

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM
DURI (*Amaranthus spinosus* L.) TERHADAP
MENCIT PUTIH BETINA**



Oleh:

Nabila Arraissa

19133746A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2017

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM
DURI (*Amaranthus spinosus* L.) TERHADAP
MENCIT PUTIH BETINA**



SKRIPSI

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

Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Oleh:

NabilaArraissa

19133746 A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI**

SURAKARTA

2017

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM
DURI (*Amaranthus spinosus* L.) TERHADAP
MENCIT PUTIH BETINA**

Oleh :

Nabila Arraissa
19133746 A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 05 Juni 2017

Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan

Prof. Dr. RA. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

Tri Wijayanti, S.Farm., MPH., Apt.
Pembimbing Pendamping,

Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Ika Purwidyaningrum, S.Farm., M.Sc., Apt.

2. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.

3. Siti Aisyah, M.Sc., Apt.

4. Tri Wijayanti, S.Farm., MPH., Apt.

HALAMAN PERSEMBAHAN

*“ya Allah perbaikilah agamaku yang merupakan sandaran segala urusanku.
Dan perbaikilah urusan duniaku yang merupakan tempat tinggalku, dan
perbaikilah khiratku yang merupakan tempat kembaliku dan jadikanlah
kehidupanku sebagi tambahan bagi kebaikanku dan kematianku
sebagai tempat istirahat dari segala kejelekanku.”*

(H.R. Muslim).

Kupersembahkan karya ini untuk:

Rabb-ku Allah SWT sebagai ungkapan rasa syukurku

*Bapak dan Ibuku tercinta yang selalu mengarahkan dalam
ketidakberdayaanku menjalani hidup ini dan mengerti arti
hidup yang sesungguhnya*

Kakak, adik, dan semua keluargaku yang aku sayangi

Para pendidik dan pengajar dalam hidup ku

*Sahabat-sahabatku (Yasri, Epifania, Dita, Erly, Dyas, Irwan,
Hidayah, Dewi, Mbak Indah dan Mbak Efti) yang telah
memahami hari hari ku dan berbagi canda tawa dan
kebersamaan yang tak terlupakan*

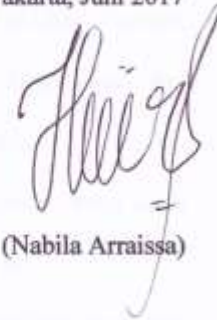
Agama, almamater, bangsa dan negeriku tercinta

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2017



(Nabila Arraissa)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya, sehingga pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) dalam ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini berjudul **UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus* L.) TERHADAP MENCIT PUTIH BETINA** dengan harapan dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat memberikan sumbangan pengetahuan di bidang Farmasi terutama dalam pengobatan tradisional.

Di dalam menyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. RA. Oetari, SU. MM., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Tri Wijayanti, S.Farm., M.Sc., Apt, selaku pembimbing utama yang telah memberikan nasehat dan petunjuk dalam penyusunan skripsi ini.
4. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt, selaku pembimbing pendamping yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyusunan skripsi ini.

6. Segenap Dosen, Karyawan dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu bagi kelancaran pelaksanaan skripsi ini.
7. Orang tua dan semua keluargaku yang selalu kucintai terimakasih atas doa dan kasih sayangnya, serta dorongannya baik dalam hal moril dan materil.
8. Sahabat-sahabatku tersayang terimakasih atas doa, dorongan semangatnya, bantuan yang berupa pikiran, informasi maupun bahan-bahan yang penulis perlukan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, meskipun penulis sudah berusaha semaksimal mungkin di dalam menyajikannya. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang bersifat membangun dari para pembaca akan penulis terima dengan tangan terbuka dan senang hati.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat khususnya bagi Fakultas Farmasi dan bagi pembaca pada umumnya.

Surakarta, Juni 2017

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR PERSAMAAN.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tumbuhan Bayam Duri	4
1. Sistematika tumbuhan	4
2. Nama lain	4
3. Deskripsi tumbuhan	4
4. Habitat tumbuhan	4
5. Kegunaan Tumbuhan	5
6. Kandungan Kimia	5
6.1. Alkaloid	5

6.2. Flavonoid	5
6.3. Tannin	6
6.4. Saponin	6
B. Simplisia	6
1. Pengertian Simplisia	6
1.1. Simplisia Nabati	6
1.2. Simplisia Hewani	6
1.3. Simplisia Pelikan atau Mineral	7
2. Pengumpulan	7
3. Perajangan	7
4. Pengeringan	7
5. Penyimpanan	8
C. Penyarian	8
1. Pengertian Penyarian	8
2. Ekstraksi	9
3. Maserasi	9
4. Pelarut	10
D. Toksisitas	11
1. Uji toksisitas akut	11
2. Uji toksisitas subkronik	14
3. Uji toksisitas kronik	15
E. Organ Sasaran	15
1. Hati	15
2. Jantung	16
3. Ginjal	16
4. Lambung	17
5. Usus	17
F. Hewan Uji	18
1. Mencit	18
2. Sistematika hewan uji	18

3. Karakteristik hewan uji	18
4. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji	19
5. Cara dan lama pemberian zat uji	19
6. Mengorbankan hewan uji	20
G. Landasan Teori	20
H. Hipotesis.....	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Populasi dan sampel	22
B. Variabel Penelitian	22
1. Identifikasi Variabel Utama	22
2. Klasifikasi Variabel Utama	22
3. Definisi Operasional Variabel Utama	23
C. Alat dan Bahan	24
1. Alat.....	24
2. Bahan	24
D. Jalannya Penelitian.....	24
1. Determinasi Tumbuhan	25
2. Pengambilan Bahan	25
3. Penetapan Kadar Lembab Serbuk	25
4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri	26
5. Uji Bebas Etanol	26
6. Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Bayam Duri	26
6.1. Identifikasi Flavonoid	26
6.2. Identifikasi Tannin	26
6.3. Identifikasi Saponin	27
6.4. Identifikasi Alkoloid	27
7. Pembuatan larutan uji	27
8. Prosedur kerja.....	27
8.1. Persiapan Hewan Uji	27
8.2. Penetapan Dosis	27
8.3. Perlakuan Hewan Uji	28

9.	Pengamatan dan Pemeriksaan	29
9.1.	Perubahan Perilaku.....	29
9.2.	Perubahan Pada <i>Neurological profile</i>	29
9.3.	Perubahan Pada Autonomic	29
9.4.	Pengamatan Berat Badan	29
9.5.	Pengamatan Berat Organ	29
9.6.	Pengamatan Indeks Organ	30
9.7.	Pengamatan Makropatologi Organ	30
E.	Analisis Data	31
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A.	Hasil dan Pembahasan Penelitian	32
1.	Hasil determinasi tumbuhan bayam duri	32
2.	Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk daun bayam duri	32
3.	Hasil penetapan kadar lembab serbuk.....	33
4.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun bayam duri.....	33
5.	Hasil uji bebas etanol	34
6.	Hasil identifikasi kandungan kimia.....	34
B.	Hasil Uji Toksisitas Akut	35
1.	Hasil pengamatan gejala toksik	36
1.1.	Hasil perubahan perilaku	36
1.2.	Hasil perubahan profil neurogikal	37
1.3.	Hasil perubahan profil autonomik.....	39
2.	Hasil berat badan mencit	39
3.	Hasil rata-rata bobot organ	40
4.	Hasil rata-rata indeks organ	40
5.	Hasil pengamatan organ secara makroskopis	41
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	42
A.	Kesimpulan	42
B.	Saran.....	42
DAFTAR	PUSTAKA	43
LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun bayam duri (<i>Amaranthus spinosus L.</i>)	26
Gambar 2. Skema pengujian toksisitas akut ekstrak etanol bayam duri terhadap mencit putih betina	30

DAFTAR PERSAMAAN

	Halaman
1. Metode Weil CS.....	13
2. Metode Farmakope III.....	13
3. Metode grafik probit	14
4. Penentuan nilai LD50.....	28

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ beserta sistem urat saraf (Harmita &Radji 2004).....	12
Tabel 2. Klasifikasi potensi ketoksikan akut (Lu 1995).	13
Tabel 3. Kriteria hewan uji (BPOM, 2014)	19
Tabel 4. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun bayam duri	32
Tabel 5. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun bayam duri	33
Tabel 6. Hasil hasil pembuatan ekstrak etanol daun bayam duri.....	33
Table 7. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun bayam duri.....	34
Tabel 8. Hasil idetifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bayam duri secara kualitatif	34
Tabel 9. Hasil Persentase kematian hewan uji	35
Tabel 10. Hasil presentase perubahan perilaku grooming tiap kelompok	36
Tabel 11. Hasil jumlah mencit <i>haffner</i>	37
Tabel 12. Hasil jumlah mencit tremor.....	37
Tabel 13. Hasil jumlah mencit reflek pineal	38
Tabel 14. Hasil jumlah mencit reflek korneal	39
Tabel 15. Hasil presentase perubahan perilaku ptosis pada tiap kelompok	39
Tabel 16. Rata-rata indeks organ mencit.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi
- Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji
- Lampiran 3. Gambar daun dan serbuk bayam duri
- Lampiran 4. Alat dan proses daun bayam duri
- Lampiran 5. Ekstrak daun bayam duri dan uji bebas etanol
- Lampiran 6. Uji identifikasi ekstrak etanol daun bayam duri
- Lampiran 7. Perlakuan hewan uji
- Lampiran 8. Gambar organ hewan uji
- Lampiran 9. Hasil persentase rendemen berat kering terhadap berat basah daun bayam duri
- Lampiran10. Hasil rendemen ekstrak etanol daun bayam duri
- Lampiran 11. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun bayam duri
- Lampiran12. Perhitungan volume pemberian
- Lampiran 13. Hasil penimbangan berat badan mencit putih betina
- Lampiran 14. Hasil penimbangan berat organ mencit putih betina
- Lampiran 15. Hasil perhitungan indeks berat organ mencit putih betina
- Lampiran 16. Contoh perhitungan indeks massa organ mencit
- Lampiran 17. Pengamatan gejala toksisitas
- Lampiran 18. Pengamatan gejala toksisitas
- Lampiran 19. Hasil uji statistik indeks organ

INTISARI

NABILA, A., 2016. UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus* L.) TERHADAP MENCIT PUTIH BETINA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Tumbuhan daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat, salah satunya sebagai obat tumor, namun belum ada penelitian untuk meneliti standar keamanan ekstrak daun bayam duri terhadap hewan uji. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek toksisitas akut terhadap mencit putih betina.

Uji toksisitas akut dilakukan dengan metode *fixed dose* dengan menggunakan hewan uji mencit putih betina sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kontrol negatif (CMC 0,5%), dosis I (5 mg/kgBB), dosis II (50 mg/kgBB), dosis III (300 mg/kgBB), dosis IV (2000 mg/kgBB), dosis V (5000 mg/kgBB) yang sudah dikonversi sesuai hewan uji selama 14 hari. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun bayam duri dilakukan pada mencit dengan mengamati pengaruh ekstrak terhadap gejala klinis setelah pemberian dosis tunggal sediaan uji, indeks organ, serta pengamatan makropatologi organ mencit putih betina.

Hasil pengamatan setelah pemberian ekstrak pada mencit putih betina sampai dosis 5000 mg/kgBB hewan uji tidak ada yang mati dan efek toksik yang bermakna, sehingga ekstrak daun bayam duri dapat dinyatakan aman dan LD₅₀ ekstrak daun bayam duri pada mencit putih betina lebih besar dari 5000 mg/kgBB.

Kata kunci: toksisitas akut, *Amaranthus spinosus*, metode *fixed dose*, LD₅₀

ABSTRACT

NABILA, A., 2016. ACUTE TOXICITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF SPINACH LEAVES OF THORN (AMARANTHUS SPINOSUS L) AGAINST FEMALE WHITE MICE, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Spinach leaf sprouts (*Amaranthus spinosus* L.) contains several nutritious compounds, One of them as a tumor drug, but there has been no research to examine the safety standards of spinach leaf extracts to test animals. This study aims to examine the effects of acute toxicity on female white mice.

Acute toxicity test was performed by fixed dose method using female white mouse test as much as 30 animals divided into 6 groups, that is negative control (CMC 0,5%), dose I (5 mg / kgBB), dose II (50 mg / kgBB), dose III (300 mg / kgBB), dose IV (2000 mg / kgBB), dose V (5000 Mg / kgBW) that has been converted to the test animal for 14 days. Acute toxicity test of ethanol extract of spinach leaf was done on mice by observing the effect of extract on clinical symptoms after single dosage of test preparation, organ index, and macropathology observation of female white mice.

The results of observation after giving extract in female white mice up to dosage 5000 mg/kgBB no test animals died and significant toxic effect, so the spinach leaf extract can be declared safe and LD₅₀ pinach leaf extract on female white mice greater than 5000 mg/kgBB.

Keywords: acute toxicity, *Amaranthus spinosus*, *fixed dose* method, LD₅₀.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati cukup luas, dari 40.000 jenis flora yang tumbuh di dunia, 30.000 diantaranya tumbuh di Indonesia dan sekitar 26% yang telah dibudidayakan tetapi 74% masih tumbuh liar di hutan. Dari 26% yang telah dibudidayakan sebanyak 940 jenis tanaman telah digunakan sebagai obat tradisional (Verawati, 2003). Obat tradisional adalah obat yang didapat dari bahan alami (mineral, tumbuhan, dan hewan) yang diolah secara sederhana berdasarkan pengalaman dan digunakan dalam pengobatan tradisional (Syamsuni, 2006).

Pengobatan secara tradisional sebagian besar menggunakan ramuan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan baik berupa kulit, batang, kayu, daun, bunga, atau bijinya. Agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggung jawabkan maka diperlukan penelitian secara ilmiah, seperti penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi, dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat pada tumbuhan (Dede dkk 2007).

Penggunaan obat tradisional perlu diperhatikan dosis atau takaran saat pemberian. Konsumsi secara berlebihan akan menimbulkan toksik. Toksisitas dibagi menjadi dua yaitu toksisitas akut dan kronis, toksisitas akut dapat timbul secara mendadak dan berlangsung sangat cepat, sehingga dapat dilihat atau dirasakan dalam waktu jangka pendek, sedangkan pada toksisitas kronis oleh zat toksik akan masuk ke dalam tubuh sedikit demi sedikit dalam jangka waktu yang lama (Sumardjo, 2009). Prinsip dari uji toksisitas akut yaitu pemberian secara oral suatu zat dalam beberapa tingkatan dosis pada beberapa kelompok hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina, dipilih mencit betina karena sedikit lebih sensitif dibandingkan mencit jantan (BPOM, 2014).

Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*). Bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) merupakan tumbuhan yang berasal dari dataran rendah tropis Amerika serta

tersebar luas ke semua daerah tropis dan subtropis Afrika, Asia Tenggara dan India bahkan di Indonesia, yang dikenal sebagai rumput liar yang tumbuh dilahan kosong (Kumar dkk, 2010).

Tumbuhan ini telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dan beberapa negara tetangga sebagai obat tradisional. Daun dan akar bayam duri digunakan sebagai obat herbal dan berkhasiat sebagai diuretik, antipiretik, antidiabetik, antivirus, antioksidan, obat batuk, menghilangkan racun, menghilangkan bengkak, dan menghentikan diare (Bulbul dkk, 2011), serta anti tumor (L. Samuel Joshua dkk, 2010).

Penelitian untuk keamanan terhadap bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) telah dilakukan oleh M. Almurdati dkk, 2013 dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) hasil yang diperoleh adalah nilai LC50 ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol masing-masing adalah 10,14; 40,23; dan 120,18 $\mu\text{g/ml}$. Hasil uji toksisitas ketiga ekstrak tersebut, ekstrak n-heksana mempunyai aktifitas toksisitas yang kuat. Penelitian sebelumnya juga membuktikan bahwa bayam duri dengan uji toksisitas menggunakan metode BSLT, menunjukkan hasil nilai LC50 yang menggunakan ekstrak etanol 1,59 $\mu\text{g/ml}$, ekstrak metanol 69,98 $\mu\text{g/ml}$, fraksi n-heksana tidak aktif sebagai aktivitas toksisitas karena nilai LC50 635,33 $\mu\text{g/ml}$ (dwi puspitasari dkk, 2014).

Penelitian tersebut membuktikan bahwa bayam duri memiliki kandungan yang berkhasiat dan dapat digunakan sebagai salah satu obat alternatif, penelitian mengenai toksisitas akut dengan menggunakan hewan uji dari tumbuhan bayam duri ini belum ada, sehingga perlu diteliti lebih lanjut agar dapat diketahui batas keamanan dari tumbuhan bayam duri tersebut untuk dikonsumsi dan tidak menimbulkan efek berbahaya bagi konsumen dan diharapkan ke depannya dapat dikembangkan menjadi sebuah produk yang aman untuk dikonsumsi oleh masyarakat. Parameter dari uji toksisitas akut adalah gejala-gejala klinis yang muncul dan LD₅₀. LD₅₀ merupakan tahapan awal untuk menentukan keamanan suatu zat aktif yang akan dikonsumsi oleh manusia dengan menentukan besarnya dosis yang dapat menyebabkan kematian pada 50% populasi penggunaan suatu bahan (Loomis, 1978). Gejala-gejala klinis yang dapat timbul akibat zat toksik

antara lain gangguan pada syaraf otonom, syaraf otot, perilaku, perasa, urat darah pada jantung, mata, saluran pencernaan dan kulit (Harmita & Radji, 2004).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian diatas, didapatkan permasalahan sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun bayam duri memperlihatkan efek toksik pada mencit putih betina ?

Kedua, berapakah nilai LD₅₀ ekstrak etanol daun bayam duri terhadap mencit putih betina ?

Ketiga, bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun bayam duri terhadap gejala klinis, indeks organ dan perubahan makropatologi organ mencit putih betina ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

Pertama, untuk membuktikan adanya efek toksik yang timbul pada mencit putih betina setelah pemberian ekstrak etanol daun bayam duri.

Kedua, untuk mengetahui nilai LD₅₀ pada mencit putih betina setelah pemberian ekstrak etanol daun bayam duri.

Ketiga, untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bayam duri terhadap gejala klinis, indeks organ dan perubahan makropatologi organ mencit putih betina.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai informasi atau tambahan pengetahuan khususnya dibidang obat tradisional yang berkaitan dengan pengembangan dan penggunaan obat tradisional bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) sebagai obat yang aman untuk dikonsumsi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.)

1. Sistematika tumbuhan

Menurut setiawati dkk, (2008) klasifikasi bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) sebagai berikut :

Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Caryophyllales
Suku	: Amaranthaceae
Marga	: Amaranthus
Jenis	: <i>Amaranthus spinosus</i> L.

2. Nama lain

Bayam duri (Indonesia), bayem eri, bayem raja, bayam roda, bayem cikron (Jawa), senggang cucuk (Sunda), ternyak duri, ternyak lakek (Madura), bayam keruai (Lampung), sinau katinting (Ujung Padang), podo maduri (Bugis), bayam baiduri (Maluku) (Thomas, 1989).

3. Deskripsi tumbuhan

Bayam duri termasuk dalam jenis tumbuhan *amarantha*. Tumbuhan ini mempunyai batang yang lunak atau basah, tingginya dapat mencapai 1 meter. Tanda khas dari tumbuhan bayam duri adalah pada batang, khususnya di pangkal tangkai daunnya terdapat duri, sehingga orang banyak mengenal sebagai tumbuhan bayam duri. Bentuk daunnya menyerupai belahan ketupat dan berwarna hijau. Bunganya berbentuk bunga bongkol, berwarna hijau muda atau kuning. Bayam duri tumbuh baik di tempat-tempat yang cukup sinar matahari suhu udara antara 25⁰ – 35⁰ Celcius (Thomas, 1989).

4. Habitat tumbuhan

Bayam duri adalah salah satu tumbuhan obat yang terbesar di Amerika, India, dan Asia Tenggara. Tumbuhan ini biasanya tumbuh secara liar di semak-

semak, di pinggir jalan, dan halaman rumah dengan ketinggian 50-100 cm (Kumar dkk, 2011).

5. Kegunaan tumbuhan

Tumbuhan bayam duri digunakan untuk berbagai macam pengobatan antara lain untuk antipiretik, diuretik, antiinflamasi, antibakterial, dan antimalarial (Mishra 2012 dan Vardana 2012). Tumbuhan bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) dapat dimanfaatkan untuk pereda demam (antipiretik), menghilangkan bengkak, (detumescent), dan pembersih darah (Setiawati dkk, 2008).

6. Kandungan kimia

Kandungan kimia yang terkandung dalam bayam duri antara lain amarantin, rutin, spinasterol, hentriakontan, tannin, kalium nitrat, asam oksalat, garam fosfat, zat besi, serta vitamin (Setawati dkk, 2008). Secara kimiawi bayam duri mengandung sejumlah konstituen aktif yaitu flavonoid, alkaloid, glikosida, asam fenolat, asam amino, terpenoid, lipid, saponin, betalain, B sitosterol, asam linoleat, amaranthosida, amarisin (Susantiningasih, 2013).

6.1. Alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dengan sistem siklik dan sebagian alkaloid bersifat basa (Harborne, 1987). Betalain merupakan pigmen berwarna merah-violet dan kuning-oranye yang banyak terdapat pada buah, bunga, dan jaringan vegetatif (Strack dkk, 1987). Betalain adalah pigmen kelompok alkaloid yang larut dalam air, pigmen bernitrogen, dan merupakan pengganti antosianin pada sebagian besar famili dari tanaman ordo *Caryophyllales*, termasuk *Amaranthaceae*, dan bersifat mutual eksklusif dengan pigmen antosianin (Cai dkk, 2005 dan Grotewold, 2006). Alkaloid merupakan suatu basa yang mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik. Dalam tumbuhan biasanya dalam bentuk garam sebagai asam organik (Robinson, 1995).

6.2. Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa yang larut dalam air, etanol, aseton, dan methanol 80%, etanol 70%. Flavonoid yaitu senyawa polifenol yang mengandung 15 atom karbon yang tersusun dalam 2 cincin benzen yang dihubungkan oleh 3 atom karbon cincin alifatik sebagai pembentuk kerangka dasar C₆-C₃-C₆ artinya kerangka karbonnya terdiri dari 2 gugus C₆ (cincin benzen

tersubstitusi). Senyawa flavonoid mempunyai aktivitas biologi bermacam-macam diantaranya antivirus, antihistamin, diuretika, antihipertensi, antioksidan (Abdi Redha, 2010). Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol yang terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh. Menurut strukturnya, flavonoid merupakan turunan senyawa induk flavon (Mangunwardoyo dkk, 2009).

6.3. Tannin. Tannin adalah senyawa polifenol yang mengandung banyak gugus hidroksil dengan rasa pahit dan kelat yang dapat bereaksi dan menggumpal protein (Anonim, 2009).

6.4. Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin terdiri dari dua jenis yaitu, glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson, 1995).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga kecuali dinyatakan lain (Depkes, 1995). Istilah simplisia dipakai untuk menyebutkan bahan-bahan obat alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan (Gunawan & Mulyani, 2004). Berdasarkan hal tersebut simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral.

1.1 Simplisia nabati. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, pada bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lainnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Depkes, 1995).

1.2 Simplisia hewani. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan

belum berupa zat kimia murni (Depkes, 1995). Misalnya adalah minyak ikan (*Oleum iecoris asseli*), dan madu (*Mel depuratum*) (Gunawan & Mulyani, 2004).

1.3 Simplisia pelikan atau mineral. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes, 1995). Misalnya adalah serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan & Mulyani, 2004).

2. Pengumpulan

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati yang menggunakan daun. Pemanenan daun dilakukan pada awal musim kemarau (Gunawan & Mulyani, 2004). Karena pada suasana basah akan menurunkan mutu dan warnanya akan hilang serta saat pengeringan warnanya akan berubah (Depkes, 1985).

3. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan, perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, atau alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Depkes, 1986). Tujuan dari perajangan adalah untuk memperluas permukaan bahan baku karena semakin luas permukaan maka bahan baku akan cepat kering (Gunawan & Mulyani, 2004).

4. Pengeringan

Pengeringan simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik untuk mencegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan (Depkes, 1985).

Proses pengeringan pada simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang dapat menguraikan lebih lanjut kandungan aktif yang terdapat pada bahan, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya). Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi dalam pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembapan udara, ketebalan bahan yang dikeringkan, sirkulasi udara, dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani, 2004).

Cara pengeringan ditempat teduh adalah dengan cara bahan disebarakan rata diatas nampan lemari atau kotak kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu yang telah ditentukan atau dengan cara meletakkan dibawah atap rumah agar terlindung dari cahaya matahari secara langsung (Gunawan & Mulyani, 2004).

5. Penyimpanan

Proses penyimpanan simplisia perlu diperhatikan beberapa hal, seperti cara pengepakan, pembungkusan, dan pewadahan, persyaratan tempat gudang simplisia, cara sortasi, cara pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya. Penyebab utama kerusakan dari simplisia adalah air dan kelembaban. Kadar air simplisia yang disimpan perlu diperhatikan dan dijaga. Karena apabila kadar air pada simplisia tinggi akan mengakibatkan tumbuhnya kapang atau mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan perubahan kimia pada senyawa aktif dan menurunnya mutu simplisia tersebut (Depkes, 1985). Apabila tidak dinyatakan lain, simplisia disimpan di tempat terlindung dari sinar matahari dan pada suhu kamar. Untuk simplisia yang mudah menyerap air harus disimpan dalam wadah tertutup rapat yang berisi kapur tohor (Depkes, 1995).

C. Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian merupakan peristiwa pemindahan massa. Zat aktif yang berada dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif akan berada dalam cairan penyari tersebut. Dalam proses penyarian dipengaruhi oleh derajat kehalusan

serbuk, perbedaan konsentrasi yang terdapat mulai dari pusat butir serbuk simplisia sampai ke permukaannya (Gunawan & Mulyani, 2004).

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan beberapa faktor diantaranya adalah murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat yang berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan diperbolehkan dalam peraturan (Gunawan & Mulyani, 2004).

2. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian sampai memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes, 1985).

Proses ekstraksi adalah proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut terpilih dimana zat tersebut larut. Ekstrak adalah sediaan berupa kering, kental dan cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari (Ansel, 1989)

3. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi cair padat dengan cara yang sederhana. Metode maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Keuntungan dari metode ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan peralatannya sederhana, sedangkan kerugiannya adalah pengerjaan yang lama dan penyarian yang kurang sempurna (Depkes, 1986).

Pembuatan ekstrak dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan cara bahan simplisia dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau serbuk kasar) kemudian disatukan dengan bahan pengestraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya langsung (untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Rendaman sebaiknya dikocok

berulang-ulang minimal 3 kali sehari hal ini bertujuan untuk mempercepat konsentrasi bahan ekstraksi menjadi seimbang. Waktu lamanya maserasi \pm 3-5 hari agar bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak yang terbentuk saat penghalusan dapat larut dan bahan kandungan dalam sel masih tetap utuh. Setelah maserasi selesai dilanjutkan dengan memeras rendaman menggunakan kain peras. Cairan maserasi dan cairan yang diperoleh dari pemerasan disatukan dengan mencuci sisa perasan dengan bahan ekstraksi diberikan pada kandungan atau jumlah yang telah diperoleh. Proses pencucian tersebut dilakukan untuk memperoleh sisa bahan ekstraktif dan untuk menyeimbangkan kembali kehilangan saat penguapan yang terjadi pada penyarian dan pengepresan, dan hasil ekstraksi disimpan dalam kondisi dingin kemudian cairannya dituang dan disaring (Voigt, 1994).

4. Pelarut

Penggunaan pelarut untuk ekstraksi harus disesuaikan dengan kelarutan dari kandungan bahan simplisia. Pelarut harus masuk ke dalam simplisia, dan membran simplisia yang kondisinya harus diubah terlebih dahulu menjadi kering dan mengkerut, sehingga bahan pelarut dapat masuk ke dalam simplisia. Stabilitas zat aktif tumbuhan merupakan sifat yang penting untuk memperoleh sediaan obat yang tepat, sehingga banyak zat aktif tumbuhan yang larut dalam air atau alkohol karena kepolarannya (Voigt, 1994).

Pelarut organik jarang digunakan dalam penyarian, kecuali dalam proses penyarian tertentu. Dalam proses penyarian menurut Farmakope Indonesia menetapkan cairan penyari adalah air, etanol, air, etanol-air, atau eter (Gunawan & Mulyani, 2004).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, karena pelarut etanol 70% bersifat universal, sehingga dapat menarik hampir semua golongan senyawa pada bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida saponin, glikosida flavonoid, kurkumin, mukarin, antrakuinon, steroid, damar, dan klorofil, sedangkan lemak, saponin, dan tanin hanya sedikit yang larut (Depkes, 1986).

D. Toksisitas

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, 2004).

Penelitian toksikologi biasanya dibagi menjadi tiga kategori yaitu :

1. Uji toksisitas akut

Toksisitas akut merupakan keadaan dimana terdapat efek toksik/racun yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian zat dalam dosis tunggal atau berulang. Tujuan utama dari uji toksisitas akut adalah untuk menentukan LD₅₀. Selain itu uji toksisitas akut dapat menunjukkan organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta memberikan petunjuk tentang dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama. Prinsip dari uji ketoksikan akut yaitu pemberian secara oral suatu zat dalam beberapa tingkatan dosis kepada beberapa kelompok hewan uji, penilaian ditentukan dari kematian hewan uji sebagai parameter akhir, serta hewan yang mati dan hidup selama percobaan diotopsi untuk dievaluasi gejala toksisitas dan selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ (BPOM, 2014).

Data kualitatif dari uji toksisitas akut adalah gejala klinis dan efek toksik dari senyawa uji. Dalam pengamatan dan pemeriksaan uji ketoksikan akut yang perlu diperhatikan adalah tanda-tanda ketoksikan harus dicatat, jumlah hewan yang mati dan waktu kematian harus diamati untuk memperkirakan LD₅₀. Jangka waktu pengamatan yang biasa dilakukan adalah 7-14 hari yang bertujuan untuk mengetahui efek yang muncul lambat (Lu, 1995).

Gejala klinis yang timbul selama masa uji pada hewan uji secara luas dapat berupa gangguan pada syaraf otonom, syaraf otot, perilaku, perasa, urat, darah pada jantung, mata, saluran pencernaan, dan kulit yang secara rinci dijelaskan dalam tabel 1. (Harmita & Radji, 2004).

Tabel 1. Hubungan tanda-tanda keracunan dengan organ beserta sistem urat saraf (Harmita & Radji 2004).

Sistem	Tanda-tanda ketoksikan
Syaraf Otonom	<i>Exophthalmos</i> (mata memerah), hidung berlendir, liur keluar, mencret, sering kencing, piloereksi dan <i>relaxed nictating membrane</i> .
Perilaku	Kurang tenang, gelisah, posisi duduk kepala mendongak, memandang kosong ke depan, kepala menunduk, depresi berat, kaki menggaruk-garuk, terengah-engah, mudah terganggu, sikap bermusuhan agresif maupun defensif, ketakutan, bingung, aktivitas aneh.
Perasa / Sensory	Sensitif terhadap rasa sakit, <i>righting</i> , kornea labirin (rongga telinga), refleks setempat dan kiki belakang, sensitif terhadap suara dan sentuhan, nigtamus, <i>ponation</i> .
Syaraf otot	Aktivitas meningkat atau menurun, <i>fasciculation</i> , gemetar, kejang-kejang, tidak bias digerakkan, <i>prostation</i> , ekor membengkok ke bawah kemuka, kaki belakang lemah, refleks jelek <i>ophisthonus</i> , kedutan, kematian.
Urat darah jantung	Detak jantung naik atau turun, sianosis, penyumbatan/gangguan urat darah jantung, pelebaran urat jantung, pelebaran urat darah jantung, perdarahan.
Respiratory / Pernafasan	<i>Hypopnea</i> , <i>dyspenia</i> , megap-megap, <i>apnea</i> .
Ocular / Mata	Midriasis, misis, lakrimasi, ptosis, nistagmus, siklopedia, <i>pupillary light refleks</i> .
Gastrointestinal / Gastrourinary	Air liur keluar terus, mencret, kotoran dan air seni berdarah, sembelit, <i>rhinorrhea</i> , kencing dan buang air besar tidak terkontrol.
Cutaneous (kulit)	Alopesia, piloereksi, gemetar seperti anjing badannya basah, eritema, edema, nekrosis, (bercak-bercak), bengkak.

Data kuantitatif yang diperoleh dari uji ketoksikan akut adalah LD₅₀. LD₅₀ berguna untuk mengevaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja, sebagai perencanaan penelitian selanjutnya seperti pengujian toksisitas kronik, dan toksisitas sub kronik, serta memberikan informasi tentang mekanisme toksisitas (Lu, 1995).

Hasil dari uji LD₅₀ yang harus dilaporkan selain jumlah hewan yang mati juga harus disebutkan durasi pengamatan. Bila pengamatan dilakukan selama 24 jam setelah perlakuan, maka hasilnya ditulis LD₅₀ 24 jam. Namun seiring LD₅₀ dilakukan dalam 24 jam pertama sehingga penulisan hasil tes LD₅₀ saja sudah cukup untuk mewakili test LD₅₀ yang diamati dalam 24 jam. Pada umumnya semakin kecil nilai LD₅₀ maka semakin toksik senyawa tersebut. Demikian juga sebaliknya, semakin besar nilai LD₅₀ maka semakin rendah toksisitasnya. Potensi

ketoksikan akut senyawa pada hewan coba dibagi menjadi beberapa kelas, dilihat pada tabel berikut (Lu 1995).

Tabel 2. Klasifikasi potensi ketoksikan akut (Lu 1995).

Kategori	LD ₅₀ (mg/kgBB)
Super toksik	5 atau kurang
Amat sangat toksik	5-50
Sangat toksik	50-500
Toksik sedang	500-5000
Toksik ringan	5000-15000
Praktis tidak toksik	>15000

Besaran LD₅₀ dapat ditentukan selama uji toksisitas berlangsung tergantung dari lama pemberian senyawa uji kepada hewan uji, waktu pemberian senyawa uji, serta frekuensi respon pada masing-masing hewan uji. Nilai dari LD₅₀ dapat ditentukan dengan menggunakan beberapa rumus, diantaranya sebagai berikut:

Metode Weil, CS (Harmita & Radji, 2004)

$$\log m = \log D + d (f + 1) \dots\dots\dots \text{(Persamaan 1)}$$

Keterangan :

- m : harga LD₅₀
- D : dosis terkecil yang digunakan
- d : log r (kelipatan dosis)
- f : faktor

Metode Farmakope III (Depkes, 1979)

$$m = a - b (\sum pi - 0,5) \dots\dots\dots \text{(Persamaan 2)}$$

Keterangan :

- m : log LD₅₀
- a : logaritma dosis terendah yang dapat menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok
- b : beda logaritma dosis yang berurutan
- pi : jumlah hewan yang mati menerima dosis i, dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis.

Metode grafik probit (Harmita &Radji, 2004)

$$y = a + b.x \dots\dots\dots(Persamaan 3)$$

Keterangan :

y : probit = 5 (50% kematian = LD50)

bx : log dosis

Menentukan dosis dalam uji toksisitas akut menurut BPOM (2014) terdapat dua metode, yaitu metode konvensional, dan metode *fixed dose*. Metode konvensional merupakan metode yang menggunakan minimal 3 dosis yang berbeda. Dosis terendah adalah dosis yang tertinggi tidak menimbulkan kematian, dan dosis tertinggi adalah dosis terendah yang dapat menimbulkan kematian 100%. Bila dosis telah mencapai 5000 mg/kgBB hewan uji (pada tikus) tidak menimbulkan kematian, maka uji tidak perlu dilanjutkan dengan menggunakan dosis bahan uji yang lebih tinggi. Sedangkan metode *fixed dose* adalah metode yang menggunakan dosis bertingkat antara lain 5, 50, 300, 2000 mg/kgBB hewan uji (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kgBB hewan uji) (BPOM, 2014).

Penelitian ini menggunakan metode *fixed dose* dengan mengkonversi dosis sesuai hewan uji yang digunakan yaitu mencit putih betina. Nilai LD₅₀ didapatkan dari jumlah kematian hewan uji selama 24 jam, selain LD₅₀ diperhatikan juga adanya gejala klinis, indeks organ dan makropatologi organ hewan uji.

2. Uji toksisitas subkronik

Ketoksikan sub kronis merupakan uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu, selama kurang lebih tiga bulan. Tujuan dari toksisitas subkronis adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik, mengetahui bentuk efek toksik pada kelompok dosis tunggal, untuk mengevaluasi dan menggolongkan efek dari senyawa yang diberikan secara berulang-ulang, dan untuk memberikan informasi tambahan untuk rancangan uji toksisitas kronis. Hasil dari uji ketoksikan subkronis akan memberikan informasi yang bermanfaat tentang efek utama senyawa uji dan organ sasaran yang dipengaruhi. selain itu dapat diperoleh

info tentang perkembangan efek toksik yang lambat berkaitan dengan takaran yang tidak teramati pada uji ketoksikan akut (Donatus, 2001).

3. Uji toksisitas kronik

Ketoksikan kronis disebut juga dengan ketoksikan jangka panjang karena penelitiannya dilakukan secara berulang-ulang selama masa hidup hewan uji, misalnya adalah 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet. Hewan uji yang digunakan adalah hewan uji yang memiliki satu spesies atau lebih, kecuali dinyatakan lain, akan tetapi dalam penelitian mencit tidak digunakan karena ukurannya yang sangat kecil. Tujuan dari uji toksisitas kronis adalah untuk menilai keamanan atau resiko ketoksikan pada tingkat dosis lazim, dan untuk mengetahui potensial karsinogenik suatu senyawa (Loomis, 1978).

E. Organ Sasaran

Pada pemeriksaan pascamati, dilakukan pada semua hewan yang mati, dan beberapa hewan yang hidup, terutama hewan yang tampak sakit pada akhir percobaan, hal ini dilihat secara makroskopis dengan menimbang berat organ. Penimbangan berat organ dilakukan untuk mengetahui bila kematian tidak segera terjadi setelah pemberian zat kimia, serta berat organ juga merupakan salah satu indikator yang berguna untuk toksisitas. Organ yang biasa ditimbang adalah hati, ginjal, jantung, lambung, usus (Lu, 1995).

1. Hati

Hati merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh, yang memiliki berat rata-rata sekitar 1500 gram atau 2,5 % berat badan pada orang dewasa normal. Secara anatomi, hati terletak di tulang rusuk ke tiga anterior di dalam rongga abdominal. Bagian anterior pada permukaan hati dibatasi oleh lengkungan diafragma, sedangkan posteriornya dibatasi oleh perut dan duodenum (Green, 1996).

Hati berfungsi penting untuk mempertahankan hidup dan berperan hampir di setiap fungsi metabolik tubuh. Fungsi utama hati adalah pembentukan dan ekskresi empedu yang meliputi metabolisme garam empedu, dan metabolisme pigmen empedu. Selain itu hati juga berperan penting dalam metabolisme

karbohidrat, protein, lemak, penyimpanan vitamin dan mineral, metabolisme steroid, dan detoksifikasi (Price & Wilson, 2006). Pemeriksaan hati dapat dilakukan secara makroskopik, yaitu dengan melihat warna dan penampilan, seperti perlemakkan hati atau sirosis, dan berat organ merupakan salah satu kriteria paling peka untuk toksisitas (Lu, 1995).

2. Jantung

Jantung berfungsi sebagai pompa yang mengalirkan darah ke jaringan. Jantung memiliki empat ruangan utama yaitu atrium kiri, dan atrium kanan, serta ventrikel kiri, dan kanan. Atrium kanan berfungsi sebagai tempat penyimpanan darah dan sebagai penyalur darah dari vena-vena sirkulasi sistemik ke dalam ventrikel kanan, dan kemudian ke paru-paru. Atrium kiri berfungsi untuk menerima darah yang mengandung oksigen dari paru-paru melalui ke empat vena pulmonalis. Ventrikel kanan menghasilkan kontraksi bertekanan rendah yang cukup untuk mengalirkan darah ke dalam arteria pulmonalis. Ventrikel kiri menghasilkan tekanan yang cukup tinggi untuk mengatasi tahanan sirkulasi sistemik, dan mempertahankan aliran darah ke jaringan-jaringan perifer (Price & Wilson, 2006).

3. Ginjal

Ginjal merupakan organ vital yang berperan penting dalam mempertahankan kestabilan lingkungan dalam tubuh. Ginjal mengatur keseimbangan cairan tubuh, elektrolit, dan asam basa dengan cara filtrasi darah, reabsorpsi selektif air, elektrolit, dan non elektrolit, serta mengekskresi kelebihan sebagai urin. Ginjal juga mengeluarkan sampah metabolisme (seperti urea, kreatinin, dan asam urat) dan zat kimia asing, mengsekresi renin (untuk mengatur tekanan darah), mengsekresi bentuk aktif vitamin D (untuk mengatur kalsium), serta mengsekresi eritroprotein (untuk sintesis eritrosit) (Price & Wilson, 2006). Pemeriksaan ginjal dapat dilakukan secara makroskopik dapat dilakukan dengan cara menimbang berat ginjal dan ditentukan pada akhir penelitian toksisitas akut dan subkronis. Perbedaan berat ginjal hewan uji dengan berat ginjal hewan pembanding akan menunjukkan lesi ginjal (Lu, 1995).

4. Lambung

Secara anatomis lambung terletak pada oblik kiri ke kanan menyilang di abdomen atas tepat di bawah diafragma. Lambung terbagi atas *fundus*, *korpus*, dan *antrum pilorikum* atau *pilorus*. Lambung terdiri dari empat lapisan yaitu *tunika serosa* atau lapisan luar, muskularis, submukosa, dan mukosa (Price & Wilson, 2006).

Tunika serosa atau lapisan luar merupakan bagian peritoneum viseralis. Dua lapisan peritoneum viseralis menyatu pada kurvatura minor lambung dan duodenum dan terus memanjang ke hati membentuk *omentum minus* (Price & Wilson, 2006).

Muskularis yang tersusun dari tiga lapis yaitu lapisan longitudinal di bagian luar, lapisan sirkulasi di bagian tengah, dan lapisan oblik di bagian di bagian dalam. Berbagai macam kombinasi susunan serabut otot akan berkontraksi untuk memecah makanan menjadi partikel-partikel yang kecil, mengaduk, dan mencampur makanan dengan cairan lambung, kemudian mendorong kearah duodenum (Price & Wilson, 2006).

Submukosa tersusun atas jaringan areolar longgar yang menghubungkan lapisan mukosa dan lapisan muskularis, jaringan ini memungkinkan mukosa bergerak dengan gerakan peristaltik. Mukosa merupakan bagian dalam lambung yang tersusun dari lipatan-lipatan longitudinal yang disebut *rugae*, sehingga memungkinkan terjadi distensi lambung saat diisi makanan (Price & Wilson, 2006)

5. Usus

Usus halus merupakan suatu tabung yang kompleks, berlipat-lipat, dan membentang dari piloris hingga katup ileosekal. Usus halus dibagi menjadi duodenum, jejunum, dan ileum. Panjang duodenum sekitar 25 cm mulai dari pilorus sampai jejunum. Pemisahan duodenum dengan jejunum ditandai dengan adanya ligamentum yang berperan sebagai ligamentum suspensorium (penggantung). Jejunum terletak di regio midabdominalis sinistra, sedangkan ileum terletak di region abdominalis dekstra sebelah bawah (Price & Wilson, 2006).

Dinding usus halus terdiri dari 4 lapisan dasar. Peritoneum mempunyai lapisan viseral, parietal, dan ruang yang terletak diantara lapisan-lapisan tersebut yang dinamakan sebagai rongga peritoneum. Mesentrium merupakan bagian yang menyongkong pembuluh darah dan limfa untuk menyuplai ke usus. Omentum majus merupakan lapisan ganda peritoneum yang menggantung dari kurvatura major lambung dan berjalan turun di depan visera abdomen. Omentum biasanya mengandung banyak lemak dan kelenjar limfa yang membantu melindungi rongga peritoneum terhadap infeksi (Price & Wilson, 2006).

F. Hewan Uji

1. Mencit

Mencit (*Mus musculus* L.) termasuk mamalia pengerat (rodensia) yang cepat berkembangbiak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar, serta sifat anatomi dan fisiologinya terkarakteristik dengan baik. Mencit memiliki ciri-ciri berupa bentuk tubuh kecil, berwarna putih, memiliki siklus estrus teratur yaitu 4-5 hari (Akbar, 2010).

2. Sistematika Hewan Uji

Sistematika mencit (*Mus musculus* L.) menurut Akbar (2010) adalah sebagai berikut:

Phylum	: Chordota
Sub phylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus</i>

3. Karakteristik hewan uji

Hewan uji yang biasa digunakan dalam penelitian adalah tikus dan mencit, karena kedua hewan tersebut mudah didapat, ukurannya yang kecil, harganya murah, mudah ditangani, dan data toksikologinya relatif banyak (Lu, 1995). Prinsip dari hewan uji yang akan digunakan adalah harus dipertimbangkan

sensitivitas, cara metabolisme sediaan uji yang serupa dengan manusia. Berikut adalah kriteria hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas menurut BPOM 2014 :

Tabel 3. Kriteria hewan uji (BPOM,2014)

No	Jenis hewan	Bobot minimal	Rentang umur
1	Mencit	20 g	6-8 minggu
2	Tikus	120 g	6-8 minggu
3	Marmut	250 g	4-5 minggu
4	Kelinci	1800 g	8-9 bulan

Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina karena sedikit lebih sensitif dibandingkan mencit jantan, sehingga sangat cocok untuk menggunakan mencit betina dalam uji toksisitas, tetapi apabila bahan uji secara toksikologi menunjukkan bahwa mencit jantan lebih sensitif, maka jenis kelamin jantan digunakan untuk uji (BPOM, 2014).

4. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji

Ruangan yang digunakan untuk percobaan hendaknya memenuhi persyaratan suhu, kelembaban, cahaya dan kebisingan yang sesuai dengan kebutuhan hidup hewan uji, yaitu suhu ruangan diatur sekitar 22°C, dengan kelembapan relatif 30-70%, dan penerangan 12 jam terang 12 jam gelap. Ruang harus selalu dijaga kebersihannya, hewan uji diberi pakan yang sesuai standar laboratorium dan diberikan tanpa batas. Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material yang kedap air, kuat dan mudah dibersihkan. Luas kandang 77,4 cm², tinggi 12,7 cm² (BPOM, 2014).

5. Cara dan lama pemberian zat uji

Secara umum pemberian obat pada hewan uji dapat digunakan jalur oral karena jalur ini merupakan jalur yang sering dipakai manusia dalam mengkonsumsi obat. Pemberian senyawa melalui oral secara cepat akan diabsorpsi dari saluran cerna dan akan didistribusikan keseluruh organ dalam tubuh sehingga apabila senyawa uji diberikan secara berulang-ulang maka pada organ tertentu akan mengakibatkan toksik (Loomis, 1978). Pemberian obat secara peroral pada hewan uji menggunakan spuit yang diisi sediaan ekstrak etanol daun bayam duri dengan volume yang sudah ditentukan (Harmita & Radji, 2004).

6. Mengorbankan hewan uji

Pembunuhan dilakukan sedemikian rupa sehingga hewan mengalami seminimal mungkin. Dapat dilakukan dengan pemberian anestesi dengan dosis berlebih. Secara intravena untuk mencit, marmot, dan tikus menggunakan CO₂, kloroform, N₂, inhalasi, dan dapat juga secara fisik atau disembelih (Lu, 1995).

G. Landasan Teori

Tumbuhan bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) merupakan salah satu tumbuhan obat tradisional yang digunakan untuk berbagai macam pengobatan antara lain untuk antipiretik, diuretic, antiinflamasi, antibakteri, dan antimalarial (Mishra 2012 dan Vardana, 2012). Kandungan bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) antara lain amarantin, rutin, spinasterol, hentriakontan, tannin, kalium nitrat, asam oksalat, garam fosfat, zat besi, serta vitamin (Setawati dkk, 2008). Secara kimiawi bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) mengandung sejumlah konstituen aktif yaitu alkaloid, flavonoid, glikosida, asam fenolat, asam amino, terpenoid, lipid, saponin, betalain, B sitosterol, asam linoleat, amaranthosida, amarisin (Susantiningsih, 2013).

Penelitian untuk keamanan terhadap bayam duri telah dilakukan oleh M.almurdani dkk, 2013 dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) hasil yang diperoleh adalah nilai LC₅₀ ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol masing-masing adalah 10,14; 40,23; dan 120,18 µg/ml. Hasil uji toksisitas ketiga ekstrak tersebut, ekstrak n-heksana mempunyai aktifitas toksisitas yang kuat. Menurut penelitian dwi puspitasari dkk, 2014 uji toksisitas menggunakan metode BSLT, menunjukkan hasil nilai LC₅₀ dengan menggunakan ekstrak etanol 1,59 µg/ml, ekstrak metanol 69,98 µg/ml, fraksi n-heksana tidak aktif sebagai aktivitas toksisitas karena nilai LC₅₀ 635,33 µg/ml, sedangkan menurut penelitian L. Samuel Joshua dkk, 2010 hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri pada dosis 100 dan 200 mg/kgBB memberikan efek anti tumor yang signifikan dalam bantalan EAC tikus.

Metode yang digunakan untuk ekstraksi daun bayam duri adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol 70% berfungsi sebagai pelarut yang

digunakan untuk melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil (Depkes, 1986).

Uji toksisitas akut merupakan derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat (7-14 hari) setelah pemberian dalam dosis tunggal. Salah satu tujuan dari uji toksisitas akut yaitu untuk memperoleh nilai LD₅₀. LD₅₀ merupakan dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan uji. Nilai dari LD₅₀ dapat dihitung dengan metode Thompson & Weil, Litchfield & Wilcoxon, Miller & Trainer, regresi linier/probit atau dengan menggunakan metode statistik lainnya (BPOM, 2014).

Pengamatan yang dilakukan adalah gejala klinis yang timbul setelah perlakuan, pengamatan indeks organ, dan pengamatan perubahan makropatologi terhadap organ hewan uji dan pencatatan jumlah hewan uji yang mengalami kematian. Data berupa kelompok dosis yang mengalami kematian akibat suatu zat yang dipejankan dan biasanya dinyatakan dalam nilai LD₅₀. Kemudian dosis tersebut dapat diklasifikasikan untuk menentukan tingkat letalitasnya. Penentuan dosis toksik yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode fixed dose, metode fixed dose adalah metode yang menggunakan dosis bertingkat, antara lain: 5, 50, 300, 2000 mg/kgBB (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kgBB) (BPOM, 2014). Dosis tersebut dikonversi sesuai dengan hewan uji yang digunakan yaitu mencit.

H. Hipotesis

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

pertama, pemberian ekstrak etanol daun bayam duri dapat memberikan efek toksik pada mencit putih betina.

Kedua, nilai LD₅₀ dari ekstrak etanol daun bayam duri lebih dari 3000 mg/kg BB hewan uji termasuk dalam klasifikasi toksik sedang.

Ketiga, ekstrak etanol daun bayam duri berpengaruh terhadap gejala klinis, indeks organ dan perubahan makropatologi organ mencit putih betina.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam duri yang diperoleh dari daerah Balong Baru Surakarta, Jawa Tengah.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang dilakukan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam duri yang diambil secara acak, dipilih yang bersih, dan segar diperoleh dari daerah Balong Baru Surakarta, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol dari daun bayam duri dalam berbagai variasi dosis. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah besaran kisaran dosis lethal tengah (LD_{50}), dan gejala toksik pada mencit. Variabel ketiga dalam penelitian ini adalah hewan uji dan kondisi percobaan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali. Variabel bebas dalam adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun bayam duri yang diberikan pada mencit dalam berbagai variasi dosis toksik.

Variabel tergantung adalah variabel akibat dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek toksisitas akut ekstrak etanol daun bayam duri terhadap mencit putih betina dengan melihat gejala atau efek toksik, serta nilai LD_{50} .

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulang dalam penelitian lain

secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah berat badan, usia, lingkungan tempat hidup, dan perlakuan oleh peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, simplisia daun bayam duri diperoleh dari daerah Balong Baru Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun bayam duri merupakan daun yang telah dicuci kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C lalu digiling menggunakan mesin penggiling dan diayak menggunakan ayakan nomor 40 mesh.

Ketiga, ekstrak etanol daun bayam duri adalah sediaan ekstrak cair yang diperoleh dengan cara maserasi serbuk daun bayam duri menggunakan pelarut etanol 70% kemudian diuapkan dengan *rotary evaporation* untuk mendapatkan ekstrak pekat.

Keempat, gejala-gejala klinis yang muncul pada hewan uji toksisitas akut adalah gangguan pada syaraf otonom, syaraf otot, perilaku, perasa, telinga, mata, dan sistem saraf pusat.

Kelima, nilai LD₅₀ adalah ketoksikan suatu bahan terhadap 50% hewan percobaan serta peringkat letalitas dapat diperoleh dengan mengklasifikasikan bila LD₅₀ pada tabel klasifikasi letalitas menurut (Lu, 1995).

Keenam, dosis uji toksisitas akut yang digunakan dengan metode fixed dose adalah ekstrak etanol daun bayam duri dosis 5, 50, 300, 2000, 5000 mg/kgBB yang diberikan pada hewan uji dengan mengkonversi dosis yang sesuai hewan uji yang digunakan yaitu mencit.

Ketujuh, hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedelapan, pengamatan berat badan, dengan cara menimbang berat badan mencit sesaat sebelum diberikan perlakuan dan selama seminggu setelah diberi perlakuan.

Kesembilan, Pengamatan berat organ dilakukan dengan cara mengambil organ yaitu usus, lambung, hati, ginjal dan jantung. Organ-organ sasaran tersebut kemudian ditimbang dan dicatat hasil penimbangannya.

Kesepuluh, pengamatan indeks organ dilakukan dengan cara menimbang berat organ mencit. Organ sasaran yang diamati meliputi lambung, usus, hati, ginjal, dan jantung sehingga indeks organ mencit dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

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

Kesebelas, pengamatan makropatologi yang merupakan pengamatan makroskopik terhadap organ sasaran yaitu lambung, usus, hati, ginjal, dan jantung hewan uji yang dibandingkan dengan kontrol normal. Pemeriksaan makropatologi dilakukan dengan kasat mata untuk melihat pengaruh makroskopik dari pemberian ekstrak etanol daun bayam duri terhadap organ hewan uji.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat preparasi dan pembuatan ekstrak terdiri dari *moisture balance*, *rotary evaporator*, oven, mesin penggiling, beaker glass, ayakan no 40, gelas ukur, kertas saring, kain flannel, batang pengaduk, wadah maserat, spuit. Alat untuk hewan uji seperti bak plastik, tempat makan dan minum. Alat yang digunakan untuk pengujian toksisitas adalah pinset, dan *cotton bud*.

2. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam duri yang diambil di daerah Balong Baru Surakarta, Jawa Tengah yang masih segar. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina umur 6-8 minggu. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etanol 70%. Kontrol negatif yang digunakan adalah CMC 0,5%.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tumbuhan

Tahap pertama dalam penelitian adalah menetapkan kebenaran tumbuhan bayam duri yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis yang dilakukan determinasi di Universitas Setia Budi Surakarta, Jawa Tengah

2. Pengambilan bahan

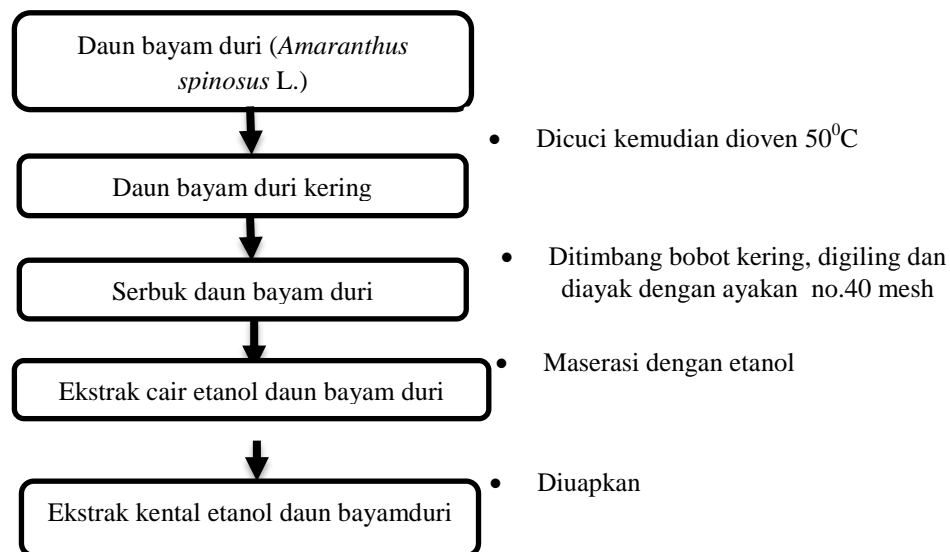
Daun bayam duri diperoleh dari daerah Balong Baru Surakarta, Jawa Tengah dalam keadaan segar. Daun bayam duri yang sudah diambil kemudian dicuci dengan air bersih lalu ditiriskan. Daun bayam duri yang sudah bersih dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sehingga didapat daun bayam duri yang kering. Setelah dilakukan proses pengeringan, selanjutnya dilakukan proses penggilingan dan diayak menggunakan ayakan no. 40 mesh sehingga didapatkan serbuk daun bayam duri.

3. Penetapan kadar lembab serbuk

Penetapan kadar lembab serbuk daun bayam duri dilakukan di laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta, dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 105⁰C dan waktu pengeringan secara manual 15 menit, kemudian dimasukkan dalam neraca timbang dengan posisi 0,00 dan memasukkan sampel serbuk daun bayam duri sebanyak 2 gram. Penetapan kadar lembab bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kadar air yang terkandung dalam serbuk. Kontrol kualitas simplisia dapat dilihat dari kadar lembab yang kurang dari 10%, hal ini mampu mencegah tumbuhnya kapang dan bakteri yang dapat menurunkan mutu simplisia.

4. Pembuatan ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*)

Serbuk daun bayam duri ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 3,75 L hingga seluruh bahan terendam, perbandingan simplisia dengan pelarut 1:75. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan penggojokkan 3 kali sehari. Filtrat yang diperoleh dari penyaringan dengan menggunakan kain flanel. Ampas yang tersisa dicuci kembali dengan etanol sebanyak 1250 ml, kemudian hasil filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Fungsi dari alat *rotary evaporator* adalah untuk memisahkan ekstrak dari cairan penyaringnya. Proses penguapan tersebut dilakukan sampai diperoleh ekstrak kental yang ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung udara yang pecah-pecah pada permukaan ekstrak atau jika sudah tidak ada lagi pelarut yang menetes pada alat penampung.



Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun bayam duri.

5. Uji bebas etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Loomis, 1978).

6. Identifikasi senyawa ekstrak etanol daun bayam duri

Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan dalam ekstrak etanol daun bayam duri. Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk menetapkan keberadaan senyawa kimia dalam ekstrak etanol daun bayam duri. Identifikasi kandungan senyawa kimia dalam ekstrak etanol meliputi senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid.

6.1. Identifikasi flavonoid. Serbuk daun bayam duri 2 mg ditambah 5 ml aquades dipanaskan selama 1 menit, disaring dan diambil filtratnya. Filtrat ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Dicampur dan dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai adanya warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol (Robinson, 1995).

6.2. Identifikasi tanin. Serbuk daun bayam duri sebanyak 1 g dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah dengan 3 tetes larutan FeCl_3 1%.

Reaksi positif akan terbentuk warna hijau violet atau hijau kehitaman (Depkes, 1995).

6.3. Identifikasi saponin. Masukkan serbuk daun bayam duri tambahkan 10 ml air panas dalam tabung reaksi, diinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan HCL 2% buih tidak hilang (Depkes, 1978).

6.4. Identifikasi alkaloid. Dua ml ekstrak daun bayam duri masing-masing ditambahkan dengan 1 ml HCl 2%, kemudian larutan dibagi menjadi tiga sama banyak dalam tabung reaksi lain. Tabung reaksi I sebagai pembanding, tabung reaksi II ditambah 2 tetes reagen dragendroff, hasil positif ditunjukkan dengan adanya kekeruhan atau endapan coklat. Tabung reaksi III adalah ekstrak yang masing-masing ditambahkan 1 ml HCl 2% dan reagen mayer, hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan putih kekuningan (Robinson, 1995).

7. Pembuatan larutan uji

Larutan CMC 0,5% dibuat dengan cara serbuk CMC ditimbang 0,5 gram dan dilarutkan dalam aquadest panas 100 ml sambil diaduk.

8. Prosedur kerja

8.1. Persiapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih betina dengan berat badan \pm 20 gram, berumur 6-8 minggu sebanyak 30 ekor. Masing-masing mencit ditimbang dan diberi tanda pengenal, kemudian dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Hewan uji mencit didapat dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi. Hewan yang diperoleh dalam keadaan sehat dan sudah diadaptasikan dalam lingkungan Universitas Setia Budi selama \pm 1 minggu. Sebelum diberi perlakuan hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 3-4 jam (untuk mencit) dan hanya diberikan minum. Setelah semua dipersiapkan, mencit dapat segera dilakukan penelitian dengan pemberian sediaan zat uji.

8.2. Penetapan dosis. Penetapan dosis dalam penelitian ini, mengacu pada metode *fixed dose* dengan menggunakan dosis bertingkat, yaitu :5, 50, 300, 2000, dan 5000 mg/kgBB hewan uji, dan kelompok kontrol negatif diberikan CMC

0,5% (BPOM, 2014). Dosis tersebut di konversi sesuai dengan hewan uji yang digunakan yaitu mencit.

8.3. Perlakuan hewan uji. Mencit putih betina yang telah dipuasakan, dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdapat 5 ekor hewan uji pembagian sebagai berikut :

- Kontrol negatif : diberi CMC 0,5%
- Kelompok I : diberi dosis tunggal ekstrak etanol daun bayam duri sebanyak 5 mg/kgBB hewan uji.
- Kelompok II : diberi dosis tunggal ekstrak etanol daun bayam duri sebanyak 50 mg/kgBB hewan uji.
- Kelompok III : diberi dosis tunggal ekstrak etanol daun bayam duri sebanyak 300 mg/kgBB hewan uji.
- Kelompok IV : diberi dosis tunggal ekstrak etanol daun bayam duri sebanyak 2000 mg/kgBB hewan uji.
- Kelompok V : diberi dosis tunggal ekstrak etanol daun bayam duri sebanyak 5000 mg/kgBB hewan uji.

Hewan uji yang telah ditimbang dan dikelompokkan kemudian diberikan sediaan uji sesuai dengan dosis yang telah ditentukan, gejala klinis diamati selama 24 jam jika tidak ada kematian dilanjutkan sampai 14 hari untuk memperoleh data indeks organ mencit.

Rumus penentuan nilai LD₅₀:

Nilai LD₅₀ dihitung menggunakan rumus Probit, yaitu :

$$Y = a + b \cdot x \dots\dots\dots$$

Dimana :

$$Y = \text{probit} = 5 \longrightarrow 50\% \text{ kematian} = \text{LD}_{50}$$

$b \cdot x = \log \text{ dosis}$

Rumus indeks organ mencit

dapat dihitung sebagai berikut :

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

9. Pengamatan dan pemeriksaan

Pengamatan hewan uji dilakukan pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji, dan dilanjutkan selama 24 jam pertama, apabila tidak terjadi kematian maka pengamatan dilanjutkan selama 14 hari dengan frekuensi pengamatan sehari sekali. Hal-hal yang perlu diamati adalah gejala klinis yang ditimbulkan oleh hewan uji (perilaku abnormal) seperti :

9.1. Perubahan perilaku (*behavioral profile*). Uji *grooming* yaitu melihat kebiasaan mencit menjilat tubuhnya bila frekuensi meningkat menunjukkan adanya stimulasi SSP atau saraf simpatik dan bila terjadi penurunan adanya depresi, gerakan spontan terjadi bila mencit bergerak dengan cepat dan berlari adanya stimulasi SSP. Uji *haffner* menunjukkan reaksi sakit yaitu saat ekor mencit dijepit dengan pinset sampai mencit bila tidak merespon menunjukkan adanya analgesik atau depresi mental (BPOM,2014;Harmita).

9.2. Perubahan pada *neurological profile*. Perubahan gejala klinis yang dilihat dengan adanya stimulasi sistem saraf pusat khususnya pada gemetar (tremor), pinareflek dan reflek kornea. Perubahan pada tremor adalah pada saat mencit dalam keadaan diam maupun beraktifitas ada bagian tubuhnya yang bergetar. Perubahan refleks hewan uji dapat berupa pinareflek yaitu gerakan menghindari rangsangan pada telinga, dan perubahan refleks kornea yaitu gerakan menghindari rangsangan mekanis pada kornea mata (BPOM,2014;Harmita).

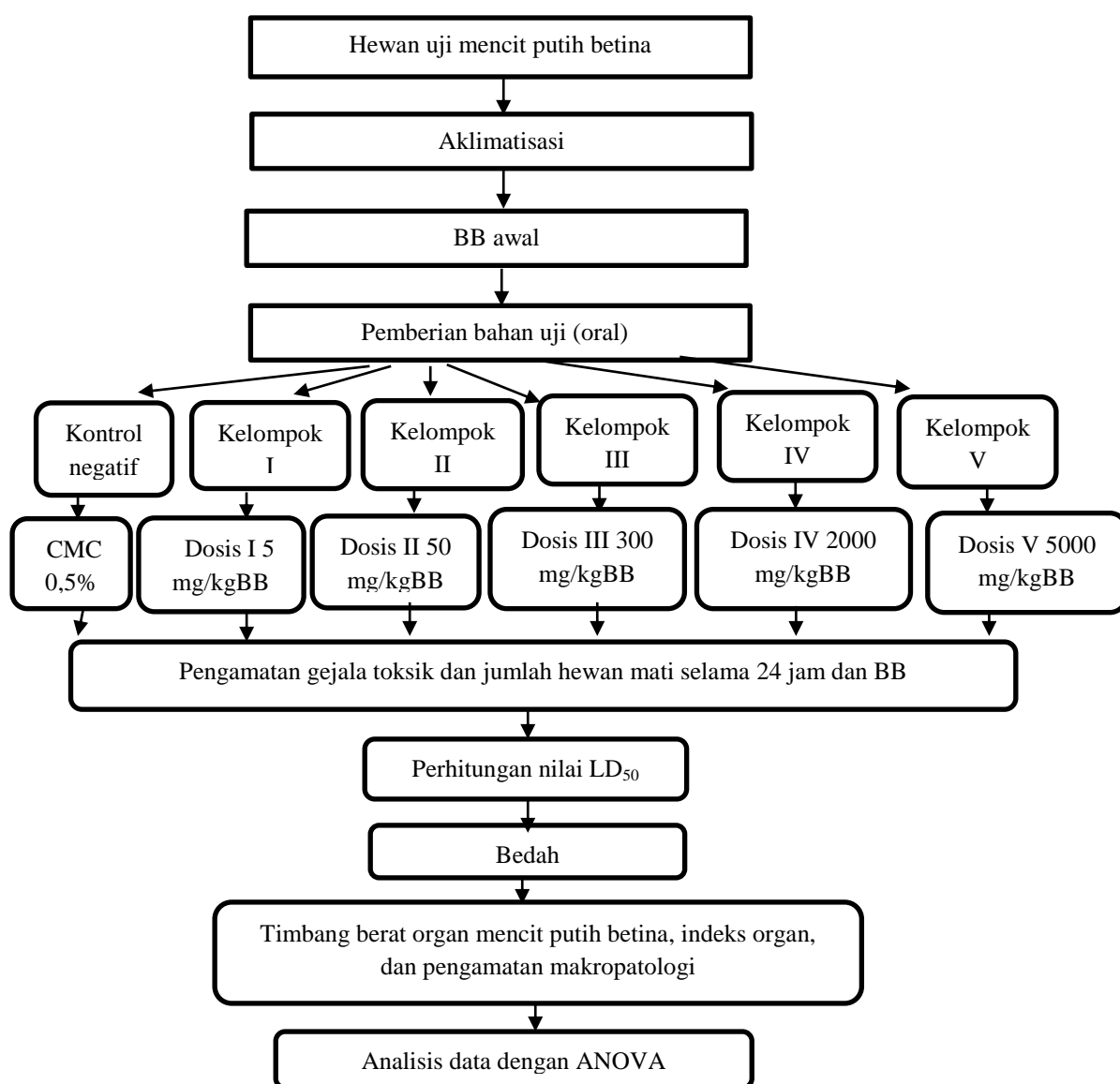
9.3. Perubahan pada *autonomik*. Perubahan gejala umum seperti, posisi palpebral, dimana mencit menutup matanya seperti mengantuk (ptosis). Hal ini dapat disebabkan karena adanya efek sedasi dari sediaan uji yang diberikan (BPOM,2014;Harmita).

9.4. Pengamatan berat badan. Berat badan masing-masing hewan harus dimonitor pada saat sebelum diberikan sediaan uji dan sekurang-kurangnya seminggu setelahnya. Pada akhir penelitian, hewan yang masih bertahan hidup ditimbang dan kemudian dikorbankan.

9.5. Pengamatan berat organ. Pengamatan berat organ dilakukan dengan cara mengambil organ yaitu usus, lambung, hati, ginjal dan jantung. Organ-organ sasaran tersebut kemudian ditimbang dan dicatat hasil penimbangannya.

9.6. Pengamatan indeks organ. Pengamatan indeks organ ini didapatkan dari hasil perbandingan antara bobot organ dengan berat badan yang dihitung dengan menggunakan rumus indeks organ

9.7. Pengamatan makropatologi organ. Pada penelitian ini organ yang diamati yaitu hati, ginjal, usus, lambung dan jantung. Kemudian diperiksa secara makroskopis dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pengamatan perubahan pada makropatologi terlihat adanya perbedaan warna pada organ mencit.



Gambar 2. Skema pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun bayam duri terhadap mencit putih betina.

E. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan SPSS. Data yang dianalisis dengan SPSS adalah indeks organ. Sedangkan data LD₅₀ dianalisis dengan rumus yang sudah ditentukan dengan metode probit. Pada hari ke-15 dilakukan pemeriksaan makropatologi pada organ hewan uji yang diberi perlakuan dengan kelompok hewan uji kontrol negatif. Data yang diperoleh digunakan untuk mengevaluasi ketoksikan pada organ mencit.

Data yang diperoleh dari perhitungan indeks organ dianalisis dengan uji *kolmogorov-Smirnov* untuk melihat distribusi tiap kelompok, sedangkan untuk melihat data homogen atau tidak dapat diuji menggunakan uji *Levene*. Apabila tiap varian datanya terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji ANOVA untuk melihat ada tidaknya perbedaan bermakna tiap kelompok perlakuan. Bila ditemukan adanya perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil dan Pembahasan Penelitian

1. Hasil determinasi tumbuhan bayam duri

Determinasi tumbuhan bayam duri telah dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis dan mengetahui kebenaran tumbuhan yang diteliti. Berdasarkan hasil determinasi, dapat dipastikan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan bayam duri. Hasil determinasi selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk daun bayam duri

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam duri yang diambil dari daerah Balong Baru Surakarta, Jawa Tengah pada bulan Februari 2017. Daun bayam duri diambil dalam keadaan masih segar dengan kondisi fisik baik seperti tidak terserang hama penyakit, dan jumlah bahan yang diperoleh sebanyak 5000 gram daun bayam duri segar.

Proses selanjutnya adalah daun bayam duri dicuci dengan air bersih yang mengalir hingga bersih dan terbebas dari kotoran, ditiriskan, dan ditimbang. Daun yang sudah bersih kemudian dikeringkan dalam oven suhu 40°C selama 7 hari hingga daun mudah dipatahkan. Berat daun bayam duri setelah dikeringkan dalam oven adalah 960 gram. Daun yang telah dikeringkan kemudian dihitung bobot kering terhadap berat basah sehingga diperoleh rendemen daun bayam duri adalah 19,2 %. Hasil Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 4. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun bayam duri

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
5000	960	19,2

Daun bayam duri yang sudah kering dibuat serbuk dengan cara dihaluskan dengan mesin penggiling kemudian diblender dan diayak menggunakan ayakan no. 40. Pembuatan serbuk bertujuan untuk mendapatkan luas permukaan partikel

serbuk lebih besar yang kontak dengan pelarut sehingga proses penyarian akan lebih efektif.

3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Moisture Balance* untuk menetapkan susut pengeringan serbuk daun bayam duri. Prinsip kerja alat *Moisture Balance* adalah terjadi pemanasan serbuk kemudian terjadi penguapan sampai bobot serbuk menjadi tetap. Replikasi dilakukan 3 kali bertujuan untuk memastikan bahwa kadarnya konstan.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar lembab dalam serbuk daun bayam duri

No.	Berat awal (g)	Kadar air (%)
1	2,00	5,4
2	2,00	11,4
3	2,00	5,3
Rata-rata		7,37

Rata-rata penetapan kadar lembab dalam serbuk daun bayam duri adalah 7,37%. Kadar lembab serbuk daun bayam duri sudah memenuhi syarat kurang dari 10%. Kadar lembab simplisia disyaratkan kurang dari 10% untuk mencegah terjadinya pembusukkan oleh jamur, dan bakteri (Depkes 1985). Perhitungan kadar lembab dapat dilihat pada Lampiran 11.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun bayam duri

Serbuk daun bayam duri yang digunakan sebanyak 500 gram dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3,75 L dalam botol maserasi dengan perbandingan 1:75. Filtrat yang diperoleh berwarna coklat pekat dengan bau khas daun bayam duri bercampur bau etanol.

Proses pengentalan ekstrak menggunakan vakum *rotary* evaporator yang diperoleh sebanyak 58,91 gram, dan dihitung rendemennya. Cara perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 10.

Tabel 6. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun bayam duri

Berat serbuk (g)	Etanol (ml)	Berat ekstrak (g)	Rendemen %
500	3,750	58,91	11,8

Tabel 6 menunjukkan hasil rendemen ekstrak daun bayam duri adalah 11,8%.

5. Hasil uji bebas etanol

Ekstrak daun bayam duri dilakukan uji bebas etanol. Hasil uji bebas etanol dalam ekstrak rimpang temu putih dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun bayam duri

Tes bebas alcohol	Pustaka (Loomis 1978)	Hasil
Ekstrak + H ₂ SO ₄ conc+CH ₃ COOH, dipanaskan	tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol	tidak adanya bau ester yang khas dari etanol

Hasil tes bebas etanol pada tabel 7 menunjukkan bahwa ekstrak daun bayam duri sudah terbebas dari pelarutnya yaitu etanol 70 % yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

6. Hasil identifikasi kandungan kimia

Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia pada serbuk maupun ekstrak daun bayam duri. Hasil analisis kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bayam duri secara kualitatif berdasarkan pengamatan dan pustaka.

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bayam duri secara kualitatif

Senyawa	Hasil			Pustaka	
	Pereaksi	Serbuk	Ekstrak		
Saponin	10 ml air panas + 0,5 g serbuk kocok kuat 10 detik, terbentuk buih	Terbentuknya buih permukaan	Terbentuknya buih permukaan	+	Reaksi positif terbentuknya buih, penambahan HCL 2N buih tidak hilang (Depkes, 1978).
Flavonoid	0,5 g serbuk + 5 ml aquades dipanaskan, 1g serbuk Mg + 2 ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) + pelarut amil alkohol, kocok kuat biarkan memisah	Terbentuknya merah kekuningan pada lapisan amil alkohol	Terbentuknya merah kekuningan pada lapisan amil alkohol	+	Merah, kuning, dan jingga pada lapisan amil alkohol (Robison, 1995)
Alkaloid	1 g ekstrak + HCL 2N panaskan + larutan mayer degendrof berbentuk endapan berwarna coklat	Terbentuknya kekeruhan	Terbentuknya warna endapan coklat	+	Ditambah reagen dragendrof terdapat kekeruhan atau endapan coklat (Robinson, 1995)
Tanin	0,5 g serbuk + 10 ml air panas dididihkan selama 115 menit, filtrat + FeCl ₃ 1%	Terbentuknya warna hijau kehitaman	Terbentuknya warna hijau kehitaman	-	Hijau violet/ biru tua (Depkes, 1995)

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun bayam duri dapat dilihat bahwa flavonoid, saponin, dan alkaloid dinyatakan positif karena dapat kesesuaian hasil pengamatan dengan pustaka, sedangkan tanin dinyatakan negatif karena pada hasil diperoleh tidak ada tanda yang menunjukkan adanya kandungan senyawa tersebut. Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri mengandung flavonoid, saponin, dan alkaloid.

B. Hasil Uji Toksisitas Akut

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina sebanyak 30 ekor, dengan berat badan ± 20 gram dengan usia 6-8 minggu. Pemilihan jenis kelamin betina, karena memiliki tingkat sensitivitas yang lebih baik dibandingkan dengan jenis kelamin jantan, sehingga jenis kelamin betina lebih menguntungkan bila digunakan sebagai uji toksisitas (BPOM 2014).

Mencit yang digunakan diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari dengan tujuan agar mencit tersebut dapat beradaptasi dengan lingkungan sekitarnya. Mencit yang sudah diadaptasikan dibagi menjadi enam kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor mencit. Mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 3-4 jam sehingga perut mencit dalam keadaan kosong dan tidak mempengaruhi pada proses pengamatan.

Mencit diberi perlakuan sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan, pemberian sediaan uji diberikan secara oral menggunakan spuit. Pengamatan intensif dilakukan selama 24 jam pada waktu ke 0, ½, 1, 2, 4, 6, dan 24 jam untuk melihat gejala-gejala toksik yang terjadi. Pengamatan kematian mencit juga dilakukan selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji. Tabel 9 menunjukkan presentase kematian hewan uji ekstrak daun bayam duri pada tiap kelompok uji.

Tabel 9. Hasil presentase kematian hewan uji

Kelompok	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah hewan mati	% kematian
Kontrol negatif	-	0	0
Dosis I	5	0	0
Dosis II	50	0	0
Dosis III	300	0	0
Dosis IV	2000	0	0
Dosis V	5000	0	0

Tabel 9 menunjukkan bahwa dengan pemberian sediaan ekstrak etanol daun bayam duri tunggal secara teknis pada hewan uji sampai dengan dosis 5000 mg/kgBB mencit ternyata tidak menimbulkan kematian. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri memiliki nilai LD₅₀ lebih dari 5000 mg/kgBB, yang sesuai dengan teori termasuk klasifikasi toksik ringan (Lu 1995).

1. Hasil pengamatan gejala toksik

1.1. Hasil perubahan perilaku. Pengamatan gejala toksik pertama yang diamati adalah adanya perubahan perilaku selama 24 jam pertama setelah pemberian sediaan uji pada semua kelompok mencit. Hal yang dinilai adalah adanya *grooming* dan *haffner*.

Tabel 10. Hasil persentase perubahan perilaku grooming tiap kelompok

Kelompok dosis	Grooming (%)						
	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Kontrol negatif (CMC)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I (5mg/kgBB)	0	0	80	20	0	0	0
Dosis II (50mg/kgBB)	0	0	60	0	20	0	0
Dosis III (300mg/kgBB)	0	0	20	80	60	0	0
Dosis IV (2000mg/kgBB)	0	60	40	20	80	0	0
Dosis V (5000mg/kgBB)	0	0	40	20	60	0	0

Tabel 10 menunjukkan perubahan perilaku mencit berupa *grooming*. *Grooming* atau menjilat tubuh disebabkan stimulasi sistem saraf pusat atau saraf simpatik dan bila terjadi penurunan adanya depresi. Bila *grooming* berlebihan hal ini menunjukkan adanya SSP atau stimulasi simpatik. Hasil dari tabel 10 dapat dilihat bahwa *grooming* terjadi pada semua kelompok perlakuan, dan gejala *grooming* tidak terjadi penurunan maupun peningkatan yang signifikan sehingga ekstrak daun bayam duri tidak berpengaruh terhadap perubahan perilaku *grooming*.

Perubahan perilaku mencit yang kedua yaitu *haffner*. *Haffner* adalah reaksi terhadap rasa sakit pada saat ekor mencit dijepit dengan pinset. Bila mencit tidak merespon terhadap rasa sakit tersebut menunjukkan bahwa sediaan yang diberikan memberikan efek analgesik.

Tabel 11. Hasil jumlah mencit *haffner*.

Kelompok dosis	Haffner (%)						
	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I (5mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II (50mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III (300mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis IV (2000mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis V (5000mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0

Pada tabel 11 dapat dilihat bahwa semua kelompok perlakuan mencit termasuk kontrol negatif memberikan respon rasa sakit pada saat ekor mencit dijepit menggunakan pinset. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri tidak memiliki efek analgesik dan tidak berpengaruh terhadap perilaku *haffner*.

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

Perubahan sistem syaraf pada mencit yang pertama adalah adanya tremor. Parameter tremor yang diamati adalah pada saat mencit dalam keadaan diam maupun saat beraktifitas ada bagian dari tubuh mencit bergetar.

Tabel 12. Hasil jumlah mencit *tremor*

Kelompok dosis	Tremor (%)						
	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I (5mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II (50mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III (300mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis IV (2000mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis V (5000mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 12 menunjukkan hasil dari perubahan profil neurogikal yaitu tremor. Tabel diatas menunjukkan bahwa semua kelompok tidak mengalami adanya tremor, sehingga dapat dijelaskan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri tidak menyebabkan pada gejala tremor.

Perubahan sistem saraf pada mencit yang kedua yaitu adanya respon terhadap rangsangan yang diberikan pada telinga mencit. Semua kelompok mencit yang diberi perlakuan dengan *cotton bud* pada bagian telinga dapat merespon dengan baik. Hal ini menunjukkan bahwa mencit tidak mengalami gangguan pada SSP akibat pemberian ekstrak daun bayam duri.

Perubahan sistem saraf pada mencit yang kedua yaitu adanya respon terhadap rangsangan yang diberikan pada telinga mencit. Semua kelompok mencit diberi perlakuan dengan *cotton bud* pada bagian telinga terlebih dahulu. Mencit normal akan merespon dengan baik dan menghindar jika diberi rangsangan pada telinganya. Bila mencit reflek tidak normal akan menunjukkan adanya pengaruh penghambatan terhadap saraf sensoris.

Tabel 13. Hasil jumlah mencit reflek pineal

Kelompok dosis	Reflek pineal (%)						
	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I (5mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II (50mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III (300mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis IV (2000mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis V (5000mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0

Hasil tabel 13 menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan termasuk kelompok kontrol negatif mencit dapat merespon rangsangan dengan baik. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri tidak berpengaruh terhadap penghambatan saraf sensorik.

Perubahan sistem saraf pada mencit yang ketiga yaitu respon terhadap rangsangan yang diberikan pada kornea mata mencit. Semua kelompok mencit akan diberi rangsangan pada matanya dengan cara disentuh menggunakan *cotton bud*. Bila mencit merespon dengan baik saat matanya diberi perlakuan, maka mata mencit langsung menutup, jika mencit tidak segera menutup mata pada saat diberi perlakuan maka mencit tersebut mengalami gangguan pada SSP.

Tabel 14 menunjukkan bahwa semua kelompok dosis mencit dapat merespon dengan baik pada saat diberi perlakuan dan tidak mengalami gangguan pada SSP. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri tidak berpengaruh terhadap gangguan SSP.

Tabel 14. Hasil jumlah mencit reflek korneal

Kelompok dosis	Reflek korneal (%)						
	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I (5mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II (50mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III (300mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis IV (2000mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis V (5000mg/kgBB)	0	0	0	0	0	0	0

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

Tabel 15. Hasil presentase perubahan perilaku ptosis pada tiap kelompok

Kelompok dosis	Ptosis (%)						
	Jam ke 0	Jam ke 0,5	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 6	Jam ke 24
Kontrol negatif (CMC)	0	0	0	0	0	0	0
Dosis I (5mg/kgBB)	0	20	0	80	60	0	20
Dosis II (50mg/kgBB)	0	0	20	0	60	60	0
Dosis III (300mg/kgBB)	0	0	60	20	40	0	40
Dosis IV (2000mg/kgBB)	0	20	60	60	40	0	40
Dosis V (5000mg/kgBB)	0	40	20	80	0	0	60

Tabel 15 menunjukkan perubahan perilaku mencit ptosis. Ptosis yaitu adanya gejala menutupnya mata mencit seperti mengantuk, hal ini bisa disebabkan adanya efek sedasi dari sediaan uji yang diberikan. Sebelum diberi perlakuan sediaan uji semua kelompok mencit tidak menunjukkan adanya ptosis. Tabel 15 menunjukkan bahwa hasil gejala ptosis tidak mengalami penurunan maupun peningkatan yang signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri tidak memberikan efek sedasi terhadap hewan uji.

2. Hasil berat badan mencit

Hewan uji ditimbang setiap seminggu sekali yaitu pada hari ke 1, 7, dan 14. untuk mengetahui perubahan berat badan yang terjadi. Setelah dilakukan penimbangan diketahui bahwa setiap minggunya berat badan mencit mengalami kenaikan. Hal ini tidak dapat disimpulkan bahwa kenaikan berat badan mencit disebabkan oleh sediaan uji, bisa terjadi karena pemberian makanan dan minuman setiap harinya. Hasil penimbangan berat badan dapat dilihat pada lampiran 13.

3. Hasil rata-rata bobot organ

Selama pengamatan mencit yang sudah mati segera dibedah dan ditimbang organnya, sedangkan Mencit yang masih hidup setelah 14 hari dibius menggunakan kloroform dan dimasukkan kedalam tabung yang tertutup, setelah mencit mati kemudian dibedah untuk diambil usus, lambung, hati, ginjal, dan jantung kemudian ditimbang. Hasil data rata-rata berat organ dapat dilihat pada lampiran 14.

4. Hasil rata-rata indeks organ

Pengamatan indeks organ ini didapatkan dari hasil perbandingan antara bobot organ dengan berat badan yang dihitung. Hasil perhitungan indeks massa organ dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel 16. Rata-rata indeks organ mencit

Rata-rata bobot organ (gram) \pm SD (n=5)

Kelompok dosis	Usus	lambung	Hati	Ginjal	jantung
Kontrol negatif (CMC)	0,1089 \pm 0,0026	0,0421 \pm 0,0065	0,0356 \pm 0,0182	0,0119 \pm 0,0015	0,0142 \pm 0,0004
Dosis I (5mg/kgBB)	0,1117 \pm 0,0097	0,039 \pm 0,0045	0,0272 \pm 0,0149	0,0114 \pm 0,0022	0,0043 \pm 0,0012
Dosis II (50mg/kgBB)	0,1108 \pm 0,0061	0,0438 \pm 0,0103	0,0336 \pm 0,0173	0,0128 \pm 0,0023	0,0037 \pm 0,0002
Dosis III (300mg/kgBB)	0,1105 \pm 0,0041	0,0434 \pm 0,0049	0,0458 \pm 0,0052	0,029 \pm 0,0009	0,0029 \pm 0,0007
Dosis IV (2000mg/kgBB)	0,1126 \pm 0,0066	0,0415 \pm 0,0091	0,0432 \pm 0,0148	0,0132 \pm 0,0013	0,0029 \pm 0,0011
Dosis V (5000mg/kgBB)	0,1122 \pm 0,0052	0,0407 \pm 0,0127	0,0422 \pm 0,0173	0,0127 \pm 0,0016	0,0028 \pm 0,0006

Data indeks organ mencit yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui perbedaan antara organ yang diberi perlakuan kontrol negatif dengan organ yang diberi perlakuan sediaan uji.

Hasil rata-rata indeks organ mencit pada tabel 16. Bisa dilihat bahwa rata-rata organ usus, lambung, hati, ginjal dan jantung tidak memiliki selisih indeks organ yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan sediaan uji.

Syarat sebuah data dapat diuji ANOVA harus terdistribusi normal, homogen dan bersifat bebas, jika data sudah menunjukkan distribusi normal dan homogen dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah, bila terdapat data yang tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc*. Tujuan dari uji ANOVA adalah untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna dari

masing-masing kelompok yang diberikan sediaan uji dengan kelompok kontrol negatif.

Dari hasil data untuk organ usus, lambung, hati, ginjal, dan jantung dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah karena sudah memenuhi syarat normalitas dan homogenitas, untuk uji homogenitas digunakan uji *Levene*. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa semua organ sasaran tidak ditemukan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok yang diberi sediaan uji, karena nilai signifikannya menunjukkan terdistribusi normal yaitu $p \geq 0,05$. Hasil dapat dilihat pada lampiran 19.

5. Hasil pengamatan organ secara makroskopis

Hasil pengamatan organ secara makroskopis pada semua kelompok uji terlihat normal tidak ada kerusakan organ dalam semua mencit. Dari hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa sediaan uji daun bayam duri tidak memberikan pengaruh pada semua organ bila dilihat secara makroskopis. Hasil dapat dilihat pada lampiran 8.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol daun bayam duri pada dosis 5000 mg/kgBB tidak menunjukkan efek toksisitas akut terhadap mencit putih betina.
2. Nilai LD₅₀ yang didapat dari hasil uji toksisitas akut ekstrak daun bayam duri yaitu lebih besar dari 5000 mg/kgBB hewan uji, sehingga dapat dikategorikan toksik ringan.
3. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri tidak berpengaruh terhadap gejala klinis, indeks organ dan perubahan makropatologi organ mencit putih betina.

B. Saran

Berdasarkan analisa data dan kesimpulan, penulis memberikan saran, yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji toksisitas dengan metode yang berbeda agar di dapatkan informasi lebih mendalam sehingga dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi Redha. 2010. *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis*. Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak, Jalan Ahmad Yani Pontianak 78124.
- Akbar, Budhi. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Anonim. 2009. *Tanaman Sayur*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Ansel C.H. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi ke-4. Farida, Ibrahim, penerjemah; Jakarta: UI-press. Hlm 605-608.
- [BPOM]. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 7 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secara In Vivo*. Jakarta: Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Bulbul Ij, Laizuman Nuhar, Farhana Alam Ripa, Obaydul Haque, 2011. *Antibacterial Cytotoxic and Antioxidant Activity of Chloroform n-Hexane and Ethyl Acetat Atract of Plant Amaranthus Spinous*. Internasional Journal of Pharmtech Research. 3 (3) : 1675-1680.
- Cai Y, M. Sun dan H. Corke. 2005. *HPLC Characterization of Betasianins From Plants In The Amaranthaceae*, J. Chromatography. 43, 454-60.
- Dede, Sukandar., Hermanto, S., Lestari, Emi. 2010. *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Jakarta: Universitas UIN Syarif Hidayatullah, Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi.
- [Depkes]. 1978. *Farmakope Indonesia*. Edisi III Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes].1985. *Tanaman Obat Indonesia*. Jilid ke-1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes].1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dwi Puspitasari, Andi Dahliaty, Nur Belatif, 2014. *Uji Toksisitas Fraksi n-Heksana Areal Part dari Tanaman Amaranthus Spinous L*. Pekanbaru: Universitas Riau Kampus Bina Widya, 28293.

- Gunawan, Didik & Mulyani, Sri. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gotewold E. 2006. *The Genetics and Biochemistry of Floral Pigments*. Ann. Rev. Plan Biol. 57:761-780.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Terbitan Kedua*. Penerbit ITB Bandung.
- Harmita & Maksun Radji. 2004. *Analisis Hayati*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA, Universitas Indonesia.
- Kumar, BSA. Lakshman, K, KN, J, Shekar. D. S. Kumar. A.A, dan Manoj, B. 2010. *Antioxidant and Antipyretic Properties of Methanolic Extract of Amaranthus Spinous Leave*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 702-706.
- L. Samuel Joshua, Vipin Chandra Pal, K. L. Senthil Kumar, Ram Kumar Sahu, 2010. *Anti Tumor of the Ethanol Extract of Amaranthus Spinous Leaves Againts EAC Bearing Swiss Albino Mice*. India: Dhepartment of Pharmacognosy.
- Loomis, S.L. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi III. Donatus, I.A, penerjemah. Insitut Keguruan dan Ilmu Pengetahuan. Semarang: Semarang Press.
- Lu, C. Frank. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Jakarta: UI Press.
- M. Almurdati, Christine Jose, Hilwan Yuda Teruna, 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Akar Tanaman Amaranthu Spinous*. Pekanbaru: Universitas Riau Kampus Binawidya, 28293.
- Mangunwardoyo, Cahyaningsih, E. Usrin T. 2009. *Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (Phllanthus nekri L)*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol 7. No 2 Hal 57-63.
- Misrha SB, Verma A, mukerjee A, Vijayakumar, M. 2012. *Amaranthus Spinousul L. leaf ekstrak attenkates streptozotocin-nicotinamid induces diabetes and antioxidant stress in albino rats: A Histopathological analysis*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 12;1647-52.
- Price, Sylvia Anderson & Wilson, Lorraine McCarty. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Edisi 5 & 6. Terjemahan dari *Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes*. Alih bahasa: Brahm U. Pedit, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari, Dewi Asih Maharani. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.

- Setiawati W. et al. 2008. *Tumbuhan Bahan Peptisida Nabati dan Cara Pembuatannya untuk Pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan*. (OPT). Bandung Hal 39-40.
- Sumardjo, Damin. 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm 565.
- Susantiningih T. 2013. *Schizon Ticial Effects of Amaranthus Spinosus L Extract and Infusa Plasmodium Borgei-Infect Mice*. Seminar Nasional Sains dan Teknologi 500-572.
- Starck D, Engel U, Wray V, 1987. *Neobetanin a New Natural Plant Constuen*. *Phytochemistry* 26, 2399-2400.
- Syamsuni. 2006. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, hlmn: 47-48.
- Thomas, B.S.A. Lakshma K, dan Sagaveera K.N. 2011. *Comparative Antipyretic Activity of Methanolic Extract of Same Species of Amaranthus*. *Asian Pacific. Journal of tropical Biomedicine*. 2=47-50.
- Vardana H. 2012. *In Vitro Antibacterial Activity of Amaranthus Spinosus L. Root extract*. *Pharmacophore*.2.266-70.
- Verawati, Anis. 2003. *Pengenalan & Pengembangan Temu Putih*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Voigt, Rudolf. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan Oleh Soenandadi Noerono Soewandhi. Edisi Ke-5. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.

Lampiran 1. Hasil determinasi tumbuhan bayam duri



No : 134/DET/UPT-LAB/09/1/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Nabila Arraissa
NIM : 19133746 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Bayam duri** (*Amaranthus spinosus* L.)

Hasil determinasi berdasarkan: Steenis: Flora.

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146a – 147a – 148b – 149a. familia 41. Amaranthaceae. 1b – 5a. Amaranthus. *Amaranthus spinosus* L.

Deskripsi :

- Habitus : Herba berumur 1 tahun.
Batang : Percabangan monopodial, bulat, lunak dan berair, tinggi 0,4-1 m, bercabang banyak dan berduri, hijau.
Daun : Tunggal, bulat telur memanjang, pangkal runcing, ujung tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, herbaceous, panjang 2 - 6 cm, lebar 1 - 2,5 cm, hijau. Pada ketiak daun terdapat sepasang duri keras.
Bunga : Majemuk, dalam tukul yang rapat, yang bawah duduk diketiak, yang atas terkumpul menjadi karangan bunga di ujung dan duduk di ketiak, bentuk bulir atau bercabang pada pangkalnya. Bulir ujung sebagian besar jantan, tidak berduri, tidak berduri tempel, mula-mula naik lalu menggantung. Tukul betina dengan 2 durilurus yang lancip, dan menjauhi batang. Daun pelindung dan anak daun pelindung runcing, sepanjang-panjangnya sama dengan tenda bunga, Daun tenda bunga 5, panjang 2 – 3 mm, gundul, hijau atau ungu dengan tepi transparan. Benangsari 5, lepas, tanpa taju yang disisipkan diantaranya. Kepala putik duduk, bentuk benang.
Buah : Bulat memanjang, dengan tutup yang rontok, berbiji 1.
Biji : hitam, mengkilat, panjang 0,8 – 1 mm.
Akar : Tunggang.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.



Solo, 09 Januari 2017

Tim Determinasi

Kaprah Wiryosoendjojo, SU.

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 Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Nabila Arraissa

Nim : 19133746 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Menit Swiss

Umur : 2-3 bulan

Jenis kelamin : Jantan

Jumlah : 30 ekor

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan Surakarta

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

Surakarta, 31 Mei 2017

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Gambar daun dan serbuk bayam duri



Gambar daun bayam duri



Gambar serbuk daun bayam duri

Lampiran 4. Alat dan proses daun bayam duri



Alat rotary evaporator



Alat moistur balance



Alat pengayakan mesh no 40



Botol maserasi

Lampiran 5. Ekstrak daun bayam duri dan uji bebas etanol



Ekstrak etanol daun bayam duri



Hasil identifikasi bebas etanol

Lampiran 6. Uji identifikasi ekstrak etanol daun bayam duri



Identifikasi flavonoid serbuk



Identifikasi flavonoid ekstrak



Identifikasi saponin serbuk



Identifikasi saponin ekstrak



Identifikasi alkaloid serbuk



Identifikasi alkaloid ekstrak



Identifikasi tannin serbuk



Identifikasi tannin ekstrak

Lampiran 7. Perlakuan hewan uji



Pemberian peroral



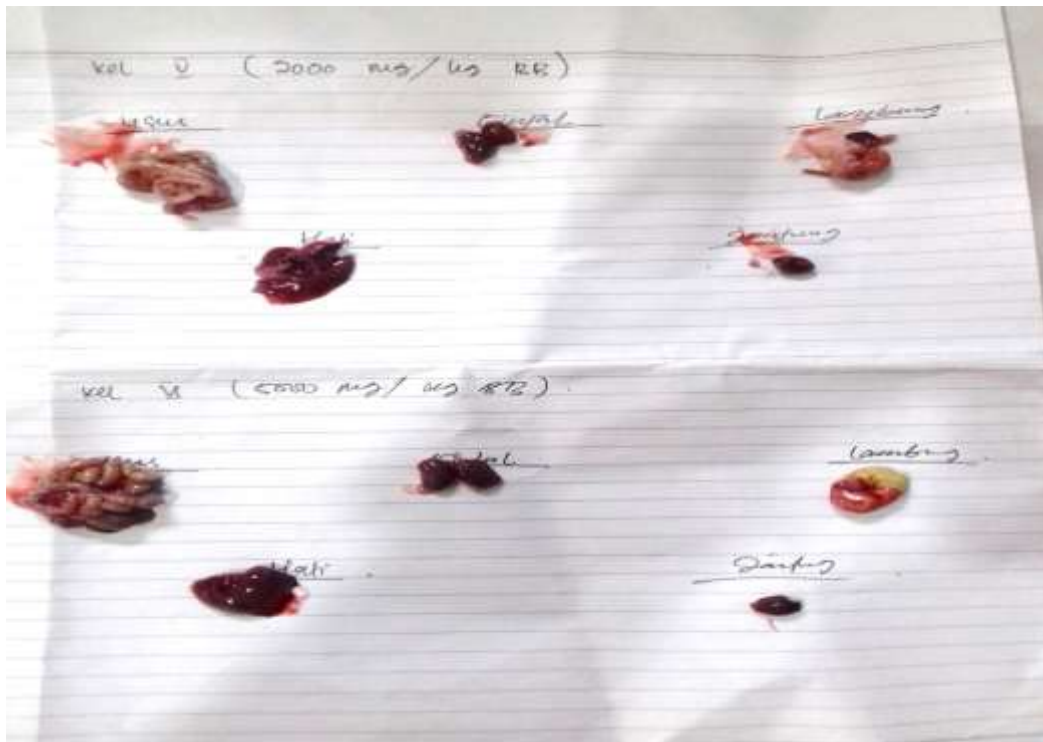
Mencit putih betina



Proses pembedahan mencit

Lampiran 8. Gambar organ hewan uji





Lampiran 9. Hasil persentase rendemen berat kering terhadap berat basah daun bayam duri

Data hasil penelitian diperoleh data sebagai berikut :

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Persentase (%)
5000	960	19,2

Perhitungan % rendemen berat kering terhadap berat basah :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat kering (g)}}{\text{Berat basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{960 \text{ g}}{5000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 19,2\%\end{aligned}$$

Jadi, persentase rendemen berat kering terhadap berat basah daun bayam duri adalah 19,2%

Lampiran10. Hasil rendemen ekstrak etanol daun bayam duri

Dari hasil penelitian diperoleh data sebagai berikut :

Berat serbuk (g)	Etanol (ml)	Berat ekstrak (g)	Rendemen %
500	3,750	58,91	11,8

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{58,91 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 11,8 \%\end{aligned}$$

Jadi, persentase rendemen ekstrak etanol daun bayam duri adalah 11,8 %

Lampiran 11. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun bayam duri

Dari hasil peneitian dapat diperoleh :

No.	Berat serbuk (g)	Kadar (%)
1	2,00	5,4
2	2,00	11,4
3	2,00	5,3
	Rata-rata	7,37

Perhitungan :

Kadar no.1 = 5,4 %

Kadar air no.2 = 11,4%

Kadar air no.3 = 5,3%

Dari kadar no 1, 2, dan 3 dijumlahkan semuanya sehingga didapatkan hasil 22,1 %. Dan hasil tersebut kemudian dibagi 3 untuk memperoleh rata-rata, hasil rata-rata penetapan kadar air serbuk daun bayam duri adalah 7,37

Lampiran12. Perhitungan volume pemberian

❖ Kelompok I (CMC Na 0,5%)

$$\text{Larutan stock 0,5\%} : = \frac{500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 5 \text{ mg/1ml}$$

$$\text{Mencit 1} : \frac{20,18 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,50 \text{ ml}$$

$$\text{Mencit 2} : \frac{22,21 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,55 \text{ ml}$$

$$\text{Mencit 3} : \frac{25,31 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,63 \text{ ml}$$

$$\text{Mencit 4} : \frac{24,52 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,61 \text{ ml}$$

$$\text{Mencit 5} : \frac{24,38 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,5 \text{ ml} = 0,61 \text{ ml}$$

❖ Kelompok II (5 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock 0,1\%} : \frac{0,1 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ ml}}$$

Faktor konversi ke mencit : 0,14 mg

Dosis : 5 mg / kgBB

: 5 mg / 1000 gram BB

: 1 mg / 200 gram BB (tikus)

Konversi ke mencit : 1 mg x 0,14 mg = 0,14 mg / 20 gram BB

➤ Mencit 1 : 27,52 g

$$\text{Dosis untuk mencit 27,52} = \frac{27,52 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,14 \text{ mg} = 0,19 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,19 \text{ mg}}{1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,19 \text{ g}$$

➤ Mencit 2 : 21,48 g

$$\text{Dosis untuk mencit 21,48 g} = \frac{21,48 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,14 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,15 \text{ mg}}{1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,15 \text{ ml}$$

➤ Mencit 3 : 23,11 g

$$\text{Dosis untuk mencit 23,11 g} = \frac{23,11 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,14 \text{ mg} = 0,16 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,16 \text{ mg}}{1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,16 \text{ ml}$$

➤ Mencit 4 : 21,41 g

$$\text{Dosis untuk mencit 21,41 g} = \frac{21,41 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,14 \text{ mg} = 0,14 \text{ mg}$$

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

➤ Mencit 5 : 21,38 g

$$\text{Dosis untuk mencit 21,38 g} = \frac{21,38 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,14 \text{ mg} = 0,15 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,15 \text{ mg}}{1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,15 \text{ ml}$$

❖ Kelompok III (50 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock 0,5 \% : } \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 5 \text{ mg / 1 ml}$$

Dosis : 50 mg/kgBB

: 50 mg / 1000 gram BB

: 10 mg / 200 gram BB (tikus)

Konversi ke mencit : 10 mg x 0,14 mg = 1,4 mg / 20 gram BB

➤ Mencit 1 : 20,18 g

$$\text{Dosis untuk mencit 20,18 g} = \frac{20,18 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,4 \text{ mg} = 1,41 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{1,41 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,28 \text{ ml}$$

➤ Mencit 2 : 25,33 g

$$\text{Dosis untuk mencit 25,33 g} = \frac{25,33 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,4 \text{ mg} = 1,77 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{1,77 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$$

➤ Mencit 3 : 20,41 g

$$\text{Dosis untuk mencit 20,41 g} = \frac{20,41 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,4 \text{ mg} = 1,43 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{1,43 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,28 \text{ ml}$$

➤ Mencit 4 : 25,63 g

$$\text{Dosis untuk mencit 25,63 g} = \frac{25,63 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,4 \text{ mg} = 1,79 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{1,79 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$$

➤ Mencit 5 : 23,70 g

$$\text{Dosis untuk mencit 23,70 g} = \frac{23,70 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,4 \text{ mg} = 1,66 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{1,66 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,33 \text{ ml}$$

❖ Kelompok IV (300 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock 10\%} : \frac{10 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{10000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 100 \text{ mg} / 1 \text{ ml}$$

Dosis : 300 mg/kgBB

: 300 mg / 1000 gram BB

: 60 mg / 200 gram BB (tikus)

Konversi ke mencit : 60 mg x 0,14 mg = 8,4 mg / 20 gram BB

➤ Mencit 1 : 24,48 g

$$\text{Dosis untuk mencit 24,48 g} = \frac{24,48 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8,4 \text{ mg} = 10,28 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{10,28 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,10 \text{ ml}$$

➤ Mencit 2 : 23,86 g

$$\text{Dosis untuk mencit 23,86 g} = \frac{23,86 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8,4 \text{ mg} = 10,02 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{10,02 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,10 \text{ ml}$$

➤ Mencit 3 : 24,32 g

$$\text{Dosis untuk mencit 24,32 g} = \frac{24,32 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8,4 \text{ mg} = 10,21 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{10,21 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,10 \text{ ml}$$

➤ Mencit 4 : 24,12 g

$$\text{Dosis untuk mencit 24,12 g} = \frac{24,12 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8,4 \text{ mg} = 10,13 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{10,13 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,10 \text{ ml}$$

➤ Mencit 5 : 25,56 g

$$\text{Dosis untuk mencit 25,56 g} = \frac{25,56 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8,4 \text{ mg} = 10,73 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{10,73 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,11 \text{ ml}$$

❖ Kelompok V (2000 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock 10\% : } \frac{10 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{10000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 100 \text{ mg / 1 ml}$$

Dosis : 2000 mg / kgBB

: 2000 mg / 1000 gram BB

: 400 mg / 200 gram BB (tikus)

Konversi ke mencit : 400 mg x 0,14 mg = 56 mg / 20 grBB

➤ Mencit 1 : 28,12 g

$$\text{Dosis untuk mencit 28,12 g} = \frac{28,12 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 56 \text{ mg} = 78,73 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{78,73 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,78 \text{ ml}$$

➤ Mencit 2 : 27,11 g

$$\text{Dosis untuk mencit 27,11 g} = \frac{27,11 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 56 \text{ mg} = 75,90 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{75,90 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,76 \text{ ml}$$

➤ Mencit 3 : 26,20 g

$$\text{Dosis untuk mencit 26,20 g} = \frac{26,20 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 56 \text{ mg} = 73,36 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{73,36 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,73 \text{ ml}$$

➤ Mencit 4 : 28,15 g

$$\text{Dosis untuk mencit 28,15 g} = \frac{28,15 \text{ mg}}{20 \text{ g}} \times 56 \text{ mg} = 78,82 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{78,82 \text{ g}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,78 \text{ ml}$$

➤ Mencit 5 : 28,72 g

$$\text{Dosis untuk mencit 28,72 g} = \frac{28,72 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 56 \text{ mg} = 80,41 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{80,41 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,80 \text{ ml}$$

❖ Kelompok VI (5000 mg/kgBB)

$$\text{Larutan stock 20\% : } \frac{20 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{20000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 200 \text{ mg / 1 ml}$$

Dosis : 5000 mg / kgBB

: 5000 mg / 1000 gram BB

: 1000 mg / 200 gram BB (tikus)

Konversi ke mencit : 1000 mg x 0,14 mg = 140 mg / 20 gram BB

➤ Mencit 1 : 19,26 g

$$\text{Dosis untuk mencit 19,26 g} = \frac{19,26 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 140 \text{ mg} = 134,82 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{134,82 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,67 \text{ ml}$$

➤ Mencit 2 : 24,20 g

$$\text{Dosis untuk mencit 24,20 g} = \frac{24,20 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 140 \text{ mg} = 169,4 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{169,4 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,84 \text{ ml}$$

➤ Mencit 3 : 24,75 g

$$\text{Dosis untuk mencit 24,75 g} = \frac{24,75 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 140 \text{ mg} = 173,25 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian} &= \frac{173,25 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,86 \text{ ml} \\ \text{➤ Mencit 4} &: 25,20 \text{ g} \\ \text{Dosis untuk mencit 25,20 g} &= \frac{25,20 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 140 \text{ mg} = 176,4 \text{ mg} \\ \text{Volume pemberian} &= \frac{176,4 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,88 \text{ ml} \\ \text{➤ Mencit 5} &: 24,38 \text{ g} \\ \text{Dosis untuk mencit 24,38 g} &= \frac{24,38 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 140 \text{ mg} = 170,66 \text{ mg} \\ \text{Volume pemberian} &= \frac{170,66 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml} \end{aligned}$$

Lampiran 13. Hasil penimbangan berat badan mencit putih betina

Berat badan mencit

Kelompok	No hewan uji	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-24
Kontrol negatif	1	20,18	20,85	22,33
	2	22,21	22,97	23,24
	3	25,31	26,13	27,42
	4	24,52	24,63	25,98
	5	24,38	25,72	26,33
Rata-rata ± SD		23,32±2,098	24,06±2,171	25,06±2,168
I	1	27,52	28,13	28,71
	2	21,48	21,91	22,82
	3	23,11	24,32	25,15
	4	21,41	22,15	22,96
	5	21,38	23,02	24,44
Rata-rata ± SD		22,98±2,641	23,91±2,543	24,82±2,389
II	1	20,18	20,76	21,43
	2	25,33	25,98	26,12
	3	20,41	21,78	22,61
	4	25,63	26,42	27,39
	5	23,70	24,55	25,21
Rata-rata ± SD		23,05±2,621	23,89±2,523	25,03±2,473
III	1	24,48	24,82	25,81
	2	23,86	24,22	25,31
	3	24,32	25,04	26,12
	4	24,12	24,93	25,13
	5	25,56	26,30	27,15
Rata-rata ± SD		24,47±0,653	25,06±0,761	25,90±0,7999
IV	1	28,12	Mati	Mati
	2	27,11	28,18	28,94
	3	26,20	28,15	29,33
	4	28,15	Mati	Mati
	5	28,72	Mati	Mati
Rata-rata ± SD		27,66±1,001	28,16±0,021	29,13±0,276
IV	1	19,26	20,46	21,82
	2	24,20	25,39	26,14
	3	24,75	25,34	26,88
	4	25,20	Mati	Mati
	5	24,38	Mati	Mati
Rata-rata ± SD		23,56±2,433	23,73±2,832	24,95±2,733

Lampiran 14. Hasil rata-rata penimbangan berat organ mencit putih betina

Kelompok	No hewan uji	Usus	Lambung	Hati	Ginjal	Jantung
Kontrol negatif	1	2,33	0,73	0,26	0,23	0,05
	2	2,59	0,88	0,48	0,24	0,06
	3	2,98	1,27	1,34	0,37	0,09
	4	2,88	1,24	1,29	0,34	0,08
	5	2,86	1,21	1,26	0,33	0,08
Rata-rata ± SD		2,73±0,26	1,07±0,24	0,93±0,51	0,30±0,06	0,07±0,02
I	1	3,66	1,32	1,49	0,44	0,15
	2	2,57	0,86	0,47	0,22	0,09
	3	2,62	0,92	0,71	0,26	0,12
	4	2,49	0,84	0,44	0,25	0,07
	5	2,48	0,82	0,36	0,25	0,07
Rata-rata ± SD		2,76±0,50	0,95±0,21	0,69±0,46	0,28±0,09	0,1±0,03
II	1	2,34	0,64	0,26	0,23	0,08
	2	2,06	1,26	1,36	0,37	0,10
	3	2,38	1,27	0,55	0,30	0,08
	4	3,21	1,30	1,39	0,28	0,11
	5	2,65	0,94	0,73	0,39	0,09
Rata-rata ± SD		2,53±0,43	1,08±0,29	0,86±0,50	0,31±0,07	0,09±0,01
III	1	2,87	1,23	1,27	0,34	0,08
	2	2,68	0,95	0,95	0,30	0,06
	3	2,84	1,20	1,22	0,33	0,07
	4	2,77	0,97	1,12	0,32	0,06
	5	3,17	1,29	1,38	0,39	0,11
Rata-rata ± SD		2,87±0,18	1,13±0,16	1,19±0,16	0,34±0,03	0,08±0,02
IV	1	3,12	1,34	0,51	0,38	0,08
	2	3,33	1,36	1,44	0,42	0,08
	3	3,49	0,87	1,23	0,40	0,11
	4	3,27	0,99	1,55	0,31	0,06
	5	2,93	1,38	1,47	0,38	0,14
Rata-rata ± SD		3,23±0,21	1,19±0,24	1,24±0,42	0,38±0,08	0,09±0,03
V	1	2,32	0,43	0,24	0,21	0,04
	2	2,79	0,99	1,18	0,32	0,07
	3	2,91	1,24	1,29	0,36	0,09
	4	2,98	1,26	1,31	0,36	0,08
	5	2,86	1,21	1,23	0,33	0,07
Rata-rata ± SD		2,77±0,26	1,03±0,35	1,05±0,46	0,32±0,06	0,07 ±0,02

Lampiran 15. Hasil rata-rata perhitungan indeks berat organ mencit putih betina

Indeks berat organ mencit (%)

Kelompok	No hewan uji	Usus	Lambung	Hati	Ginjal	Jantung
Kontrol negatif	1	0,1048	0,0328	0,0117	0,0103	0,0022
	2	0,1114	0,0379	0,0207	0,0103	0,0026
	3	0,1088	0,0463	0,0489	0,0135	0,0033
	4	0,1108	0,0477	0,0497	0,0131	0,0031
	5	0,1086	0,0459	0,0479	0,0125	0,0030
Rata-rata ± SD		0,1089±0,0026	0,0421±0,0065	0,0356±0,0182	0,0119±0,0015	0,0142±0,0004
I	1	0,1275	0,0460	0,0520	0,0153	0,0052
	2	0,1126	0,0377	0,0206	0,0096	0,0040
	3	0,1085	0,0381	0,0294	0,0108	0,0050
	4	0,1084	0,0366	0,0192	0,0109	0,0030
	5	0,1015	0,0366	0,0147	0,0103	0,0029
Rata-rata ± SD		0,1117±0,0097	0,039±0,0045	0,0272±0,0149	0,0114±0,0022	0,0043±0,0012
II	1	0,1092	0,0299	0,0121	0,0107	0,0037
	2	0,1172	0,0482	0,0521	0,0142	0,0038
	3	0,1053	0,0562	0,0243	0,0133	0,0035
	4	0,1172	0,0475	0,0507	0,0102	0,0040
	5	0,1051	0,0373	0,0290	0,0155	0,0036
Rata-rata ± SD		0,1108±0,0061	0,0438±0,0103	0,0336±0,0173	0,01280±0,0023	0,0037±0,0002
III	1	0,1112	0,0477	0,0492	0,0132	0,0031
	2	0,1059	0,0375	0,0375	0,0119	0,0024
	3	0,1088	0,0459	0,0467	0,0126	0,0027
	4	0,1102	0,0386	0,0446	0,0127	0,0024
	5	0,1168	0,0475	0,0508	0,0144	0,0041
Rata-rata ± SD		0,1105±0,0041	0,0434±0,0049	0,0458±0,0052	0,029±0,0009	0,0029±0,0007
IV	1	0,1109	0,0478	0,0181	0,0135	0,0028
	2	0,1151	0,0469	0,0497	0,0145	0,0028
	3	0,1189	0,0297	0,0419	0,0136	0,0037
	4	0,1162	0,0352	0,0551	0,0110	0,0021
	5	0,1020	0,0480	0,0512	0,0132	0,0049
Rata-rata ± SD		0,1126±0,0066	0,0415±0,0091	0,0432±0,0148	0,0132±0,0013	0,0029±0,0011
V	1	0,1106	0,0197	0,0120	0,0101	0,0018
	2	0,1067	0,0379	0,0451	0,0122	0,0027
	3	0,1083	0,0461	0,0480	0,0134	0,0033
	4	0,1183	0,05	0,0520	0,0143	0,0032
	5	0,1173	0,0496	0,0541	0,0135	0,0029
Rata-rata ± SD		0,1122±0,0052	0,0407±0,0127	0,0422±0,0173	0,0127±0,0016	0,0028±0,0006

Lampiran 16. Contoh perhitungan indeks massa organ mencit

$$\text{Rumus indeks massa organ} = \frac{\text{Berat organ (gram)}}{\text{Berat badan (gram)}} \times 100\%$$

Mencit no.1 kelompok I (ekstrak etanol daun bayam duri 5 mg/kgBB)

- Usus $= \frac{3,66 \text{ gram}}{28,71 \text{ gram}} \times 100\% = 0.1275 \%$
- Lambung $= \frac{1,32 \text{ gram}}{28,71 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0460 \%$
- Hati $= \frac{1,49 \text{ gram}}{28,71 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0520 \%$
- Ginjal $= \frac{0,44 \text{ gram}}{28,71 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0153 \%$
- Jantung $= \frac{0,15 \text{ gram}}{28,71 \text{ gram}} \times 100\% = 0.0052 \%$

Lampiran 17. Pengamatan gejala toksisitas

❖ Grooming

Kelompok	No. Hewan uji	Jam pengamatan						
		Jam ke-0	Jam ke-0.5	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-4	Jam ke-6	Jam ke-24
Kontrol negatif	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I	1	-	-	√	-	-	-	-
	2	-	-	√	-	-	-	-
	3	-	-	√	-	-	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	-	-	√	-	-	-
Dosis II	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	√	-	-	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	-	√	-	√	-	-
Dosis III	1	-	-	-	√	-	-	-
	2	-	-	-	√	√	-	-
	3	-	-	-	√	√	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	-	-	√	√	-	-
Dosis IV	1	-	√	-	√	-	-	-
	2	-	√	-	-	√	-	-
	3	-	-	√	-	√	-	-
	4	-	-	√	-	√	-	-
	5	-	√	-	-	√	-	-
Dosis V	1	-	-	-	-	√	-	-
	2	-	-	-	-	√	-	-
	3	-	-	-	-	√	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	-	√	√	-	-	-

Keterangan : √ = mengalami kejadian toksisitas
 - = tidak mengalami kejadian toksisitas

Lampiran 18. Pengamatan gejala toksisitas

❖ Ptosis

Kelompok	No. Hewan uji	Jam pengamatan						
		Jam ke-0	Jam ke-0.5	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-4	Jam ke-6	Jam ke-24
Kontrol negatif	1	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I	1	-	-	-	-	√	-	-
	2	-	√	-	√	-	-	-
	3	-	-	-	√	√	-	-
	4	-	-	-	√	-	-	√
	5	-	-	-	√	√	-	-
Dosis II	1	-	-	√	-	-	√	-
	2	-	-	-	-	√	√	-
	3	-	-	-	-	-	√	-
	4	-	-	-	-	√	-	-
	5	-	-	-	-	√	-	-
Dosis III	1	-	-	√	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	√	-	-
	3	-	-	-	√	√	-	√
	4	-	-	√	-	-	-	-
	5	-	-	√	-	-	-	√
Dosis IV	1	-	-	√	-	√	-	-
	2	-	√	-	√	-	-	-
	3	-	-	-	√	√	-	-
	4	-	-	√	-	-	-	√
	5	-	-	√	√	-	-	√
Dosis V	1	-	√	-	√	-	-	-
	2	-	-	-	√	-	-	√
	3	-	-	√	√	-	-	√
	4	-	√	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	√	-	-	√

Keterangan : √ = mengalami kejadian toksisitas
 - = tidak mengalami kejadian toksisitas

Lampiran 19. Uji statistik indeks organ

Oneway

Usus

Descriptives

organUSUS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
CMC	5	.108880	.0025869	.0011569	.105668	.112092	.1048	.1114
5 mg/kgBB	5	.111700	.0096905	.0043337	.099668	.123732	.1015	.1275
50 mg/kgBB	5	.110800	.0060667	.0027131	.103267	.118333	.1051	.1172
300 mg/kgBB	5	.110580	.0040090	.0017929	.105602	.115558	.1059	.1168
2000 mg/kgBB	5	.112620	.0065983	.0029508	.104427	.120813	.1020	.1189
5000 mg/kgBB	5	.112240	.0052733	.0023583	.105692	.118788	.1067	.1183
Total	30	.111137	.0057100	.0010425	.109005	.113269	.1015	.1275

Test of Homogeneity of Variances

organUSUS

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.379	5	24	.267

ANOVA

organUSUS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	.247	.937
Within Groups	.001	24	.000		
Total	.001	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: organUSUS

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC	5 mg/kgBB	-.0028200	.0038714	.976	-.014790	.009150
	50 mg/kgBB	-.0019200	.0038714	.996	-.013890	.010050
	300 mg/kgBB	-.0017000	.0038714	.998	-.013670	.010270
	2000 mg/kgBB	-.0037400	.0038714	.924	-.015710	.008230
	5000 mg/kgBB	-.0033600	.0038714	.951	-.015330	.008610
5 mg/kgBB	CMC	.0028200	.0038714	.976	-.009150	.014790
	50 mg/kgBB	.0009000	.0038714	1.000	-.011070	.012870
	300 mg/kgBB	.0011200	.0038714	1.000	-.010850	.013090
	2000 mg/kgBB	-.0009200	.0038714	1.000	-.012890	.011050
	5000 mg/kgBB	-.0005400	.0038714	1.000	-.012510	.011430
50 mg/kgBB	CMC	.0019200	.0038714	.996	-.010050	.013890
	5 mg/kgBB	-.0009000	.0038714	1.000	-.012870	.011070
	300 mg/kgBB	.0002200	.0038714	1.000	-.011750	.012190
	2000 mg/kgBB	-.0018200	.0038714	.997	-.013790	.010150
	5000 mg/kgBB	-.0014400	.0038714	.999	-.013410	.010530
300 mg/kgBB	CMC	.0017000	.0038714	.998	-.010270	.013670
	5 mg/kgBB	-.0011200	.0038714	1.000	-.013090	.010850
	50 mg/kgBB	-.0002200	.0038714	1.000	-.012190	.011750
	2000 mg/kgBB	-.0020400	.0038714	.995	-.014010	.009930
	5000 mg/kgBB	-.0016600	.0038714	.998	-.013630	.010310
2000 mg/kgBB	CMC	.0037400	.0038714	.924	-.008230	.015710
	5 mg/kgBB	.0009200	.0038714	1.000	-.011050	.012890
	50 mg/kgBB	.0018200	.0038714	.997	-.010150	.013790
	300 mg/kgBB	.0020400	.0038714	.995	-.009930	.014010
	5000 mg/kgBB	.0003800	.0038714	1.000	-.011590	.012350
5000 mg/kgBB	CMC	.0033600	.0038714	.951	-.008610	.015330
	5 mg/kgBB	.0005400	.0038714	1.000	-.011430	.012510
	50 mg/kgBB	.0014400	.0038714	.999	-.010530	.013410
	300 mg/kgBB	.0016600	.0038714	.998	-.010310	.013630
	2000 mg/kgBB	-.0003800	.0038714	1.000	-.012350	.011590

Homogeneous Subsets

organUSUS

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
CMC	5	.108880
300 mg/kgBB	5	.110580
50 mg/kgBB	5	.110800
5 mg/kgBB	5	.111700
5000 mg/kgBB	5	.112240
2000 mg/kgBB	5	.112620
Sig.		.924

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
organUSUS	30	.111137	.0057100	.1015	.1275

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		organUSUS
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.111137
	Std. Deviation	.0057100
Most Extreme Differences	Absolute	.148
	Positive	.148
	Negative	-.079
Kolmogorov-Smirnov Z		.812
Asymp. Sig. (2-tailed)		.525

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Lambung

Descriptives

ORGANLAMBUNG

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
CMC	5	.042120	.0064724	.0028945	.034083	.050157	.0328	.0477
5 mg/kgBB	5	.039000	.0039693	.0017751	.034072	.043928	.0366	.0460
50 mg/kgBB	5	.043820	.0102746	.0045949	.031062	.056578	.0299	.0562
300 mg/kgBB	5	.043440	.0049848	.0022293	.037251	.049629	.0375	.0477
2000 mg/kgBB	5	.041520	.0085151	.0038081	.030947	.052093	.0297	.0480
5000 mg/kgBB	5	.040660	.0126855	.0056731	.024909	.056411	.0197	.0500
Total	30	.041760	.0078044	.0014249	.038846	.044674	.0197	.0562

Test of Homogeneity of Variances

ORGANLAMBUNG

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.107	5	24	.100

ANOVA

ORGANLAMBUNG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	.229	.946
Within Groups	.002	24	.000		
Total	.002	29			

Post Hoc Test**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: ORGANLAMBUNG

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC	5 mg/kgBB	.0031200	.0053009	.991	-.013270	.019510
	50 mg/kgBB	-.0017000	.0053009	.999	-.018090	.014690
	300 mg/kgBB	-.0013200	.0053009	1.000	-.017710	.015070
	2000 mg/kgBB	.0006000	.0053009	1.000	-.015790	.016990
	5000 mg/kgBB	.0014600	.0053009	1.000	-.014930	.017850
5 mg/kgBB	CMC	-.0031200	.0053009	.991	-.019510	.013270
	50 mg/kgBB	-.0048200	.0053009	.940	-.021210	.011570
	300 mg/kgBB	-.0044400	.0053009	.957	-.020830	.011950
	2000 mg/kgBB	-.0025200	.0053009	.997	-.018910	.013870
	5000 mg/kgBB	-.0016600	.0053009	1.000	-.018050	.014730
50 mg/kgBB	CMC	.0017000	.0053009	.999	-.014690	.018090
	5 mg/kgBB	.0048200	.0053009	.940	-.011570	.021210
	300 mg/kgBB	.0003800	.0053009	1.000	-.016010	.016770
	2000 mg/kgBB	.0023000	.0053009	.998	-.014090	.018690
	5000 mg/kgBB	.0031600	.0053009	.990	-.013230	.019550
300 mg/kgBB	CMC	.0013200	.0053009	1.000	-.015070	.017710
	5 mg/kgBB	.0044400	.0053009	.957	-.011950	.020830
	50 mg/kgBB	-.0003800	.0053009	1.000	-.016770	.016010
	2000 mg/kgBB	.0019200	.0053009	.999	-.014470	.018310
	5000 mg/kgBB	.0027800	.0053009	.995	-.013610	.019170
2000 mg/kgBB	CMC	-.0006000	.0053009	1.000	-.016990	.015790
	5 mg/kgBB	.0025200	.0053009	.997	-.013870	.018910
	50 mg/kgBB	-.0023000	.0053009	.998	-.018690	.014090
	300 mg/kgBB	-.0019200	.0053009	.999	-.018310	.014470
	5000 mg/kgBB	.0008600	.0053009	1.000	-.015530	.017250
5000 mg/kgBB	CMC	-.0014600	.0053009	1.000	-.017850	.014930
	5 mg/kgBB	.0016600	.0053009	1.000	-.014730	.018050
	50 mg/kgBB	-.0031600	.0053009	.990	-.019550	.013230
	300 mg/kgBB	-.0027800	.0053009	.995	-.019170	.013610
	2000 mg/kgBB	-.0008600	.0053009	1.000	-.017250	.015530

Homogeneous Subsets

ORGANLAMBUNG

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
5 mg/kgBB	5	.039000
5000 mg/kgBB	5	.040660
2000 mg/kgBB	5	.041520
CMC	5	.042120
300 mg/kgBB	5	.043440
50 mg/kgBB	5	.043820
Sig.		.940

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ORGANLAMBUNG	30	.041760	.0078044	.0197	.0562

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ORGANLAMBUNG
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.041760
	Std. Deviation	.0078044
	Absolute	.235
Most Extreme Differences	Positive	.124
	Negative	-.235
Kolmogorov-Smirnov Z		1.290
Asymp. Sig. (2-tailed)		.072

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Hati

Descriptives

ORGANHATI

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
CMC	5	.035780	.0181662	.0081242	.013224	.058336	.0117	.0497
5 mg/kgBB	5	.027180	.0148634	.0066471	.008725	.045635	.0147	.0520
50 mg/kgBB	5	.033640	.0173533	.0077606	.012093	.055187	.0121	.0521
300 mg/kgBB	5	.045760	.0051887	.0023205	.039317	.052203	.0375	.0508
2000 mg/kgBB	5	.043200	.0148287	.0066316	.024788	.061612	.0181	.0551
5000 mg/kgBB	5	.042240	.0172607	.0077192	.020808	.063672	.0120	.0541
Total	30	.037967	.0153336	.0027995	.032241	.043692	.0117	.0551

Test of Homogeneity of Variances

ORGANHATI

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.461	5	24	.239

ANOVA

ORGANHATI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	5	.000	1.058	.408
Within Groups	.006	24	.000		
Total	.007	29			

Post Hoc Test**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: ORGANHATI

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC	5 mg/kgBB	.0086000	.0096499	.945	-.021237	.038437
	50 mg/kgBB	.0021400	.0096499	1.000	-.027697	.031977
	300 mg/kgBB	-.0099800	.0096499	.902	-.039817	.019857
	2000 mg/kgBB	-.0074200	.0096499	.970	-.037257	.022417
	5000 mg/kgBB	-.0064600	.0096499	.984	-.036297	.023377
5 mg/kgBB	CMC	-.0086000	.0096499	.945	-.038437	.021237
	50 mg/kgBB	-.0064600	.0096499	.984	-.036297	.023377
	300 mg/kgBB	-.0185800	.0096499	.412	-.048417	.011257
	2000 mg/kgBB	-.0160200	.0096499	.569	-.045857	.013817
	5000 mg/kgBB	-.0150600	.0096499	.631	-.044897	.014777
50 mg/kgBB	CMC	-.0021400	.0096499	1.000	-.031977	.027697
	5 mg/kgBB	.0064600	.0096499	.984	-.023377	.036297
	300 mg/kgBB	-.0121200	.0096499	.805	-.041957	.017717
	2000 mg/kgBB	-.0095600	.0096499	.916	-.039397	.020277
	5000 mg/kgBB	-.0086000	.0096499	.945	-.038437	.021237
300 mg/kgBB	CMC	.0099800	.0096499	.902	-.019857	.039817
	5 mg/kgBB	.0185800	.0096499	.412	-.011257	.048417
	50 mg/kgBB	.0121200	.0096499	.805	-.017717	.041957
	2000 mg/kgBB	.0025600	.0096499	1.000	-.027277	.032397
	5000 mg/kgBB	.0035200	.0096499	.999	-.026317	.033357
2000 mg/kgBB	CMC	.0074200	.0096499	.970	-.022417	.037257
	5 mg/kgBB	.0160200	.0096499	.569	-.013817	.045857
	50 mg/kgBB	.0095600	.0096499	.916	-.020277	.039397
	300 mg/kgBB	-.0025600	.0096499	1.000	-.032397	.027277
	5000 mg/kgBB	.0009600	.0096499	1.000	-.028877	.030797
5000 mg/kgBB	CMC	.0064600	.0096499	.984	-.023377	.036297
	5 mg/kgBB	.0150600	.0096499	.631	-.014777	.044897
	50 mg/kgBB	.0086000	.0096499	.945	-.021237	.038437
	300 mg/kgBB	-.0035200	.0096499	.999	-.033357	.026317
	2000 mg/kgBB	-.0009600	.0096499	1.000	-.030797	.028877

Homogeneous Subsets

ORGANHATI

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
5 mg/kgBB	5	.027180	
50 mg/kgBB	5	.033640	
CMC	5	.035780	
5000 mg/kgBB	5	.042240	
2000 mg/kgBB	5	.043200	
300 mg/kgBB	5	.045760	
Sig.		.412	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ORGANHATI	30	.037967	.0153336	.0117	.0551

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ORGANHATI
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.037967
	Std. Deviation	.0153336
	Absolute	.234
Most Extreme Differences	Positive	.137
	Negative	-.234
Kolmogorov-Smirnov Z		1.282
Asymp. Sig. (2-tailed)		.075

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Ginjal

Descriptives

ORGANGINJAL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
CMC	5	.011940	.0015388	.0006882	.010029	.013851	.0103	.0135
5 mg/kgBB	5	.011380	.0022510	.0010067	.008585	.014175	.0096	.0153
50 mg/kgBB	5	.012780	.0022731	.0010166	.009958	.015602	.0102	.0155
300 mg/kgBB	5	.012960	.0009290	.0004155	.011807	.014113	.0119	.0144
2000 mg/kgBB	5	.013160	.0013012	.0005819	.011544	.014776	.0110	.0145
5000 mg/kgBB	5	.012700	.0016355	.0007314	.010669	.014731	.0101	.0143
Total	30	.012487	.0016917	.0003089	.011855	.013118	.0096	.0155

Test of Homogeneity of Variances

ORGANGINJAL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.195	5	24	.341

ANOVA

ORGANGINJAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	.785	.571
Within Groups	.000	24	.000		
Total	.000	29			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ORGANGINJAL

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC	5 mg/kgBB	.0005600	.0010904	.995	-.002811	.003931
	50 mg/kgBB	-.0008400	.0010904	.970	-.004211	.002531
	300 mg/kgBB	-.0010200	.0010904	.933	-.004391	.002351
	2000 mg/kgBB	-.0012200	.0010904	.869	-.004591	.002151
	5000 mg/kgBB	-.0007600	.0010904	.981	-.004131	.002611
5 mg/kgBB	CMC	-.0005600	.0010904	.995	-.003931	.002811
	50 mg/kgBB	-.0014000	.0010904	.791	-.004771	.001971
	300 mg/kgBB	-.0015800	.0010904	.698	-.004951	.001791
	2000 mg/kgBB	-.0017800	.0010904	.586	-.005151	.001591
	5000 mg/kgBB	-.0013200	.0010904	.827	-.004691	.002051
50 mg/kgBB	CMC	.0008400	.0010904	.970	-.002531	.004211
	5 mg/kgBB	.0014000	.0010904	.791	-.001971	.004771
	300 mg/kgBB	-.0001800	.0010904	1.000	-.003551	.003191
	2000 mg/kgBB	-.0003800	.0010904	.999	-.003751	.002991
	5000 mg/kgBB	.0000800	.0010904	1.000	-.003291	.003451
300 mg/kgBB	CMC	.0010200	.0010904	.933	-.002351	.004391
	5 mg/kgBB	.0015800	.0010904	.698	-.001791	.004951
	50 mg/kgBB	.0001800	.0010904	1.000	-.003191	.003551
	2000 mg/kgBB	-.0002000	.0010904	1.000	-.003571	.003171
	5000 mg/kgBB	.0002600	.0010904	1.000	-.003111	.003631
2000 mg/kgBB	CMC	.0012200	.0010904	.869	-.002151	.004591
	5 mg/kgBB	.0017800	.0010904	.586	-.001591	.005151
	50 mg/kgBB	.0003800	.0010904	.999	-.002991	.003751
	300 mg/kgBB	.0002000	.0010904	1.000	-.003171	.003571
	5000 mg/kgBB	.0004600	.0010904	.998	-.002911	.003831
5000 mg/kgBB	CMC	.0007600	.0010904	.981	-.002611	.004131
	5 mg/kgBB	.0013200	.0010904	.827	-.002051	.004691
	50 mg/kgBB	-.0000800	.0010904	1.000	-.003451	.003291
	300 mg/kgBB	-.0002600	.0010904	1.000	-.003631	.003111
	2000 mg/kgBB	-.0004600	.0010904	.998	-.003831	.002911

Homogeneous Subsets

ORGANGINJAL

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
5 mg/kgBB	5	.011380
CMC	5	.011940
5000 mg/kgBB	5	.012700
50 mg/kgBB	5	.012780
300 mg/kgBB	5	.012960
2000 mg/kgBB	5	.013160
Sig.		.586

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ORGANGINJAL	30	.012487	.0016917	.0096	.0155

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ORGANGINJAL
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.012487
	Std. Deviation	.0016917
	Absolute	.144
Most Extreme Differences	Positive	.144
	Negative	-.142
Kolmogorov-Smirnov Z		.786
Asymp. Sig. (2-tailed)		.566

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Jantung

Descriptives

ORGANJANTUNG

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
CMC	5	.002840	.0004393	.0001965	.002295	.003385	.0022	.0033
5 mg/kgBB	5	.004020	.0010780	.0004821	.002682	.005358	.0029	.0052
50 mg/kgBB	5	.003720	.0001924	.0000860	.003481	.003959	.0035	.0040
300 mg/kgBB	5	.002940	.0007092	.0003172	.002059	.003821	.0024	.0041
2000 mg/kgBB	5	.003260	.0010784	.0004823	.001921	.004599	.0021	.0049
5000 mg/kgBB	5	.002780	.0005975	.0002672	.002038	.003522	.0018	.0033
Total	30	.003260	.0008336	.0001522	.002949	.003571	.0018	.0052

Test of Homogeneity of Variances

ORGANJANTUNG

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.744	5	24	.043

ANOVA

ORGANJANTUNG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	2.281	.079
Within Groups	.000	24	.000		
Total	.000	29			

Post Hoc Test**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: ORGANJANTUNG

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC	5 mg/kgBB	-.0011800	.0004771	.172	-.002655	.000295
	50 mg/kgBB	-.0008800	.0004771	.458	-.002355	.000595
	300 mg/kgBB	-.0001000	.0004771	1.000	-.001575	.001375
	2000 mg/kgBB	-.0004200	.0004771	.948	-.001895	.001055
	5000 mg/kgBB	.0000600	.0004771	1.000	-.001415	.001535
5 mg/kgBB	CMC	.0011800	.0004771	.172	-.000295	.002655
	50 mg/kgBB	.0003000	.0004771	.988	-.001175	.001775
	300 mg/kgBB	.0010800	.0004771	.247	-.000395	.002555
	2000 mg/kgBB	.0007600	.0004771	.611	-.000715	.002235
	5000 mg/kgBB	.0012400	.0004771	.136	-.000235	.002715
50 mg/kgBB	CMC	.0008800	.0004771	.458	-.000595	.002355
	5 mg/kgBB	-.0003000	.0004771	.988	-.001775	.001175
	300 mg/kgBB	.0007800	.0004771	.585	-.000695	.002255
	2000 mg/kgBB	.0004600	.0004771	.925	-.001015	.001935
	5000 mg/kgBB	.0009400	.0004771	.387	-.000535	.002415
300 mg/kgBB	CMC	.0001000	.0004771	1.000	-.001375	.001575
	5 mg/kgBB	-.0010800	.0004771	.247	-.002555	.000395
	50 mg/kgBB	-.0007800	.0004771	.585	-.002255	.000695
	2000 mg/kgBB	-.0003200	.0004771	.984	-.001795	.001155
	5000 mg/kgBB	.0001600	.0004771	.999	-.001315	.001635
2000 mg/kgBB	CMC	.0004200	.0004771	.948	-.001055	.001895
	5 mg/kgBB	-.0007600	.0004771	.611	-.002235	.000715
	50 mg/kgBB	-.0004600	.0004771	.925	-.001935	.001015
	300 mg/kgBB	.0003200	.0004771	.984	-.001155	.001795
	5000 mg/kgBB	.0004800	.0004771	.911	-.000995	.001955
5000 mg/kgBB	CMC	-.0000600	.0004771	1.000	-.001535	.001415
	5 mg/kgBB	-.0012400	.0004771	.136	-.002715	.000235
	50 mg/kgBB	-.0009400	.0004771	.387	-.002415	.000535
	300 mg/kgBB	-.0001600	.0004771	.999	-.001635	.001315
	2000 mg/kgBB	-.0004800	.0004771	.911	-.001955	.000995

Homogeneous Subsets

ORGANJANTUNG

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
5000 mg/kgBB	5	.002780
CMC	5	.002840
300 mg/kgBB	5	.002940
2000 mg/kgBB	5	.003260
50 mg/kgBB	5	.003720
5 mg/kgBB	5	.004020
Sig.		.136

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ORGANJANTUNG	30	.003260	.0008336	.0018	.0052

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ORGANJANTUNG
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.003260
	Std. Deviation	.0008336
	Absolute	.114
Most Extreme Differences	Positive	.114
	Negative	-.075
Kolmogorov-Smirnov Z		.625
Asymp. Sig. (2-tailed)		.829

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

