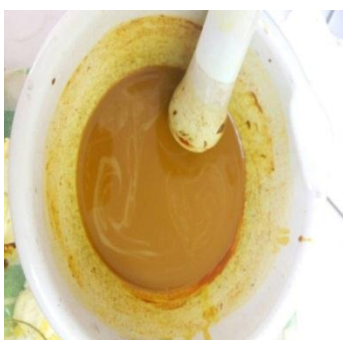
**Uji bebas etanol ekstrak**

**Kunyit**



**Uji bebas etanol ekstrak**

**jahe**








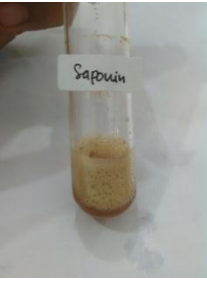


**Pembuatan larutan stok**



**Larutan stok**

**Lampiran 8. Identifikasi senyawa ekstrak rimpang kunyit dan jahe**

Senyawa	Kunyit	Jahe
<b>Flavonoid</b>		
<b>Alkaloid</b>		
<b>Tanin</b>		
<b>Saponin</b>		

**Lampiran 9. Perlakuan hewan uji**



**Kandang tikus**



**Penyondean tikus**



**Alat penimbang tikus**



**Pipa kapiler**

## Lampiran 10. Foto pemeriksaan darah



Alat sentrifuse



Spektrofotometer



Alat vortex



Mikro pipet



Reagen kreatinin



Reagen BUN



**Lampiran 11. Foto histopatologi**



**Pembedahan tikus**



**Ginjal**



**Mikrotom**



**Mikroskop**



**Preparat organ ginjal**

**Lampiran 12. Hasil rendemen kering****Hasil rendemen serbuk rimpang kunyit dan rimpang jahe****Rimpang kunyit**

Rimpang kunyit basah = 16.500 g

Rimpang kunyit kering = 2.200 g

% rendemen =  $\frac{2.200}{16.500} \times 100\% = 13,34\%$

**Rimpang jahe**

Rimpang jahe basah = 19.000 g

Rimpang jahe kering = 2.100 g

% rendemen =  $\frac{2.100}{19.000} \times 100\% = 11,05\%$

### Lampiran 13. Hasil penetapan susut pengeringan rimpang kunyit dan jahe

Bahan	Penimbangan (g)	Susut pengeringan (%)
Rimpang kunyit	2,00	6
	2,00	6,5
	2,00	6
	<b>Rata-rata± SD</b>	<b>6,16 ± 0,288</b>
Rimpang jahe	2,00	8,5
	2,00	8,5
	2,00	9
	<b>Rata-rata± SD</b>	<b>8,70 ± 0,288</b>

Perhitungan :

$$\text{Rata-rata susut pengeringan rimpang kunyit} = \frac{6\% + 6,5\% + 6\%}{3} = 6,16 \%$$

$$\text{Rata-rata susut pengeringan rimpang jahe} = \frac{8,5\% + 8,5\% + 9\%}{3} = 8,70 \%$$

**Lampiran 14. Hasil penetapan kadar air rimpang kunyit dan jahe**

Bahan	Bobot serbuk (g)	Volume air (mL)	Persen (%)
Rimpang kunyit	30	1,4	4,67
	30	1,4	4,67
	30	1,45	4,83
Rata-rata ± SD			4,72 ± 0,09
Rimpang jahe	30	1,8	6,00
	30	1,82	6,06
	30	1,85	6,16
Rata-rata ± SD			6,07 ± 0,08

**Rimpang kunyit**

Replikasi I : Jumlah serbuk = 30 g

Jumlah pelarut xilen = 50 ml

Jumlah air yang diperoleh 1,40 ml

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

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{1,40 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,67 \% \end{aligned}$$

Replikasi II : Jumlah air yang diperoleh 1,40 ml

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

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{1,40 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,67 \% \end{aligned}$$

Replikasi III : Jumlah air yang diperoleh 1,45 ml

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

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{1,45 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,83 \% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata kadar air dalam minyak} = \frac{1,40\% + 1,40\% + 1,45\%}{3} = \frac{4,25\%}{3} = 1,4\%$$

### **Rimpang jahe**

Replikasi I : Jumlah serbuk = 30 g

Jumlah pelarut xilen = 50 ml

Jumlah air yang diperoleh 1,80 ml

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

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{1,80 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,00\% \end{aligned}$$

Replikasi II : Jumlah air yang diperoleh 1,82 ml

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

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{1,82 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,06\% \end{aligned}$$

Replikasi III : Jumlah air yang diperoleh 1,85 ml

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

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{1,85 \text{ ml}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,16\% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata kadar air dalam minyak} = \frac{1,80\% + 1,82\% + 1,85\%}{3} = \frac{5,47\%}{3} = 1,8\%$$

**Lampiran 15. Hasil rendemen ekstrak rimpang kunyit dan rimpang jahe****Ekstrak rimpang kunyit**

Serbuk rimpang kunyit	= 830 g
Ekstrak rimpang kunyit	= 145,100 g
% rendemen	$= \frac{145,100 \text{ g}}{830 \text{ g}} \times 100\% = 17,48\%$

**Ekstrak rimpang jahe**

Serbuk rimpang jahe	= 790 g
Esktrak rimpang jahe	= 159,390 g
% rendemen	$= \frac{159,390 \text{ g}}{790 \text{ g}} \times 100\% = 20,17\%$

## Lampiran 16. Penentuan dosis uji

### 1. Suspensi tween 80 2%

$$\text{Konsentrasi tween 80 2\%} = 2 \text{ ml} / 100 \text{ ml}$$

Tween 80 dipipet sebanyak 2 ml kemudian disuspensikan dengan aquadest panas pada 100 ml, diaduk sampai homogen. Suspensi tween 80 digunakan sebagai kontrol negatif dan *suspending agent*.

### 2. Laruran stok ekstrak rimpang kunyit dan jahe

Larutan stok kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan jahe dibuat dalam konsentrasi 4% dan 7%. Ekstrak kental yang ditimbang sebesar 2 g kunyit dan 2 g jahe untuk konsentrasi 4%, 3,5 g kunyit dan 3,5 g jahe untuk konsentrasi 7%. Masing-masing ekstrak yang telah ditimbang disuspensikan pada 2 ml tween 80 kemudian ditambah 100 ml aquadest sampai homogen.

- Kadar larutan stok 4%
  - = 4 gram / 100 ml
  - = 4000 mg / 100 ml
  - = 40 mg / ml

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 400 \text{ mg} / \text{kgBB} \\ &= 80 \text{ mg} / 200 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberian untuk dosis rendah} &= \frac{80 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Kadar larutan stok 7 %
  - = 7 gram / 100 ml
  - = 7000 mg / 100 ml
  - = 70 mg / ml

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 700 \text{ mg} / \text{kgBB} \\ &= 140 \text{ mg} / 200 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberian untuk dosis sedang} &= \frac{140 \text{ mg}}{70 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Kadar larutan stok 7 %
  - = 7 gram / 100 ml
  - = 7000 mg / 100 ml
  - = 70 mg / ml

$$\text{Dosis} = 1000 \text{ mg} / \text{kgBB}$$

$$= 200 \text{ mg} / 200 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga volume pemberian untuk dosis tinggi} &= \frac{200 \text{ mg}}{70 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2,85 \text{ ml} \end{aligned}$$



**Data volume pemberian sediaan ekstrak rimpang kunyit dan jahe pada tikus betina.**

Kelompok Betina	T0 (g)	Vol. (mL)	T7 (g)	Vol. (mL)	T14 (g)	Vol. (mL)	T21 (g)	Vol. (mL)
Dosis 1	160	1,6	165	1,7	170	1,7	170	1,7
	155	1,5	160	1,6	165	1,7	175	1,8
	155	1,5	160	1,6	165	1,7	180	1,8
	165	1,7	170	1,7	175	1,8	185	1,9
	160	1,6	165	1,7	170	1,7	175	1,8
Dosis2	165	1,7	170	1,7	175	1,8	180	1,8
	160	1,7	165	1,7	170	1,7	175	1,8
	150	1,5	160	1,6	165	1,7	170	1,7
	165	1,7	170	1,7	175	1,8	180	1,8
	155	1,6	160	1,6	165	1,7	170	1,7
Dosis 3	150	2,1	155	2,2	160	2,3	165	2,4
	155	2,2	160	2,3	165	2,4	170	2,4
	155	2,2	160	2,3	170	2,4	175	2,5
	160	2,3	165	2,4	170	2,4	175	2,5
	150	2,1	155	2,2	160	2,3	165	2,4
Satelit	165	2,4	170	2,4	175	2,5	180	2,5
	160	2,3	165	2,4	170	2,4	175	2,5
	165	2,4	170	2,4	175	2,5	170	2,4
	155	2,2	160	2,3	165	2,4	175	2,5
	155	2,2	165	2,4	170	2,4	185	2,6

**Keterangan.**

Dosis 1 = Kelompok dosis 400 mg kombinasi ekstrak kunyit dan jahe (50:50).

Dosis 2 = Kelompok dosis 700 mg kombinasi ekstrak kunyit dan jahe (50:50).

Dosis 3 = Kelompok dosis 1000 mg kombinasi ekstrak kunyit dan jahe (50:50).

Satelit = Kelompok dosis 1000 mg kombinasi ekstrak kunyit dan jahe (50:50).

T0 = Berat badan tikus minggu pertama

T7 = Berat badan tikus minggu kedua

T14 = Berat badan tikus minggu ketiga

T21 = Berat badan tikus minggu keempat

Vol. = Volume pemberian

**Data volume pemberian sediaan ekstrak rimpang kunyit dan jahe pada tikus jantan.**

Kelompok Jantan	BB t0 (g)	Volume (mL)	BB t7 (g)	Volume (mL)	BB t14 (g)	Volume (mL)	BB t21 (g)	Volume (mL)
Dosis 1	170	1,7	175	1,8	180	1,8	185	1,9
	165	1,7	170	1,7	175	1,8	180	1,8
	170	1,7	175	1,8	180	1,8	175	1,8
	160	1,6	165	1,7	170	1,7	180	1,8
	165	1,7	170	1,7	175	1,8	195	2,0
Dosis 2	170	1,7	175	1,8	180	1,8	185	1,9
	165	1,7	170	1,7	175	1,8	180	1,8
	155	1,5	165	1,7	170	1,7	175	1,8
	170	1,7	175	1,8	180	1,8	185	1,9
	160	1,6	165	1,7	170	1,7	175	1,8
Dosis 3	155	2,2	160	2,3	165	2,4	170	2,4
	160	2,3	165	2,4	170	2,4	175	2,5
	160	2,3	165	2,4	175	2,5	180	2,5
	165	2,4	170	2,4	175	2,5	180	2,5
	155	2,2	160	2,3	165	2,4	170	2,4
Satelit	165	2,4	170	2,4	175	2,5	175	2,5
	160	2,3	165	2,4	165	2,4	175	2,5
	160	2,3	165	2,4	175	2,5	180	2,5
	170	2,4	175	2,5	180	2,5	185	2,6
	165	2,4	170	2,4	175	2,5	180	2,5

**Keterangan.**

Dosis 1 = Kelompok dosis 400 mg kombinasi ekstrak kunyit dan jahe (50:50).

Dosis 2 = Kelompok dosis 700 mg kombinasi ekstrak kunyit dan jahe (50:50).

Dosis 3 = Kelompok dosis 1000 mg kombinasi ekstrak kunyit dan jahe (50:50).

Satelit = Kelompok dosis 1000 mg kombinasi ekstrak kunyit dan jahe (50:50).

T0 = Berat badan tikus minggu pertama

T7 = Berat badan tikus minggu kedua

T14 = Berat badan tikus minggu ketiga

T21 = Berat badan tikus minggu keempat

Vol. = Volume pemberian

**Lampiran 17. Penimbangan berat badan tikus**

**DATA BERAT BADAN TIKUS BETINA**

Perlakuan	Tikus	MINGGU KE (g)						
		0	1	2	3	4	5	6
Kontrol Negatif	1	150	155	165	175	185		
	2	155	160	170	170	180		
	3	160	165	175	180	185		
	4	155	160	165	175	185		
	5	155	165	175	180	190		
	Rata-rata		155	161	170	176	185	
Dosis 1	1	160	165	170	170	175		
	2	155	160	165	175	180		
	3	155	160	165	180	185		
	4	165	170	175	185	195		
	5	160	165	170	175	180		
	Rata-rata		159	164	169	177	183	
Dosis 2	1	165	170	175	180	185		
	2	160	165	170	175	180		
	3	150	160	165	170	175		
	4	165	170	175	180	185		
	5	155	160	165	170	175		
	Rata-rata		159	165	170	175	180	
Dosis 3	1	150	155	160	165	170		
	2	155	160	165	170	175		
	3	155	160	170	175	180		
	4	160	165	170	175	185		
	5	150	155	160	165	175		
	Rata-rata		154	159	165	170	177	
Satelit	1	165	170	175	180	190	190	195
	2	160	165	170	175	180	185	190
	3	165	170	175	170	175	180	185
	4	155	160	165	175	185	185	185
	5	155	165	170	185	190	190	200
	Rata-rata		160	166	171	177	184	186

### DATA BERAT BADAN TIKUS JANTAN

Perlakuan	Tikus	MINGGU KE (g)						
		0	1	2	3	4	5	6
Kontrol Negatif	1	155	160	170	180	190		
	2	160	165	175	175	185		
	3	165	170	180	185	190		
	4	160	165	170	180	190		
	5	160	170	180	185	195		
Rata-rata		160	166	175	181	190		
Dosis 1	1	170	175	180	185	195		
	2	165	170	175	180	185		
	3	170	175	180	175	180		
	4	160	165	170	180	190		
	5	165	170	175	195	200		
Rata-rata		166	171	176	183	190		
Dosis 2	1	170	175	180	185	190		
	2	165	170	175	180	185		
	3	155	165	170	175	180		
	4	170	175	180	185	190		
	5	160	165	170	175	180		
Rata-rata		164	170	175	180	185		
Dosis 3	1	155	160	165	170	170		
	2	160	165	170	175	180		
	3	160	165	175	180	185		
	4	165	170	175	180	190		
	5	155	160	165	170	180		
Rata-rata		159	164	170	175	181		
Satelit	1	165	170	175	175	185	190	190
	2	160	165	165	175	180	185	190
	3	160	165	175	180	190	190	195
	4	170	175	180	185	190	195	200
	5	165	170	175	180	195	200	205
Rata-rata		164	169	174	179	188	192	196

**Lampiran 18. Kadar BUN**

<b>DATA BUN BETINA</b>			
Perlakuan	Tikus	Kadar BUN (mg/dL)	
		T0	T1
Kontrol Negatif	1	15	17
	2	14	13
	3	16	15
	4	15	16
	5	13	14
Rata-rata		14,60	15,00
Dosis 1	1	15	17
	2	16	14
	3	14	15
	4	14	17
	5	16	14
Rata-rata		15,00	15,40
Dosis 2	1	16	14
	2	17	15
	3	16	17
	4	14	15
	5	15	18
Rata-rata		15,60	15,80
Dosis 3	1	16	17
	2	19	21
	3	18	18
	4	16	18
	5	15	17
Rata-rata		16,80	18,20
Satelit	1	15	16
	2	16	17
	3	17	18
	4	16	15
	5	16	17
Rata-rata		16,00	16,60

**DATA BUN JANTAN**

Perlakuan	Tikus	Kadar BUN (mg/dL)	
		T0	T1
Kontrol Negatif	1	15	14
	2	16	17
	3	14	15
	4	14	15
	5	18	17
Rata-rata		15,40	15,60
Dosis 1	1	15	17
	2	16	15
	3	14	15
	4	15	16
	5	18	17
Rata-rata		14,60	16,60
Dosis 2	1	17	18
	2	15	16
	3	17	15
	4	15	16
	5	16	17
Rata-rata		16,00	16,40
Dosis 3	1	19	15
	2	16	20
	3	15	17
	4	17	16
	5	17	18
Rata-rata		16,80	17,20
Satelit	1	15	17
	2	16	18
	3	17	19
	4	17	16
	5	18	15
Rata-rata		16,60	17,00

### Lampiran 19. Kadar kreatinin

<b>DATA KREATININ BETINA</b>			
Perlakuan	Tikus	Kadar Kreatinin (mg/dL)	
		T0	T1
Kontrol Negatif	1	0,6	0,7
	2	0,5	0,5
	3	0,5	0,6
	4	0,4	0,4
	5	0,6	0,6
Rata-rata		0,52	0,56
Dosis 1	1	0,6	0,6
	2	0,5	0,6
	3	0,7	0,7
	4	0,5	0,5
	5	0,4	0,5
Rata-rata		0,54	0,58
Dosis 2	1	0,9	0,6
	2	0,4	0,5
	3	0,4	0,8
	4	0,6	0,6
	5	0,7	0,6
Rata-rata		0,60	0,62
Dosis 3	1	0,6	0,5
	2	0,5	0,7
	3	0,6	0,6
	4	0,7	0,8
	5	0,8	0,6
Rata-rata		0,64	0,64
Satelit	1	0,4	0,7
	2	0,6	0,5
	3	0,5	0,4
	4	0,8	0,7
	5	0,7	0,8
Rata-rata		0,60	0,62

**DATA KREATININ JANTAN**

Perlakuan	Tikus	Kadar Kreatinin (mg/dL)	
		T0	T1
Kontrol Negatif	1	0,4	0,4
	2	0,5	0,5
	3	0,5	0,6
	4	0,4	0,3
	5	0,3	0,4
Rata-rata		0,42	0,44
Dosis 1	1	0,7	0,6
	2	0,5	0,4
	3	0,4	0,5
	4	0,3	0,4
	5	0,4	0,5
Rata-rata		0,46	0,48
Dosis 2	1	0,5	0,6
	2	0,4	0,5
	3	0,7	0,8
	4	0,3	0,4
	5	0,6	0,5
Rata-rata		0,50	0,56
Dosis 3	1	0,6	0,7
	2	0,5	0,5
	3	0,4	0,8
	4	0,6	0,7
	5	0,8	0,5
Rata-rata		0,58	0,64
Satelit	1	0,4	0,7
	2	0,6	0,5
	3	0,3	0,4
	4	0,7	0,7
	5	0,5	0,6
Rata-rata		0,50	0,58



## Lampiran 20. Hasil uji statistik

### HASIL STATISTIK BB BETINA

#### Tests of Normality

kelompok_BB_jantan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.	
t0	kontrol negative	.300	5	.161	.883	5	.325
	dosis 400mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 700mg	.221	5	.200*	.902	5	.421
	dosis 1000mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	Satelit	.241	5	.200*	.821	5	.119
t7	kontrol negative	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 400mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 700mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 1000mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	Satelit	.231	5	.200*	.881	5	.314
t14	kontrol negative	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 400mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 700mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 1000mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	Satelit	.231	5	.200*	.881	5	.314
t21	kontrol negative	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 400mg	.237	5	.200*	.961	5	.814
	dosis 700mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 1000mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	Satelit	.237	5	.200*	.961	5	.814
t28	kontrol negative	.300	5	.161	.883	5	.325
	dosis 400mg	.254	5	.200*	.914	5	.492
	dosis 700mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 1000mg	.237	5	.200*	.961	5	.814
	Satelit	.221	5	.200*	.902	5	.421

a. Lilliefors Significance Correction

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

#### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
t0	1.137	4	20	.368
t7	.134	4	20	.968
t14	.197	4	20	.937
t21	.192	4	20	.940
t28	1.029	4	20	.416

## ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
t0	Between Groups	146.000	4	36.500	1.587	.217
	Within Groups	460.000	20	23.000		
	Total	606.000	24			
t7	Between Groups	170.000	4	42.500	2.237	.101
	Within Groups	380.000	20	19.000		
	Total	550.000	24			
t14	Between Groups	110.000	4	27.500	1.250	.322
	Within Groups	440.000	20	22.000		
	Total	550.000	24			
t21	Between Groups	170.000	4	42.500	1.604	.212
	Within Groups	530.000	20	26.500		
	Total	700.000	24			
t28	Between Groups	214.000	4	53.500	1.574	.220
	Within Groups	680.000	20	34.000		
	Total	894.000	24			

## HASIL STTISTIK BB JANTAN

### Tests of Normality

KelompokBBjantan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.	
t0	kontrol negative	.300	5	.161	.883	5	.325
	dosis 400mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 700mg	.221	5	.200*	.902	5	.421
	dosis 1000mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	Satelit	.231	5	.200*	.881	5	.314
t7	kontrol negative	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 400mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 700mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 1000mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	Satelit	.231	5	.200*	.881	5	.314
t14	kontrol negative	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 400mg	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 700mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 1000mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	Satelit	.372	5	.022	.828	5	.135
t21	kontrol negative	.231	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 400mg	.254	5	.200*	.914	5	.492
	dosis 700mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 1000mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	Satelit	.231	5	.200*	.881	5	.314
t28	kontrol negative	.300	5	.161	.883	5	.325
	dosis 400mg	.136	5	.200*	.987	5	.967
	dosis 700mg	.241	5	.200*	.821	5	.119
	dosis 1000mg	.246	5	.200*	.956	5	.777
	Satelit	.237	5	.200*	.961	5	.814

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
t0	1.096	4	20	.386
t7	.134	4	20	.968
t14	.096	4	20	.983
t21	.637	4	20	.642
t28	.955	4	20	.454

## ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
t0	Between Groups	176.000	4	44.000	2.047	.126
	Within Groups	430.000	20	21.500		
	Total	606.000	24			
t7	Between Groups	170.000	4	42.500	2.237	.101
	Within Groups	380.000	20	19.000		
	Total	550.000	24			
t14	Between Groups	110.000	4	27.500	1.122	.374
	Within Groups	490.000	20	24.500		
	Total	600.000	24			
t21	Between Groups	176.000	4	44.000	1.544	.228
	Within Groups	570.000	20	28.500		
	Total	746.000	24			
t28	Between Groups	294.000	4	73.500	1.960	.140
	Within Groups	750.000	20	37.500		
	Total	1044.000	24			

## HASIL KREATININ BETINA

## Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
kadar_kreatinin_betina kontrol negative	.237	5	.200 <sup>*</sup>	.961	5	.814
dosis 1	.231	5	.200 <sup>*</sup>	.881	5	.314
dosis 2	.372	5	.022	.828	5	.135
dosis 3	.237	5	.200 <sup>*</sup>	.961	5	.814
Satelit	.221	5	.200 <sup>*</sup>	.902	5	.421

a. Lilliefors Significance Correction

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

## Test of Homogeneity of Variances

kadar\_kreatinin\_betina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.347	4	20	.843

## ANOVA

kadar\_kreatinin\_betina

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.022	4	.005	.435	.781
Within Groups	.248	20	.012		
Total	.270	24			

## Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar_awal - kadar_akhir	-.02400	.14799	.02960	-.08509	.03709	-.811	24	.425

## HASIL KREATININ JANTAN

## Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
kadar_kreatinin_betina kontrol negative	.237	5	.200 <sup>*</sup>	.961	5	.814
dosis 1	.231	5	.200 <sup>*</sup>	.881	5	.314
dosis 2	.372	5	.022	.828	5	.135
dosis 3	.237	5	.200 <sup>*</sup>	.961	5	.814
Satelit	.221	5	.200 <sup>*</sup>	.902	5	.421

a. Lilliefors Significance Correction

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

## Test of Homogeneity of Variances

kadar\_kreatinin\_jantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.568	4	20	.689

## ANOVA

kadar\_kreatinin\_jantan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.128	4	.032	2.051	.126
Within Groups	.312	20	.016		
Total	.440	24			

### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar_awal - kadar_ahir	-.04800	.13880	.02776	-.10530	.00930	-1.729	24	.097

### HASIL KADAR BUN BETINA

#### Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
kadar_BUN_betina kontrol negatif	.136	5	.200 <sup>*</sup>	.987	5	.967
dosis 1	.254	5	.200 <sup>*</sup>	.803	5	.086
dosis 2	.287	5	.200 <sup>*</sup>	.914	5	.490
dosis 3	.348	5	.047	.779	5	.054
Satelit	.237	5	.200 <sup>*</sup>	.961	5	.814

a. Lilliefors Significance Correction

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

#### Test of Homogeneity of Variances

kadar\_BUN\_betina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.302	4	20	.873

#### ANOVA

kadar\_BUN\_betina

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32.000	4	8.000	3.478	.026
Within Groups	46.000	20	2.300		
Total	78.000	24			

### Multiple Comparisons

kadar\_BUN\_betina  
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	dosis 1	-.40000	.95917	.993	-3.2702	2.4702
	dosis 2	-.80000	.95917	.917	-3.6702	2.0702
	dosis 3	-3.20000	.95917	.024	-6.0702	-.3298
	Satelit	-1.60000	.95917	.474	-4.4702	1.2702
dosis 1	kontrol negative	.40000	.95917	.993	-2.4702	3.2702
	dosis 2	-.40000	.95917	.993	-3.2702	2.4702
	dosis 3	-2.80000	.95917	.058	-5.6702	.0702
	Satelit	-1.20000	.95917	.723	-4.0702	1.6702
dosis 2	kontrol negative	.80000	.95917	.917	-2.0702	3.6702
	dosis 1	.40000	.95917	.993	-2.4702	3.2702
	dosis 3	-2.40000	.95917	.130	-5.2702	.4702
	Satelit	-.80000	.95917	.917	-3.6702	2.0702
dosis 3	kontrol negative	3.20000	.95917	.024	.3298	6.0702
	dosis 1	2.80000	.95917	.058	-.0702	5.6702
	dosis 2	2.40000	.95917	.130	-.4702	5.2702
	Satelit	1.60000	.95917	.474	-1.2702	4.4702
satelit	kontrol negative	1.60000	.95917	.474	-1.2702	4.4702
	dosis 1	1.20000	.95917	.723	-1.6702	4.0702
	dosis 2	.80000	.95917	.917	-2.0702	3.6702
	dosis 3	-1.60000	.95917	.474	-4.4702	1.2702

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### kadar\_BUN\_betina

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol negative	5	15.0000	
dosis 1	5	15.4000	15.4000
dosis 2	5	15.8000	15.8000
satelit	5	16.6000	16.6000
dosis 3	5		18.2000
Sig.		.474	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar1 - kadar2	-.60000	1.55456	.31091	-1.24169	.04169	-1.930	24	.066

## HASIL KADAR BUN JANTAN

### Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
kadar_BUN_jantan						
Kontrol	.273	5	.200*	.852	5	.201
dosis 1	.241	5	.200*	.821	5	.119
dosis 2	.237	5	.200*	.961	5	.814
dosis 3	.141	5	.200*	.979	5	.928
Satelit	.136	5	.200*	.987	5	.967

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Test of Homogeneity of Variances

kadar\_BUN\_jantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.641	4	20	.640

### ANOVA

kadar\_BUN\_jantan

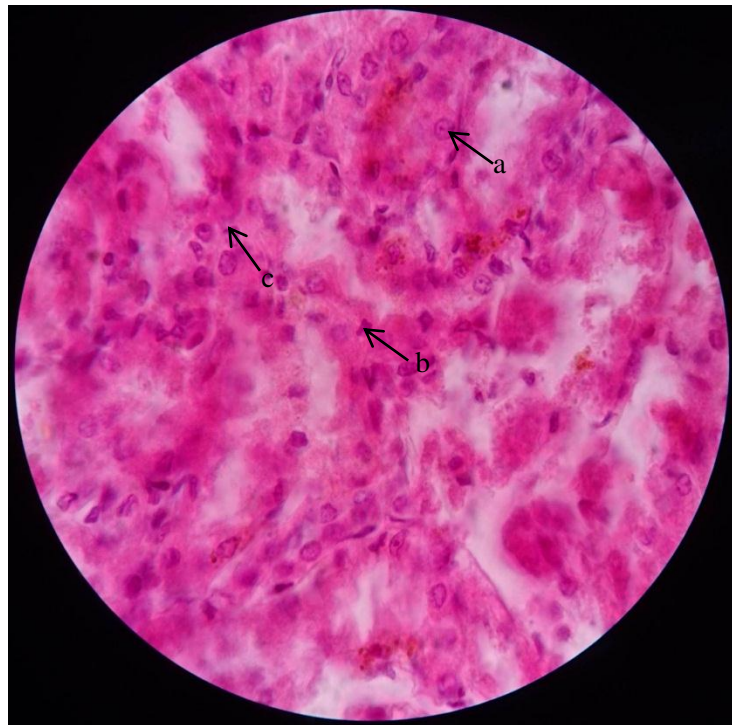
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.960	4	2.240	1.087	.389
Within Groups	41.200	20	2.060		
Total	50.160	24			

### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar_awal - kadar_ahir	-.36000	1.80000	.36000	-1.10300	.38300	-1.000	24	.327



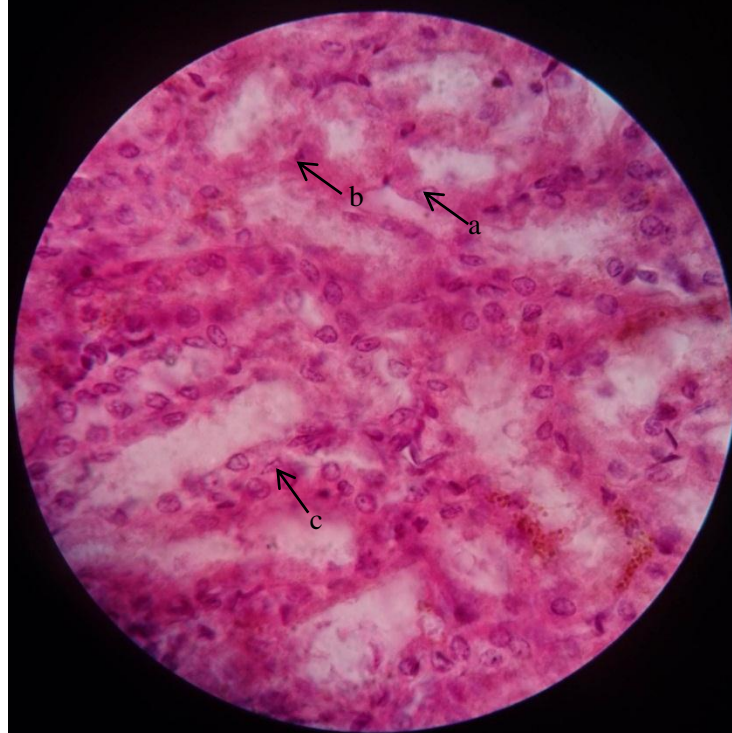
### Lampiran 21. Lampiran histopatologi



Keterangan  
Kontrol negatif jantan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

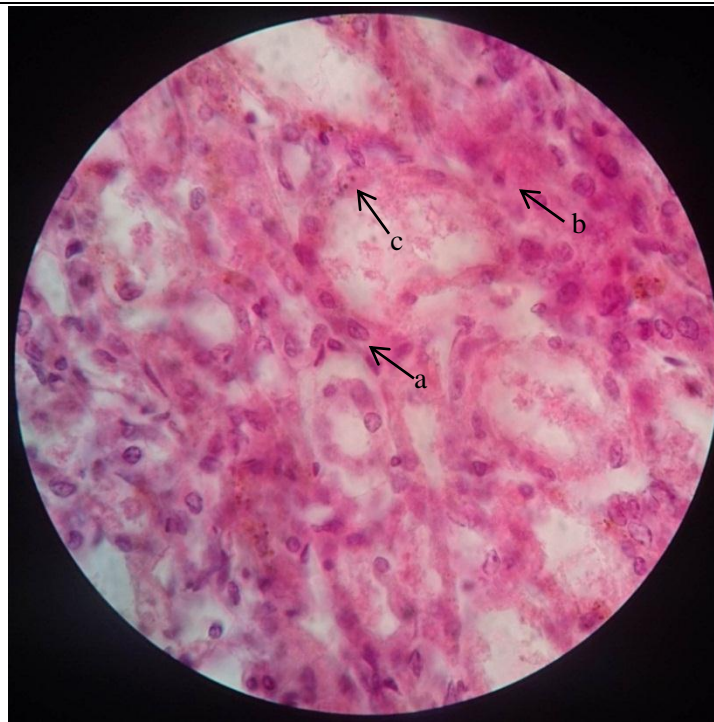
Perbesaran 1000 kali



Keterangan  
Kontrol negatif betina

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

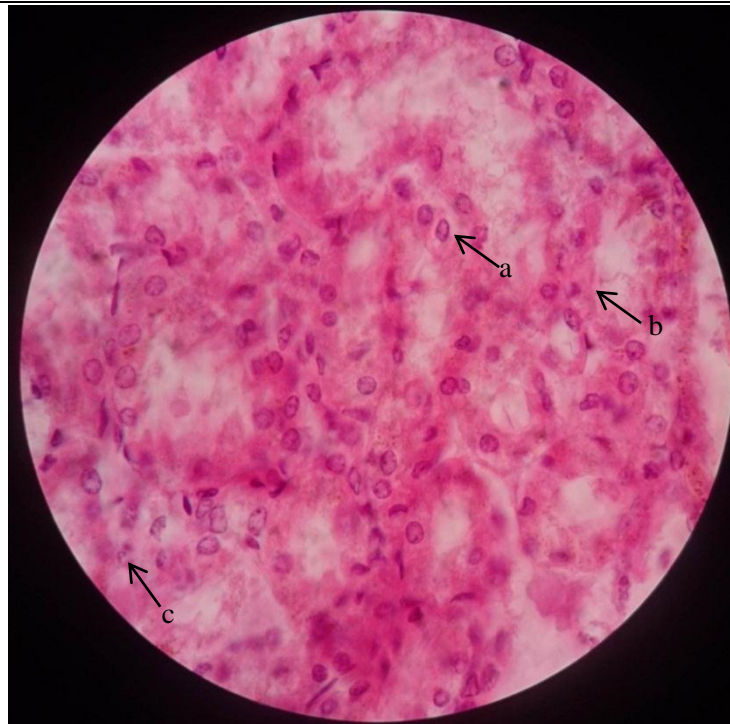
Perbesaran 1000 kali



Keterangan  
Perlakuan dosis 1  
jantan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

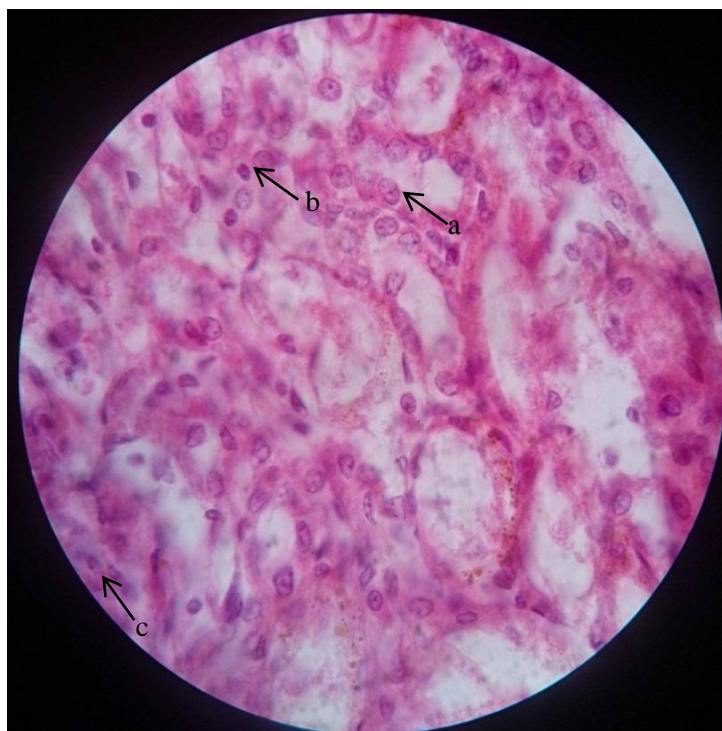
Perbesaran 1000 kali



Keterangan  
Perlakuan dosis 1  
betina

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

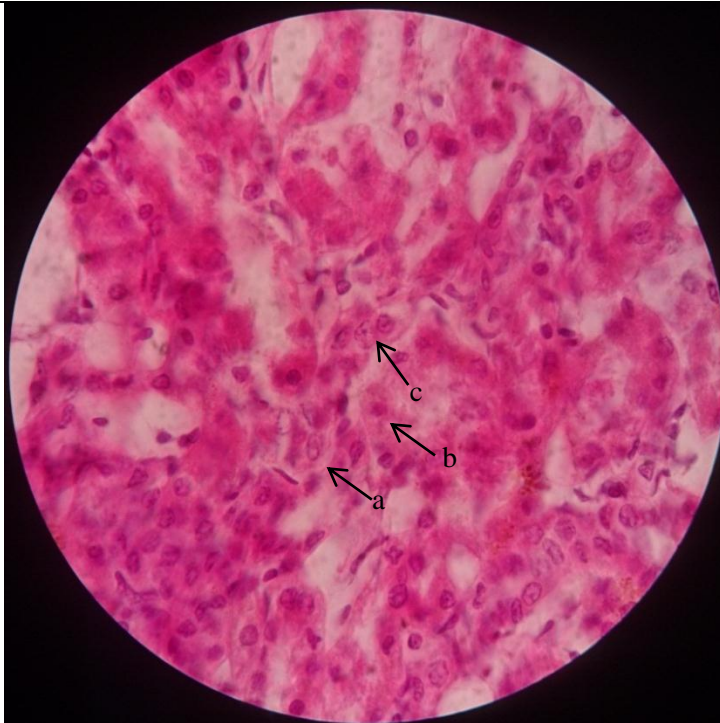
Perbesaran 1000 kali



Keterangan  
Perlakuan dosis 2  
jantan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

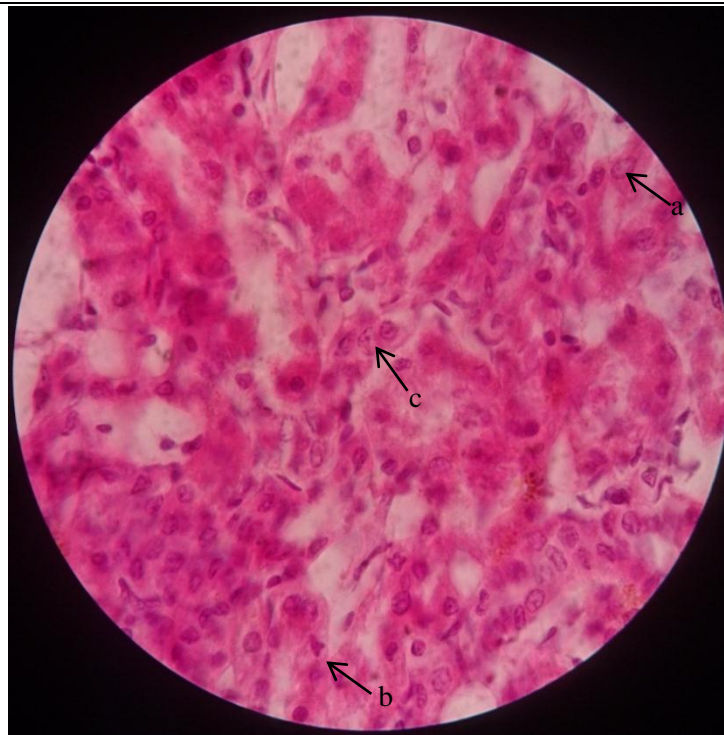
Perbesaran 1000 kali



Keterangan  
Perlakuan dosis 2  
betina

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

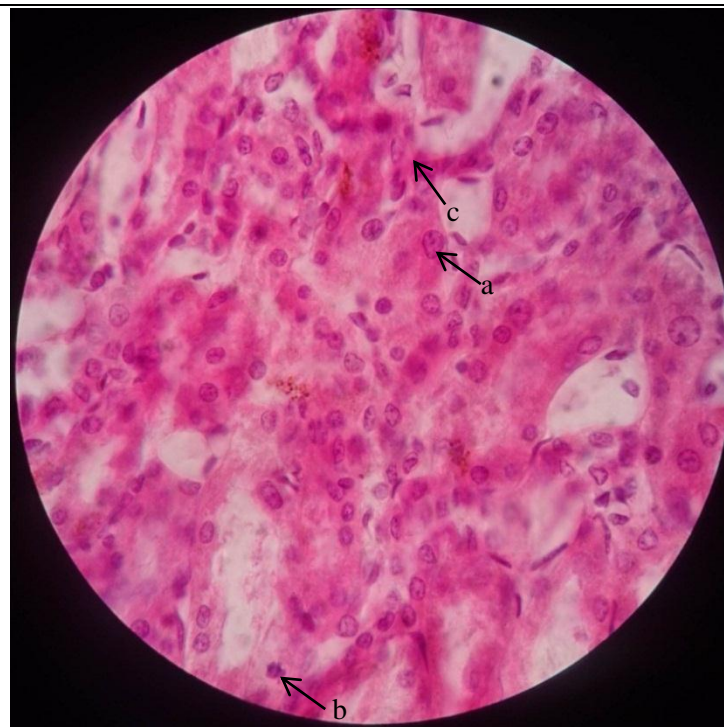
Perbesaran 1000 kali



Keterangan  
Perlakuan dosis 3  
jantan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

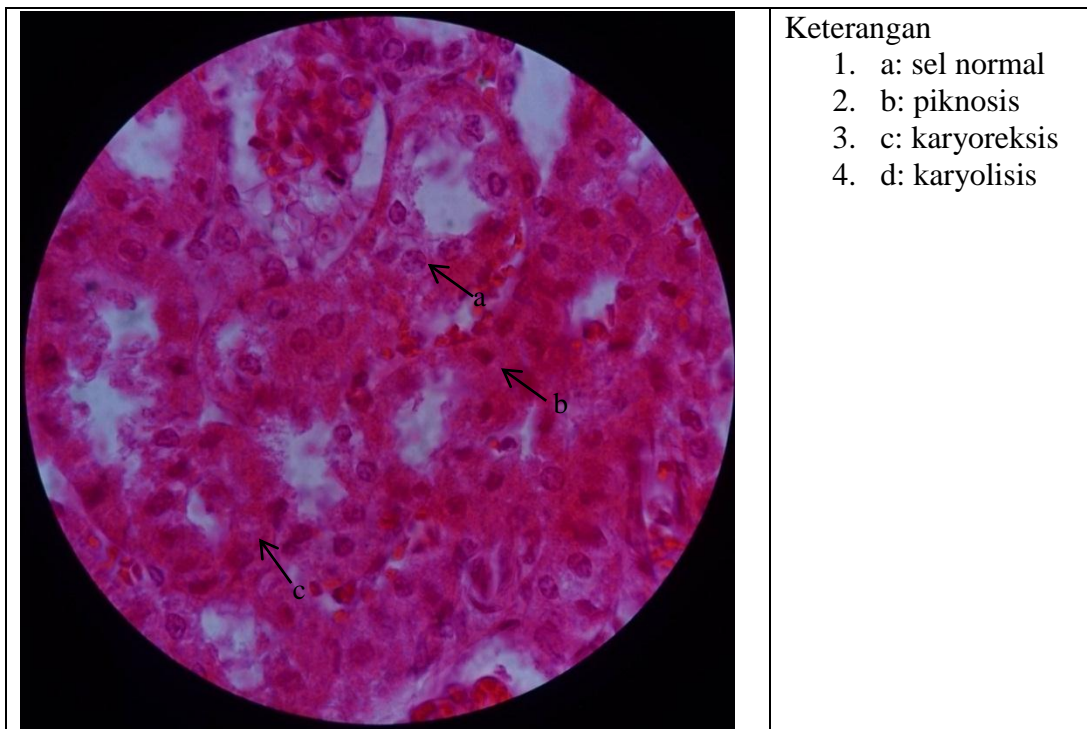
Perbesaran 1000 kali



Keterangan  
Perlakuan dosis 3  
betina

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Perbesaran 1000 kali



Satelit

Perbesaran 1000 kali

