

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA
(*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) DENGAN PARAMETER BUN,
KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL
PADA TIKUS GALUR WISTAR**



Oleh :

**Ika Fatikhatun Nasikha
20144130A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA
(*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) DENGAN PARAMETER BUN,
KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL
PADA TIKUS GALUR WISTAR**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Ika Fatikhatun Nasikha
20144130A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (*Pometia pinnata* J. R & G. Forst) DENGAN PARAMETER BUN, KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS GALUR WISTAR

Oleh :

Ika Fatikhatun Nasikha
20144130A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 29 Juni 2018



Dekan,

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

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

Pembimbing,

Tri Wijayanti, S.Farm, MPH., Apt

Pembimbing Pendamping,

Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Dr. Rina Herowati, M. Si., Apt
2. Mamik Ponco Rahayu, M. Si., Apt
3. Sri Rejeki Handayani, M. Farm., Apt
4. Tri Wijayanti, S. Farm, MPH., Apt

1.

3.

2.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap
(Q.S Al-Insyirah: 6-8)

“Man Jadda Wajada, Man Shabara Zhafira & Man Sara Ala Darbi Washala”
“Siapa yang bersungguh-sungguh pasti berhasil, siapa yang sabar pasti beruntung & siapa menapaki jalan-Nya akan sampai ke tujuan”

Bismillahirrohmanirrohim, skripsi ini saya persembahkan untuk :

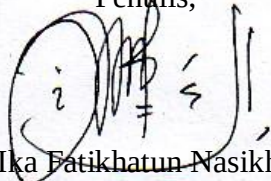
- Yang utama dan paling utama Allah SWT yang telah memberikan kekuatan, kesehatan rohmah serta ridhoNYA untuk menyelesaikan proses Tolabul ‘Ilmi dengan ditutup dengan karya skripsi ini.
- Abah, umy, dan kedua adik tercinta, serta keluarga besar H. Jaenudin dan Sutaryo yang selalu menyempatkan, menyelipkan doa untukku agar aku dapat meraih segala mimpiku sehingga kelak dapat bermanfaat untuk diri sendiri dan orang lain.
- Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., dan Tri Wijayanti, S.Farm, MPH., Apt Apt selaku dosen pembimbing yang selalu membimbing serta memberikan motivasi, ilmu serta masukan sehingga skripsi ini selesai.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 24 Mei 2018

Penulis,

Ika Fatikhatun Nasikha

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (*Pometia pinnata* J. R & G. Forst) DENGAN PARAMETER BUN, KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS GALUR WISTAR** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Strata 1 pada Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak, baik material maupun spiritual. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Tri Wijayanti, S.Farm, MPH., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk, bimbingan, nasehat dan motivasi kepada penulis selama penelitian sehingga dapat terlaksana dengan baik.
4. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga skripsi ini selesai.
5. Dr. Rina Herowati., M.Si., Apt, Dr. Wiwin Herdwiani., M.Sc., Apt, Mamik Ponco Rahayu., M.Si., Apt dan Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt. yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan saran dan kritik demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Dosen pembimbing akademik, Ibu Nur Aini Dewi Purnamasari, S.Farm., M.Sc. yang selalu membimbing dan mengarahkan sejak pertama kuliah hingga selesai.
7. Segenap Dosen pengajar, karyawan, dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

8. Para sahabat khususnya Bagus Abi, Venindya, Miraziza, Jennida, Rostika, Rosita, Fajar, Satria, Hilda CS serta seluruh teman-teman S1 Farmasi USB angkatan 2014 atas dukungan dan semangatnya.
9. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu. Terimakasih.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas semua bantuan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan almamater tercinta.

Surakarta, 10 Juli 2018

Penulis

Ika Fatikhatun Nasikha

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Matoa	5
1. Sistematika dan nama tanaman	5
2. Nama daerah	5
3. Morfologi tanaman	5
4. Kegunaan tanaman	6
5. Kandungan kimia	6
5.1 Flavonoid	6
5.2 Saponin	6
5.3 Tanin	7
B. Simplisia	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pengumpulan bahan baku simplisia	7
3. Pengeringan simplisia	7
4. Penyimpanan	8

C. Ekstrak.....	8
1. Pengertian ekstrak dan ekstraksi	8
2. Metode ekstraksi.....	8
2.1 Maserasi.....	8
2.2 Sokletasi.....	9
2.3 Refluks.....	9
3. Pelarut.....	9
D. Uji Toksisitas	9
1. Pengujian toksisitas	9
1.1 Uji toksisitas akut oral.....	10
1.2 Uji toksisitas subkronik oral	10
1.3 Uji toksisitas kronik oral	10
2. Uji toksisitas subkronik oral 90 hari	11
2.1 Jenis dan jumlah hewan uji.....	11
2.2 Dosis uji dan batas uji	11
2.3 Penyiapan dan waktu pemberian sediaan uji	12
2.4 Cara dan volume pemberian sediaan uji	12
2.5 Pengamatan toksisitas.....	12
2.6 Monitoring berat badan dan konsumsi pakan	13
2.7 Pengambilan darah	13
2.8 Pemeriksaan biokimia klinis	13
2.9 Penimbangan organ.....	13
2.10 Pemeriksaan histopatologi	14
E. Hewan Uji.....	14
1. Sistematika hewan uji.....	14
2. Karakteristik utama tikus	14
3. Pengambilan dan penanganan.....	15
4. Perlakuan	15
5. Pengambilan darah	15
6. Tindakan mematikan hewan percobaan	15
7. Tindakan memusnahkan jasad hewan uji	16
F. Organ Ginjal	16
1. Fungsi ginjal.....	16
2. Anatomi dan fisiologi ginjal	16
3. Gangguan ginjal	17
4. <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN)	18
5. Kreatinin	20
G. Histologi dan Histopatologi Ginjal	21
1. Histologi	21
2. Histopatologi.....	21
3. Gambaran histopatologi ginjal	21
H. Landasan Teori.....	22
I. Kerangka Pikiran.....	24
J. Hipotesis	25

BAB III	METODE PENELITIAN	26
A.	Populasi dan Sampel	26
B.	Variabel Penelitian	26
1.	Identifikasi variabel utama	26
2.	Klasifikasi variabel utama	26
3.	Definisi operasional variabel utama	27
C.	Bahan, Alat dan Hewan Uji	28
1.	Bahan	28
1.1	Bahan sampel	28
1.2	Bahan kimia	28
2.	Alat	28
3.	Hewan uji	28
D.	Metode Percobaan	29
1.	Determinasi tanaman	29
2.	Pengambilan bahan	29
3.	Pembuatan serbuk	29
4.	Pembuatan ekstrak etanol daun matoa	29
5.	Penetapan kadar air serbuk daun matoa	30
6.	Penetapan susut pengeringan	30
7.	Tes bebas etanol ekstrak daun matoa	31
8.	Pembuatan larutan suspensi CMC Na 0,5%	31
9.	Identifikasi kualitatif	31
9.1	Identifikasi flavonoid	31
9.2	Identifikasi saponin	31
9.3	Identifikasi tanin	31
10.	Prosedur toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa	32
10.1	Penetapan hewan uji	32
10.2	Penetapan dosis dan lama pemberian	32
10.3	Monitoring berat badan	32
10.4	Pengamatan gejala toksik	32
10.5	Pengambilan darah	33
10.6	Pemeriksaan kadar kreatinin	33
10.7	Pemeriksaan kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN).	33
10.8	Penimbangan organ	34
10.9	Tindakan mematikan hewan.	34
10.10	Pengamatan makropatologi	34
10.11	Pemeriksaan histopatologi	34
E.	Analisis Data	36
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A.	Tanaman Matoa	38
1.	Determinasi tanaman matoa	38
2.	Pengambilan sampel, pengeringan dan pembuatan serbuk	38
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk	38
4.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia	39

5.	Hasil penetapan kadar air.....	40
6.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun matoa.....	40
7.	Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun matoa.....	41
B.	Hasil Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Daun Matoa	41
1.	Persiapan hewan uji.....	41
2.	Perhitungan dosis uji	41
3.	Pengamatan gastrourinari	41
4.	Hasil pemeriksaan kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN)	43
5.	Hasil pemeriksaan kadar kreatinin	47
6.	Hasil pengamatan persen indeks organ relatif dan makropatologi ginjal.....	50
7.	Hasil histopatologi organ ginjal	51
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	56
A.	Kesimpulan.....	56
B.	Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA		57
LAMPIRAN		63

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Anatomi ginjal.....	16
Gambar 2. Mekanisme pembentukan urea	19
Gambar 3. Proses pembentukan kreatinin.....	20
Gambar 4. Gambaran Histopatologi Ginjal.....	22
Gambar 5. Kerangka pikir penelitian.....	24
Gambar 6. Skema pembuatan ekstrak etanol daun matoa.....	30
Gambar 7. Gambaran Makropatologis organ ginjal	34
Gambar 8. Skema uji toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa.....	37
Gambar 9. Grafik volume urin tikus jantan.....	42
Gambar 10. Grafik volume urin tikus betina.....	43
Gambar 11. Grafik kadar BUN jantan	46
Gambar 12. Grafik kadar BUN betina	46
Gambar 13. Grafik kadar kreatinin jantan.....	49
Gambar 14. Grafik kadar kreatinin betina.....	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil rendemen daun matoa.....	38
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan daun matoa	39
Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk dan ekstrak etanol daun matoa.....	39
Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun matoa.....	40
Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak daun matoa.....	40
Tabel 6. Hasil rata-rata volume urin tikus.....	42
Tabel 7. Rata-rata kadar BUN pada tikus	44
Tabel 8. Rata-rata kadar kreatinin pada tikus	47
Tabel 9. Hasil persentase indeks organ dan gambaran makropatologi ginjal pada tikus jantan dan betina di akhir penelitian	50
Tabel 10. Hasil persentase sel pada gambaran histopatologi organ ginjal tikus ...	52
Tabel 11. Hasil rata-rata sel pada gambaran histopatologi organ ginjal tikus	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan	64
Lampiran 2. Perhitungan rendemen berat basah terhadap berat kering daun matoa	65
Lampiran 3. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk	66
Lampiran 4. Perhitungan penetapan kadar air	67
Lampiran 5. Perhitungan rendemen ekstrak.....	68
Lampiran 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun matoa	69
Lampiran 7. Surat keterangan hewan uji.....	70
Lampiran 8. Surat izin etik kehewan.....	71
Lampiran 9. Hewan uji yang digunakan	72
Lampiran 10. Perhitungan penyesuaian dosis dan volume pemberian pada uji toksisitas subkronik	73
Lampiran 11. Penelitian uji toksisitas subkronik.....	74
Lampiran 12. Rata-rata berat badan tiap tikus perminggu	76
Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar BUN.....	77
Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar kreatinin	79
Lampiran 15. Berat organ, indeks organ dan makropatologi organ ginjal diakhir penelitian.....	81
Lampiran 16. Data kematian tikus.....	82
Lampiran 17. Data volume urin tikus	84
Lampiran 18. Pengamatan makropatologi	85
Lampiran 19. Data Pengamatan histopatologi ginjal.....	88
Lampiran 20. Hasil analisis statistik	89
Lampiran 21. Hasil histopatologi organ ginjal	130

INTISARI

NASIKHA, IF., 2018. UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) DENGAN PARAMETER BUN, KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS GALUR WISTAR, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antihipertensi. Penelitian sebelumnya telah dilakukan uji toksisitas akut dengan nilai LD₅₀ >5000 mg/kgbb (praktis tidak toksik). Penelitian ini untuk mengetahui efek toksisitas subkronik terhadap gejala toksik berupa volume urin, kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin, serta histopatologi ginjal tikus.

Ekstrak daun matoa diperoleh dari proses maserasi, diikuti oleh evaporasi menggunakan *rotary evaporator*. Tikus putih galur wistar jantan dan betina masing-masing dibagi menjadi 5 kelompok yang diberikan suspensi CMC Na 0,5%, ekstrak etanol daun matoa 150, 500, dan 1000 mg/kgbb, serta kelompok satelit dosis 1000 mg/kgbb yang diberikan ekstrak daun matoa selama 90 hari dan ditambah 28 hari pada kelompok satelit untuk melihat efek *reversibel*. Pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Pada akhir penelitian hewan uji dikorbankan untuk uji histopatologi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun matoa pada uji toksisitas subkronik 90 hari tidak mempengaruhi volume urin, biokimia darah dan perubahan makropatologi organ ginjal tetapi mempengaruhi perubahan histopatologi ginjal pada dosis 150, 500 dan 1000mg/kgbb.

Kata kunci : Ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst), toksisitas subkronik, biokimia ginjal, histipatologi

ABSTRACT

NASIKHA, IF., 2018. SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF THE EXTRACT LEAVES OF MATOA (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) WITH BIOCHEMICAL PARAMETERS AND HISTOPATHOLOGY OF KIDNEY ON WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*), THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

The leaves of matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) is one of the nutritious plants as antihypertensive. The previous study has a LD₅₀ >5000 mg/kgbw in acute toxicity. This study was to know effect of Subchronic toxicity towards toxic symptoms such as urine volume, biochemical parameters include Blood Urea Nitrogen (BUN) and creatinin level, also kidney histopathology in rats.

The leaves of matoa was extracted by maceration method, followed by evaporation using rotary evaporator. male and female Wistar rats were divided into 5 groups i.e. control CMC Na 0,5%, matoa leaves extract (with doses of 150 mg/kgbw, 500 mg/kgbw, and 1000 mg/kgbw), and control satellite (doses 1000 mg/kgbw) given matoa leaf extract for 90 days and added 28 days in the satellite group to see the reversible effect. BUN and creatinine serum were examined at the beginning and end of the study. At the end of the experimental animal studies were sacrificed for histopathological tests

The results of ethanol extract of matoa leaves on 90 day subchronic toxicity test did not affect the volume of urine, blood biochemistry and macropathological changes in renal organs but did influence renal histopathological changes at doses of 150, 500 and 1000mg / kgbw.

Keywords: Matoa leaf extract (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst), subchronic toxicity, renal biochemistry, histipatology

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hipertensi menjadi satu masalah kesehatan utama bagi masyarakat global. Jumlah kematian di dunia akibat penyakit hipertensi mencapai 9,4 juta kasus per tahun (WHO 2013). Menurut Kemenkes (2013) prevalensi hipertensi di Indonesia pada umur >18 tahun yang di dapat dari pengukuran sebesar 25,8% dan responden yang sedang minum obat hipertensi tetapi mempunyai tekanan darah normal sebesar 0,7%. Jadi prevalensi hipertensi di Indonesia sebesar 26,5%. Kondisi hipertensi yang tidak ditangani dengan baik dapat beresiko tinggi menimbulkan penyakit lain, sehingga diperlukan terapi secara farmakologi untuk mengontrol tekanan darah. Pengobatan hipertensi merupakan pengobatan jangka panjang dan bahkan seumur hidup sehingga memungkinkan terjadinya efek samping jangka panjang. Perlu pengobatan alternatif lain yang lebih aman seperti obat tradisional (Depkes 2006).

Salah satu tanaman yang dapat dipakai sebagai obat hipertensi adalah tanaman matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst). Berdasarkan penelitian Purwidyningrum *et al.* 2017a menunjukkan bahwa daun matoa menyebabkan jumlah ekskresi kalium dan natrium meningkat, dengan adanya peningkatan ekskresi natrium dan kalium, jumlah natrium dalam darah menjadi sedikit sehingga menurunkan tekanan darah. Hasil yang diperoleh dari ekstrak daun matoa menyebabkan penurunan tekanan darah pada dosis efektif 150 mg/kgBB. Beberapa hasil penelitian sebelumnya yang mengatakan bahwa ekstrak daun matoa berkhasiat sebagai diuretik dengan dosis efektif 100 mg/kgBB (Purwidyningrum *et al.* 2016). Penelitian oleh Putri 2017 menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun matoa dengan dosis efektif 100 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol total. Pada penelitian ekstrak daun matoa dengan dosis efektif 400 mg/kgBB dapat menurunkan kadar trigliserida (Wardana 2017).

Senyawa atau simplisia tanaman yang akan dikembangkan sebagai sediaan obat herbal harus melewati uji keamanan. Salah satu uji keamanan yang dilakukan

adalah uji toksisitas antara lain uji toksisitas akut dan subkronik. Penelitian sebelumnya telah dilakukan uji toksisitas akut dengan nilai $LD_{50} > 5000$ mg/kgBB tikus (Purwidyaningrum 2017b). Uji toksisitas subkronik merupakan suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat dengan dosis berulang dalam kurun waktu 14 – 90 hari tergantung lama waktu pengobatan. Untuk penyakit degeneratif seperti penyakit hipertensi dengan lama pengobatan lebih dari 30 hari maka lama pengujian toksisitas subkronik berlangsung selama 90 hari (Meles 2010).

Pada dasarnya senyawa toksikan tidak mempengaruhi semua organ secara merata, karena adanya perbedaan tingkat kepekaan dari masing-masing organ, kadar bahan kimia atau metabolitnya terhadap organ sasaran serta mekanisme pemulihan dari setiap organ. Organ vital yang diamati pada pengujian toksisitas subkronik salah satunya adalah organ ginjal. Ekskresi dari ginjal dipengaruhi oleh produksi urin. Urin merupakan jalur utama ekskresi senyawa toksik dari dalam tubuh. Akibatnya ginjal mempunyai volume aliran darah yang sangat tinggi, mengkonsentrasikan senyawa toksik pada filtrat yang menyebabkan ginjal menjadi sasaran utama efek toksik (Lu 1995).

Uji toksisitas subkronik terhadap daun matoa untuk menilai fungsi ginjal menggunakan parameter pemeriksaan urin, *Blood Ureum Nitrogen* (BUN) dan kreatinin darah. Kadar urea dan kreatinin dalam darah berada dalam range normal ketika ginjal dalam keadaan sehat dan laju *Glomerular Filtration Rate* (GFR) normal. Namun ketika terjadi penurunan fungsi ginjal laju GFR akan menurun sehingga kreatinin dan ureum yang difiltrasi diglomerulus akan menurun, akibatnya kadarnya didalam darah akan meningkat. Peningkatan kadar ureum dan kreatinin didalam darah menandakan adanya penurunan fungsi ginjal (Guyton dan Hall 2008).

Pemeriksaan histopatologi merupakan gambaran kerusakan bagian-bagian ginjal yang berupa nekrosis atau sel lisis. Semakin banyak sel yang diketahui lisis atau nekrosis maka kerusakan organ ginjal tersebut semakin parah. Pemeriksaan makroskopis dilakukan dengan pengamatan terhadap kondisi organ ginjal dengan tujuan untuk melihat apakah terdapat perubahan morfologi dari organ ginjal tersebut (Fukuda *et al.* 2004). Pada penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas

subkronik ekstrak etanol daun matoa melalui parameter pemeriksaan urin, kreatinin darah dan BUN pada histopatologi ginjal pada tikus putih jantan dan betina galur wistar.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

Pertama, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa yang diberikan selama 90 hari dapat menyebabkan gejala toksik melalui pengukuran volume urin pada tikus putih galur wistar?

Kedua, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa yang diberikan selama 90 hari dapat menimbulkan perubahan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin pada tikus putih galur wistar?

Ketiga, apakah pemberian ekstrak etanol daun matoa yang diberikan selama 90 hari menyebabkan efek toksik terhadap organ ginjal dilihat dari makropatologi dan histopatologi ginjal?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun matoa terhadap gejala toksik melalui pengukuran volume urin pada tikus putih galur wistar.

Kedua, mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun matoa terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin pada tikus putih galur wistar

Ketiga, mengetahui pengaruh toksisitas yang ditimbulkan ekstrak daun matoa terhadap organ ginjal yang dilihat dari makropatologi dan histopatologi ginjal.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan kepada masyarakat luas tentang manfaat daun matoa sebagai obat tradisional serta bagaimana efek toksik yang ditimbulkan pada organ ginjal dari ekstrak daun matoa bila dikonsumsi secara jangka panjang dan juga mampu memberikan informasi takaran dosis yang aman sebagai bahan obat. Dapat memberikan pengetahuan juga untuk bidang farmasi sebagai pengembangan penelitian tanaman obat berkhasiat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Matoa

1. Sistematika dan nama tanaman

Tanaman matoa merupakan tumbuhan daerah tropis yang banyak terdapat di hutan-hutan pedalaman Papua. Kedudukan tanaman daun matoa dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Sapindales
Suku : Sapindaceae
Marga : *Pometia*
Jenis : *Pometia pinnata* J.R. & G.Forst (Hutapea *et al.*1994)

2. Nama daerah

Nama lain dari tanaman matoa adalah pakam (Batak), Langsek anggang (Minangkabau), Kungki (Melayu), Leungsir (Sunda) dan Kayu sapi (Jawa) (Hutapea *et al.*1994).

3. Morfologi tanaman

Tanaman berbentuk pohon dengan tinggi sekitar ± 20 meter, batang tegak, bulat, berkayu, percabangan simpodial, kasar, coklat keputih-putihan. (Hutapea *et al.* 1994). Permukaan luar kulit batang halus, tidak mengelupas, berwarna ungu coklat disertai bercak putih, sumbu daun hijau kekuningan, panjang 13-15 cm (pendek), anak daun 8-10 pasang, berhadapan-berseling, membundar sampai lonjong, pangkal membundar sampai meruncing, tepi rata, ujung meruncing 2-4 cm; permukaan anak daun dewasa hijau tua mengkilap dan pucuk merah-ungu. Buah matoa panjangnya 2-4 cm, diameter 1.5-4 cm; biji tidak memiliki tangkai biji (*funiculus*) yang jelas, tetapi *integumen* luar yang berlekatan pada biji tumbuh membesar dan melebar hingga menyalut permukaan biji menjadi daging (*arillode*), tebal 0.01-4mm, tipis, tidak mudah lepas dari biji (Hengky 2011).

4. Kegunaan tanaman

Masyarakat melayu menggunakan daun matoa sebagai obat demam dan kulit pohon digunakan sebagai tuba ikan. Etnis Sakai menggunakan akar tanaman matoa sebagai obat beri-beri dan daun untuk obat sakit kulit. Masyarakat Sumatera Selatan juga menggunakan kulit buah sebagai obat luka bernanah dan etnis Upuya menggunakan daun matoa sebagai obat bengkak keseleo (Sangat *et al.* 2000). Biji matoa juga digunakan untuk tonikum (Hutapea *et al.* 1994). Berdasarkan beberapa penelitian kulit batang matoa dapat digunakan sebagai antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* (Ngajow *et al.* 2013), sebagai antihiperglikemik (Mataputun *et al.* 2013), dan sebagai anti HIV pada ekstrak daun matoa (Suedee *et al.* 2013).

5. Kandungan kimia

Berdasarkan penelitian dari Suedee *et al.* 2013 menunjukkan bahwa isolasi ekstrak daun matoa terdapat senyawa yang mengarah pada golongan flavonoid flavonol yaitu kaempferol-3-O-rhamnoside, epikatekin dan quercetin-3-O-rhamnoside, triterpenoid saponin pentasiklik dan proantosianidin dari golongan tanin. Hasil penelitian lain telah ditemukan kandungan saponin pada daun matoa dan kulit batang matoa (Mohammad *et al.* 2012).

5.1 Flavonoid. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang mempunyai dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik C₃ (C₆-C₃-C₆). Golongan terbesar flavonoid mempunyai ciri cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu dari cincin benzena. Flavonoid yang terdapat pada daun matoa yaitu kaempferol-3-O-rhamnoside, quercetin-3-O-rhamnoside dan epikatekin. Kuersetin adalah senyawa yang paling umum pada tumbuhan berpembuluh dan selalu diikuti dengan kemferol. Kuersetin merupakan aglikon yang berwarna kuning, sukar larut dalam air dingin, tidak larut dalam air panas tetapi cukup larut dalam alkohol. Adanya gugus glikosil seperti ramosida dapat memperbaiki kelarutan pada air (Gregory 2011).

5.2 Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan dapat menimbulkan busa jika dikocok didalam air dan pada konsentrasi yang rendah dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah. Pada daun matoa terdapat

jenis triterpenoid saponin pentasiklik. Saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995).

5.3 Tanin. Tanin merupakan kandungan tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Kelarutan tanin adalah larut dalam air, tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Robinson 1995). Tanin yang terkandung dalam daun matoa adalah proantosianidin (Suedee 2013).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan, dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu simplisia hewani, nabati, dan mineral. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan dari hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman maupun eksudat tanaman. Simplisia mineral merupakan simplisia berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Widiyastuti *et al.* 2015).

2. Pengumpulan bahan baku simplisia

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia nabati yang berasal dari tumbuhan, dan bagian tanaman yang digunakan adalah daun. Pemanenan dan pengumpulan daun sebelum tanaman berbunga, kecuali ditentukan lain. Daun yang dipilih adalah daun yang tua dan belum menguning atau dari tanaman dewasa (Widiyastuti *et al.* 2015).

3. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik, mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia, agar simplisia tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan pada dasarnya ada dua cara, yaitu pengeringan dengan cara alamiah dan buatan. Pengeringan secara alamiah dapat dilakukan dengan sinar

matahari langsung dan tanpa sinar matahari. Dengan cara diangin-anginkan. Pengerinan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan alat atau mesin pengerinan yang suhu, kelembapan, tekanan, dan aliran udaranya dapat diatur. Pengerinan menggunakan oven dapat menghasilkan simplisia dengan mutu yang lebih baik karena pengerinan lebih merata dan waktu pengerinan lebih cepat tanpa dipengaruhi kondisi cuaca (Widiyastuti *et al.* 2015).

4. Penyimpanan

Penyimpanan simplisia harus dipastikan bahwa simplisia benar-benar kering atau kadar airnya kurang dari 10%. Simplisia disimpan dalam wadah yang tidak bersifat toksik dan tidak bereaksi dengan bahan lain, terhindar dari cemaran mikroba, kotoran, serangga sehingga tidak menyebabkan terjadinya reaksi serta perubahan warna, bau dan rasa pada simplisia (Gunawan dan Mulyani 2004).

C. Ekstrak

1. Pengertian ekstrak dan ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok dan terhindar dari pengaruh sinar matahari langsung (Depkes 2013). Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif dengan menggunakan pelarut yang selektif, zat aktif tersebut berkhasiat sebagai obat yang terdapat dalam jaringan tanaman atau hewan. *Standart* prosedur ekstraksi bertujuan untuk mencapai efek terapi yang diinginkan dan untuk menghilangkan bahan yang tidak diinginkan dengan pelarut yang selektif (Handa *et al.* 2008). Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (1995) cairan penyari yang dapat digunakan adalah air, etanol, etanol air dan eter. Cairan penyari untuk pembuatan obat tradisional adalah sebatas pada penggunaan cairan penyari air, etanol atau etanol air.

2. Metode ekstraksi

2.1 Maserasi. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana, pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapat. Metode maserasi adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan / suhu kamar (Depkes

2000). Keuntungan dari maserasi adalah menggunakan peralatan dan prosedur yang sederhana, murah, tidak menggunakan pemanasan sehingga sesuai untuk zat yang tidak tahan pemanasan (Istiqomah 2013).

2.2 Sokletasi. Sokletasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan alat khusus dan terjadi ekstraksi secara kontinu, dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes 2000).

2.3 Refluks. Refluks merupakan ekstraksi yang berkesinambungan. Ekstraksi dengan pelarut pada temperatur tertentu dan dengan jumlah pelarut yang terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes 2000).

3. Pelarut

Pelarut adalah suatu zat untuk melarutkan zat atau suatu obat dalam preparat larutan. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuan pelarut dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin dari zat yang tidak diinginkan. Kriteria pelarut yang baik antara lain murah, stabil secara fisik dan kimia, netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat dan diperbolehkan. Cairan penyari yang digunakan untuk penelitian ini adalah etanol 70%. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol diatas 20%, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, sedang kerugiannya adalah bahwa etanol mahal harganya (Ansel 1989). Etanol juga memiliki sifat untuk melarutkan flavonoid, tanin, dan saponin (Depkes 1986)

D. Uji Toksisitas

1. Pengujian toksisitas

Efek toksik berhubungan dengan masa pajanan. Untuk meneliti berbagai efek yang berhubungan dengan masa pajanan, pengujian toksisitas secara oral dibagi menjadi tiga kategori, yaitu:

1.1 Uji toksisitas akut oral. Uji toksisitas akut oral adalah uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal atau dosis berulang pada hewan uji yang diberikan dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji dengan satu dosis perkelompok, kemudian dilakukan pengamatan adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas (BPOM 2014a).

1.2 Uji toksisitas subkronik oral. Uji toksisitas subkronik oral merupakan uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang secara oral pada hewan uji selama kurang dari tiga bulan. Tujuan uji toksisitas subkronik oral adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOAEL*).

Prinsip dari uji toksisitas subkronik oral adalah sediaan uji dalam beberapa variasi dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversibel*. Uji toksisitas subkronik oral 90 hari digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis berulang dalam waktu 1 – 4 minggu. Sediaan uji diberikan setiap hari atau minimal 5 hari dalam 1 minggu selama 90 hari. (BPOM 2014a).

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

sedemikian rupa sehingga dapat diperoleh informasi toksisitas secara umum meliputi efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis, dan histopatologi (BPOM 2014a).

2. Uji toksisitas subkronik oral 90 hari

2.1 Jenis dan jumlah hewan uji. Hewan yang digunakan harus sehat; asal, jenis, dan galur, jenis kelamin, usia serta berat badan harus jelas. Hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (Strain Srague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/c dan lain-lain). Syarat hewan uji adalah sehat umur 6-8 minggu. Masing-masing kelompok dosis menggunakan hewan minimal 20 ekor terdiri dari 10 ekor hewan jantan dan 10 ekor hewan betina untuk setiap kelompok dosis. Selain itu jika perlu dapat disediakan juga 2 kelompok tambahan (kelompok satelit) minimal 20 hewan per kelompok yang terdiri dari 10 ekor hewan jantan dan 10 ekor hewan betina untuk kelompok kontrol dan kelompok dosis tinggi. Pengamatan reversibilitas pada kelompok satelit dilakukan dalam 28 hari setelah akhir pemberian sediaan uji. Sebelum percobaan dimulai, hewan diaklimatisasi di ruang percobaan selama kurang 7 hari. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak lebih 20% dari rata-rata berat badan (BPOM 2014a).

2.2 Dosis uji dan batas uji. Dosis uji harus mencakup dosis yang setara dengan dosis penggunaan yang lazim pada manusia. Dosis lain meliputi dosis dengan faktor perkalian tetap yang mencakup dosis yang setara dengan dosis penggunaan lazim pada manusia sampai mencapai dosis yang dipersyaratkan untuk tujuan pengujian atau sampai batas dosis tertinggi yang masih dapat diberikan pada hewan uji. Sekurang-kurangnya digunakan 3 kelompok dosis berbeda, 1 kelompok kontrol, dan 2 kelompok satelit (kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol). Dosis yang paling ringan tidak menimbulkan efek toksik (NOAEL), dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang ringan dan dosis sediaan uji yang paling tinggi harus menimbulkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat, Bila dosis 1000

mg/kgBB tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi, meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai (BPOM 2014a).

2.3 Penyiapan dan waktu pemberian sediaan uji. Hasil uji toksisitas sangat tergantung pada sifat zat yang diuji. Sediaan uji untuk uji toksisitas berupa zat yang dapat larut atau tersuspensi dalam air atau dapat larut dalam minyak, yang berasal dari tanaman, hewan maupun hasil sintesis organik. Sediaan uji dapat dibuat dengan bermacam-macam cara, sesuai dengan sifat sediaan uji dan cara pemberiannya. Sediaan uji dapat berupa formulasi dalam media cair (dibuat bentuk larutan dalam air, dibuat bentuk suspensi menggunakan gom arab 3-5%; CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*) 0,3-1,0% atau dengan zat pensuspensi lain yang inert secara farmakologi jika sediaan uji tidak larut dalam air, dan dibuat sediaan uji yang dilarutkan dalam minyak yang tidak toksik seperti minyak zaitun atau minyak jagung), berupa campuran pada makanan, dan berupa sediaan uji simplisia tanaman obat. Sediaan uji dilarutkan dengan bahan pembawa yang sesuai (misalnya air suling dan minyak nabati) sampai dengan dosis yang dikehendaki. Sediaan uji diberikan setiap hari atau minimal 5 hari dalam 1 minggu selama 90 hari (BPOM 2014a).

2.4 Cara dan volume pemberian sediaan uji. Pada dasarnya pemberian sediaan uji harus sesuai dengan cara pemberian atau pemaparan yang diterapkan pada manusia peroral, topikal, injeksi intravena, injeksi intraperitoneal, injeksi subkutan, injeksi intrakutan, inhalasi, dan melalui rektal. Pemberian sediaan uji biasanya diberikan secara oral dengan volume pemberian 1mL sediaan uji per 100 gram berat badan hewan, tetapi dalam kondisi tertentu volume pemberian dapat sampai 2 mL sediaan uji per 100 gram berat badan hewan apabila digunakan pembawa air (BPOM 2014a).

2.5 Pengamatan toksisitas. Pengamatan terjadinya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, membrane mukosa, sekresi, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh (misalnya berjalan mundur), kejang dan sebagainya, dilakukan setiap hari selama 90 hari. Sedangkan untuk kelompok satelit pengamatan dilanjutkan selama 28 hari kemudian untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali dari pengaruh toksik (BPOM 2014a).

2.6 Monitoring berat badan dan konsumsi pakan. Monitoring kenaikan berat badan dilakukan seminggu dua kali. Hewan ditimbang setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan. Sedangkan jumlah makanan yang dikonsumsi ditimbang dua hari sekali (BPOM 2014a).

2.7 Pengambilan darah. Pada akhir percobaan darah diambil menggunakan alat suntik steril dan selalu dijaga agar tidak terkena air (untuk menghindari terjadinya hemolisa). Setelah hewan dianestesi darah diambil dari vena jugularis secara perlahan-lahan menggunakan alat suntik steril sebanyak 3-5 mL, satu alat suntik digunakan untuk satu hewan. Sebanyak 0,5 mL darah dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus yang telah diisi antikoagulan (EDTA) sebanyak 10 μ L untuk pemeriksaan hematologi, sebanyak 0,5 mL darah untuk pembuatan asupan darah pada penetapan deferensial leukosit. Sisanya dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan didiamkan pada suhu kamar ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) selama 10 menit, kemudian dipindahkan ke dalam tangas es tidak lebih dari 20 menit dan segera disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan biokimia klinis (BPOM 2014a).

2.8 Pemeriksaan biokimia klinis. Pemeriksaan biokimia klinis meliputi natrium, kalium, glukosa, total kolesterol, trigliserida, nitrogen-urea, kreatinin, total-protein, albumin, Glutamat Oksaloasetat Transaminase (GOT), Glutamat Piruvat Transaminase (GPT), total bilirubin, alkaline fosfatase, gamma glutamil trans-peptidase, laktat dihidrogenase (LDH), dan asam empedu (*bile acids*). Parameter utama minimal yang harus diperiksa adalah nitrogen-urea, kreatinin, GOT, dan GPT (BPOM 2014a).

2.9 Penimbangan organ. Hewan yang telah dikorbankan harus segera diotopsi dan dilakukan pengamatan secara makropatologi dengan seksama untuk setiap organ. Organ yang akan ditimbang harus dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan % indeks organ.

% indeks organ dapat diperoleh dengan rumus berikut :

$$\% \text{Indeks organ} = \frac{\text{Berat ginjal}}{\text{Berat badan tikus}} \times 100\% (\text{BPOM 2014a}).$$

2.10 Pemeriksaan histopatologi. Organ yang diperiksa secara histopatologi meliputi otak, pituitari, tiroid, timus, paru-paru, jantung, hati, ginjal, limpa, adrenal, pankreas, testis, vesikula seminalis, kantong kemih, indung telur, uterus, epididimis, usus, limfo nodus, saraf tepi, lambung, tulang dada, tulang paha, sumsum tulang belakang atau sekurang-kurangnya 5 organ utama yaitu hati, limpa, jantung, ginjal, paru, dan ditambah organ sasaran yang diketahui secara spesifik. Organ-organ kecil seperti pituitari, tiroid, adrenal yang tidak memungkinkan untuk dibuat preparat histopatologi dapat diabaikan. Organ dan jaringan yang sudah dipisahkan segera dimasukkan dalam larutan dapar formaldehida 10% dan dibuat preparat histopatologi kemudian diperiksa dibawah mikroskop (BPOM 2014a).

E. Hewan Uji

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

1. Sistematika hewan uji

Sistematika dari hewan uji dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
 Filum : Chordata
 Subfilum : Chordata
 Kelas : Mamalia
 Subkelas : Placentalia
 Ordo : Rodentia
 Familia : Muridae
 Genus : *Rattus*
 Spesies : *Rattus novergicus* (Krinke 2000)

2. Karakteristik utama tikus

Tikus merupakan hewan yang cerdas dan resisten terhadap infeksi. Tikus putih biasanya tidak bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan termasuk hewan

yang tidak sering berkumpul dengan kelompoknya. Tikus putih mudah ditangani dengan cukup tenang. Aktivitasnya tidak terganggu oleh adanya manusia disekitarnya. Suhu tubuh normal $37,5^{\circ}\text{C}$, laju respirasi normal 210 tiap menit. Tikus putih bila diperlakukan dengan kasar akan menjadi galak dan sering menyerang bagi pemegang. Kondisi biologis tubuh lebih stabil dan kecepatan metabolisme obat tikus jantan lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina.

3. Pengambilan dan penanganan

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

4. Perlakuan

Hewan dipegang pada daerah tengkung, kemudian spuit ditempelkan pada langit-langit mulut atas tikus, perlahan-lahan dimasukkan ke dalam esofagus dan cairan obat dimasukkan (Stevani 2016).

5. Pengambilan darah

Pengambilan darah lazimnya dilakukan dengan dua cara yaitu dengan cara *Plexus Retroorbitalis* (mata) atau melalui *Vena Lateralis* (ekor). *Plexus Retroorbitalis* dilakukan dengan cara menggoreskan bagian bawah bola mata pada *medial canthus* dengan menggunakan mikrohematokrit. Darah ditampung dengan menggunakan *Eppendorf*, selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum darah yang akan digunakan untuk menguji kadar BUN dan kreatinin (Permatasari 2012).

6. Tindakan mematikan hewan percobaan

Tindakan mematikan hewan percobaan dapat dilakukan dengan cara anestetik over dosis dan inhalasi. Cara anestetik over dosis dilakukan dengan menginjeksikan obat anestesi (Na pentobarbital 300 mg/ml) secara intraperitoneal,

sedangkan jika dilakukan dengan cara inhalasi menggunakan kloroform, CO₂, nitrogen dan lainnya dalam wadah tertutup (Batan 2011). Pada penelitian ini digunakan cara inhalasi.

7. Tindakan memusnahkan jasad hewan uji

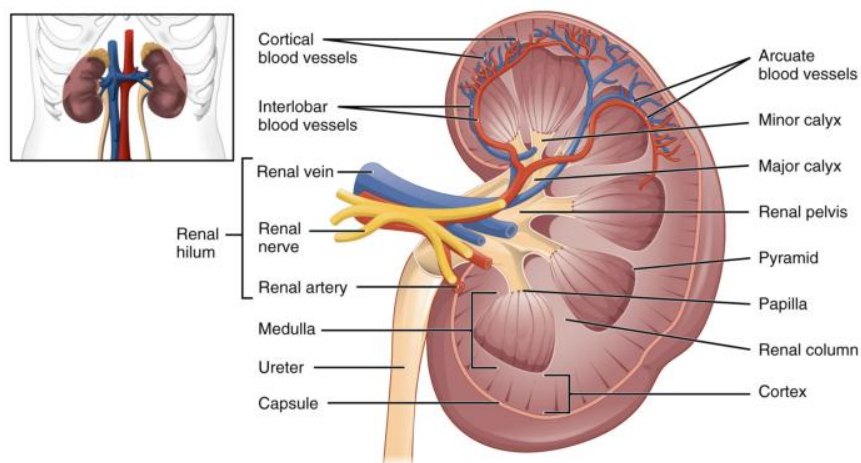
Tindakan memusnahkan jasad hewan uji dapat dilakukan dengan cara dikubur pada tempat yang sudah disediakan di Universitas Setia Budi. Tempat penguburan dibuat dengan kedalaman setengah meter untuk menghindari terbongkarnya tempat penguburan.

F. Organ Ginjal

1. Fungsi ginjal

Fungsi utama ginjal adalah untuk menyingkirkan buangan metabolisme normal dan mengekskresi xenobiotik dan metabolitnya. Selain itu ginjal juga mempunyai beberapa fungsi non-ekskretori. Fungsi ginjal non-ekskretori, yaitu pengaturan tekanan darah dan volume darah. Pengaturan tersebut diperantarai oleh sistem rennin-angiotensin-aldosteron. Faktor eritropoietik ginjal juga bekerja pada protein plasma untuk membentuk eritropoietin yang meningkatkan produksi normoblas dan sintesis hemoglobin (Lu 1995).

2. Anatomi dan fisiologi ginjal



Gambar 1. Anatomi ginjal (Anonim 2013)

Struktur anatomi ginjal seperti pada gambar 1 berbentuk seperti kacang dengan panjang antara 10-12 cm dan tebal 3,5-5 cm, terdapat dibagian posterior

abdomen bagian atas pada masing-masing sisi vertebra lumbal atas. Ginjal dibungkus oleh simpai jaringan fibrosa tipis yang dapat dilepaskan dengan mudah dari parenkim dibawahnya (Lesson 1996). Ginjal terdiri atas dua daerah utama yang dapat digambarkan dengan korteks (bagian luar) dan medula (bagian dalam). Medula ginjal terbagi atas beberapa jaringan berbentuk kerucut yang disebut piramida ginjal. Dasar dari setiap piramida dimulai dari perbatasan antara korteks dan medula sampai papila. Perbatasan pelvis terbagi menjadi kantong dengan ujung terbuka yang disebut kalises mayor dan meluas menjadi kalises minor dan berfungsi mengumpulkan urin dari tubulus setiap papilla (Ganong 2003).

Ginjal terdiri atas satu juta unit fungsional mikroskopik yang disebut nefron. Nefron dibentuk oleh suatu jaringan ikat dan memiliki fungsi dasar membersihkan plasma darah dari substansi yang tidak diinginkan oleh tubuh yang berasal dari hasil metabolisme urea, kreatinin, asam urat, ion-ion natrium, kalium, klorida dan ion-ion hidrogen dalam jumlah yang berlebih (Sherwood 2001). Setiap nefron mempunyai dua komponen utama yaitu glomerulus dan tubulus. Glomerulus tersusun dari suatu jaringan kapiler glomerulus bercabang yang mempunyai tekanan hidrostatik tinggi (kira-kira 60 mmHg), kapiler glomerulus dilapisi oleh sel-sel epitel dan dibungkus dengan kapsula bowman. Cairan hasil filtrasi dari kapiler glomerulus mengalir ke arah kapsula bowman dan masuk ke tubulus proksimal (Ganong 2003).

3. Gangguan ginjal

Salah satu fungsi ginjal yaitu sebagai pembentukan urin, urin yang sudah dibentuk di ginjal akan mengalir melalui ureter ke kandung kemih untuk disimpan sebelum diekskresi. Suatu toksikan dengan difusi pasif dapat dikeluarkan melalui tubulus dan disekresi oleh sel tubulus proksimal kedalam urin, karenanya urin menjadi jalur utama ekskresi toksikan. Sehingga ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus dan mengaktifkan toksikan tertentu. Akibatnya ginjal menjadi organ sasaran utama efek toksik (Lu 1995).

Gangguan ginjal berakibat berkurangnya fungsi ginjal bahkan hingga ginjal tidak berfungsi. Ada beberapa penyakit yang disebabkan adanya gangguan

pada ginjal. Nefritis akut merupakan serangan mendadak, suhu dan denyut nadi naik, serta air kemih berwarna tua berisi albumin. Sindroma nefrotis merupakan keadaan ginjal, walaupun tidak ada kegagalan fungsi pembuangan, kehilangan sejumlah besar protein, khususnya albumin. Uremia disebabkan karena bahan buangan dari ginjal didalam darah, hal tersebut tampak pada pemeriksaan jumlah ureum yang ada. Batu dalam kandung kencing terjadi karena kandung kencing berkontraksi untuk mengeluarkan air kencing, maka batu tertekan pada trigonum sehingga menyebabkan rasa sakit berlebih dan infeksi sering sekali menyertai keadaan ini. Infeksi ginjal dapat ditimbulkan oleh penyakit tuberkulosa atau penyakit panas pada ginjal. Pielonefritis adalah peradangan jaringan ginjal, hal ini dapat terjadi secara akut disertai dengan adanya kenaikan suhu tubuh, menggigil dan muntah-muntah. Pielonefritis kronis sering merusak sel-sel ginjal, sehingga ginjal tidak berfungsi lagi (Irianto 2004).

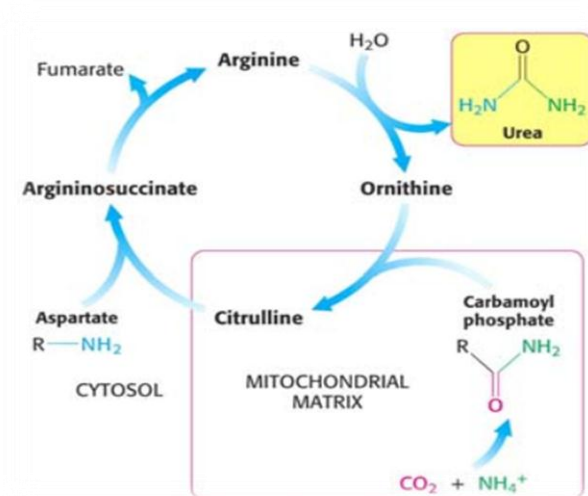
Gangguan ginjal dapat diakibatkan juga karena benda asing yang masuk kedalam ginjal dan merusak struktur ginjal. Kerusakan ginjal disebabkan oleh desposisi imun kompleks, trombosis emboli dan infeksi pada glomerulus menyebabkan terjadinya nekrosa. Kerusakan pada glomerulus juga dapat berupa atrofi dan fibrosis sehingga menyebabkan atrofi sekunder pada tubulus renalis (Underwood 1999). Terpaparnya zat toksik secara terus menerus pada tubulus kontortus proksimal akan mengakibatkan cidera sel sehingga berujung pada kematian sel (nekrosis). Terjadinya nekrosis pada sel disertai dengan perubahan morfologi seperti menyusutnya sel, memiliki batas yang tidak teratur dan berwarna gelap, proses ini dinamakan piknosis. Inti sel juga dapat hancur dan membentuk fragmen kromatin yang menyebar di dalam sel disebut karioreksi. Pada keadaan lain, inti sel akan mengalami kariolisis dimana inti sel tidak dapat diwarnai dan menghilang (Price 2006).

4. *Blood Urea Nitrogen (BUN)*

Salah satu indeks fungsi ginjal yang paling penting adalah laju filtrasi glomerulus atau *Glomerular Filtration Rate* (GFR) yang dapat memberikan informasi mengenai jumlah jaringan ginjal yang masih berfungsi. Secara sederhana GFR dapat diukur menggunakan BUN dan kadar kreatinin (Noer 2006).

BUN merupakan produk akhir dari metabolisme protein yang diekskresikan melalui urin. Penurunan kadar BUN dapat disebabkan oleh kerusakan hati yang berat, diet rendah protein, hipervolemia (overhidrasi), malnutrisi dan kehamilan, sedangkan peningkatan kadar BUN dapat disebabkan oleh konsumsi protein tinggi, dehidrasi, menurunnya suplai darah ke ginjal, gagal ginjal, glomerulonefritis dan sepsis (Sutedjo 2009).

Pembentukan ureum sebagai hasil metabolisme protein normal diawali dengan derivatisasi asam amino, yaitu ornitina yang akan bergabung bersama *carbamoyl phosphate* untuk membentuk sitrulin. Sitrulin bersama dengan molekul aspartat akan membentuk *argininosuccinate* yang selanjutnya berubah menjadi arginina. Arginina kemudian dipecah menjadi ornitina dan urea. Urea ini akan berdifusi dari sel hati ke cairan tubuh dan kemudian akan diekskresi melalui ginjal sedangkan ornitina kembali digunakan untuk siklus berulang (Miles 2003). Mekanisme pembentukan urea dapat dilihat pada gambar 2.



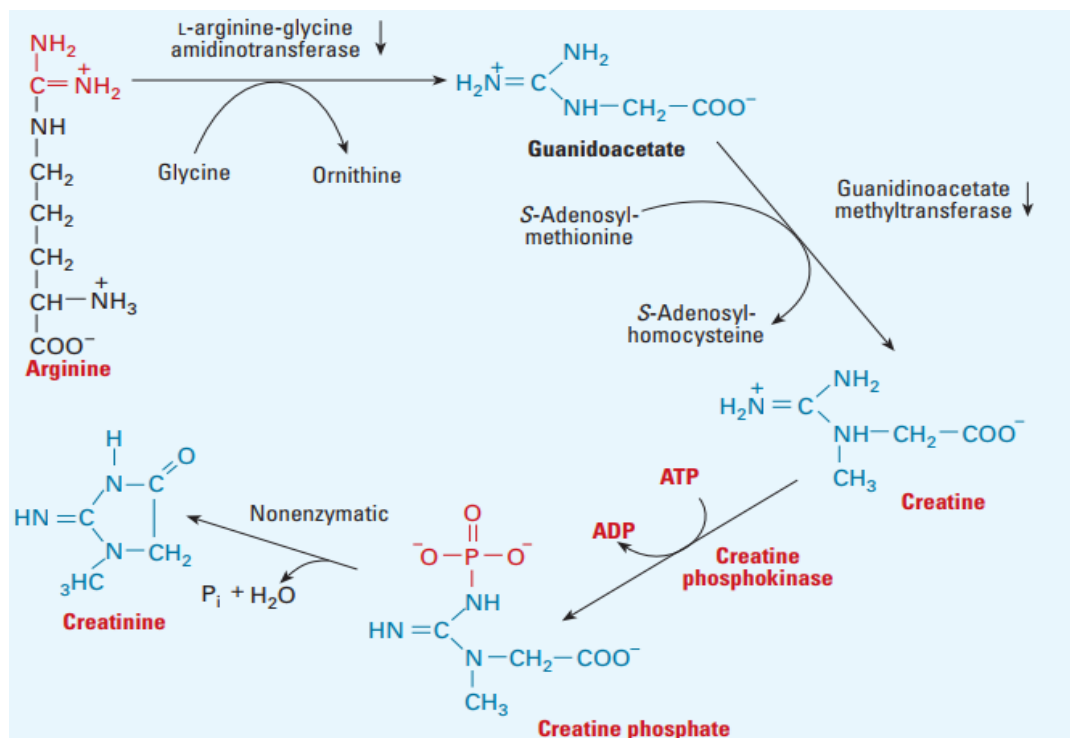
Gambar 2. Mekanisme pembentukan urea (Miles 2003)

Penetapan kadar ureum dinamai uremia. Keadaan ini paling sering disebabkan oleh ekskresi ureum yang terhambat oleh kegagalan fungsi ginjal. Sehingga meningkatkan kadar BUN. Uremia renal berarti produksi ureum yang terhambat oleh perombakan protein. Gangguan peredaran darah yang dapat menurunkan fungsi ginjal juga disebut sebagai sebab uremia prerenal. Uremia postrenal terjadi jika ada obstruksi dalam saluran urin bagian bawah sehingga

ekskresi urin dihambat dan ureum dalam urin yang terbendung mendifusi balik ke dalam aliran darah (Ganong 2003). Menurut Rahmawati (2016) kadar BUN normal berkisar antara 11-28 mg/dL.

5. Kreatinin

Kreatinin merupakan produk akhir dari metabolisme kreatinin otot dan kreatinin fosfat (protein), yang disintesis didalam hati dari metionina, glisina, dan arginina, ditemukan dalam otot rangka dan darah serta diekskresikan dalam urin. Terbentuknya kreatinin ini diawali dengan sintesis ATP. ATP yang dihasilkan dari proses glikolisis dan fosforilasi oksidatif ini akan bereaksi dengan keratin kemudian akan membentuk ADP dan fosfokreatin yang mengandung ikatan fosfat energi tinggi. Kreatinin fosfat yang dihasilkan akan membentuk kreatinin yang selanjutnya akan difiltrasi oleh glomerulus, sebagian kecil difiltrasi oleh tubulus proksimal dan di ekskrtasikan oleh ginjal (Sacher 2004). Mekanisme pembentukan kreatinin dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Proses pembentukan kreatinin (Kramer 2004)

Kreatinin yang dihasilkan dalam tubuh dapat digunakan untuk melihat fungsi glomerulus dengan cara pemeriksaan kreatinin .meningkatnya kreatinin

dalam darah merupakan ciri-ciri adanya kerusakan fungsi ginjal. Nilai kadar nilai normal kadar kreatinin 0,5-1,1 mg/dL (Rahmawati 2016).

G. Histologi dan Histopatologi Ginjal

1. Histologi

Istilah “Histologi” berasal dari bahasa Yunani *histos* yang berarti jaringan, dan *logia* yang berarti “ilmu yang mempelajari” atau “pengetahuan”. Jadi secara harfiah histologi adalah pengetahuan atau ilmu yang mempelajari tentang jaringan, baik tumbuhan maupun hewan. Histologi bukan hanya mencakup pengetahuan mengenai berbagai jaringan, tetapi juga berbagai sel dan sistem organ (Bajpai 1989). Histologi merupakan ilmu yang menguraikan tentang jaringan secara terinci dan hubungan antara komponen jaringan dengan fungsi yang dilakukan. Meskipun tubuh tersusun oleh bermacam-macam jaringan, namun berdasarkan atas susunan sel, hubungan antara sel dengan mediumnya (bahan antar sel) serta sifat-sifat bahan antar selnya dibedakan menjadi empat jaringan utama, yaitu jaringan epitel, jaringan pengikat, jaringan otot dan jaringan saraf (Arief 2004).

2. Histopatologi

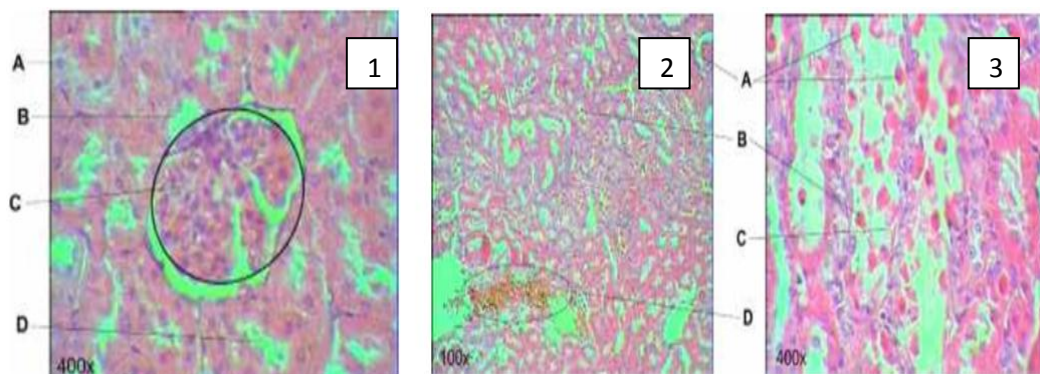
Histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi merupakan salah satu pertimbangan dalam penentuan diagnosis, melalui pengamatan terhadap organ tertentu (Mitchell dan Catron 2007). Histopatologi dilakukan dengan mengambil jaringan sampel setelah kematian terjadi, dan membandingkannya dengan sel yang sehat. Perbandingan jaringan sehat dengan jaringan yang tidak sehat, dapat diketahui penyakit yang diduga benar menyerang atau tidak (Underwood 1999).

3. Gambaran histopatologi ginjal

Histopatologi ginjal tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal hampir mirip. Keduanya sama-sama berjalan berkelok-kelok, dindingnya disusun selapis sel kuboid, inti sel bulat, bundar, biru dan biasanya terletak agak berjauhan satu sama lain pada tubulus kontortus proksimal dan berdekatan pada tubulus kontortus distal. Perbedaan ada di warna sitoplasma dan *brush border*.

Sitoplasma tubulus kontortus proksimal berwarna asidofil (kemerahan) dan permukaan sel yang menghadap ke lumen mempunyai *brush border*. Sedangkan pada tubulus kontortus distal sitoplasma berwarna basofil (kebiruan) dan permukaan sel yang menghadap ke lumen tidak mempunyai *brush border* (Subekti & Nugroho 2015).

Pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa tidak tampak adanya perubahan pada struktur jaringan ginjal, sel-sel ginjal tampak normal. Glomerulus (C) tampak sebagai kumpulan sel-sel yang menyerupai lingkaran. Pada tubulus distal (B) didekat glomerulus sel tubulus distal lebih rapat, sedangkan untuk tubulus proksimal sel lebih jarang dan terdapat serabut / fili pada bagian dalam. Gambar 4.2 dan 4.3 menunjukkan adanya kerusakan ginjal. Terdapat nekrosis pada sel epitel tubulus yang secara jelas tampak adanya perubahan warna dari biru menjadi merah (3.A). Sebagian tubulus distal kehilangan sel-sel epitel (3.B) (Windhartono 2013).



Gambar 4. Gambaran Histopatologi Ginjal (Windhartono 2013)

H. Landasan Teori

Daun matoa mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin (Rahimah *et al.* 2013). Aktivitas farmakologi tannin dan saponin pada kulit batang matoa dilaporkan sebagai analgetik (Lumintang 2015). Pada kulit batang matoa juga didapat aktivitas farmakologi flavonoid, tanin dan saponin sebagai antibakteri (Ngajow 2013). Selain itu masyarakat Sumatera Selatan juga menggunakan kulit buah matoa sebagai obat luka bernanah dan etnis Upuya menggunakan daun matoa sebagai obat bengkak keseleo (Sangat *et al.* 2000). Biji matoa juga digunakan untuk tonikum (Hutapea *et al.* 1994).

Hasil dari penelitian sebelumnya mengatakan bahwa ekstrak daun matoa berkhasiat sebagai diuretik dengan dosis efektif 100 mg/kgBB (Purwidyaningrum *et al.* 2016), sebagai antihipertensi dengan dosis efektif 150 mg/kgBB menunjukkan bahwa daun matoa menyebabkan peningkatan jumlah ekskresi kalium dan natrium. Adanya peningkatan ekskresi natrium dan kalium, jumlah natrium dalam darah menjadi sedikit dan menurunkan tekanan darah (Purwidyaningrum *et al.* 2017a), dan mampu menghambat virus HIV-1 IN (Suedee *et al.* 2013). Penelitian oleh Putri 2017 menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun matoa dengan dosis efektif 100 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol total. Pada penelitian ekstrak daun matoa dengan dosis efektif 400 mg/kgBB dapat menurunkan kadar trigliserida (Wardana 2017). Pengembangan daun matoa sebagai bahan sediaan obat alami harus didukung oleh penelitian. Salah satu penelitian yang dilakukan adalah pengujian toksisitas. Peneliti sebelumnya telah melakukan uji toksisitas akut dengan nilai $LD_{50} > 5000$ mg/kgBB tikus (Purwidyaningrum 2017b).

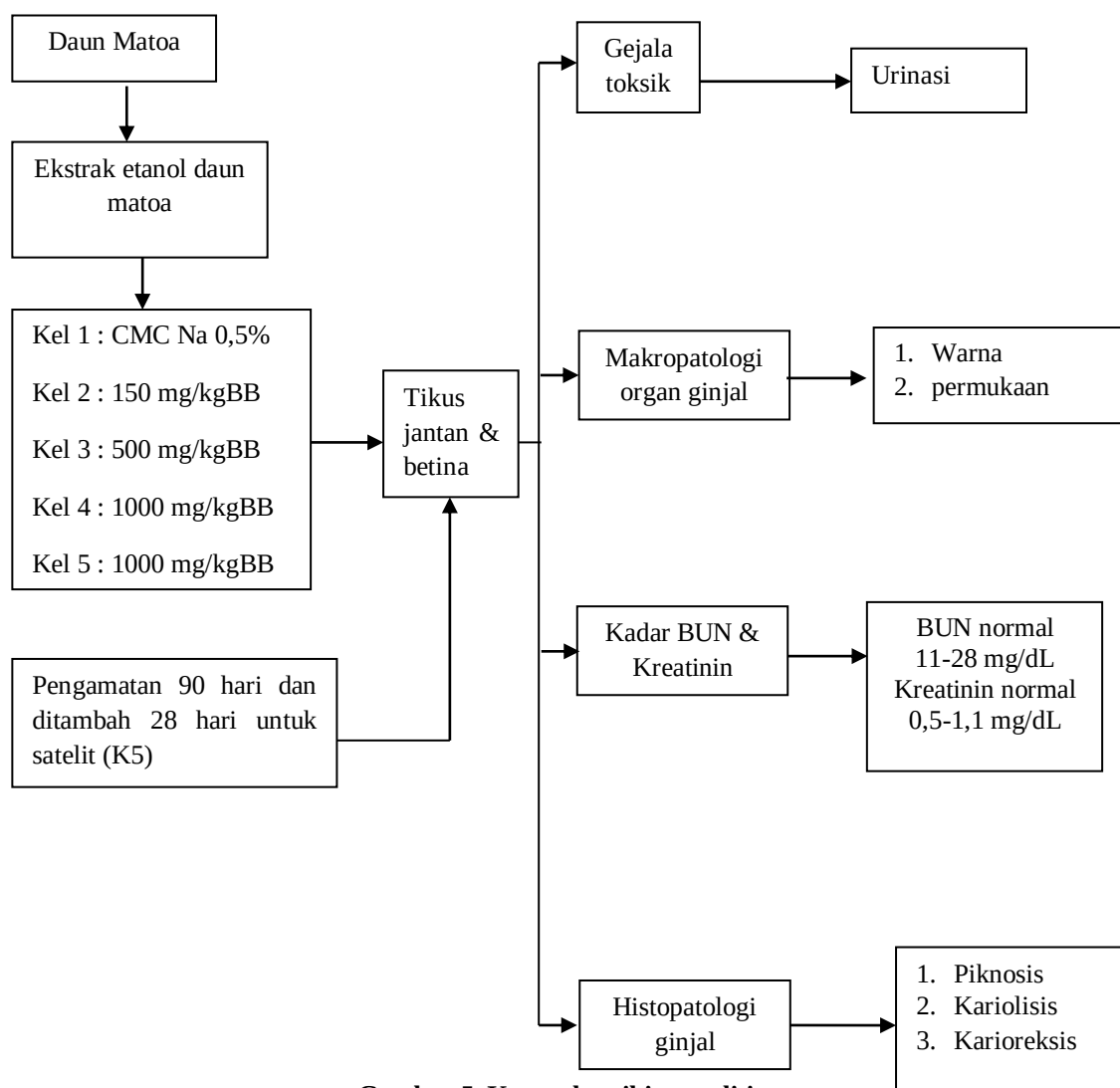
Toksisitas subkronik merupakan uji yang dilakukan dengan memberikan bahan obat secara berulang-ulang biasanya setiap hari atau lima kali dalam seminggu dengan tujuan untuk memeriksa tingkat toksisitas dan lokasi dalam tubuh hewan yang teracuni juga untuk menentukan keamanan suatu senyawa dalam dosis uji yang memerlukan waktu paparan terhadap hewan uji selama 1 sampai 3 bulan. Toksisitas muncul setelah berkali-kali terpapar toksikan dalam jangka waktu pendek atau hanya satu kali terpapar tetapi korban tidak mati dan gejala akut sudah terlampaui (Harmita dan Radji 2005).

Organ-organ vital yang di uji pada toksisitas subkronik salah satunya adalah ginjal. Ginjal merupakan organ utama yang terkena efek toksisitas jika tubuh terpapar zat toksik. Ginjal mempunyai fungsi utama dalam mengekskresikan *nitrogenous wastes* seperti ureum, asam urat, kreatinin dan ammonium. Studi toksisitas fungsi ginjal dapat dievaluasi melalui urinalisis dan serum darah. Serum darah yang diperiksa adalah ureum dan kreatinin (Corwin 2009).

Pemeriksaan kadar kreatinin dalam darah digunakan metode *Jaffe* dimana pada suasana alkali kreatinin membentuk warna merah jingga dengan asam pikrat,

adsorben dari warna ini proporsional dengan konsentrasi kreatinin sampel. Kadar ureum diperiksa dengan metode *Enzymatic UV test, Urease-GLDH*. Prinsip dari metode tersebut adalah BUN akan dioksidasi menggunakan enzim urease dan enzim GLDH (BPOM 2014a).

I. Kerangka Pikiran



Gambar 5. Kerangka pikir penelitian

J. Hipotesis

Hipotesis yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah:

Pertama, ekstrak etanol daun matoa yang diberikan selama 90 hari tidak menimbulkan efek toksik melalui pengukuran volume urin pada tikus putih galur wistar.

Kedua, ekstrak etanol daun matoa yang diberikan selama 90 hari tidak menimbulkan perubahan kadar BUN dan kreatinin pada tikus putih galur wistar.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol daun matoa yang diberikan selama 90 hari tidak menimbulkan efek toksik terhadap organ ginjal yang dilihat dari makropatologi dan histopatologi organ ginjal pada tikus putih galur wistar.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah keseluruhan atau objek yang diteliti (Notoatmodjo 2002). Populasi yang digunakan dalam uji toksisitas subkronik ini adalah tanaman matoa (*Pometia pinnata*J.R & G. Forst). Sampel yang digunakan adalah daun matoa (*Pometia pinnata*J.R & G. Forst) yang diperoleh dari daerah Tawang Sari, Sukoharjo, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak etanol 70% daun matoa (*Pometia pinnata*J.R & G. Forst).

Variabel utama kedua adalah hasil uji toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa meliputi pemeriksaan urin, kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN), kadar kreatinin dan pemeriksaan histopatologi terhadap organ ginjal tikus putih jantan dan betina galur wistar. Variabel utama ketiga adalah hewan uji dan kondisi pengujian.

2. Klasifikasi variabel utama

Klasifikasi variabel utama dalam penelitian ini antara lain variabel bebas, variabel kendali, dan variabel tergantung.

Variabel bebas merupakan variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti, pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun matoa dalam berbagai variasi dosis yang diberikan pada tikus betina dan jantan yang diperoleh dengan cara maserasi.

Variabel terkendali merupakan variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah berat badan, usia, lingkungan tempat hidup, dan perlakuan oleh peneliti.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung pada penelitian ini efek toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa terhadap organ ginjal pada tikus jantan dan betina galur wistar dengan melalui volume urin, kreatinin darah, *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan histopatologi ginjal.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun matoa adalah daun yang diperoleh dari tanaman matoa yang berasal dari daerah Tawangsari, Sukoharjo, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun matoa adalah serbuk yang diperoleh dari hasil pengeringan, penggilingan dan pengayakan daun matoa.

Ketiga, ekstrak etanol daun matoa adalah ekstrak yang dihasilkan dari penyarian dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian dipekatkan di atas *vaccum rotary evaporator* pada suhu 50°C.

Keempat, variasi dosis ekstrak etanol daun matoa yang diujikan pada hewan uji tikus putih jantan dan betina galur wistar dengan dosis rendah adalah ekstrak etanol daun matoa sebesar 150 mg/kgBB, dosis sedang adalah ekstrak etanol daun matoa sebesar 500 mg/kgBB, dosis tinggi adalah ekstrak etanol daun matoa sebesar 1000 mg/kgBB dan dosis satelit sebesar 1000 mg/kgBB.

Kelima, uji efek toksisitas subkronik terhadap organ ginjal yang ditetapkan melalui pemeriksaan gejala toksik, secara biokimia klinis terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kadar kreatinin yang diambil dari serum darah tikus betina dan jantan galur wistar.

Keenam, uji efek toksisitas subkronik terhadap histopatologi organ ginjal pada hewan uji setelah pemberian ekstrak etanol daun matoa. Pengamatan kerusakan ginjal dilakukan dengan cara membuat preparat histopatologi, organ ginjal diambil dari hewan uji kemudian dibuat preparat histopatologi dengan metode *block paraffin* dan pengecatan *Haematoxilin Eosin*.

Ketujuh, hewan yang digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan dan betina galur wistar berumur 6-8 minggu dan berat badan 150-200 gram.

C. Bahan, Alat dan Hewan Uji

1. Bahan

1.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) dengan daun berwarna hijau buah berwarna merah dari pohon yang diperoleh dari daerah Tawangsari, Sukoharjo, Jawa Tengah.

1.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70% sebagai pelarut untuk pembuatan ekstrak daun matoa dengan metode maserasi. Bahan untuk penetapan kadar air menggunakan xylen. Bahan untuk histopatologi menggunakan larutan dapar formalin 10%, alkohol 50%, alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut, xylol, parafin cair, larutan hematoksin mayer, cat eosin, air suling. Pemeriksaan kadar BUN terdiri dari campuran 4 bagian (pereaksi A) dan 1 bagian (pereaksi B) dimana pereaksi A berisi 120 mM TRIS pH 7,8, 7mM 2-oksoglutarat, 0,6 mM ADP, ≥ 6 KU/I urease, ≥ 1 KU/I GLDH dan untuk pereaksi B berisi 0,25 mM NADH. Pemeriksaan kadar kreatinin terdiri dari campuran 4 (bagian pereaksi A) dan 1 bagian (pereaksi B) dimana pereaksi A berisi 0,16 M natrium hidroksida dan pereaksi B berisi 4,0 mM asam pikrat (BPOM 2014a).

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, penggiling, ayakan no 40, botol warna gelap, gelas ukur, corong kaca, batang pengaduk, mortir, stamper, aluminium foil, spatel, kain flanel, botol penampung, beaker glass, erlenmeyer, fotometer, penangas air, vortex, tabung reaksi, pipet eppendorf, pisau, kain kasa, botol fiksasi, botol dehidrasi, alat potong beku, mikrotom, kaca obyek, oven, alat pewarna jaringan, mikroskop binokuler, obyek glas, cover glas.

3. Hewan uji

Hewan uji dalam penelitian ini menggunakan tikus putih jantan dan betina galur wistar yang berumur 2 sampai 3 bulan dengan berat badan antara 150 - 200 gram. Pengelompokan dilakukan secara acak terdiri dari 100 ekor tikus. Pengelompokan dibagi menjadi lima kelompok yaitu 3 kelompok merupakan

perlakuan dari dosis rendah, menengah dan tinggi, 1 kelompok kontrol dan 1 kelompok satelit.

D. Metode Percobaan

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini melakukan determinasi tanaman matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) di Laboratorium Biologi Universitas Setia Budi, Surakarta. Determinasi dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diperoleh, menghindari adanya kesalahan dalam pengumpulan bahan menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

2. Pengambilan bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diambil di daerah Tawang Sari, Sukoharjo, Jawa Tengah. Bahan yang dimaksud adalah daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst).

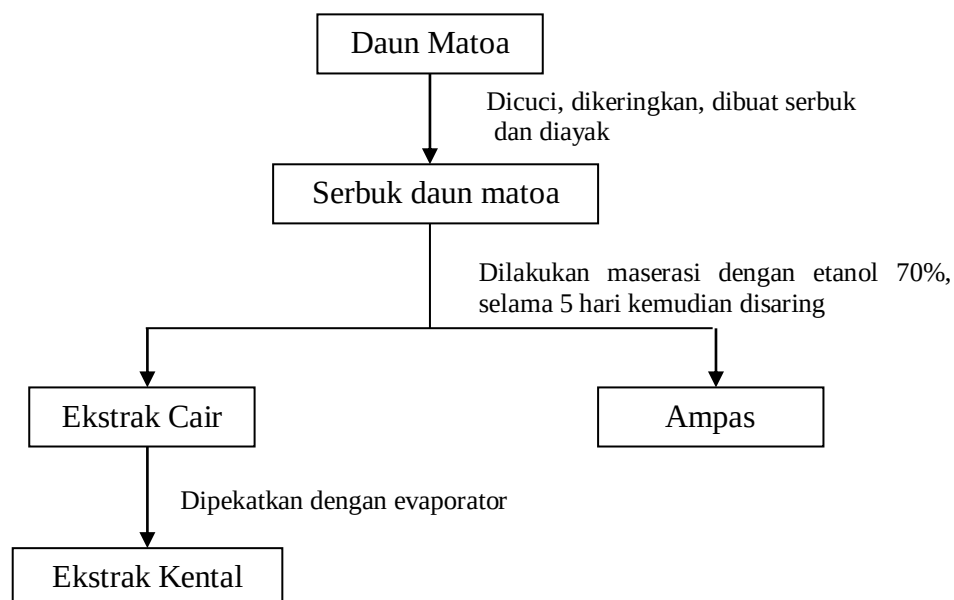
3. Pembuatan serbuk

Daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) diperoleh dalam keadaan basah, kemudian dicuci dengan air bersih yang mengalir hingga bersih dan terbebas dari kotoran, ditiriskan, dan ditimbang. Daun bersih diiris kecil-kecil kemudian dikeringkan dalam oven suhu 40-50°C sampai kering. Daun yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan mesh no. 40 sehingga diperoleh serbuk yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Hasil serbuk kering dimasukkan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian.

4. Pembuatan ekstrak etanol daun matoa

Pembuatan ekstrak etanol daun matoa dilakukan dengan metode maserasi menggunakan cairan penyari etanol 70% dengan cara mengambil daun matoa yang telah diserbuk, kemudian ditimbang sebanyak 1000 gram masukkan kedalam botol berwarna gelap berukuran 10 L dan ditambahkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 7,5L kemudian dikocok dan segera ditutup. Botol disimpan pada ruangan yang terhindar dari sinar matahari selama 5 hari sambil sering kali diaduk dan pengocokan berulang. Setelah 5 hari rendaman tersebut disaring, kemudian

ampas dibilas dengan sisa pelarut yaitu 2,5L lalu disaring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator hingga didapatkan ekstrak kental (Depkes RI 1986).



Gambar 6. Skema pembuatan ekstrak etanol daun matoa

5. Penetapan kadar air serbuk daun matoa

Penetapan kadar air serbuk daun matoa dilakukan dengan cara menimbang serbuk sebanyak 20 gram kemudian masukan kurang lebih 100 ml xylen kedalam labu, pasang rangkaian alat. Dimasukkan xylen ke dalam tabung penerima melalui alat pendingin. Panaskan labu hati-hati selama 15 menit, setelah xylen mendidih, atur penyulingan dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian air tersuling, kemudian naikkan kecepatan penyulingan hingga 4 tetes tiap detik. Lanjutkan penyulingan selama 5 menit. Tabung penerima didinginkan hingga suhu kamar. Setelah air dan xylen memisah sempurna, baca volume air. Hitung kadar air dalam persen (Mutiatikum *et al.* 2010).

6. Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan serbuk daun matoa dilakukan menggunakan alat *Moisture balance*. Serbuk daun matoa ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan dalam wadah. Suhu diatur 105°C dan tunggu sampai pemanasan berhenti. Catat hasil susut pengeringan pada alat dalam satuan persen (%)

terhadap bobot awal. Penetapan susut pengeringan dilakukan sebanyak 3 kali. Kadar air yang memenuhi syarat jika kadar air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10% (Raharjo 2014).

7. Tes bebas etanol ekstrak daun matoa

Tes bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol daun matoa sudah tidak mengandung etanol, yaitu dengan cara melakukan reaksi esterifikasi alkohol. Ekstrak daun matoa ditambah dengan asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, bila tidak ada bau ester yang khas senyawa etanol menunjukkan bahwa ekstrak tersebut sudah bebas dari senyawa etanol (Wahyuningsih 2010).

8. Pembuatan larutan suspensi CMC Na 0,5%

Larutan CMC Na dengan konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara melarutkan serbuk CMC Na sebanyak 0,5 gram dan dilarutkan dengan air panas kemudian ditambahkan aquades hingga volume 100 ml.

9. Identifikasi kualitatif

9.1 Identifikasi flavonoid. Serbuk dan ekstrak daun matoa sebanyak 2 mg diencerkan dengan 1 ml etanol, kemudian ditambah 0,1 g serbuk magnesium (Mg P) dan 1 ml HCL pekat kemudian dilarutkan dengan amyl alkohol. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1979).

9.2 Identifikasi saponin. Serbuk dan ekstrak daun matoa ditambah air panas 10 ml, dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif bila terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Robinson 1995).

9.3 Identifikasi tanin. Serbuk dan ekstrak daun matoa ditimbang sebanyak masing-masing 0,5 g dilarutkan 10 ml akuades kemudian disaring dan filtrat ditambah 3 tetes FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Setyowati *et al.* 2014).

10. Prosedur toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa

10.1 Penetapan hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih dengan berat 150-200 gram dengan usia 6-8 minggu, tikus yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina galur wistar. Tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal, tikus yang digunakan sebanyak 100 ekor secara acak dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 20 ekor (10 ekor jantan dan 10 ekor betina), sebelumnya tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 14-18 jam dengan diberi air minum. Sebelum penelitian dimulai, tikus diaklimatisasi selama lebih kurang 7 hari (BPOM 2014a).

10.2 Penetapan dosis dan lama pemberian. Sediaan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun matoa dan larutan CMC Na 0,5%. Volume maksimal larutan uji yang dapat diberikan pada tikus secara oral sebesar 5 ml. Dosis sediaan uji ekstrak etanol daun matoa yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan dosis ekstrak etanol daun matoa yang digunakan sebagai antihipertensi yaitu dosis 150 mg/kgBB (Purwidianingrum 2017a). Dosis yang digunakan pada penelitian ini dibuat dengan tiga variasi dosis yaitu dosis rendah (150 mg/kgBB), dosis sedang (500 mg/kgBB), dosis tinggi (1000 mg/kgBB) dan kelompok satelit dengan dosis 1000 mg/kgBB. Sediaan uji akan diberikan setiap hari selama 90 hari (BPOM 2014a).

10.3 Monitoring berat badan. Berat badan hewan ditimbang diawal sebelum pengujian toksisitas subkronik dilakukan. Monitoring kenaikan berat badan dilakukan seminggu dua kali untuk mengetahui efek toksisitas ekstrak etanol daun matoa yang dapat mempengaruhi berat badan hewan uji. Hewan ditimbang setiap hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan (BPOM 2014a).

10.4 Pengamatan gejala toksik. Pengamatan gejala toksisitas yaitu pengamatan urinasi dilakukan selama 90 hari, sedangkan untuk kelompok satelit dilanjutkan selama 28 hari namun tanpa pemberian sediaan uji untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali. Bila terdapat tikus yang mati maka dilakukan pembedahan dan dilakukan penimbangan organ (BPOM 2014a).

10.5 Pengambilan darah. Pengambilan darah dilakukan pada awal pengujian (t_0), (t_{90}) dan (t_{118} untuk kelompok satelit). Darah diambil dari vena mata secara perlahan-lahan menggunakan mikropipet sebanyak 3 mL, satu mikropipet digunakan untuk satu hewan. Darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan BUN dan kreatinin (BPOM RI 2014a)

10.6 Pemeriksaan kadar kreatinin. Pemeriksaan kadar kreatinin darah dilakukan pada awal pengujian (t_0), (t_{90}) dan (t_{118}) untuk kelompok satelit dengan metode *kinetic test without deproteinisation Jaffe*. 50 μL serum uji direaksikan dengan 1000 μL pereaksi uji untuk pemeriksaan kreatinin dalam tabung reaksi, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Tepat setelah 60 detik dihomogenkan, absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C panjang gelombang 492 nm (A1), diukur lagi absorbansi tepat setelah 120 detik (A2). Hal yang sama dilakukan terhadap blangko (pereaksi dan aquadestilata) dan standar (pereaksi dan standar kreatinin). Kadar kreatinin dapat dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dengan absorbansi kreatinin standar yang dikalikan dengan konsentrasi kreatinin standar (BPOM 2014a).

10.7 Pemeriksaan kadar Blood Urea Nitrogen (BUN). Prosedur pemeriksaan kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) dilakukan pada awal pengujian (t_0), (t_{90}) dan (t_{118} untuk kelompok satelit) dengan metode *Enzymatic UV test, Urease-GLDH*. 10 μL serum uji direaksikan dengan 1000 μL pereaksi uji untuk pemeriksaan BUN dalam tabung reaksi, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Pada detik ke 30 absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C dengan panjang gelombang 340 nm (A1), diukur lagi absorbansi tepat pada detik ke 60 sebagai (A2). Hal yang sama dilakukan terhadap blangko (pereaksi dan aquadestilata) dan standar (pereaksi dan standar nitrogen urea). Kadar nitrogen urea dapat dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dengan absorbansi nitrogen urea standar yang dikalikan dengan konsentrasi nitrogen urea standar (BPOM 2014a).

10.8 Penimbangan organ. Penimbangan organ dilakukan pada hari terakhir perlakuan hewan uji dikorbankan, kemudian dibedah untuk diambil organ ginjal. Organ yang akan ditimbang harus dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan bobot absolut. Menurut BPOM (2014a) bobot organ relatif (indeks massa organ) dapat diperoleh dengan rumus berikut :

$$\text{Bobot Relatif Organ} = \frac{\text{bobot organ absolut}}{\text{bobot badan}}$$

10.9 Tindakan mematikan hewan. Tindakan mematikan hewan uji ini dilakukan dengan cara inhalasi CO₂. Hewan uji diletakkan pada sebuah wadah tertutup yang dialiri gas CO₂ secara bertahap sampai hewan tidak sadarkan diri dan mati (Batan 2011).

10.10 Pengamatan makropatologi. Pengamatan makropatologi pada hewan uji, hewan yang telah dikorbankan harus segera diotopsi dan dilakukan pengamatan secara makropatologi secara seksama untuk setiap organ, organ yang diamati yaitu ginjal (BPOM 2014a).



Kelompok I

Kelompok II

Gambar 7. Gambaran Makropatologis organ ginjal (Windhartono 2013)

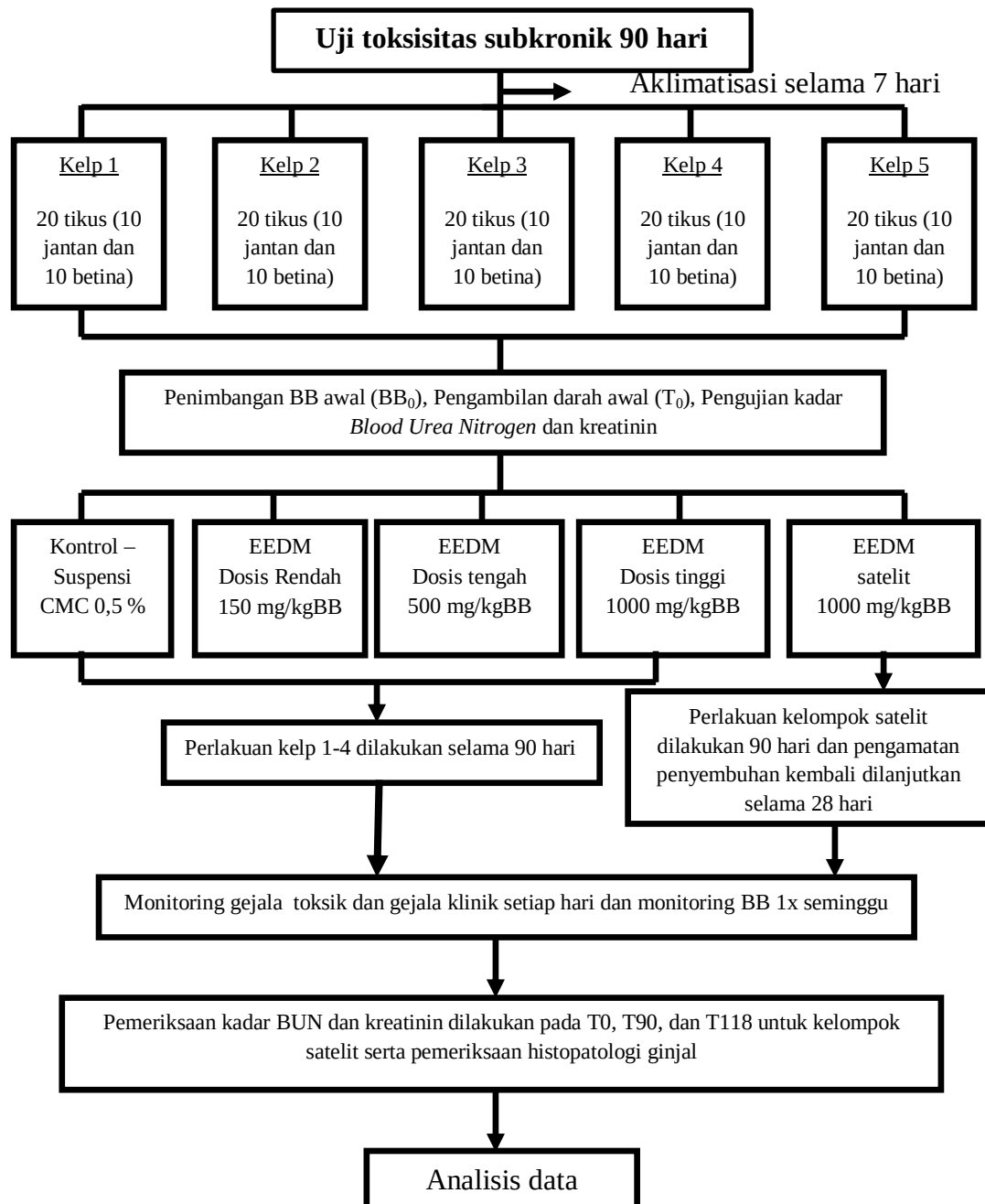
10.11 Pemeriksaan histopatologi. Prosedur pemeriksaan histopatologi organ ginjal yaitu fiksasi pertama organ ginjal direndam didalam larutan dapar formalin 10% sambil digoyang dan didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Kemudian organ ginjal dipotong kasar dan fiksasi kedua potongan organ ginjal direndam didalam formalin minimal selama 3 hari. Untuk menghilangkan sisa formalin organ ginjal dicuci dengan air mengalir secara terus menerus selama paling sedikit 6 jam. Proses dehidrasi dilakukan dengan memasukkan organ kedalam larutan alkohol bertingkat (alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%

alkohol absolut I, alkohol absolut II) masing-masing selama 2 jam. Langkah selanjutnya adalah penjernihan atau *clearing*, organ dimasukkan ke dalam xilol I, xilol II, dan xilol III masing-masing 30 menit. Langkah selanjutnya pemberisihan organ ginjal dengan perendaman didalam paraffin cair di bejana dengan suhu 56 – 58°C pada lemari pemanas selama 30 menit. Pembuatan sediaan blok dengan cawan porselin dipanaskan diatas api bunsen, parafin cair dituangkan ke dalam cawan dan dimasukkan organ ginjal, kemudian dibiarkan membeku dan blok parafin dipotong. Potongan organ dipotong menjadi sayatan tipis dengan ketebalan 3-5 mpu menggunakan mikrotom, sayatan organ ginjal pada kaca obyek diletakkan segera pada permukaan pemanas dengan suhu 56 – 58°C selama kurang lebih 10 detik, kemudian preparat organ ginjal disimpan dalam suhu kamar ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) untuk dilakukan pewarnaan (Tampubol 2014).

Pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada organ ginjal untuk melihat gambaran histopatologi dengan mewarnai intisel dan sitoplasma. Pewarnaan dapat dilakukan dengan mencelupkan jaringan ke dalam larutan xilol I dan II masing-masing selama 2 menit, alkohol absolut selama 2 menit, alkohol 90% dan alkohol 80% masing-masing selama 1 menit, dengan etanol 70%. Cuci dengan air mengalir selama 1 menit, selanjutnya direndam dalam larutan hematoksilin Mayer selama 8 menit, dicuci dalam air mengalir selama 30 detik. Rendam jaringan pada larutan lithium karbonat selama 15 detik, dan kembali dicuci dengan air mengalir selama 2 menit. Pewarnaan dengan eosin 1% selama 3 menit, dicuci dengan air mengalir selama 30 detik. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan mencelupkan dalam alkohol 95% sebanyak 10 kali celupan, alkohol absolut I sebanyak 10 kali celupan dan alkohol absolut II selama 2 menit. Terakhir dimasukkan ke dalam xilol I selama 1 menit dan xilol II selama 2 menit, lalu sediaan dikeringkan. Kemudian kaca obyek ditutup dengan kaca penutup memakai perekat eukit. Preparat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran yang sesuai (Tampubol 2014).

E. Analisis Data

Data diperoleh dengan menghitung kadar *Blood Urea Nitrogen* dan kadar kreatinin pada (t_0), (t_{90}) dan (t_{118}) untuk kelompok satelit), histopatologi organ ginjal pada akhir pengujian. Selanjutnya data dianalisis dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, sedangkan kehomogenitasan variannya diuji dengan uji *Levene*. Apabila $P > 0,05$ maka distribusi normal dan homogenitasnya untuk tiap varian, dilakukan uji parametrik dengann uji Anova satu jalan, apabila $P < 0,05$ maka data terdistribusi normal dan dilakukan uji *Levene*. Dan jika perbedaannya bermakna, dilanjutkan dengan *Tukey* dengan taraf kepercayaan 95%. Apabila data terdistribusi tidak normal, dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.



Gambar 8. Skema uji toksisitas subkronik ekstrak etanol daun matoa

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Matoa

1. Determinasi tanaman matoa

Tanaman matoa sebelum digunakan sebagai bahan penelitian terlebih dahulu di determinasi. Determinasi dilakukan di laoratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil determinasi tanaman matoa menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar tanaman matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G.Frost) berdasarkan *Backer : Flora of Java* dengan kode 1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24a – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33b – 35a – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a – 78b – 103b – 104a – 106a – 107a – 108b – 109a – 110b – 115a – 116b – 117b – 118c. Familia 137. *Sapindaceae*. 1b – 2b – 4a – 5a – 6b. 16. *Pometia*. 1a. *Pometia pinnata* J.R. & G.Frost Diskripsi lengkap dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan sampel, pengeringan dan pembuatan serbuk

Daun matoa yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari tanaman matoa di daerah Tawang Sari, Sukoharjo, Jawa Tengah. Hasil penimbangan berat basah daun matoa sebanyak 40 kg didapatkan berat kering daun matoa sebesar 18 kg sehingga didapatkan hasil rendemen sebesar 45 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen daun matoa

berat basah (kg)	Berat kering (kg)	Rendemen (%)
40	18	45

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance* dengan mengukur kelembapan menggunakan suhu 105°C agar kadar air menguap. Hasil penetapan susut pengeringan sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan daun matoa

No	Berat (g)	Kadar (%)
1	2	8,0
2	2	8,5
3	2	9,0
Rata-rata $\pm$ SD		8,5 % $\pm$ 0,5

Hasil penetapan susut pengeringan berdasarkan tabel diatas dengan menggunakan alat *moisture balance* memenuhi syarat dengan susut pengeringan tidak lebih dari 10% yaitu 8,5% (Raharjo 2014).

4. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia

Identifikasi senyawa kimia dilakukan untuk membuktikan adanya senyawa flavonoid, tanin dan saponin pada serbuk dan ekstrak etanol daun matoa. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk dan ekstrak etanol daun matoa

Golongan	Pustaka	Interpretasi Data	
		Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1979)	+	+
Saponin	Buih yang mantap setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Robinson 1995)	+	+
Tanin	warna hijau kehitaman (Setyowati <i>et al.</i> 2014).	+	+

Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol daun matoa tersebut mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin sesuai dengan jurnal yang dipaparkan oleh Suedee *et.al* 2013. Penelitian lain juga menuturkan daun matoa mengandung flavonoid, tanin dan saponin (Rahimah *et al.* 2013). Pada identifikasi kandungan senyawa saponin terdapat busa yang tidak hilang setelah ditambahkan HCl, timbulnya busa tersebut menunjukkan adanya glikosida pada daun matoa yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih didalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Pengamatan hasil identifikasi senyawa flavonoid bereaksi dengan serbuk magnesium dan dengan bantuan HCl pekat membentuk kompleks dengan gugus flavonoid

berwarna jingga, sedangkan senyawa tanin memberikan warna hijau kehitaman disebabkan karena tanin bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks (Setyowati 2014).

5. Hasil penetapan kadar air

Penetapan kadar air serbuk daun matoa dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun matoa

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20	0,9	4,5
2	20	0,8	4
3	20	0,9	4,5
Rata – rata $\pm$ SD			4,3 $\pm$ 0,289

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penetapan kadar air serbuk daun matoa memenuhi syarat yaitu sebesar 4,3% sehingga tidak melebihi 10% (BPOM 2014b). Hal ini bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri dan jamur pada tahap penyimpanan (Syafitri 2014). Hasil perhitungan presentase rata – rata kadar air serbuk daun matoa dapat dilihat pada lampiran 4.

6. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun matoa

Pembuatan ekstrak etanol daun matoa dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak daun matoa

Berat ekstrak (gram)	Berat serbuk (gram)	Rendemen (%)
320	1000	32

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel bahwa presentase rendemen ekstrak daun matoa sebesar 32%. Tingginya rendemen ekstrak dipengaruhi oleh konsentrasi pelarut, dimana semakin tinggi konsentrasi etanol maka akan semakin rendah rendemen ekstrak yang di dapat. Perhitungan lengkap dapat dilihat pada lampiran 5.

7. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun matoa

Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun matoa dilakukan dengan menggunakan tes esterifikasi dengan tujuan kandungan alkohol yang ada di ekstrak daun matoa telah hilang sehingga tidak mempengaruhi hasil pengujian toksisitas. Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun matoa dilakukan dengan cara menambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kedalam cawan porselen yang berisi ekstrak etanol daun matoa lalu dipanaskan. Hasil yang di dapat menunjukkan tidak adanya bau ester yang khas, sehingga dapat disimpulkan bahwa sudah tidak ada lagi alkohol didalam ekstrak tersebut.

B. Hasil Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Daun Matoa

1. Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dan betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan antara 150 – 200 gram seanyak 100 tikus yang diperoleh dari peternakan hewan di Surakarta. Tikus sebelum dilakukan uji toksisitas diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan yang ditempati. Surat hewan uji dapat dilihat pada lampiran 7.

2. Perhitungan dosis uji

Pembagian kelompok dosis dibagi dengan 5 kelompok yaitu kelompok pertama kontrol negatif dengan menggunakan larutan CMC Na 0,5%. Kelompok dosis selanjutnya yang diberikan pada hewan uji adalah dosis rendah sebesar 150 mg/kgBB, dosis sedang sebesar 500 mg/kgBB, dosis tinggi sebesar 1000 mg/kgBB dan dosis satelit sebesar 1000 mg/kgBB. Pemberian sediaan pada hewan uji berdasarkan berat badan hewan uji. Perhitungan dosis dapat dilihat pada lampiran 10.

3. Pengamatan volume urin

Pengamatan dilakukan dengan mengukur volume urin untuk melihat adanya gangguan pada saluran urinasi yang berhubungan dengan adanya

gangguan di ginjal. Tabel 6 menunjukkan rata-rata volume urin hewan uji. Data urinasi dapat dilihat pada lampiran 17.

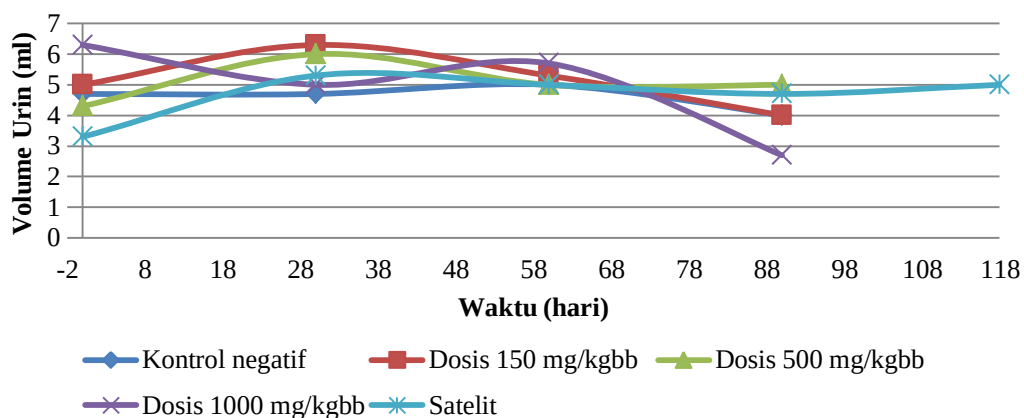
Tabel 6. Hasil rata-rata volume urin tikus

Kelompok Perlakuan	Rata-rata volume urin (ml) $\pm$ SD				
	Waktu ke-				
	T0	T30	T60	T90	T118
JANTAN					
Kelompok Kontrol negatif	4,7 $\pm$ 3,1	4,7 $\pm$ 2,1	5,0 $\pm$ 3,0	4,0 $\pm$ 1,7	
Kelompok 150 mg/kgbb	5,0 $\pm$ 4,6	6,3 $\pm$ 4,2	5,3 $\pm$ 2,1	4,0 $\pm$ 1,0	
Kelompok 500 mg/kgbb	4,3 $\pm$ 3,2	6,0 $\pm$ 2,0	5,0 $\pm$ 1,0	5,0 $\pm$ 1,0	
Kelompok 1000 mg/kgbb	6,3 $\pm$ 5,1	5,0 $\pm$ 2,0	5,7 $\pm$ 2,1	2,7 $\pm$ 1,5	
Kelompok satelit	3,3 $\pm$ 2,5	5,3 $\pm$ 1,5	5,0 $\pm$ 1,0	4,7 $\pm$ 2,5	5,0 $\pm$ 1,0
BETINA					
Kelompok Kontrol negatif	4,3 $\pm$ 3,2	3,7 $\pm$ 1,5	4,7 $\pm$ 2,5	3,7 $\pm$ 0,6	
Kelompok 150 mg/kgbb	4,7 $\pm$ 3,2	6,3 $\pm$ 3,2	4,7 $\pm$ 2,5	4,0 $\pm$ 1,0	
Kelompok 500 mg/kgbb	5,0 $\pm$ 3,6	5,7 $\pm$ 1,5	4,3 $\pm$ 2,1	4,0 $\pm$ 1,0	
Kelompok 1000 mg/kgbb	5,7 $\pm$ 2,1	4,7 $\pm$ 4,0	5,3 $\pm$ 1,5	4,0 $\pm$ 2,6	
Kelompok satelit	3,7 $\pm$ 2,5	4,7 $\pm$ 1,5	4,7 $\pm$ 1,5	3,7 $\pm$ 1,5	3,3 $\pm$ 1,5

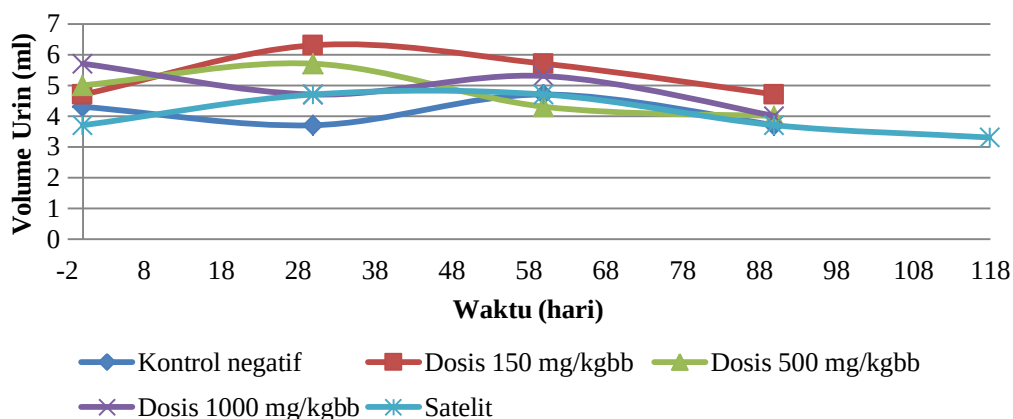
Keterangan :

T0 : penampungan hari ke-0 (sebelum perlakuan)
T30 : penampungan hari ke-30
T60 : penampungan hari ke-60
T90 : penampungan hari ke-90
T118 : penampungan hari ke-118 (kelompok satelit)

Berdasarkan uji statistik terhadap volume urin hewan uji jantan dan betina yang diperoleh selama perlakuan menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ($p>0,05$) setiap bulan, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun matoa tidak berpengaruh terhadap urinasi tikus jantan dan betina. Hasil analisis dapat dilihat pada lampiran 20



Gambar 9. Grafik volume urin tikus jantan



Gambar 10. Grafik volume urin tikus betina

Berdasarkan grafik pada gambar 9 dan 10, terlihat volume urin pada masing-masing kelompok mengalami penurunan dan peningkatan. Pada hewan uji jantan, kelompok kontrol negatif, kelompok uji dosis 150 mg/kgbb, 500 mg/kgbb dan kelompok satelit mengalami peningkatan volume urin pada bulan pertama, selanjutnya pada bulan kedua sampai dengan bulan keempat mengalami penurunan volume urin, sedangkan pada dosis 1000 mg/kgbb pada bulan pertama mengalami penurunan volume urin, lalu pada bulan kedua sampai dengan bulan keempat mengalami peningkatan dan penurunan volume urin. Pada hewan uji betina, semua kelompok baik kontrol negatif dan kelompok uji pada bulan kedua sampai bulan keempat masing-masing kelompok mengalami peningkatan dan penurunan volume urin. Penurunan volume urin pada hewan uji dapat disebabkan karena konsumsi air minum yang tidak terlalu banyak dan dapat juga disebabkan adanya jumlah nefron yang berkurang, nefron yang sehat akan bekerja menggantikan kerja nefron yang sudah rusak sehingga menyebabkan penurunan laju filtrat glomerulus dan turunnya fungsi ginjal (Martino dan Satino 2014).

4. Hasil pemeriksaan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN)

Hasil pemeriksaan kadar BUN pada tikus dilakukan pada awal sebelum perlakuan, akhir perlakuan hari ke 90 untuk kelompok uji dan hari ke 118 untuk kelompok satelit. Kadar BUN dalam darah menunjukkan adanya keseimbangan antara pembentukan ureum dengan ekskresi ureum oleh ginjal. Kadar urea akan

meningkat karena adanya penurunan proses filtrasi glomerulus menunjukkan apabila adanya gangguan fungsi ginjal (Sherwood 2002). Hasil rata-rata kadar BUN dapat dilihat di tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata kadar BUN pada tikus

Kelompok perlakuan	Rata-rata kadar BUN (mg/dl) $\pm$ SD		
	Waktu ke-		
	T0	T90	T118
Jantan			
Kontrol negatif	25,10 $\pm$ 13,45	28,83 $\pm$ 3,94	
150 mg/kgbb	29,50 $\pm$ 14,54	38,50 $\pm$ 7,62	
500 mg/kgbb	30,60 $\pm$ 11,61	38,14 $\pm$ 9,25	
1000 mg/kgbb	28,68 $\pm$ 12,80	39,20 $\pm$ 10,71	
Satelit	29,42 $\pm$ 13,13	39,25 $\pm$ 3,50	29,50 $\pm$ 7,59
Betina			
Kontrol negatif	32,60 $\pm$ 18,60	35,13 $\pm$ 13,74	
150 mg/kgbb	35,40 $\pm$ 11,93	47,17 $\pm$ 12,46	
500 mg/kgbb	36,90 $\pm$ 13,96	46,75 $\pm$ 10,31	
1000 mg/kgbb	36,30 $\pm$ 9,99	54,29 $\pm$ 8,22*	
Satelit	37,90 $\pm$ 15,10	49,13 $\pm$ 7,16	39,00 $\pm$ 9,13

Keterangan

T0 : Pemeriksaan kadar BUN hari ke-0

T90 : Pemeriksaan kadar BUN hari ke-90

T118 : Pemeriksaan kadar BUN hari ke-118 (kelompok satelit)

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$)

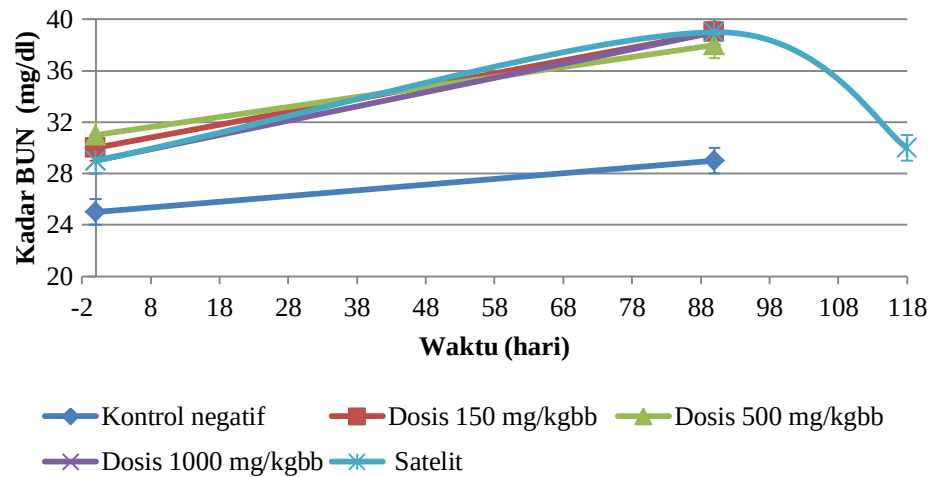
Hasil data pemeriksaan T0 kadar BUN pada hewan uji jantan dan betina dianalisis dengan statistik, diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan analisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan tidak ada perbedaan yang bermakna.

Hasil data dari T90 pada kelompok hewan uji jantan yang diuji dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), lalu dilanjutkan dengan uji homogenitas dinilai dari uji *Levene* dengan signifikansi ($p > 0,05$), selanjutnya analisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan tidak adanya perbedaan kadar BUN antara kontrol negatif dengan kelompok perlakuan sediaan uji. Kelompok hewan uji betina yang diuji dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), lalu dilanjutkan dengan uji homogenitas dinilai dari uji *Levene* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) dan analisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan terjadi perbedaan kadar BUN antara kontrol negatif

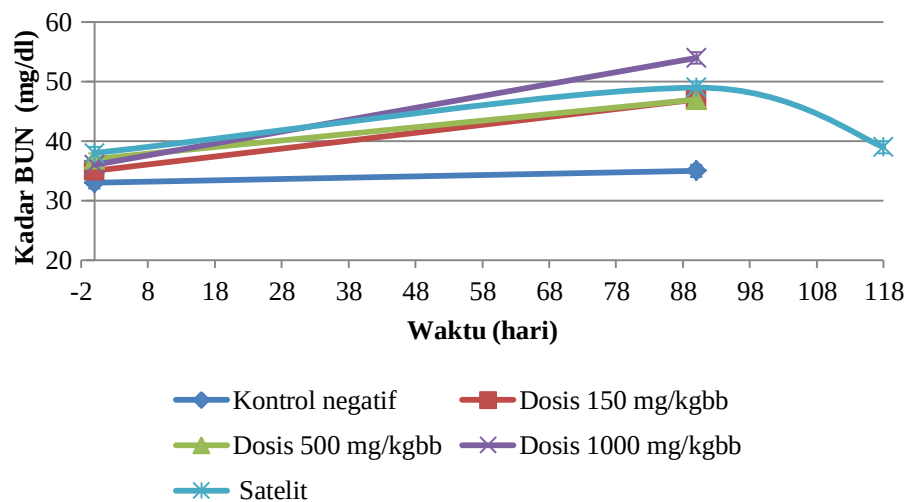
dengan kelompok perlakuan sediaan uji. Uji *Pos Hoc Tukey* dilakukan untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada hasil analisa di *Pos Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan uji dosis 1000 mg/kgbb, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun matoa pada dosis 1000 mg/kgbb dapat mempengaruhi kadar BUN hewan uji betina pada hari ke-90. Menurut Rahmawati (2016) kadar BUN normal berkisar antara 11-28 mg/dL, pada awal pemeriksaan kadar BUN tidak berada pada rentang normal sehingga perhitungan kadar BUN tidak merujuk pada nilai normal melainkan pada kadar BUN sebelum perlakuan. Peningkatan kadar BUN dari hewan uji jantan maupun betina tidak mencapai dua kali lipat dari kadar BUN sebelum perlakuan sehingga tidak menunjukkan adanya gangguan fungsi ginjal (Tantri 2011).

Hasil data kadar BUN T118 untuk kelompok satelit dianalisis dengan menggunakan *Paired T-Test*, uji ini digunakan karena subjek perlakuan yang sama namun diberikan perlakuan yang berbeda. Uji ini dilakukan dengan tujuan mengetahui apakah ada perubahan atau reversibilitas antara kelompok satelit di waktu 90 hari dengan kelompok satelit di waktu 118 hari. Hasil analisis yang didapat pada data hewan uji jantan dengan nilai probabilitas $\geq 0,025$ yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok satelit yang diberikan sediaan uji terhadap kelompok satelit yang sudah tidak diberikan sediaan uji walaupun pada rata-rata kadar BUN T118 mengalami penurunan, hal tersebut dikarenakan pada hasil statistik hari ke-90 tidak menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan. Hasil analisis pada hewan uji betina nilai probabilitas $\leq 0,025$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara kelompok satelit yang diberikan sediaan uji terhadap kelompok satelit yang sudah tidak diberikan sediaan uji, ini menunjukkan bahwa pada kelompok satelit betina mengalami penurunan kadar BUN. Selanjutnya, data dari kelompok satelit T118 dibandingkan dengan data kelompok satelit T0 untuk melihat apakah efek reversibilitas dari kelompok tersebut dapat kembali sampai ke nilai normal. Hasil analisis yang didapat pada kadar BUN hewan uji jantan dan betina dengan nilai probabilitas $\geq 0,025$ yang artinya kadar BUN dari kelompok satelit T0 dan T118 tidak berbeda secara nyata,

hal ini menunjukkan bahwa kelompok satelit jantan dan betina mengalami reversibilitas sampai pada titik normal. Hasil analisis dari SPSS dapat dilihat pada lampiran 20.



Gambar 11. Grafik kadar BUN jantan



Gambar 12. Grafik kadar BUN betina

Berdasarkan grafik gambar 11 dan 12 dapat diketahui mengalami peningkatan sampai hari ke-90, namun pada kelompok hewan uji jantan kenaikan kadar BUN hampir sama samapai hari ke-90. Pengukuran dilanjutkan pada hari ke-118 untuk kelompok satelit dari hewan uji jantan maupun betina mengalami penurunan karena sifat reversibel. Peningkatan kadar BUN dalam darah yang dialami oleh hewan uji baik jantan maupun betina dapat terjadi karena masuknya

ekstrak etanol daun matoa ke dalam tubuh yang mengakibatkan semakin beratnya kerja ginjal, dehidrasi, dan menurunnya suplai darah ke ginjal (Sutedjo 2009).

5. Hasil pemeriksaan kadar kreatinin

Uji kadar kreatinin dilakukan untuk mengetahui tingkat fungsi ginjal yang apabila kadar kreatinin dalam darah meningkat maka fungsi ginjal akan menurun. Menurut Alfonso (2016), serum kreatinin merupakan indikator kuat bagi fungsi ginjal, dimana peningkatan kadar kreatinin dua kali lipat meningkat dari kadar normal menunjukkan penurunan fungsi ginjal sebesar 50% demikian juga peningkatan kadar kreatinin serum tiga kali lipat menunjukkan penurunan fungsi ginjal sebesar 75%. Hasil analisa kadar kreatinin dapat dilihat di tabel 8.

Tabel 8. Rata-rata kadar kreatinin pada tikus

Kelompok perlakuan	Rata – rata kadar kreatinin (mg/dl) $\pm$ SD		
	Waktu ke-		
	T0	T90	T118
JANTAN			
Kelompok Kontrol negatif	0,67 $\pm$ 0,22	0,80 $\pm$ 0,21	
Kelompok 150 mg/kgbb	0,68 $\pm$ 0,19	0,92 $\pm$ 0,23	
Kelompok 500 mg/kgbb	0,61 $\pm$ 0,18	0,96 $\pm$ 0,11	
Kelompok 1000 mg/kgbb	0,57 $\pm$ 0,12	1,08 $\pm$ 0,13	
Kelompok satelit	0,59 $\pm$ 0,13	1,10 $\pm$ 0,18	0,75 $\pm$ 0,13
BETINA			
Kelompok Kontrol negative	0,74 $\pm$ 0,03	0,93 $\pm$ 0,16	
Kelompok 150 mg/kgbb	0,76 $\pm$ 0,12	1,18 $\pm$ 0,16	
Kelompok 500 mg/kgbb	0,76 $\pm$ 0,17	1,13 $\pm$ 0,23	
Kelompok 1000 mg/kgbb	0,75 $\pm$ 0,12	1,17 $\pm$ 0,18	
Kelompok satelit	0,70 $\pm$ 0,15	1,18 $\pm$ 0,13	0,86 $\pm$ 0,13

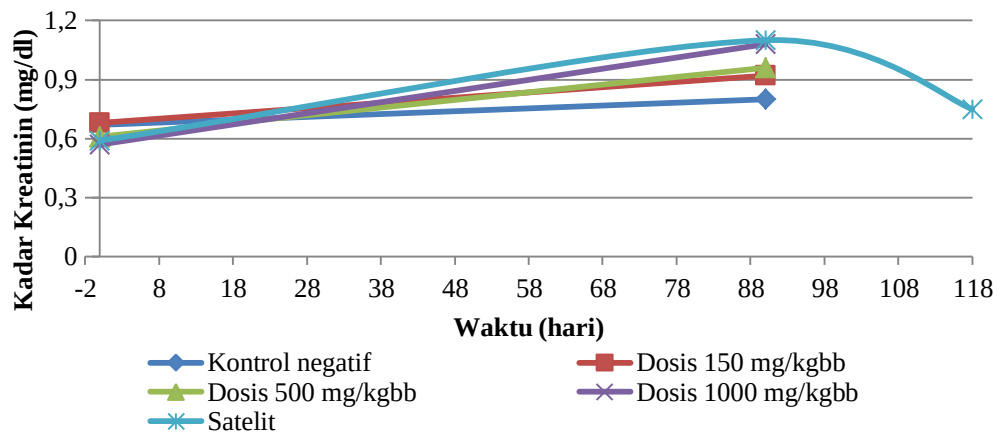
Keterangan :

T0 : Pemeriksaan kadar kreatinin hari ke-0
T90 : Pemeriksaan kadar kreatinin hari ke-90
T118 : Pemeriksaan kadar kreatinin hari ke-118

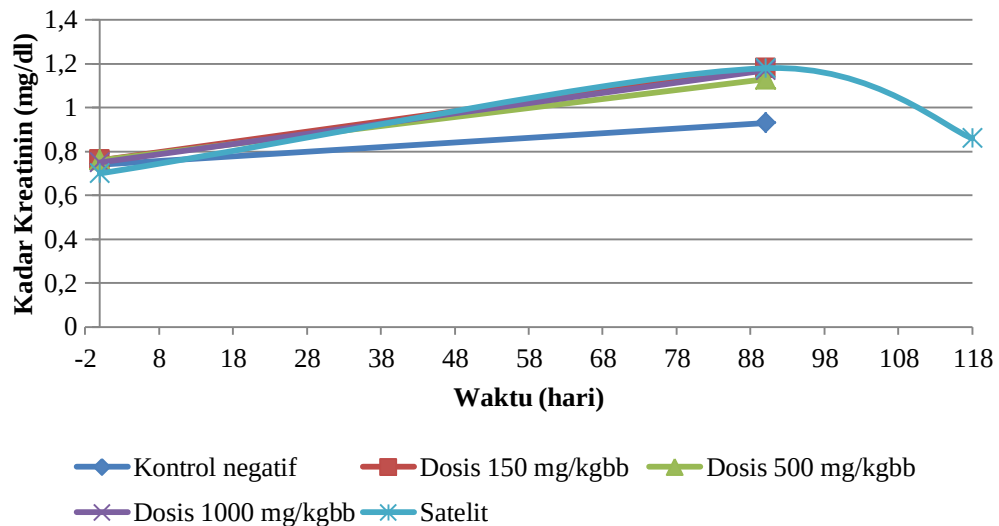
Hasil pemeriksaan kadar kreatinin pada hewan uji jantan dan betina dianalisis dengan statistik, diawali dengan pemeriksaan T0 kadar kreatinin pada hewan uji jantan dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan uji homogenitas dinilai dari uji *Levene* dengan signifikansi ($p < 0,05$). Analisis nonparametrik uji *Kruskal Wallis* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) sehingga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan uji. Sedangkan pemeriksaan T0 hewan uji betina dianalisis dengan menggunakan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi

tidak normal ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan analisis nonparametrik yaitu uji *Kruskal Wallis* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) sehingga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan uji. Pada hasil data T90 kadar kreatinin hewan uji jantan dan betina dianalisis dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan analisis *One Way Anova* dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa pada kadar kreatinin hewan uji jantan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan tidak ada perbedaan yang bermakna. Pada analisis data kadar kreatinin hewan uji betina analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p < 0,05$), namun pada hasil uji *Pos Hoc Tukey* tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, hal tersebut dikarenakan peningkatan kadar kreatinin yang tidak signifikan. Hal ini berarti ekstrak etanol daun matoa tidak berpengaruh pada kenaikan kadar kreatinin pada hewan uji jantan maupun betina.

Data hasil T118 untuk kelompok satelit dianalisis dengan menggunakan *Paired T-Test*, uji ini digunakan karena subjek perlakuan yang sama namun diberikan perlakuan yang berbeda. Hasil analisis yang didapat pada data T90 yang dibandingkan dengan T118 dari hewan uji jantan dan betina dengan nilai probabilitas $\leq 0,025$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara kelompok satelit yang diberikan sediaan uji terhadap kelompok satelit yang sudah tidak diberikan sediaan uji, ini menunjukkan bahwa pada kelompok satelit jantan dan betina mengalami penurunan kadar kreatinin. Selanjutnya, data dari kelompok satelit T118 yang dibandingkan dengan data kelompok satelit T0 dengan hasil analisis yang didapat pada hewan uji jantan dan betina dengan nilai probabilitas $\leq 0,025$ yang artinya kadar kreatinin dari kelompok satelit T0 dan T118 pada hewan uji betina berbeda secara nyata, hal tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok satelit jantan dan betina tidak mengalami reversibilitas sampai ke titik normal. Data kadar kreatinin lengkap dapat dilihat pada Lampiran 14.



Gambar 13. Grafik kadar kreatinin jantan



Gambar 14. Grafik kadar kreatinin betina

Berdasarkan gambar 13 dan 14 dapat diketahui adanya kenaikan kadar kreatinin pada kelompok hewan uji jantan dan betina dari awal hingga akhir diberikannya sediaan uji. Kelompok hewan uji jantan pada kelompok dosis 1000 mg/kgbb dan kelompok satelit grafik kadar kreatinin lebih tinggi dari kelompok dosis lain, sedangkan pada kelompok hewan uji betina kenaikan kadar kreatinin nampak sama. Bulan keempat kelompok satelit dari hewan uji jantan maupun betina mengalami penurunan karena sifat reversibel. Kenaikan kadar kreatinin dapat terjadi karena masuknya zat asing berupa ekstrak etanol daun matoa ke dalam tubuh yang menyebabkan beratnya kerja ginjal sehingga membuat kadar

kreatinin dalam darah meningkat. Hasil analisis SPSS secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 20.

6. Hasil pengamatan persen indeks organ relatif dan makropatologi ginjal

Berat organ relatif merupakan berat organ absolut dibanding berat badan (BPOM RI 2014a). Pemeriksaan persen indeks organ relatif ginjal dilakukan dengan cara menimbang bobot organ kemudian melakukan perhitungan dengan cara membagi bobot organ dengan berat badan hewan uji dan dikalikan dengan 100 % untuk mencari persen indeks organ relatif ginjal.

Tabel 9. Hasil persentase indeks organ dan gambaran makropatologi ginjal pada tikus jantan dan betina di akhir penelitian

Kelompok Perlakuan	Rata-rata %Indeks organ	Makropatologi	
		Warna	Permukaan
JANTAN			
Kelompok Kontrol negatif	0,89±0,08	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok 150 mg/kgbb	1,03 ±0,21	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok 500 mg/kgbb	0,84 ±0,15	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok 1000 mg/kgbb	0,73 ±0,14	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok satelit	0,72 ±0,19	Merah kecoklatan	Licin
BETINA			
Kelompok Kontrol negative	0,65 ±0,03	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok 150 mg/kgbb	0,87 ±0,13	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok 500 mg/kgbb	0,63 ±0,04	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok 1000 mg/kgbb	0,76 ±0,14	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok satelit	0,71 ±0,10	Merah kecoklatan	Licin

Data pengamatan persen indeks organ ginjal hewan uji jantan dan betina yang diperoleh dianalisis secara statistik diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p>0,05$), dan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene* nilai signifikan ($p>0,05$), selanjutnya dianalisis dengan *One Way Anova* nilai signifikan ($p>0,05$). Persen indeks organ ginjal dari kelompok uji jantan dan betina menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun matoa tidak berpengaruh terhadap persen indeks organ ginjal tikus jantan dan betina. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 20.

Pengamatan organ ginjal secara makropatologi dilakukan untuk melihat adanya perubahan pada organ, baik itu dari warna, permukaan dan bentuk. Organ ginjal memiliki bentuk seperti kacang merah, warna merah kecoklatan, dan permukaan licin. Hewan uji pada kelompok negatif dan kelompok perlakuan dibedah pada hari ke 90, sedangkan untuk kelompok satelit dibedah pada hari ke 118 hal ini dimaksudkan untuk melihat adanya kerusakan yang ditimbulkan oleh pemberian ekstrak etanol daun matoa. Kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan uji memiliki ginjal dengan warna merah kecoklatan, berbentuk seperti kacang dengan permukaan yang licin, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun matoa tidak berpengaruh terhadap makropatologi ginjal. Data lengkap dapat dilihat pada lampiran 15.

7. Hasil histopatologi organ ginjal

Histopatologi dilakukan untuk melihat ada tidaknya nekrosis pada organ ginjal. Nekrosis merupakan kematian sel dan jaringan pada tubuh makhluk hidup yang tampak nyata pada nukleus. Terdapat 3 kerusakan yang biasa terjadi yaitu piknosis ditandai dengan mengkerutnya nukleus dan peningkatan basofil kromatin (warna gelap) lalu DNA berkondensasi menjadi massa yang mengkerut padat. Karioreksis adalah keadaan nukleus yang hancur dan membentuk fragmen materi kromatin memudar. Kariolisis adalah adanya nukleus yang mati dan hilang disebabkan oleh aktivitas DNA sehingga basofil kromatin memudar (Mitchell & Cotran 2007).

Hewan uji masing-masing diambil tiga sampel. Hasil pengamatan mikroskopis yang dilihat dari 100 sel organ ginjal untuk tiap sampel, dengan perbesaran 1000 kali pada preparat diberikan minyak imersi untuk memperjelas pengamatan. Hasil persentase pada gambaran histopatologi organ ginjal tikus pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil skoring sel pada gambaran histopatologi organ ginjal tikus

Kelompok perlakuan	Jumlah Sampel	Total sel yang diamati	Rata-rata kerusakan $\pm$ SD
JANTAN			
Kelompok Kontrol	3	300	5,00 $\pm$ 1,00
Kelompok 150 mg/KgBB	3	300	11,67* $\pm$ 1,53
Kelompok 500 mg/KgBB	3	300	17,00* $\pm$ 2,00
Kelompok 1000 mg/KgBB	3	300	35,00* $\pm$ 12,77
Kelompok Satelit	3	300	10,33* $\pm$ 2,52
BETINA			
Kelompok Kontrol	3	300	4,33 $\pm$ 2,08
Kelompok 150 mg/KgBB	3	300	13,00 $\pm$ 3,46
Kelompok 500 mg/KgBB	3	300	34,67* $\pm$ 4,16
Kelompok 1000 mg/KgBB	3	300	18,67* $\pm$ 4,93
Kelompok Satelit	3	300	3,33 $\pm$ 0,58

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$)

Dilakukan analisis dengan uji statistik pada jumlah kerusakan sel organ ginjal hewan uji jantan dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$), untuk melihat homogenitas data menggunakan uji *Levene* dengan nilai signifikan 0,013 yang berarti data tidak homogen sedangkan nilai signifikan dengan uji *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, sehingga dilanjutkan dengan uji analisis *Mann-Whitney* untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, hasil dari uji tersebut terdapat nilai signifikan ($p < 0,05$) pada dosis 150, 500, 1000 mg/kgbb dan kelompok satelit. Analisis pada jumlah kerusakan sel organ ginjal hewan uji betina uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan analisis *One Way Anova* nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Pada uji *Post Hoc Tukey* terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan dosis 500 dan 1000 mg/kgbb. Data pengamatan histopatologi dapat dilihat pada lampiran 21.

Tabel 11. Hasil rata-rata sel pada gambaran histopatologi organ ginjal tikus

Kelompok perlakuan	Total sel yang diamati	Rata-rata±SD		
		Piknosis	Karioereksis	Kariolisis
Jantan				
Kontrol negatif	300	2,00±1,53	2,00±1,15	1,00±0,58
150 mg/kgbb	300	1,00±0,58	3,00±1,73	3,00*±1,00
500 mg/kgbb	300	3,50±2,52	3,33±1,53	2,67*±0,58
1000 mg/kgbb	300	5,50±3,21	4,67±2,89	7,33*±3,79
Kontrol satelit	300	1,00±0,58	1,50±1,00	2,67*±0,58
Betina				
Kontrol negatif	300	1,67±0,58	1,00±0,58	1,00±0,58
150 mg/kgbb	300	3,33±1,53	2,33±0,58	1,67±0,58
500 mg/kgbb	300	4,67±0,58	7,00*±2,65	5,33*±2,52
1000 mg/kgbb	300	2,67±1,53	3,00±2,00	4,00±1,00
Kontrol satelit	300	1,50±1,00	1,00±0,58	1,00±0,58

Keterangan :

* : perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif ($p<0,05$)

Data masing-masing kerusakan sel hewan uji jantan dianalisis dengan *Kolmogorov-Smirnov* dan diperoleh data terdistribusi normal ($p>0,05$), selanjutnya dianalisis dengan *One Way Anova* nilai signifikan untuk kerusakan piknosis dan karioereksis ($p>0,05$) sehingga menunjukkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan tidak ada perbedaan yang bermakna. Data kerusakan sel kariolisis dianalisis dengan *One Way Anova* nilai signifikan ($p<0,05$), uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* dengan nilai signifikan ($p<0,05$) sehingga dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* ($p<0,05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, dilanjutkan dengan uji analisis *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan pada dosis 150, 500 dan 1000 mg/kgbb sehingga dapat disimpulkan untuk kerusakan sel organ ginjal hewan uji jantan yang paling banyak setelah pemberian ekstrak etanol daun matoa yaitu kariolisis.

Hasil analisis statistik dari data kerusakan sel hewan uji betina yang dianalisis dengan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data terdistribusi normal ($p>0,05$) dan uji homogenitas dinilai dengan menggunakan uji *Levene* ($>0,05$), selanjutnya dianalisis dengan *One Way Anova* dengan nilai signifikan untuk kerusakan piknosis, karioereksis dan kariolisis ($p<0,05$), namun untuk kerusakan piknosis pada uji *Post Hoc Tukey* tidak terlihat adanya perbedaan yang bermakna

antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, hal tersebut dikarenakan perbedaan jumlah kerusakan piknosis tidak signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Untuk kerusakan karioereksis dan kariolisis pada uji *Post Hoc Tukey* terdapat perbedaan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis 500 mg/kgbb sehingga dapat disimpulkan untuk kerusakan sel organ ginjal hewan uji betina yang paling banyak setelah pemberian ekstrak etanol daun matoa yaitu karioereksis dan kariolisis.

Ekskresi di ginjal merupakan hasil dari 3 proses, yaitu filtrasi di glomerulus, sekresi aktif di tubulus proksimal, serta reabsorpsi pasif di tubulus proksimal dan distal. Bagian yang paling banyak dan mudah mengalami kerusakan pada kasus nefrotoksik yaitu tubulus proksimal, hal tersebut dikarenakan karakter tubulus proksimal memiliki epitel yang lemah serta mudah bocor. Kerusakan pada gambaran histopatologi ginjal mulai terlihat adanya perbedaan dengan kontrol negatif pada dosis 150 mg/kgbb, 500 mg/kgbb dan dosis 1000 mg/kgbb. Pada kelompok satelit setelah pemberian sediaan uji dihentikan menunjukkan adanya reversibilitas kerusakan sel. Nekrosis dapat disebabkan oleh adanya zat toksik yang masuk bersama aliran darah menuju ke ginjal (Angelina *et.al* 2000). Kandungan yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun matoa diantaranya adalah flavonoid, tanin dan saponin. Penelitian oleh Puspitasari (2015) menyatakan kerusakan yang terjadi pada tubulus proksimal disebabkan oleh kandungan ekstrak daun katuk yaitu tanin, senyawa tanin jika bereaksi dengan elektrolit akan membentuk senyawa kompleks yang tidak larut dalam sistem pencernaan sehingga menyebabkan defisiensi oksigen. Sel-sel dalam tubuh bergantung pada suplai oksigen yang kontinu, tanpa oksigen aktivitas pemeliharaan dan sintesis sel akan berhenti, bila berlangsung lama sel tidak lagi dapat melangsungkan metabolisme dan akhirnya menyebabkan kematian sel. Pemberian tanin dalam jumlah besar dapat menyebabkan iritasi usus, iritasi ginjal, kerusakan hati, iritasi lambung dan sakit pencernaan (Ismarani 2012). Menurut

penelitian Elfadil dkk (2013) pemberian tanin 5% dapat menyebabkan lapisan epitel pipih, tubulus ginjal melebar dan nekrosis ditunjukkan adanya inti sel piknotik. Dalam penelitian Akinpelu *et al.* (2012) melaporkan bahwa gabungan fraksi saponin (90:10+80+20:70+30) juga dapat menyebabkan gangguan ginjal dan kerusakan hati diikuti dengan peningkatan alanin aminotransferase, total bilirubin, kreatinin plasma dan urea. Saponin dapat menyebabkan hilangnya regulasi keseimbangan ion dan tekanan osmotik serta disfungsi fisiologis yang mengakibatkan kematian (Carlson 2009).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, ekstrak etanol daun matoa pada uji toksisitas subkronik 90 hari tidak menimbulkan gejala toksik melalui pengukuran volume urin hewan uji.

Kedua, ekstrak etanol daun matoa pada uji toksisitas subkronik 90 hari tidak memberikan efek toksik pada kadar biokimia darah (BUN dan kreatinin) pada tikus galur wistar

Ketiga, penggunaan jangka panjang (90 hari) ekstrak daun matoa tidak tidak memberikan efek toksik pada makropatologi ginjal tetapi mempengaruhi histopatologi ginjal pada dosis 150, 500 dan 1000 mg/kgbb.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut terhadap uji toksisitas khusus seperti uji toksisitas teratogenik & karsinogenik ekstrak etanol daun matoa terhadap tikus putih.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang menyebabkan efek toksisitas pada ekstrak etanol daun matoa.

Ketiga, perlu dilakukan pengamatan gejala toksik dengan tanda-tanda toksik yang lebih kompleks.

DAFTAR PUSTAKA

- Akinpelu *et al.* 2012. Biochemical and histopathological profile of toxicity induced by saponin fraction of *Erythrophleum suaveolens* (Guill. & Perri.) bark extract. Nigeria : *Phytopharmacology*, 3:38-53.
- Alfonso. 2016. Gambaran Kadar Kreatinin Serum pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik Stadium 5 Non Dialisis. *Jurnal, e-Biomedik (eBm)*, Volume 4 [1]. Yogyakarta
- Angelina GH, Azmizah A, dan Soehartojo. 2000. Pengaruh pemberian air sungai dan PDAM Jangir terhadap perubahan histologis ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*). *Media Ked. Hewan*. 16:180-185.
- [Anonim]. 2013. Gross Anatomy Of The Kidney. *OpenStax-CNX*
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi ke-4. Farida I, Penerjemah. Jakarta: Universitas Indonesia. Terjemahan dari: Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms.
- Arief M. 2004. *Histology Umum Kedokteran*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Bajpai RN. 1989. *Histologi Dasar Edisi 4*. Tambayong J, penerjemah. Jakarta: Binapura Aksara.
- [BATAN] Badan Tenaga Nuklir Nasional. 2011. Pedoman Etik Penggunaan dan Pemeliharaan Hewan Percobaan. Jakarta: Badan Tenaga Nuklir Nasional.
- [BPOMRI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014a. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara InVivo. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- [BPOMRI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014b. Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Carlson B. (2009). Saponin: Biactivity and Potential Impact on Intestinal Health. *Thesis*. The Ohio State University.
- Corwin JE. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan RI. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [DepKes RI] Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Pedoman Teknis Penemuan dan Tatalaksana Penyakit Hipertensi*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Elfadil AG, Sabahelkier, Murwan Khalid, Rayan MY, Daa MO, Nagla AH, and Israa SB. 2013. Effect Tannin and Plan Tannins on some Organs and Physic Chemical Character of Diabetic Wistar. Sudan : International Journal of Advanced Research. 10:165-170.
- Fukuda S, Ida H. 2004. Age-Related Changes in Blood Pressure, Hematological Values, Concentrations of Serum Biochemical Constituent and Weight of Organs in the SHR/lzm, and WKY/lzm. *Exp Anim* 53: 67-72.
- Ganong, WF. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Ganong*. Edisi 22, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Gregory S, Kelly ND. 2011. Quercetin. *Alternative Medicine Review* 16: 172-194.
- Gunawan, Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Guyton and Hall. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italy: Italian ministry of foreign affairs.
- Hengky LW. 2011. Karakterisasi Morfologi dan Isozim Matoa (*Pometia pinnata* Forst) [Thesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Harmita, Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hutapea JR. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal: 227.

- Irianto K. 2004. *Struktur dan Fungsi Tubuh Manusia Untuk Paramedis*. Bandung: Yrama Widya. Hal. 231 – 232.
- Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tanin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis fetrofracti frictus*). [skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- [KKRI] Kementerian RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kramer JA. 2004. *Overview Of The Application Of Transcription Profiling Using Selected Nephrotoxicant For Toxicology Assesment*. *Environmental Health Perspectives*. 460-464.
- Krinke GJ. 2000. *The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat*. New York: Academy Press.
- Lesson CR, Thomas TS, Paparo AA. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Edisi ke-5. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lu FC. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Susunan, dan Penilaian Resiko*. Nugroho E, Penerjemah; Bustami ZS, Darmansyah I, Pendamping. Ed ke-2. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. Terjemahan dari: *Basic Toxicology: fundamentals, target organs, and risk assessment*.
- Lumintang RF, Wuisan J, Wowor PM. 2015. Uji Efek Analgesik Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Pada Mencit (*Mus Musculus*). *Jurnal e-Biomedik* 3:634-639.
- Martino, Satino. 2014. Deteksi Keparahan Fungsi Ginjal Melalui Perubahan Kritis Laju Filtrasi Glomerulus Pasien Hemodialisa. *Jurnal Ners* 9:43-48.
- Mataputun SP, Rorong JA, Pontoh J. 2013. Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata* Spp.) sebagai Agen Antihyperglykemik. *Jurnal mipa Unsrat Online* 2:119-123.
- Meles DK. 2010. Peran Uji Praklinik Dalam Bidang Farmakologi [Pidato]. Pengukuhan Jabatan Guru Besar dalam Bidang Farmakologi dan Toksikologi pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada Hari Sabtu, tanggal 18 Desember 2010. Surabaya
- Miles B. 2003. The Urea Cycle. <https://www.tamu.edu/faculty/bmiles/lectures/urea.pdf> [29 August 2017]

- Mitchell RN and Catron RS 2007. *Jejas, Adaptasi, dan Kematian sel*. Dalam: Kumar,V,Cotran, R.S.,Robbins, S.L. (eds). Buku Ajar Patologi Robbins vil 1. Edisi VII. Jakarta : ECG. 3:7-26. Mulyono Moeljanto, R.D.2004. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab Dari Masa ke Masa*,edisi 1. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Mohammad FV, Noorwala M, Ahmad VU, Zahoor A, Lajis NH. 2012. A new monodesmosidic triterpenoid saponin from the leaves of *Pometia pinnata*. *Nat Prod Commun*. 7(11):1423-1426.
- Mutiaticum *et al*. 2010. Standarisasi Simplisia Dari Buah Miana yang Berasal Dari 3 Tempat Tumbuh. Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 18:1-16.
- Ngajow M, Jemmy A, dan Vanda SK. 2013. Pengaruh AntibakteriEkstrak Kulit Batang Matoa(*Pometia pinnata*) terhadapBakteri *Staphylococcus aureus*secara Invitro.*Jurnal MIPAUNSRAT Online* 2:128-132.
- Noer MS. 2006. Evaluasi Fungsi Ginjal Secara Laboratorik (laboratoric Evaluation on Renal Function) [Laporan Penelitian]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Notoatmodjo S. 2002, *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Permatasari N. 2012. *Instruksi Kerja Pengambilan Darah, Perlakuan, dan Injeksi pada Hewan Coba*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Price SA. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Edisi ke-6. 1: 120-123
- Purwidyaningrum I,Sukandar EY, Fidriany I. 2016. Diuretic Activity of Different Organs of Matoa (*Pometia pinnata*) Extracts and its Influence on Potassium and Sodium Levels. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8: 244-247.
- Purwidyaningrum I, Sukandar EY, Fidriany I. 2017a. Antihypertensive Activity Of Extract and Fractions of Matoa (*Pometia pinnata*J. R & G Forts) Leaves. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research* 10: 323-328.
- Purwidyaningrum I. 2017b. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*J. R & G Forts). Bandung: Disertasi Program Doktor, Institut Teknologi Bandung
- Puspitasari D. 2015. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) Terhadap Histologi dan Berat Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina [Skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Putri AS. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G Forts) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Jantan Hiperlipidemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Raharjo SM. 2014. Aktivitas fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) terhadap penurunan kadar kolesterol total serum darah tikus putih jantan galur wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Rahimah, Sayekti E, Jayuska A. 2013. Karakterisasi senyawa flavonoid hasil isolat dari fraksi etil asetat daun matoa (*Pometia pinnata* J. R. Forst & G. Forst). *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 2: 84-89.
- Rahmawati AMA, 2016. Uji Toksisitas Subkronis Singkat Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) Terhadap BUN, Kreatinin, Dan Histopatologi Ginjal Pada Tikus Putih Galur Wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Robinson. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Padmawinata K, Penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituent of Higher Plant*.
- Sacher RA. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. EGC. Jakarta. pp. 291-293.
- Sangat HM. 2000. *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitomedika)*. Jakarta: Yayasan Obat Indonesia.
- Setyowati W, Sri RDA, Ashadi, Bakti Mulyani, Cici PR. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan VI. ISBN : 9779373174-0 : 271-280.
- Sherwood L. 2001. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. Edisi ke-2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Stevani H. 2016. *Praktikum Farmakologi*. Cetakan pertama. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Subekti LW, Nugroho TE. 2015. Pengaruh Pemberian Natrium Diklofenak Dosis 1,4 mg/kgBB dan 2,8 mg/kgBB terhadap Kadar Ureum Tikus Wistar [Thesis]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Suedee A. 2013. *Phytochemical Studies of Mimosaopsalegi and Pometia pinnata Leaf Extract with Anti-HIV-1 Integrase Activity* [thesis]. Songkla (TH): Prince of Songkla University.

- Sutedjo SKM. 2009. *Buku Ajar Mengenal Penyakit Melalui Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, Cetakan ke-5, Amara Books, Yogyakarta.
- Syafitri NE, Bintang M, Falah S. 2014. Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Current Biochemistry*. 1:105-115.
- Tampubol AM. 2014. Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Pada Pemberian Suspensi Buah Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Secara Intragrastrik Selama 14 Hari [Skripsi]. Bogor: Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Tantri NP. 2011. Uji toksisitas akut dan subkronik produk pangan BPPT in-vitro meningkatkan respon imun tubuh [Skripsi]. Depok: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Underwood E.CJ. 1999. *Buku Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Wahyuningsih HK. 2010. pengaruh pemberian ekstrak herba meniran (*Phyllanthus Niruri* L.) Sukandar EY, Fidriany I terhadap penurunan kadar asam urat darah tikus putih jantan hiperurisemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Wardana SW. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. forst) Terhadap Kadar Trigliserida Tikus Putih Jantan Hiperlipidemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- WHO. 2013. *A Global Brief On Hypertension*. WHO/DCO/WHO/2013.2. Geneva.
- Widiyastuti Y *et al.* 2015. *Budidaya, Panen dan Pascapanen Tanaman Obat*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Windhartono W, Kamal Z, Sasmito E. 2013. Pengaruh Infusa Wortel (*Daucus carota* L.) Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Jantan Yang Diinduksi Uranium. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 1:033-040.

L

A

m

p

j

R

A

v

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan



**UNIVERSITAS
SETIA BUDI**

UPT- LABORATORIUM

No : 208/DET/UPT-LAB/19/III/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Ika Fatikhathu N
NIM : 20144130 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G.Frost.)**
Hasil determinasi berdasarkan : **Backer : Flora of Java**
1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24a – 25b
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33b – 35a – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b
– 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a
– 78b – 103b – 104a – 106a – 107a – 108b – 109a – 110b – 115a – 116b – 117b – 118c.
Familia 137. Sapindaceae. 1b – 2b – 4a – 5a – 6b. 16. Pometia. 1a. *Pometia pinnata* J.R. & G.Frost.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi dapat mencapai 50 m.
Akar : Sistem akar tunggang.
Batang : Tegak, berkayu, silindris, percabangan monopodial, permukaan kasar, warna coklat, arah cabang miring hingga datar.

Daun : Majemuk menyirip genap, tersusun berseling, anak daun sama sisi, 4 – 12 pasang anak daun, waktu muda berwarna merah kecoklatan, setelah tua hijau, pangkal tumpul, ujung meruncing, tepi rata, bentuk jorong, panjang 31 – 40 cm, lebar 7 – 14 cm, ujung meruncing, pangkal tumpul, tepi rata, permukaan atas dan bawah melekok pada daerah pertulangan daun, permukaan atas mengkilat, helaian daun tebal dan kaku.

Bunga : Majemuk, malai, mahkota bunga hijau kecoklatan, kalyx 5 lobi, petala 5, putih, stamen 5, ovulum 1.

Buah : Bundar sampai lonjong, panjang 1,5 – 4 cm, diameter 1 – 2,8 cm, kulit buah licin, waktu muda berwarna kuning kehijauan, setelah matang coklat kemerahan, daging buah putih kekuningan.

Biji : Bulat, coklat muda.

Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only).
N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.



Solo, 19 Maret 2018
Tim determinasi
Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Perhitungan rendemen berat basah terhadap berat kering daun matoa

Diketahui :

- Berat basah daun matoa = 40 kg
- Berat kering daun matoa = 18 kg

Perhitungan % rendemen

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{18}{40} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = 45 \%$$

Lampiran 3. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk**Daun matoa****Daun kering****Serbuk daun matoa****Ekstrak kental daun matoa**

Lampiran 4. Perhitungan penetapan kadar air

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20	0,9	4,5
2	20	0,8	4
3	20	0,9	4,5
Rata – rata ± SD			4,3 ± 0,289

Replikasi 1

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,9 \text{ ml}}{20 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 4,5 \%
 \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,8 \text{ ml}}{20 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 4 \%
 \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,9 \text{ ml}}{20 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 4,5 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata kadar air serbuk daun matoa} &= \frac{4,5\% + 4\% + 4,5\%}{3} \\
 &= 4,3 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan rendemen ekstrak

Perhitungan berat ekstrak

Berat wadah + ekstrak	= 355 gr
Berat wadah kosong	= 326 gr
Berat ekstrak	= 29 gr
Berat wadah + ekstrak	= 342 gr
Berat wadah kosong	= 263 gr
Berat ekstrak	= 79 gr
Berat wadah + ekstrak	= 277 gr
Berat wadah kosong	= 230 gr
Berat ekstrak	= 47 gr
Berat wadah + ekstrak	= 332 gr
Berat wadah kosong	= 241 gr
Berat ekstrak	= 91 gr
Berat wadah + ekstrak	= 309 gr
Berat wadah kosong	= 235 gr
Berat ekstrak	= 74 gr

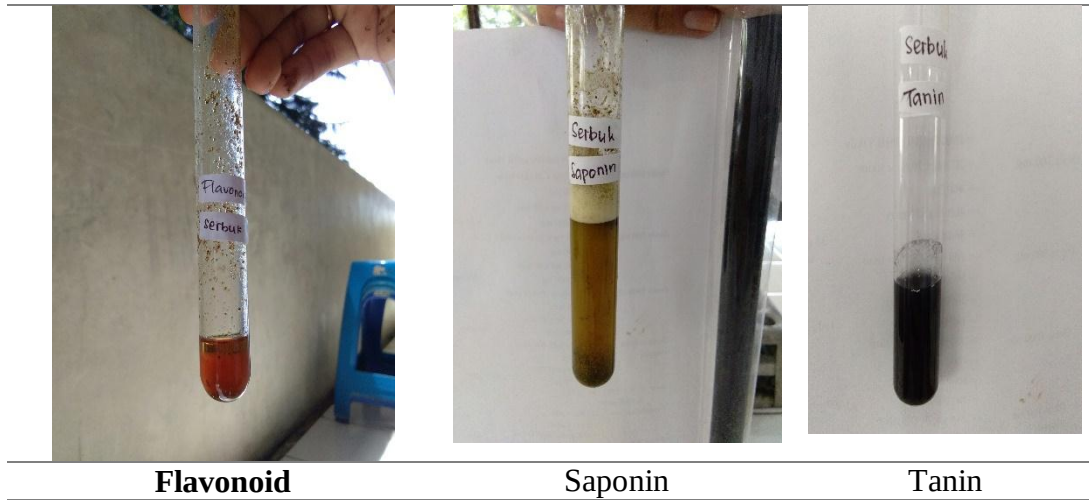
Total ekstrak = 320 gram

Perhitungan % rendemen ekstrak

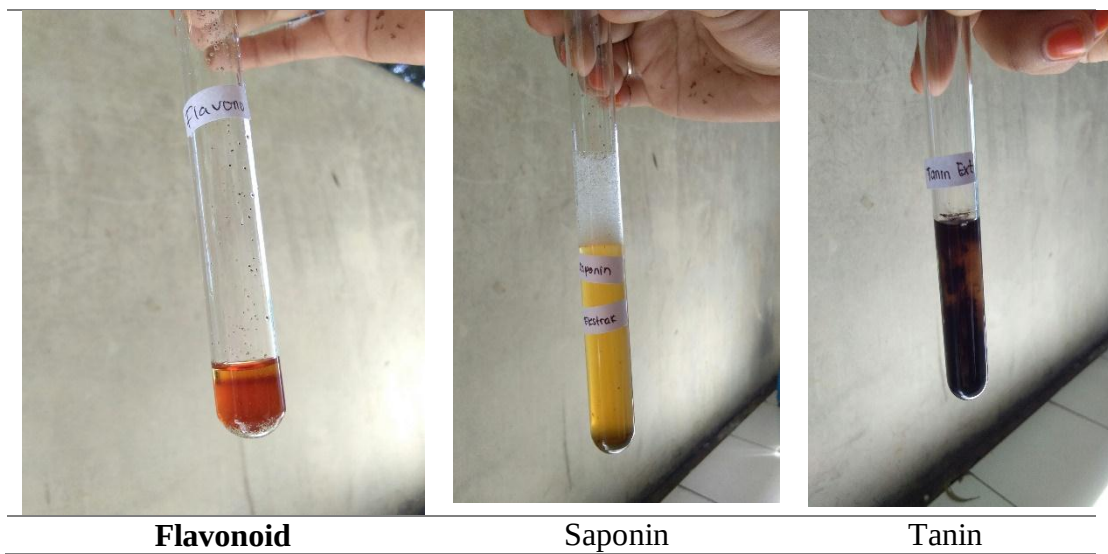
$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\
 &= \frac{320 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 32 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun matoa

Serbuk Daun Matoa



Ekstrak Etanol Daun Matoa



Lampiran 7. 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. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Ika Fatikhatun Nasikha

Nim : 20144130 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 100 ekor

Jenis kelamin : Jantan 50 ekor dan Betina 50 ekor

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

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

Surakarta, 2 Mei 2018

Hormat kami

Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 8. Surat izin etik kehewananan

4/25/2018

Form A2



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



School of Medicine Sebelas Maret University
 Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 1.056 / XII / HREC / 2017

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

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

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

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN MATOA (Pometia pinnata J. R & G. Forst) DENGAN
 PARAMETER BUN, KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS GALUR WISTAR**

Principal investigator
 Peneliti Utama

Ika Fatikhatun Nasikha
 20144130A

Location of research
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 25 Apr 2018

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujose, dr. Sp.F.MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 9. Hewan uji yang digunakan



Kandang hewan

Pengelompokan hewan



Pengoralan tikus

Pembedahan

Lampiran 10. Perhitungan penyesuaian dosis dan volume pemberian pada uji toksisitas subkronik

1. Kontrol negatif. Pembuatan larutan suspensi CMC Na 0,5 % adalah dengan 500 mg CMC Na ditambahkan aquades sampai batas 100 ml. Volume yang diberikan adalah 1 ml karena kurang dari volume pemberian maksimal yaitu 2 ml/ 100 gram berat badan tikus atau kurang lebih 4 ml/ 200 gram berat badan

2. Dosis rendah 150 mg/kgbb. Dosis rendah untuk tikus sebesar 150 mg/kgbb tikus atau 0,15mg/gr BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 0,15mg/gr x 200 g = 30 mg/200 grbb tikus

Larutan stok 1 %

$$\text{Larutan stok} = \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 10 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang oralkan} = \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$$

3. Dosis sedang 500 mg/kgbb. Dosis sedang untuk tikus sebesar 500 mg/kgbb tikus atau 0,5mg/gr BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 0,5mg/gr x 200 g = 100mg/200grBB tikus

Larutan stok 3%

$$\text{Larutan stock} = \frac{3000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 30 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{100 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3,3 \text{ ml}$$

4. Dosis tinggi 1000 mg/kgbb. Dosis tinggi untuk tikus sebesar 1000 mg/kgbb tikus atau 1,0 mg/gr BB tikus.

BB tikus 200 gram

Dosis = 1 mg/gr x 200 gr = 200 grbb tikus

Larutan stok 5%

$$\text{Larutan stock} = \frac{5000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 50 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{200 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 4 \text{ ml}$$

Lampiran 11. Penelitian uji toksisitas subkronik



Larutan stok



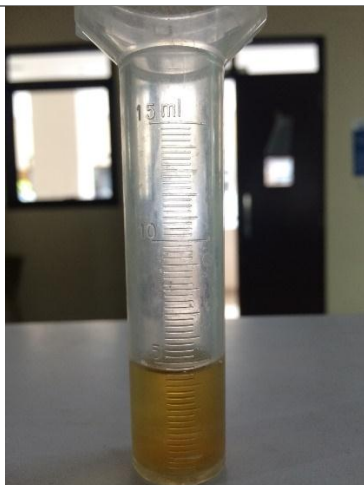
Kandang metabolik



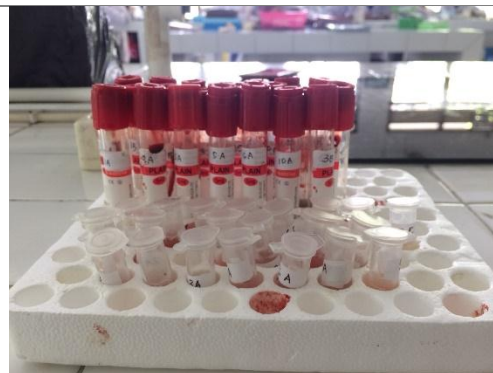
Reagen Urea



Reagen kreatinin



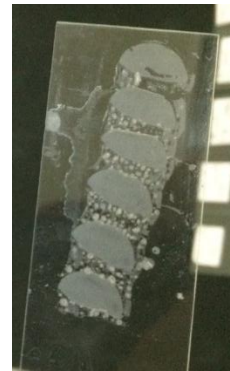
Urin tikus



Serum darah



Penyimpanan organ di formalin



Sampel preparat siap cat



Preparat organ



Pewarnaan



Deparafinasi dan rehidrasi



Dehidrasi

Lampiran 12. Rata-rata berat badan tiap tikus perminggu

Jenis Hewan	Kelompok Perlakuan	Rata-rata Berat Badan (gram) ± SD																
		Minggu ke-																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Jantan	Kelompok Kontrol	178,2	180	181,10	180,40	179,80	180,11	181,00	180,00	180,57	180,67	181,67	182,00	183,00				
	Negatif	±5,35	±4,08	±4,31	±4,77	±5,88	±5,30	±5,12	±5,80	±5,61	±7,17	±7,20	±7,50	±7,50				
	Kelompok 150 mg/KgBB	177,8	178,30	179,00	179,30	179,67	180,11	179,89	179,44	179,00	179,56	180,67	181,44	182,00				
		±6,17	±6,63	±5,33	±5,79	±5,31	±5,53	±6,25	±6,90	±7,78	±7,92	±7,34	±7,10	±7,60				
	Kelompok 500 mg/KgBB	178,1	179,10	178,80	179,40	180,90	179,90	179,90	180,33	180,88	181,14	181,85	182,71	183,71				
		±5,51	±5,22	±5,51	±5,48	±6,24	±6,23	±6,26	±8,30	±7,72	±8,05	±7,51	±8,00	±8,00				
	Kelompok 1000 mg/KgBB	178,8	179,50	180,20	180,80	180,56	180,50	181,25	181,62	182,13	182,71	183,00	183,14	183,40				
		±5,37	±5,48	±5,77	±6,29	±6,67	±7,21	±6,73	±7,00	±6,66	±7,11	±7,26	±7,40	±8,30				
	Kelompok Satelit	178,6	178,90	179,40	180,10	180,60	181,10	181,70	181,20	180,88	181,14	182,80	183,40	185,00	185,75	186,50	187,00	187,75
		±5,95	±6,15	±6,02	±5,90	±6,45	±6,28	±6,07	±6,80	±6,90	±7,95	±6,53	±6,70	±7,40	±7,27	±6,95	±6,68	±6,94
Betina	Kelompok Kontrol	178,5	179,40	180,20	180,90	181,90	182,30	183	182,50	181,80	182,10	182,60	183,10	184,00				
	Negatif	±6,04	±5,91	±5,63	±5,30	±5,78	±5,50	±5,59	±6,00	±5,70	±6,20	±6,80	±7,20	±8,30				
	Kelompok 150 mg/KgBB	179,7	180,20	180,70	181,60	181,80	182,00	182,3	181,67	181,00	181,80	183,00	183,80	184,50				
		±7,08	±7,04	±6,57	±6,83	±7,15	±6,82	±6,53	±7,40	±7,30	±7,60	±7,90	±9,60	±9,90				
	Kelompok 500 mg/KgBB	180,3	181,00	181,90	182,50	182,22	182,78	181,8	182,00	182,10	182,40	182,80	183,60	184,30				
		±5,91	±6,18	±5,78	±5,50	±5,93	±6,38	±6,85	±7,20	±7,20	±7,90	±8,40	±9,20	±10,00				
	Kelompok 1000 mg/KgBB	179,4	180,20	180,90	181,70	182,20	182,80	182,00	182,50	181,20	182,4	183,10	183,30	184,60				
		±5,77	±5,75	±5,88	±5,66	±6,21	±6,53	±6,67	±7,40	±8,50	±9,10	±9,30	±10,10	±11,10				
	Kelompok Satelit	179,7	180,10	180,60	181,20	180,40	180,89	180,44	180,11	178,60	179,50	180,10	180,90	181,80	185,37	187,62	189,37	192,12
		±6,58	±6,26	±6,62	±6,66	±6,19	±6,68	±6,65	±6,20	±6,00	±5,90	±7,00	±6,70	±7,00	±6,50	±6,45	±6,82	±6,89

Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar BUN

Cmc Na	Jantan	T0	T3		Betina	T0	T3
	1	23	19		1	50	0
	2	19	0		2	60	0
	3	15	32		3	29	29
	4	36	38		4	19	27
	5	15	29	Cmc Na	5	15	40
	6	20	28		6	20	35
	7	42	0		7	38	29
	8	13	23		8	23	37
	9	52	0		9	11	19
	10	16	0		10	61	65
D150	Jantan	T0	T3		Betina	T0	T3
	1	30	29		1	28	0
	2	26	45		2	49	0
	3	23	0		3	35	40
	4	30	0		4	24	43
	5	14	31	D150	5	18	39
	6	21	46		6	30	39
	7	21	36		7	54	0
	8	56	49		8	29	68
	9	19	32		9	49	54
	10	55	40		10	38	0
D500	Jantan	T0	T3		Betina	T0	T3
	1	56	0		1	24	38
	2	33	46		2	50	40
	3	20	27		3	18	48
	4	25	48		4	30	34
	5	24	31	D500	5	54	0
	6	40	31		6	33	49
	7	19	0		7	49	0
	8	39	49		8	55	67
	9	28	35		9	22	53
	10	22	0		10	34	45
D1000	Jantan	T0	T3		Betina	T0	T3
	1	12	24		1	42	65
	2	20	0		2	41	0
	3	19	35		3	35	55
	4	17	0		4	28	43
	5	39	52	D1000	5	39	0
	6	30	0		6	19	47
	7	26	46		7	49	0
	8	54	0		8	23	49
	9	40	0		9	40	62
	10	30	39		10	47	59

Dsatelit	Jantan	T0	T3	T4	Dsatelit	Betina	T0	T3	T4
	1	51	0	0		1	42	0	0
	2	20	38	37		2	18	49	23
	3	17	0	0		3	28	40	36
	4	39	0	0		4	43	50	39
	5	21	43	32		5	29	53	47
	6	37	0	0		6	64	0	0
	7	48	0	0		7	50	55	46
	8	21	0	0		8	21	45	30
	9	16	35	19		9	30	52	50
	10	24	41	30		10	54	59	41

Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar kreatinin

	Jantan	T0	T3		Betina	T0	T3
cmc na	1	0,5	0,7	cmc na	1	0,5	0
	2	0,3	0		2	0,6	0
	3	0,4	0,6		3	1,0	1,1
	4	0,5	0,6		4	0,8	1,0
	5	0,8	1,0		5	0,8	0,9
	6	0,6	0,8		6	0,6	0,7
	7	0,9	0		7	0,8	1,1
	8	1,0	1,1		8	0,8	0,9
	9	0,8	0		9	0,6	0,7
	10	0,8	0		10	0,9	1,0
	Jantan	T0	T3		Betina	T0	T3
D150	1	0,7	1,2	D150	1	0,8	0
	2	0,5	1,1		2	0,6	0
	3	0,5	0		3	0,8	1,4
	4	0,4	0		4	0,7	1,2
	5	0,8	0,9		5	0,8	1,0
	6	0,8	1,2		6	1,0	1,3
	7	0,7	0,8		7	0,6	0
	8	0,6	0,7		8	0,8	1,2
	9	1,0	0,9		9	0,8	1,0
	10	0,8	0,6		10	0,7	0
	Jantan	T0	T3		Betina	T0	T3
D500	1	0,4	0	D500	1	0,6	0,8
	2	0,3	0,8		2	0,7	1,0
	3	0,5	1,1		3	0,8	1,3
	4	0,7	1,0		4	0,9	1,4
	5	0,8	0,9		5	0,8	0
	6	0,7	1,1		6	0,8	1,4
	7	0,6	0		7	1,1	0
	8	0,8	0,9		8	0,5	1,2
	9	0,8	0,9		9	0,6	1,0
	10	0,6	0		10	0,8	0,9
	Jantan	T0	T3		Betina	T0	T3
D1000	1	0,7	1,2	D1000	1	0,6	1,0
	2	0,4	0		2	0,6	0
	3	0,5	0,9		3	0,8	1,4
	4	0,5	0		4	0,8	0,9
	5	0,5	1,0		5	0,8	0
	6	0,6	0		6	0,6	1,3
	7	0,8	1,2		7	0,9	0
	8	0,6	0		8	0,9	1,2
	9	0,5	0		9	0,8	1,1
	10	0,6	1,1		10	0,7	1,3

Dsatelit t	Janta	T0	T3	T4	Dsatelit	Betina	T0	T3	T4
	n								
	1	0,4	0	0		1	0,6	0	0
	2	0,5	1,0	0,8		2	0,5	1,0	0,9
	3	0,5	0	0		3	0,8	1,3	1,0
	4	0,6	0	0		4	0,6	1,0	0,9
	5	0,6	1,3	0,9		5	0,8	1,3	0,6
	6	0,6	0	0		6	1,0	0	0
	7	0,8	0	0		7	0,6	1,1	1,0
	8	0,8	0	0		8	0,7	1,2	0,8
	9	0,5	1,2	0,6		9	0,6	1,2	0,8
	10	0,6	0,9	0,7		10	0,8	1,3	0,9

Lampiran 15. Berat organ, indeks organ dan makropatologi organ ginjal diakhir penelitian

Dosis mg/kgBB	BB tikus (gr)	Berat ginjal (gr)	% Indeks organ	Makropatologi	
				Warna	Permukaan
Jantan					
Kontrol negative	207	1.68	0.81	Merah kecoklatan	Licin
Kontrol negative	198	1.90	0.96	Merah kecoklatan	Licin
Kontrol negative	217	1.97	0.91	Merah kecoklatan	Licin
150 mg/kgBB	186	1.83	0.98	Merah kecoklatan	Licin
150 mg/kgBB	186	2.35	1.26	Merah kecoklatan	Licin
150 mg/kgBB	234	2.01	0.86	Merah kecoklatan	Licin
500 mg/kgBB	190	1.80	0.95	Merah kecoklatan	Licin
500 mg/kgBB	212	1.44	0.67	Merah kecoklatan	Licin
500 mg/kgBB	196	1.75	0.89	Merah kecoklatan	Licin
1000 mg/kgBB	199	1.19	0.59	Merah kecoklatan	Licin
1000 mg/kgBB	184	1.37	0.74	Merah kecoklatan	Licin
1000 mg/kgBB	202	1.76	0.87	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok satelit	229	1.84	0.80	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok satelit	215	1.86	0.86	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok satelit	198	1.01	0.51	Merah kecoklatan	Licin

Dosis mg/kgBB	BB tikus (gr)	Berat ginjal (gr)	% Indeks organ	Makropatologi	
				Warna	Permukaan
Betina					
Kontrol negative	198	1.23	0.62	Merah kecoklatan	Licin
Kontrol negative	206	1.40	0.68	Merah kecoklatan	Licin
Kontrol negative	201	1.30	0.65	Merah kecoklatan	Licin
150 mg/kgBB	209	1.88	0.89	Merah kecoklatan	Licin
150 mg/kgBB	183	1.81	0.99	Merah kecoklatan	Licin
150 mg/kgBB	201	1.49	0.74	Merah kecoklatan	Licin
500 mg/kgBB	210	1.38	0.66	Merah kecoklatan	Licin
500 mg/kgBB	191	1.26	0.65	Merah kecoklatan	Licin
500 mg/kgBB	198	1.17	0.59	Merah kecoklatan	Licin
1000 mg/kgBB	201	1.19	0.59	Merah kecoklatan	Licin
1000 mg/kgBB	205	1.70	0.83	Merah kecoklatan	Licin
1000 mg/kgBB	187	1.59	0.85	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok satelit	192	1.20	0.63	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok satelit	195	1.33	0.68	Merah kecoklatan	Licin
Kelompok satelit	205	1.67	0.82	Merah kecoklatan	Licin

Lampiran 16. Data kematian tikus
Hewan uji jantan

Minggu	Kontrol negatif										150 mg/kgbb										500 mg/kgbb									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3														x																
4																														
5										x																				
7		x																			x									
8							x																						x	
9									x																		x			
10																														
12													x																	

Minggu	1000 mg/kgbb										Kelompok satelit									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3																				
4			x																	
5				x					x											
7																				
8						x							x	x		x		x		
9																				
10																	x			
12								x				x								

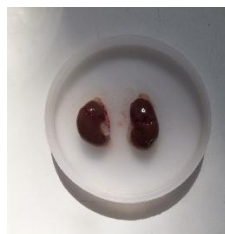
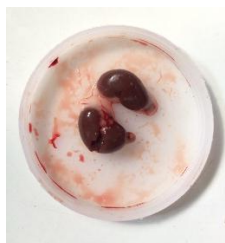
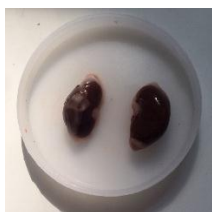
Hewan uji betina

[illegible][illegible]

Lampiran 17. Data volume urin tikus

Perlakuan	Hewan Uji	Volume urin Jantan (ml)				Perlakuan	Hewan Uji	Volume urin Betina (ml)			
		T0	T1	T2	T3			T0	T1	T2	T3
kontrol negatif	1	4	4	5	3	Kontrol negatif	1	3	4	2	4
	2	2	3	8	6		2	8	2	5	4
	3	8	7	2	3		3	2	5	7	3
	Rata-rata	4.7	4.7	5.0	4.0		Rata-rata	4.3	3.7	4.7	3.7
	SD	3.1	2.1	3.0	1.7		SD	3.2	1.5	2.5	0.6
dosis 150 mg	1	10	11	6	3	dosis 150 mg	1	1	4	5	3
	2	1	3	7	5		2	6	10	7	5
	3	4	5	3	4		3	7	5	2	4
	Rata-rata	5.0	6.3	5.3	4.0		Rata-rata	4.7	6.3	4.7	4.0
	SD	4.6	4.2	2.1	1.0		SD	3.2	3.2	2.5	1.0
dosis 500 mg	1	3	4	5	5	dosis 500 mg	1	1	6	2	5
	2	2	6	4	6		2	8	4	6	3
	3	8	8	6	4		3	6	7	5	4
	Rata-rata	4.3	6.0	5.0	5.0		Rata-rata	5.0	5.7	4.3	4.0
	SD	3.2	2.0	1.0	1.0		SD	3.6	1.5	2.1	1.0
dosis 1000 mg	1	12	3	4	1	dosis 1000 mg	1	5	9	4	1
	2	5	7	5	4		2	4	1	5	6
	3	2	5	8	3		3	8	4	7	5
	Rata-rata	6.3	5.0	5.7	2.7		Rata-rata	5.7	4.7	5.3	4.0
	SD	5.1	2.0	2.1	1.5		SD	2.1	4.0	1.5	2.6

perlakuan	Hewan Uji	Volume urin jantan (ml)					Perlakuan	Hewan Uji	Volume urin betina (ml)				
		T0	T1	T2	T3	T4			T0	T1	T2	T3	T4
satelit	1	3	5	6	2	4	Satelit	1	4	5	5	2	3
	2	1	4	4	5	5		2	1	3	6	5	2
	3	6	7	5	7	6		3	6	6	3	4	5
	Rata-rata	3.3	5.3	5.0	4.7	5.0		Rata-rata	3.7	4.7	4.7	3.7	3.3
	SD	2.5	1.5	1.0	2.5	1.0		SD	2.5	1.5	1.5	1.5	1.5

Lampiran 18. Pengamatan makropatologi**150 mg/kgbb (betina)****150 mg/kgbb (betina)****Kontrol negatif (jantan)****150 mg/kgbb (jantan)****Kontrol
(jantan)****negatif****150 mg/kgbb (betina)****Kontrol negatif (betina)****150 mg/kgbb (jantan)****500 mg/kgbb (jantan)**

500 mg/kgbb (betina)

Kontrol negatif (betina)

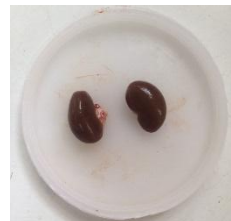
Kontrol negatif (betina)



500 mg/kgbb (betina)

150 mg/kgbb (jantan)

Kontrol negatif (jantan)



1000 mg/kgbb (betina)

1000 mg/kgbb (jantan)

500 mg/kgbb (jantan)



500 mg/kgbb (jantan)

1000 mg/kgbb (jantan)

1000 mg/kgbb (jantan)



1000 mg/kgbb (betina)

500 mg/kgbb (betina)

1000 mg/kgbb (betina)



Kontrol satelit (jantan)

Kontrol satelit (jantan)

Kontrol satelit (jantan)



Kontrol satelit (betina)

Kontrol satelit (betina)

Kontrol satelit (betina)

Lampiran 19. Data Pengamatan histopatologi ginjal

Histopatologi organ ginjal tikus di akhir penelitian

Kelompok Perlakuan (mg/kgbb)	Jumlah Sel			Skoring Kerusakan (total)	Jumlah Sel Normal	Rata-rata Kerusakan
	Piknosis	Kario reksis	Kario lisis			
JANTAN						
Kontrol negatif	3	0	1	6	96	5,00
	1	2	0	5	97	
	0	2	0	4	98	
Kelompok Dosis 150 mg/kgbb	1	0	4	13	95	11,67
	1	0	3	10	96	
	0	3	2	12	95	
Kelompok Dosis 500 mg/kgbb	2	3	3	17	92	17,00
	5	2	2	15	91	
	0	5	3	19	92	
Kelompok Dosis 1000 mg/kgbb	0	8	10	46	82	35,00
	5	3	9	38	83	
	6	3	3	21	88	
Kelompok Satelit	1	0	3	10	96	10,33
	0	2	3	13	95	
	0	1	2	8	97	
BETINA						
Kontrol negatif	1	1	1	6	97	4,33
	2	0	1	5	97	
	2	0	0	2	98	
Kelompok Dosis 150 mg/kgbb	2	2	1	9	95	13,00
	3	3	2	15	92	
	5	2	2	15	91	
Kelompok Dosis 500 mg/kgbb	4	4	8	36	84	34,67
	5	9	5	38	81	
	5	8	3	30	84	
Kelompok Dosis 1000 mg/kgbb	1	0	4	13	95	18,67
	3	2	5	22	90	
	4	4	3	21	89	
Kelompok Satelit	0	0	1	3	99	3,33
	1	1	0	3	98	
	2	1	0	4	97	

Lampiran 20. Hasil analisis statistik

URINASI JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	4.7333
	Std. Deviation	3.39046
Most Extreme Differences	Absolute	.186
	Positive	.186
	Negative	-.135
Kolmogorov-Smirnov Z		.719
Asymp. Sig. (2-tailed)		.680

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.717	4	10	.599

ANOVA

Urin

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.267	4	3.567	.243	.907
Within Groups	146.667	10	14.667		
Total	160.933	14			

URINASI JANTAN T1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	5.4667
	Std. Deviation	2.23180
Most Extreme Differences	Absolute	.183
	Positive	.183
	Negative	-.135
Kolmogorov-Smirnov Z		.708
Asymp. Sig. (2-tailed)		.698

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.478	4	10	.280

ANOVA

Urin

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.733	4	1.433	.224	.919
Within Groups	64.000	10	6.400		
Total	69.733	14			

URINASI JANTAN T2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	5.2000
	Std. Deviation	1.69874
Most Extreme Differences	Absolute	.147
	Positive	.147
	Negative	-.120
Kolmogorov-Smirnov Z		.569
Asymp. Sig. (2-tailed)		.903

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.051	4	10	.429

ANOVA

Urin

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.067	4	.267	.068	.990
Within Groups	39.333	10	3.933		
Total	40.400	14			

URINASI JANTAN T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	4.0667
	Std. Deviation	1.62422
Most Extreme Differences	Absolute	.144
	Positive	.144
	Negative	-.122
Kolmogorov-Smirnov Z		.559
Asymp. Sig. (2-tailed)		.914

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.084	4	10	.415

ANOVA

Urin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.600	4	2.400	.878	.511
Within Groups	27.333	10	2.733		
Total	36.933	14			

URINASI JANTAN T4

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		6
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	4.8333
	Std. Deviation	1.72240
Most Extreme Differences	Absolute	.205
	Positive	.128
	Negative	-.205
Kolmogorov-Smirnov Z		.503
Asymp. Sig. (2-tailed)		.962

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.923	1	4	.238

ANOVA

Urin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.167	1	.167	.045	.842
Within Groups	14.667	4	3.667		
Total	14.833	5			

URINASI BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	4.6667
	Std. Deviation	2.60951
Most Extreme Differences	Absolute	.162
	Positive	.120
	Negative	-.162
Kolmogorov-Smirnov Z		.627
Asymp. Sig. (2-tailed)		.826

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.472	4	10	.755

ANOVA

urin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.667	4	1.667	.188	.939
Within Groups	88.667	10	8.867		
Total	95.333	14			

URINASI BETINA T1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	5.0000
	Std. Deviation	2.39046
Most Extreme Differences	Absolute	.167
	Positive	.167
	Negative	-.138
Kolmogorov-Smirnov Z		.645
Asymp. Sig. (2-tailed)		.799

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.698	4	10	.226

ANOVA

urin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.667	4	3.167	.470	.757
Within Groups	67.333	10	6.733		
Total	80.000	14			

URINASI BETINA T2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	4.7333
	Std. Deviation	1.79151
Most Extreme Differences	Absolute	.226
	Positive	.136
	Negative	-.226
Kolmogorov-Smirnov Z		.875
Asymp. Sig. (2-tailed)		.429

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.351	4	10	.838

ANOVA

urin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.600	4	.400	.092	.983
Within Groups	43.333	10	4.333		
Total	44.933	14			

URINASI BETINA T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	3.8667
	Std. Deviation	1.30201
Most Extreme Differences	Absolute	.207
	Positive	.126
	Negative	-.207
Kolmogorov-Smirnov Z		.803
Asymp. Sig. (2-tailed)		.539

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.644	4	10	.097

ANOVA

Urin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.400	4	.100	.043	.996
Within Groups	23.333	10	2.333		
Total	23.733	14			

URINASI BETINA T4

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urin
N		6
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	3.5000
	Std. Deviation	1.37840
Most Extreme Differences	Absolute	.195
	Positive	.195
	Negative	-.195
Kolmogorov-Smirnov Z		.478
Asymp. Sig. (2-tailed)		.976

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.000	1	4	1.000

ANOVA

Urin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.167	1	.167	.071	.802
Within Groups	9.333	4	2.333		
Total	9.500	5			

PERSEN INDEKS ORGAN JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indeksorgan
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.8440
	Std. Deviation	.17812
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156
	Negative	-.136
Kolmogorov-Smirnov Z		.604
Asymp. Sig. (2-tailed)		.859

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indeksorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.964	4	10	.468

ANOVA

Indeksorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.195	4	.049	1.964	.176
Within Groups	.249	10	.025		
Total	.444	14			

PERSEN INDEKS ORGAN BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indeksorgan
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.7247
	Std. Deviation	.12229
Most Extreme Differences	Absolute	.243
	Positive	.243
	Negative	-.135
Kolmogorov-Smirnov Z		.939
Asymp. Sig. (2-tailed)		.341

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

indeksorgan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.685	4	10	.094

ANOVA

Indeksorgan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.112	4	.028	2.863	.081
Within Groups	.098	10	.010		
Total	.209	14			

BUN JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urea
N		50
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	28.66
	Std. Deviation	12.734
Most Extreme Differences	Absolute	.163
	Positive	.163
	Negative	-.095
Kolmogorov-Smirnov Z		1.151
Asymp. Sig. (2-tailed)		.141

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urea

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.164	4	45	.955

ANOVA

Urea

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	176.920	4	44.230	.256	.904
Within Groups	7768.300	45	172.629		
Total	7945.220	49			

BUN JANTAN T3
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urea
N		30
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	36.7000
	Std. Deviation	8.40012
Most Extreme Differences	Absolute	.112
	Positive	.112
	Negative	-.105
Kolmogorov-Smirnov Z		.614
Asymp. Sig. (2-tailed)		.845

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urea

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.142	4	25	.105

ANOVA

Urea

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	469.060	4	117.265	1.859	.149
Within Groups	1577.240	25	63.090		
Total	2046.300	29			

BUN JANTAN T4

Kadar T90 dengan T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	39.2500	29.5000
	Std. Deviation	3.50000	7.59386
Most Extreme Differences	Absolute	.191	.276
	Positive	.142	.167
	Negative	-.191	-.276
Kolmogorov-Smirnov Z		.383	.552
Asymp. Sig. (2-tailed)		.999	.920

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T90	39.2500	4	3.50000	1.75000
	T118	29.5000	4	7.59386	3.79693

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T90 & T118	4	.571	.429

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	T90 - T118	9.75000	6.29153	3.14576	-.26123	19.76123	3.099	3	.053

Kadar T0 dengan T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		t0	t4
N		4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	20.25	29.50
	Std. Deviation	3.304	7.594
Most Extreme Differences	Absolute	.220	.276
	Positive	.160	.167
	Negative	-.220	-.276
Kolmogorov-Smirnov Z		.440	.552
Asymp. Sig. (2-tailed)		.990	.920

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	t0	20.25	4	3.304	1.652
	t4	29.50	4	7.594	3.797

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	t0 & t4	4	.618	.382

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 t0 - t4	-9.250	6.131	3.065	-19.005	.505	-3.018	3	.057

BUN BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urea
N		50
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	35.8200
	Std. Deviation	13.74801
Most Extreme Differences	Absolute	.124
	Positive	.124
	Negative	-.111
Kolmogorov-Smirnov Z		.877
Asymp. Sig. (2-tailed)		.426

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urea

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.983	4	45	.113

ANOVA

Urea

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	162.680	4	40.670	.201	.936
Within Groups	9098.700	45	202.193		
Total	9261.380	49			

BUN BETINA T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		urea
N		37
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	46.2432
	Std. Deviation	11.81667
Most Extreme Differences	Absolute	.107
	Positive	.107
	Negative	-.055
Kolmogorov-Smirnov Z		.649
Asymp. Sig. (2-tailed)		.793

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Urea

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.400	4	32	.807

ANOVA

Urea

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1515.299	4	378.825	3.452	.019
Within Groups	3511.512	32	109.735		
Total	5026.811	36			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Urea

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
cmc na	150 mg/kgbb	-12.04167	5.65738	.233	-28.3881	4.3047
	500 mg/kgbb	-11.62500	5.23772	.199	-26.7588	3.5088
	1000 mg/kgbb	-19.16071*	5.42155	.010	-34.8257	-3.4957
	Satelit	-14.00000	5.23772	.081	-29.1338	1.1338
150 mg/kgbb	cmc na	12.04167	5.65738	.233	-4.3047	28.3881
	500 mg/kgbb	.41667	5.65738	1.000	-15.9297	16.7631
	1000 mg/kgbb	-7.11905	5.82799	.739	-23.9584	9.7203
	Satelit	-1.95833	5.65738	.997	-18.3047	14.3881
500 mg/kgbb	cmc na	11.62500	5.23772	.199	-3.5088	26.7588
	150 mg/kgbb	-.41667	5.65738	1.000	-16.7631	15.9297
	1000 mg/kgbb	-7.53571	5.42155	.638	-23.2007	8.1293
	Satelit	-2.37500	5.23772	.991	-17.5088	12.7588
1000 mg/kgbb	cmc na	19.16071*	5.42155	.010	3.4957	34.8257
	150 mg/kgbb	7.11905	5.82799	.739	-9.7203	23.9584
	500 mg/kgbb	7.53571	5.42155	.638	-8.1293	23.2007
	Satelit	5.16071	5.42155	.874	-10.5043	20.8257
satelit	cmc na	14.00000	5.23772	.081	-1.1338	29.1338
	150 mg/kgbb	1.95833	5.65738	.997	-14.3881	18.3047
	500 mg/kgbb	2.37500	5.23772	.991	-12.7588	17.5088
	1000 mg/kgbb	-5.16071	5.42155	.874	-20.8257	10.5043

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

BUN BETINA T4

Kadar T90 dengan T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	49.1250	39.0000
	Std. Deviation	7.16016	9.13392
Most Extreme Differences	Absolute	.174	.153
	Positive	.149	.114
	Negative	-.174	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.491	.434
Asymp. Sig. (2-tailed)		.969	.992

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T90	49.1250	8	7.16016	2.53150
	T118	39.0000	8	9.13392	3.22933

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T90 & T118	8	.765	.027

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Std. Deviation			
Pair 1	T90 - T118	10.12500	5.89037	2.08256	5.20053	15.04947	4.862	7	.002

Kadar T0 dengan T118**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		t0	t4
N		8	8
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	34.13	39.00
	Std. Deviation	13.303	9.134
Most Extreme Differences	Absolute	.247	.153
	Positive	.247	.114
	Negative	-.134	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.698	.434
Asymp. Sig. (2-tailed)		.715	.992

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 t0	34.13	8	13.303	4.703
t4	39.00	8	9.134	3.229

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 t0 & t4	8	.540	.167

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 t0 - t4	-4.875	11.370	4.020	-14.380	4.630	-1.213	7	.265

KREATININ JANTAN T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kreatinin
N		50
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.624
	Std. Deviation	.1697
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156
	Negative	-.150
Kolmogorov-Smirnov Z		1.105
Asymp. Sig. (2-tailed)		.174

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.581	4	45	.050

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank
kreatinin	cmc na	10	28.05
	150 mg/kgbb	10	29.70
	500 mg/kgbb	10	26.05
	1000 mg/kgbb	10	20.85
	Satelit	10	22.85
	Total	50	

Test Statistics^{a, b}

		kreatinin
Chi-Square		2.603
df		4
Asymp. Sig.		.626

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompok

KREATININ JANTAN T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kreatinin
N		30
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.9567
	Std. Deviation	.19772
Most Extreme Differences	Absolute	.132
	Positive	.113
	Negative	-.132
Kolmogorov-Smirnov Z		.725
Asymp. Sig. (2-tailed)		.669

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.339	4	25	.283

ANOVA

Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.314	4	.078	2.389	.078
Within Groups	.820	25	.033		
Total	1.134	29			

KREATININ JANTAN T4

Kadar T90 dengan T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		4	4
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	1.1000	.7500
	Std. Deviation	.18257	.12910
Most Extreme Differences	Absolute	.208	.151
	Positive	.208	.151
	Negative	-.208	-.151
Kolmogorov-Smirnov Z		.416	.301
Asymp. Sig. (2-tailed)		.995	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T90	1.1000	4	.18257	.09129
	T118	.7500	4	.12910	.06455

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T90 & T118	4	.283	.717

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)	
			Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
						Lower				Upper
Pair 1	T90 - T118		.35000	.19149	.09574	.04530	.65470	3.656	3	.035

Kadar T0 dengan T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		satelit T0	satelit T4
N		4	4
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.550	.750
	Std. Deviation	.0577	.1291
Most Extreme Differences	Absolute	.307	.151
	Positive	.307	.151
	Negative	-.307	-.151
Kolmogorov-Smirnov Z		.614	.301
Asymp. Sig. (2-tailed)		.846	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	satelit T0	.550	4	.0577	.0289
	satelit T4	.750	4	.1291	.0645

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	satelit T0 & satelit T4	4	.447	.553

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	satelit T0 - satelit T4	-.2000	.1155	.0577	-.3837	-.0163	-3.464	3	.041

KREATININ BETINA T0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kreatinin
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.742
	Std. Deviation	.1401
Most Extreme Differences	Absolute	.221
	Positive	.185
	Negative	-.221
Kolmogorov-Smirnov Z		1.560
Asymp. Sig. (2-tailed)		.015

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank
kreatinin	cmc na	10	25.60
	150 mg/kgbb	10	27.15
	500 mg/kgbb	10	26.75
	1000 mg/kgbb	10	27.05
	Satelit	10	20.95
	Total	50	

Test Statistics^{a,b}

	Kreatinin
Chi-Square	1.413
df	4
Asymp. Sig.	.842

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompok

KREATININ BETINA T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kreatinin
N		37
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	1.1108
	Std. Deviation	.19406
Most Extreme Differences	Absolute	.148
	Positive	.148
	Negative	-.137
Kolmogorov-Smirnov Z		.903
Asymp. Sig. (2-tailed)		.389

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.585	4	32	.202

ANOVA

Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.368	4	.092	2.981	.034
Within Groups	.988	32	.031		
Total	1.356	36			

KREATININ BETINA T4

Kadar T90 dengan T118

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T90	T118
N		8	8
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	1.1750	.8625
	Std. Deviation	.12817	.13025
Most Extreme Differences	Absolute	.210	.238
	Positive	.165	.146
	Negative	-.210	-.238
Kolmogorov-Smirnov Z		.595	.674
Asymp. Sig. (2-tailed)		.871	.754

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T90	1.1750	8	.12817	.04532
	T118	.8625	8	.13025	.04605

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T90 & T118	8	-.321	.438

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
			Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Lower			
Pair 1	T90 - T118	.31250	.21002	.07425	.13692	.48808	4.209	7	.004

Kadar T0 dengan T118**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		satelit T0	satelit T4
N		8	8
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.675	.863
	Std. Deviation	.1165	.1302
Most Extreme Differences	Absolute	.240	.238
	Positive	.240	.146
	Negative	-.233	-.238
Kolmogorov-Smirnov Z		.679	.674
Asymp. Sig. (2-tailed)		.745	.754

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	satelit T0	.675	8	.1165	.0412
	satelit T4	.863	8	.1302	.0460

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	satelit T0 & satelit T4	8	-.259	.536

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	satelit T0 - satelit T4	-.1875	.1959	.0693	-.3513	-.0237	-2.707	7	.030

HISTOPATOLOGI JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kerusakan
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	15.80
	Std. Deviation	11.815
Most Extreme Differences	Absolute	.197
	Positive	.197
	Negative	-.159
Kolmogorov-Smirnov Z		.761
Asymp. Sig. (2-tailed)		.608

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.538	4	10	.013

Kruskal-Wallis Test

Ranks

kelompok		N	Mean Rank
kerusakan	kontrol negatif	3	2.00
	150 mg/kgbb	3	7.00
	500 mg/kgbb	3	11.00
	1000 mg/kgbb	3	14.00
	kontrol satelit	3	6.00
	Total	15	

Test Statistics^{a,b}

	kerusakan
Chi-Square	12.946
df	4
Asymp. Sig.	.012

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Mann-Whitney Test

Kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 150 mg/kgbb

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan kontrol negatif	3	2.00	6.00
150 mg/kgbb	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 500 mg/kgbb

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	kontrol negatif	3	2.00	6.00
	500 mg/kgbb	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1000 mg/kgbb

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	kontrol negatif	3	2.00	6.00
	1000 mg/kgbb	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok kontrol negatif dengan kelompok satelit

Ranks

kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	kontrol negatif	3	2.00	6.00
	kontrol satelit	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

PIKNOSIS, KARIOEREKSIS, DAN KARIOLISIS JANTAN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		piknosis	karioereksis	kariolisis
N		15	15	15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	1.6667	2.2667	3.2000
	Std. Deviation	2.09307	2.15362	2.80815
Most Extreme Differences	Absolute	.292	.233	.328
	Positive	.292	.233	.328
	Negative	-.213	-.146	-.135
Kolmogorov-Smirnov Z		1.129	.904	1.272
Asymp. Sig. (2-tailed)		.156	.387	.079

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
piknosis	3.221	4	10	.061
karioereksis	2.433	4	10	.116
kariolisis	7.639	4	10	.004

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
piknosis	Between Groups	22.000	4	5.500	1.398	.303
	Within Groups	39.333	10	3.933		
	Total	61.333	14			
karioereksis	Between Groups	32.933	4	8.233	2.573	.103
	Within Groups	32.000	10	3.200		
	Total	64.933	14			
kariolisis	Between Groups	77.733	4	19.433	5.949	.010
	Within Groups	32.667	10	3.267		
	Total	110.400	14			

Kruskal-Wallis Test

Ranks				Test Statistics ^{a,b}	
kelompok		N	Mean Rank		kariolisis
kariolisis	kontrol negatif	3	2.00	Chi-Square	9.809
	150 mg/kgbb	3	9.17	df	4
	500 mg/kgbb	3	8.00	Asymp. Sig.	.044
	1000 mg/kgbb	3	12.83		
	kelompok satelit	3	8.00		
Total		15			

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompok

Mann-Whitney Test

Kelompok kontrol negatif dengan dosis 150 mg/kgbb

Ranks				Test Statistics ^b	
kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks	Kariolisis
kariolisis	kontrol negatif	3	2.00	6.00	Mann-Whitney U .000
	150 mg/kgbb	3	5.00	15.00	Wilcoxon W 6.000
					Z -1.993
	Total	6			Asymp. Sig. (2-tailed) .046
					Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] .100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok kontrol negatif dengan dosis 500 mg/kgbb

Ranks				Test Statistics ^b	
kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks	kariolisis
kariolisis	kontrol negatif	3	2.00	6.00	Mann-Whitney U .000
	500 mg/kgbb	3	5.00	15.00	Wilcoxon W 6.000
					Z -2.023
	Total	6			Asymp. Sig. (2-tailed) .043
					Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] .100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok kontrol negatif dengan dosis 1000 mg/kgbb

Ranks				Test Statistics ^b	
kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks		kariolisis
Karioli kontrol	3	2.00	6.00	Mann-Whitney U	.000
sis negatif				Wilcoxon W	6.000
1000	3	5.00	15.00	Z	-1.993
mg/kgbb				Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Total	6			Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Kelompok kontrol negatif dengan kelompok satelit

Ranks			
kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kariolis kontrol	3	2.00	6.00
is negatif			
kelompok	3	5.00	15.00
satelit			
Total	6		

Test Statistics ^b	
	kariolisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

HISTOPATOLOGI BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kerusakan
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	14.80
	Std. Deviation	12.184
Most Extreme Differences	Absolute	.165
	Positive	.165
	Negative	-.147
Kolmogorov-Smirnov Z		.639
Asymp. Sig. (2-tailed)		.809

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.346	4	10	.055

ANOVA

kerusakan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1961.733	4	490.433	42.037	.000
Within Groups	116.667	10	11.667		
Total	2078.400	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

kerusakan

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	150 mg/kgbb	-8.667	2.789	.066	-17.85	.51
	500 mg/kgbb	-30.333*	2.789	.000	-39.51	-21.15
	1000 mg/kgbb	-14.333*	2.789	.003	-23.51	-5.15
	kontrol satelit	1.000	2.789	.996	-8.18	10.18
150 mg/kgbb	kontrol negatif	8.667	2.789	.066	-.51	17.85
	500 mg/kgbb	-21.667*	2.789	.000	-30.85	-12.49
	1000 mg/kgbb	-5.667	2.789	.318	-14.85	3.51
	kontrol satelit	9.667*	2.789	.038	.49	18.85
500 mg/kgbb	kontrol negatif	30.333*	2.789	.000	21.15	39.51
	150 mg/kgbb	21.667*	2.789	.000	12.49	30.85
	1000 mg/kgbb	16.000*	2.789	.001	6.82	25.18
	kontrol satelit	31.333*	2.789	.000	22.15	40.51
1000 mg/kgbb	kontrol negatif	14.333*	2.789	.003	5.15	23.51
	150 mg/kgbb	5.667	2.789	.318	-3.51	14.85
	500 mg/kgbb	-16.000*	2.789	.001	-25.18	-6.82
	kontrol satelit	15.333*	2.789	.002	6.15	24.51
kontrol satelit	kontrol negatif	-1.000	2.789	.996	-10.18	8.18
	150 mg/kgbb	-9.667*	2.789	.038	-18.85	-.49
	500 mg/kgbb	-31.333*	2.789	.000	-40.51	-22.15
	1000 mg/kgbb	-15.333*	2.789	.002	-24.51	-6.15

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

PIKNOSIS, KARIOEREKSIS, DAN KARIOLISIS BETINA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		piknosis	karioereksis	kariolisis
N		15	15	15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	2.6667	2.4667	2.4000
	Std. Deviation	1.63299	2.79966	2.29285
Most Extreme Differences	Absolute	.192	.233	.196
	Positive	.192	.233	.196
	Negative	-.126	-.189	-.148
Kolmogorov-Smirnov Z		.743	.902	.759
Asymp. Sig. (2-tailed)		.639	.390	.612

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
piknosis	1.243	4	10	.354
karioereksis	3.091	4	10	.067
kariolisis	2.473	4	10	.112

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
piknosis	Between Groups	24.667	4	6.167	4.868	.019
	Within Groups	12.667	10	1.267		
	Total	37.333	14			
karioereksis	Between Groups	85.733	4	21.433	8.931	.002
	Within Groups	24.000	10	2.400		
	Total	109.733	14			
kariolisis	Between Groups	56.933	4	14.233	8.540	.003
	Within Groups	16.667	10	1.667		
	Total	73.600	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
piknosis	kontrol negatif	150 mg/kgbb	-1.66667	.91894	.417	-4.6910	1.3576
		500 mg/kgbb	-3.00000	.91894	.052	-6.0243	.0243
		1000 mg/kgbb	-1.00000	.91894	.809	-4.0243	2.0243
		kelompok satelit	.66667	.91894	.946	-2.3576	3.6910
	150 mg/kgbb	kontrol negatif	1.66667	.91894	.417	-1.3576	4.6910
		500 mg/kgbb	-1.33333	.91894	.612	-4.3576	1.6910
		1000 mg/kgbb	.66667	.91894	.946	-2.3576	3.6910
		kelompok satelit	2.33333	.91894	.157	-.6910	5.3576
	500 mg/kgbb	kontrol negatif	3.00000	.91894	.052	-.0243	6.0243
		150 mg/kgbb	1.33333	.91894	.612	-1.6910	4.3576
		1000 mg/kgbb	2.00000	.91894	.263	-1.0243	5.0243
		kelompok satelit	3.66667 [*]	.91894	.017	.6424	6.6910
	1000 mg/kgbb	kontrol negatif	1.00000	.91894	.809	-2.0243	4.0243
		150 mg/kgbb	-.66667	.91894	.946	-3.6910	2.3576
		500 mg/kgbb	-2.00000	.91894	.263	-5.0243	1.0243
		kelompok satelit	1.66667	.91894	.417	-1.3576	4.6910
	kelompok satelit	kontrol negatif	-.66667	.91894	.946	-3.6910	2.3576
		150 mg/kgbb	-2.33333	.91894	.157	-5.3576	.6910
		500 mg/kgbb	-3.66667 [*]	.91894	.017	-6.6910	-.6424
		1000 mg/kgbb	-1.66667	.91894	.417	-4.6910	1.3576
karioereksis	kontrol negatif	150 mg/kgbb	-2.00000	1.26491	.539	-6.1629	2.1629
		500 mg/kgbb	-6.66667 [*]	1.26491	.003	-10.8296	-2.5037
		1000 mg/kgbb	-1.66667	1.26491	.687	-5.8296	2.4963
		kelompok satelit	-.33333	1.26491	.999	-4.4963	3.8296
	150 mg/kgbb	kontrol negatif	2.00000	1.26491	.539	-2.1629	6.1629
		500 mg/kgbb	-4.66667 [*]	1.26491	.027	-8.8296	-.5037
		1000 mg/kgbb	.33333	1.26491	.999	-3.8296	4.4963
		kelompok satelit	1.66667	1.26491	.687	-2.4963	5.8296
	500 mg/kgbb	kontrol negatif	6.66667 [*]	1.26491	.003	2.5037	10.8296
		150 mg/kgbb	4.66667 [*]	1.26491	.027	.5037	8.8296
		1000 mg/kgbb	5.00000 [*]	1.26491	.018	.8371	9.1629
		kelompok satelit	1.66667	1.26491	.687	-2.4963	5.8296

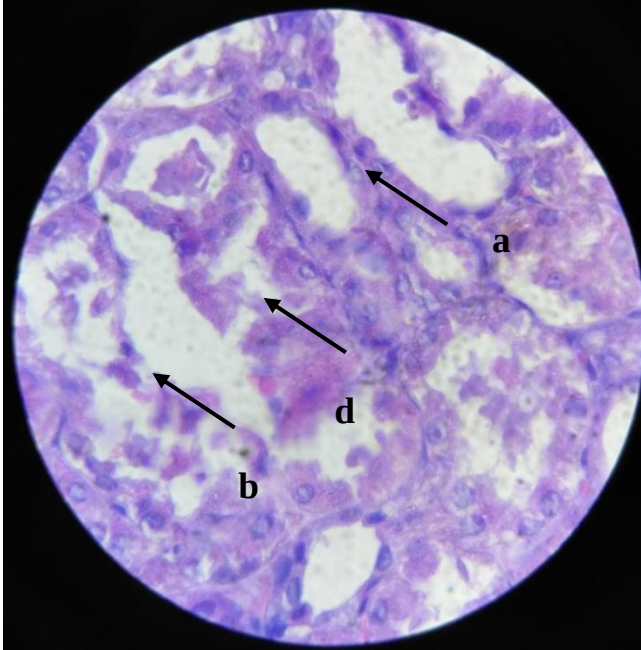
		kelompok satelit	6.33333 ⁺	1.26491	.004	2.1704	10.4963
	1000 mg/kgbb	kontrol negatif	1.66667	1.26491	.687	-2.4963	5.8296
		150 mg/kgbb	-.33333	1.26491	.999	-4.4963	3.8296
		500 mg/kgbb	-5.00000 ⁺	1.26491	.018	-9.1629	-.8371
		kelompok satelit	1.33333	1.26491	.825	-2.8296	5.4963
	kelompok satelit	kontrol negatif	.33333	1.26491	.999	-3.8296	4.4963
		150 mg/kgbb	-1.66667	1.26491	.687	-5.8296	2.4963
		500 mg/kgbb	-6.33333 ⁺	1.26491	.004	-10.4963	-2.1704
		1000 mg/kgbb	-1.33333	1.26491	.825	-5.4963	2.8296
kariolisis	kontrol negatif	150 mg/kgbb	-1.00000	1.05409	.871	-4.4691	2.4691
		500 mg/kgbb	-4.66667 ⁺	1.05409	.009	-8.1358	-1.1976
		1000 mg/kgbb	-3.33333	1.05409	.061	-6.8024	.1358
		kelompok satelit	.33333	1.05409	.997	-3.1358	3.8024
	150 mg/kgbb	kontrol negatif	1.00000	1.05409	.871	-2.4691	4.4691
		500 mg/kgbb	-3.66667 ⁺	1.05409	.037	-7.1358	-.1976
		1000 mg/kgbb	-2.33333	1.05409	.250	-5.8024	1.1358
		kelompok satelit	1.33333	1.05409	.717	-2.1358	4.8024
	500 mg/kgbb	kontrol negatif	4.66667 ⁺	1.05409	.009	1.1976	8.1358
		150 mg/kgbb	3.66667 ⁺	1.05409	.037	.1976	7.1358
		1000 mg/kgbb	1.33333	1.05409	.717	-2.1358	4.8024
		kelompok satelit	5.00000 ⁺	1.05409	.005	1.5309	8.4691
	1000 mg/kgbb	kontrol negatif	3.33333	1.05409	.061	-.1358	6.8024
		150 mg/kgbb	2.33333	1.05409	.250	-1.1358	5.8024
		500 mg/kgbb	-1.33333	1.05409	.717	-4.8024	2.1358
		kelompok satelit	3.66667 ⁺	1.05409	.037	.1976	7.1358
	kelompok satelit	kontrol negatif	-.33333	1.05409	.997	-3.8024	3.1358
		150 mg/kgbb	-1.33333	1.05409	.717	-4.8024	2.1358
		500 mg/kgbb	-5.00000 ⁺	1.05409	.005	-8.4691	-1.5309
		1000 mg/kgbb	-3.66667 ⁺	1.05409	.037	-7.1358	-.1976

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

Lampiran 21. Hasil histopatologi organ ginjal

Kode Preparat : Cmc Na jantan

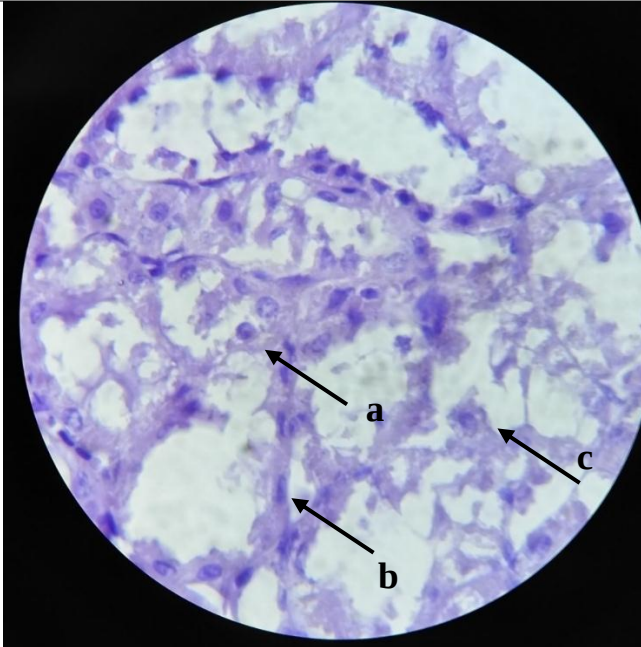
Perbesaran 1000 kali

**Keterangan**

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

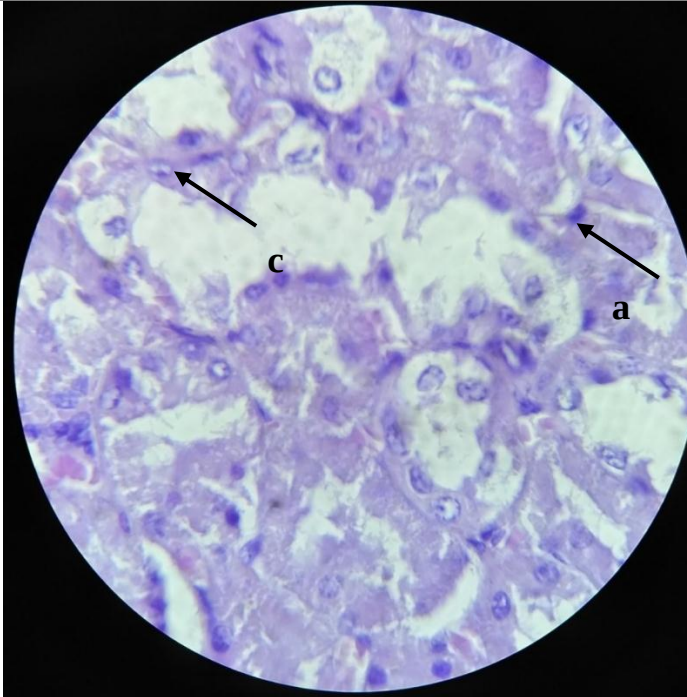
Kode Preparat : Cmc Na Jantan

Perbesaran 1000 kali

**Keterangan**

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

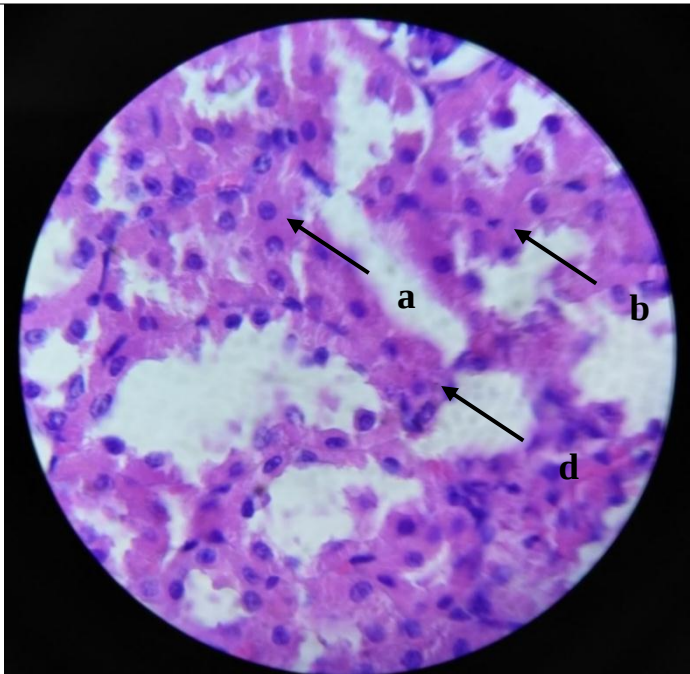
Kode Preparat : Cmc Na Jantan
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

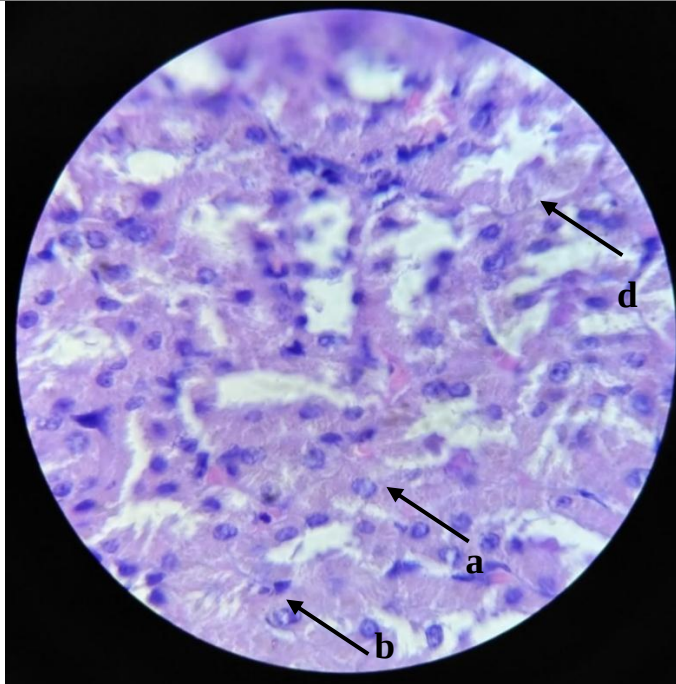
Kode Preparat : 150 mg/kgbb Jantan
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

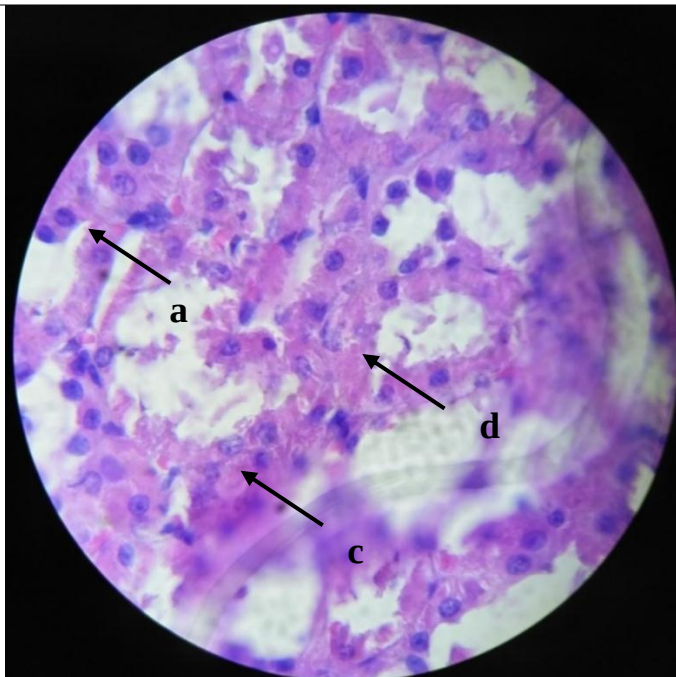
Kode Preparat : 150 mg/kgbb Jantan
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

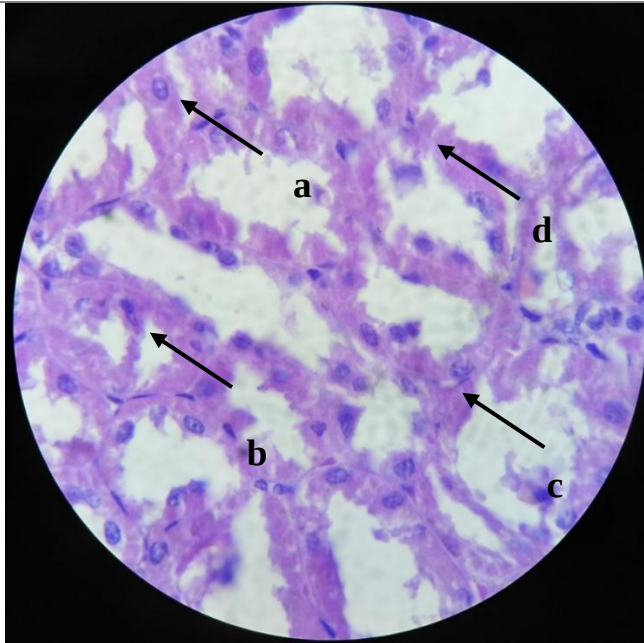
Kode Preparat : 150 mg/kgbb Jantan
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

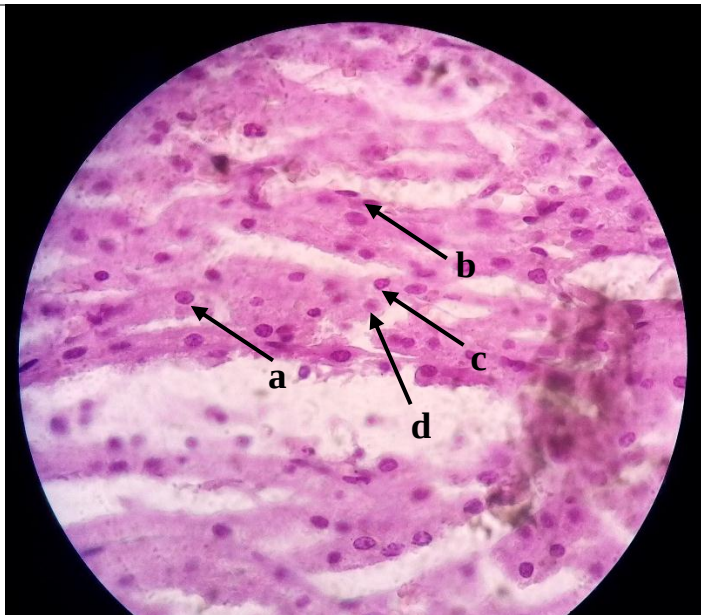
Kode Preparat : 500 mg/kgbb Jantan
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

Kode Preparat : 500 mg/kgbb Jantan
Perbesaran 1000 kali

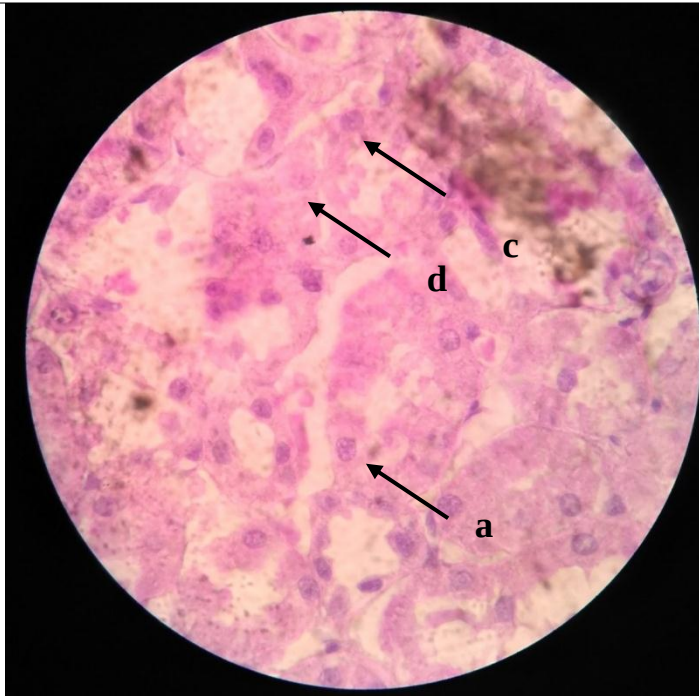


Keterangan

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

Kode Preparat : 500 mg/kgbb Jantan

Perbesaran 1000 kali

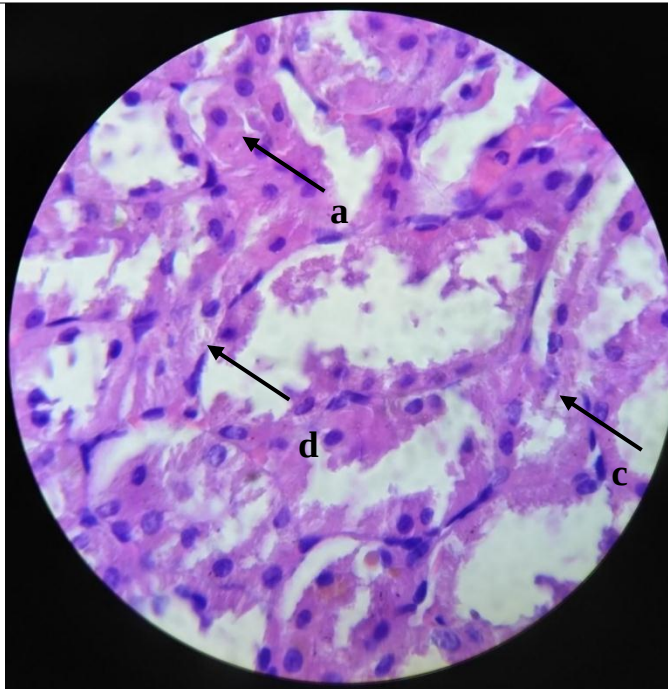


Keterangan

- 5. a: sel normal
- 6. b: piknosis
- 7. c: karyoreksis
- 8. d: karyolisis

Kode Preparat : 1000 mg/kgbb Jantan

Perbesaran 1000 kali

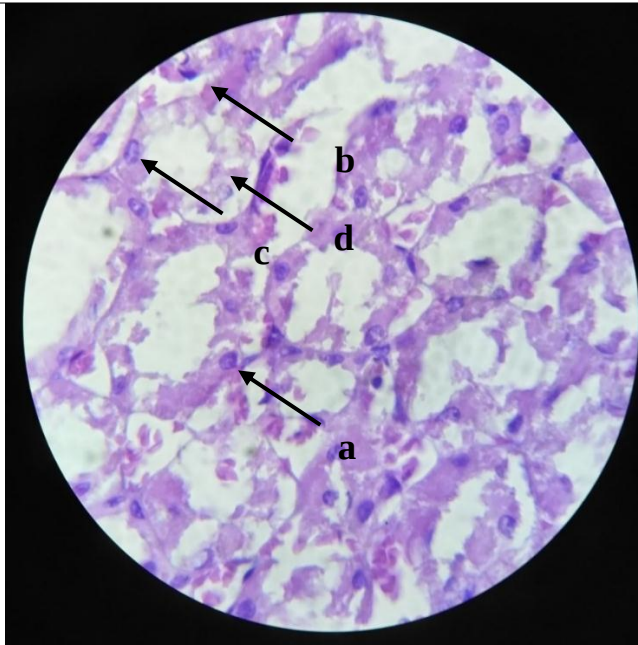


Keterangan

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

Kode Preparat : 1000 mg/kgbb

Perbesaran 1000 kali

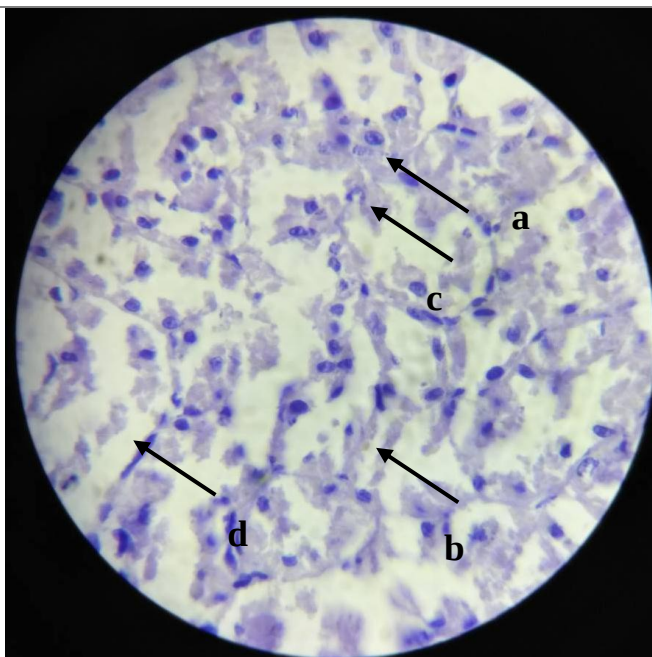


Keterangan

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

Kode Preparat : 1000 mg/kgbb Jantan

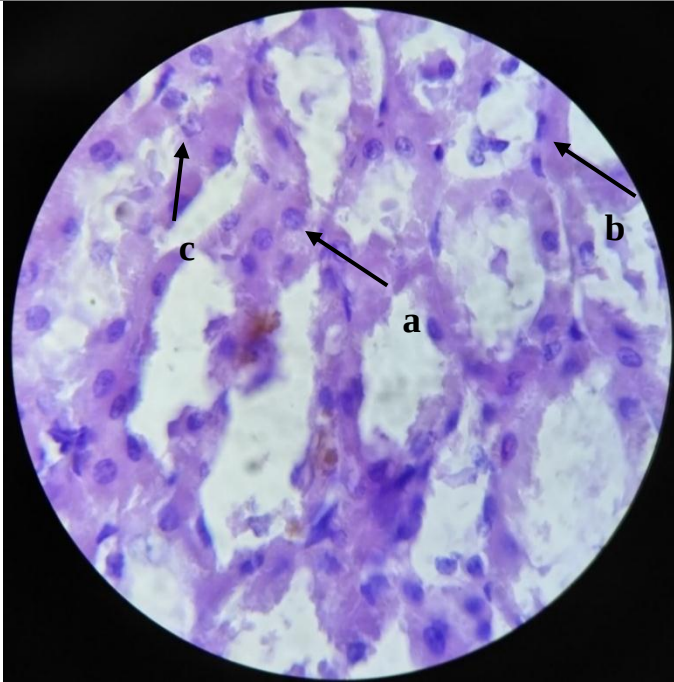
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

5. a: sel normal
 6. b: piknosis
 7. c: karyoreksis
 8. d: karyolisis
-

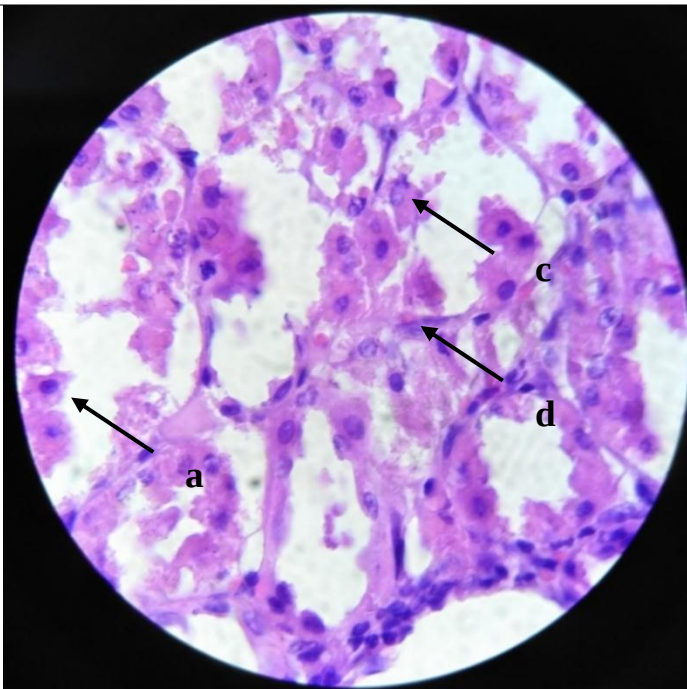
Kode Preparat : Kontrol Satelit Jantan
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

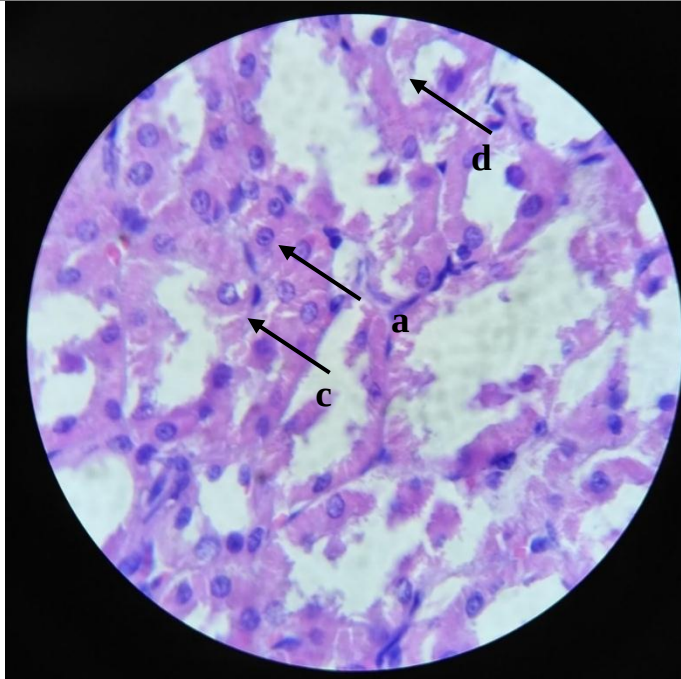
Kode Preparat : Kontrol satelit Jantan
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

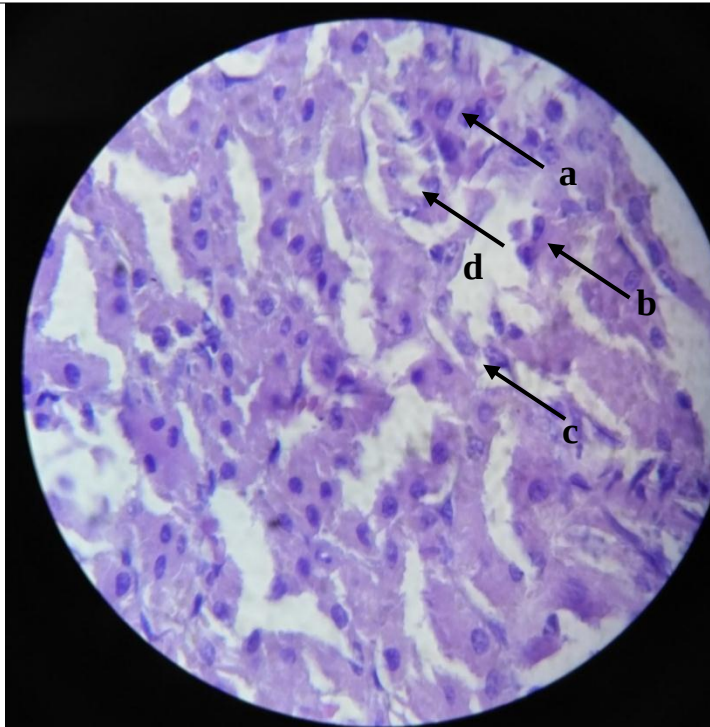
Kode Preparat : Kontrol satelit jantan
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

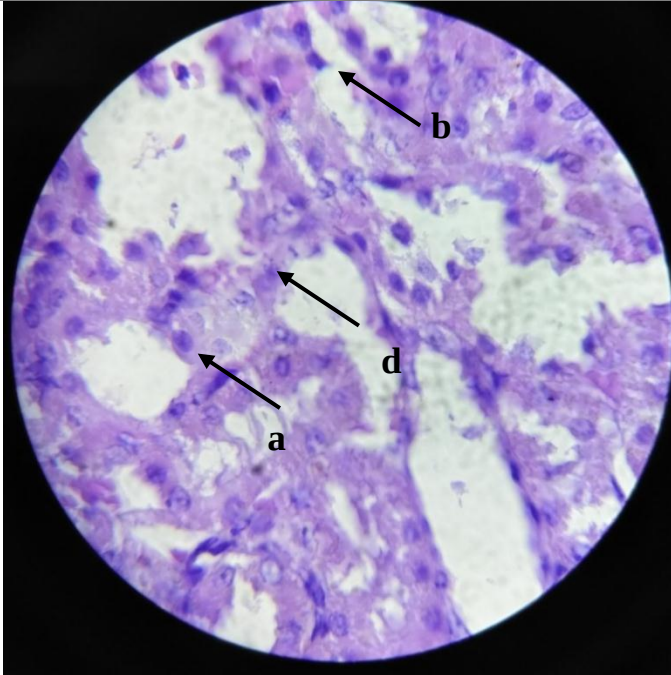
Kode Preparat : Cmc Na Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

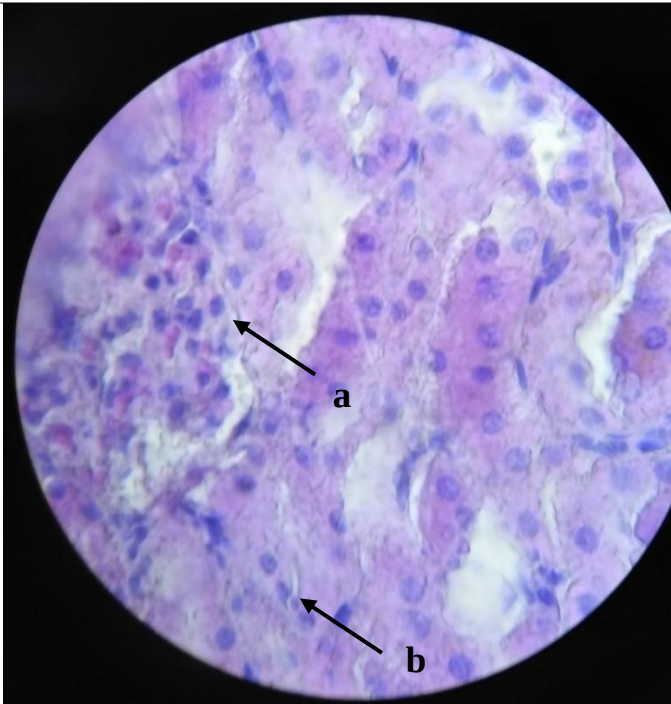
1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Kode Preparat : Cmc Na Betina
Perbesaran 1000 kali



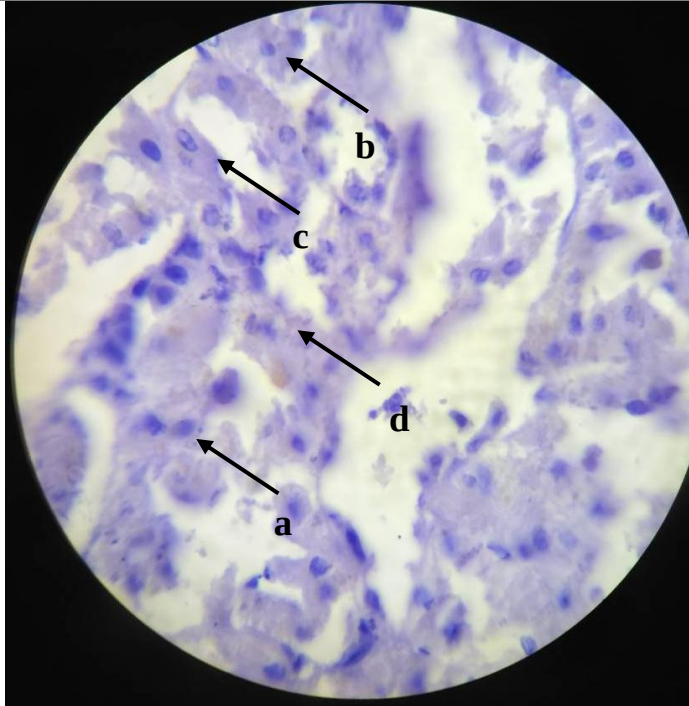
- Keterangan
- 9. a: sel normal
 - 10. b: piknosis
 - 11. c: karyoreksis
 - 12. d: karyolisis

Kode Preparat : Cmc Na Betina
Perbesaran 1000 kali



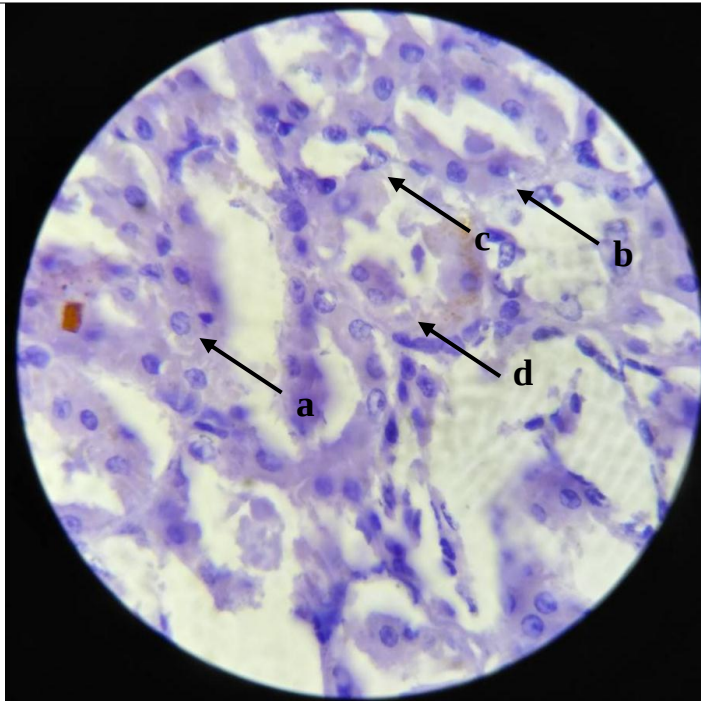
- Keterangan
- 1. a: sel normal
 - 2. b: piknosis
 - 3. c: karyoreksis
 - 4. d: karyolisis

Kode Preparat : 150 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



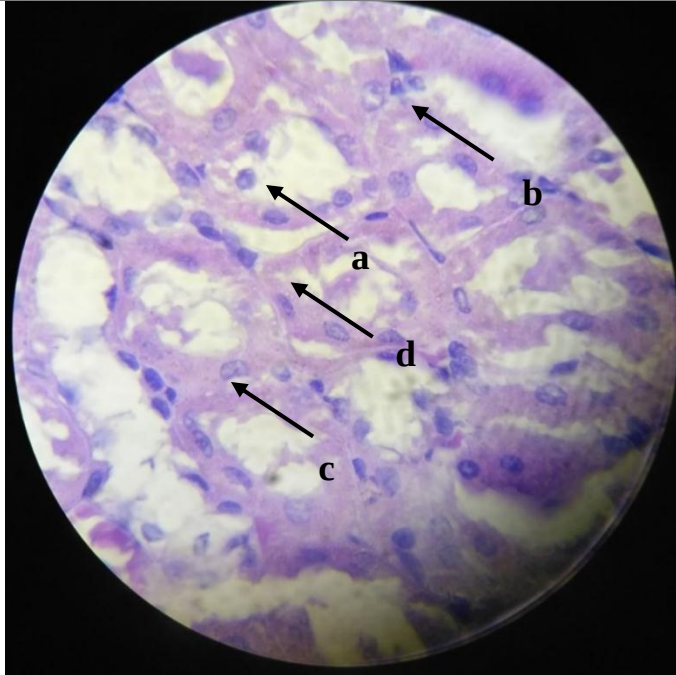
Keterangan
9. a: sel normal
10. b: piknosis
11. c: karyoreksis
12. d: karyolisis

Kode Preparat : 150 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan
13. a: sel normal
14. b: piknosis
15. c: karyoreksis
16. d: karyolisis

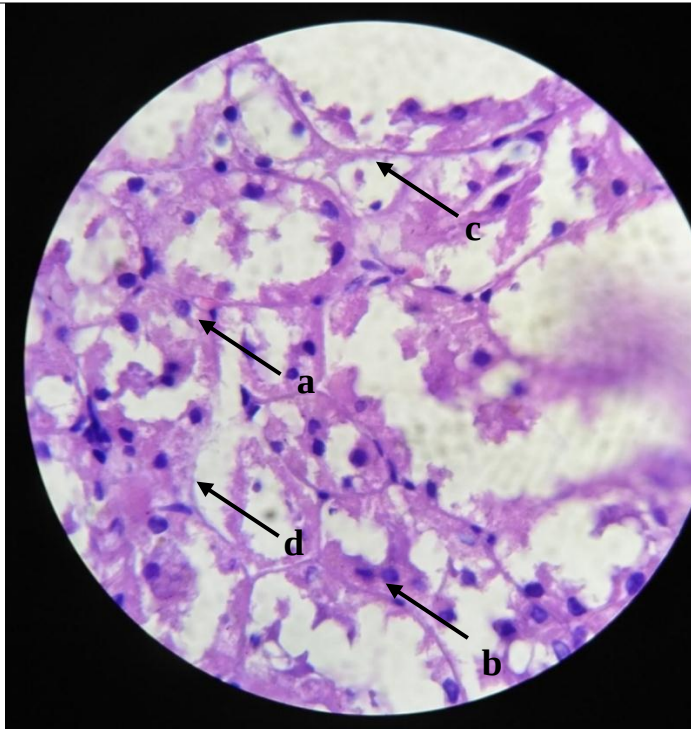
Kode Preparat : 150 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

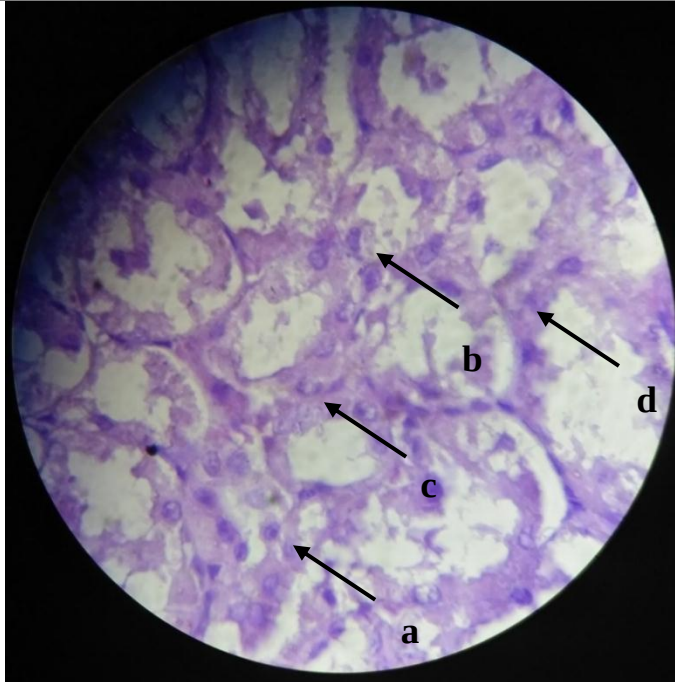
Kode Preparat : 500 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

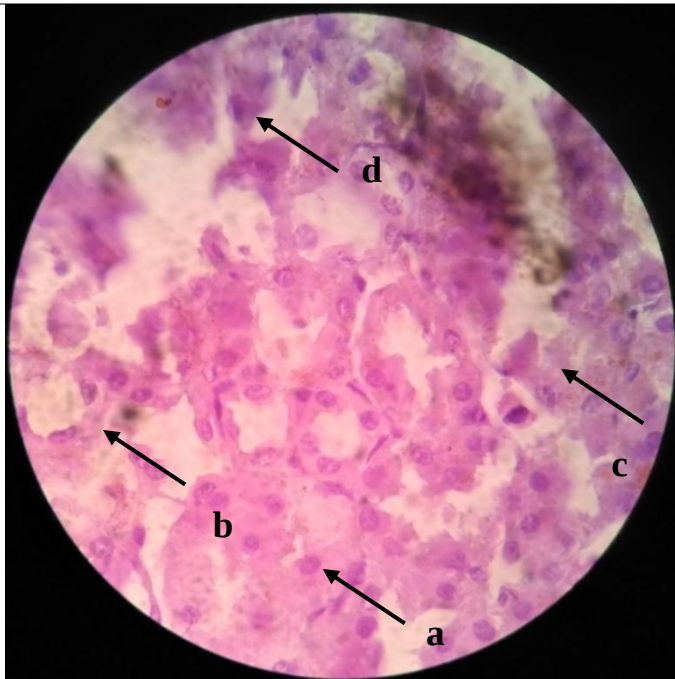
Kode Preparat : 500 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

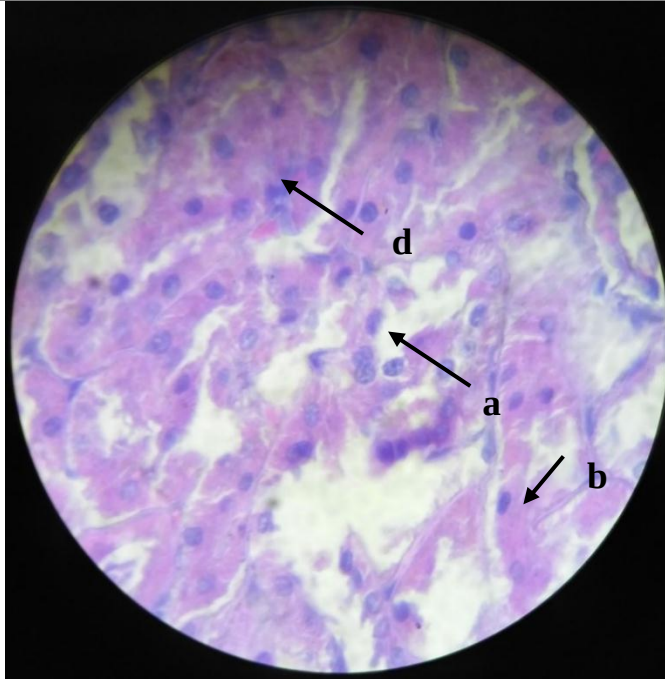
Kode Preparat : 500 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

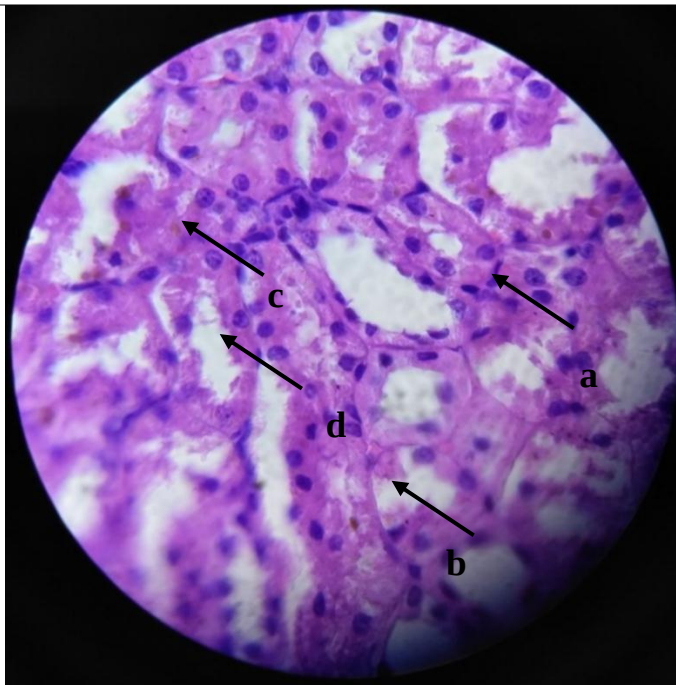
Kode Preparat : 1000 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

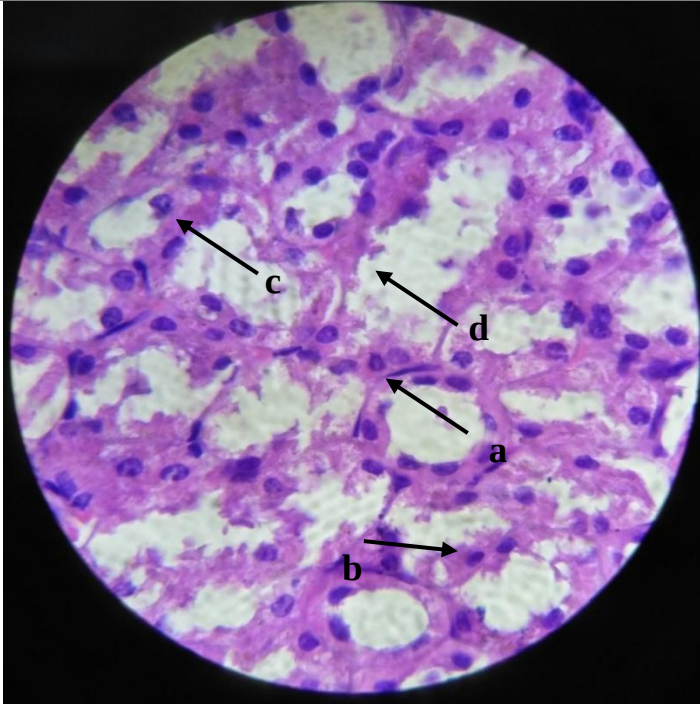
Kode Preparat : 1000 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

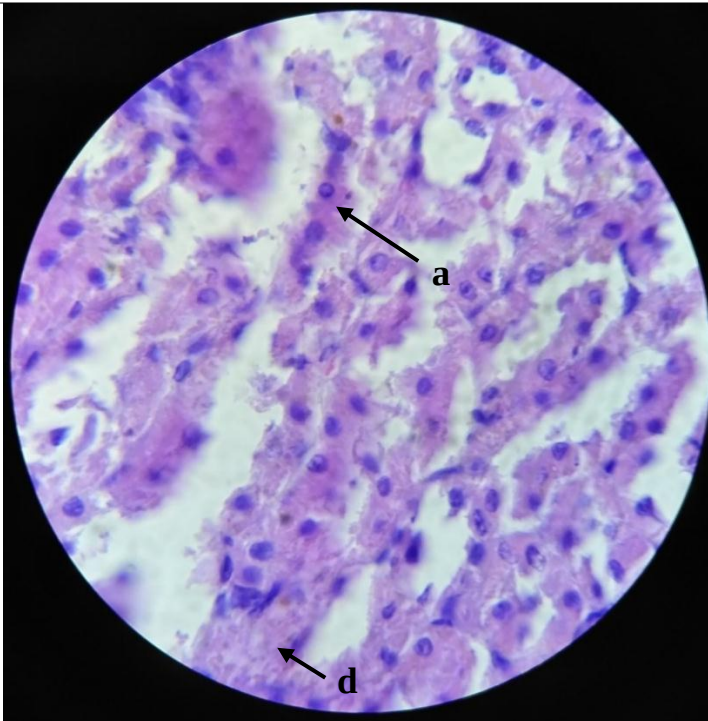
Kode Preparat : 1000 mg/kgbb Betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

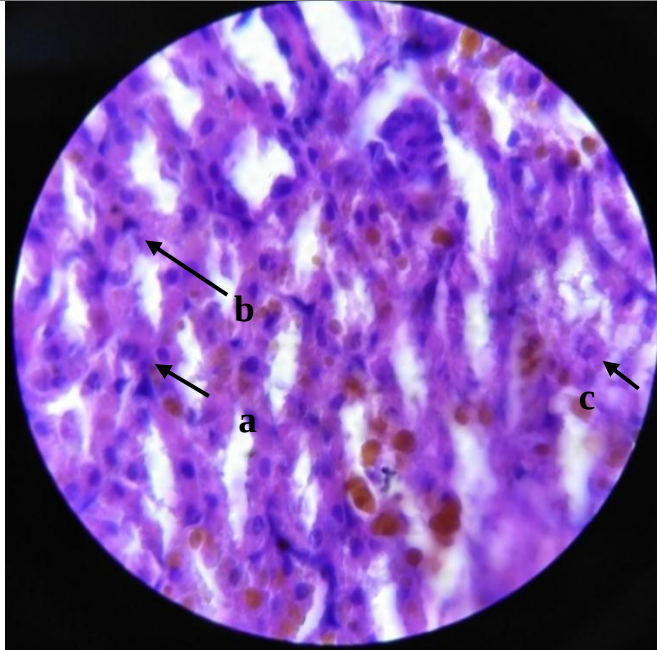
Kode Preparat : control satelit betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

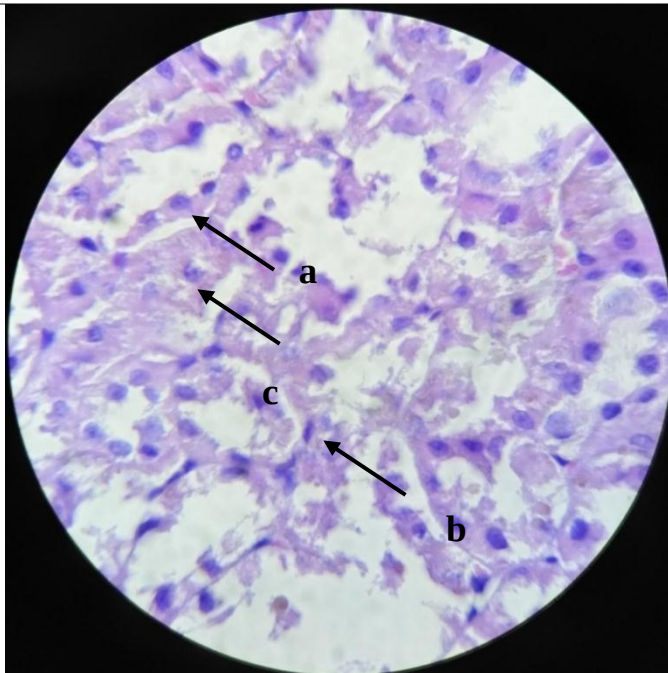
Kode Preparat : Kontrol satelit betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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

Kode Preparat : Kontrol satelit betina
Perbesaran 1000 kali



Keterangan

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