

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI
ASAM VALPROAT**



oleh :

**Mufaricha Nur'ariroh
19133953A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI
ASAM VALPROAT**



Oleh :

**Mufaricha Nur'ariroh
19133953A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI
ASAM VALPROAT**

Oleh :
Mufaricha Nur'ariroh
19133953A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 10 Agustus 2017

Mengetahui ,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Dr. Jason Merari P., M.M., M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt
2. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
3. Drs. Mardiyono, M.Si
4. Dr. Jason Merari P., M.M.,M.Si., Apt

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Ya Allah, aku memohon kepada-Mu ilmu yang bermanfaat, rezki yang baik, dan amalan yang diterima.”
(HR. Ahmad dan Ibnu Majah)

“Barang siapa menempuh jalan untuk mencari ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan ke surga.”
(H.R Muslim)

“Barang siapa bertakwa kepada Allah maka akan dijadikan baginya jalan keluar dari segala kesusahan dan diberinya rezeki dari jalan yang tidak disangka-sangka”
(Q.S. Ath-Thalaq : 2-3)

“Alloh tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya, ia mendapat pahala dari kebajikan yang diusahakannya, dan ia mendapat siksa dari kejahatan yang dikerjakannya”
(Q.S. Al-Baqoroh : 286)

“Hidup hanya sekali, Manfaatkan sehatmu sebelum datang sakitmu, manfaatkan masa mudamu sebelum datang uzurmu, manfaatkan waktu sebaik-baiknya sebelum ajal menjemputmu”

“Ilmu tanpa agama lumpuh. Agama tanpa ilmu buta”
(Albert Einstein)

Kupersembahkan hasil karyaku ini kepada:
Allah SWT

Kedua orang tuaku dan adik-adikku, terima kasih atas semangat dan doa yang selalu di berikan kepadaku

Sedulur-sedulurku (Marwin, Wahyu, Alfin, Faiz, Yanda, Yeni, Zahrina) yang selalu ada terimakasih bantuan, do'a dan kenangannya

Untuk para penghuni kost fortuna, dan untuk semuanya terimakasih banyak dukungan dan bantuannya Semoga Allah selalu memberikan petunjuk maupun kemudahan bagi kita.

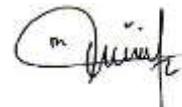
Aamiin

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 ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Agustus 2017



Mufaricha Nur'ariroh

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI ASAM VALPROAT”**.

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk dapat menyelesaikan Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Skripsi ini dapat terselesaikan berkat bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A Oetari, SU.,MM.,M.Sc, Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dwi Ningsih, M.Farm.,Apt., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Dr. Jason Merari P., M.M., M.Si., Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Ika Purwidyaningrum.,M.Sc.,Apt selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Ibu dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritik untuk perbaikan skripsi.
7. Bapak Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Skripsi ini masih banyak kekurangan, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang

membangun demi kelengkapan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca serta untuk perkembangan ilmu kesehatan.

Surakarta, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Sirsak	4
1. Sistematika tanaman.....	4
2. Nama Lain	4
3. Kegunaan Tanaman	4
4. Morfologi.....	5
5. Kandungan Kimia.....	5
5.1 Flavonoid.....	5
5.2 Alkaloid.....	6
5.3 Tanin.....	6
5.4 Saponin.....	6
B. Simplisia	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pengeringan	7
3. Penyerbukan	8
C. Metode Penyarian.....	8
1. Pengertian ekstraksi.....	8

2.	Maserasi.....	8
3.	Cairan penyari	9
D.	Autis	9
1.	Definisi autis.....	9
2.	Ciri-ciri penderita autis.....	10
3.	Penyebab autis	10
4.	Faktor penyebab gangguan makan pada anak autis	11
4.1	Gangguan pencernaan protein gluten dan kasein.....	11
4.2	Alergi dan intoleransi makanan.....	12
E.	Asam Valproat.....	13
F.	Antioksidan.....	13
1.	Penggolongan antioksidan.....	14
1.1.	Antioksidan primer.....	14
1.2.	Antioksidan sekunder	14
1.3.	Antioksidan tersier	14
2.	Jenis-jenis antioksidan.....	14
2.1.	Antioksidan endogen.....	14
2.2.	Antioksidan eksogen	15
3.	Radikal bebas	15
G.	Hewan Percobaan	16
1.	Sistematika hewan percobaan	16
2.	Karakteristik	16
3.	Jenis kelamin	17
H.	Metode Perlakuan	17
1.	Murple burying.....	17
2.	Self-groomingg dan digging.....	17
3.	Pengamatan Intelegensia (Labirin Y).....	18
I.	Landasan Teori	18
J.	Hipotesis	21
BAB III	METODE PENELITIAN	22
A.	Populasi dan sampel	22
1.	Populasi	22
2.	Sampel	22
B.	Variabel Penelitian	22
1.	Identifikasi variabel utama	22
2.	Klasifikasi variabel utama	22
3.	Definisi operasional variabel utama	23
C.	Bahan, Alat dan Hewan Uji.....	23
1.	Bahan.....	23
2.	Alat	24
3.	Hewan Uji.....	24
D.	Jalannya Penelitian	24
1.	Determinasi daun sirsak	24
2.	Pengambilan sampel.....	25
3.	Pembuatan serbuk daun sirsak	25

4.	Kadar lembab serbuk daun sirsak.....	25
5.	Pembuatan ekstrak etanol daun sirsak.....	25
6.	Identifikasi senyawa kandungan kimia	26
6.1.	Identifikasi senyawa kimia berdasarkan reaksi warna	26
7.	Penentuan Dosis	26
7.1.	Dosis asam valproat.....	26
7.2.	Dosis ekstrak etanol daun sirsak	27
8.	Pembuatan Larutan Uji.....	27
8.1.	Larutan suspensi CMC Na 0,5%	27
8.2.	Larutan asam valproat	27
9.	Perlakuan hewan uji	27
10.	Pengamatan hewan uji.....	28
10.1	<i>Murble burying</i>	28
10.2	<i>Self-grooming</i> dan <i>Digging</i>	28
10.3	Pengamatan Intelegensia (Labirin Y).....	28
E.	Analisis Statistik.....	29
F.	Skema Penelitian	30
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		31
A.	Hasil Penelitian.....	31
1.	Hasil determinasi tanaman	31
2.	Hasil pengambilan bahan	31
3.	Hasil pembuatan serbuk tanaman.....	32
4.	Penetapan kadar kelembapan serbuk tanaman	32
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirsak.....	33
6.	Identifikasi senyawa daun sirsak dengan metode reaksi kimia.....	33
B.	Hasil Uji Autis.....	34
1.	Hasil uji <i>murble burying</i>	34
2.	Uji <i>digging</i> dan <i>grooming</i>	36
3.	Hasil uji <i>Y-Maze</i>	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		41
A.	Kesimpulan.....	41
B.	Saran	41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMPIRAN.....		48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Aktifitas grooming	18
Gambar 2. Skema prosedur pengujian	30
Gambar 3. <i>Murble burying</i>	36
Gambar 4. Grooming and Digging	38
Gambar 5. Y.Maze	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah.....	31
Tabel 2. Hasil rendemen serbuk daun sirsak	32
Tabel 3. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun sirsak.....	32
Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirsak	33
Tabel 5. Hasil Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak.....	33
Tabel 6. Rata-rata jumlah kelereng yang dikubur masing-masing kelompok perlakuan	35
Tabel 7. Rata-rata jumlah kelereng yang dikubur masing-masing kelompok perlakuan	36
Tabel 8. Rata-rata hasil persen ketetapan Y-Maze	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi	49
Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji	50
Lampiran 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah.....	51
Lampiran 4. Hasil rendemen serbuk daun sirsak	51
Lampiran 5. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun sirsak	51
Lampiran 6. Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirsak	52
Lampiran 7. Identifikasi senyawa daun sirsak dengan metode reaksi kimia	53
Lampiran 8. Alat dan bahan	54
Lampiran 9. Foto hasil orientasi dosis asam valproat	55
Lampiran 10. Perhitungan dosis.....	56
Lampiran 11. Hasil (<i>Repetitive Behavior</i>) <i>Murble Burying</i> umur 23, 25, 27	57
Lampiran 12. Hasil (<i>Repetitive Behavior</i>) <i>Grooming & Digging</i> umur 24, 26, 28	58
Lampiran 13. Hasil pengamatan intelegensia <i>Y-Maze</i> umur 35	59
Lampiran 14. Hasil pengamatan intelegensia <i>Y-Maze</i> umur 36	60
Lampiran 15. Hasil pengamatan intelegensia <i>Y-Maze</i> umur 37	61
Lampiran 16. Berat badan Mencit.....	62
Lampiran 17. Hasil uji statistik one way anova <i>murble burying</i> umur 23.....	63
Lampiran 18. Hasil uji statistik one way anova <i>murble burying</i> umur 25.....	65
Lampiran 19. Hasil uji statistik one way anova <i>murble burying</i> umur 27	67
Lampiran 20. Hasil uji statistik one way anova <i>grooming & digging</i> umur 24...	69
Lampiran 21. Hasil uji statistik one way anova <i>grooming & digging</i> umur 26.	71

Lampiran 22. Hasil uji statistik one way anova <i>grooming & digging</i> umur 28.	73
Lampiran 23. Hasil uji statistik one way anova	75

INTISARI

NUR'ARIROH, M., 2017, PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI ASAM VALPROAT, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA

Autisme merupakan sebuah sindrom yang disebabkan oleh kerusakan otak kompleks yang mengakibatkan terjadinya gangguan perilaku, emosi, komunikasi, dan interaksi sosial penyakit maupun penyakit degeneratif pada sel-sel saraf di otak. Hal ini disebabkan oleh induksi asam valproat yang menyebabkan stress oksidatif dan mekanisme valproat dalam menimbulkan gejala autisme pada anak. Daun sirsak mempunyai aktivitas sebagai antioksidan alami untuk pengobatan stress oksidatif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun sirsak dapat memperbaiki gangguan autisme dan dosis berapa yang paling efektif dalam memperbaiki gangguan autisme.

Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit kelompok I: kontrol normal, kelompok II: kontrol negatif (asam valproat 8 mg/20 g bb), kelompok III, IV dan V adalah kelompok peralakuan dengan ekstrak daun sirsak dosis 75 mg/Kg, 150 mg/Kg, dan 300 mg/Kg. penginduksian dengan asam valproat dilakukan pada mencit umur 14 hari, setengahnya umur 15 sampai 35 diberi ekstrak daun sirsak sesuai kelompok dosis. Pengamatan uji autis dilakukan dengan 2 metode yaitu *Repetitive behaviors* (perilaku berulang) dan intelegensia. kemudian dilakukan analisa data.

Hasil penelitian dari uji *Repetitive behaviors* (perilaku berulang) dan Intelegensia menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak dosis 150 mg/Kg dan 300 mg/Kg dapat mengurangi terjadinya gangguan autis. Dosis yang memberikan penurunan yang setara dengan normal adalah dosis 150 mg/Kg bb.

Kata kunci : Autis, Daun sirsak, Asam valproat

ABSTRACT

NUR'ARIROH, M., 2017, EFFECT OF ETHANOL LEAF EXTRACT SOURSOP (*Annona muricata* L.) IN MICE VALPROAT ACID INDUCED AUTISM, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA

Autism is a disorder or defect in the gen, which causes behavioral disorders, emotional, communication, and social interaction or degenerative diseases of the nerve cells in the brain. This is due to the induction of valproic acid that causes oxidative stress and mechanisms of valproate in causing the symptoms of autism in children. Soursop leaves have activity as natural antioxidants for the treatment of oxidative stress, The purpose of this study was to determine the ethanol extract of soursop leaves can improve autistic disorder and the most effective dose in improving autistic disorder.

This study used 25 mice were divided into 5 groups, each group consisting of 5 mice Group I: normal control, group II: negative control (valproic acid 8 mg / 20 g bb), Group III, IV and V are peralakuan group with soursop leaf extract dose of 75 mg / kg bw, 150 mg / kg bw and 300 mg / kg bw. inducing with valproic acid performed in mice aged 14 days, then aged 15 to 37 were given appropriate soursop leaf extract dose group. Observations autism test is done by two methods: Repetitive behaviors (repetitive behavior) and intelligence.

The results of the test Repetitive behaviors (repetitive behavior) and Intelligence indicates that the soursop leaf extract dose of 150 mg / kg and 300 mg / kg can reduce the occurrence of autism disorders.

Kata kunci : Autism, soursop leaf , valproic acid

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Autisme merupakan sebuah sindrom yang disebabkan oleh kerusakan otak kompleks yang mengakibatkan terjadinya gangguan perilaku, emosi, komunikasi, dan interaksi sosial (Priyatna 2010). Data *World Health Organization* (WHO) bahwa jumlah penyandang autisme terus meningkat. Penyandang autisme diperkirakan berjumlah sekitar 4-6 per 10.000 kelahiran dan meningkat drastis pada tahun 2000 yaitu sekitar 60 per 10.000 kelahiran (Sutadi 2012). Pada tahun 2002 di California ditemukan 9 kasus autis per harinya. Adanya metode diagnosis yang semakin berkembang hampir di pastikan jumlah anak yang terdeteksi menyandang autisme akan semakin besar. Jumlah tersebut sangat mengkhawatirkan, mengingat sampai saat ini penyebab autisme masih misterius dan menjadi bahan perdebatan diantara para ahli dan dokter di dunia (Judarwanto 2008).

Di Indonesia yang berpenduduk 200 juta, hingga saat ini belum diketahui berapa persisnya jumlah penderita, namun diperkirakan jumlah anak autisme dapat mencapai 150 – 200 ribu orang. (Yatim 2007). Ketua Yayasan Autisme Indonesia menyatakan adanya peningkatan yang luar biasa. Bila sepuluh tahun yang lalu jumlah penyandang autisme di Indonesia diperkirakan 1 : 5000 anak, sekarang meningkat menjadi 1 : 500 anak. Tahun 2000 silam, staf bagian Psikiatri Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia memperkirakan terdapat kurang lebih 6.900 anak penyandang autis di Indonesia (Moore 2010).

Prevalensi autisme terus meningkat, agen terapeutik untuk memperbaiki gejala-gejala autisme masih sangat terbatas (Kim *et al* 2014). Faktor lingkungan memiliki peran sebagai risiko terjadinya autisme pada anak. Paparan lingkungan, pra atau pasca melahirkan, pro-oksidan faktor-faktor seperti asam valproat, merkuri, timbal, virus, udara polutan, racun, thalidomide, dan asam retinoat dapat berfungsi sebagai faktor stres oksidatif pada autisme (Chauhan *et al* 2006).

Valproat merupakan obat yang sering digunakan untuk terapi epilepsi dan gangguan bipolar. Penelitian menunjukkan bahwa anak-anak yang lahir dari ibu yang diterapi valproat untuk penyakit epilepsi mempunyai risiko yang lebih tinggi munculnya gangguan perkembangan neuron, seperti autisme, gangguan pengenalan lingkungan, gangguan bahasa dan skor IQ yang rendah. Inhibisi valproat terhadap HDAC (Histone Deacetylase) yang berperan dalam ekspresi gen, ataupun stress oksidatif yang diinduksi oleh valproat dan terfokus pada otak fetus diperkirakan merupakan mekanisme valproat menimbulkan gejala autisme pada anak. (Fauziah & Jonhs 2016). Autisme merupakan penyakit yang disebabkan oleh gangguan atau kerusakan pada gen, yang menyebabkan masalah otoimun ataupun penyakit degeneratif pada sel-sel saraf di otak (Abdullah *et al* 2017).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami untuk pengobatan penyakit degeneratif adalah daun sirsak. Pada penelitian Aminah *et al* (2015) aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak *Annona muricata* L. berdasarkan tempat tumbuh dengan metode perendaman DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil). Ekstrak etanol daun sirsak dapat menghambat DPPH dengan IC50 sebesar 1,380 µg/mL dan kandungan kimia daun sirsak adalah flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang berpotensi sebagai antioksidan (Aminah *et al* 2015).

Penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak secara subkutan dalam pencegahan tikus autis belum ada sehingga berdasarkan latar belakang tersebut penulis tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak terhadap mencit autisme yang disebabkan induksi asam valproat.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas dirumuskan permasalahan, sebagai berikut:

Pertama, apakah ekstrak etanol daun sirsak dapat memperbaiki gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat ?

Kedua, berapa dosis pemberian ekstrak etanol daun sirsak yang dapat memperbaiki gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini ditunjukkan untuk :

Pertama, untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol daun sirsak dapat memperbaiki gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat.

Kedua, untuk mengetahui dosis paling efektif pemberian ekstrak etanol daun sirsak yang dapat memperbaiki gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan berguna untuk menambah pengetahuan dan sumber informasi mengenai khasiat daun sirsak sebagai salah satu obat alternatif untuk memperbaiki gangguan autisme yang disebabkan faktor obat-obatan asam valproat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak

1. Sistematika tanaman

Menurut Depkes dan Kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (2001), klasifikasi tanaman sirsak adalah sebagai berikut :

Divinisi : Spermatophyte
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Ranunculaceae
Suku : Annonaceae
Marga : Annona
Jenis : *Annona muricata* L.

2. Nama Lain

Nama lain dari sirsak adalah deureujan (Aceh), tarutung belanda (Batak toba), durio olandra (Nias), durian betawi (Minangkabau), jambu landa (Lampung), durian belanda (Melayu), nangka walanda (Sunda), sirsak (Jawa tengah), nangka boris (Madura), srikaya jawa (Bali), diam blade (Kenya), naka (Flores), naka loanda (Boru), durian (Halmahera) (Anonim 2001)

3. Kegunaan Tanaman

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk pengobatan kanker, yakni dengan mengkonsumsi air rebusan daun sirsak (*Annona muricata* L.). Selain untuk pengobatan kanker, tanaman sirsak juga dimanfaatkan untuk pengobatan demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, anti mikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu, dan lain-lain. Tidak hanya daun, buah sirsak dapat juga kita manfaatkan untuk menjaga kesehatan. Manfaat daun sirsak (*Annona muricata* L.) bagi kesehatan mungkin tidak asing lagi. Hal ini sering dengan banyaknya kemunculan beragam produk kesehatan herbal yang terbuat dari daun sirsak (*Annona muricata* L.). Beberapa

macam manfaat yang terdapat di daun sirsak untuk kesehatan yaitu : mengobati kanker dan tumor (Mardiana & Ratnasari 2011).

4. Morfologi

Fisiologi tanaman ini secara umum adalah pohon atau perdu, tinggi mencapai 8 m dengan batang yang berkayu bulat bercabang dan berwarna cokelat kotor, daunnya berbentuk tunggal, bulat telur atau lansat, ujung runcing, tepi pangkal meruncing, panjangnya 6-18 cm, lebar 2-6 cm, pertulangan menyirip, berwarna hijau kekuningan atau hijau. Bunga berbentuk tunggal pada batang dan ranting, daun kelopak kecil berwarna kuning keputih-putihan, benangsari banyak mahkota berdaging dan berbentuk bulat telur. Buahnya majemuk berbentuk bulat telur dengan panjang 15-35 cm berdiameter 5-10 cm dan berwarna hijau. Biji berbentuk bulat telur, keras dan berwarna hitam. Akar berbentuk tunggang, bulat dan berwarna coklat muda (Anonim 2001).

5. Kandungan Kimia

Kandungan kimia daun sirsak adalah flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin (Purwatresna 2012).

5.1 Flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam, dalam tumbuhan flavonoid pada umumnya merupakan pigmen-pigmen yang tersebar luas dalam bentuk senyawa glikon dan aglikon. Flavonoid-flavonoid yang tersebar di alam antara lain flavon, isoflavon, antosianin, leuko-antosianin, dan kalkon (Rusdi 1988). Sifat fisika dan kimia senyawa flavonoid antara lain adalah larut dalam air, sedangkan dalam bentuk glikosida termetilasi larut dalam eter. Senyawa flavonoid sebagai glikosida maupun aglikon tidak dapat larut dalam petroleum eter. Glikosida dapat ditarik dengan pelarut organik yang bersifat polar dari tumbuhan (Rusdi 1988)

Flavonoid memiliki sifat antioksidan, senyawa fenol senyawa fenol yang bersifat sebagai koagulator protein, antidiabetik, antifungi, antikanker, imunostimulan, antioksidan, antiseptik, antihepatotoksik, antihiperglikemik, vasodilator, dan antiinflamasi (Prawito 2008 & Amalia *et al* 2002).

Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mengandung C15 terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan 3 satuan karbon. Golongan flavonoid yang

memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin, flavonol dan kalkon.

5.2 Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik terbanyak ditemukan di alam. Alkaloid pada umumnya berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian cincin heterosiklik. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan, tetapi sering kali kadar alkaloid kurang dari 1 % (Kristantii 2008). Pembagian alkaloid berdasarkan penyusun asam aminonya alkaloid dibedakan menjadi alkaloid asiklik yang berasal dari asam amino ornitin dan lisin. Alkaloid jenis fenilalanin berasal dari fenilalanin, dan 3, 4-dihidrofenilalanin (Achmad 1986).

5.3 Tanin. Tanin merupakan senyawa kimia kompleks, terdiri dari beberapa senyawa polifenol. Tanin tersebar luas pada seluruh bagian tumbuhan, terutama pada daun, buah yang belum masak dan kulit kayu. Tanin terbentuk amorf dan tidak dapat dikristalkan. Senyawa ini dalam air membentuk koloidal, bereaksi asam dan mempunyai rasa sepat (Rusdi 1988). Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty *et al* 2008). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman 2002).

5.4 Saponin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin dalam larutan yang sangat encer, sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun (Padmawinta 1995). Golongan saponin yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi steroid.

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia kering dapat disimpan dan digunakan jika diperlukan. Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat kimia murni. Simplisia pelican (mineral) yang belum diolah dengan cara-cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Hapsari 2015) .

2. Pengeringan

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Pada pengeringan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat dari plastik. Pengeringan pada dasarnya dikenal dua cara, yaitu pengeringan secara alamiah dan buatan. Pengeringan alamiah dapat dilakukan dengan panas matahari langsung dan dengan diangin-anginkan tanpa dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengering. Pengeringan buatan dapat menghasilkan simplisia dengan mutu yang baik karena pengeringan akan lebih merata dan waktu pengeringan akan lebih cepat, tanpa dipengaruhi oleh keadaan cuaca. Pengeringan dengan sinar matahari membutuhkan waktu 2-3 hari dan diperoleh simplisia kering dengan kadar air 10% sampai 12%, sedangkan dengan menggunakan alat pengeringan dapat diperoleh simplisia dengan kadar air sama namun waktunya lebih singkat (Depkes 1985).

Proses pengeringan simplisia terutama bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bias menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Penyerbukan

Penyerbukan simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan dari simplisia, sehingga akan mempermudah kelarutannya (Ulfa *et al* 2010). Setelah dilakukan pengeringan, sampai simplisia benar-benar kering lalu dilakukan penggilingan untuk memperoleh serbuk simplisia dengan derajat kehalusan tertentu. Setelah digiling atau diselep lalu diayak dengan pengayak mesh 40. Serbuk yang masih kasar dibelender kembali kecepatan maksimum kemudian kembali diayak dengan pengayak mesh 40 disimpan dalam kantong plastik yang tertutup.

C. Metode Penyarian

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah penerikan zat pokok dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikeringkan (Ansel 1989).

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat di simplisia terdapat dalam bentuk yang mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya. Dalam sediaan ekstrak dapat di standarisasikan kadar zat berkhasiat sedangkan kadar zat berkhasiat dalam simplisia sukar didapat yang sama (Anief 1997).

2. Maserasi

Maserasi merupakan proses penyarian yang paling baik untuk obat yang berupa simplisia yang halus, kerana memungkinkan direndam dalam cairan penyari sampai meresap dan melunaknya susunan sel sehingga zat-zat yang mudah larut akan segera larut (Depkes 1979). Maserasi bahan yang berupa simplisia yang akan disari biasanya ditempatkan dalam wadah atau bejana yang bermulut lebar, ditutup rapat dan diberi pelarut yang sesuai, dikocok berulang-ulang 1-4 hari. Pengocokan berulang ini memungkinkan pelarut segera masuk keseluruhan permukaan bahan serbuk simplisia. Persyaratan untuk maserasi adalah

pengocokan berulang-ulang. Melalui usaha ini dijamin suatu keseimbangan konsentrasi yang diperoleh disimpan dalam beberapa hari lalu cairan dituang dan disaring (Ansel 1989). Keuntungan cara penyariaan dengan maserasi adalah pekerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah digunakan (Voigt 1995).

3. Cairan penyari

Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989). Pemilihan cairan penyari harus dipertimbangkan banyak faktor. Farmakope Indonesia menetapkan bahwa cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air, atau eter. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena disamping zat aktif, ikut tersari juga zat lain yang tidak diperlukan atau malah mengganggu proses pembuatan sari seperti gom, pati, protein, lemak, enzim, lender, dan lain-lain. Air merupakan tempat tumbuh bagi kuman, kapang, dan khamir. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antakuinon, falvonoid, steroid, dammar, dan klorofil. Meningkatkan penyarian digunakan campuran antara etanol dan air. Perbandingan jumlah etanol dan air tergantung pada bahan yang akan disari (Depkes RI 1986).

Etanol digunakan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin flavonoid, stereroid dan klorofil. Tanin dan saponin hanya sedikit larut dengan demikian zat pengganggu yang larut hanya terbatas (Ansel 1989).

D. Autisme

1. Definisi autisme

Istilah autisme berasal dari kata “Autos” yang berarti diri sendiri dan “Isme” yang berarti satu aliran. Jadi, autisme berarti suatu paham yang tertarik

hanya pada diri sendiri. Autisme adalah suatu gangguan perkembangan yang kompleks menyangkut komunikasi, interaksi sosial dan aktivitas imajinasinya. Gejala tampak sebelum berusia 3 tahun. Salah satu dari penyebab autis adalah berkaitan dengan kondisi metabolis, infeksi virus atau bakteri, ataupun sebab genetik (Rosemari 2011). Penyebab autis belum diketahui secara pasti. Faktor genetik, lingkungan dan faktor imunologi mungkin berperan terhadap terjadinya autis. Autisme dapat diderita oleh anak siapapun tanpa melihat status sosial dan tingkat ekonomi keluarga (Marpaung 2014).

2. Ciri-ciri penderita autisme

Tanda-tanda autisme pada umumnya adalah:

Kelainan panca indra yang sensitive terhadap cahaya, pendengaran, sentuhan, penciuman, dan rasa (lidah) dari mulai ringan sampai berat. Tidak bisa memusatkan perhatian pada objek. Sangat terlambat dalam bicara. Sering tertawa sendiri tanpa sebab yang bisa dipahami orang lain. Timbulnya gerakan-gerakan aneh atau yang tidak wajar baik karena respon dari rangsangan atau tanpa rangsangan. Mengamuk diluar sebab yang wajar. Raut muka tanpa ekspresi baik ketika senang maupun susah dan sebagainya (Faisal 2003).

3. Penyebab autisme

Banyak orang yang bingung saat mencari tahu tentang penyebab autisme, karena setiap minggu muncul cerita baru tentang penyebabnya, baik itu genetik atau yang lainnya. Sering dilaporkan juga bahwa penyebab autis tidak diketahui, ini tidaklah sepenuhnya benar karena dalam banyak kasus *Autism Spectrum Disorder* (ASD), disinyalir penyebabnya berkaitan dengan kondisi metabolisme, infeksi virus atau bakteri, ataupun sebab genetik. Luka pada bagian kepala juga ditengarai dapat menyebabkan autisme (Kessick 2009).

Bagi beberapa orang yang tidak percaya bahwa makanan yang dikonsumsi dapat menjadi penyebab sekaligus mengontrol gejala autisme, Kessick (2009) menyebutkan dua kondisi yang dapat menjadi bahan pertimbangan yaitu :

- a. Phenylketonuria atau lebih dikenal PKU, ini adalah kelaianan metabolis turunan dalam proses metabolisme protein. Karena ada gen yang tidak sempurna, hati tidak mampu mengubah fenilalanin menjadi tirosin sehingga

fenilalanin menumpuk didarah, yang akhirnya mencapai otak dan menyebabkan keterbelakangan mental serta masalah saraf lainnya, termasuk autisme.

- b. Sulfanasi. Ada dua sistem detoksifikasi utama dalam tubuh, salah satunya adalah sistem sulfanasi yang dilakukan oleh sekelompok enzim yang bernama phenol sulphur transferase (PST). Rosmary (2011), menemukan bahwa anak-anak dan orang dewasa penderita autisme tidak mampu mengeluarkan racun dari sistem tubuh mereka sendiri karena kekurangan enzim phenol sulphur transferase.

Menurut Soetarjo (2007), penyebab autis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu penyakit ibu waktu hamil, seperti cacar air/rubella, keracunan kehamilan, dan anemia berat dapat mempengaruhi sel saraf otak janin. Bahan-bahan kimia, seperti yang terdapat dalam pengawet makanan, pewarna makanan, dan penambah rasa (monosodium glutamate). Keracunan logam berat, seperti timbal (Pb) dari limbah kendaraan bermotor, air raksa (Hg) dari ikan yang tercemar limbah tersebut. Gangguan metabolisme protein gluten dan kasein. Infeksi jamur. Alergi dan intoleran makanan.

4. Faktor penyebab gangguan makan pada anak autisme

Terdapat berbagai macam faktor yang dapat menyebabkan gangguan makan pada autisme, antisipasi secara dini dapat dilakukan untuk menghindari hal-hal yang dapat memperparah kondisi pada anak autisme. Menurut Soenardi dan Soetardjo dalam Yanti (2009), terdapat beberapa faktor yang menjadi penyebab terjadinya gangguan makan pada autis antara lain sebagai berikut :

4.1 Gangguan pencernaan protein gluten dan kasein. Gluten adalah protein tepung terigu dan kasein adalah protein susu. Anak dengan gangguan autis sering mengalami gangguan mencerna gluten dan kasein. Menurut D'eufemia (1996), anak dengan gangguan autisme banyak mengalami kebocoran usus. Pada usus yang normal sejumlah kecil peptida dapat juga merembes ke aliran darah, tetapi sistem imun tubuh dapat segera mengatasinya. Peptide berasal dari gluten (Gluteomorphin) dan peptide kasein (Casemorphin) yang tidak tercerna sempurna, bersama aliran darah masuk ke otak lalu ke reseptor "opioid". Peningkatan

aktivitas opioid akan menyebabkan gangguan susunan saraf pusat dan dapat berpengaruh terhadap persepsi, emosi, perilaku dan sensitivitas. Opioid adalah zat yang bekerjanya mirip morphine dan secara alami dikenal sebagai beta endorphin.

Endorphin adalah penekan atau pengurang rasa sakit yang secara alami diproduksi oleh tubuh. Pada anak dengan gangguan autisme, kadang-kadang endorphin bekerja terlalu jauh dalam menekan rasa sakit sehingga anak tidak tahan terhadap rasa sakit yang berlebihan. Pada anak autisme, kadar zat semacam endorphin pada otak meningkat sehingga dapat menyebabkan gangguan pada fungsi otak. Dari beberapa penelitian pemberian diet tanpa gluten dan kasein ternyata memberikan respon yang membaik terhadap anak autisme.

4.2 Alergi dan intoleransi makanan. Hal lain yang diduga berperan dalam masalah autisme adalah alergi dan intoleransi makanan. Gejalanya bermacam-macam, misalnya sakit kepala, sakit perut, diare, mual, gangguan tidur, cengeng, hiperaktif, agresif, gampang marah, infeksi telinga, dan lain-lain. Alergi makanan adalah reaksi tubuh terhadap makanan atau komponen dari makanan yang menyimpang dari normal, melibatkan sistem imun, dan menimbulkan gejala yang merugikan tubuh. Semua zat yang menyebabkan reaksi imunologi disebut alergen. Apabila alergen masuk ke dalam tubuh, maka zat antibodi terhadap alergen tersebut dilepas sehingga memicu terjadinya reaksi alergi. Potensi terjadinya alergi makanan pada seseorang sering merupakan keturunan. Beberapa makanan yang sering menimbulkan alergi antara lain ikan, udang, telur, dan susu.

Intoleransi makanan merupakan reaksi negatif terhadap makanan dan menimbulkan beberapa gejala, namun tidak melibatkan sistem imun tubuh. Intoleransi makanan disebabkan kekurangan enzim yang memecah laktosa (gula susu). Makanan yang sering menimbulkan reaksi intoleransi makanan adalah gandum, telur, susu, dan kacang-kacangan, serupa dengan makanan yang dapat menyebabkan masalah pada anak autis. Untuk mendiagnosa alergi dan intoleransi makan tertentu, orang tua sering mengalami kesulitan karena reaksi dapat terjadi segera atau sampai 72 jam setelah makanan.

E. Asam Valproat

Asam valproat (dipropilasetat atau 2 propilpentanoat) adalah salah satu pengobatan empiris untuk penyakit epilepsi generalisata, selain itu valproat merupakan terapi lini pertama pada pasien yang memiliki keluhan kejiwaan sindrom bipolar episode manik bersama dengan obat pilihan lain yaitu lithium karbonat dan carbamazepine. Valproat juga dapat digunakan sebagai terapi profilaksis migrain (Fauziah 2016). Komponen penyusun asam valproat adalah asam lemak yang disintesis sebagai analog asam valerik, ditemukan di valerian (*Valleriana officinalis*) pada tahun 1882 yang pada masa tersebut digunakan sebagai zat pelarut organik. Efek anti-epileptik valproat ditemukan secara tidak sengaja oleh seorang peneliti dari Prancis, Pierre Eymard, yang menggunakan valproat sebagai zat pembawa dari zat lain yang aktifitas anti kejangnya sedang diteliti. Pierre juga menemukan bahwa valproat dapat mengatasi kejang yang diinduksi oleh pentylene tetrazol pada tikus (Bromley *et al* 2014)

Asam valproat yang diinduksi dapat menyebabkan kerusakan pada neuroanatomy dari otak bisa mengubah fungsi tambahan dari otak. Asam valproat mengganggu fungsi dan morfologi neurona pada jaringan yang terkait dengan rasa takut. Meskipun perilaku kecemasan diatur oleh beberapa daerah otak, gangguan saraf integritas dalam amigdala dapat menghasilkan ekspresi perlakuan berulang (Anand & Shekhar 2003).

F. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan efek radikal. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, selain itu antioksidan juga berguna untuk mengatur agar tidak terjadi proses oksidasi berkelanjutan di dalam tubuh (Selawa *et al* 2013).

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi tidak cukup kuat untuk berkompetensi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya oleh tubuh sendiri. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan

dari luar. Sebenarnya, antioksidan juga berkompetensi sesamanya sehingga membutuhkan campuran yang cukup tepat (Hernani & Rahardjo 2005).

Antioksidan digolongkan berdasarkan sumbernya dan berdasarkan mekanisme kerjanya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier.

1. Penggolongan antioksidan

1.1. Antioksidan primer. Pembentukan senyawa radikal bebas yang baru dapat dicegah oleh jenis antioksidan primer. Antioksidan tersebut mengubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, sebelum radikal bebas itu bereaksi.

Antioksidan primer seperti enzim GPx (Glutation peroksidase) yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh dan mencegah peradangan karena radikal bebas. Enzim GPx ada di dalam tubuh kita dimana kerjanya membutuhkan bantuan gizi atau mineral lainnya seperti mangan, seng dan tembaga.

1.2. Antioksidan sekunder. Fungsi jenis ini adalah menangkap senyawa serta menghentikan terjadinya reaksi yang berantai dalam pembentukan radikal bebas. Contoh antioksidan sekunder yaitu vitamin E (alfa tokoferol), vitamin C (asam askorbat), betakaroten, kurkuminoid.

1.3. Antioksidan tersier. Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dan jaringan. Contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksida reduktase yang dapat mencegah terjadinya penyakit kanker yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi 2007).

2. Jenis-jenis antioksidan

2.1. Antioksidan endogen. Antioksidan endogen yaitu sejumlah komponen protein dan enzim yang disintesis dalam tubuh yang berperan dalam menangkalkan oksidasi oleh radikal bebas yang terdiri dari katalase, superoksida dismutase, serta protein yang berikatan dengan logam seperti transferin dan seruloplasmin. Antioksidan endogen dibagi menjadi 2

kelompok antioksidan enzimatis dan antioksidan nonenzimatis. Antioksidan enzimatis seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GPx). Sedangkan antioksidan nonenzimatis dibagi menjadi 2 kelompok lagi yaitu antioksidan larut lemak seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, bilirubin dan antioksidan larut air seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.

2.2. Antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen bersumber dari makanan terdiri atas tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), karotenoid dan flavonoid. Antioksidan jenis eksogen ini dapat dimodifikasi dengan makanan dan suplemen (Winarsi 2007).

3. Radikal bebas

Menurut Widodo (2013), radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan. Karena secara kimia molekulnya tidak berpasangan, maka radikal bebas cenderung untuk bereaksi dengan molekul sel tubuh. Beberapa komponen tubuh yang rentan terhadap serangan radikal bebas antara lain DNA, membran sel, protein dan lipid. Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau senyawa yang keadaanya bebas dan mempunyai satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan. Elektron dari radikal bebas yang tidak berpasangan ini sangatlah mudah menarik elektron dari molekul lainnya sehingga radikal bebas tersebut menjadi lebih reaktif (Hernani & Rahardjo 2005).

Radikal bebas mencari reaksi-reaksi agar dapat memperoleh kembali elektron pasangannya. Serangkaian reaksi dapat terjadi yang menghasilkan serangkaian radikal bebas, setelah itu radikal bebas dapat mengalami tabrakan kaya energi dengan molekul lain yang merusak ikatan di dalam molekul. Pada akhirnya, radikal bebas dapat merusak membran sel, retikulum endoplasma atau DNA, kesalahan DNA akibat radikal bebas diduga berkontribusi terhadap perkembangan beberapa jenis kanker. Diduga pula bahwa sel endotel yang melapisi pembuluh darah dapat rusak akibat radikal bebas yang dihasilkan selama metabolisme normal lipid yang mengakibatkan aterosklerosis (Widodo 2013).

Tubuh terus menerus membentuk radikal oksigen. Radikal bebas juga terbentuk akibat pengaruh respon luar tubuh seperti polusi udara, sinar ultra violet, dan asap rokok (Khlifi *et al* 2005). Radikal bebas sebenarnya penting bagi kesehatan dalam memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengembalikan tonus otot polos pembuluh darah dan organ-organ dalam tubuh kita. Radikal bebas yang dihasilkan melebihi batas proteksi antioksidan seluler, maka akan menyerang sel itu sendiri. Struktur sel yang berubah turut merubah fungsinya, yang akan mengarah pada proses timbulnya penyakit (Sauriasari 2006).

G. Hewan Percobaan

1. Sistematika hewan percobaan

Sistematika hewan percobaan berdasarkan Akbar 2010 :

Kerajaan : Animalia
Divisi : Chordata
Kelas : Mammalia
Bangsa : Rodentia
Suku : Muridae
Marga : Mus
Jenis : *Mus musculus*

2. Karakteristik

Mencit merupakan hewan yang jinak, lemah, mudah ditangani, takut cahaya dan aktif pada malam hari. Pada umumnya mencit sangat senang berada pada belakang perabotan jika dipelihara atau berkeliaran di rumah. Mencit yang dipelihara sendiri makannya sedikit dan bobotnya lebih ringan dibanding yang dipelihara bersama-sama dalam satu kandang, kadang-kadang mempunyai sifat kanibal. Terlebih jika makanan yang dibutuhkannya telah habis sehingga mereka merasa sangat kelaparan (Yuwono *et al* 2009).

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan mamalia hasil domestika dari mencit liar yang paling umum digunakan sebagai hewan percobaan pada laboratorium, yaitu sekitar 40%-80%. Banyak keunggulan yang dimiliki oleh mencit sebagai hewan percobaan, yaitu memiliki kesamaan fisiologis dengan

manusia, siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penenangan (Moriwaki *et al* 1994)

3. Jenis kelamin

Penentuan jenis kelamin hewan uji dapat digunakan suatu sumber variasi avabilitas sistemik, distribusi dan kecepatan eliminasi obat-obatan. Mencit jantan kecepatan metabolismenya lebih cepat dibandingkan dengan mencit betina. Kondisi biologis mencit jantan lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina yang secara berkala dalam tubuhnya mengalami berbagai perubahan kondisi seperti masa menstrubasi, kehamilan, dan menyusui (Sugianto 1995).

H. Metode Perlakuan

Pada perlakuan ini menggunakan metode pengamatan berulang (Repeitive behaviors)

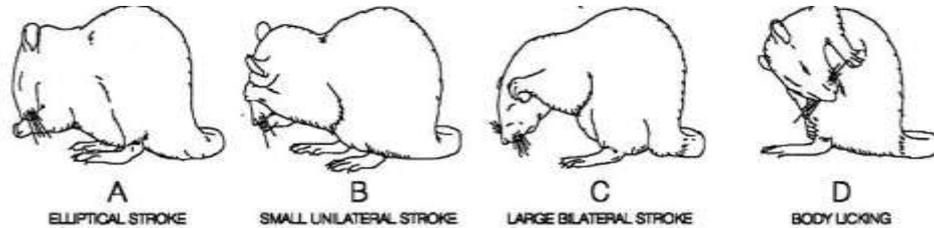
1. Murble burying

Pengamatan prilaku berulang malalui uji murble burying dilakukan menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan Thomas *et al* (2009) namun dengan sedikit modifikasi (Kim *et al* 2014). Uji dilakukan dengan cara mengisi kandang menggunakan sekam bersih dengan tinggi 3 cm. Tikus kemudian dimasukan ke dalam kandang untuk habituasi selama 10 menit. Setelah habituasi, tikus dipindahkan dari kandang dan selanjutnya kandang tersebut dimasukkan kelereng sebanyak 20 buah (diameter 15 mm) yang disusun 4x5. mencit kemudian dikembalikan ke kandang uji yang telah berisi kelereng selama 20 menit. Parameter uji yang digunakan adalah jumlah kelereng yang dikuburkan (>50% kelereng ditutupi sekam)

2. Self-grooming dan digging

Disamping pengamatan melalui uji *murble burying*, uji *grooming* dan *dinging* juga dapat mendukung pengamatan perilaku berulang pada mencit (Deacon 2006). Uji dilakukan dengan sedikit modifikasi (Kim *et al* 2014) yaitu dengan memasukkan mencit ke dalam kandang yang diisi sekam bersih dan dibiasakan selama 10 menit, selanjutnya waktu akumulatif grooming yang dicatat

adalah grooming yang dilakukan pada semua bagian tubuh (Silverman *et al* 2010). Aktifitas grooming yang diamati seperti yang ditampilkan pada gambar.



Gambar 1. Aktifitas grooming
(Silverman *et al* 2010).

3. Pengamatan Intelegensia (Labirin Y).

Labirin tersusun dalam bentuk Y, sudut antara kaki sama persis (120°). Hewan dipuaskan dahulu selama 18 jam sebelum dilakukan pengujian, air minum tetap diberikan. Pengujian dibagi menjadi 3 tahap yaitu tahap adaptasi, tahap belajar dan tahap pengujian. Pada tahap adaptasi, pintu-pintu pada bagian labirin tidak dipasang. Pada saat hewan masuk pada percabangan di labirin, makanan dijatuhkan di sebuah kanan percabangan, jika hewan bereaksi positif dengan berlari menuju makanan maka pengujian bisa dilanjutkan pada tahap berikutnya. Pada tahap belajar, makanan diletakkan pada cabang sebelah kanan dari labirin sebelum hewan dilepaskan dari kandang. Pada tahap pengujian, ketiga pintu pada tiap cabang labirin ditutup dan makanan diletakkan dibelakang pintu cabang labirin sebelah kanan. Kondisi percobaan sama dengan kondisi pada tahap belajar. Waktu yang diperlukan untuk dapat mengambil makanan tersebut dicatat dengan stop watch. Dilakukan 3 kali berturut – turut dan diulang setiap hari selama 3 hari (Fitrianingsih 2013).

I. Landasan Teori

Autis adalah gangguan perkembangan pervasif pada anak yang ditandai dengan adanya gangguan dan keterlambatan dalam bidang kognitif, bahasa, perilaku, komunikasi, dan interaksi sosial (Judarwanto 2006).

Faktor lingkungan memiliki peran sebagai risiko terjadinya autis pada anak. Paparan terhadap valproat merupakan salah satu faktor lingkungan yang

diduga berperan dan dapat dimodifikasi. Valproat merupakan obat yang sering digunakan untuk terapi epilepsi dan gangguan bipolar. Penelitian menunjukkan bahwa anak-anak yang lahir dari ibu yang diterapi valproat untuk penyakit epilepsi mempunyai risiko yang lebih tinggi munculnya gangguan perkembangan neuron, seperti autisme, gangguan pengenalan lingkungan, gangguan bahasa dan skor IQ yang rendah. Inhibisi valproat terhadap HDAC yang berperan dalam ekspresi gen, ataupun stress oksidatif yang diinduksi oleh valproat dan terfokus pada otak fetus diperkirakan merupakan mekanisme valproat menimbulkan gejala autisme pada anak. (Fauziyah *et al* 2016). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai pengobatan adalah sirsak, sirsak telah menjadi tanaman obat bagi banyak masyarakat dunia. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan penelitian pada daun sirsak memberikan hasil bahwa ekstrak daun sirsak dosis 150 mg/kg BB berpengaruh dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dengan induksi Streptozotisin (Stephen & Ezekiel 2006).

Pada penelitian Aminah (2015) aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak berdasarkan tempat tumbuh dengan metode perendaman DPPH. Ekstrak etanol daun sirsak dapat menghambat DPPH dengan IC₅₀ sebesar 1,380 µg/mL dan kandungan kimia daun sirsak adalah flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang berpotensi sebagai antioksidan.

Suatu senyawa dinyatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai IC₅₀ < 10 µg/mL, kuat apabila nilai IC₅₀ antara 10-50 µg/mL, sedang apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 50-100 µg/mL, lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar antar 100-250 µg/mL dan dinyatakan tidak aktif apabila nilai IC₅₀ 250 µg/mL. ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai. Penyarian dengan menggunakan metode ini dapat menarik zat aktif dari tanaman. Cairan penyarian yang akan menarik zat-zat yang dibutuhkan. Keuntungan dari maserasi adalah dapat digunakan untuk menyari zat-zat yang tidak tahan panas pada pemanasan

dan dengan alat yang sederhana. Kelemahannya adalah dalam penyariannya membutuhkan waktu yang lama serta penggojokkan yang selalu teratur.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit. Mencit umumnya tenang, mudah ditanganin dan tidak begitu fotophobia. Mencit yang dibiakkan lebih cepat dewasa dan lebih mudah berkembang biak. Mencit ini sangat cocok untuk dilakukan penelitian karena mencit bersifat responsif sehingga dapat menghasilkan data yang baik dewasa dan lebih mudah berkembang biak. Mencit ini sangat cocok untuk dilakukan penelitian karena tikus bersifat responsif sehingga dapat menghasilkan data yang baik.

Pengujian pengaruh ekstrak daun sirsak untuk memperbaiki gangguan autis dilakukan dengan menggunakan tiga metode yaitu yang pertama *murble burying* dilakukan dengan cara mengisi kandang menggunakan sekam bersih dengan tinggi 3 cm. Mencit kemudian dimasukkan ke dalam kandang untuk habituasi selama 10 menit. Setelah habituasi, mencit dipindahkan dari kandang dan selanjutnya kandang tersebut dimasukkan kelereng sebanyak 20 buah (diameter 15mm) yang disusun 4x5. Mencit kemudian dikembalikan ke kandang uji yang telah berisi kelereng selama 20 menit. Kedua *self-grooming dan digging* Disamping pengamatan melalui uji *murble burying*, uji *grooming* dan *digging* juga dapat mendukung pengamatan perilaku berulang pada mencit (Deacon 2006). dengan memasukkan mencit ke dalam kandang yang diisi sekam bersih dan dibiasakan selama 10 menit, selanjutnya waktu akumulatif grooming yang dicatat adalah grooming yang dilakukan pada semua bagian tubuh (Silverman *et al* 2010). Ketiga Pengamatan Intelegensia (Labirin Y) Labirin tersusun dalam bentuk Y, sudut antara kaki sama persis (120°). Hewan diletakan di bagian tengah lalu dibiarkan untuk melakukan gerakan spontanitas pada 3 lengan tersebut (Simplice *et al* 2014)

J. Hipotesis

Dari tinjauan pustaka dapat diambil kesimpulan untuk menyusun hipotesis dalam melaksanakan penelitian ini, yaitu

Pertama, ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diberikan dapat memperbaiki gangguan autis yang disebabkan paparan asam valproat.

Kedua, ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada dosis 75 mg/kg, 150 mg/kg, dan 300 mg/kg dapat memperbaiki gangguan autis yang disebabkan paparan asam valproat.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diambil dari daerah Gondangrejo, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang sudah tua dan segar secara acak berwarna hijau dan tidak rusak.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini adalah aktivitas ekstrak etanol daun sirsak hasil maserasi dengan pelarut etanol 70% secara prenatal terhadap model mencit autis yang diinduksi asam valproat.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol 70% daun sirsak dengan berbagai dosis.

Variabel tergantung merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah mencit autis setelah pemberian ekstrak etanol daun sirsak dengan dosis yang berbeda-beda. Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah perilaku mencit autis uji sesudah dan sebelum diberi perlakuan.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualitasnya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi daun sirsak, kondisi fisik hewan uji meliputi berat badan mencit, galur, jenis kelamin, kondisi percobaan, laboratorium, zat penginduksi, dan kondisi lingkungan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sirsak adalah seluruh daun pada tanaman sirsak yang berwarna hijau yang segar dan tidak rusak yang diperoleh dari daerah Gondangrejo Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah.

Kedua, serbuk adalah simplisia kering daun sirsak yang dihaluskan dengan penggilingan dan diayak dengan pengayak ukuran mesh 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun sirsak adalah cairan hasil penarikan sari dari daun sirsak dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian diuapkan dengan evaporator dan dilanjutkan dengan menggunakan oven untuk mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, hewan uji yang dipakai adalah mencit jantan galur swiss dengan berat 10-20 g.

Kelima, asam valproat adalah bahan yang diberikan merupakan salah satu senyawa yang dapat menginduksi gangguan perilaku seperti autisme, hal tersebut berdasarkan dampak paparan yang dapat menyebabkan gangguan dalam proses perkembangan saraf otak normal. .

Keenam, metode yang digunakan untuk melakukan uji autisme adalah *murble burying*, *self-grooming* dan *digging* dan pengamatan intelegensia (labirin Y).

C. Bahan, Alat dan Hewan Uji

1. Bahan

1.1. Bahan Sampel. Bahan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirsak yang diperoleh dari daerah Gondangrejo Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah.

1.2. Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 70% sebagai larutan penyari. Untuk uji farmakologi digunakan asam valproat, CMC 0,5%, aquadest, larutan fisiologis (NaCl 0,9%). Untuk uji identifikasi senyawa tanaman alkohol, anhidrida asam asetat, asam sulfat, HCl 2N, serbuk magnesium, amil alkohol, asam klorida, besi (III) klorida dan air suling.

2. Alat

Alat untuk membuat simplisia yaitu pisau untuk merajang, oven dengan suhu rendah dan konstan, mesin penggiling dan ayakan no. 40. Alat penyari yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, evaporator, bejana maserasi, kain flannel, neraca elektrik, pipet, tabung reaksi, *beaker glass*. Alat untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan analitik, jarum oral, spuit injeksi, gelas ukur dan *beaker glass*, mikroskop, *deck glass*, dan labirin Y.

3. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih galur swiss kelamin jantan, umur 14 hari dengan berat badan rata-rata 10-20 g sebanyak 30 ekor. Pengelompokan dilakukan secara acak masing-masing 5 ekor per kelompok. Semua mencit dipelihara dengan cara yang sama, ukuran kandang yang sesuai dengan temperature $30 \pm 10^{\circ}\text{C}$.

Penerangan diatur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman harus selalu terkontrol agar mencegah kematian tikus terutama saat diinduksi asam valproat.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi daun sirsak

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman terhadap pustaka yang dilakukan di laboratorium biologi Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah.

2. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel daun sirsak dilakukan pada daun yang sudah tua daerah Gondangrejo Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah. Daun sirsak kemudian dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran dan debu yang menempel pada daun lalu ditiriskan dan dikeringkan dengan oven.

3. Pembuatan serbuk daun sirsak

Daun sirsak yang sudah dicuci dengan air kemudian dilakukan pengeringan, pengeringan dilakukan dengan cara di oven pada suhu 50° hingga kering yang bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama (Voight 1994). Setelah itu dibuat serbuk diayak dengan ayakan nomor mesh 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.

4. Kadar lembab serbuk daun sirsak

Kadar lembab serbuk daun sirsak dilakukan dengan cara serbuk daun sirsak ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian diukur kadar lembab dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 90°C dan waktu pengeringan secara manual yaitu 15 menit. Penandaan hasil analisa setelah selesai yaitu sampai diperoleh bobot konstan yang dilakukan penimbangan sebanyak tiga kali. Kadar lembab memenuhi syarat dimana suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

5. Pembuatan ekstrak etanol daun sirsak

Ekstraksi serbuk daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun sirsak ditimbang kemudian dimasukkan dalam bejana kemudian ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5. Campuran ditutup dan direndam selama 5 hari dengan pengocokan berulang-ulang. Setelah 5 hari filtrat disaring dan diperas dengan menggunakan kain flanel. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan dengan *Vacum Rotary evaporator* dengan suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental daun sirsak. Pelarut etanol yang masih tertinggal diuapkan di atas penangas air sampai bebas pelarut (Depkes 1986).

6. Identifikasi senyawa kandungan kimia

Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan untuk memastikan kebenaran zat kimia yang terkandung di dalam daun sirsak. Identifikasi senyawa meliputi senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid.

6.1. Identifikasi senyawa kimia berdasarkan reaksi warna.

6.1.1. Identifikasi Flavonoid. Sejumlah tertentu ekstrak dilembabkan dengan 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit, disaring dan ambil filtratnya 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan serbuk magnesium secukupnya, 1 ml asam klorida dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Terbentuknya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan positif flavonoid (Sarker 2006).

6.1.2. Identifikasi tanin. Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak buah sirsak sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah dengan 3 tetes pereaksi FeCl_3 1%. Tanin positif apabila berbentuk warna hijau kehitaman pada reaksi dengan FeCl_3 (Depkes 1995).

6.1.3 Identifikasi saponin. Sebanyak 0.05 gram serbuk dan ekstrak buah ditambah air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Larutan disaring dan filtratnya dikocok kuat-kuat. Timbulnya buih yang stabil selama 10 menit setelah pengocokkan menunjukkan terdapatnya saponin (Depkes 1995).

6.1.4 Identifikasi alkaloid. Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu, disaring kemudian ditambah 2 ml asam sulfat 2N dan dikocok hingga memberi hingga memberi lapisan atas dan bawah. Larutan dibagi menjadi 3 bagian, pada tabung pertama ditambahkan 1 tetes larutan Mayer, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih keruh, jika pada tabung kedua ditambah 1 tetes pereaksi *Dragendorff* dan terbentuknya endapan menandakan adanya alkaloid (Harborne 1987).

7. Penentuan Dosis

7.1. Dosis asam valproat. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Benji (2016) dimana dosis asam valproat yang

berpotensi menyebabkan autisme pada mencit adalah 400 mg/kg dan hasil orientasi dosis asam valproat dosis 400 mg/kg dapat menyebabkan kerusakan cerebellum otak pada mencit dapat dilihat pada lampiran 9.

7.2. Dosis ekstrak etanol daun sirsak. Dosis sediaan diberikan berdasarkan dosis pada penelitian Banji *et al* (2011) dimana dosis ekstrak teh hijau yang mengandung flavonoid yaitu dosis 75 mg/Kg BB dan 300 mg/Kg BB dapat mencegah autis pada mencit. Dosis ekstrak etanol daun sirsak yang juga mengandung flavonoid dibuat tiga variasi dosis ekstrak etanol yaitu dosis 75 mg/kg BB, dosis 150 mg/kg BB dan dosis 300 mg/kg BB.

8. Pembuatan Larutan Uji

8.1. Larutan suspensi CMC Na 0,5%. CMC Na konsentrasi 0,5% adalah larutan yang digunakan sebagai kontrol negatif, dibuat dengan cara menimbang serbuk CMC Na sebanyak 500 mg kemudian dimasukkan ke dalam cawan penguap dan ditambah sedikit aquadest. Selanjutnya dipanaskan sampai mengembang kemudian dimasukkan ke dalam mortar dan menggerusnya dan menambahkan sedikit demi sedikit aquadest hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

8.2. Larutan asam valproat. Pembuatan larutan asam valproat 8 mg dengan cara melarutkan asam valproat 40 mg dalam larutan saline sebanyak 100 ml.

8.3. Larutan Fisiologis 0,5%. Larutan fisiologis NaCl 0,5 %. adalah larutan yang digunakan sebagai pelarut, dibuat dengan cara menimbang NaCl sebanyak 500 mg, dimasukkan dalam Erlenmeyer yang telah dikalibrasi 100ml.

9. Perlakuan hewan uji

Hewan uji dalam penelitian ini adalah mencit putih berjenis kelamin jantan galur swiss, usia 14 hari dengan berat badan 10-20 g. Sebelum perlakuan, mencit diadaptasikan selama 1 minggu untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitarnya. Setelah hari ke 14 mencit 4 kelompok diberikan asam valproat secara subcutan (single dose) dan 1 kelompok hanya diberi makan dan minum. Dan dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun sirsak sesuai dosis, mencit diberikan sediaan uji dan dibagi menjadi 6 kelompok :

Kelompok I = Kontrol normal (hanya diberi makan dan minum)

Kelompok II = Kontrol sakit (larutan CMC Na 0,5%)

Kelompok III = Ekstrak etanol 70% daun sirsak dosis 75 mg/kg bb

Kelompok IV = Ekstrak etanol 70% daun sirsak dosis 150 mg/kg bb

Kelompok VI = Ekstrak etanol 70% daun sirsak dosis 300 mg/kg bb

10. Pengamatan hewan uji

Pada pengamatan ini dilakukan dengan pengamatan perilaku berulang (*Repetitive Behaviors*) dan Pengamatan Intelegensia (Labirin Y).

10.1 *Murble burying.* *Murble burying* dilakukan dengan cara mengisi kandang menggunakan sekam bersih dengan tinggi 3cm. Mencit kemudian dimasukan ke dalam kandang untuk habituasi selama 10 menit. Setelah habituasi, mencit dipindahkan dari kandang dan selanjutnya kandang tersebut dimasukan kelereng sebanyak 20 buah (diameter 15mm) yang disusun 4x5. Mencit kemudian dimasukan ke kandang uji yang berisi kelereng selama 20 menit. Parameter yang digunakan dalam metode ini adalah jumlah kelereng yang dikuburkan (>50% kelereng ditutupi oleh sekam) (Kim *et al* 2014)). Dilakukan pengamatan pada umur mencit 23, 25, 27 dengan parameter penguburan kelereng yang semakin banyak maka mencit dinyatakan autis.

10.2 *Self-grooming dan Digging.* Uji dilakukan dengan memasukan mencit ke dalam kandang yang diisi sekam bersih dan dibiasakan selama 10 menit, selanjutnya waktu akumulatif grooming dan digging diamati secara bersamaan pada 10 menit selanjutnya. Grooming yang dicatat adalah grooming yang dilakukan pada semua bagian tubuh (Kim *et al* 2014). Dilakukan pengamatan dengan parameter perilaku berulang seperti mengendus, berputar, serta menggali lebih banyak, ditemukan pada aktivitas autisme mencit.

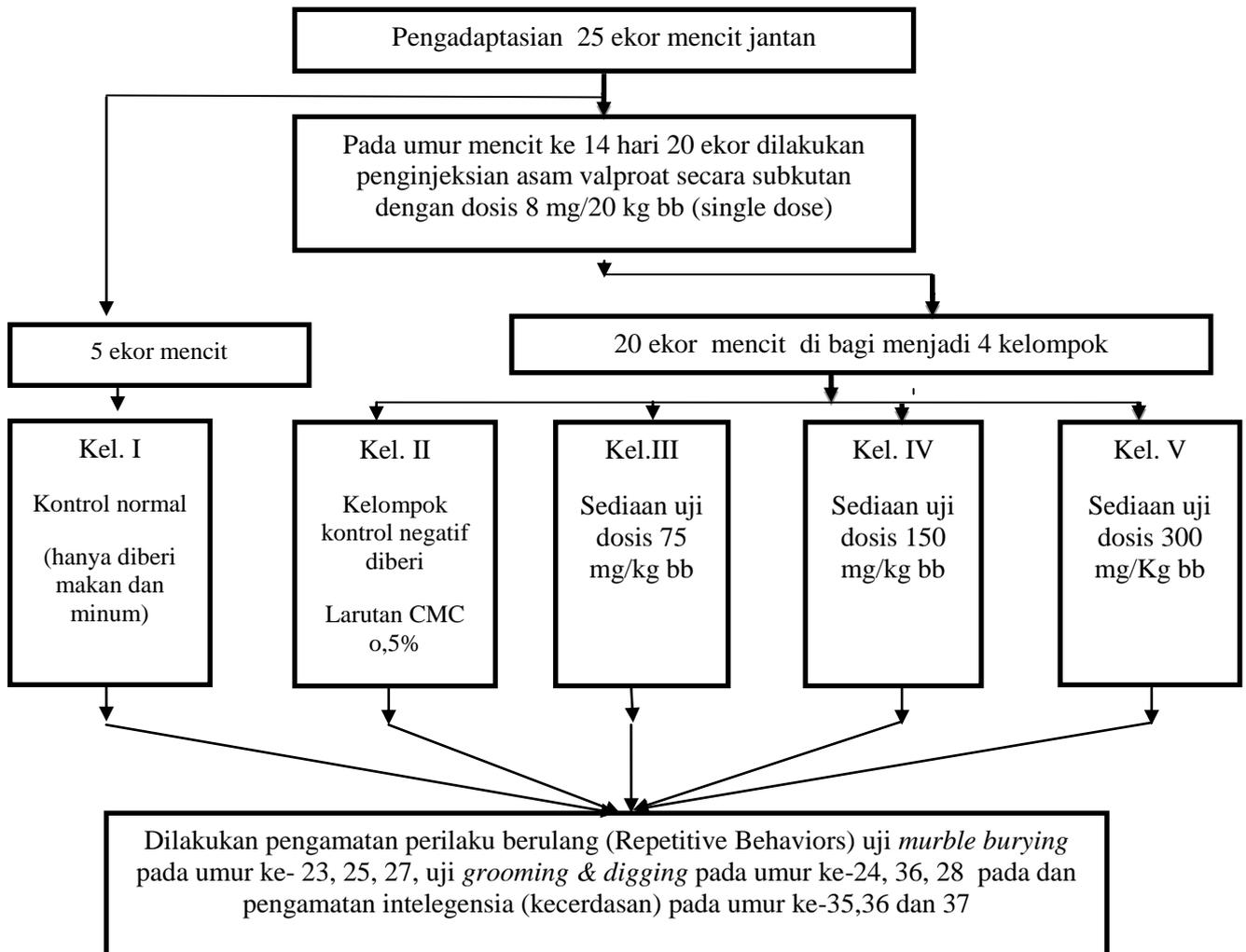
10.3 Pengamatan Intelegensia (Labirin Y). Parameter dalam penelitian ini adalah lamanya waktu (menit) mencit untuk menemukan makanan pada ujung salah satu lengan dari labirin Y (Fitrianingsih 2013). Uji *Y-Maze* merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menggambarkan fungsi memori spasial hewan uji. Memori spasial pada mencit cenderung mengeksplorasi lengan yang baru dikunjungi, sehingga mencit tersebut cenderung memasuki 3 lengan secara

bergantian. Untuk pergantian efisien, mencit perlu menggunakan memori kerja dan dengan demikian mereka harus mengingat lengan terakhir yang dikunjungi dan secara menerus memperbarui catatan ingatan (Wietrzy *et al* 2005)

E. Analisis Statistik

Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (*Saphiro Wilk*). Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (*One Way ANOVA*) untuk mengetahui perbedaan yang nyata diantara perlakuan Jika hasil uji *One Way ANOVA* dan *uji Lavene Statistic* menunjukkan hasil normal ($> 0,05$), selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk membandingkan kelompok kontrol dengan asam valproat.

F. Skema Penelitian



Gambar 2. Skema prosedur pengujian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil determinasi tanaman

Determinasi daun sirsak dilakukan di Laboratorium Biologi dan FMIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta pada 23 Desember 2016. Tujuan determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dengan tanaman lain yang sejenis. Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa sampel yang diambil adalah benar daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan family *Annonaceae*. Hasil determinasi tanaman daun sirsak dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengambilan bahan

Daun sirsak yang digunakan diperoleh dari daerah Gondangrejo, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017. Daun sirsak yang digunakan adalah daun sirsak yang sudah tua. Berat basah daun sirsak diperoleh sebanyak 5000 mg. Daun sirsak kemudian dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran dan debu yang menempel pada daun lalu ditiriskan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C. Tujuan dari pengeringan ini untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam daun. Pengeringan ini dilakukan untuk mencegah tumbuhnya kuman, kapang dan khamir yang dapat menyebabkan pembusukan.

Penentuan rendemen bobot kering terhadap bobot basah dilakukan dengan cara menimbang daun sirsak yang masih basah, kemudian hasilnya dibandingkan dengan berat daun sirsak yang telah dikeringkan. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
5000 g	1750 g	35 %

Dari data tersebut diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 35 %. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dapat dilihat pada lampiran 3.

3. Hasil pembuatan serbuk tanaman

Penyerbukan daun sirsak dilakukan menggunakan mesh 40 untuk menyeragamkan ukuran serbuk. Tujuan penyerbukan ini adalah untuk memperkecil ukuran daun sirsak kering sehingga luas permukaan yang kontak dengan pelarut lebih luas agar senyawa yang diekstrak lebih maksimal.

Penentuan rendemen serbuk daun sirsak dengan berat sebelum dilakukan penyerbukan, kemudian hasilnya dibandingkan dengan berat daun sirsak yang telah dilakukan penyerbukan. Hasil rendemen serbuk daun sirsak dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil rendemen serbuk daun sirsak

Berat sebelum diserbuk (g)	Berat setelah diserbuk(g)	Rendemen (%)
1750 g	1140 g	65%

Dari data tersebut diperoleh rendemen serbuk daun sirsak sebesar 65% perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 4.

4. Penetapan kadar kelembaban serbuk tanaman

Metode penetapan kelembaban serbuk daun sirsak dengan cara ditimbang sebanyak 2 gram menggunakan alat moisture balance dimaksudkan agar mutu dan khasiat daun sirsak tetap terjaga. Serbuk dipanaskan dalam *moisture balance* hingga diperoleh kadar kelembaban. Kadar kelembaban yang tinggi dapat menyebabkan tanaman mudah ditumbuhi dan bakteri akibat reaksi enzimatik. Kadar kelembaban serbuk daun sirsak dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun sirsak

Berat basah (gram)	kelembaban(%)
2,00	7,4%
2,00	7,5%
2,00	7,4%
Rata-rata	7,43%

Tabel 3 menunjukkan kadar kelembaban serbuk daun sirsak sebesar 7,3%. Kadar kelembaban dari serbuk daun sirsak memenuhi persyaratan kadar kelembaban dari serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirsak

Pembuatan ekstrak dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Metode ini bertujuan untuk penyarian zat aktif yang mudah larut dalam larutan penyari, menghindari kerusakan zat aktif akibat pemanasan dan paling sederhana serta cepat dilakukan. Etanol 70 % digunakan sebagai cairan penyari karena sifat etanol yang tidak beracun dan mudah menarik keluar senyawa aktif dari dalam sel dan dapat bercampur dengan air sebagai perbandingan, disamping itu etanol memiliki titik didih yang rendah sehingga mudah dan cepat diuapkan. Dari 500 gram serbuk diperoleh berat ekstrak 104,56 gram. Data hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirsak

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	104,56	20,9%

Perhitungan hasil rendemen ekstrak etanol daun sirsak terhadap serbuk daun sirsak dapat dilihat pada lampiran 6.

6. Identifikasi senyawa daun sirsak dengan metode reaksi kimia

Serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak yang diperoleh diidentifikasi kandungan kimia yang terkandung didalamnya. Hasil identifikasi kandungan kimia daun sirsak dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak

Senyawa	Prosedur	Serbuk	Hasil ekstrak	Pustaka (DepKes 1993)	Ket
Tanin	5 ml sampel ditambah ditambah besi (III) klorida	Terbentuk warna biru kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman	Warna larutan akan berubah menjadi biru kehitama	(+)
Saponin	5 mg sampel + aquadest panas, kocok kuat	Terbentuk buih	Terbentuk buih	Adanya buih yang stabil	(+)
Alkaloid	sampel + 5 ml aquadest + HCl 2M hingga asam, saring. Filtrat + 1 ml pereaksi Dragendroff	Endapan merah kecoklatan	Endapan merah kecoklatan	Bewarna jingga atau adanya endapan jingga kemerahan	(+)
Flavonoid	Sampel serbuk + 5 ml aquadest + 0,1 mg ditambah 1 ml larutan alkohol ditambah klorida pekat alkohol	Warna merah jingga pada lapisan amil alkohol	Merah pada jingga pada lapisan amil alkohol	Merah jingga atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol	(+)

Berdasarkan pengujian tersebut, serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak mengandung tanin, saponin, alkaloid, dan flavonoid.

B. Hasil Uji Autisme

Penelitian ini menggunakan mencit Ras *Swiss* jantan usia 14 hari sebanyak 25 ekor sebagai hewan uji yang dibagi 5 kelompok.

Metode uji autisme yang digunakan adalah induksi asam valproat. Paparan lingkungan pra atau pasca melahirkan seperti asam valproat, merkuri, timbal, virus, udara polutan, racun, thalidomide, dapat berfungsi sebagai faktor stres oksidatif pada autisme (Zoroglu *et al* 2004). Asam valproat diberikan secara subkutan dengan pemberian dosis sebesar 400 mg/kg pada mencit usia 14 hari (Banji *et al* 2011). Pada umur 14 dipilih karena sebagai jendela kritis, migrasi dan diferensiasi cerebellum dan sel granula hippocampus terjadi. Selanjutnya, pengembangan neuronal dan glial terjadi di berbagai daerah otak selama periode ini. Paparan awal kehidupan untuk asam valproat mampu menyebabkan kematian sel granula dan cerebellar hipoplasia (Yochum *et al* 2008). Gangguan pada sel granula selama migrasi dapat mengakibatkan perubahan struktur sel Purkinje menyebabkan dendrit abnormal (Goldwitz & Hamre 1998). Karena anomali otak yang dihasilkan oleh asam valproat ada kehilangan aktivitas motorik, kognitif, perilaku mengganggu, sensitivitas diubah untuk stimulus yang menyakitkan dan defisit yang bersangkutan di interaksi sosial (Markram *et al* 2007). Pada hari ke 14–35 dilakukan pemberian ekstrak etanol daun sirsak. Hewan uji dinyatakan autisme apabila terjadi gangguan perilaku seperti hiperaktivitas, perilaku berulang yang terus-menerus serta defisit memori spasial (Berliana 2016).

Pemeriksaan autisme pada penelitian ini menggunakan metode uji kognitif menggunakan *Y Maze* dan pengamatan perilaku berulang diamati dengan uji *marble burying*, *digging* dan *grooming*. Data yang didapatkan kemudian dianalisa menggunakan *SPSS statistika 17*.

1. Hasil uji *marble burying*

Pengamatan gejala klinis yang pertama diamati adalah perubahan perilaku pada hari ke 23-30 dengan uji *marble burying* pada semua kelompok mencit dengan cara mengisi kandang menggunakan sekam bersih dengan tinggi 3cm. Mencit kemudian dimasukkan ke dalam kandang untuk habituasi selama 10 menit. Setelah habituasi, mencit dipindahkan dari kandang dan selanjutnya kandang tersebut dimasukkan kelereng sebanyak 20 buah (diameter 15cm) yang disusun

4x5. Mencit kemudian dimasukkan ke kandang uji yang berisi kelereng selama 20 menit (Kim *et al* 2014). Hal yang dinilai adalah jumlah kelereng yang dikubur.

Tabel 6. Rata-rata jumlah kelereng yang dikubur masing-masing kelompok perlakuan

Kel. Uji	Rata-rata <i>murble burying</i> ± SD		
	Umur 23±SD	Umur 25±SD	Umur 27±SD
I	8.60± 1.14	9.00± 0.71	9.00± 1.22 ^b
II	16.60 ± 1.14	17.20± 1.30	16.80 ± 0.84 ^a
III	13.60 ± 1.34	13.60± 2.07	13.00 ± 2.35 ^{ab}
IV	9.40± 1.34	10.00 ± 2.24	9.60 ± 2.41 ^{ab}
V	10.00 ± 0.71 ^a	9.80± 0.84 ^a	9.00 ± 0.84 ^b

keterangan :

- I. : kelompok normal
- II. :kelompok negatif
- III. :kelompok dosis 75 mg/kg bb
- IV. :kelompok dosis 150 mg/kg bb
- V. :kelompok dosis 300 mg/kg bb

Berbeda signifikan dengan :

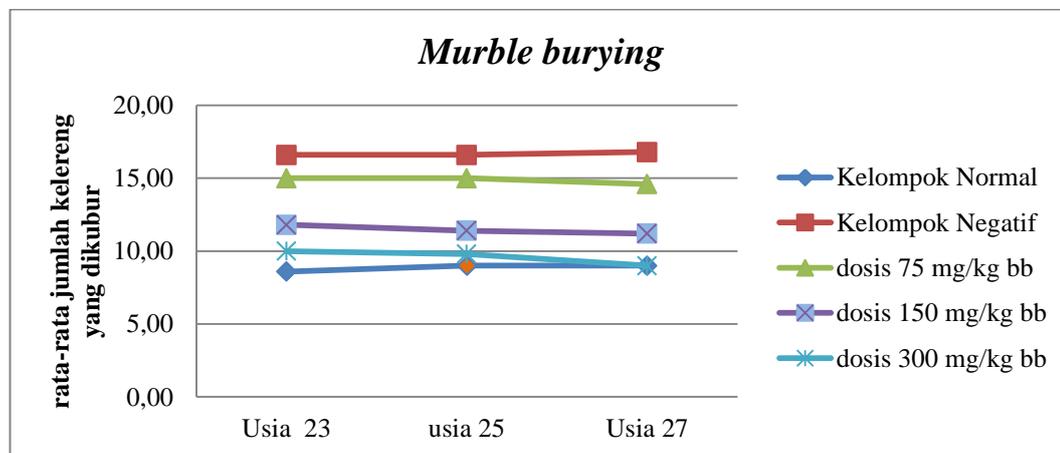
- a : berbeda signifikan dengan kelompok normal ($p < 0.05$)
- b : berbeda signifikan dengan kelompok negative ($p < 0.05$)

Jika nilai $p < 0.05$ dianggap berbeda signifikan secara statistik. Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui jika rata-rata *murble burying* mengalami perbedaan signifikan pada msing-masing kelompok. pada kelompok normal hasilnya menunjukkan pergerakan yang normal karena pada kelompok normal mencit tidak diberikan kontrol. Pada kelompok negatif yang didiagnosa mengalami autisme hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan bila dibandingkan kelompok normal. Karena nilai signifikansinya 0,00

Pada kelompok negatif diberikan asam valproat dengan dosis 400 mg/kg bb secara sukutan pada umur mencit 14 hari untuk menjadikan mencit mengalami autisme. Autisme pada mencit ditunjukkan dengan perilaku yang lebih aktif sehingga memberikan nilai skor yang lebih tinggi bila dibandingkan kelompok negatif. Kelompok kontrol dosis terkecil 75 mg/kg menunjukkan terjadinya peningkatan signifikan bila dibandingkan dengan kelompok normal karena nilai signifikansinya lebih dari 0,05 tetapi dosis ini belum menunjukkan efek untuk pengobatan autisme.

Kelompok kontrol dosis 150 mg/kg dan dosis 300 mg/kg yang diberikan pada umur 15 hari sampai umur umur 28 hari menunjukkan penurunan adanya perbedaan yang bermakna dengan kelompok negatif. Dosis ini memberikan efek

yang sebanding dengan kelompok normal karena pada hampir sama dengan kelompok normal . Dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Murble burying

2. Uji *digging* dan *grooming*

Pengujian *digging* dan *grooming* bertujuan untuk pengamatan perilaku berulang pada mencit autis Uji dilakukan dengan memasukan mencit ke dalam kandang yang diisi sekam bersih dan dibiasakan selama 10 menit, selanjutnya waktu akumulatif *grooming* dan *digging* diamati secara bersamaan pada 10 menit selanjutnya. *Grooming* yang dicatat adalah *grooming* yang dilakukan pada semua bagian tubuh (Kim *et al* 2014). Hal yang dinilai adalah berapa banyak *digging* dan *grooming* yang dilakukan mencit.

Tabel 7. Rata-rata jumlah kelereng yang dikubur masing-masing kelompok perlakuan

Kel. Uji	Rata-rata <i>grooming</i> & <i>digging</i> ± SD		
	Umur 24±SD	Umur 26±SD	Umur 28±SD
I	3.80± 1.30	3.40± 1.14	40± 1.14 ^b
II	14.20± 1.92	14.60± 3.01	40± 2.41 ^a
III	9.80± 2.52	9.20± 2.77	40± 1.67 ^a
IV	5.20± 1.94	4.40 ± 1.14	80± 1.64 ^{ab}
V	5.00 ± 0.71	4.20± 1.30	40± 2.30 ^{ab}

keterangan :

- I. : kelompok normal
- II. : kelompok negatif
- III. : kelompok dosis 75 mg/kg bb
- IV. : kelompok dosis 150 mg/kg bb
- V. : kelompok dosis 300 mg/kg bb

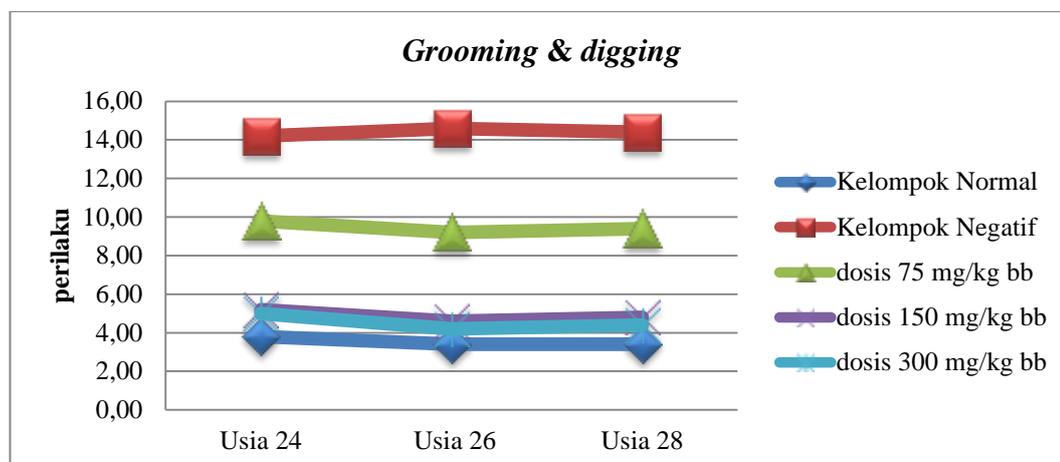
Berbeda signifikan dengan :

- a : berbeda signifikan dengan kelompok normal ($p < 0.05$)
- b : berbeda signifikan dengan kelompok negatif ($p < 0.05$)

Tabel 7 menunjukkan perubahan perilaku mencit yaitu *digging* dan *grooming*. *Digging* dan *grooming* disebabkan adanya stimulasi saraf simpatik dan bila terjadi peningkatan menunjukkan adanya depresi. *Grooming & digging* diamati secara bersamaan dilihat dari keseluruhan semua bagian tubuh. Perilaku berulang pada mencit dapat mencakup perilaku mengendus, berputar-putar, menggali, grooming serta melompat secara terus menerus dan berlebihan. Perilaku dalam bentuk grooming muncul sebagai pola yang normal, namun pada kondisi autisme perilaku ini berlangsung dalam jangka waktu yang lama (Silverman *et al* 2010).

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui pada dosis 75 mg/kg bb mengalami perbedaan yang signifikan dengan kelompok negatif karena pada dosis kelompok negatif dengan induksi asam valproat mencit hanya diberi makan dan CMC 0,5%. Pada kelompok dosis 150 mg/kg bb dan 300 mg/kg bb adanya perbedaan aktivitas *grooming & digging* yang signifikan dengan kelompok negatif karena pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak mampu memperbaiki tingkah laku terhadap mencit yang diinduksi asam valproat. Kelompok dosis 150 mg/kg bb dan 300 mg/kg bb menunjukkan penurunan perilaku *grooming & digging* yang hampir mendekati kelompok normal. Pada kelompok normal aktivitas *grooming & digging* yang dilakukan mencit tidak sebanyak dengan kelompok negatif, karena pada kelompok negatif mencit diberikan induksi asam valproat yang menyebabkan adanya gangguan depresi. Perilaku berulang pada mencit dapat mencakup perilaku mengendus, berputar-putar, menggali, grooming serta melompat secara terus menerus dan berlebihan.

Berdasarkan uji statistik waktu pengujian gejala *digging* dan *grooming* pada kelompok normal ($P \leq 0,05$) dan pada dosis 150 mg/kg dan 300 mg/kg berbeda secara bermakna dengan kelompok negatif karena pada kelompok negatif mengalami aktifitas *digging & grooming* disebabkan induksi asam valproat. kelompok uji dosis 75 mg/kg berbeda secara bermakna bila dibandingkan dengan kelompok negatif dan berbeda secara bermakna antara kelompok normal. Mencit yang diinduksi asam valproat tanpa diberi ekstrak dapat mengubur lebih banyak kelereng, selain itu aktivitas *grooming & digging* signifikan lebih lama dibandingkan dengan kontrol normal. Dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. *Grooming & digging*

3. Hasil uji Y-Maze

Uji Y-Maze merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menggambarkan fungsi memori spasial hewan uji. Memori spasial pada mencit cenderung mengeksplorasi lengan yang baru dikunjungi, sehingga mencit tersebut cenderung memasuki 3 lengan secara bergantian. Untuk pergantian efisien, mencit perlu menggunakan memori kerja dan dengan demikian mereka harus mengingat lengan terakhir yang dikunjungi dan secara menerus memperbarui catatan ingatan (Wietrzy *et al* 2005).

Y-Maze terdiri dari 3 lengan berbentuk Y dengan jarak antar lengannya 120° dan ukuran lengan 33x11x12 cm. pada pengujian dengan metode Y-Maze yang menggunakan hewan uji mencit (*Mus musculus*). Hewan uji diletakan ditengan-tengan Y-Maze kemudian biarkan bereksplorasi secara spontan ketiga lengan selama 5 menit (Simplice *et al* 2014) kemudian dihitung ketepatan memasuki lengan tersebut dengan menggunakan rumus:

$$\text{Persentase ketepatan} = \frac{\text{triple set berturut-turut}}{\text{jumlah lengan entri-2}} \times 100\%$$

Tabel 8. Rata-rata hasil persen ketetapan Y-Maze

Kel. Uji	Rata-rata persen ketetapan ± SD		
	Umur 35±SD	Umur 36±SD	Umur 37±SD
I	59.32± 1.14	60.72± 0.71	56.57± 1.22 ^b
II	31.91 ± 1.14	36.92± 1.30	30.71 ± 0.84
III	40.08± 1.34 ^a	45.33± 2.07 ^a	47.90± 2.35 ^a
IV	46.68± 1.34 ^b	51.96± 2.24 ^b	56.22± 2.41 ^b
V	53.05 ± 0.71 ^b	49.07± 0.84 ^b	57.77 ± 0.84 ^b

keterangan :

- I. : kelompok normal
- II. :kelompok negatif
- III. :kelompok dosis 75 mg/kg bb
- IV. :kelompok dosis 150 mg/kg bb
- V. :kelompok dosis 300 mg/kg bb

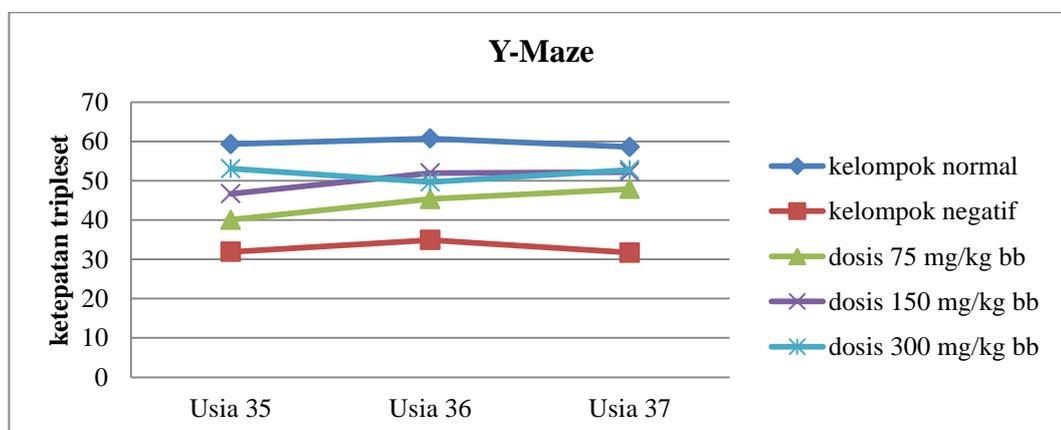
Berbeda signifikan dengan :

- a : berbeda signifikan dengan kelompok normal ($p < 0.05$)
- b : berbeda signifikan dengan kelompok negatif ($p < 0.05$)

Tabel 8 menunjukkan hasil persen ketetapan dari umur 35, 36, dan 37 kelompok negatif menunjukkan aktivitas terjadinya penurunan persentase ketetapan. Hal ini membuktikan bahwa induksi asam valproat mampu menurunkan memori spasial dari mencit.

Sedangkan pada kelompok yang diberi ekstrak etanol daun sirsak dosis 75 mg/kg bb, 150 mg/kg bb dan 300 mg/kg bb menunjukkan perbaikan memori parsial. Perbaikan memori parsial pada semua kelompok tikus yang diberi ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memberikan pengaruh terhadap perbaikan memori parsial dari mencit.

Dilihat dari hasil analisa post hoc test kelompok III, IV dan V dengan dosis ekstrak etanol daun sirsak 75, 150, dan 300 mg/kg bb menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok normal. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dosis 75, 150 dan 300 mg/kg bb mempunyai efek memperbaiki memori parsial secara nyata. Dapat dilihat pada grafik.



Gambar 5. Y.Maze

Pemaparan hasil uji perametik autisme dengan menggunakan *murble burying, grooming & digging* dan labirin *Y-Maze*. ekstrak daun sirsak memberikan efek memperbaiki gangguan autisme pada mencit yang di induksi asam valproat pada dosis 150 mg/kg dan 300 mg/kg telah memberikan efek perbaikan pada tingkah laku autisme . Pada pengujian dengan parameter labirin *Y-Maze* ekstrak etanol daun sirsak dosis 75 mg/kg, 150 mg/kg dan 300 mg/kg menunjukkan perbaikan memori parsial. Perbaikan memori parsial pada semua kelompok mencit yang diberi ekstrak.

Perbaikan perilaku dari mencit autisme terjadi karena daun sirsak mengandung antioksidan. Senyawa antioksidan adalah senyawa yang mampu menghilangkan dan menahan efek radikal bebas. Antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh dari bahan alami seperti betakaroten, vitamin C, vitamin E, flavonoid, isoflavon, antoxianin dan katekin (Winarsih 2007). Flavonoid sebagai koagulator protein, antidabetik, antifungi, anti kanker, imunostimulan (Prawito 2008 & Amalia *et al* 2002).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat dibuat kesimpulan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diberikan dapat memperbaiki gangguan autisme yang disebabkan paparan asam valproat.

Kedua, ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dosis 150 mg/kg bb dan 300 mg/kg bb dapat memperbaiki gangguan autisme yang disebabkan paparan asam valproat.

B. Saran

Dalam penelitian ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut lagi dengan variasi dosis.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode uji yang lain misalnya *open field test*, hispatologi dll.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang dari tanaman yang lain

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah M. Nasrat¹., Randa M. Nasrat², Mohammad M. Nasrat² 2017. *Autism and Alzheimer; The Etiopathologic Twins*. Department of Internal Medicine, Helwan General Hospital, Helwan, Egypt
- Achmad. S.A.1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Universitas Terbuka :Jakarta.hlm 39.
- Aminah¹, St. Maryam, Muzakkir Baits, Umami K. 2015. *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) Berdasarkan Tempat Tumbuh Dengan Metode Perendaman DPPH*. Jurnal Fitofarmaka Indonesia, Vol. 3 No.1
- Amalia, Erna, dan Fitriani Normasari SP. 2002. *Tata Cara Praktis Budidaya tanaman Obat dan Pembuatan Obat Tradisional (Sebuah Persembahan Dari PJ Sekar Kedhaton)* Yogyakarta: PJ Sekar Kedhaton.
- Anand, A., Shekhar, A., 2003. Brain imaging studies in mood and anxiety disorders: special emphasis on the amygdala. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 985, 370–388.
- Andri Priyatna. 2010. *Amazing Autism- Memahami, Mengasuh dan Mendidik Anak Autis* Jakarta: Elex Komputindo.
- Anief M. 1997. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hml 169
- Ansel H.C. 1989. *Pengantar Bentu Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Ibrahim F, Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Form*. Hlm 312,605.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar bentuk sediaan farmasi*. Edisi IV. Farida I, penerjemah; Jakarta : Universitas Indonesia. Terjemahan dari *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. Hlm 519.
- Banji. D, Otilia J.F, Saidulu Abbagoni, Md. Sikinder Hayath, Srilatha Kambam, Vijaya Lakshmi C. 2011. *Amelioration of behavioral aberrations and oxidative markers by green tea extract in valproate induced autism in animals*, *BRAINRESEARCH* 1410, 141-151
- Berliani, T . 2016. *Pengaruh Induksi Metilmerkuri serta Pemberian DHA (Asam Dokosaheksaenoat) Prenatal Terhadap Model Mencit Autisme* [Tesis]. Bandung: Program Studi Magister Farmasi, Institut Teknologi Bandung.

- Bromley, Rebecca, Jennifer W, Naghme A, Janette G, Anna S, 2014. *Treatment for epilepsy in pregnancy: neurodevelopmental outcomes in the child (review)*. Cochrane Database of Systematic Reviews ; 10(1):1465-858.
- Chauhan, A., Chauhan, V., Cohen, I.L., and Brown, W.T. 2006. Increased lipid peroxidation and membrane rigidity in autism: relationship with behavior abnormalities. in: *Oxidative Stress in Autism Symposium*, Institute for Basic Research in Developmental Disabilities
- Clarkson, T.W., Magos, L., Myers, G.J 2003. The Toxicology of Mercury Current Exposures and Clinical Manifestations. Review Article. *The New England Journal of Medicine*. Vol.349, No.18,pp1731-1737
- Dai M & Triharman F. 2010. Uji Aktifitas penangkapan radikal DPPH isolate alfa mangoostin kulit buah manggis. *Pharmacon* 11(2).
- Deacon, R. M.J 2006. Digging And Marbel Burying In Mice; Sample Methods For In Vivo Identification Of Biological Impacts. *Nature Protocols*. Vol.1 no.1
- [Depkes RI] *Dapertemen Kesehatan Replublik Indonesia*. 1985. Cara Pembuatan Simplisia. Jakarta: Dapertemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 10-11
- [Depkes] Depertemen kesehatan. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Depertemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm XXX, 12.
- Departemen Kesehatan. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 4-11, 25-26
- Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik. Jilid III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- [Depkes]Dapertemen kesehatan 2001. *Inventaris Tanaman obat Indonesia*. Edisi 1 jilid 2.Jakarta: Dapertemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Desmiaty Y, Ratih H, Dewi M.A, Agustin R.2008. *Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Blanda (Guazuma ulmifolia Lamk) dan Daun Sambang darah (Excoecaria bicolor Hassk) Seacara Kolimetri dengan Prediksi Biru Prusia*. *Ortocorpus*.8,106-109.
- Fahrudi, M. 2010. *Gambaran Umum Deteksi Dini Gangguan Mental Dan Faktor Pencetus Gangguan Mental*. Surakarta: Jurnal Kesehatan.

- Faisal. 2003. *Autisme Suatu Gangguan Pada Anak-anak*. Jakarta: Pustaka Popular Obor
- Fauziah L., Jhons F. 2016. Paparan Prenatal Valproat dan *Autism Spectrum Disorder* (ASD) pada Anak. Lampung. Fakultas Kedokteran, Bagian Parasitologi Universitas Lampung
- Fitrianingsih, S.P 2013. Uji Daya Ingat Anak Tikus dari Induk Tikus Galur Wistar yang Diberi Kombinasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda dan Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak dengan Metode Labyrin Y dan Morris Water Maze [skripsi] Bandung: Fakultas Farmasi, Universitas Islam Bandung
- Gamoh S., Hasimoto, M., Sugioka K., Hossain, M. S., Hata, N., Misawa, Y., Masumura, S 1999. Chronic Administration Of Docosahexaenoic Acid Improves Reference Memory-Related Learning Ability In Young Rats. *Neuroscience*, Vol. 93, No.1, pp. 31-51.
- Goldwitz, D., Hamre, K., 1998. The cells and molecules that make a cerebellum. *Trends Neurosci.* 21, 375–382.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam: Farmakognosi*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hapsari T. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari kulit Buah Kenitu (Chrysophyllum cainito L.) Terhadap Escherichia coli ATCC 25922* [Skripsi]. Fakultas farmasi, Universitas Seti Budi Surakarta.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed ke-2. Diterjemahkan Ibrahim F. Bandung: ITB Bandung Press.
- Hargermen, A.E. *Tanin Handbook*. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University. 2002.
- Hernani, Rahardjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: penebar Swadaya. Hal 9-10, 10-11 & 15.
- Judarwanto, W., 2006. Terapi Diet Untuk Gangguan Perilaku Anak, Klinik Biomedis Gangguan Perilaku dan Kesulitan Makan Anak, Jakarta
- Kessick, R. 2009. *Autisme & masalah pada sistem pencernaan yang penting untuk anda ketahui*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka
- Khlifi S, Hachmini Y, Khalil A, Safi N, Abbouyi A. 2005. In vitro antioxidant effect of *Globularia alypum* L. Hy drometanolic extract. *Indian J Pharmacol* 37(4). hlm 227-231.

- Kim , J. W., Seung , H., Kwon, K. J., Ko, M. J., Lee, E. J., Oh, H. A., Choi, C.S., Kim, K. C., Gonzales, E. L., You. J. S., Choi, D. H., Lee, J., Han, S. H., Yang, S. M., Cheong, J.H., Shin, C. Y., Bahn, G.H. 2014. Subchronic Treatment of Donepezil Rescues Impaired Social, Hyperactive, and Stereotypic Behavior in Valproic Acid-Induced Animal Model of Autism. *Plos One*. Vol.9(8) pp: 1-12.
- Kim,H., Lim C.S., Kaang, B.K. 2016. Neuronal Mechanisms And Circuits Underlying Repetive Behaviors In Mouse model Of Autisme Spectrum Disorder. *Behav Brain Funct* 12:3, pp 1-13
- Koeman JH. 1987. *Pengantar umum toksikologi*. Yogyakarta: Gadjah Mada Unuversity Perss
- Mardiana J., Ratnasari, J., 2011. *Ramuan dan Khasiat Sirsak*, Penebar Swadaya; Jakarta
- Markram, K., Rinaldi, T., Mendola, D.L., Sandi, C., Markram, H., 2007. Abnormal fear conditioning and amygdala processing in an animal model of autism. *Neuropsychopharmacology* 1–12.
- Marpaung W. 2014. *Social Skill Training untuk Meningkatkan Keterampilan Sosial pada Anak Autistic Spectrum Disorder [Tesis]*. Medan: Universitas Sumatera Utara,.
- Moore, A. 2010. *Jenis kelainan pada anak*. Jogjakarta: Kalamboti
- Prawito SP. 2008. *Cosmetics antiketombe*. In *Wasitaatmaja Sm, rata IGAK, editors. Cosmeceuticals*. Jakarta
- Priyatna A. 2010. *Amazing Autism, Memahami, Mengasuh, dan mendidik Anak Autis*. Jakarta: Gramedia.
- Purwatesna E., 2012. *Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak Secara In Vitro Melalui Inhibisi Enzim α -glukosidase, Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Intitut Pertanian Bogor, Bogor
- Rosemary T. 2002. *Makanan Sehat Anak Autis*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. Hlm 30-32, 340-342.
- Sauriasari R. 2006. *Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas*. <http://www.chemis-try.org>

- Selawa W, Runtuwene MRJ, Citraningtyas G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Jurnal Ilmiah Farmasi –UNSRAT* Vol. 2 No. 01.
- Silverman, J.L., Yang, M., Lord, C., Crawley, J.N. 2010. Behavioural Phenotyping Assays for Mouse Models of Autism. *Nature Reviews Neuroscience*. Vol 11(7): 490-502
- Simplice FH, David ET, Herve NA. 2014. *Research Article Enhancing Spatial memory : Anxiolytic and antidepesant effect of tapinanthus dodoneifolius* (DC) Danser in mice. *Neurologi Research International*
- Soenardi T. 2002. Hubungan Sehat Anak Autis. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama
- Soetardjo. 2007. Kecemasan Orang Tua Pada Anak Autis.. Jakarta: Gramedia Pustaka utama
- Sugiyatno. 1995. *Petunjuk Praktikum Fitokimia dan Toksikologi*. Edisi IV. Fakultas Farmasi. UGM. Lab. Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta.
- Sutadi, R. 2011. *Epidemiologi Autisme* : Yogyakarta: Pustaka Angrek.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Fermasi*. Diterjemahkan oleh Neorono S. Edisi V. UGM Press. Yogyakarta r
- Wietrzych M, Meziane H, Sutter A, Ghyselinc N, Capman Pf, *et al* . 2015. Working memory deficits in retinoid x rece[tor gamma deficient mice. *Learn Men* 12:318:326
- Widodo A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Fraksi etil Asetat, Fraksi Kloroform, dan Fraksi *n-heksan* Ekstrak Metanol BuahMerah (*Pandanus conoideus Lam*) terhadap Radikal DPPH (*1,1-difenit-2-pikrilhidrazil*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi.Universitas Setia Budi.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius Hal 18-20.
- Yatim S. 2007. *Anak Autis: Mendidik Anak Autis dan Gangguan Mental Lain Menuju Anak Cerdas dan Sehat*. Jogjakarta: Katahati
- Yochum, C.L., Dowling, P., Reuhl, K.R., Wagner, G.C., Ming, X 2008. VPA-induced apoptosis and behavioral deficits in neonatal mice. *Brain Res*. 1203, 126–132.

- Silverman, J.L., Yang, M., Lord, C., Crawley, J.N (2010). Behavioural Phenotyping Assays for Mouse Models of Autism. *Nature Reviews Neuroscience*. Vol 11(7): 490-502
- Simplice FH, David ET, Herve NA. (2014). *Research Article Enhancing Spatial memory : Anxiolytic and antidepressant effect of tapinanthus dodoneifolius (DC) Danser in mice*. Neurologi Research International
- Soenardi T. 2002. Hubungan Sehat Anak Autis. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama
- Soetardjo. 2007. Kecemasan Orang Tua Pada Anak Autis.. Jakarta: Gramedia Pustaka utama
- Sugiyatno. 1995. *Petunjuk Praktikum Fitokimia dan Toksikologi*. Edisi IV. Fakultas Farmasi. UGM. Lab. Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta.
- Sutadi, R. 2011. *Epidemiologi Autisme* : Yogyakarta: Pustaka Anggrek.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Fermasi*. Diterjemahkan oleh Neorono S. Edisi V. UGM Press. Yogyakarta r
- Wietrzych M, Meziane H, Sutter A, Ghyselinck N, Capman Pf, *et al* . 2015. Working memory deficits in retinoid x recep[tor gamma deficient mice. *Learn Mem* 12:318:326
- Widodo A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Fraksi etil Asetat, Fraksi Kloroform, dan Fraksi *n-heksan* Ekstrak Metanol BuahMerah (*Pandanus conoideus Lam*) terhadap Radikal DPPH (*1,1-difenit-2-pikrilhidrazil*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius Hal 18-20.
- Yatim S. 2007. *Anak Autis: Mendidik Anak Autis dan Gangguan Mental Lain Menuju Anak Cerdas dan Sehat*. Jogjakarta: Katahati
- Yochum, C.L., Dowling, P., Reuhl, K.R., Wagner, G.C., Ming, X (2008). VPA-induced apoptosis and behavioral deficits in neonatal mice. *Brain Res*. 1203, 126–132.
- Zoroglu, S.S., Armutcu., *et al* 2004. Increased oxidative stress and altered activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes in autism. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci*. 254, 143–147.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Hasil determinasi



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

Nomor : 190/UN27.9.6.4/Lab/2016
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Mufaricha Nur'ariroh
NIM : 19133953A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Annona muricata* L.
Familia : Annonaceae

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

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-46c-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107b-186b-287b-288b-289b-298b-302b-308b-309b-310b-311a-312a-313b
1b-10b-13b-17a
1a-2a

10. Annonaceae
27. Annona
Annona muricata L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon menahun, tinggi tanaman 3-8 m. Akar : tunggang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : batang tegak, bercabang banyak, berbentuk bulat, berkayu, diameter 5-10 cm, permukaan kulit batang halus tetapi kasar dan pecah-pecah seiring bertambahnya umur, terdapat lentisel, berwarna abu-abu kusam atau abu-abu, ranting berwarna coklat. Daun : tunggal, terletak berseling, bentuk memanjang hingga memanjang-lanset, panjang 5.5-18 cm, lebar 2.5-7.6 cm, ujung meruncing pendek, pangkal daun tumpul, tepi daun rata, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun mengkilat dan berwarna hijau tua, permukaan bawah daun kasar dan berwarna hijau muda; panjang tangkai daun 3-10 mm, permukaan halus, berwarna hijau. Bunga : tunggal, berdiri sendiri atau berpasangan dan berhadapan dengan daun, bau tak enak; panjang tangkai bunga 2.5 cm; kelopak bunga berwarna hijau kekuningan, berjumlah 3, berbentuk segitiga, panjang 4 mm; daun mahkota bunga berwarna kuning kehijauan, berjumlah 6 dalam dua lingkaran, 3 bagian luar lebih lebar, berbentuk bulat telur, panjang 3-5 cm, lebar 2-4 cm, tebal 3 mm, berdaging, 3 bagian dalam lebih kecil dan tipis, bulat, cekung dan tepi saling tumpang tindih, panjang 2-4 cm, lebar 1.5-3.5 cm; benang sari berjumlah banyak, dalam beberapa baris, panjang 4-5 mm, berbentuk perisai, tangkai benang sari berambut padat; putik berjumlah banyak dan berwarna putih, diameter 5 mm, dengan stigma lengket dan panjang tangkai putik 2-3 mm. Buah : buah sejati ganda tipe agregat/sinkarp, panjang 14-40 cm, diameter 10-18 cm, berbentuk bulat telur, hati atau lonjong, berwarna hijau tua ketika muda dan hijau kekuningan ketika masak, beratnya mencapai 500 g, ditutupi oleh duri yang panjangnya 6 mm, daging buah berwarna putih dan berair. Biji : bentuk memanjang, panjang 1-2 cm, berat 0.33-0.59 g, berwarna hitam ketika masak.

Surakarta, 23 Desember 2016

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan



Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Dr. Moewardi General Hospital

RSUD Dr. Moewardi

School of Medicine Sebelas Maret University

Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret



ETHICAL CLEARANCE

KELAIKAN ETIK

Nomor : 596 / VI / HREC / 2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret University Of Surakarta

Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

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

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

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI ASAM VALPROAT

Principal investigator : Mufaricha Nur'ariroh
Peneliti Utama 19133953A

Location of research : Pusat Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
Dinyatakan laik etik

Issued on : 21 Juni 2017

Chairman
Ketua

Dr. Han Wujogo, dr. Sp.F,MM
NIP. 19621022-199503 1 001

Lampiran 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
5000 g	1750 g	35 %

Perhitungan rendemen

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

$$\text{Rendemen} = \frac{5000 \text{ g}}{1750 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$= 35 \%$$

Lampiran 4. Hasil rendemen serbuk daun sirsak

Berat sebelum diserbuk (g)	Berat setelah diserbuk(g)	Rendemen (%)
1750 g	1140 g	65%

Perhitungan rendemen

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

$$\text{Rendemen} = \frac{1750 \text{ g}}{1140 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$= 65\%$$

Lampiran 5. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun sirsak

Berat basah (gram)	kelembaban(%)
2,00	7,4%
2,00	7,5%
2,00	7,4%
Rata-rata	7,43%

Serbuk daun sirsak

- Replikasi 1 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 7,4%
- Replikasi 2 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 7,5%
- Replikasi 3 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 7,4%

Maka didapatkan hasil rata-rata susut pengeringan daun sirsak sebesar 7,43%

Lampiran 6. Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirsak

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	104,56	20,9%

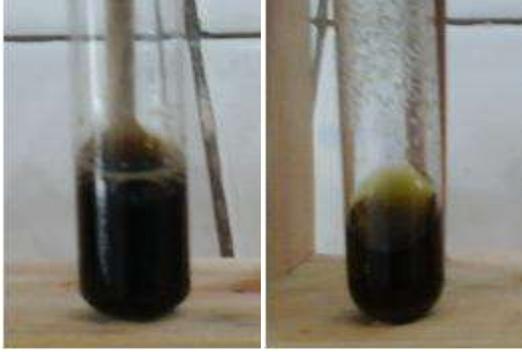
Perhitungan rendemen

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

$$\text{Rendemen} = \frac{500 \text{ g}}{104,56 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$= 20,9\%$$

Lampiran 7. Identifikasi senyawa daun sirsak dengan metode reaksi kimia

senyawa	Hasil
<p style="text-align: center;">Tanin</p>	
<p style="text-align: center;">Saponin</p>	
<p style="text-align: center;">Alkaloid</p>	
<p style="text-align: center;">Flavonoid</p>	

Lampiran 8. Alat dan bahan

Y-Maze



Moisture balance



Asam Valproat



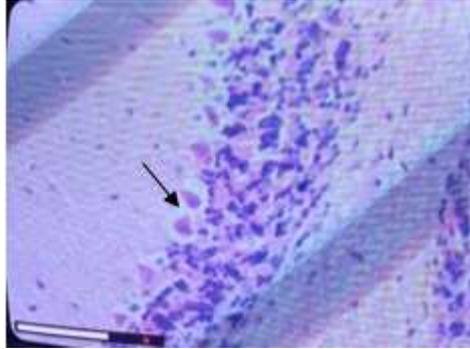
Ekstrak daun sirsak



Daun sirsak

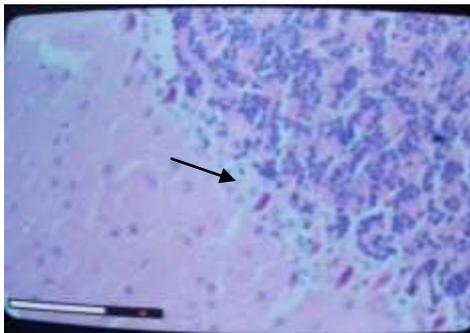
Lampiran 9. Foto hasil orientasi dosis asam valproat

Uji hispatologi



**Gambaran Histopatologi otak (Normal)
perbesaran 100 X**

Keterangan: pada panah di gambar menunjukkan kelompok normal masih saling berdekatan cerebellumnya



**Gambaran Histopatologi otak 400 mg/kg bb (Autis)
perbesaran 100 X**

Keterangan : pada panah di gambar menunjukkan dosis 400mg sudah mampu merusak otak cerebellum

Lampiran 10. Perhitungan dosis

1. Induksi asam valproat

Induksi asam valproat menggunakan dosis 400 mg/kg

$$\text{Dosis asam valproat} = \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \text{berat badan mencit (gram)}$$

$$\text{Contoh: dosis} = \frac{4 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ gram} = 8 \text{ mg}$$

Dosis asam valproat yang digunakan pada mencit dengan berat badan 20 gram adalah 8 mg.

Larutan stock 1 % = 1 gram /100 ml saline = 10 mg/ml

$$\text{Volume pemberian secara S.C untuk bb 20 gram} = \frac{8 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

2. Larutan CMC

Larutan stock CMC 0,5%

$$\frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 5 \text{ mg/ml}$$

Volume pemberian untuk mencit yang memiliki berat 20 gram dengan larutan CMC 0,5% adalah x ml.

3. Larutan stock ekstrak 0,5%

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock ekstrak 0,5\%} &= 0,5 \text{ gram /100 ml} \\ &= 500 \text{ mg/100 ml} \\ &= 5 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

4. Dosis ekstrak daun sirsak 75 mg/kg bb

$$\text{Untuk tikus berat badan 20 gram bb mencit} = \frac{75 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ gram} = 1,5 \text{ mg/20 bb mencit}$$

$$\text{volume pemberiannya} = \frac{1,5 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$$

5. Dosis ekstrak daun selirsak 150 mg/kg bb

$$\text{Untuk tikus berat badan 20 gram mencit} = \frac{150 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ gram} = 3 \text{ mg/20 bb mencit}$$

$$\text{volume pemberiannya} = \frac{3 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$$

6. Dosis ekstrak daun sirsak 300 mg/kgbb

$$\text{Untuk tikus berat badan 20 gram mencit} = \frac{300 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ gram} = 6 \text{ mg/20 bb mencit}$$

$$\text{volume pemberiannya} = \frac{6 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,2 \text{ ml}$$

Lampiran 11. Hasil (*Repetitive Behavior*) Murble Burying umur 23, 25, 27

Kelompok	Umur 23		Umur 25		Umur 27	
		SD		SD		SD
Normal.1	10.00	1.14	8.00	0.71	9.00	1.22
Normal.2	9.00		9.00		10.00	
Normal.3	7.00		9.00		9.00	
Normal.4	8.00		10.00		10.00	
Normal.5	9.00		9.00		7.00	
Rata-rata	8.60		9.00		9.00	
Negatif.1	17.00	1.14	16.00	1.30	17.00	0.84
Negatif. 2	18.00		18.00		16.00	
Negatif .3	15.00		19.00		16.00	
Negatif .4	17.00		16.00		17.00	
Negatif .5	16.00		17.00		18.00	
Rata-rata	16.60		17.20		16.80	
Dosis 75.1	13.00	1.34	14.00	2.07	9.00	2.35
Dosis 75.2	12.00		11.00		14.00	
Dosis 75.3	15.00		15.00		13.00	
Dosis 75.4	13.00		16.00		15.00	
Dosis 75.5	15.00		12.00		14.00	
Rata-rata	13.60		13.60		13.00	
Dosis 150.1	8.00	1.67	9.00	2.24	8.00	2.41
Dosis 150.2	10.00		11.00		9.00	
Dosis 150.3	8.00		7.00		7.00	
Dosis 150.4	12.00		10.00		11.00	
Dosis 150.5	9.00		13.00		13.00	
Rata-rata	9.40		10.00		9.60	
Dosis 300.1	10.00	0.71	11.00	0.84	10.00	0.84
Dosis 300.2	9.00		10.00		9.00	
Dosis 300.3	10.00		10.00		10.00	
Dosis 300.4	11.00		9.00		9.00	
Dosis 300.5	10.00		9.00		11.00	
Rata-rata	10.00		9.80		9.00	

**Lampiran 12. Hasil (*Repetitive Behavior*) *Grooming & Digging* umur 24, 26,
28**

Kelompok	Umur 24		Umur 26		Umur 28	
		SD		SD		SD
Normal.1	3.00	1.30	4.00	1.14	4.00	1.14
Normal.2	5.00		2.00		3.00	
Normal.3	2.00		3.00		3.00	
Normal.4	4.00		3.00		5.00	
Normal.5	5.00		5.00		2.00	
Rata-rata	3.80		3.40		3.40	
Negatif.1	14.00	1.92	15.00	3.01	16.00	2.41
Negatif. 2	15.00		18.00		13.00	
Negatif .3	13.00		15.00		15.00	
Negatif .4	12.00		16.00		17.00	
Negatif .5	17.00		9.00		11.00	
Rata-rata	14.20		14.60		14.40	
Dosis 75.1	13.00	2.59	12.00	2.77	10.00	1.67
Dosis 75.2	11.00		10.00		8.00	
Dosis 75.3	9.00		8.00		12.00	
Dosis 75.4	10.00		5.00		8.00	
Dosis 75.5	6.00		11.00		9.00	
Rata-rata	9.80		9.20		9.40	
Dosis 150.1	4.00	1.92	3.00	1.14	4.00	1.64
Dosis 150.2	6.00		4.00		7.00	
Dosis 150.3	5.00		6.00		6.00	
Dosis 150.4	8.00		4.00		4.00	
Dosis 150.5	3.00		5.00		3.00	
Rata-rata	5.20		4.40		4.80	
Dosis 300.1	5.00	0.71	3.00	1.30	6.00	2.30
Dosis 300.2	4.00		6.00		7.00	
Dosis 300.3	5.00		3.00		2.00	
Dosis 300.4	5.00		5.00		5.00	
Dosis 300.5	6.00		4.00		2.00	
Rata-rata	5.00		4.20		4.40	

Lampiran 13. Hasil pengamatan intelegensia Y-Maze umur 35

umur 35					
		n	triplet set	% = {Triplet set/ (n-2)}*100	SD
Normal.1	CABACBACBCACACBCACBC	20	13	72.22	9.65
Normal.2	BCABCBCABCBCBBACBAABCAB	25	12	52.17	
Normal.3	CBABABACBACBABCABACB	20	10	55.56	
Normal.4	ACABCCCBCCABC	14	8	66.67	
Normal.5	BABCBAABCBCB	14	6	50.00	
			rata-rata	59.32	
Negatif.1	CB	2	0	0.00	21.69
Negatif. 2	CBCBCBACB	9	3	42.86	
Negatif .3	CBACACABACBABABC	15	7	53.85	
Negatif .4	BABCBBB	7	1	20.00	
Negatif .5	BABCBAABC	9	3	42.86	
			rata-rata	31.91	
Dosis 75.1	ACBBCCABACBAC	13	5	45.45	8.84
Dosis 75.2	BABAACBABAC	10	2	25.00	
Dosis 75.3	ABCACABCACBCACACABACA	21	9	47.37	
Dosis 75.4	BCACABCACACACB	14	5	41.67	
Dosis 75.5	BABCBCBACABACAABAABCABC	24	9	40.91	
			rata-rata	40.08	
Dosis 150.1	CBABCABABCACBAC	15	9	69.23	13.71
Dosis 150.2	ABACBACACACBCBCB	16	5	35.71	
Dosis 150.3	ACBACBACBCCB	12	5	50.00	
Dosis 150.4	CBCABCACABACBC	15	5	38.46	
Dosis 150.5	BBCBABCABACB	12	4	40.00	
			rata-rata	46.68	
Dosis 300.1	AABCAABC	8	3	50.00	8.29
Dosis 300.2	CABCABACABACA	13	7	63.64	
Dosis 300.3	BACAACBCABCAC	13	5	45.45	
Dosis 300.4	ABCBABCABCBCACA	15	6	46.15	
Dosis 300.5	ABACBACABCACBCABA	17	9	60.00	
			rata-rata	53.05	

Lampiran 14. Hasil pengamatan intelegensia Y-Maze umur 36

Umur 36					
		n	triplet set	% = {Triplet set/ (n-2)}*100	SD
Normal.1	BCBCBCABACACABC	15	5	38.46	13.00
Normal.2	ACCAABCABCABCAB	15	9	69.23	
Normal.3	CBCABCABCABABA	14	8	66.67	
Normal.4	BCBACBC	7	3	60.00	
Normal.5	ACACBACBACBAACB	15	9	69.23	
			rata-rata	60.72	
Negatif.1	BCACABACBCACA	13	5	45.45	15.50
Negatif. 2	CBABCCBACACABA	14	4	33.33	
Negatif .3	CABACBA	7	2	40.00	
Negatif .4	ACABACBCABCACBCA	17	8	53.33	
Negatif .5	BACACACACA	10	1	12.50	
			rata-rata	36.92	
Dosis 75.1	CCBCABCABBCBCABACA	18	8	50.00	10.36
Dosis 75.2	ACBCBCACACBCABACBAB	19	7	41.18	
Dosis 75.3	CABCABACBABACBCB	17	10	66.67	
Dosis 75.4	BCBACBABCBBABA	14	6	50.00	
Dosis 75.5	ABCBACBCB	10	5	62.50	
			rata-rata	54.07	
Dosis 150.1	BABCACACBABACBCB	17	7	46.67	3.15
Dosis 150.2	CBBACACBCACCBACABCACCAB	22	9	45.00	
Dosis 150.3	CBCABCBCABCACACBACACA	21	9	47.37	
Dosis 150.4	BCABCACBCABCABCAACBACA	23	10	47.62	
Dosis 150.5	CABACABABCACACAC	17	6	40.00	
			rata-rata	46.66	
Dosis 300.1	CBAACABCABACAB	14	7	58.33	9.68
Dosis 300.2	ABCABACB	8	3	50.00	
Dosis 300.3	BABABCABCABABCAC	17	7	46.67	
Dosis 300.4	BCACBABCABCABACCABCA	22	7	35.00	
Dosis 300.5	ACCBCCABCABCAB	14	7	58.33	
			rata-rata	49.67	

Lampiran 15. Hasil pengamatan intelegensia Y-Maze umur 37

		n	triplet set	% = {Triplet set/ (n-2)}*100	SD
Normal.1	BACABCABCAABCABAAB	18	11	68.75	13.04
Normal.2	CBCABCABCBCABCCBACBCBCAC	21	7	36.84	
Normal.3	CACBACBCACCCBBACCBCA	18	8	50.00	
Normal.4	ABCACBACAACBA	13	7	63.64	
Normal.5	CBACBCBABACBA	13	7	63.64	
				56.57	
Negatif.1	BBABBCABCA	10	2	25.00	20.76
Negatif. 2	ABCBACBA	10	4	50.00	
Negatif .3	BABCBAABC	8	3	50.00	
Negatif .4	BABCBBBCA	9	2	28.57	
Negatif .5	BCBCBCAB	8	1	0.00	
				30.71	
Dosis 75.1	CABACBACACBCA	13	7	63.64	17.02
Dosis 75.2	CBACACBCABACBA	14	7	58.33	
Dosis 75.3	BCACABABCBCABABCBCACBAC	24	11	50.00	
Dosis 75.4	CBABCBCABCABCACBCBCABACABCCABCAC	36	18	52.94	
Dosis 75.5	BABCBAABABB	12	2	20.00	
				48.98	
Dosis 150.1	BACACBCACBAC	12	9	90.00	22.77
Dosis 150.2	ACABACABABCABCCAB	18	8	50.00	
Dosis 150.3	ABACBCACBCBCBCAB	16	6	42.86	
Dosis 150.4	CABCCACBCABCABCA	14	8	66.67	
Dosis 150.5	ACBCBABCBCACBACCABABCA	21	6	31.58	
				56.22	
Dosis 300.1	CBABACABCCBAACBA	16	7	50.00	10.46
Dosis 300.2	CABCCACBCABABCA	15	7	53.85	
Dosis 300.3	BACBACBCABABABCCABCABA	22	12	60.00	
Dosis 300.4	ACBCACAB	8	3	50.00	
Dosis 300.5	BCABCABCABCBCBACB	18	12	75.00	
				57.77	

Lampiran 16. Berat badan Mencit

	13 juli 2017	14 juli 2017	15 juli 2017	16 juli 2017	17 juli 2017	18 juli 2017	19 juli 2017
Kode	BB						
	Gram						
Normal.1	10	11	12	12	13	14	15
Normal.2	7	8	9	10	11	12	12
Normal.3	10	10	10	11	11	11	12
Normal.4	11	10	11	12	11	10	12
Normal.5	11	11	11	12	12	11	12
Negatif.1	9	9	9	11	12	13	13
Negatif.2	9	10	11	12	12	13	12
Negatif.3	8	9	10	9	11	10	12
Negatif.4	10	10	12	12	13	14	13
Negatif.5	11	11	11	12	12	11	13
Dosis 75.1	10	10	12	12	12	13	15
Dosis 75.2	11	11	12	12	12	14	14
Dosis 75.3	9	10	11	13	13	14	15
Dosis 75.4	12	12	13	13	13	14	14
Dosis 75.5	10	11	12	12	11	12	12
Dosis 150.1	11	12	13	13	14	14	15
Dosis 150.2	11	11	12	12	13	13	12
Dosis 150.3	10	10	10	11	12	12	13
Dosis 150.4	11	12	11	12	12	12	13
Dosis 150.5	9	9	10	10	12	11	12
Dosis 300.1	10	11	12	12	11	12	12
Dosis 300.2	12	12	13	14	14	12	12
Dosis 300.3	7	7	9	8	9	9	10
Dosis 300.4	9	9	10	11	12	12	12
Dosis 300.5	10	11	12	13	12	12	12

Lampiran 17. Hasil uji statistik one way anova *murble burying* umur 23

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<i>murble burying</i> umur 23 kelompok normal	.237	5	.200*	.961	5	.814
kelompok negatif	.237	5	.200*	.961	5	.814
dosis 75 mg/kg bb	.273	5	.200*	.852	5	.201
dosis 150 mg/kg bb	.201	5	.200*	.881	5	.314
dosis 300 mg/kg bb	.300	5	.161	.883	5	.325

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

murble burying umur 23

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.421	4	20	.263

ANOVA

murble burying umur 23

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	226.960	4	56.740	36.844	.000
Within Groups	30.800	20	1.540		
Total	257.760	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

murble burying umur 23
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-8.00000*	.78486	.000	-10.3486	-5.6514
	dosis 75 mg/kg bb	-5.00000*	.78486	.000	-7.3486	-2.6514
	dosis 150 mg/kg bb	-.80000	.78486	.844	-3.1486	1.5486
	dosis 300 mg/kg bb	-1.40000	.78486	.410	-3.7486	.9486
kelompok negatif	kelompok normal	8.00000*	.78486	.000	5.6514	10.3486
	dosis 75 mg/kg bb	3.00000*	.78486	.008	.6514	5.3486
	dosis 150 mg/kg bb	7.20000*	.78486	.000	4.8514	9.5486
	dosis 300 mg/kg bb	6.60000*	.78486	.000	4.2514	8.9486
dosis 75 mg/kg bb	kelompok normal	5.00000*	.78486	.000	2.6514	7.3486
	kelompok negatif	-3.00000*	.78486	.008	-5.3486	-.6514
	dosis 150 mg/kg bb	4.20000*	.78486	.000	1.8514	6.5486
	dosis 300 mg/kg bb	3.60000*	.78486	.001	1.2514	5.9486
dosis 150 mg/kg bb	kelompok normal	.80000	.78486	.844	-1.5486	3.1486
	kelompok negatif	-7.20000*	.78486	.000	-9.5486	-4.8514
	dosis 75 mg/kg bb	-4.20000*	.78486	.000	-6.5486	-1.8514
	dosis 300 mg/kg bb	-.60000	.78486	.938	-2.9486	1.7486
dosis 300 mg/kg bb	kelompok normal	1.40000	.78486	.410	-.9486	3.7486
	kelompok negatif	-6.60000*	.78486	.000	-8.9486	-4.2514
	dosis 75 mg/kg bb	-3.60000*	.78486	.001	-5.9486	-1.2514
	dosis 150 mg/kg bb	.60000	.78486	.938	-1.7486	2.9486

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

Homogeneous Subsets

murble burying umur 23

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok normal	5	8.6000		
dosis 150 mg/kg bb	5	9.4000		
dosis 300 mg/kg bb	5	10.0000		
dosis 75 mg/kg bb	5		13.6000	
kelompok negatif	5			16.6000
Sig.		.410	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 18. Hasil uji statistik one way anova *murble burying* umur 25

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
<i>murble burying</i> umur 25	kelompok normal	.300	5	.161	.883	5	.325
	kelompok negatif	.221	5	.200	.902	5	.421
	dosis 75 mg/kg bb	.180	5	.200	.952	5	.754
	dosis 150 mg/kg bb	.127	5	.200	.999	5	1.000
	dosis 300 mg/kg bb	.231	5	.200	.881	5	.314

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

murble burying umur 25

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.362	4	20	.088

ANOVA

murble burying umur 25

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	237.040	4	59.260	24.287	.000
Within Groups	48.800	20	2.440		
Total	285.840	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

murble burying umur 25
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-8.20000 [*]	.98793	.000	-11.1562	-5.2438
	dosis 75 mg/kg bb	-4.60000 [*]	.98793	.001	-7.5562	-1.6438
	dosis 150 mg/kg bb	-1.00000	.98793	.847	-3.9562	1.9562
	dosis 300 mg/kg bb	-.80000	.98793	.925	-3.7562	2.1562
kelompok negatif	kelompok normal	8.20000 [*]	.98793	.000	5.2438	11.1562
	dosis 75 mg/kg bb	3.60000 [*]	.98793	.012	.6438	6.5562
	dosis 150 mg/kg bb	7.20000 [*]	.98793	.000	4.2438	10.1562
	dosis 300 mg/kg bb	7.40000 [*]	.98793	.000	4.4438	10.3562
dosis 75 mg/kg bb	kelompok normal	4.60000 [*]	.98793	.001	1.6438	7.5562
	kelompok negatif	-3.60000 [*]	.98793	.012	-6.5562	-.6438
	dosis 150 mg/kg bb	3.60000 [*]	.98793	.012	.6438	6.5562
	dosis 300 mg/kg bb	3.80000 [*]	.98793	.008	.8438	6.7562
dosis 150 mg/kg bb	kelompok normal	1.00000	.98793	.847	-1.9562	3.9562
	kelompok negatif	-7.20000 [*]	.98793	.000	-10.1562	-4.2438
	dosis 75 mg/kg bb	-3.60000 [*]	.98793	.012	-6.5562	-.6438
	dosis 300 mg/kg bb	.20000	.98793	1.000	-2.7562	3.1562
dosis 300 mg/kg bb	kelompok normal	.80000	.98793	.925	-2.1562	3.7562
	kelompok negatif	-7.40000 [*]	.98793	.000	-10.3562	-4.4438
	dosis 75 mg/kg bb	-3.80000 [*]	.98793	.008	-6.7562	-.8438
	dosis 150 mg/kg bb	-.20000	.98793	1.000	-3.1562	2.7562

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

Homogeneous Subsets

murble burying umur 25

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok normal	5	9.0000		
dosis 300 mg/kg bb	5	9.8000		
dosis 150 mg/kg bb	5	10.0000		
dosis 75 mg/kg bb	5		13.6000	
kelompok negatif	5			17.2000
Sig.		.847	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 19. Hasil uji statistik one way anova *murble burying* umur 27

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<i>murble burying</i> umur 27 kelompok normal	.300	5	.161	.833	5	.146
kelompok negatif	.231	5	.200	.881	5	.314
dosis 75 mg/kg bb	.300	5	.161	.813	5	.103
dosis 150 mg/kg bb	.198	5	.200	.957	5	.787
dosis 300 mg/kg bb	.231	5	.200	.881	5	.314

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

murble burying umur 27

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.961	4	20	.139

ANOVA

murble burying umur 27

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	214.960	4	53.740	18.923	.000
Within Groups	56.800	20	2.840		
Total	271.760	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

murble burying umur 27
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-7.80000*	1.06583	.000	-10.9894	-4.6106
	dosis 75 mg/kg bb	-4.00000*	1.06583	.010	-7.1894	-.8106
	dosis 150 mg/kg bb	-.60000	1.06583	.979	-3.7894	2.5894
	dosis 300 mg/kg bb	-.80000	1.06583	.942	-3.9894	2.3894
kelompok negatif	kelompok normal	7.80000*	1.06583	.000	4.6106	10.9894
	dosis 75 mg/kg bb	3.80000*	1.06583	.015	.6106	6.9894
	dosis 150 mg/kg bb	7.20000*	1.06583	.000	4.0106	10.3894
	dosis 300 mg/kg bb	7.00000*	1.06583	.000	3.8106	10.1894
dosis 75 mg/kg bb	kelompok normal	4.00000*	1.06583	.010	.8106	7.1894
	kelompok negatif	-3.80000*	1.06583	.015	-6.9894	-.6106
	dosis 150 mg/kg bb	3.40000*	1.06583	.033	.2106	6.5894
	dosis 300 mg/kg bb	3.20000*	1.06583	.049	.0106	6.3894
dosis 150 mg/kg bb	kelompok normal	.60000	1.06583	.979	-2.5894	3.7894
	kelompok negatif	-7.20000*	1.06583	.000	-10.3894	-4.0106
	dosis 75 mg/kg bb	-3.40000*	1.06583	.033	-6.5894	-.2106
	dosis 300 mg/kg bb	-.20000	1.06583	1.000	-3.3894	2.9894
dosis 300 mg/kg bb	kelompok normal	.80000	1.06583	.942	-2.3894	3.9894
	kelompok negatif	-7.00000*	1.06583	.000	-10.1894	-3.8106
	dosis 75 mg/kg bb	-3.20000*	1.06583	.049	-6.3894	-.0106
	dosis 150 mg/kg bb	.20000	1.06583	1.000	-2.9894	3.3894

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

Homogeneous Subsets

murble burying umur 27

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok normal	5	9.0000		
dosis 150 mg/kg bb	5	9.6000		
dosis 300 mg/kg bb	5	9.8000		
dosis 75 mg/kg bb	5		13.0000	
kelompok negatif	5			16.8000
Sig.		.942	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 20. Hasil uji statistik one way anova *grooming & digging* umur 24

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
<i>Grooming & digging</i> umur 24	kelompok normal	.221	5	.200*	.902	5	.421
	kelompok autis	.141	5	.200*	.979	5	.928
	dosis 75 mg/kg bb	.179	5	.200*	.984	5	.955
	dosis 150 mg/kg bb	.141	5	.200*	.979	5	.928
	dosis 300 mg/kg bb	.300	5	.161	.883	5	.325

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Grooming & digging umur 24

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.389	4	20	.273

ANOVA

Grooming & digging umur 24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	376.800	4	94.200	28.896	.000
Within Groups	65.200	20	3.260		
Total	442.000	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Grooming & digging umur 24

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-10.400 [*]	1.142	.000	-13.82	-6.98
	dosis 75 mg/kg bb	-6.000 [*]	1.142	.000	-9.42	-2.58
	dosis 150 mg/kg bb	-1.400	1.142	.737	-4.82	2.02
	dosis 300 mg/kg bb	-1.200	1.142	.829	-4.62	2.22
kelompok negatif	kelompok normal	10.400 [*]	1.142	.000	6.98	13.82
	dosis 75 mg/kg bb	4.400 [*]	1.142	.008	.98	7.82
	dosis 150 mg/kg bb	9.000 [*]	1.142	.000	5.58	12.42
	dosis 300 mg/kg bb	9.200 [*]	1.142	.000	5.78	12.62
dosis 75 mg/kg bb	kelompok normal	6.000	1.142	.000	2.58	9.42
	kelompok negatif	-4.400 [*]	1.142	.008	-7.82	-.98
	dosis 150 mg/kg bb	4.600 [*]	1.142	.005	1.18	8.02
	dosis 300 mg/kg bb	4.800 [*]	1.142	.004	1.38	8.22
dosis 150 mg/kg bb	kelompok normal	1.400	1.142	.737	-2.02	4.82
	kelompok negatif	-9.000 [*]	1.142	.000	-12.42	-5.58
	dosis 75 mg/kg bb	-4.600 [*]	1.142	.005	-8.02	-1.18
	dosis 300 mg/kg bb	.200	1.142	1.000	-3.22	3.62
dosis 300 mg/kg bb	kelompok normal	1.200	1.142	.829	-2.22	4.62
	kelompok negatif	-9.200 [*]	1.142	.000	-12.62	-5.78
	dosis 75 mg/kg bb	-4.800 [*]	1.142	.004	-8.22	-1.38
	dosis 150 mg/kg bb	-.200	1.142	1.000	-3.62	3.22

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

Homogeneous Subsets

Grooming & digging umur 24

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok normal	5	3.80		
dosis 300 mg/kg bb	5	5.00		
dosis 150 mg/kg bb	5	5.20		
dosis 75 mg/kg bb	5		9.80	
kelompok negatif	5			14.20
Sig.		.737	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 21. Hasil uji statistik one way anova *grooming & digging* umur 26

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<i>grooming & digging</i> umur 24	kelompok normal	.237	5	.200*	.961	5	.814
	kelompok autis	.347	5	.058	.857	5	.217
	dosis 75 mg/kg bb	.213	5	.200*	.939	5	.656
	dosis 150 mg/kg bb	.237	5	.200*	.961	5	.814
	dosis 300 mg/kg bb	.136	5	.200*	.987	5	.967

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

grooming & digging umur 26

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.391	4	20	.273

ANOVA

grooming & digging umur 26

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	480.560	4	120.140	24.925	.000
Within Groups	96.400	20	4.820		
Total	576.960	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

grooming & digging umur 26
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-11.200*	1.389	.000	-15.35	-7.05
	dosis 75 mg/kgbb	-5.800*	1.389	.004	-9.95	-1.65
	dosis 150 mg/kgbb	-.200	1.389	1.000	-4.35	3.95
	dosis 300 mg/kgbb	-.600	1.389	.992	-4.75	3.55
kelompok negatif	kelompok normal	11.200*	1.389	.000	7.05	15.35
	dosis 75 mg/kgbb	5.400*	1.389	.007	1.25	9.55
	dosis 150 mg/kgbb	11.000*	1.389	.000	6.85	15.15
	dosis 300 mg/kgbb	10.600*	1.389	.000	6.45	14.75
dosis 75 mg/kgbb	kelompok normal	5.800*	1.389	.004	1.65	9.95
	kelompok negatif	-5.400*	1.389	.007	-9.55	-1.25
	dosis 150 mg/kgbb	5.600*	1.389	.005	1.45	9.75
	dosis 300 mg/kgbb	5.200*	1.389	.010	1.05	9.35
dosis 150 mg/kgbb	kelompok normal	.200	1.389	1.000	-3.95	4.35
	kelompok negatif	-11.000*	1.389	.000	-15.15	-6.85
	dosis 75 mg/kgbb	-5.600*	1.389	.005	-9.75	-1.45
	dosis 300 mg/kgbb	-.400	1.389	.998	-4.55	3.75
dosis 300 mg/kgbb	kelompok normal	.600	1.389	.992	-3.55	4.75
	kelompok negatif	-10.600*	1.389	.000	-14.75	-6.45
	dosis 75 mg/kgbb	-5.200*	1.389	.010	-9.35	-1.05
	dosis 150 mg/kgbb	.400	1.389	.998	-3.75	4.55

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

Homogeneous Subsets

Grooming & digging umur 26

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok normal	5	3.40		
dosis 150 mg/kgbb	5	3.60		
dosis 300 mg/kgbb	5	4.00		
dosis 75 mg/kgbb	5		9.20	
kelompok autis	5			14.60
Sig.		.992	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 22. Hasil uji statistik one way anova *grooming & digging* umur 28

Tests of Normality

kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
<i>grooming & digging</i> umur 28	kelompok normal	.237	5	.200*	.961	5	.814
	kelompok negatif	.198	5	.200*	.957	5	.787
	dosis 75 mg/kgbb	.201	5	.200*	.881	5	.314
	dosis 150 mg/kgbb	.287	5	.200*	.914	5	.490
	dosis 300 mg/kgbb	.251	5	.200*	.868	5	.257

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

grooming & digging umur 28

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.492	4	20	.242

ANOVA

grooming & digging umur 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	423.440	4	105.860	29.570	.000
Within Groups	71.600	20	3.580		
Total	495.040	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

grooming & digging umur 28

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-11.000*	1.197	.000	-14.58	-7.42
	dosis 75 mg/kgbb	-6.000*	1.197	.001	-9.58	-2.42
	dosis 150 mg/kgbb	-1.400	1.197	.768	-4.98	2.18
	dosis 300 mg/kgbb	-1.000	1.197	.916	-4.58	2.58
kelompok negatif	kelompok normal	11.000*	1.197	.000	7.42	14.58
	dosis 75 mg/kgbb	5.000*	1.197	.004	1.42	8.58
	dosis 150 mg/kgbb	9.600*	1.197	.000	6.02	13.18
	dosis 300 mg/kgbb	10.000*	1.197	.000	6.42	13.58
dosis 75 mg/kgbb	kelompok normal	6.000*	1.197	.001	2.42	9.58
	kelompok negatif	-5.000*	1.197	.004	-8.58	-1.42
	dosis 150 mg/kgbb	4.600*	1.197	.008	1.02	8.18
	dosis 300 mg/kgbb	5.000*	1.197	.004	1.42	8.58
dosis 150 mg/kgbb	kelompok normal	1.400	1.197	.768	-2.18	4.98
	kelompok negatif	-9.600*	1.197	.000	-13.18	-6.02
	dosis 75 mg/kgbb	-4.600*	1.197	.008	-8.18	-1.02
	dosis 300 mg/kgbb	.400	1.197	.997	-3.18	3.98
dosis 300 mg/kgbb	kelompok normal	1.000	1.197	.916	-2.58	4.58
	kelompok negatif	-10.000*	1.197	.000	-13.58	-6.42
	dosis 75 mg/kgbb	-5.000*	1.197	.004	-8.58	-1.42
	dosis 150 mg/kgbb	-.400	1.197	.997	-3.98	3.18

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

Homogeneous Subsets

grooming & digging umur 28

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok normal	5	3.40		
dosis 300 mg/kgbb	5	4.40		
dosis 150 mg/kgbb	5	4.80		
dosis 75 mg/kgbb	5		9.40	
kelompok negatif	5			14.40
Sig.		.768	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 23. Hasil uji statistik one way anova

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Y-MazeH1-H3	kelompok normal	.192	5	.200*	.964	5	.836
	kelompok negatif	.184	5	.200*	.954	5	.762
	dosis 75 mg/kg	.213	5	.200*	.968	5	.864
	dosis 150 mg/kg	.199	5	.200*	.974	5	.899
	dosis 300 mg/kg	.234	5	.200*	.888	5	.349

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Y-MazeH1-H3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.790	4	20	.054

ANOVA

Y-MazeH1-H3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1769.949	4	442.487	7.604	.001
Within Groups	1163.820	20	58.191		
Total	2933.769	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Y-MazeH1-H3
Tukey HSD

(I) kelompok normal	(J) kelompok normal	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	25.68800 [*]	4.82456	.000	11.2511	40.1249
	dosis 75 mg/kg	11.02000	4.82456	.191	-3.4169	25.4569
	dosis 150 mg/kg	8.74800	4.82456	.394	-5.6889	23.1849
	dosis 300 mg/kg	7.37800	4.82456	.557	-7.0589	21.8149
kelompok negatif	kelompok normal	-25.68800 [*]	4.82456	.000	-40.1249	-11.2511
	dosis 75 mg/kg	-14.66800 [*]	4.82456	.045	-29.1049	-.2311
	dosis 150 mg/kg	-16.94000 [*]	4.82456	.017	-31.3769	-2.5031
	dosis 300 mg/kg	-18.31000 [*]	4.82456	.009	-32.7469	-3.8731
dosis 75 mg/kg	kelompok normal	-11.02000	4.82456	.191	-25.4569	3.4169
	kelompok negatif	14.66800 [*]	4.82456	.045	.2311	29.1049
	dosis 150 mg/kg	-2.27200	4.82456	.989	-16.7089	12.1649
	dosis 300 mg/kg	-3.64200	4.82456	.940	-18.0789	10.7949
dosis 150 mg/kg	kelompok normal	-8.74800	4.82456	.394	-23.1849	5.6889
	kelompok negatif	16.94000 [*]	4.82456	.017	2.5031	31.3769
	dosis 75 mg/kg	2.27200	4.82456	.989	-12.1649	16.7089
	dosis 300 mg/kg	-1.37000	4.82456	.998	-15.8069	13.0669
dosis 300 mg/kg	kelompok normal	-7.37800	4.82456	.557	-21.8149	7.0589
	kelompok negatif	18.31000 [*]	4.82456	.009	3.8731	32.7469
	dosis 75 mg/kg	3.64200	4.82456	.940	-10.7949	18.0789
	dosis 150 mg/kg	1.37000	4.82456	.998	-13.0669	15.8069

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

Homogeneous Subsets

Y-MazeH1-H3

Tukey HSD^a

kelompok normal	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kelompok negatif	5	33.1800	
dosis 75 mg/kg	5		47.8480
dosis 150 mg/kg	5		50.1200
dosis 300 mg/kg	5		51.4900
kelompok normal	5		58.8680
Sig.		1.000	.191

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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