

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK DAUN PLETEKAN (*Ruellia tuberosa* L.) TERHADAP PARAMETER BUN (*Blood Ureum Nitrogen*), KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH**



**Oleh:**

**Dessy Tripuji Rahayu  
19133838A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK DAUN PLETEKAN (*Ruellia tuberosa* L.) TERHADAP PARAMETER BUN (*Blood Ureum Nitrogen*), KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Dessy Tripuji Rahayu  
19133838A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul:

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK DAUN PLETEKAN (*Ruellia tuberosa* L.) TERHADAP PARAMETER BUN (*Blood Ureum Nitrogen*), KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH**

Oleh :

**Dessy Tripuji Rahayu  
19133838A**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada Tanggal : 21 Juli 2017

Mengetahui  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Dekan



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

Pembimbing Utama

Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt  
Pembimbing Pendamping

Drs. Mardiyono, M.Si

Penguji :

1. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
2. Meta Kartika Untari, M.Sc., Apt
3. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt
4. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

1. .....

2. .....

3. .....

4. .....

## **PERSEMBAHAN**

Aku pernah jatuh sampai akhirnya terbangun jauh diantara sekitarku. Aku pernah sendiri sampai akhirnya aku pergi. Tapi dari jatuh dan dari kesendirianku, aku belajar untuk menyemangati diriku sendiri hingga aku mampu untuk selalu berdiri meskipun harus kembali jatuh berkali-kali. Jalur pendakian boleh beda, tapi puncak harus sama.

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

1. Allah SWT yang selalu memberiku kesehatan dan kelacaran dalam kehidupan ini.
2. Ibu (Sutini, S.Ip), Bapak (Haryono), serta kakakku (Enny Dwi Yuliani, S.Pd) yang ku cintai sepenuh hati, yang selalu memberikan semangat kepadaku serta, doa dan segalanya.
3. Keluarga besar ku yang selalu mendukung dan mendoakanku dikala jauh maupun dekat.
4. Teman terdekat ku (Arvinda Tribudi Susetyo) terimakasih telah menjadi yang tersabar dan selalu saling menyemangati.
5. Sahabat dan keluarga keduaku di kost cemerlang (Fristy, Mbak Endah, Mercy, Selin, Fitriana dan Fita) yang selalu memberikan semangat, doa dan selalu membantu, sukses untuk kita semua.
6. Teman kelas Teori 3 dan FKK3 yang selama ini telah banyak membantu dalam hal apapun selama di Solo.
7. Teman-teman KKN 12B 2017 Nusukan (Endah, Ance, Atika, Gani, Jaka, Amanda, Sukron, Desby dan Nanda) terimakasih atas semua pengalaman, kebersamaan dan kekeluargaan yang pernah kita lalui bersama.
8. Sahabat-sahabatku baik yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan dukungan semangat.
9. Agama, Almamater, Bangsa dan Negaraku Tercinta.

## PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 21 Juli 2017

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dessy Tripuji Rahayu', with a horizontal line underneath the name.

Dessy Tripuji Rahayu

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas semua limpahan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dan skripsi yang berjudul **“UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK DAUN PLETEKAN (*Ruellia tuberosa* L.) TERHADAP PARAMETER BUN (*Blood Ureum Nitrogen*), KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH”**.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis tidak lepas dari segala bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. RA., Oetari, SU., MM., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Ibu Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan pengarahan dan bimbingannya kepada penulis.
4. Bapak Drs. Mardiyono, M.Si selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan nasehat dan bimbingannya kepada penulis.
5. Segenap dosen, staff Laboratorium, serta karyawan perpustakaan yang telah banyak membantu dan menyediakan fasilitas demi kelancaran skripsi.
6. Semua pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharap segala saran dan kritik yang bersifat membangun. Penulis berharap semoga apa yang telah penulis kemukakan akan berguna baik bagi penulis dan bagi pembaca pada umumnya.

Surakarta, 21 Juli 2017



Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Pletekan ( <i>Ruellia tuberosa</i> L.).....	5
1. Klasifikasi tanaman .....	5
2. Nama lain .....	5
3. Morfologi tanaman.....	5

4.	Kandungan kimia .....	6
4.1.	Saponin.....	6
4.2.	Flavonoid.....	6
4.3.	Alkaloid.....	7
4.4.	Tanin.....	7
5.	Khasiat tanaman .....	7
B.	Simplisia.....	7
1.	Pengertian simplisia .....	7
2.	Cara pembuatan simplisia .....	8
2.1.	Pengumpulan.....	8
2.2.	Sortasi basah.....	8
2.3.	Pencucian.....	8
2.4.	Perajangan .....	8
2.5.	Pengeringan .....	8
C.	Ekstrak.....	8
1.	Pengertian ekstraksi.....	8
2.	Ekstraksi dengan menggunakan pelarut .....	9
2.1.	Maserasi .....	9
2.2.	Perkolasi .....	9
2.3.	Refluks .....	9
2.4.	Soxhlet.....	9
2.5.	Digesti .....	10
2.6.	Infudasi.....	10
2.7.	Dekok .....	10
3.	Pelarut.....	10
D.	Ginjal .....	10
1.	Pengertian ginjal.....	10
2.	Fisiologi ginjal.....	11
3.	Fungsi ginjal .....	12
4.	Metabolisme ginjal .....	13
4.1	Metabolisme ureum.....	13



4.2	Metabolisme kreatinin.....	13
5.	Gangguan pada ginjal.....	14
E.	Toksisitas.....	14
1.	Pengujian toksisitas.....	14
1.1.	Uji toksisitas akut.....	15
1.2.	Uji toksisitas subkronis.....	15
1.3.	Uji toksisitas kronik.....	15
1.4.	Uji teratogenik.....	15
1.5.	Uji mutagenik.....	16
1.6.	Uji karsinogenik.....	16
F.	Binatang Percobaan.....	17
1.	Sistematika hewan uji.....	17
2.	Karakteristik utama.....	17
3.	Penanganan.....	17
4.	Perlakuan.....	18
5.	Pengambilan darah.....	18
G.	Histopatologi Ginjal.....	18
H.	Landasan Teori.....	19
I.	Hipotesis.....	21
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>		<b>22</b>
A.	Populasi dan Sampel.....	22
1.	Populasi.....	22
2.	Sampel.....	22
B.	Variable Penelitian.....	22
1.	Identifikasi variabel utama.....	22
2.	Klasifikasi variabel utama.....	22
3.	Definisi operasional penelitian.....	23
C.	Bahan, Alat dan Hewan Percobaan.....	24
1.	Bahan.....	24
2.	Alat.....	24

3.	Hewan percobaan .....	24
D.	Jalannya Penelitian .....	24
1.	Determinasi tanaman pletekan .....	24
2.	Pembuatan serbuk daun pletekan .....	25
3.	Penetapan kelembaban serbuk daun pletekan .....	25
4.	Penetapan kadar air daun pletekan .....	25
5.	Pembuatan ekstrak etanol daun pletekan.....	25
6.	Identifikasi senyawa daun pletekan.....	26
7.	Uji bebas etanol .....	27
8.	Persiapan hewan uji dan bahan uji .....	27
8.1.	Perlakuan hewan uji. ....	27
8.2.	Penyiapan bahan uji .....	28
8.3.	Monitoring berat badan .....	29
8.4.	Pengambilan darah hewan uji.....	29
8.5.	Volume pemberian sediaan uji. ....	29
9.	Pengamatan gejala toksikitas subkronik.....	29
9.1.	Pemeriksaan kadar kreatinin .....	29
9.2.	Pemeriksaan kadar Blood Ureum Nitrogen (BUN). ....	30
9.3.	Pemeriksaan histopatologi.....	32
E.	Analisa Data .....	33
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		 37
1.	Determinasi tanaman pletekan .....	37
2.	Hasil pembuatan serbuk tanaman.....	37
3.	Hasil penetapan kelembaban serbuk daun pletekan .....	37
4.	Hasil penetapan kadar air serbuk daun pletekan .....	37
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun pletekan .....	38
6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia daun pletekan .....	38
7.	Hasil uji bebas etanol .....	39
8.	Hasil persiapan hewan uji dan bahan uji .....	39
8.1.	Persiapan hewan uji.....	39

8.2. Penyiapan bahan uji .....	39
8.3. Perhitungan dosis uji. ....	39
8.4. Volume pemberian sediaan uji.....	40
8.5. Pengamatan berat badan.....	40
9. Hasil uji toksisitas subkronik .....	42
9.1. Hasil uji kadar Blood Ureum Nitrogen (BUN) .....	42
9.2. Hasil uji kadar kreatinin .....	45
9.3. Hasil pemeriksaan histopatologi .....	48
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	 50
A. Kesimpulan.....	50
B. Saran .....	50
 DAFTAR PUSTAKA .....	 51
 LAMPIRAN.....	 55

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman pletekan .....	5
Gambar 2. Struktur anatomi ginjal.....	12
Gambar 3. Skema pemeriksaan kreatinin.....	30
Gambar 4. Skema pemeriksaan ureum.....	31
Gambar 5. Skema pemeriksaan histopatologi .....	33
Gambar 6. Skema jalannya penelitian.....	40
Gambar 7. Diagram garis rata-rata berat badan tikus putih betina .....	40
Gambar 8. Diagram garis rata-rata berat badan tikus putih jantan .....	41
Gambar 9. Histogram kadar BUN tikus putih betina.....	43
Gambar 10. Histogram kadar BUN tikus putih jantan.....	44
Gambar 11. Histogram kadar kreatinin hewan uji betina .....	46
Gambar 12. Histogram kadar kreatinin pada hewan uji jantan.....	47

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah .....	37
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pletekan.....	38
Tabel 3. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun pletekan .....	38
Tabel 4. Hasil skrinning senyawa kimia .....	38
Tabel 5. Uji bebas etanol.....	39
Tabel 6. Hasil analisis statistik rata-rata berat badan tikus betina dan jantan.....	40
Tabel 7. Hasil analisa statistik rata-rata kadar BUN tikus jantan dan tikus betina	43
Tabel 8. Hasil analisa statistik rata-rata kadar kreatinin tikus jantan dan tikus betina.....	45
Tabel 9. Hasil pengamatan ginjal pada 100 sel hewan uji .....	49
Tabel 10. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pletekan..	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat determinasi tanaman pletekan .....	56
Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji.....	57
Lampiran 3. Surat keterangan uji histopatologi .....	58
Lampiran 4. Perhitungan rendemen serbuk dan ekstrak .....	59
Lampiran 5. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun pletekan.....	60
Lampiran 6. Data berat badan tikus (gram) .....	62
Lampiran 7. Hasil analisis statistik berat badan tikus .....	64
Lampiran 8. Perhitungan dosis uji dan volume pemberian.....	69
Lampiran 9. Data Kadar BUN (mg/dL) .....	79
Lampiran 10. Hasil analisis statistik BUN.....	81
Lampiran 11. Data kadar kreatinin (mg/dL) .....	83
Lampiran 12. Hasil analisis statistik kreatinin .....	85
Lampiran 13. Hasil uji identifikasi senyawa ekstrak daun pletekan .....	87
Lampiran 14. Hasil uji bebas etanol.....	88
Lampiran 15. Penyiapan bahan uji.....	89
Lampiran 16. Pemeriksaan darah hewan uji .....	90
Lampiran 17. Penetapan kadar air sterling.....	92
Lampiran 18. Pemeriksaan histopatologi.....	93
Lampiran 19. Gambaran hasil uji histopatologi .....	94

## INTISARI

**RAHAYU, D.T., 2017. UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK DAUN PLETEKAN (*Ruellia tuberosa* L.) TERHADAP PARAMETER BUN (*Blood Ureum Nitrogen*), KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Daun pletekan merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional yang memiliki efek antiinflamasi, antidiabetes, antimikroba serta antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas subkronik terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin serta gambaran histopatologi organ ginjal tikus.

Ekstrak daun pletekan diperoleh dari hasil maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus jantan dan 25 ekor tikus betina, yang terbagi atas 5 kelompok. Kelompok pertama kontrol negatif diberi larutan CMC 0,5%, 3 kelompok perlakuan diberi sediaan ekstrak daun pletekan dengan dosis 125 mg/KgBB, 625 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB, dan kelompok satelit diberi 1000 mg/KgBB. Penelitian ini berlangsung selama 28 hari dan ditambah 14 hari pada kelompok satelit. Pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin dilakukan pada awal sebelum perlakuan dan pada akhir perlakuan. Pada akhir pemeriksaan hewan uji dikorbankan untuk uji histopatologi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pletekan dosis 125 mg/KgBB, 625 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB maupun kelompok satelit tidak menimbulkan efek toksik dilihat dari parameter BUN, kreatinin serta gambaran histopatologi organ ginjal.

---

**Kata kunci:** Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.), Toksisitas subkronik, Histopatologi ginjal.

## ABSTRACT

**RAHAYU, D.T., 2017. SUBKRONIC TOXICITY TESTS THE EXTRACT OF PLETEKAN LEAF (*Ruellia tuberosa* L.) WITH THE PARAMETER OF KIDNEY FUNCTION IN WHITE RATE, THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Pletekan leaf was one of the plants used as a traditional medicine has anti-inflammatory, antidiabetic, antimicrobial and antioxidant effects. The purpose of this research is to find out the effects of subchronic toxicity about of Blood Urea Nitrogen (BUN), creatinine and histopathologic of the rats's renal organ.

The extract of pletekan leaf was obtained from maceration using 70% ethanol solvent. This research used 25 male rats and 25 female rats, divided into 5 groups. One group of negative control was given 0.5% CMC solution, 3 treatment groups were given the extract of pletekan leaf at doses of 125 mg / KgBB, 625 mg / KgBB, 1000 mg / KgBB, and the satellite group was given 1000 mg / KgBB. The research was observed for 28 days and additional 14 days in the satellite group. The examination of BUN and creatinine levels was performed at the beginning of treatment and the end of treatment. At the end of observation the test animals were sacrificed for the histopathological test.

The result of this research showed that the extract of pletekan leaf by dose 125 mg/kgBB, 625 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB and satelite group did not showed of toxicity effects from Blood Urea Nitrogen (BUN), creatinine and histopathologic of the rats's renal organ.

---

**Keywords:** Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.), Subchronic toxicity, Renal Histopathology.



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

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

Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia mengenal dan memakai tanaman berkhasiat sebagai salah satu upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapinya, sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obat moderen menyentuh masyarakat. Pengetahuan tentang tanaman obat ini merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman yang secara turun temurun telah diwariskan oleh generasi terdahulu kepada generasi berikutnya termasuk generasi saat ini (Wijayanti 2008).

Kelebihan dari pengobatan dengan menggunakan ramuan tanaman secara tradisional adalah efek samping yang ditimbulkan lebih rendah dibandingkan pada pengobatan kimiawi. Hasil penelitian dan pengujian secara ilmiah disimpulkan bahwa penggunaan tanaman tertentu sebagai ramuan obat untuk penyakit tertentu dapat dipertanggungjawabkan (Thomas 2007).

Pengelompokan obat herbal tradisional Indonesia dapat berupa Jamu, Obat Herbal Terstandar (OHT) serta Fitofarmaka dan untuk dapat digunakan di pelayanan kesehatan, maka obat herbal haruslah dapat dipertanggungjawabkan keamanan dan khasiat/efektivitasnya dengan dilengkapi bukti dukung sesuai dengan klaim. Fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produknya telah terstandarisasi (BPOM 2014).

Salah satu tanaman obat yang banyak ditemukan di Indonesia yaitu pletekan (*Ruellia tuberosa* L.). Secara eksperimen daun pletekan terbukti memiliki efek sebagai antioksidan, antidiabetes, antimikroba, antikanker, antiinflamasi, antinoceptive, dan aktivitas gastroprotektif. Pletekan juga berfungsi sebagai pengobatan sifilis, kencing batu, bronchitis, kanker, penyakit jantung coroner, pilek, demam, hipertensi, masalah pencernaan, serta dapat digunakan sebagai peluruh batu ginjal (Hariana 2004; Chothani *et al* 2011; Rajan *et al* 2012).

Pletekan memiliki senyawa kimia flavonoid, triterpenoid, dan alkaloid. Terdapat lima jenis flavonoid yang terdapat pada tanaman pletekan diantaranya kirsimaritin, kirsimarin, kirsilol 4'-glukosida, sorbifolin, dan pedalitin (Chothani *et al* 2011; Lin *et al* 2006). Menurut (Hopkins dan Hiiner 2004) senyawa kimia dalam ekstrak daun pletekan yang kemungkinan bersifat toksik yaitu alkaloid, saponin, dan flavonoid. Saponin diduga dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan. Pletekan diketahui memiliki efek toksik ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol dengan nilai IC<sub>50</sub> <1000 µg/mL (Nurhawa *et al* 2016) sedangkan nilai LD<sub>50</sub> diketahui memiliki nilai >5000 mg/kgBB yang artinya tanaman pletekan dapat diklasifikasikan sebagai tanaman praktis tidak toksik (Novi 2017).

Secara sederhana dan ringkas, toksikologi dapat didefinisikan sebagai kajian tentang hakikat dan mekanisme efek berbahaya (efek toksik) berbagai bahan kimia terhadap makhluk hidup dan sistem biologik lainnya (Wirasuta *et al* 2006). Pada dasarnya senyawa toksikan tidak mempengaruhi semua organ secara merata, karena adanya perbedaan tingkat kepekaan dari masing-masing organ, kadar bahan kimia atau metabolitnya terhadap organ sasaran serta mekanisme pemulihan dari setiap organ. Salah satu organ vital manusia adalah ginjal. Ginjal merupakan organ utama yang terkena efek toksisitas apabila tubuh terpapar oleh zat toksik. Selain itu ginjal merupakan organ vital di dalam tubuh yang mempunyai peranan penting dalam proses ekskresi (Lu 1995). Pada tikus normal pemberian ekstrak air daun pletekan terbukti dapat menurunkan kadar ureum dan kreatinin tetapi terjadi peningkatan yang signifikan pada tikus DM dengan penurunan fungsi ginjal ( $p < 0,050$ ). Organ ginjal tikus DM mengalami kerusakan tubulus secara bermakna (Cintari 2008).

Berdasarkan banyaknya manfaat yang dimiliki oleh tanaman pletekan di masyarakat sebagai alternatif pengobatan dan dikonsumsi dalam jangka waktu yang cukup lama, maka keamanan penggunaan tumbuhan daun pletekan haruslah dapat diketahui. Penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan terjadinya gejala toksikan (Newell *et al.* 1996).

Pada penelitian kali ini uji toksisitas subkronik singkat terhadap daun pletekan dilakukan agar dapat memenuhi salah satu syarat agar tanaman pletekan dapat dijadikan sebagai fitofarmaka. Penelitian dilakukan dengan melihat nilai fungsi ginjal dengan parameter *Blood Ureum Nitrogen* (BUN), kreatinin serta gambaran histopatologi organ ginjal. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada masyarakat tentang keamanan pemakaian daun pletekan sebagai alternatif pengobatan sehari-hari.

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, adakah pengaruh pemberian ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) pada dosis tertentu terhadap parameter *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) dan kreatinin tikus putih selama 28 hari?

Kedua, adakah pengaruh pemberian ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) pada dosis tertentu terhadap gambaran histopatologi organ ginjal tikus putih selama 28 hari?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) pada dosis tertentu terhadap parameter *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) dan kreatinin tikus putih selama 28 hari.

Kedua, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) pada dosis tertentu terhadap gambaran histopatologi organ ginjal tikus putih selama 28 hari.

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan sebagai salah satu uji praklinis dengan tujuan untuk mengetahui dosis herba pletekan yang aman agar dapat dikonsumsi dalam jangka waktu lama sebagai alternatif pengobatan. Selain itu adanya penelitian kali

ini diharapkan memberi wawasan dan pengetahuan tentang herba pletekan sebagai obat tradisional dan dapat mendukung peningkatan penggunaannya di masyarakat.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman pletekan (*Ruellia tuberosa* L.)

#### 1. Klasifikasi tanaman

Kedudukan dalam sistematika tumbuhan (taksonomi), tanaman pletekan mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Su divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Lamiales
Suku	: Acanthaceae
Genus	: <i>Ruellia</i>
Spesies	: <i>Ruellia tuberosa</i> L. (Ditjen POM 2009)



**Gambar 1. Tanaman Pletekan**

#### 2. Nama lain

Nama lain *Ruellia tuberosa* L. yaitu, Ceplikan (Indonesia) dan Pletekan, Ceplikan (Jawa) (Ditjen POM 20 09).

#### 3. Morfologi tanaman

Herbal tegak atau pangkalnya berbaring dengan bekas akar berbentuk umbi memanjang, tinggi 0,4-0,9 m, batang segiempat tumpul, tangkai daun 0,5-1,5 cm, helaian daun berbentuk memanjang hingga bulat telur terbalik, pangkalnya meruncing dan ujungnya tumpul, tepi daun bergerigi, gundul. Tangkai bunga 0,5-2,5 cm, kelopak bunga tingginya 2-3 cm, mahkota dengan tinggi 5-6

cm, kebanyakan berwarna ungu cerah, terkadang ungu pucat hingga merah atau hampir putih, sebelah luar berambut, tabung sempit pada pangkalnya, di atasnya melebar dan berbau busuk. Diameter bunga 3-5 cm, berbentuk oval hingga bulat telur terbalik, bergigi bergelombang tidak beraturan. Benang sari tertancap pada puncak dari tabung. Tangkai sari berlekatan berpasangan pada pangkalnya. Kepala sari putih. Tonjolan dasar bunga berbentuk bantal. Tajuk kepala putik 2, yang terdepan lebar, yang paling belakang sangat kecil. Buah gundul, panjangnya 2-3 cm, membuka dengan 2 kutub, biji tiap ruang 2-20 (Steenis 1975).

#### **4. Kandungan kimia**

Daun pletekan diketahui mengandung senyawa kimia antara lain yaitu alkaloid, triterpenoid, saponin, sterol dan flavonoid (Afzal *et al* 2015). Pada daun pletekan diketahui pula adanya senyawa betulin, indol-3-karboksaldehid, asam vanilat, fenol, tanin, dan senyawa golongan flavonoid yaitu apigenin, antosianidin, malvidin 3,5-diglukosida, luteolin, antosianin, kirsimaritin, kirsimarin, kirsilioil-4-glikosida, sorbifolin dan pedalitin (Ahmad *et al* 2012).

**4.1. Saponin.** Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok, dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin terdiri dari dua jenis yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur. Kedua jenis saponin tersebut larut dalam air dan etanol namun, tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Keberadaan saponin sangat mudah ditandai dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih yang stabil (Gunawan dan Mulyani 2004).

**4.2. Flavonoid.** Flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam air yang dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak dikocok dengan eter minyak bumi (Harborne 1987). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa  $C_6-C_3-C_6$  artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus  $C_6$  (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Flavonoid adalah senyawa pereduksi yang baik sebab, dapat menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim (Robinson 1995). Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar karena

mempunyai sebuah gugus hidroksi sehingga, flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dan air (Markham 1988).

**4.3. Alkaloid.** Alkaloid merupakan zat sekunder terbesar, bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid bersifat optis aktif, tanpa warna, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar. Sebagian besar alkaloid bersifat terpenoid termodifikasi dan beberapa lainnya berupa senyawa aromatik yang mengandung gugus basa sebagai gugus rantai samping (Harborne 1984).

**4.4. Tanin.** Tanin ialah senyawa yang larut dalam air, tidak berwarna dan memberikan rasa pahit dan astrigensi (Jamal 2010).

## **5. Khasiat tanaman**

Daun pletekan dapat digunakan untuk berbagai penyakit seperti diuretik, antidiabetes, antipiretika, antihipertensi dan antidotum. Efek farmakologis pletekan di antaranya sebagai peluruh batu kencing dan jantung coroner. Daun pletekan juga berfungsi sebagai obat pada pengobatan sifilis, bronchitis, kanker, penyakit jantung, pilek, dan masalah pencernaan. (Hariana, 2004; Chothani *et al* 2012; Ahmad *et al* 2012; Rajan *et al* 2012).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Indonesia memiliki sumber bahan baku obat tradisional atau lebih dikenal dengan nama simplisia yang melimpah, dan hampir setiap daerah memiliki tumbuhan tanaman obat. Industri obat sebaiknya memilih simplisia yang mutunya baik sebagai langkah awal menjamin mutu obat tradisional. Simplisia dengan tidak otomatis dipilih bilamana mutunya dibawah standar minimum (Depkes RI 1999).

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM 2014). Bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun

juga dan kecuali dinyatakan lain merupakan bahan yang dikeringkan (BPOM 2005).

## **2. Cara pembuatan simplisia**

**2.1. Pengumpulan.** Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda tergantung dari bagian yang akan digunakan, umur tanaman, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh. Senyawa aktif terbentuk secara optimal pada bagian tanaman tertentu dan pada umur tertentu. Pengumpulan daun dilakukan dengan cara memetik satu per satu menggunakan tangan pada daun muda ataupun tua sesuai yang dibutuhkan (Depkes RI 1985).

**2.2. Sortasi basah.** Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan tanaman dari kotoran asing. Kotoran asing tersebut dapat berupa tanah, kerikil, rumput, serta pengotor lain contohnya mikroba. Oleh karena itu, pembersihan simplisia akan mengurangi jumlah dari mikroba (Depkes RI 1985).

**2.3. Pencucian.** Pencucian pada simplisia bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih (Depkes RI 1985).

**2.4. Perajangan.** Proses perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, penggilingan dan pengepakan. Beberapa simplisia perlu mengalami proses perajangan. Tanaman yang diambil sebaiknya tidak langsung dirajang tapi, dikeringkan terlebih dahulu. Perajangan dapat dilakukan dengan menggunakan pisau atau alat mesin (Depkes RI 1985).

**2.5. Pengeringan.** Proses pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan dilakukan agar kadar air dalam simplisia berkurang. Kadar air yang rendah membuat penyimpanan lebih baik, tidak menimbulkan jamur dan mutu tidak berkurang. Secara umum, pengeringan simplisia dapat dilakukan pada suhu 30<sup>0</sup>C-90<sup>0</sup>C (Depkes RI 1985).

## **C. Ekstrak**

### **1. Pengertian ekstraksi**



Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Kemenkes 2010). Sedangkan ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloida, flavonoida dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM 2000). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu (Sarkar dkk 2006).

## **2. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut**

Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan beberapa metode:

**2.1. Maserasi.** Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan, sedangkan remaserasi merupakan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Ditjen POM 2000).

**2.2. Perkolasi.** Perkolasi adalah suatu cara penarikan memakai alat yang disebut perkolator dimana simplisia terendam dalam cairan penyari, zat-zat akan terlarut dan larutan tersebut akan menetes secara beraturan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan perkolat) sampai diperoleh ekstrak (Ditjen POM 2000).

**2.3. Refluks.** Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan pelarut akan terdestilasi menuju pendingin dan akan kembali ke labu (Ditjen POM 2000).

**2.4. Soxhlet.** Soxhlet adalah ekstraksi kontinu menggunakan alat soklet, dimana pelarut akan terdestilasi dari labu menuju pendingin, kemudian jatuh membasahi dan merendam sampel yang mengisi bagian tengah alat soklet, setelah

pelarut mencapai tinggi tertentu maka akan turun ke labu destilasi, demikian berulang-ulang (Ditjen POM 2000).

**2.5. Digesti.** Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontiniu pada temperatur yang tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40° -50° C (Ditjen POM 2000).

**2.6. Infudasi.** Infudasi adalah merupakan proses penyarian yang digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Cara ini sangat sederhana dan banyak digunakan oleh perusahaan obat tradisional. Infusa adalah cairan yang dibuat dengan cara menyari simplisia dengan air pada suhu 90<sup>0</sup>C selama 15 menit yang kemudian disaring selagi panas melalui kain flanel, dan ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga volume yang dikehendaki (Depkes RI 1985).

**2.7. Dekok.** Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Ditjen POM 2000).

### **3. Pelarut**

Zat yang digunakan untuk melarutkan suatu zat atau suatu obat dalam preparat larutan adalah pelarut. Pemilihan pelarut harus berdasarkan pada faktor-faktor seperti stabil secara fisika kimia, harga yang terjangkau, tidak sulit untuk mendapatkannya, beraksi netral, selektif hanya menarik zat yang diinginkan, tidak mempengaruhi zat berkasiat tidak mudah terbakar atau menguap.

Pelarut yang biasa digunakan adalah etanol. Penggunaan etanol beralasan karena etanol memiliki sifat selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol, mempunyai absorpsi yang baik, dapat bercampur dengan air pada segala kondisi (Depkes 1985).

## **D. Ginjal**

### **1. Pengertian ginjal**

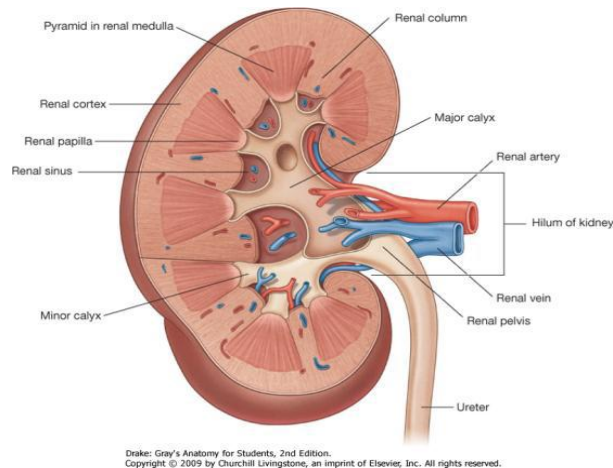
Ginjal merupakan salah satu organ vital yang mudah terkena efek toksisitas karena ginjal betugas membuang sampah metabolisme dan racun dalam bentuk urin atau air seni. Ginjal merupakan kelenjar endokrin yang sedikitnya mengeluarkan tiga hormon dan juga berfungsi mempertahankan keseimbangan

air, garam dan elektrolit dalam tubuh. Ginjal merupakan organ tubuh yang rentan terhadap pengaruh zat-zat kimia, karena organ ini menerima 25-30% sirkulasi darah untuk dibersihkan, sehingga sebagai organ filtrasi kemungkinan terjadi perubahan patologik sangat tinggi (Corwin 2001).

Ginjal memiliki bentuk seperti kacang dengan jutaan nefron. Ginjal terletak retroperitoneal pada dinding abdomen di kanan dan kiri columna vertebralis setinggi vertebra T12 hingga L3. Ginjal kanan terletak lebih rendah dari kiri karena besarnya lobus hepar. Ginjal mengatur keseimbangan cairan tubuh, elektrolit, dan asam basa dengan cara filtrasi darah, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan nonelektrolit, serta mengekskresikan kelebihan sebagai urin (Price dan Wilson 2006). Ginjal memiliki korteks di bagian luar yang berwarna coklat terang dan medula dibagian dalam berwarna coklat gelap. Korteks mengandung jutaan alat penyaring disebut nefron yang terdiri dari glomerulus dan tubulus. Medula terdiri dari beberapa massa-massa triangular disebut piramida ginjal dengan basis menghadap korteks dan bagian apeks yang menonjol ke medial. Piramida berguna untuk mengumpulkan hasil ekskresi yang kemudian disalurkan ke tubulus kolektivus menuju pelvis ginjal (Tortora 2011).

## **2. Fisiologi ginjal**

Ginjal menjalankan fungsi yang vital sebagai pengatur volume dan komposisi kimia dalam tubuh. Ginjal berperan mengkonsentrasikan toksikan pada filtrat menyebabkan ginjal mudah sekali menjadi sasaran utama dari efek ketoksikan. Efek toksikan yang ditunjukkan dapat beragam, mulai dari perubahan biokimia sampai dengan kematian sel, yang umumnya muncul sebagai perubahan fungsi ginjal sampai dengan gagal ginjal (Lu 1995).



**Gambar 2. Struktur Anatomi Ginjal**  
(Drake *et al* 2010)

Ginjal sangat rentan terhadap efek toksik obat-obatan dan bahan kimia karena ginjal menerima 25% dari curahan jantung, sehingga sering dan mudah kontak dengan zat kimia dalam jumlah besar, interstitium yang hiperosmotik memungkinkan zat kimia dikonsentrasikan pada daerah yang relatif hipovaskuler. Ginjal merupakan ekskresi obligatorik untuk kebanyakan obat sehingga insufisiensi ginjal mengakibatkan penimbunan obat dan peningkatan konsentrasi dalam cairan tubulus (Price dan Wilson 2006).

### 3. Fungsi ginjal

Ginjal memiliki berbagai fungsi antara lain :

- a. Pengeluaran zat sisa organik, seperti urea, asam urat, kreatinin dan produk penguraian hemoglobin dan hormon.
- b. Pengaturan konsentrasi ion-ion penting antara lain ion natrium, kalium, kalsium, magnesium, sulfat dan fosfat.
- c. Pengaturan keseimbangan asam basa tubuh.
- d. Pengaturan produksi sel darah merah dalam tubuh.
- e. Pengaturan tekanan darah.
- f. Pengendalian terbatas terhadap konsentrasi glukosa darah dan asam amino darah.
- g. Pengeluaran zat beracun dari tambahan makanan, obat, atau zat kimia asing lain dari tubuh. (Hudok CM 1999).

#### 4. Metabolisme ginjal

**4.1 Metabolisme ureum.** Ureum merupakan produk akhir dari metabolisme nitrogen yang terpenting pada manusia, yang disintesa dari amonia, karbon dioksida dan nitrogen amida aspartat. Konsentrasi urea dalam plasma darah terutama menggambarkan keseimbangan antara pembentukan urea dan katabolisme protein serta ekskresi urea oleh ginjal (Wahyono dkk 2007).

Gangguan fungsi ginjal menyebabkan laju filtrasi glomerulus menurun dan mengakibatkan ekskresi urea terganggu (Rubenstein et al 2008). Urea difiltrasi oleh glomerulus dan akan diekskresi bersama urin (Bijanti 2009). Parameter kerusakan fungsi ginjal dapat diketahui dengan pemeriksaan kadar urea dalam darah atau serum (BUN), kadar kreatinin dalam serum, (Glomerulus Filtration Rate = GFR), clearance kreatinin, dan clearance urea (Guyton and Hall 1997).

Kadar BUN dapat menggambarkan keseimbangan antara pembentukan urea dan katabolisme protein serta ekskresi urea oleh ginjal. Ekskresi urea merupakan fungsi ginjal yang terpenting (Harper 1983). Ureum dalam darah atau *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) merupakan hasil protein normal yang berasal dari asam amino ornitin yang bergabung dengan molekul CO<sub>2</sub> untuk membentuk sitrulin. Sitrulin bergabung dengan sitrulin lain membentuk arginin yg dipecah menjadi ureum dan ornitin. Ureum berdifusi dari sel hati ke cairan tubuh, dipisahkan dalam urin dan diekskresikan melalui ginjal sedangkan ornitin dipakai lagi dalam siklus berulang (Corwin 2009).

Konsentrasi normal *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) dalam serum untuk pria 8-25 mg/dL lebih sedikit tinggi daripada wanita disebabkan pria memiliki *lean body mass* yang lebih besar (Corwin 2009).

**4.2 Metabolisme kreatinin.** Kreatinin adalah produk akhir dari metabolisme kreatinin yang disintesis oleh hati dari mention, glisin dan arginin. Kreatinin mempunyai fungsi sebagai zat yang berguna dan beredar dalam darah untuk diangkut di ginjal. Kadar normal kreatinin untuk pria adalah 0,6-1,3 mg/dL dan untuk wanita 0,5-1 mg/dL, bila fungsi ginjal melambat dan masa otot menyusut maka ada kemungkinan kadar kreatinin tetap sama di dalam serum (Corwin 2009).

Kreatinin dieksresikan oleh ginjal melalui kombinasi filtrasi dan sekresi, konsentrasinya relatif konstan dalam plasma dari hari ke hari, kadar yang lebih besar dari nilai normal mengisyaratkan adanya gangguan fungsi ginjal (Corwin 2009). Ureum lebih cepat meningkat dibandingkan dengan kreatinin dalam serum karena berkurangnya fungsi ginjal, kerusakan pada ginjal menyebabkan kadar ureum meningkat dan kadar kreatinin cenderung konstan. Bila kadar kreatinin meningkat maka akan terjadi ekskresi melalui saluran cerna (Corwin 2009).

## **5. Gangguan pada ginjal**

Gangguan ginjal diakibatkan adanya benda asing yang masuk ke dalam ginjal dan merusak struktur ginjal. Kerusakan ginjal disebabkan oleh deposisi imun kompleks, thrombosis emboli dan infeksi pada glomerulus menyebabkan terjadi nekrosa. Kerusakan pada glomerulus juga dapat berupa atrofi dan fibrosis sehingga menyebabkan atrofi sekunder pada tubulus renalis (Underwood 1999).

Ginjal merupakan organ yang berfungsi mengekskresikan ureum, asam urat, kreatinin dan ammonium. Pada uji toksisitas fungsi ginjal yang diperiksa adalah kreatinin dan ureum. Kreatinin yang diekskresikan melalui urin tidak dipengaruhi oleh jenis kelamin, umur, aktivitas dan diet (Ganong 2003).

Kadar ureum dalam serum menunjukkan keseimbangan antara produksi dan ekskresi. Pada umumnya peningkatan BUN menunjukkan adanya penurunan fungsi ginjal (Horne dan Swearingen, 2001).

## **E. Toksisitas**

### **1. Pengujian toksisitas**

Manusia selalu berinteraksi dengan berbagai macam bahan atau senyawa kimia baik secara alami maupun yang buatan. Toksikan dapat terdistribusi ke berbagai bagian tubuh karena adanya penyerapan oleh saluran pencernaan, paru-paru, dan kulit (Lu 1995).

Toksisitas adalah potensi bahan kimia untuk meracuni tubuh orang yang terpapar (Wisaksono 2002). Toksisitas adalah kemampuan suatu zat asing dalam menimbulkan kerusakan pada organisme baik saat digunakan atau saat berada dalam lingkungan (Priyanto 2009).

Uji toksisitas merupakan suatu uji yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji (BPOM 2014). Sebelum uji toksisitas dilakukan, sebaiknya telah ada data tentang identifikasi, sifat obat, dan rencana penggunaannya karena data ini dapat digunakan untuk mengarahkan percobaan toksisitas yang akan dilakukan untuk meneliti berbagai efek yang berhubungan dengan cara dan masa pemberian suatu sediaan obat (Harmita & Radji 2005).

Uji toksisitas terdiri atas 2 jenis yaitu toksisitas umum (akut, subakut/subkronis, kronis) dan toksisitas khusus (teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik). Dalam uji toksisitas perlu dibedakan obat tradisional yang dipakai secara singkat dan yang dipakai dalam jangka waktu lama (Depkes RI 2000).

**1.1. Uji toksisitas akut.** Uji ini dilakukan dengan memberikan zat kimia dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu tidak lebih dari 24 jam, dan apabila pemberian dilakukan secara berulang maka interval waktu tidak kurang dari 3 jam (BPOM 2014). Tujuan utama uji toksisitas akut adalah untuk menentukan LD50. Selain itu uji toksisitas akut dapat menunjukkan organ sasaran yang mungkin dirusak atau efek toksik spesifiknya, dan dapat memberi petunjuk dosis untuk pemakainya jangka panjang.

**1.2. Uji toksisitas subkronis.** Uji ini dilakukan dengan memberikan bahan obat secara berulang-ulang biasanya setiap hari atau lima kali dalam seminggu selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan yaitu tiga bulan untuk tikus dan satu atau dua tahun untuk anjing. Tetapi beberapa penelitian menggunakan jangka waktu yang lebih pendek misalnya pemberian zat kimia selama 14 dan 28 hari.

**1.3. Uji toksisitas kronik.** Uji toksisitas kronik adalah uji yang dilakukan dengan pemberian obat secara berulang-ulang selama tiga sampai enam bulan atau seumur hidup hewan misalnya delapan belas bulan untuk mencit, dua puluh bulan untuk tikus dan tujuh sampai sepuluh tahun untuk anjing dan monyet (Harmita dan Radji 2007).

**1.4. Uji teratogenik.** Uji teratogenik adalah suatu pengujian untuk memperoleh informasi adanya abnormalitas fetus yang terjadi karena pemberian

suatu zat dalam masa perkembangan embrio (Priyanto 2009). Prinsip pengujian ini senyawa uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan kepada beberapa kelompok hewan hamil selama paling sedikit masa organogenesis dari kehamilan, satu dosis untuk satu kelompok. Sesaat sebelum waktu melahirkan, uterus diambil dan dilakukan evaluasi terhadap fetus (OECD 2008).

**1.5. Uji mutagenik.** Uji mutagenik adalah uji yang dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai kemungkinan terjadinya efek mutagenik suatu senyawa. Efek mutagenik merupakan efek yang menyebabkan terjadinya perubahan pada sifat genetika sel tubuh makhluk hidup (Loomis 1978).

**1.6. Uji karsinogenik.** Uji karsinogenik adalah uji yang dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai efek karsinogenik suatu senyawa pada hewan percobaan (Lu 1994) dan untuk mengetahui apakah zat jika dipakai dalam jangka panjang akan dapat menimbulkan kanker (Priyanto 2009).

#### **D. Toksisitas Subkronik**

Uji toksisitas subkronik oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan (BPOM 2014). Prinsip uji toksisitas subkronik oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis yang diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok selama 28 atau 90 hari, dan bila diperlukan dapat ditambah dengan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversible*. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati masa *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir pemberian sediaan uji, hewan yang masih hidup diotopsi dan selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi (BPOM 2014).



## F. Binatang Percobaan

Binatang percobaan dalam penelitian ini digunakan adalah tikus karena tikus memiliki kemiripan yang sangat dekat dengan manusia, terutama pada saluran pencernaan.

### 1. Sistematika hewan uji

Kedudukan tikus dalam sistematika sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Placentalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: Rattus
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i> (Sugiyatno 1995).

### 2. Karakteristik utama

Tikus merupakan hewan yang cerdas dan resisten terhadap infeksi. Tikus putih biasanya tidak bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan termasuk hewan yang tidak sering berkumpul dengan kelompoknya. Tikus putih mudah ditangani dan cukup tenang. Aktivitasnya tidak terganggu oleh adanya manusia yang berada di sekitarnya. Suhu tubuh normal 37,5°C, laju respirasi normal 210 tiap menit, bila diperlukan kasar tikus menjadi galak dan sering menyerang si pemegang (Sugiyatno 1995).

### 3. Penanganan

Penanganan tikus dilakukan dengan mengangkat pangkal ekor dengan tangan kanan, lalu tikus diletakkan diatas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakkan dibelakang tubuh atau punggung tikus kearah kepala. Kepala tikus kemudian diselipkan diantara ibu jari dan jari tengah, sedangkan jari manis dan kelingking di sekitar perut sehingga kaki depan kiri dan kanan terselip di antara jari-jari. Tikus juga dapat dipegang dengan cara menjepit kulit pada tenguknya (Harmita & Maksun 2005).

#### **4. Perlakuan**

Pemberian secara oral pada mencit dilakukan dengan alat suntik yang dilengkapi jarum/kanula oral (berujung tumpul). Kanula ini dimasukkan ke dalam mulut, kemudian perlahan-lahan diluncurkan melalui langit-langit ke arah belakang sampai esophagus kemudian masuk ke dalam lambung. Perlu diperhatikan bahwa cara peluncuran atau pemasukan kanula yang mulus disertai pengeluaran cairan sediaannya yang mudah adalah cara pemberian yang benar. Cara pemberian yang keliru, masuk ke dalam saluran pernafasan atau paru-paru dapat menyebabkan gangguan pernafasan dan kematian (Thomson 1985)

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

Darah diambil dari sinus orbitalis. Pengambilan darah dilakukan secara perlahan menggunakan pipa kapiler sebanyak 2 ml. Darah yang diperoleh ditampung dalam tabung reaksi, didiamkan pada suhu ruangan selama 10 menit, kemudian disentrifuse selama 10 menit, dengan kecepatan 3000 rpm. Serum dipisahkan dan disimpan, untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014).

### **G. Histopatologi Ginjal**

Proses pembuatan histopatologi diawali dengan fiksasi organ ginjal dalam larutan Buffer Neutral Formalin 10% selama 3 hari. Ginjal yang sudah difiksasi dilanjutkan ke tahap trimming, yaitu pemotongan jaringan setebal 3 mm dan dimasukkan ke dalam tissue cassette. Setelah itu, dilakukan proses dehidrasi dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan alkohol bertingkat (alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, alkohol absolut I dan alkohol absolut II) masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya adalah clearing ke dalam xilol I, xilol II, dan xilol III, masing-masing selama 30 menit dan tahan infiltrating yaitu ke dalam parafin cair, kemudian memotong dengan mikrotom dengan ketebalan potongan 3-5  $\mu\text{m}$ . Yang terakhir adalah mounting, yaitu penempelan jaringan pada kaca objek yang telah diulas dengan larutan albumin. Sebelum masuk ke tahap pewarnaan (staining), jaringan disimpan dalam inkubator bersuhu 58<sup>0</sup>C selama 2 jam. Prosedur pewarnaan HE adalah sebagai berikut: jaringan di celupkan ke dalam larutan xylol I dan xylol II

masing-masing selama 2 menit, alkohol absolut selama 2 menit, alkohol 95% dan 80% masing-masing selama 1 menit, kemudian di cuci dalam air keran selama 1 menit, dilanjutkan dengan memasukkan sediaan ke dalam larutan pewarna Mayer's Hematoksin selama 8 menit, di cuci kembali dengan air keran selama 30 detik. Setelah itu sediaan di masukkan ke dalam lithium karbonat selama 15-30 detik dan kembali di cuci dengan air keran selama 2-3 menit, selanjutnya diwarnai dengan pewarna eosin selama 2 menit, di cuci dalam air keran selama 30-60 detik. Langkah berikutnya adalah mencelup sediaan ke dalam larutan alkohol 95% sebanyak 10 kali celupan, alkohol absolut I sebanyak 10 kali celupan, alkohol absolut II selama 2 menit, xylol I selama 1 menit dan xylol II selama 2 menit. Setelah itu sediaan dikeringkan dan diberi perekat Permount, lalu ditutup dengan kaca penutup dan disimpan selama beberapa menit sampai zat perekat mengering dan siap diamati dengan mikroskop.

Pengamatan jaringan ginjal dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x, 20x, dan 40x. Pengamatan histopatologi jaringan ginjal dilakukan dengan mengamati interstitium terhadap adanya hiperemia, kongesti dan hemoragi, sedangkan pada parenkim dengan mengamati perubahan degenerasi hidropis dan apoptosis pada epitel tubulus. Pada setiap sediaan ginjal dilakukan pemotretan tubulus yang berada disekitar 20 glomerulus menggunakan lensa okuler digital eye piece camera microscope dan lensa objektif 20x. Perhitungan jumlah tubulus yang mengalami degenerasi hidropis dan apoptosis dilakukan dari hasil foto menggunakan software Image J (Ferreira dan Rasband 2011).

## **H. Landasan Teori**

Secara eksperimen daun pletekan terbukti memiliki efek sebagai antioksidan, antidiabetes, antimikroba, antikanker, antiinflamasi, antinoceptive, dan aktivitas gastroprotektif. Pletekan juga berfungsi sebagai pengobatan sifilis, kencing batu, bronchitis, kanker, penyakit jantung coroner, pilek, demam, hipertensi, masalah pencernaan, serta dapat digunakan sebagai peluruh batu ginjal (Hariana 2004; Chothani *et al* 2011; Rajan *et al* 2012).

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa tanaman pletekan memiliki dosis efektif pada hewan uji kelinci yaitu 500 mg/kgBB (Shahwar 2011). Tanaman pletekan diketahui memiliki efek toksik ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol dengan nilai IC50 <1000 µg/mL (Nurhawa *et al* 2016) sedangkan nilai LD50 daun pletekan diketahui memiliki nilai >5000 mg/kgBB yang artinya tanaman pletekan dapat diklasifikasikan sebagai tanaman praktis tidak toksik (Novi 2017). Pada tikus normal pemberian ekstrak air daun pletekan terbukti dapat menurunkan kadar ureum dan kreatinin tetapi terjadi peningkatan yang signifikan pada tikus DM dengan penurunan fungsi ginjal ( $p < 0,050$ ). Organ ginjal tikus DM mengalami kerusakan tubulus secara bermakna (Cintari 2008).

Pada penelitian kali ini dilakukan uji toksisitas subkronik yang bertujuan yaitu mendeteksi adanya efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan (Depkes 2014). Prinsip dari uji toksisitas subkronik oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok selama 28 atau 90 hari. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji segera diotopsi dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi (OECD 2008). Pengamatan dilakukan dengan melihat parameter kadar ureum, kreatinin dan histopatologi organ ginjal.

Ginjal merupakan organ yang berfungsi mengekskresikan ureum, asam urat, kreatinin dan ammonium. Toksisitas fungsi ginjal dapat dievaluasi melalui urin dan serum darah. Serum darah yang diperiksa adalah kreatinin dan ureum (Corwin 2009). Kadar kreatinin diperiksa dengan metode Jaffe dimana pada suasana alkali kreatinin membentuk warna kuning jingga dengan asam pikrat, adsorben dari warna ini proporsional dengan konsentrasi kreatinin sampel. Kadar ureum diperiksa dengan metode Berhelot dengan mengukur *Blood Urea Nitrogen* (BUN). Prinsip dari metode Berhelot adalah ureum dihidrolisis dengan air dan urase membentuk ammonia dan CO<sub>2</sub> (Corwin 2009). Kadar normal BUN adalah

11-28 mg/dL, sedangkan nilai normal kadar kreatinin 0,5-1,1 mg/dL (Rahmawati 2016).

### **I. Hipotesis**

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

Pertama, pemberian ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) mempengaruhi kadar *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) dan kreatinin tikus putih.

Kedua, ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) mempengaruhi histopatologi organ ginjal tikus putih.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

##### **1. Populasi**

Populasi adalah keseluruhan atau objek yang diteliti (Notoatmodjo 2002). Populasi yang digunakan dalam uji toksisitas akut ini adalah daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO), Bogor, Jawa Barat.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) yang diambil secara acak dan dipilih daun yang masih segar, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO), Bogor, Jawa Barat.

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

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

Variabel utama dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak daun pletekan yang diperoleh dari metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Variabel utama kedua adalah hasil uji toksisitas subkronik secara biokimia meliputi pemeriksaan serum *Blood Ureum Nitrogen* (BUN), kreatinin plasma, dan pemeriksaan secara histopatologi terhadap organ ginjal tikus putih. Variabel utama ketiga adalah hewan uji dan kondisi percobaan.

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

Variabel utama dapat diklasifikasi ke dalam beberapa variabel yaitu; variabel bebas, variabel terkontrol, variabel tergantung. Variabel bebas adalah variabel yang ingin untuk diteliti terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun pletekan dalam beberapa kelompok dosis yang diberikan kepada tikus putih.

Variabel tergantung adalah titik pusat masalah yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah efek toksisitas subkronik ekstrak daun pletekan terhadap organ ginjal tikus putih, melalui pemeriksaan kenaikan kadar BUN dan kadar kreatinin.

Variabel terkendali merupakan variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, yaitu kondisi histologi, laboratorium, kondisi pengukuran. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi organ ginjal tikus putih.

### **3. Definisi operasional penelitian**

Pertama, daun pletekan yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO), Bogor, Jawa Barat.

Kedua, serbuk daun pletekan adalah serbuk yang dibuat dari daun pletekan yang telah dicuci bersih, dikeringkan dalam oven dengan suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ , diblender dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak daun pletekan yang merupakan hasil maserasi dari daun pletekan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh diuapkan hingga kental.

Keempat, kelompok uji negatif adalah larutan CMC 0,5%, dosis uji I adalah ekstrak daun pletekan sebesar 125 mg/kg BB, dosis II adalah ekstrak daun pletekan sebesar 625 mg/kgBB, dosis III adalah ekstrak daun pletekan sebesar 1000 mg/kg BB dan dosis satelit.

Kelima, hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dan betina berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram.

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

Ketujuh, histopatologi adalah metode yang dipakai untuk mengamati efek toksik yang terjadi pada organ ginjal setelah pemberian ekstrak daun pletekan.

Kedelapan, pengamatan makroskopis adalah pengamatan yang dapat dilihat secara langsung menggunakan mata telanjang tanpa bantuan mikroskop.

### **C. Bahan, Alat dan Hewan Percobaan**

#### **1. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pletekan, etanol 70%, aquadest, larutan CMC Na 0,5% (Merck), TPHA KIT 100 Test.

#### **2. Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu blender, ayakan nomor 40, oven, timbangan analitik, moisture balance, botol kaca gelap 1 liter, gelas ukur, botol beaker gelas, erlenmeyer, corong kaca, kain flanel, kertas saring, *sterling bidwell* dan *vaccum rotary evaporator*, kandang tikus lengkap dengan tempat makan dan minum, *canule*, botol wadah ekstrak, tabung reaksi, pipa kapiler, mikropipet, sentrifugator, spektrofotometer *UV-Vis*, cortex, pinset, alat bedah, objek glass, lampu bunsen, mikroskop, pipet pasteur, mikrotom putar (spencer).

#### **3. Hewan percobaan**

Hewan percobaan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dan betina galur wistar berumur 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram (Smith 1998). Pengelompokan dilakukan secara acak, dibagi dalam 5 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Pengelompokan dibagi dalam kelompok kontrol negatif, kelompok uji dan kelompok satelit. Kelompok uji terdiri dari kelompok dosis I adalah ekstrak daun pletekan sebesar 125 mg/kg BB, dosis II adalah ekstrak daun pletekan sebesar 625 mg/kg BB, dosis III adalah ekstrak daun pletekan sebesar 1000 mg/kg BB.

### **D. Jalannya Penelitian**

#### **1. Determinasi tanaman pletekan**

Tahap pertama penelitian ini melakukan determinasi tanaman pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO).



Determinasi dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diperoleh, menghindari adanya kesalahan dalam pengumpulan bahan menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

## **2. Pembuatan serbuk daun pletekan**

Daun pletekan yang digunakan diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor, Jawa Barat pada bulan November 2016 yang dilakukan secara acak. Daun pletekan kemudian disortir dengan memilih daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Daun yang telah disortasi kemudian dicuci bersih dengan tujuan membersihkan pengotor pada daun dengan menggunakan air mengalir dan kemudian dianginkan selama beberapa hari agar daun menjadi kering.

## **3. Penetapan kelembaban serbuk daun pletekan**

Penetapan kelembaban dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk daun pletekan ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* dengan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  dan ditunggu  $\pm 5$  menit sampai terdengar tanda bunyi. Angka yang muncul pada alat kemudian dicatat sebagai hasil penetapan kelembaban serbuk daun pletekan. Kelembaban dalam serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Depkes RI 1985).

## **4. Penetapan kadar air daun pletekan**

Penetapan kadar air dilakukan dengan menimbang 20 gram serbuk daun pletekan kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell* kemudian ditambahkan xilen sebanyak 100 ml dan dipanaskan menggunakan spiritus sampai tidak ada tetesan air lagi. Volume tetesan dilihat dan dihitung kadarnya dalam satuan persen.

## **5. Pembuatan ekstrak etanol daun pletekan**

Pembuatan ekstrak daun pletekan dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun pletekan ditimbang sebanyak 1250 gram dan direndam dalam botol maserasi menggunakan etanol 70% sebanyak 9735 ml. Botol maserasi kemudian ditutup dan didiamkan selama 5 hari dan setiap harinya botol harus digojog 1-3 kali. Setelah 5 hari, maserat kemudian dikumpulkan. Maserat dapat dihasilkan

dengan proses penyaringan menggunakan kain flanel yang kemudian dilanjutkan dengan menggunakan kertas saring dan ditampung kembali pada botol maserasi. Maserat kemudian diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 45<sup>0</sup>C yang bertujuan agar sisa pelarut etanol 70% menjadi hilang.

Penggunaan alat *rotary evaporator* dilakukan pada suhu 45<sup>0</sup>C dengan cara maserat ekstrak daun pletekan diuapkan dalam labu alas bulat sebanyak 2/3 volume labu alas bulat yang digunakan. Pemekatan dilakukan hingga diperoleh ekstrak kental yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara yang pecah pada permukaan ekstrak atau dengan tidak adanya air yang menetes pada labu alas bulat penampung. Ekstrak kental daun pletekan yang dihasilkan kemudian diuapkan lagi menggunakan oven pada suhu 40<sup>0</sup>C.

## **6. Identifikasi senyawa daun pletekan**

Senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk daun pletekan adalah saponin, flavonoid dan tanin. Identifikasi dilakukan dengan cara mereaksikan sampel dengan reagen-reagen tertentu. Adanya kandungan senyawa kimia akan memberi hasil yang spesifik.

**6.1. Identifikasi saponin.** Serbuk daun pletekan ditimbang 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat selama 10 menit. Reaksi positif apabila terbentuk buih, dan pada penambahan setetes asam klorida 2N buih tidak akan hilang (Depkes 1978).

**6.2. Identifikasi flavonoid.** Serbuk daun pletekan ditimbang 1 gram, dilarutkan dalam 100 ml air panas lalu dipanaskan selama 15 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Larutan A dimasukkan sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi ditambahkan 0,1 gram magnesium, 2 ml larutan alkohol : larutan asam klorida (1:1), 2 ml pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat, dan dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warnah merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1978).

**6.3. Identifikasi alkaloid.** Serbuk daun pletekan ditimbang sebanyak 2 gram, ditambah 1 ml HCl 2% dan kemudian dibagi menjadi tiga dalam tabung

reaksi lain. Tabung 1 sebagai pembanding, tabung II ditambah 2 tetes reagen *dragendorf*, reaksi positif bila terdapat kekeruhan atau endapan coklat. Tabung reaksi III ditambah 2 tetes *Mayer*, reaksi positif jika terdapat endapan putih kekuningan (Robinson 1995).

**6.4. Identifikasi tanin.** Serbuk daun pletekan ditambah 10 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan saring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah pereaksi  $\text{FeCl}_3$  5%, reaksi positif jika berwarna hijau violet (Depkes 1978).

## 7. Uji bebas etanol

Ekstrak daun pletekan ditambahkan larutan asam sulfat pekat dan larutan permanganate pekat, didiamkan selama 10 menit. Kedalam campuran tersebut kemudian ditambahkan tetes demi tetes larutan natrium bisulfit pekat sampai warna permanganate hilang. Jika masih ada warna coklat ditambahkan kembali larutan asam fosfat. Pada larutan yang sudah tidak berwarna ditambahkan asam kromatropat segar dan kemudian dipanaskan di atas penangas air suhu  $50^\circ\text{C}$  selama 10 menit.

## 8. Persiapan hewan uji dan bahan uji

**8.1. Penentuan dosis uji dan volume pemberian bahan uji.** Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis efektif pada hewan uji kelinci yaitu 500 mg/kgBB yang kemudian dikonversikan ke hewan uji tikus menjadi 125 mg/kgBB. Dosis CMC-Na 0,5% yang diberikan adalah sebesar 2 mL pada kelompok dosis kontrol. Dosis yang digunakan pada penelitian ini menggunakan metode konvensional yaitu dengan dosis 125 mg/kgBB sebagai dosis I, 625 mg/kgBB sebagai dosis II, 1000 mg/kgBB sebagai dosis III serta 1000 mg/kgBB sebagai kelompok satelit.

Volume pemberian maksimal untuk hewan uji tikus adalah 5 ml.

a. Kadar larutan stok pada dosis rendah adalah  $1,25\% = 1250 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 12,5 \text{ mg/ml}$ .

b. Dosis terendah =  $125 \text{ mg/kg BB} = 25 \text{ mg}/200 \text{ gram BB tikus}$ , sehingga volume pemberian untuk dosis terendah adalah  $25 \text{ mg}/12,5 \text{ ml} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$ .

c. Kadar larutan stok pada dosis sedang adalah  $6,25\% = 6250 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 62,5 \text{ mg}/\text{ml}$ . Dosis sedang =  $625 \text{ mg}/\text{kg BB} = 125 \text{ mg}/200 \text{ gram BB tikus}$ , sehingga volume pemberian untuk dosis sedang adalah  $125 \text{ mg}/62,5 \text{ ml} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$ .

d. Kadar larutan stok pada dosis tertinggi adalah  $10\% = 10000 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 100 \text{ mg}/\text{ml}$ . Dosis tertinggi =  $1000 \text{ mg}/\text{kg BB} = 200 \text{ mg}/200 \text{ gram BB tikus}$ , sehingga volume pemberian untuk dosis tertinggi adalah  $200 \text{ mg}/100 \text{ ml} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$ .

**8.2. Perlakuan hewan uji.** Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dan tikus putih betina dengan berat 150-200 gram dengan umur 2-3 bulan sebanyak 25 ekor jantan dan 25 ekor betina. Tikus dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok 10 ekor untuk kelompok negatif, kelompok dosis, dan kelompok satelit. Tikus diadaptasikan terhadap lingkungan selama satu minggu dan diperiksa kondisi kesehatannya. Sebelum digunakan dalam penelitian, hewan uji dipuasakan makan selama 8-24 jam dan diberi air minum.

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

Kelompok II : Dosis ekstrak etanol daun pletekan 125mg/kgBB.

Kelompok III : Dosis ekstrak etanol daun pletekan 625 mg/kgBB.

Kelompok IV : Dosis ekstrak etanol daun pletekan 1000 mg/kgBB.

Kelompok V : Dosis ekstrak etanol daun pletekan 1000 mg/kgBB.

Tikus yang telah ditimbang dan dikelompokkan kemudian diberi sediaan uji sesuai dengan dosis yang telah ditentukan, diamati selama 28 hari sesuai dosis yang telah ditentukan dan dilanjutkan sampai 14 hari kedepan untuk mengetahui efek toksik tertunda yang bersifat *reversible*.

**8.3. Penyiapan bahan uji.** Penyiapan bahan uji pada penelitian kali ini adalah dengan pembuatan larutan CMC 0,5 % untuk kontrol negatif yaitu dilakukan dengan menimbang 0,5 gram CMC kemudian disuspensikan ke dalam aquadestilata sampai 100 ml. Pembuatan suspensi sediaan uji dengan konsentrasi sediaan uji yang dibuat adalah 0,5%, dibuat dengan cara menimbang 500 mg

ekstrak kental kemudian disuspensikan dalam larutan CMC 0,5 % hingga 100 ml. Penyiapan bahan uji lainnya ialah dengan pembuatan ekstrak etanol dengan berbagai dosis uji yang telah ditentukan.

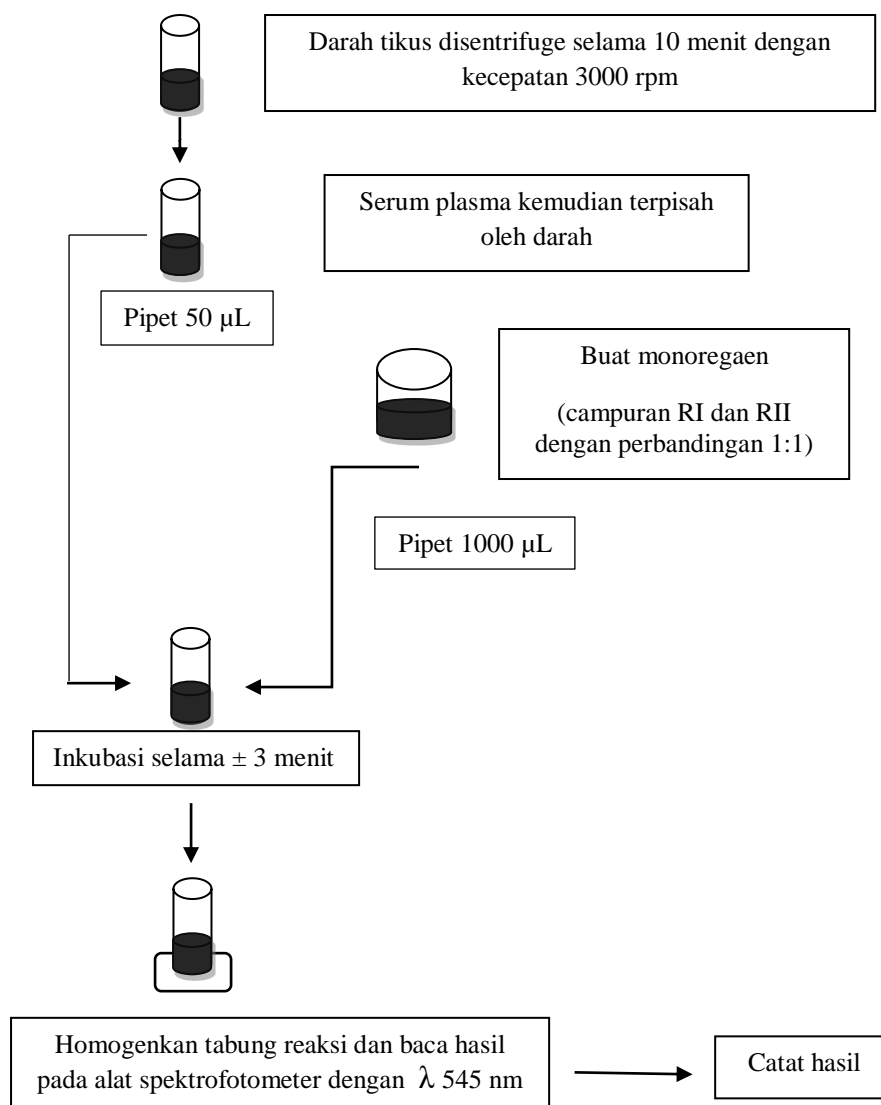
**8.4. Monitoring berat badan.** Berat badan hewan uji ditimbang diawal perlakuan dan setiap 7 hari sekali. Penimbangan berat badan setiap 7 hari sekali dilakukan untuk menyesuaikan volume pemberian pada hewan uji. Hewan uji yang telah dikelompokkan kemudian dilakukan pengambilan darah untuk melihat kadar BUN (*Blood Ureum Nitrogen*) dan kreatinin awal dari tikus jantan dan tikus betina dengan tujuan yaitu memastikan bahwa organ ginjal tikus tidak terdapat kerusakan. Pemberian ekstrak etanol daun pletekan selama 28 hari dengan proses pengambilan darah pada ( $t_0$ ) dan ( $t_{28}$ ) yaitu sebagai pemeriksaan biokimia hewan uji. Pada akhir masa percobaan, hewan uji dikorbankan untuk melihat efek toksisitas subkronik secara histopatologi pada organ ginjal.

**8.5. Pengambilan darah hewan uji.** Darah hewan uji diambil melalui *vena optalmikus* secara perlahan menggunakan pipa kapiler sebanyak 2 mL. Volume maksimal pengambilan darah tikus adalah 5 mL/kg. Pengambilan darah dilakukan dua kali yaitu pada awal percobaan ( $T_0$ ) dan pada akhir percobaan ( $T_{28}$ ). Darah yang diperoleh sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung yang kemudian disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, selanjutnya serum dipisahkan lalu disimpan dalam lemari beku untuk pemeriksaan biokimia klinis.

## **9. Pengamatan gejala toksikitas subkronik**

**9.1. Pemeriksaan kadar kreatinin.** Pemeriksaan kreatinin dalam darah dilakukan dengan pengambilan darah tikus terlebih dahulu. Darah yang diambil kemudian disentrifuge selama 10-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Tabung reaksi kosong disiapkan, dan dibuat monoreagen yaitu campuran dari reagen I dan reagen II dengan perbandingan 1:1 . Monoreagen kemudian dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 1000  $\mu$ L ke tabung reaksi kosong. Serum plasma yang sebelumnya telah disentrifuge, dipipet sebanyak 50  $\mu$ L ke dalam tabung yang berisi monoreagen. Inkubasikan tabung reaksi selama  $\pm$  3 menit lalu homogenkan.

Hasil dibaca pada alat spektrofotometer dengan  $\lambda$  545 nm. Pembacaan hasil yaitu dengan melihat nilai n (kadar) yang muncul pada alat. Prinsip pemeriksaan kadar kreatinin ialah reaksi antara kreatinin dengan asam pikrat dalam suasana basa akan membentuk kompleks kreatinin pikrat yang berwarna kuning jingga.



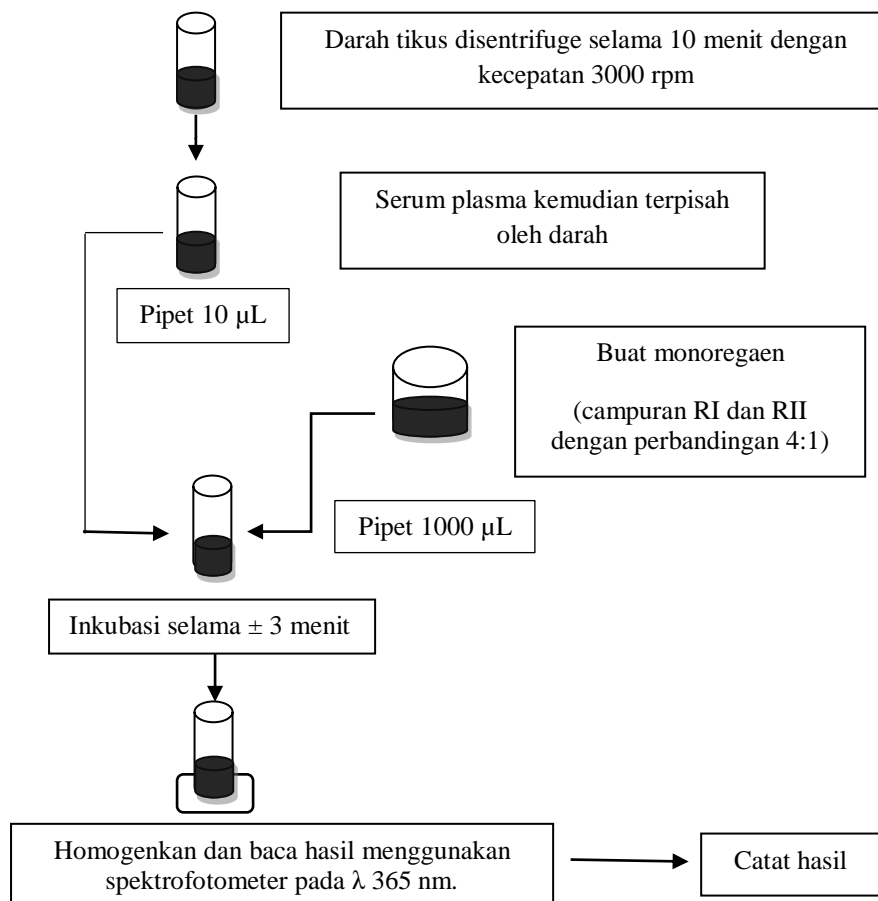
**Gambar 3. Skema pemeriksaan kreatinin**

RI : Disodium phosphate 6,5 mmol/L, NaOH 150 mmol/L

RII : Sodium dodecyl sulfate 0,75 mmol/L, Picrid acid 4,0 mmol/L (pH 4,0)

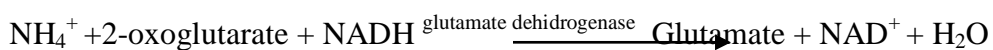
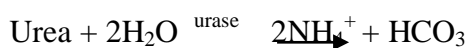
**9.2. Pemeriksaan kadar *Blood Ureum Nitrogen* (BUN).** Pemeriksaan ureum dalam darah dilakukan dengan pengambilan darah tikus terlebih dahulu. Darah kemudian disentrifuge selama 10-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm.

Tabung reaksi kosong disiapkan, dan dibuat monoreagen yaitu campuran dari reagen I dan reagen II dengan perbandingan 4:1. Monoreagen kemudian dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  ke tabung reaksi kosong. Serum plasma yang sebelumnya telah disentrifuge, dipipet sebanyak 10  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung yang berisi monoreagen. Inkubasikan tabung reaksi selama  $\pm 3$  menit lalu homogenkan. Hasil dibaca pada alat spektrofotometer dengan  $\lambda$  365 nm. Pembacaan hasil yaitu dengan melihat nilai n (kadar) yang muncul pada alat.



**Gambar 4. Skema pemeriksaan ureum**

Pengukuran kadar BUN dilakukan dengan metode *GLDH Coupled Enzymatic* dengan reaksi sebagai berikut:



RI : Tris Buffer (pH 7,8), ADP, Urease, GLDH

RII : 2-oxoglutamate dan NADH

**9.3. Pemeriksaan histopatologi.** Pemeriksaan histopatologi pada penelitian kali ini dilakukan pada hari ke-28 dengan mengorbankan hewan uji yang masih hidup. Hewan uji dianastesi menggunakan kloroform, dan diambil organ ginjalnya kemudian dibilas menggunakan Natrium Klorida 0,9% (NaCl) lalu difiksasi ke dalam pot yang berisi larutan Buffer Neutral Formalin 10% selama 3 hari. Sampel jaringan kemudian dilanjutkan ke proses dehidrasi yaitu dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan alkohol bertingkat (alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, alkohol absolut I dan alkohol absolut II) masing-masing selama 2 jam dengan tujuan menghilangkan zat fiksasi yang berlebih.

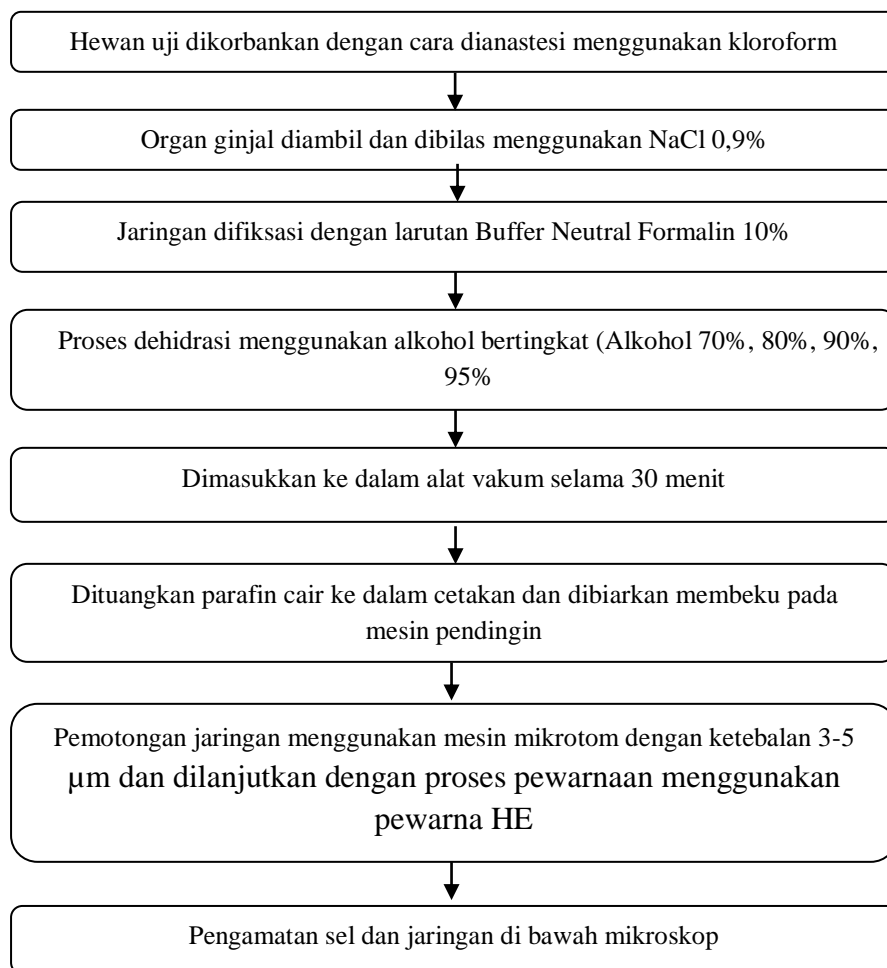
Proses dilanjutkan ke penghilangan udara yang ada pada jaringan menggunakan mesin vakum selama 30 menit. Cetakan yang berisi jaringan kemudian dituangkan parafin yang sebelumnya telah dipanaskan dengan suhu 60°C, dan dibiarkan membeku pada mesin pendingin. Blok parafin kemudian dipotong menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan 3-5 µm. Proses selanjutnya adalah proses mounting yaitu proses penempelan jaringan pada kaca objek yang telah diulas dengan larutan albumin. Jaringan yang telah diulas kemudian dilanjutkan ke proses pewarnaan. Pewarnaan yang digunakan pada penelitian kali ini ialah hematoxylin dan eosin.

Prosedur pewarnaan HE adalah sebagai berikut: jaringan dicelupkan ke dalam larutan xylol I dan xylol II masing-masing selama 2 menit, alkohol absolut selama 2 menit, alkohol 95% dan 80% masing-masing selama 1 menit, kemudian dicuci dengan menggunakan air keran selama 1 menit, dilanjutkan dengan memasukkan sediaan ke dalam larutan pewarna Mayer's Hematoksilin selama 8 menit dan kemudian dicuci kembali dengan air keran selama 30 detik. Sediaan kemudian dimasukkan ke dalam lithium karbonat selama 15-30 detik dan kembali dicuci dengan air keran selama 2-3 menit, selanjutnya diwarnai dengan pewarna eosin selama 2 menit, di cuci dalam air keran selama 30-60 detik.

Langkah berikutnya adalah mencelup sediaan ke dalam larutan alkohol 95% sebanyak 10 kali celupan, alkohol absolut 1 sebanyak 10 kali celupan,



alkohol absolut II selama 2 menit, xylol I selama 1 menit dan xylol II selama 2 menit. Sediaan kemudian dikeringkan dan diberi perekat Permount, lalu ditutup dengan kaca penutup dan disimpan selama beberapa menit sampai zat perekat mengering dan siap diamati dengan mikroskop.



**Gambar 5. Skema pemeriksaan histopatologi**

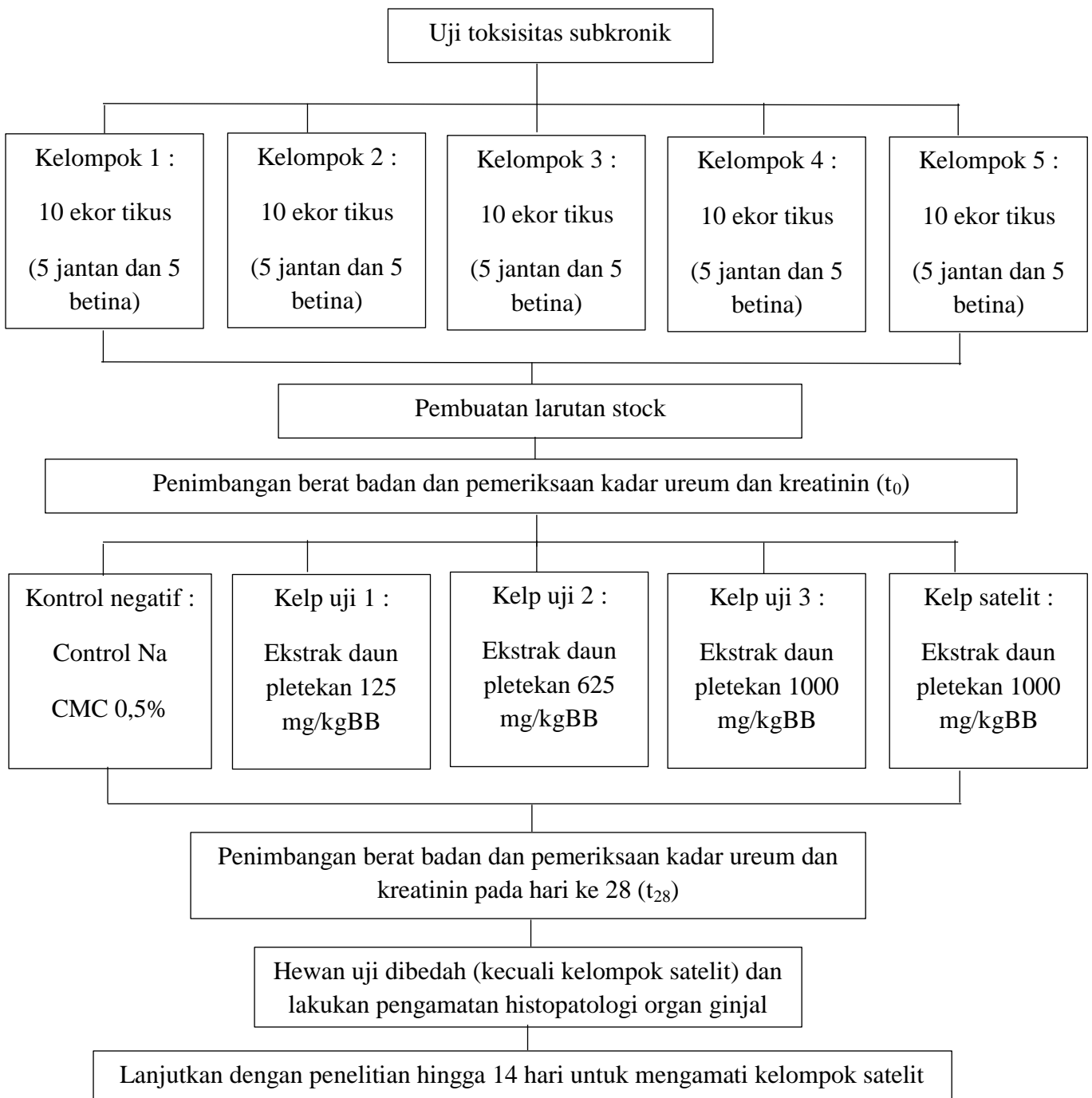
### **E. Analisa Data**

Data yang diperoleh adalah data kuantitatif yang berasal dari hasil penimbangan berat badan tikus serta hasil pemeriksaan biokimia klinis yaitu pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin dari serum darah yang diambil saat sebelum perlakuan ( $t_0$ ), pada hari ke-28 ( $t_1$ ), dan hari ke-42 pada kelompok satelit ( $t_2$ ). Pada hari ke-28 dilakukan pemeriksaan hispatologi

organ ginjal untuk kelompok uji dan dilanjutkan pada hari ke-42 untuk pemeriksaan histopatologi kelompok satelit.

Data dianalisis dengan uji *Shapiro Wilk* untuk melihat distribusi tiap kelompok sedangkan kehomogenan varian dapat diuji *Levene* menggunakan taraf kepercayaan 95%. Apabila data terdistribusi normal dan homogen untuk tiap variannya maka dilakukan analisis satu arah (ANOVA) untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan, jika terdapat perbedaan bermakna maka dilakukan uji *Tukey HSD* dengan taraf kepercayaan 95%, apabila data terdistribusi tidak normal maka dilakukan uji *Kruskal-Walis*, jika terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Man-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan.

Untuk melihat ada tidaknya perubahan parameter pada awal dan akhir penelitian selama masa percobaan maka dilakukan analisa *Paired Sampel T-Test*, bila data terdistribusi normal dan homogen. Dan bila data tidak terdistribusi normal dan homogen maka dapat dilakukan uji *Wilcoxon Test*.



**Gambar 6. Skema jalannya penelitian**



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Determinasi tanaman pletekan

Determinasi tanaman pletekan telah dilakukan di “Herbarium Bogoriense”, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

#### 2. Hasil pembuatan serbuk daun pletekan

Daun pletekan kering yang dihasilkan adalah 2000 gram dengan berat basah awal 20.000 gram yang berarti persentase berat kering terhadap berat basah adalah sebesar 10%. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada lampiran 4.

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Persentase (%)
20.000	2000	10%

#### 3. Hasil penetapan kelembaban serbuk daun pletekan

Metode penetapan kadar kelembaban serbuk daun pletekan adalah dengan menggunakan alat *moisture balance*. Kadar kelembaban dalam serbuk simplisia tidak boleh melebihi 10% (Depkes 1985).

No	Bobot awal (gram)	Kelembaban (%)
1	2,0	8,5
2	2,0	8,0
3	2,0	8,3
<b>Rata-rata ± SD</b>		<b>8,27 ± 0,25</b>

Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata kadar kelembaban serbuk daun pletekan adalah 8,27% yang artinya kadar kelembaban daun pletekan telah memenuhi persyaratan kadar kelembaban serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%.

#### 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pletekan

Kadar air yang diperoleh dengan perbandingan berat serbuk basah sebelum dipanaskan dan serbuk kering setelah dipanaskan menggunakan alat *Sterling bidwell* menjadi pengukuran susut pengeringannya.

**Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pletekan**

No	Berat serbuk (gram)	Skala (ml)	Kadar (%)
1	20	1,60	8
2	20	1,75	8,75
3	20	1,70	8,5
<b>Rata-rata ± SD</b>			<b>8,4 ± 0,4</b>

Kadar susut yang diperoleh dari ekstrak daun pletekan adalah 8,4%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air serbuk daun pletekan telah memenuhi syarat penetapan kadar air pada daun, yaitu tidak lebih dari 10%. Data dapat dilihat pada lampiran 5.

### 5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun pletekan

Serbuk simplisia seberat 1.250 gram dimaserasi menggunakan etanol 70% sebanyak 9,735 L dalam botol maserasi selama 5 hari dengan pengocokan tiga kali sehari. Maserat disaring menggunakan kain flanel dan kertas saring yang kemudian ditampung kembali pada botol maserasi. Hasil dari penyaringan kemudian dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* yang bertujuan agar sisa pelarut etanol 70% menjadi hilang. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun pletekan adalah sebagai berikut :

**Tabel 4. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun pletekan**

Serbuk (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1.250	630,64	823,85	193,21	15,46

Hasil yang diperoleh dari 1250 gram serbuk daun pletekan adalah 193,21 gram. Rendemen yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut etanol adalah 15,46%. Data dapat dilihat pada lampiran 4.

### 6. Identifikasi kandungan senyawa kimia daun pletekan

Hasil identifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam daun pletekan didapatkan hasil sebagai berikut :

**Tabel 5. Hasil identifikasi senyawa kimia**

No	Golongan senyawa kimia	Pustaka	Hasil
1	Flavonoid	Perubahan warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol	Kuning dan terbentuk lapisan pada amil alkohol
2	Alkaloid	Kekeruhan atau endapan	Kekeruhan dan endapan
3	Saponin	Buih yang stabil	Buih stabil selama 20 menit
4	Tanin	Biru kehitaman/hijau kehitaman	Biru kehitaman

Identifikasi senyawa kimia dilakukan dengan menggunakan metode tabung melalui uji kualitatif dengan menggunakan reaksi warna. Hasil menunjukkan bahwa daun pletekan positif mengandung senyawa kimia flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Data dapat dilihat pada lampiran 13.

## 7. Hasil uji bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk memastikan bahwa kandungan etanol yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun pletekan tidak melebihi batas yang telah ditentukan yaitu 0,001%. Uji kandungan etanol dilakukan dengan pengamatan yang dilihat dari perubahan warna dan bau yang terjadi pada ekstrak etanol daun pletekan. Hasil yang didapatkan sebagai berikut :

**Tabel 6. Uji bebas etanol**

Prosedur	Hasil	Pustaka
Ekstrak + CH <sub>3</sub> COOH pekat + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Tidak terdapat bau etanol	Tidak terdapat bau etanol

Hasil uji bebas etanol yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pletekan bebas dari senyawa etanol. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 14.

## 8. Hasil persiapan hewan uji dan bahan uji

**8.1. Hasil persiapan hewan uji.** Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina galur wistar (*Rattus novergus*) sebanyak 50 ekor yang masing-masing terdiri dari 25 ekor. Surat hewan uji dapat dilihat pada lampiran 2.

**8.2. Hasil penyiapan bahan uji.** Pembuatan CMC 0,5% yang akan digunakan sebagai kontrol negatif dilakukan dengan menimbang 0,5 gram CMC dan kemudian disuspensikan dalam aquadestilata panas sampai 100 ml menggunakan mortir dan stamper. Dilihat pada lampiran 15.

**8.3. Hasil perhitungan dosis uji.** Dosis ekstrak etanol yang diberikan kepada hewan uji adalah 125 mg/kgBB sebagai dosis efektif, 625 mg/kgBB sebagai dosis sedang, dan 1000 mg/kgBB sebagai dosis tinggi. Sedangkan untuk kelompok kontrol negatif hewan uji diberikan larutan CMC 0,5% dan untuk kelompok satelit diberikan dosis yang setara dengan dosis tinggi. Perhitungan dosis terdapat pada lampiran 8.

**8.4. Hasil volume pemberian sediaan uji.** Volume pemberian maksimal pada hewan uji tikus adalah 5 ml. Volume pemberian sediaan uji dapat disesuaikan dengan berat badan hewan uji pada awal pengujian. Data volume pemberian sediaan uji dapat dilihat pada lampiran 8.

**8.5. Hasil pengamatan berat badan.** Pengamatan berat badan hewan uji dilakukan setiap minggu dari hari ke-0 sampai hari ke-42. Data berat badan yang diperoleh kemudian dianalisis dengan statistik menggunakan SPSS. Hasil rata-rata perhitungan statistik berat badan hewan uji dapat dilihat pada lampiran 6.

**Tabel 7. Hasil analisis statistik rata-rata berat badan tikus betina dan jantan (gram)**

Betina	Minggu ke						
	0	1	2	3	4	5	6
Kontrol	152±5,70	158±6,70	163±5,70	169±5,47	174±7,41		
Dosis 1	154±6,51	161±6,51	164±6,51	169±5,47	177±5,70		
Dosis 2	150±3,53	156±4,18	165±5,00	171±4,18	180±3,53		
Dosis 3	153±5,70	160±5,00	164±4,18	172±8,36	178±8,36		
Satelit	155±3,53	159±4,18	164±4,18	172±5,70	178±7,58	188±7,58	197±7,36

Jantan	Minggu ke						
	0	1	2	3	4	5	6
Kontrol	169±6,51	175±5,00	181±4,18	186±4,18	192±5,70		
Dosis 1	165±5,00	171±4,18	179±5,47	186±4,18	195±5,00		
Dosis 2	165±5,00	171±4,18	179±6,51	184±6,51	191±7,41		
Dosis 3	165±3,53	171±4,18	180±3,53	185±3,53	190±3,53		
Satelit	165±5,00	171±4,18	177±5,70	183±5,70	190±3,53	193±2,73	198±2,73

**Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%

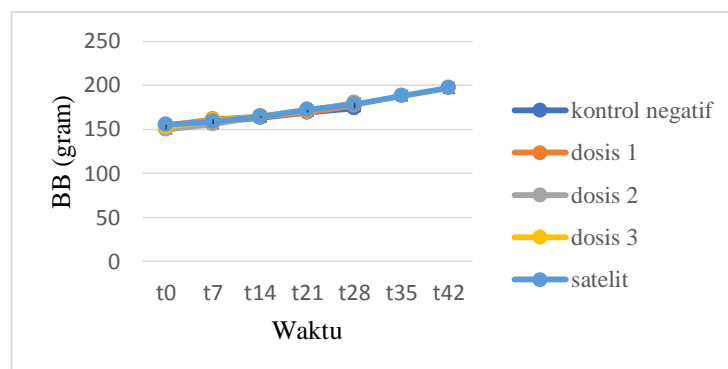
Kelompok Dosis I : 125 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 625 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

\* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol



**Gambar 7. Diagram garis rata-rata berat badan tikus putih betina**



**Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%

Kelompok Dosis I : 125 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 625 mg/kgBB tikus

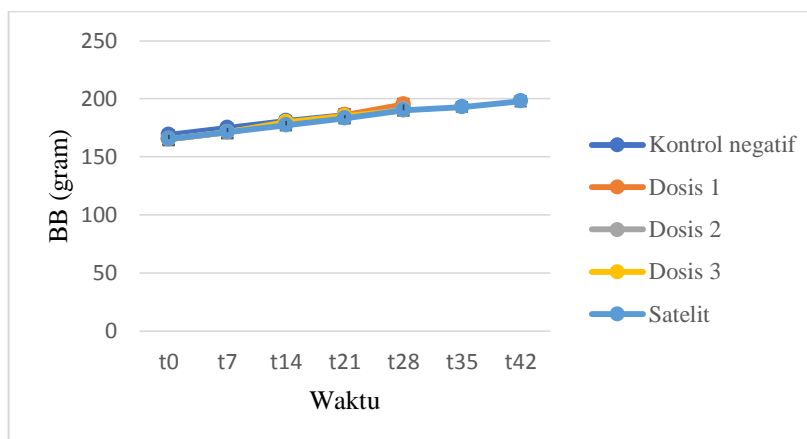
Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

\* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol

Berdasarkan grafik pada gambar 7 diketahui bahwa terjadi kenaikan berat badan tikus putih betina disetiap minggu pada semua kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok dosis uji selama masa perlakuan. Kenaikan berat badan yang dialami oleh hewan uji kemungkinan dipengaruhi oleh faktor pangan dan kondisi biologis serta lingkungan.

Data hasil pengamatan berat badan hewan uji yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk melihat normalitasnya. Hasil analisis semua kelompok perlakuan menunjukkan nilai probabilitas  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya data kelompok perlakuan berat badan tikus betina terdistribusi normal. Oleh karena data terdistribusi normal maka dapat dilanjutkan dengan uji *Levene* untuk melihat homogenitasnya. Hasil analisis menunjukkan nilai probabilitas  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya data berat badan tikus betina homogen untuk tiap variannya. Oleh karena hasil analisis berat badan tikus betina terdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan dengan uji *One way ANOVA*. Pada uji ini didapatkan nilai signifikansi  $\geq 0,05$  untuk semua kelompok perlakuan yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan.



**Gambar 8. Diagram garis rata-rata berat badan tikus putih jantan**

**Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%  
 Kelompok Dosis I : 125 mg/kgBB tikus  
 Kelompok Dosis II : 625 mg/kgBB tikus  
 Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus  
 Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

\* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol

Berdasarkan grafik pada gambar 8 diketahui bahwa terjadi kenaikan berat badan tikus putih jantan setiap minggu pada semua kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok dosis uji selama masa perlakuan. Kenaikan berat badan yang dialami oleh hewan uji dapat dipengaruhi oleh faktor pangan dan kondisi biologis serta lingkungan.

Data hasil pengamatan berat badan hewan uji yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk melihat normalitasnya. Penggunaan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* lebih baik hasilnya pada sampel berjumlah kecil atau kurang dari tiga puluh sampel dibandingkan uji normalitas lain. Hasil analisis semua kelompok perlakuan menunjukkan nilai probabilitas  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya data kelompok perlakuan berat badan tikus jantan terdistribusi normal. Oleh karena data terdistribusi normal maka dapat dilanjutkan dengan uji *Levene* untuk melihat homogenitasnya. Hasil analisis menunjukkan nilai probabilitas  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya data berat badan tikus jantan homogen untuk tiap variannya. Oleh karena hasil analisis berat badan tikus jantan terdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan dengan uji *One way ANOVA*. Pada uji ini didapatkan nilai signifikansi  $\geq 0,05$  untuk semua kelompok perlakuan yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan.

## 9. Hasil uji toksisitas subkronik

**9.1. Hasil uji kadar *Blood Ureum Nitrogen* (BUN).** Pengukuran kadar ureum dalam darah bertujuan untuk mengetahui jumlah nitrogen pada darah yang berasal dari produk limbah urea secara tidak langsung dari urea didalam darah (Shils *et al* , 2006). Urea adalah produk limbah yang dibentuk dalam tubuh selama proses pemecahan protein. Protein kemudian dipecah menjadi asam amino dan menghasilkan amonia. Hasil analisis statistik rata-rata kadar ureum dapat dilihat pada lampiran 10.

**Tabel 8. Hasil analisa statistik rata-rata kadar BUN tikus jantan dan tikus betina**

Jenis hewan	Waktu	Kadar BUN (mg/dL)				
		Kontrol	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Satelit
Betina	t0	13,6±1,14	14±1,58	14,2±1,64	15±1,22	14,6±2,07
	t1	13,8±1,30	14,2±1,30	14,6±1,14	15,2±1,92	14,8±2,28
Jantan	t0	15±1,22	15,2±1,64	15,8±1,78	14±2,00	14,2±1,30
	t1	15±1,22	15,2±1,64	16±2,00	14,6±1,51	14,6±1,34

**Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%

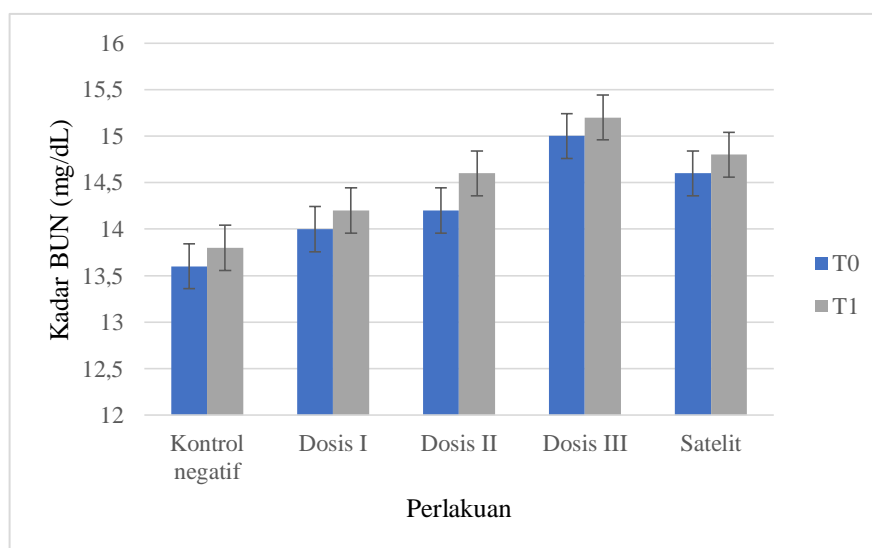
Kelompok Dosis I : 200 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 400 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 800 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 800 mg/kgBB tikus

\* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol

**Gambar 9. Histogram kadar BUN tikus putih betina****Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%

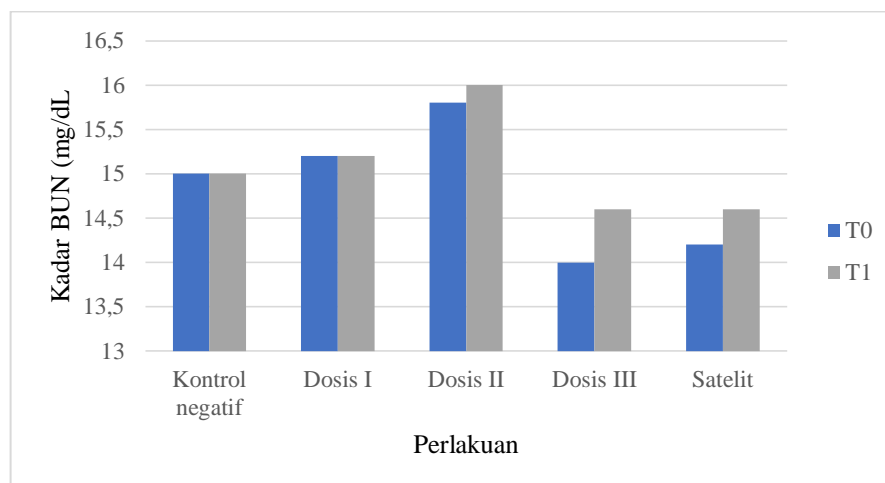
Kelompok Dosis I : 125 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 625 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

\* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol



**Gambar 10. Histogram kadar BUN tikus putih jantan**

**Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%

Kelompok Dosis I : 125 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 625 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

\* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok control

Dari hasil histogram pada gambar 9 dan 10 menunjukkan bahwa adanya kenaikan kadar BUN pada setiap kelompok perlakuan baik betina maupun jantan. Kenaikan kadar BUN dari  $t_0$  dan  $t_1$  meningkat dalam batas normal. Data hasil pengamatan kadar BUN dianalisis secara statistik menggunakan *Shapiro Wilk* untuk melihat nilai normalitasnya, hasil signifikansi data dari semua kelompok adalah  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya data kelompok perlakuan kadar BUN terdistribusi normal. Hasil analisis kemudian dilanjutkan dengan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitasnya dan hasil nilai probabilitas yang didapatkan pada tikus betina dan tikus jantan adalah  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya data kadar BUN tikus betina dan tikus jantan homogen untuk tiap variannya. Hasil analisis dapat dilanjutkan dengan uji varian satu arah *One way ANOVA* dan nilai signifikansi yang didapatkan adalah  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif.

Data hasil kadar BUN yang didapatkan dapat dianalisis menggunakan *Paired T-test*, uji ini digunakan karena subjek perlakuan pada penelitian ini sama namun diberikan perlakuan yang berbeda. Uji ini dilakukan dengan tujuan mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pletakan terhadap kadar BUN darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan pada setiap kelompok perlakuan. Hasil analisis yang didapatkan menunjukkan bahwa kadar BUN darah sebelum dan sesudah perlakuan didapatkan hasil berbeda tidak bermakna dengan nilai probabilitas  $\geq 0,025$  ( $H_0$  diterima) baik pada tikus betina maupun jantan yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif.

Guyton dan Hall (2007) menunjukkan bahwa distribusi asam amino dalam darah sampai batas tertentu bergantung pada tipe protein yang dimakan. Peningkatan kadar BUN biasanya menunjukkan adanya kerusakan filtrasi glomerulus. Kadar BUN dipengaruhi oleh kurangnya zat makanan dan hepatotoksisitas yang merupakan efek ureum beberapa toksikan (Lu 2006). Pengaruh selanjutnya adalah kerusakan ginjal akut yang menyebabkan penurunan laju filtrasi glomerulus, sehingga kadar ureum dalam plasma meningkat karena kerusakan sel epitel tubulus ginjal.

Efek fisiologis ginjal akut adalah retensi air, produk buangan dari metabolisme dari elektrolit di dalam darah dan cairan ekstrasel. Hal ini menyebabkan penumpukkan air dengan garam yang berlebihan, yang kemudian dapat menyebabkan edema dan hipertensi. Salah satu senyawa pada tanaman pletakan yang diduga dapat menyebabkan kenaikan kadar ureum adalah alkaloid. Karena pada senyawa alkaloid terdapat satu atau lebih atom nitrogen selain itu alkaloid juga memiliki efek fisiologis seperti penyakit jantung dan hipertensi yang menjadi salah satu penyebab terjadinya ginjal akut. Data kadar BUN dapat dilihat pada lampiran 9.

**9.1. Hasil uji kadar kreatinin.** Ginjal yang sehat akan menyaring kreatinin dari limbah lainnya dari dalam darah. Limbah yang disaring kemudian dibuang

melalui urin. Kemampuan ginjal untuk menyaring kreatinin disebut laju pembersihan kreatinin (*creatinin clearance rate*). Jika ginjal tidak berfungsi dengan baik maka kadar kreatinin akan meningkat dan menumpuk dalam darah. Oleh karena itu, kreatinin sangat berguna dalam mengevaluasi fungsi ginjal. Peningkatan kadar kreatinin mengindikasikan bahwa adanya penurunan laju filtrasi glomerulus.

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

Jenis hewan	Waktu	Kadar Kreatinin (mg/dL)				
		Kontrol	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3	Satelit
Betina	t0	0,64±0,20	0,54±0,11	0,66±0,23	0,50±0,15	0,44±0,11
	t1	0,64±0,16	0,56±0,15	0,68±0,14	0,54±0,19	0,48±0,14
Jantan	t0	0,54±0,18	0,50±0,15	0,64±0,11	0,6±0,15	0,66±0,18
	t1	0,62±0,23	0,56±0,20	0,66±0,20	0,58±0,13	0,66±0,20

**Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%

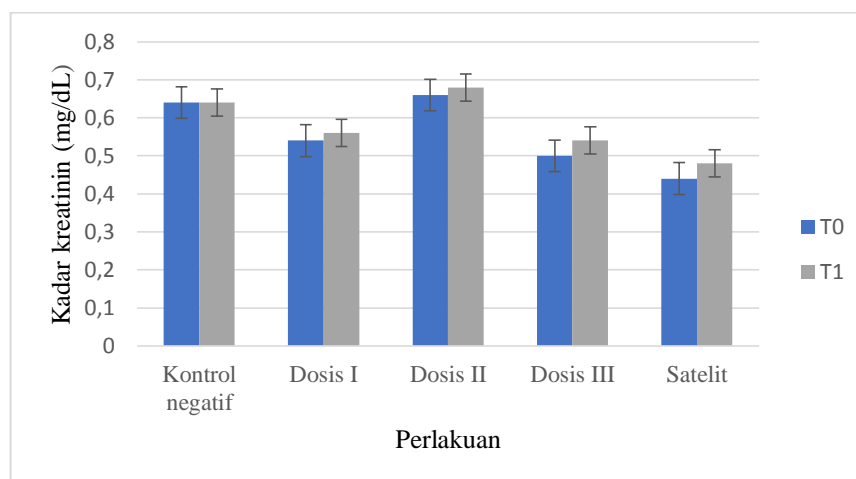
Kelompok Dosis I : 125 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 625 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus

Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus

\* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok control



**Gambar 11. Histogram kadar kreatinin hewan uji betina**

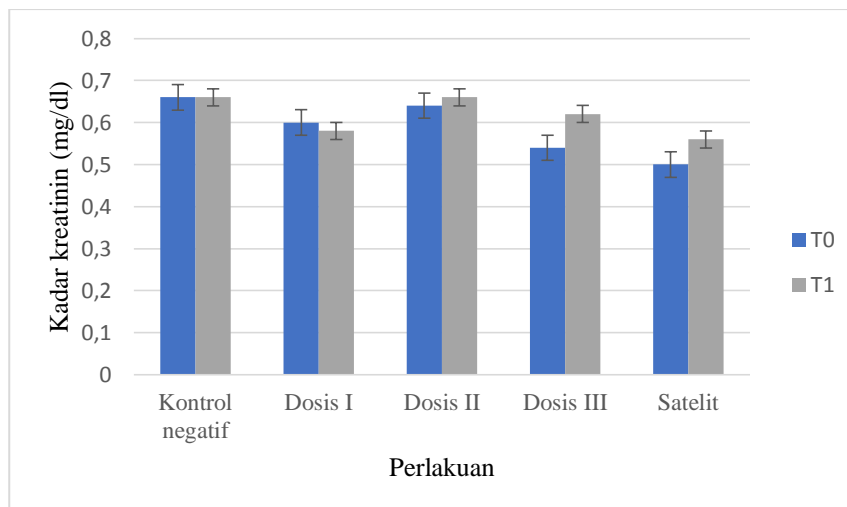
**Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%

Kelompok Dosis I : 125 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis II : 625 mg/kgBB tikus

Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus  
 Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus  
 \* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol



**Gambar 12. Histogram kadar kreatinin pada hewan uji jantan**

**Keterangan :**

Kelompok Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%  
 Kelompok Dosis I : 125 mg/kgBB tikus  
 Kelompok Dosis II : 625 mg/kgBB tikus  
 Kelompok Dosis III : 1000 mg/kgBB tikus  
 Kelompok Satelit : 1000 mg/kgBB tikus  
 \* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol

Dari hasil histogram pada gambar 11 dan gambar 12 menunjukkan bahwa kadar kreatinin pada hewan uji betina dan hewan uji jantan mengalami kenaikan dan penurunan. Penurunan hanya terjadi pada hewan uji jantan dengan kelompok dosis uji 125 mg/dL. Nilai rata-rata kenaikan dan penurunan kadar kreatinin untuk semua perlakuan berada pada batas normal. Data hasil pengamatan kadar BUN dianalisis secara statistik menggunakan *Shapiro Wilk* untuk melihat nilai normalitasnya, hasil signifikansi data dari semua kelompok adalah  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya data kelompok perlakuan kadar kreatinin terdistribusi normal. Hasil analisis kemudian dilanjutkan dengan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitasnya dan hasil nilai probabilitas yang didapatkan pada tikus betina dan tikus jantan adalah  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya data kadar kreatinin tikus betina dan tikus jantan homogen untuk tiap variannya. Hasil analisis dapat

dilanjutkan dengan uji varian satu arah *One way ANOVA* dan nilai signifikansi yang didapatkan adalah  $\geq 0,05$  ( $H_0$  diterima) yang artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif.

Data hasil kadar kreatinin yang didapatkan dapat dianalisis menggunakan *Paired T-test*, uji ini digunakan karena subjek perlakuan pada penelitian ini sama namun diberikan perlakuan yang berbeda. Uji ini dilakukan dengan tujuan mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pletakan terhadap kadar kreatinin darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan pada setiap kelompok perlakuan. Hasil analisis yang didapatkan menunjukkan bahwa kadar kreatinin darah sebelum dan sesudah perlakuan didapatkan hasil berbeda tidak bermakna dengan nilai probabilitas  $\geq 0,025$  ( $H_0$  diterima) baik pada tikus betina maupun jantan yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif.

Adanya kenaikan kadar kreatinin pada hewan uji selama masa percobaan kemungkinan dapat disebabkan oleh penurunan *Glomerulus Filtration Rate* (GFR) sebagai akibat adanya obstruksi pada saluran urinari akibat akumulasi batu pada saluran tersebut. Penurunan GFR berlanjut pada peningkatan urea, kreatinin dan asam urat yang terakumulasi dalam darah (Ghodkhar 1994). Data kadar kreatinin dapat dilihat pada lampiran 11.

**9.2. Hasil pemeriksaan histopatologi.** Pemeriksaan histopatologi organ dilakukan untuk melihat adanya nekrosis pada organ ginjal tikus. Pada sel normal ginjal tikus memiliki nukleus yang jelas, batas teratur, dan warna yang lebih muda. Nekrosis merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya. Nekrosis adalah kematian sel dan jaringan pada tubuh makhluk hidup dan tampak nyata pada nucleus. Terjadinya nekrosis dapat disebabkan oleh terpejannya zat toksik. Nekrosis dapat dipengaruhi oleh banyak faktor seperti hewan uji yang tidak dapat beradaptasi, atau usia hewan yang terlalu muda atau terlalu tua.

Terdapat 3 kerusakan yang biasa terjadi yaitu : piknosis, yang ditandai dengan melisutnya nukleus dan peningkatan basophil kromatin (warna gelap).



Kariolisis yang ditandai adanya nukleus yang mati dan hilang disebabkan oleh aktivitas DNA sehingga basophil kromatin memudar. Karioreksis ditandai dengan hancurnya nukleus yang kemudian membentuk fragmen materi kromatin memudar (Mitchell dan cotran 2007).

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

Jenis	Kelompok	Normal	Piknotik	Kariolisis	Karioreksis
Betina	Kontrol	95	2	0	3
	Dosis 1	90	6	0	4
	Dosis 2	84	4	0	11
	Dosis 3	77	8	0	15
	Satelit	82	16	0	2
Jantan	Kontrol	94	4	0	2
	Dosis 1	91	4	0	5
	Dosis 2	88	3	0	9
	Dosis 3	76	5	0	11
	Satelit	85	13	0	2

Hasil pengamatan mikroskopis yang dilihat dari 100 sel organ ginjal hewan uji tikus jantan dan betina setelah pemberian ekstrak daun pletakan menunjukkan adanya kerusakan yang terjadi akibat sel yang mengalami piknosis dan karioreksis pada kelompok kontrol, dosis dan satelit. Kerusakan tertinggi terjadi pada dosis 1000 mg/kg BB pada kelompok betina. Pada pembuatan preparat histopatologi sampel yang diambil hanya 2 ekor yaitu satu tikus jantan dan satu tikus betina sehingga hasil pemeriksaan histopatologi tidak dapat dilanjutkan ke pengujian secara statistik. Data hasil histopatologi dapat dilihat pada lampiran 16.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Pertama, pemberian ekstrak daun pletekan selama 28 hari secara oral tidak menimbulkan efek toksik terhadap organ ginjal dilihat dari parameter BUN dan kreatinin plasma tikus putih.
2. Kedua, pemberian ekstrak daun pletekan selama 28 hari secara oral tidak menimbulkan efek toksik terhadap organ ginjal dilihat dari gambaran histopatologi organ tikus jantan dan betina galur wistar

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian uji toksisitas subkronik jangka panjang ekstrak daun pletekan untuk melihat efek lebih lanjut.
2. Perlu dilakukan pengamatan terhadap parameter fungsi ginjal yang lain seperti asam urat dan clearance creatinine.
3. Perlu dilakukan pengamatan terhadap bagian organ lain seperti hepar, lambung, jantung, dan paru pada tikus putih jantan dan betina.

## DAFTAR PUSTAKA

- [Ditjen POM RI] Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2000. *Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting Dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- [Ditjen POM RI] Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2009. *Konsep Pengembangan Obat Asli Indonesia*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Afzal K et al. 2015. Genus *Ruellia*: pharmacological and phytochemical importance in ethnopharmacology. *Acta Poloniae Pharmaceutical Drug Research* 72(5): 821-827.
- Ahmad AR. 2012. *Isolasi dan elusidasi struktur antioksidan dan penghambat enzim xantin oksidase daun pletekan (Ruellia tuberosa L.)* [Tesis]. Depok: FMIPA, Program Studi Master Ilmu Kefarmasian, UI.
- Bijanti, R. 2009. Bahan Ajar Patologi Klinik Veteriner, Kimia Klinik Veteriner. Edisi Pertama, Departemen Kedokteran Dasar Veteriner.
- BPOM RI, 2005. *Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Tentang Ketentuan Pokok Pengawasan pangan Fungsional*. BPOM. Jakarta
- BPOM RI, 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara in vivo*. BPOM. Jakarta.
- Chothani, D.L., Patel, M.B., & Mishra, S.H., 2012. *HPTLC Fingerprint Profile and Isolation of Marker Compound of Ruellia tuberosa*.
- Cintari, Lely. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Ceplikan (Ruellia tuberosa L.) Terhadap Kadar Kreatinin dan Ureum dalam Serum serta Gambaran Histologis Ginjal Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Diabetes Melitus*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Corwin, E. J. 2009. *Patofisiologi*. Edisi revisi 3. Jakarta: EGC.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Sediaan Galenika*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1999. *Cara Pengelolaan Simplisia Yang Baik*. Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta: 1-26

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *ParameterStandard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Pusat penelitian pengembangan kesehatan.
- Ganong, W. F. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Ganong*. Edisi 22, Jakarta: EGC.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. Ilmu Obat Alam ; Farmakognosi. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 14
- Guyton, A.C. and Hall, J.E, 1997, Fisiologi Kedokteran, Edisi 9, CV. ECG Penerbit, Buku Kedokteran, Jakarta.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Harborne, J.B. 1984. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Terbitan Kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Hariana, A. 2004. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya (Vol.1). Penerbit Penebar Swadaya: Jakarta.
- Harmita dan Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*, Edisi Kedua. Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Harmita dan Radji, M. 2007. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 3*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Harper, H.A. 1983, Review of Biochemistry, Diterjemahkan oleh Adji Dharma, CV. ECG, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Hopkins, W.G. dan N. P. A. Hunner, 2004. *Introduce to Plant Physiology*, John Wiley and Sons, Inc, New York. 559.
- Horne.M.M, dan Swearingen.L.P. 2001. *Keseimbangan Cairan, Elektrolit dan Asam Basa (Edisi Kedua)*. Jakarta: EGC.
- Hudak, C.M & Gallo. 1999. Keperawatan Kritis: *Pendekatan Holistik Vol. I*. Jakarta: EGC.
- Jamal, R. 2010. *Prinsip-prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*, Padang: Penerbit Universitas Baiturrahma.

- Kementerian Kesehatan RI, 2010. *Rencana Strategis Kementerian Kesehatan Tahun 2010-2014*. Jakarta.
- Loomis, T.A., 1978. *Toksikologi Dasar*, diterjemahkan oleh Dontus, LA., edisi III, IKIP Semarang Press, Semarang: 39-41; 58-60
- Lu, C. Frank. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Jakarta: UI Press. Hlm 86-93
- Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB. hlm 15
- McDowell I. dan Newell C. 1996. *Measuring Health: A Guide to Rating Scales and Questionnaires 2nd ed.*
- Nurhawa, V., Ahmad Najib, Aktsar Roskiana Ahmad. 2016. *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (Ruellia tuberosa L.) Dengan Menggunakan Metode Brine Shirmp Lethality Test (BSLT)*.
- OECD. 2008. *Organization for Economic Cooperation and Development Guidelines for The Testing of Chemicals TG*.
- Price, A. S., Wilson M. L., 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Alih Bahasa: dr. Brahm U. Penerbit. Jakarta: EGC.
- Priyanto, 2009. *Farmakoterapi dan Terminologi Medis*, hal 143-155 Leskonfi, Depok.
- Rajan, M., Kumar, V.K., Kumar, S., Swathi, K.R., & Haritha, S. 2012. *Antidiabetic, antihyperlipidaemic and hepatoprotective activity of methanolic extract of Ruellia tuberosa Linn leaves in normal and alloxan induced diabetic rats*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.
- Rubenstein, David, dkk. 2007. *Lecture Notes Kedokteran Klinis*. Dialih bahasakan oleh Annisa Rahmalia. Jakarta : Erlangga.
- Sovan Sarkar, Adelina A Davies, Helle D Urich and Peter J McHugh, 2006. *DNA Interstrand Crosslink Repair During G1 Involves Nucleotide Excision Repair and DNA Polymerase*.
- Steenis V. 1975. *Flora Untuk Sekolah Indonesia*. Jakarta: PT Pradnya Paramitha.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Farmakologi. Adisi IV*. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Underwood ECJ. 1999. *Buku kedokteran*. Jakarta: EGC.

- Thomas ANS. 2007. *Tanaman Obat Tradisional 2*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tortora, G.J. Funke, BR., Case, CL. 2001. *Microbiology an Introduction* 7<sup>th</sup> edition. Addison Wesley Longman: United States America.
- Underwood ECJ. 1999. *Buku kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Wahyono et al. 2007. *Profil Farmakokinetika Sulfasetamid pada Tikus Gagal Ginjal Karena Diinduksi Uranil Nitrat*. Majalah Farmasi Indonesia.
- Wicaksono, S. 2002. *Efek Toksik dan Cara Menentukan Toksisitas Bahan Kimia*. Jurnal Cermin Dunia Kedokteran.
- Wijayanti AW. 2008. *Uji Aktivitas Mukolitik Infusa Daun Pare (Momordica charantia L.) pada Mukus Usus Sapi Secara In Vitro*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Wirasuta, I M.A.G et al 2009. *Buku Ajar Toksikologi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat determinasi tanaman pletekan



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
(*INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES*)  
**PUSAT PENELITIAN BIOLOGI**  
(*RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY*)



Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911  
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612  
Website: [www.biologi.lipi.go.id](http://www.biologi.lipi.go.id)

Cibinong, 30 Desember 2016

Nomor : 2667/IPH.1.01/If.07/XII/2016  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Dessy Tripuji Rahayu**  
Mhs. Univ. Setia Budi  
Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Pletekan	<i>Ruellia tuberosa</i> L.	Acanthaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,



*Dr. Joeni Setjo Rahajoe*  
NIP. 196706241993032004



## Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

### "ABIMANYU FARM"

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

Ngampon RT 04 / RW 04, Majosongo Kec. Jebres Surakarta, Phone 085 629 994 33 / Lab USB Sika

---

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Dessy Tripuji Rahayu  
Nim : 19133838 A  
Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Putih Galur Wistar  
Umur : 2-3 bulan  
Jumlah : 50 ekor  
Jenis kelamin : 25 Jantan dan 25 Betina  
Keterangan : Sehat  
Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

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

Surakarta, 6 Juli 2017

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

### Lampiran 3. Surat keterangan uji histopatologi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
LABORATORIUM HISTOLOGI

**SURAT KETERANGAN**  
12/ UN27.6.6.2.1/2017

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

Nama : Dessy Tripuji Rahayu  
Nim : 19133838A  
Fakultas : Farmasi  
Universitas : Setia Budi  
Judul Skripsi : Uji toksisitas subkronik ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) terhadap parameter fungsi ginjal tikus putih.

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

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 3 Mei 2017  
Kepala Bagian Histologi FK UNS



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

#### Lampiran 4. Perhitungan rendemen serbuk dan ekstrak

##### Rendemen serbuk

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Persentase rendemen (%)
20000 gram	2000 gram	10 %

Perhitungan :

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{berat kering (gram)}}{\text{berat basah (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{2000 \text{ gram}}{20000 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 10 \% \end{aligned}$$

##### Rendemen ekstrak

Serbuk (g)	Berat wadah kosong (g)	Berat wadah + ekstrak (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
1250 gram	630,64	823,85	193,21	15,46

Perhitungan :

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak (gram)}}{\text{berat serbuk (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{193,2132 \text{ gram}}{1250 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 15,46 \% \end{aligned}$$

**Lampiran 5. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun pletekan**

No	Berat serbuk (g)	Bobot penyusutan (g)	Kadar (%)
1	20	1,60	8
2	20	1,75	8,75
3	20	1,70	8,5
<b>Rata-rata ± SD</b>			<b>8,4 ± 0,4</b>

## Replikasi I

Jumlah ekstrak = 20 ml

Jumlah pelarut xilen = 50 ml

Jumlah air yang diperoleh 1,60 ml

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

$$\text{Kadar air} = \frac{1,60 \text{ ml}}{20 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$= 8 \%$$

## Replikasi II

Jumlah ekstrak = 20 ml

Jumlah pelarut xilen = 50 ml

Jumlah air yang diperoleh 1,75 ml

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

$$\text{Kadar air} = \frac{1,75 \text{ ml}}{20 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$= 8,75 \%$$

## Replikasi III

Jumlah ekstrak = 20 ml

Jumlah pelarut xilen = 50 ml

Jumlah air yang diperoleh 1,70 ml

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

$$\text{Kadar air} = \frac{1,70 \text{ ml}}{20 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$= 8 \%$$

$$\text{Rata-rata kadar air dalam minyak} = \frac{1,60\% + 1,75\% + 1,70\%}{3} = \frac{5,05\%}{3} = 1,6\%$$

**Lampiran 6. Data berat badan tikus (gram)****Tikus betina**

Kelompok	Hewan uji	t0	t7	t14	t21	t28	t35	t42
Kontrol negatif	1	145	150	155	160	165		
	2	155	165	165	170	175		
	3	150	155	165	170	175		
	4	160	165	170	175	185		
	5	150	155	160	170	170		
Dosis uji 1	1	160	170	170	175	185		
	2	155	160	165	170	175		
	3	160	165	170	170	175		
	4	150	155	160	170	180		
	5	145	155	155	160	170		
Dosis uji 2	1	145	150	160	170	180		
	2	150	155	165	165	175		
	3	155	160	170	175	180		
	4	150	155	160	170	180		
	5	150	160	170	175	185		
Dosis uji 3	1	160	165	170	175	180		
	2	150	155	160	165	170		
	3	145	155	160	165	170		
	4	155	165	165	170	180		
	5	155	160	165	185	190		
Satelit	1	155	160	165	165	170	180	190
	2	150	155	160	170	175	185	190
	3	155	155	160	175	180	190	200
	4	160	165	170	180	190	200	210
	5	155	160	165	170	175	185	195

**Tikus jantan**

Kel.Perlakuan	Hewan uji	t0	t7	t14	t21	t28	t35	t42
Kontrol negatif	1	175	180	185	190	200		
	2	165	175	180	185	190		
	3	170	170	180	185	190		
	4	175	180	185	190	195		
	5	160	170	175	180	185		
Dosis uji 1	1	170	175	185	190	200		
	2	160	170	180	185	190		
	3	170	175	180	190	200		
	4	160	165	170	180	190		
	5	165	170	180	185	195		
Dosis uji 2	1	170	175	185	190	195		
	2	165	170	175	180	190		
	3	170	175	185	190	200		
	4	160	165	170	175	180		
	5	160	170	180	185	190		
Dosis uji 3	1	165	170	180	185	190		
	2	165	165	175	180	185		
	3	170	175	180	185	190		
	4	160	170	185	190	195		
	5	165	175	180	185	190		
Satelit	1	170	175	185	190	195	195	200
	2	165	170	175	185	190	195	200
	3	160	165	170	175	185	190	195
	4	160	170	175	180	190	195	200
	5	170	175	180	185	190	190	195

## Lampiran 7. Hasil analisis statistik berat badan tikus

### DATA STATISTIK BERAT BADAN TIKUS BETINA

#### Tests of Normality

	Kelompokbetina	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BBharike0	kontrol cmc	,237	5	,200*	,961	5	,814
	dosis 10 mg/kg BB	,221	5	,200*	,902	5	,421
	dosis 100 mg/kg BB	,300	5	,161	,883	5	,325
	dosis 1000 mg/kg BB	,237	5	,200*	,961	5	,814
	Satelit	,300	5	,161	,883	5	,325
BBharike7	kontrol cmc	,273	5	,200*	,852	5	,201
	dosis 10 mg/kg BB	,221	5	,200*	,902	5	,421
	dosis 100 mg/kg BB	,231	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 1000 mg/kg BB	,241	5	,200*	,821	5	,119
	Satelit	,231	5	,200*	,881	5	,314
BBharike14	kontrol cmc	,237	5	,200*	,961	5	,814
	dosis 10 mg/kg BB	,221	5	,200*	,902	5	,421
	dosis 100 mg/kg BB	,241	5	,200*	,821	5	,119
	dosis 1000 mg/kg BB	,231	5	,200*	,881	5	,314
	Satelit	,231	5	,200*	,881	5	,314
BBharike21	kontrol cmc	,372	5	,022	,828	5	,135
	dosis 10 mg/kg BB	,372	5	,022	,828	5	,135
	dosis 100 mg/kg BB	,231	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 1000 mg/kg BB	,201	5	,200*	,881	5	,314
	Satelit	,237	5	,200*	,961	5	,814
BBharike28	kontrol cmc	,246	5	,200*	,956	5	,777
	dosis 10 mg/kg BB	,237	5	,200*	,961	5	,814
	dosis 100 mg/kg BB	,300	5	,161	,883	5	,325
	dosis 1000 mg/kg BB	,231	5	,200*	,881	5	,314
	Satelit	,254	5	,200*	,914	5	,492

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

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BBt0	1,390	4	20	,273
BBt7	1,080	4	20	,393
BBt14	,573	4	20	,685
BBt21	,694	4	20	,605
BBt28	,955	4	20	,453





## ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
BBt0	Between Groups	74,000	4	18,500	,698	,602
	Within Groups	530,000	20	26,500		
	Total	604,000	24			
BBt7	Between Groups	74,000	4	18,500	,627	,649
	Within Groups	590,000	20	29,500		
	Total	664,000	24			
BBt14	Between Groups	10,000	4	2,500	,093	,984
	Within Groups	540,000	20	27,000		
	Total	550,000	24			
BBt21	Between Groups	46,000	4	11,500	,319	,862
	Within Groups	720,000	20	36,000		
	Total	766,000	24			
BBt28	Between Groups	96,000	4	24,000	,527	,717
	Within Groups	910,000	20	45,500		
	Total	1006,000	24			

## DATA STATISTIK BERAT BADAN TIKUS JANTAN

### Tests of Normality

	Kelompokjantan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BBharike0	kontrol cmc	,221	5	,200*	,902	5	,421
	dosis 10 mg/kg BB	,241	5	,200*	,821	5	,119
	dosis 100 mg/kg BB	,241	5	,200*	,821	5	,119
	dosis 1000 mg/kg BB	,300	5	,161	,883	5	,325
	Satelit	,241	5	,200*	,821	5	,119
BBharike7	kontrol cmc	,241	5	,200*	,821	5	,119
	dosis 10 mg/kg BB	,231	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 100 mg/kg BB	,231	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 1000 mg/kg BB	,231	5	,200*	,881	5	,314
	Satelit	,231	5	,200*	,881	5	,314
BBharike14	kontrol cmc	,231	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 10 mg/kg BB	,372	5	,022	,828	5	,135
	dosis 100 mg/kg BB	,221	5	,200*	,902	5	,421
	dosis 1000 mg/kg BB	,300	5	,161	,883	5	,325
	Satelit	,237	5	,200*	,961	5	,814
BBharike21	kontrol cmc	,231	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 10 mg/kg BB	,231	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 100 mg/kg BB	,221	5	,200*	,902	5	,421
	dosis 1000 mg/kg BB	,300	5	,161	,883	5	,325
	Satelit	,237	5	,200*	,961	5	,814
BBharike28	kontrol cmc	,237	5	,200*	,961	5	,814
	dosis 10 mg/kg BB	,241	5	,200*	,821	5	,119
	dosis 100 mg/kg BB	,246	5	,200*	,956	5	,777
	dosis 1000 mg/kg BB	,300	5	,161	,883	5	,325
	Satelit	,300	5	,161	,883	5	,325

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

a. Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BBharike0	1,064	4	20	,400
BBharike7	,134	4	20	,968
BBharike14	,856	4	20	,507
BBharike21	1,121	4	20	,375
BBharike28	1,067	4	20	,399

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BBharike0	Between Groups	64,000	4	16,000	,615	,657
	Within Groups	520,000	20	26,000		
	Total	584,000	24			
BBharike7	Between Groups	64,000	4	16,000	,842	,515
	Within Groups	380,000	20	19,000		
	Total	444,000	24			
BBharike14	Between Groups	44,000	4	11,000	,407	,801
	Within Groups	540,000	20	27,000		
	Total	584,000	24			
BBharike21	Between Groups	34,000	4	8,500	,347	,843
	Within Groups	490,000	20	24,500		
	Total	524,000	24			
BBharike28	Between Groups	86,000	4	21,500	,782	,550
	Within Groups	550,000	20	27,500		
	Total	636,000	24			

## Lampiran 8. Perhitungan dosis uji dan volume pemberian

### BETINA

**Kelompok 1 sebagai kontrol negatif diberi CMC 0,5% sebanyak 2 ml.**

**Kelompok 2 dosis rendah : Dosis 125 mg/kg BB = 25 mg/200 gBB**

No	Berat tikus (g)	Dosis penyesuaian(mg)
1	160	20
2	155	19,37
3	160	20
4	150	18,75
5	145	18,12

#### Perhitungan dosis penyesuaian:

$$\text{Tikus 1} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 2} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 19,37 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 3} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 4} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 18,75 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 5} = \frac{145 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 18,12 \text{ mg}$$

#### Larutan stok 1,25% :

$$1,25 \text{ gram}/100 \text{ ml}$$

$$1250 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

$$12,5 \text{ mg/ml}$$

#### Perhitungan volume pemberian :

$$\text{Volume pemberian tikus 1} = \frac{20 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 2} = \frac{19,37 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,54 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 3} = \frac{20 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 4} = \frac{18,75 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 5} = \frac{18,12 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,44 \text{ ml}$$

**Kelompok 3 dosis sedang : 625 mg/kgBB = 125 mg/200 gBB**

No	Berat tikus (g)	Dosis penyesuaian (mg)
1	145	90
2	150	93,75
3	155	96,87
4	150	93,75
5	150	93,75

**Perhitungan :**

$$\text{Tikus 1} = \frac{145 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 90,62 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 2} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 93,75 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 3} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 96,87 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 4} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 93,75 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 5} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 93,75 \text{ mg}$$

**Larutan stok 6,25% :**

6,25 gram/100 ml

6250 mg/100 ml

62,5 mg/ml

**Perhitungan volume pemberian :**

$$\text{Volume pemberian tikus 1} = \frac{90 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,44 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 2} = \frac{93,75 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 3} = \frac{96,87 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,54 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 4} = \frac{93,75 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 5} = \frac{93,75 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

**Kelompok 4 dosis tinggi : 1000 mg/kg BB = 200 mg/200 gBB**

No	Berat tikus (g)	Dosis penyesuaian (mg)
1	160	160
2	150	150
3	145	145
4	155	155
5	155	155

**Perhitungan dosis penyesuaian:**

$$\text{Tikus 1} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 160 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 2} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 150 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 3} = \frac{145 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 145 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 4} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 155 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 5} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 155 \text{ mg}$$

**Larutan stok 10% :**

10 gram/100 ml

10000 mg/100 ml

100 mg/ml

**Perhitungan volume pemberian :**

$$\text{Volume pemberian tikus 1} = \frac{160 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 2} = \frac{150 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 3} = \frac{145 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,45 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 4} = \frac{155 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,55 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 5} = \frac{155 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,55 \text{ ml}$$

**Kelompok 5 sebagai kelompok satelit : 1000 mg/kg BB = 200 mg/200 gBB**

No	Berat tikus (g)	Dosis penyesuaian (mg)
1	155	155
2	150	150
3	155	155
4	160	160
5	155	155

**Perhitungan dosis penyesuaian:**

$$\text{Tikus 1} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 155 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 2} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 150 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 3} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 155 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 4} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 160 \text{ mg}$$

**Larutan stok 10% :**

10 gram/100 ml

10000 mg/100 ml

100 mg/ml

$$\text{Tikus 5} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 155 \text{ mg}$$

**Perhitungan volume pemberian :**

$$\text{Volume pemberian tikus 1} = \frac{155 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,55 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 2} = \frac{150 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 3} = \frac{155 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,55 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 4} = \frac{160 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 5} = \frac{155 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,55 \text{ ml}$$



### JANTAN

**Kelompok 1 sebagai kontrol negatif diberi CMC 0,5% sebanyak 2 ml.**

**Kelompok 2 dosis rendah : Dosis 125 mg/kg BB = 25 mg/200 gBB**

No	Berat tikus (g)	Dosis penyesuaian(mg)
1	170	21,25
2	160	20
3	170	21,25
4	160	20
5	165	20,62

#### Perhitungan dosis penyesuaian:

$$\text{Tikus 1} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 21,25 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 2} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 3} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 21,25 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 4} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 5} = \frac{165 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 25 \text{ mg} = 20,62 \text{ mg}$$

#### Larutan stok 10% :

10 gram/100 ml

10000 mg/100 ml

100 mg/ml

#### Perhitungan volume pemberian :

$$\text{Volume pemberian tikus 1} = \frac{21,25 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 2} = \frac{20 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 3} = \frac{21,25 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 4} = \frac{20 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 5} = \frac{20,62 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,64$$

**Kelompok 3 dosis sedang : 625 mg/kgBB = 125 mg/200 gBB**

No	Berat tikus (g)	Dosis penyesuaian(mg)
1	170	106,25
2	165	103,12
3	170	106,25
4	160	100
5	160	100

**Perhitungan :**

$$\text{Tikus 1} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 106,25 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 2} = \frac{165 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 103,12 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 3} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 106,25 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 4} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 100 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 5} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 125 \text{ mg} = 100 \text{ mg}$$

**Larutan stok 6,25% :**

6,25 gram/100 ml

6250 mg/100 ml

62,5 mg/ml

**Perhitungan volume pemberian :**

$$\text{Volume pemberian tikus 1} = \frac{106,25 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 2} = \frac{103,12 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,64 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 3} = \frac{106,25 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 4} = \frac{100 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 5} = \frac{100 \text{ mg}}{62,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

**Kelompok 4 dosis tinggi : 1000 mg/kg BB = 200 mg/200 gBB**

No	Berat tikus (g)	Dosis penyesuaian (mg)
1	165	165
2	165	165
3	170	170
4	160	160
5	165	165

**Perhitungan dosis penyesuaian:**

$$\text{Tikus 1} = \frac{165 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 165 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 2} = \frac{165 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 165 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 3} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 170 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 4} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 160 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 5} = \frac{165 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 165 \text{ mg}$$

**Larutan stok 10% :**

10 gram/100 ml

10000 mg/100 ml

100 mg/ml

**Perhitungan volume pemberian :**

$$\text{Volume pemberian tikus 1} = \frac{165 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,65 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 2} = \frac{165 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,65 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 3} = \frac{170 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 4} = \frac{160 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 5} = \frac{165 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,65 \text{ ml}$$

**Kelompok 5 sebagai kelompok satelit : 1000 mg/kg BB = 200 mg/200 gBB**

No	berat tikus (g)	Dosis penyesuaian (mg)
1	170	170
2	165	165
3	160	160
4	160	160
5	170	170

**Perhitungan dosis penyesuaian:**

$$\text{Tikus 1} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 170 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 2} = \frac{165 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 165 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 3} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 160 \text{ mg}$$

**Larutan stok 10% :**

10 gram/100 ml

10000 mg/100 ml

100 mg/ml

$$\text{Tikus 4} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 160 \text{ mg}$$

$$\text{Tikus 5} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 170 \text{ mg}$$

**Perhitungan volume pemberian :**

$$\text{Volume pemberian tikus 1} = \frac{170 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 2} = \frac{165 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,65 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 3} = \frac{160 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 4} = \frac{160 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$\text{Volume pemberian tikus 5} = \frac{170 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

**Volume pemberian tikus betina (ml)**

Kelompok perlakuan	Hewan uji	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
Dosis I	1	1,6	1,7	1,7	1,75	1,85		
	2	1,54	1,6	1,65	1,65	1,75		
	3	1,6	1,65	1,7	1,65	1,75		
	4	1,5	1,54	1,6	1,65	1,8		
	5	1,44	1,54	1,54	1,6	1,7		
Dosis II	1	1,45	1,5	1,6	1,7	1,8		
	2	1,5	1,55	1,65	1,65	1,75		
	3	1,55	1,6	1,7	1,75	1,8		
	4	1,5	1,55	1,6	1,7	1,8		
	5	1,5	1,6	1,7	1,75	1,85		
Dosis III	1	1,6	1,65	1,7	1,75	1,8		
	2	1,5	1,55	1,6	1,65	1,7		
	3	1,45	1,55	1,6	1,65	1,7		
	4	1,55	1,65	1,65	1,7	1,8		
	5	1,55	1,6	1,65	1,85	1,9		
Satelit	1	1,55	1,6	1,65	1,65	1,7	1,8	1,9
	2	1,5	1,55	1,6	1,7	1,75	1,85	1,9
	3	1,55	1,55	1,6	1,75	1,8	1,9	2
	4	1,6	1,65	1,7	1,8	1,9	2	2,1
	5	1,55	1,6	1,65	1,7	1,75	1,85	1,95

**Volume pemberian tikus jantan (ml)**

Kelompok perlakuan	Hewan uji	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
Dosis I	1	1,7	1,7	1,85	1,9	2		
	2	1,6	1,7	1,8	1,85	1,9		
	3	1,7	1,7	1,8	1,9	2		
	4	1,6	1,64	1,7	1,8	1,9		
	5	1,64	1,7	1,85	1,85	1,95		
Dosis II	1	1,7	1,75	1,85	1,9	1,95		
	2	1,64	1,7	1,75	1,8	1,9		
	3	1,7	1,75	1,85	1,9	2		
	4	1,6	1,64	1,7	1,75	1,8		
	5	1,6	1,7	1,8	1,85	1,9		
Dosis III	1	1,65	1,7	1,8	1,85	1,9		
	2	1,65	1,65	1,75	1,8	1,85		
	3	1,7	1,75	1,8	1,85	1,9		
	4	1,6	1,75	1,85	1,9	1,95		
	5	1,65	1,75	1,8	1,85	1,9		
Satelit	1	1,7	1,75	1,85	1,9	1,95	1,95	2
	2	1,65	1,7	1,75	1,85	1,9	1,95	2
	3	1,6	1,65	1,7	1,75	1,85	1,9	1,95
	4	1,6	1,7	1,75	1,8	1,9	1,95	2
	5	1,7	1,75	1,8	1,85	1,9	1,9	1,95

**Lampiran 9. Data Kadar BUN (mg/dL)**

**Tikus betina**

Perlakuan	Tikus	Kadar BUN	
		T0	T1
Kontrol negatif	1	13	14
	2	14	15
	3	12	12
	4	15	15
	5	14	13
Dosis Uji I	1	16	16
	2	14	15
	3	15	14
	4	13	13
	5	12	13
Dosis Uji II	1	13	15
	2	14	16
	3	14	13
	4	13	14
	5	17	15
Dosis Uji III	1	15	17
	2	16	16
	3	16	16
	4	13	12
	5	15	15
Satelit	1	12	14
	2	13	14
	3	17	16
	4	15	12
	5	16	18

**Tikus Jantan**

Perlakuan	Tikus	Kadar BUN	
		T0	T1
Kontrol negatif	1	15	16
	2	14	13
	3	15	15
	4	17	15
	5	14	16
Dosis Uji I	1	13	16
	2	14	15
	3	16	15
	4	17	16
	5	16	14
Dosis Uji II	1	14	13
	2	17	17
	3	16	17
	4	14	15
	5	18	18
Dosis Uji III	1	15	13
	2	13	14
	3	12	15
	4	13	14
	5	17	17
Satelit	1	14	13
	2	13	14
	3	15	16
	4	16	16
	5	13	14



## Lampiran 10. Hasil analisis statistik BUN

### DATA STATISTIK KADAR BUN BETINA

#### Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadarbunbetina	kontrol	,221	5	,200 <sup>*</sup>	,902	5	,421
	negatif						
	dosis 1	,221	5	,200 <sup>*</sup>	,902	5	,421
	dosis 2	,237	5	,200 <sup>*</sup>	,961	5	,814
	dosis 3	,261	5	,200 <sup>*</sup>	,859	5	,223
	satelit	,237	5	,200 <sup>*</sup>	,961	5	,814

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

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

kadarbunbetina

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,821	4	20	,527

#### ANOVA

kadarbunbetina

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5,840	4	1,460	,537	,710
Within Groups	54,400	20	2,720		
Total	60,240	24			

#### Paired Samples Test

	Paired Differences					T	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadarawal – kadarahir	- ,24000	1,33167	,26633	-,78968	,30968	-,901	24	,376

## DATA STATISTIK KADAR BUN JANTAN

### Tests of Normality

	Kelompok Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar BUN Jantan	kontrol negatif	,300	5	,161	,833	5	,146
	dosis 125mg	,231	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 625mg	,291	5	,191	,905	5	,440
	dosis 1000mg	,254	5	,200*	,914	5	,492
	Satelit	,273	5	,200*	,852	5	,201

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

a. Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variances

Kadar BUN Jantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,279	4	20	,311

### ANOVA

Kadar BUN Jantan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6,640	4	1,660	,806	,536
Within Groups	41,200	20	2,060		
Total	47,840	24			

### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 Kadarawal – Kadarakhir	-,24000	1,39284	,27857	-,81494	,33494	-,862	24	,397

**Lampiran 11. Data kadar kreatinin (mg/dL)**

**Tikus betina**

Perlakuan	Tikus	Kadar Kreatinin	
		T0	T1
Kontrol negatif	1	0,8	0,7
	2	0,9	0,9
	3	0,6	0,5
	4	0,5	0,6
	5	0,4	0,5
Dosis Uji I	1	0,5	0,4
	2	0,6	0,5
	3	0,7	0,8
	4	0,4	0,5
	5	0,5	0,6
Dosis Uji II	1	0,9	0,7
	2	0,7	0,6
	3	0,6	0,7
	4	0,8	0,9
	5	0,3	0,5
Dosis Uji III	1	0,5	0,3
	2	0,6	0,8
	3	0,7	0,6
	4	0,3	0,4
	5	0,4	0,6
Satelit	1	0,4	0,5
	2	0,3	0,4
	3	0,5	0,3
	4	0,6	0,7
	5	0,4	0,5

**Tikus Jantan**

Perlakuan	Tikus	Kadar Kreatinin	
		T0	T1
Kontrol negatif	1	0,3	0,3
	2	0,6	0,5
	3	0,7	0,8
	4	0,4	0,6
	5	0,7	0,9
Dosis Uji I	1	0,4	0,3
	2	0,3	0,4
	3	0,5	0,6
	4	0,6	0,7
	5	0,7	0,8
Dosis Uji II	1	0,8	0,9
	2	0,6	0,5
	3	0,6	0,4
	4	0,7	0,8
	5	0,5	0,7
Dosis Uji III	1	0,8	0,7
	2	0,6	0,5
	3	0,7	0,7
	4	0,5	0,4
	5	0,4	0,6
Satelit	1	0,7	0,8
	2	0,4	0,5
	3	0,6	0,4
	4	0,7	0,7
	5	0,9	0,9

## Lampiran 12. Hasil analisis statistik kreatinin

### DATA STATISTIK KADAR KREATININ TIKUS BETINA

#### Tests of Normality

	Kelompok Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar kreatinin betina	kontrol negatif	,201	5	,200*	,881	5	,314
	dosis 125mg	,254	5	,200*	,914	5	,492
	dosis 625mg	,246	5	,200*	,956	5	,777
	dosis 1000mg	,221	5	,200*	,953	5	,758
	satelit	,246	5	,200*	,956	5	,777

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

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

Kadar kreatinin betina

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

#### ANOVA

Kadar kreatinin betina

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,128	4	,032	1,203	,340
Within Groups	,532	20	,027		
Total	,660	24			

#### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar awal - kadar akhir	-,02083	,13181	,02691	-,07649	,03482	-,774	23	,447

## DATA STATISTIK KREATININ TIKUS JANTAN

### Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	kontrol negatif	,180	5	,200*	,952	5	,754
kreatininjantan	dosis 1	,221	5	,200*	,902	5	,421
	dosis 2	,180	5	,200*	,952	5	,754
	dosis 3	,175	5	,200*	,974	5	,899
	satelit	,180	5	,200*	,952	5	,754

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

a. Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variances

kreatininjantan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,589	4	20	,675

### ANOVA

kreatininjantan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,042	4	,010	,256	,902
Within Groups	,812	20	,041		
Total	,854	24			

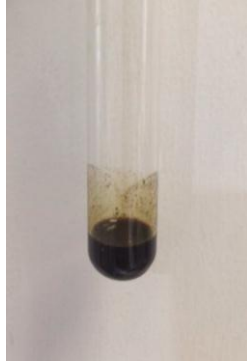
### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadarawal - kadarahir	-,02800	,12423	,02485	-,07928	,02328	-1,127	24	,271

**Lampiran 13. Hasil uji identifikasi senyawa ekstrak daun pletekan****Senyawa tanin****Senyawa saponin****Senyawa flavonoid****Alkaloid mayer****Alkaloid dragendorf****Lampu spirtus**

**Lampiran 14. Hasil uji bebas etanol**

**Ekstrak daun pletekan bebas etanol**





**Lampiran 15. Penyiapan Bahan Uji****Larutan CMC 0,5%  
25mg/kgBB****Larutan dosis 125mg/kgBB Larutan dosis****Sonde lambung****Larutan dosis 1000mg/kgBB****Satelit**

**Lampiran 16. Pemeriksaan darah hewan uji****Tabung reaksi****Darah tikus sebelum disentrifuge****Sentrifugator****Darah tikus sesudah disentrifuge****Alat spektrofotometer****Alat cortex**

**White tip****Mikropipet 1000  $\mu$ L****Mikropipet 50  $\mu$ L****Pengambilan darah tikus****Reagen pemeriksaan ureum****Reagen pemeriksaan creatinin**

## Lampiran 17. Penetapan kadar air sterling

**Serbuk daun pletekan**



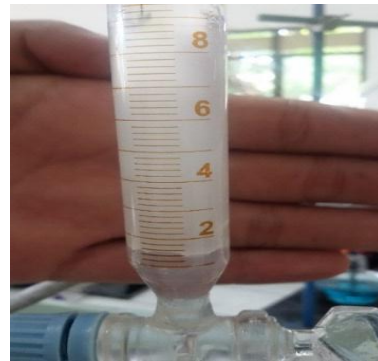
**Sterling-Bidwell**



**Lampu spirtus**



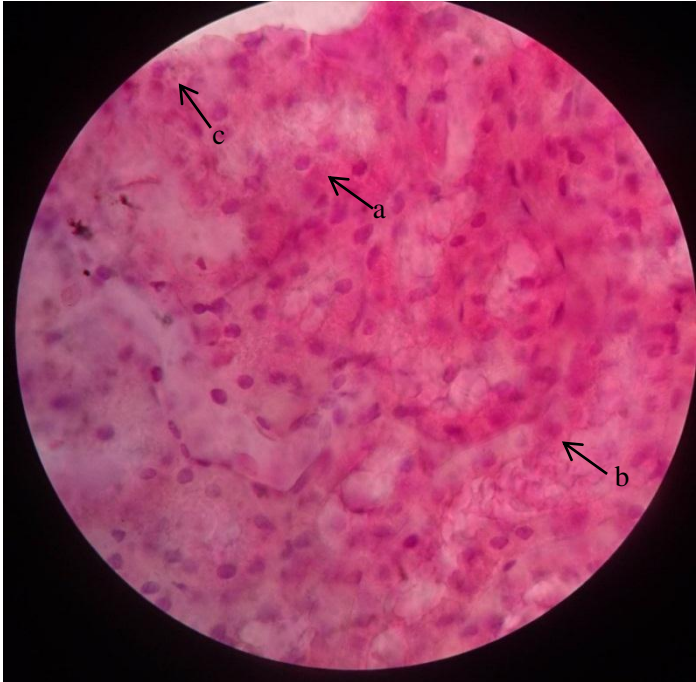
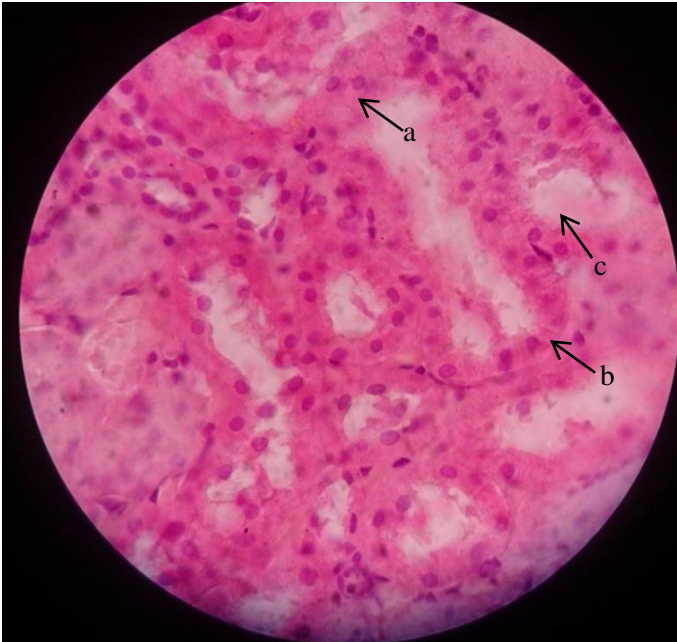
**Hasil penetapan kadar air**

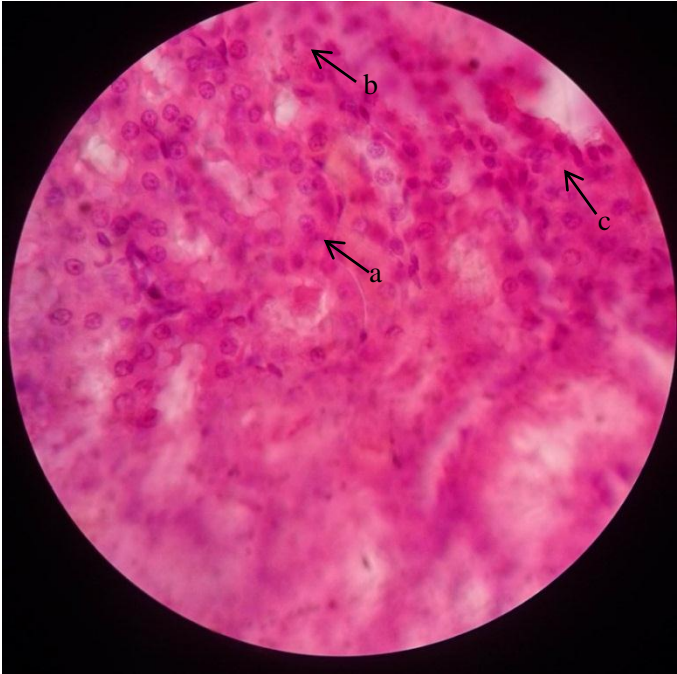
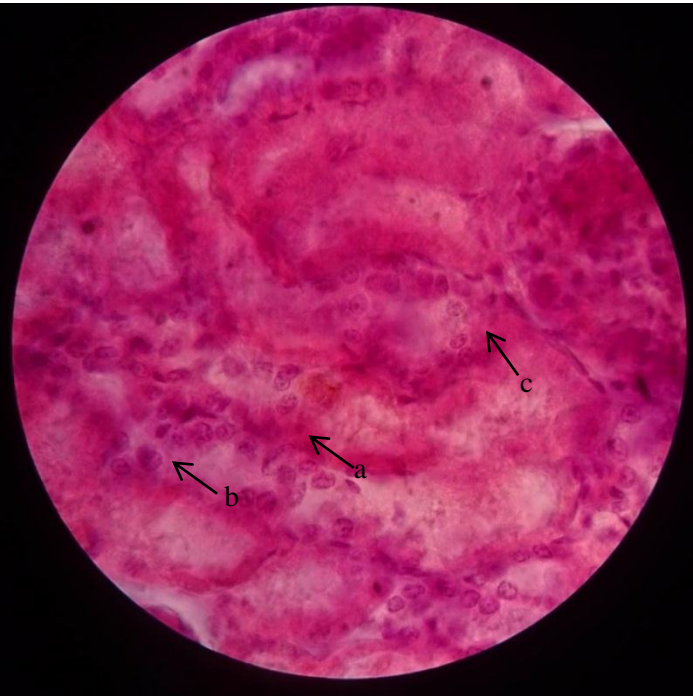


**Lampiran 18. Pemeriksaan histopatologi****Mikroskop****Timbangan analitik****Rotary microtom****Oven****Peralatan pengecatan****Ginjal tikus****Ginjal tikus yang diawetkan****Proses pembedahan**

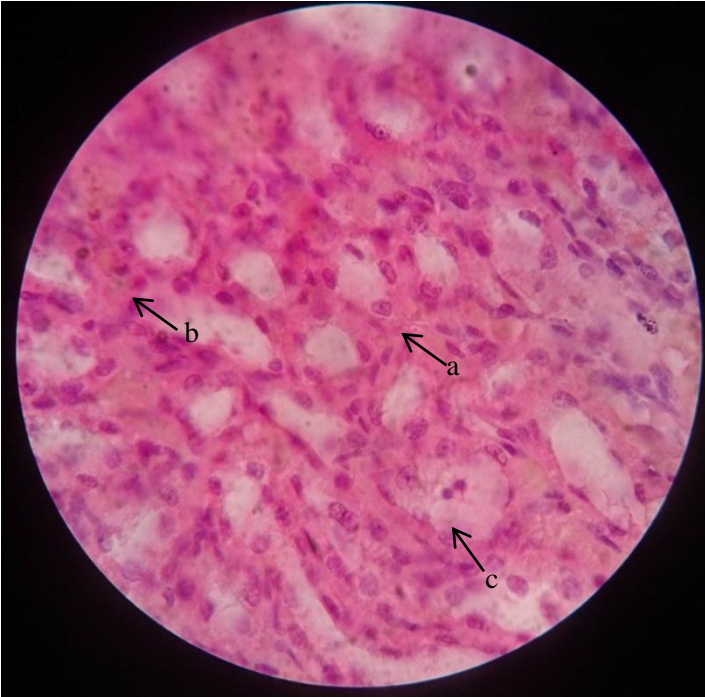
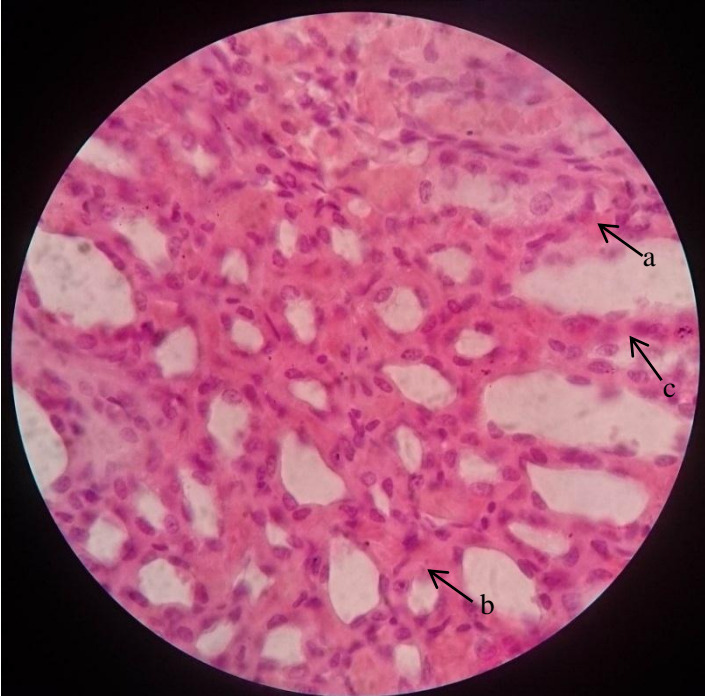
### Lampiran 19. Gambaran hasil uji histopatologi

CMC ♂	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyoreksis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>
CMC ♀	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyoreksis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>

Dosis Rendah ♂	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyoreksis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>
Dosis Rendah ♀	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyoreksis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>

Dosis Sedang ♂	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyoreksis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>
Dosis Sedang ♀	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyoreksis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>



Dosis Tinggi ♂	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyorekisis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>
Dosis Tinggi ♀	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyorekisis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>

Satelit ♂	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyoreksis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>
Satelit ♀	
Perbesaran 1000 kali	
	<p>Keterangan</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. a: sel normal</li> <li>2. b: piknosis</li> <li>3. c: karyoreksis</li> <li>4. d: karyolisis</li> </ol>

**Total jumlah kerusakan pada organ ginjal tikus**

Jenis	Kelompok	Normal	Piknotik	Kariolisis	Karioreksis
Betina	Kontrol	95	2	0	3
	Dosis 1	90	6	0	4
	Dosis 2	84	4	0	11
	Dosis 3	77	8	0	15
	Satelit	82	16	0	2
Jantan	Kontrol	94	4	0	2
	Dosis 1	91	4	0	5
	Dosis 2	88	3	0	9
	Dosis 3	76	5	0	11
	Satelit	85	13	0	2