

**KAJIAN KEAMANAN PEMBERIAN BERULANG EKSTRAK  
ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir)  
TERSTANDAR TERHADAP FUNGSI GINJAL DAN HEPAR  
MENCIT BETINA GALUR DDY**

**SKRIPSI**



Oleh:

**GINNA ZABRINA**

**08613169**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
JUNI 2012**

**KAJIAN KEAMANAN PEMBERIAN BERULANG EKSTRAK  
ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir)  
TERSTANDAR TERHADAP FUNGSI GINJAL DAN HEPAR  
MENCIT BETINA GALUR DDY**

**SKRIPSI**

Skripsi diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm ) Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh:

**GINNA ZABRINA**

**08613169**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
JUNI 2012**

SKRIPSI

KAJIAN KEAMANAN PEMBERIAN BERULANG EKSTRAK ETANOLIK  
KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir) TERSTANDAR TERHADAP  
FUNGSI GINJAL DAN HEPAR MENCIT BETINA GALUR DDY

Yang Diajukan Oleh:



Pembimbing Utama

Dr. Farida Hayati M.Si, Apt.

Pembimbing Pendamping

Dr. drh. Retno Murwanti, M.P.

SKRIPSI

KAJIAN KEAMANAN PEMBERIAN BERULANG EKSTRAK ETANOLIK  
KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir) TERSTANDAR TERHADAP  
FUNGSI GINJAL DAN HEPAR MENCIT BETINA GALUR DDY

Oleh:

GINNA ZABRINA

08613169

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta

Tanggal: 9 Juni 2012

Ketua Penguji : Dr. Farida Hayati M.Si, Apt

Anggota Penguji : 1. Dr. drh. Retno Murwanti, M.P.

2. Dr. Arief Nurrochmad, M Sc., Apt.

3. Vitarani Dwi A. N., M.Si., Apt.

Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



(Yandi Syukri, M.Si., Apt.)

## **PERNYATAAN**

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

Yogyakarta, Juni 2012

Penulis,

Ginna Zabrina

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb*

*Alhamdulillah Rabbil 'Alamiin*, Puji syukur senantiasa kita panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan kasih sayang, karunia, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **KAJIAN KEAMANAN PEMBERIAN BERULANG EKSTRAK ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomea reptans*, Poir) TERSTANDAR TERHADAP FUNGSI GINJAL DAN HEPAR MENCIT BETINA GALUR DDY.**

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan strata-1 Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan skripsi ini tidak akan berjalan lancar tanpa bantuan dan motivasi oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah SWT atas anugerah dan karunia-Nya sehingga penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat berjalan sesuai yang diharapkan.
2. Farida Hayati, M.Si, Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama atas waktu, ilmu, bimbingan, dan arahan beliau sehingga penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.
3. Dr. drh. Retno Murwanti selaku Dosen Pembimbing Pendamping atas waktu, ilmu, saran, dan bimbingan beliau sehingga penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat berjalan baik.
4. Yandi Syukri, M. Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia atas bantuan dan dukungan beliau selama ini.
5. M. Hatta Prabowo, M. Si., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia atas bantuan dan dukungan beliau selama ini.

6. Dr. Arief Nurrochmad, M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji atas saran dan masukan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Vitarani Dwi Ananda Ningrum M.Si., Apt. selaku Dosen Penguji atas saran dan masukan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
8. Prof. drh. Kurniasih, MVSc., PhD. atas bimbingan beliau dalam membantu pembacaan histopatologi organ.
9. Orangtuaku tercinta atas doa dan dukungan beliau, serta adikku dan saudaraku terkasih untuk doa dan semangat yang telah diberikan demi kelancaran penelitian dan penyusunan skripsi ini.
10. Seluruh staf laboratorium Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia atas bantuan dan kerjasama yang baik.
11. Segenap civitas akademik Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah banyak membantu.
12. Endah Nurrohwindi D., Syifa Rohmah T., Tarias Rahayu, dan Liputri Sartika N. sebagai rekan yang sangat berperan dalam penelitian ini.
13. Teman-teman dan berbagai pihak yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan tidak terlepas dari kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.,*

Yogyakarta, Juni 2012

Penulis,

Ginna Zabrina

*Barang siapa mengerjakan kebajikan, maka itu untuk dirinya sendiri, dan barang siapa mengerjakan kejahatan, maka itu akan menimpa dirinya sendiri; kemudian kepada tuhanmu kamu dikembalikan.*

*(QS Al-Jasiyah: 15)*

### **Karya sederhana ini kupersembahkan kepada**

Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan lancar. Bersyukur atas mukjizat yang selalu diberikan oleh-Nya.

Sosok yang selalu menjadi panutan dan semangatku, Ayahanda Hendro susiyanto dan ibunda Eni Budiningsih atas doa dan dukungan beliau yang senantiasa mengiringi langkahku. Serta bapak Adi Setyanto atas segala dukungannya selama ini. Semoga Allah selalu melindungi kalian.

Si kecil Ghani Zelik Ramadhan yang selalu menjadi penyemangat dan inspirasiku.

Kakekku tercinta, Subagyo, yang kini berada lebih dekat dengan Allah SWT. Semoga beliau diterima di sisi-Nya.

Syifa, Watik, Ria, Rachma, Fithri, Endah, Tias, Nurul, Siti Nurul, dan Untia atas kerjasama dan persahabatan kita. Semoga kita dapat sukses bersama nantinya. Serta Desi dan Zahra yang selalu terasa tidak lengkap tanpa kalian, senang bisa mengenal kalian.

Teman-teman kelas C Farmasi UII 2008 dan teman-teman Enthalpy atas dukungan, doa, dan pertemanan kita.

Terimakasih, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

## DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRACT</i> .....	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	2
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. STUDI PUSTAKA.....	4
A. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Uji toksisitas	
a. Definisi.....	4
b. Hubungan dosis-respon.....	4
c. Jenis efek toksik.....	5
d. Jenis uji toksikologi.....	5
(1) Uji toksisitas akut.....	5
(2) Uji toksisitas subkronis atau subakut.....	6
(3) Uji toksisitas kronis.....	10
2. Kangkung darat ( <i>Ipomoea reptans</i> , Poir).....	10

a.	Morfologi kangkung darat.....	11
b.	Varietas kangkung darat.....	11
c.	Klasifikasi tanaman kangkung darat.....	11
d.	Kandungan kangkung darat.....	11
e.	Khasiat kangkung darat.....	12
3.	Obat herbal terstandar.....	12
4.	Hati.....	13
5.	Ginjal.....	15
B.	Keterangan Empiris.....	16
BAB III. METODE PENELITIAN.....		17
A.	Alat dan Bahan.....	17
1.	Alat.....	17
2.	Bahan.....	17
B.	Jalannya Penelitian.....	17
1.	Determinasi kangkung.....	17
2.	Pembuatan ekstrak.....	18
3.	<i>Ethical clearance</i> .....	18
4.	Pembuatan larutan stok ekstrak etanolik kangkung darat .....	18
5.	Pengelompokan hewan uji.....	19
6.	Cara pemejanaan.....	19
7.	Pemeliharaan hewan uji.....	20
8.	Pengamatan hewan uji.....	20
9.	Pengukuran AST dan ALT.....	21
10.	Pemeriksaan histopatologi.....	21
C.	Analisis Data.....	21
	Sistematika penelitian.....	22
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		23
1.	Penyiapan ekstrak etanolik kangkung darat terstandar.....	23
2.	Penetapan dosis uji .....	26

3. Pengamatan gejala toksik.....	27
4. Pengamatan perubahan berat badan.....	28
5. Pengukuran AST dan ALT.....	31
6. Pengamatan organ.....	34
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
A. Kesimpulan.....	42
B. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN.....	47

## DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 1. Kangkung darat.....	10
Gambar 2. Hati secara mikroskopi.....	14
Gambar 3. Anatomi Ginjal.....	15
Gambar 4. Skema penelitian.....	22
Gambar 5. Kangkung darat sebelum dan setelah pengeringan.....	24
Gambar 6. Proses maserasi kangkung darat.....	24
Gambar 7. Ekstrak ekstrak etanolik kangkung darat sebelum dan setelah diproses dengan rotary evaporator.....	25
Gambar 8. Grafik perubahan berat badan hewan uji selama masa perlakuan.....	29
Gambar 9. Hasil pengamatan makroskopi organ hati dan ginjal.....	34
Gambar 10. Ginjal normal secara mikroskopik.....	36
Gambar 11. Hepar normal secara mikroskopik.....	37
Gambar 12. Degenerasi vakuoler hepar .....	38
Gambar 13. Degenerasi vakuoler ginjal .....	39
Gambar 14. Kongesti ginjal .....	39
Gambar 15. Radang sekitar pembuluh darah pada hepar.....	40
Gambar 16. Radang sekitar pembuluh darah pada ginjal .....	40
Gambar 17. Infiltrasi sel radang pada ginjal .....	41

## DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel I. Pengamatan tanda dan gejala toksik.....	20
Tabel II. Hasil standardisasi ekstrak etanolik kangkung darat.....	26
Tabel III. Hasil pengamatan gejala toksik.....	27
Tabel IV. Rata-rata perubahan Berat Badan Mencit Perhari.....	29
Tabel V. Nilai signifikansi uji tukey data perubahan berat badan mencit....	30
Tabel VI. Hasil pengukuran kadar ALT dan AST.....	31
Tabel VII. Nilai signifikansi uji tukey pengukuran kadar ALT.....	33
Tabel VIII. Nilai signifikansi uji tukey pengukuran kadar AST.....	33
Tabel IX. Hasil pengamatan makroskopi organ mencit setelah 14 hari perlakuan.....	35
Tabel X. Pemeriksaan histopatologi organ mencit setelah 14 hari perlakuan.....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

	Hal.
Lampiran 1. Surat determinasi kangkung darat.....	46
Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman kangkung darat.....	47
Lampiran 3. Surat Keterangan <i>Ethical Clearance</i> .....	49
Lampiran 4. Surat Keterangan Hewan Uji.....	50
Lampiran 5. Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Kontrol.....	51
Lampiran 6. Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis I.....	53
Lampiran 7. Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis II.....	55
Lampiran 8. Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis III.....	57
Lampiran 9. Hasil Pengukuran Berat Badan Hewan Uji.....	59
Lampiran 10. Hasil ANOVA Perubahan Berat Badan.....	60
Lampiran 11. Hasil ANOVA Pengukuran ALT.....	64
Lampiran 12. Hasil ANOVA Pengukuran ALT.....	67
Lampiran 13. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Organ.....	71

# KAJIAN KEAMANAN PEMBERIAN BERULANG EKSTRAK ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir) TERSTANDAR TERHADAP FUNGSI GINJAL DAN HEPAR MENCIT BETINA GALUR DDY

## INTISARI

Telah diteliti bahwa kangkung darat memiliki aktifitas antihiperglikemia pada mencit jantan galur swiss yang diinduksi streptozotocin. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kajian keamanan pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar terhadap fungsi ginjal dan hepar pada mencit betina galur DDY. Dua puluh hewan uji dibagi ke dalam 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol (akuades 10 ml/ kg), dosis I (ekstrak etanolik kangkung darat 480 mg/ kg), dosis II (ekstrak etanolik kangkung darat 759 mg/ kg), dan dosis III (ekstrak etanolik kangkung darat 1200 mg/ kg). Ekstrak etanolik kangkung darat diberikan 1 kali sehari secara p.o. selama 14 hari. Pengamatan gejala toksik dilakukan selama 3 jam setelah pemberian senyawa uji. Kelompok dosis 1200 mg/ kg mengalami efek sedasi, konstipasi, dan feses berwarna hitam selama pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar, sedangkan kelompok lainnya tidak mengalami gejala toksik. Data berat badan, pemeriksaan ALT, dan pemeriksaan AST dianalisis secara statistik. Berat badan rata-rata hewan uji kelompok dosis 759 mg/ kg mengalami penurunan yang paling banyak dibandingkan kelompok lainnya dan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol dari hasil analisis statistik. Kadar AST dan ALT mengalami peningkatan setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat selama 14 hari, dari hasil analisis statistik kadar ALT dan AST kelompok dosis 759 mg/ kg dan dosis 1200 mg/ kg berbeda signifikan dengan kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ). Hasil histopatologi organ ginjal dan hepar hewan uji setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari terlihat adanya degenerasi vakuoler, peradangan, dan kongesti pada semua dosis.

Kata kunci: Kajian keamanan pemberian berulang, ekstrak etanolik kangkung darat terstandar, fungsi ginjal dan hepar.

SAFETY STUDY OF MULTIPLE DOSE ADMINISTRATION *Ipomoea reptans*, Poir ETHANOLIC EXTRACT ABOUT RENAL AND LIVER FUNCTION IN DDY FEMALE MICE

ABSTRACT

*Ipomoea reptans* have antihyperglycemia activity in Swiss male mice streptozotocin-induced. The aim of this study is obtain to review of safety multiple dose administration *Ipomoea reptans* about renal and liver function in DDY female mice. Twenty DDY mice were divided into 4 groups: control group (aquadest 10 ml/ kg), first dose group (*Ipomoea reptans* ethanolic extract 480 mg/ kg), second dose group (*Ipomoea reptans* ethanolic extract 759 mg/ kg), and third dose group (*Ipomoea reptans* ethanolic extract 1200 mg/ kg). *Ipomoea reptans* ethanolic extract was given in once daily dose for 14 days. Toxic symptoms were observed during 3 hours after administration of *Ipomoea reptans* ethanolic extract. Group of dose 1200 mg/ kg have the effect of sedation, constipation, and black stools during administration of *Ipomoea reptans* ethanolic extract, while the other group do not have any toxic symptoms. Average of body weight mice group of dose 759 mg/ kg has significant decrease. ALT and AST level increased after multiple dose administration of *ipomoea reptans* ethanolic extract for 14 days. Result of renal and hepatic histopathology after multiple dose administration of *ipomoea reptans* ethanolic extract for 14 days have seen any vakuoler degeneration, inflammation, and congestion.

Key words: safety study of multiple dose administration, standardized *Ipomoea reptans* ethanolic extract, renal and hepatic function.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Sebelumnya telah dilakukan penelitian terkait aktivitas antihiperqlikemia kangkung air (*Ipomoea aquatica*) untuk pengobatan diabetes tipe II, hasil pengukuran kadar gula darah puasa mengalami penurunan setelah pemberian kangkung air dalam satu minggu pada tikus Wistar diabetes yang diinduksi streptozotosin<sup>(1)</sup>. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) memiliki aktifitas antihiperqlikemia. Penelitian tersebut dilakukan terhadap mencit jantan galur Swiss diabetes yang diinduksi streptozotosin secara intraperitoneal selama 5 hari<sup>(2,3)</sup>. Tanaman kangkung memiliki kandungan seperti kalori, protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, fosfor, zat besi, natrium, kalium, vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C, niasin, air. Kandungan lain yaitu karoten, hentriakontan, dan sitosterol<sup>(4)</sup>. Penting dilakukan uji toksisitas untuk mendapatkan kajian keamanan penggunaan ekstrak etanolik kangkung darat terstandar sebagai antihiperqlikemia untuk pengembangan lebih lanjut sebagai obat.

Secara umum uji toksisitas terbagi menjadi uji ketoksikan khas dan uji ketoksikan tidak khas. Uji ketoksikan khas diantaranya yaitu uji potensiasi, karsinogenikan, kemutagenikan, keteratogenikan, reproduksi, kulit dan mata, dan perilaku. Uji ketoksikan tidak khas antara lain uji ketoksikan akut, sub kronis, dan kronis<sup>(5)</sup>. Uji toksisitas akut terbatas pada lamanya paparan, yaitu pengamatan selama 24 jam pada paparan pertama senyawa yang diuji<sup>(6)</sup>, sehingga tidak diketahui efek selanjutnya yang mungkin timbul jika diberikan paparan lanjutan, maka penting dilakukan penelitian terhadap pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar setelah dilakukannya uji toksistas akut. Uji ketoksikan pemberian berulang suatu senyawa dilakukan pada pemberian dosis berulang terhadap hewan uji tertentu yang ditujukan untuk mengetahui seberapa besar efek toksik yang mungkin dihasilkan<sup>(5)</sup>. Dosis pemberian didasarkan pada uji toksisitas akut sebelumnya. Uji toksisitas berulang minimal dilakukan dalam tiga variasi dosis<sup>(7,8)</sup>. Pengamatan dilakukan terhadap gejala toksik yang mungkin muncul,

perubahan berat badan, dan gambaran patologis hepar dan ginjal. Hepar berperan penting dalam metabolisme. Ginjal berperan penting dalam proses filtrasi, reabsorpsi, dan sekresi berbagai zat<sup>(9)</sup>. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan nantinya dapat diperoleh kajian keamanan pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar.

Saat ini banyak dilakukan pemanfaatan bahan alam sebagai obat, tetapi penelitian terkait kajian keamanannya sangat terbatas. Upaya peningkatan derajat obat herbal dapat dilakukan dengan pembuatan obat herbal terstandar. Obat herbal terstandar merupakan obat bahan alam yang telah diuji secara praklinik keamanan dan khasiatnya, bahan baku dan produknya telah distandardisasi. Pembuatan obat herbal terstandar harus sesuai dengan Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Benar (CPOTB) atau Cara Pembuatan Obat yang Benar (CPOB) yang berlaku<sup>(10)</sup>.

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah diatas, maka dirumuskan suatu permasalahan:

1. Apakah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dapat menimbulkan gejala toksik pada mencit betina galur DDY?
2. Apakah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dapat mempengaruhi fungsi ginjal dan hepar pada mencit betina galur DDY?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengamati ada tidaknya gejala toksik yang timbul karena pemberian berulang selama 14 hari ekstrak etanolik kangkung darat terstandar pada mencit betina galur DDY.
2. Mendapatkan kajian keamanan pemberian dosis berulang selama 14 hari ekstrak etanolik kangkung darat terstandar terhadap perubahan fungsi ginjal dan hepar mencit betina galur DDY.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Pada penelitian ini diharapkan diperoleh kajian keamanan pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar sebagai antihiperglikemia, sehingga dapat bermanfaat bagi penderita Diabetes Mellitus.

**BAB II**  
**STUDI PUSTAKA**  
**A. Tinjauan Pustaka**

**1. Uji Toksisitas**

a. Definisi

Toksikologi merupakan ilmu yang mempelajari hal terkait racun dan efeknya pada makhluk hidup<sup>(11)</sup>. Uji toksikologi dilakukan untuk mengetahui keamanan suatu senyawa pada manusia, hewan, dan lingkungan. Uji ini sangat penting dilakukan karena banyaknya penggunaan bahan kimia secara umum, bertujuan untuk menilai potensi bahaya yang mungkin terjadi<sup>(7)</sup>. Perlu dilakukan uji toksisitas pada hewan uji jantan dan betina, karena perbedaan jenis kelamin berpengaruh pada perbedaan parameter fisiologi, misalnya perbedaan dalam komposisi hormon<sup>(11)</sup>.

b. Hubungan dosis-respon

Efek yang ditimbulkan dari pemberian suatu senyawa adalah sesuai dengan dosis yang diberikan, maka hal ini disebut hubungan dosis-respon. Terdapat dua tipe hubungan dosis-respon yang tergantung dari jumlah subjek dan dosis yang diuji, yaitu *Graded* dosis-respon dan *Quantal* dosis-respon<sup>(6)</sup>. Ukuran toksisitas suatu senyawa dapat dinyatakan dalam dosis letal (*letal dose* atau LD), yaitu dosis senyawa toksik yang dapat menimbulkan sejumlah kematian pada sekelompok hewan uji. Didasarkan pada nilai LD<sub>50</sub>, merupakan dosis suatu zat yang dapat menyebabkan kematian pada setengah dari jumlah hewan uji, substansi kimia dapat dikelompokkan dalam kategori sebagai berikut:

- (1) Sangat toksik, LD<sub>50</sub> < 1 mg/kg BB,
- (2) Toksik sekali, LD<sub>50</sub> 1-50 mg/kg BB,
- (3) Toksik, LD<sub>50</sub> 50-100 mg/kg BB,
- (4) Tidak begitu toksik, LD<sub>50</sub> 500-5000 mg/kg BB,
- (5) Tidak toksik, LD<sub>50</sub> 5-15 g/kg BB,
- (6) Tidak membahayakan sama sekali, LD<sub>50</sub> > 15 g/kg BB<sup>(5)</sup>.

c. Jenis efek toksik

Didasarkan pada dapat tidaknya efek toksik diperkirakan, efek toksik dibagi menjadi 2, yaitu efek toksik yang dapat diperkirakan atau diduga dan efek toksik yang tidak dapat diperkirakan atau diduga. Efek toksik normal merupakan efek toksik yang dapat diperkirakan dan umumnya terkait pada dosis. Efek toksik normal tergolong menjadi efek toksik tidak khas, yang dapat berupa efek korosif, iritatif, atau kaustik, yang timbul pada tempat kontak senyawa toksik dengan tubuh; dan efek toksik khas, yang dapat berupa lesi jaringan, mutagenesis, karsinogenesis, dan teratogenesis, yang timbul jika senyawa toksik berinteraksi dengan bagian tubuh yang khas meskipun dalam jumlah kecil<sup>(11)</sup>.

d. Jenis uji toksikologi

Uji toksistas secara umum terbagi menjadi dua golongan, yaitu uji ketoksikan khas dan uji ketoksikan tidak khas. Uji ketoksikan khas dirancang untuk mengidentifikasi efek toksik khas dari suatu senyawa pada hewan uji. Uji ketoksikan khas diantaranya adalah uji potensiasi, karsinogenikan, kemutagenikan, keteratogenikan, reproduksi, kulit dan mata, dan perilaku. Uji ketoksikan tidak khas dirancang untuk mengidentifikasi keseluruhan efek toksik suatu senyawa pada hewan uji<sup>(5)</sup>. Uji ketoksikan tidak khas antara lain:

(1) Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut bertujuan untuk memperoleh informasi mengenai gejala toksik, penyebab kematian, urutan proses kematian, dan nilai LD dari pemberian suatu bahan<sup>(11)</sup>. Uji toksisitas akut umumnya diamati dalam 24 jam pada periode paparan pertama<sup>(6)</sup>. Hasil yang diperoleh dari uji toksisitas akut yaitu rentang nilai dosis letal yang sering dinyatakan dalam LD<sub>50</sub>, gejala keracunan, sistem biologis yang peka terhadap pemberian senyawa yang diuji, besarnya toksisitas, mekanisme terjadinya toksisitas yang menyebabkan kematian, dan ada tidaknya perbedaan toksisitas antar spesies<sup>(11)</sup>. Nilai LD<sub>50</sub> merupakan perkiraan statistik jumlah bahan kimia yang

dapat mematikan hewan uji, memungkinkan evaluasi semi-kuantitatif terhadap senyawa toksik<sup>(6)</sup>.

(2) Uji toksisitas subkronis atau subakut

Uji toksisitas pemberian berulang bertujuan untuk mendapatkan dosis yang tepat untuk dilakukannya uji toksisitas subkronis. Rentang waktu penelitian antara 5 sampai 21 hari dengan jumlah peringkat dosis 3 sampai 4 kelompok. Masing-masing kelompok dapat terdiri dari 5 ekor hewan uji betina dan 5 kelompok hewan uji jantan<sup>(11)</sup>.

Uji toksisitas subkronis merupakan kelanjutan dari uji toksisitas akut, yang mana pada uji toksisitas subkronis senyawa yang diuji diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji. Setelah dilakukannya uji toksikologi subkronis dapat diketahui seberapa besar efek toksik yang mungkin terjadi dan mengetahui efek toksik yang terjadi tergantung dosis atau tidak<sup>(5)</sup>. Rentang waktu penelitian toksisitas subkronis yaitu 1-3 bulan, dan paling umum adalah selama 3 bulan<sup>(7)</sup>. Uji toksisitas subkronis dan kronis dilakukan sebagai kelanjutan dari uji toksisitas akut atau dapat juga dikatakan untuk melengkapi uji toksisitas akut<sup>(6)</sup>. Pada dasarnya uji toksisitas subkronis dan kronis sama, perbedaan dari uji toksisitas subkronis dan kronis terletak pada jangka waktu pemberian atau pemejanaan senyawa uji dan masa pengamatan. Waktu pemberian senyawa uji pada uji toksisitas kronis lebih lama dibanding pada uji toksisitas subkronis<sup>(5)</sup>.

Tujuan dilakukannya uji toksisitas subkronis adalah:

- (a) Mengetahui efek toksikologi yang mungkin terjadi dari pemberian secara berulang suatu zat uji terhadap organ tertentu,
- (b) Menentukan hubungan dosis-respon dengan variasi indikator setelah rentang dosis dan durasi pemberian ditentukan,
- (c) Melakukan percobaan secara eksperimental untuk mengetahui dosis maksimal yang tidak menyebabkan tanda dan gejala toksistas yang nyata dari pemberian zat uji secara berulang,

- (d) Mengetahui bagaimana mekanisme toksisitas yang terjadi akibat penggunaan senyawa uji<sup>(6)</sup>.

Dari tujuan uji toksisitas di atas, uji toksisitas subkronis dan kronis biasanya dilakukan untuk kepentingan seperti:

- (a) Menilai efek toksik obat pemberian jangka panjang,
- (b) Menentukan efek terjadinya akumulasi setelah pemberian secara berulang,
- (c) Mengetahui efek toksik yang dapat terjadi ketika dilakukan peningkatan dosis pada perpanjangan waktu pemberian,
- (d) Memprediksi efek samping jangka panjang yang mungkin terjadi pada paparan yang menetap, berulang, dan terus-menerus<sup>(6)</sup>.

Faktor yang berpengaruh terhadap terjadinya toksisitas kronis, antara lain:

- (a) Frekuensi dan paparan

Dosis, durasi, frekuensi, dan rute pemberian berpengaruh terhadap terjadinya toksisitas, yaitu kemungkinan terjadinya akumulasi dari pemberian suatu zat kimia<sup>(6)</sup>.

- (b) Akumulasi dan distribusi

Setelah senyawa diabsorpsi ke pembuluh darah, selanjutnya senyawa tersebut didistribusikan ke seluruh tubuh. Distribusi tergantung pada sifat fisikokimia dari senyawa. Semakin besar volume distribusi suatu senyawa maka potensi untuk terakumulasi pada kompartemen-kompartemen fisiologis semakin besar<sup>(6)</sup>.

- (c) Struktur kimia

Struktur kimia dan interaksi dalam kompartemen fisiologis berpengaruh pada terjadinya toksisitas. Secara umum, pada pH fisiologis senyawa yang larut lipid berada pada bentuk non ionik, lebih mudah untuk berikatan dan menembus membran jaringan dan organ, sehingga lebih mudah untuk terjadinya akumulasi. Sedangkan senyawa yang larut air terdapat dalam

bentuk ionik pada pH darah, sehingga tidak berikatan dan tidak menembus membran jaringan dan organ. Senyawa dalam bentuk ionik tersebut siap untuk terekskresi melalui ginjal<sup>(6)</sup>.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian terdiri dari satu spesies atau lebih, dewasa, dan sehat. Pemilihan hewan uji didasarkan pada kemiripan kepekaan dan mekanisme metabolisme dengan manusia<sup>(5)</sup>. Hewan uji yang digunakan seringkali adalah tikus atau anjing. Hewan uji terdiri dari jantan dan betina dengan jumlah yang sama, untuk hasil yang lebih baik digunakan jumlah hewan uji berkisar antara 10-50 tiap kelompok untuk tikus, dan dengan jumlah yang lebih kecil untuk hewan uji anjing<sup>(8)</sup>.

Uji toksisitas subkronis dilakukan minimal dalam tiga tingkatan dosis yang berbeda, paling tidak satu kelompok hewan uji mendapat dosis toksik yang dapat memperlihatkan gejala toksik yang signifikan atau dapat membunuh beberapa hewan uji. Kelompok hewan uji lain diberikan dosis yang tidak menimbulkan gejala toksik atau kematian hewan uji<sup>(5)</sup>. Dosis yang diberikan didasarkan pada uji toksisitas akut sebelumnya. Jika uji dilakukan terhadap tiga tingkatan dosis yang berbeda maka dosis pertama adalah dosis yang cukup tinggi dapat menunjukkan tanda-tanda toksisitas, tetapi tidak menimbulkan kematian hewan uji lebih dari 10%. Dosis ke dua adalah dosis menengah. Dosis ke tiga adalah dosis rendah yang tidak menunjukkan tanda-tanda toksik pada hewan uji secara jelas<sup>(7,8)</sup>. Selain kelompok dari ketiga dosis di atas, diperlukan adanya kelompok kontrol. Hewan uji pada kelompok kontrol tidak mendapat paparan senyawa yang diujikan, tetapi mendapat pembawa atau *vehicle* yang sesuai<sup>(8)</sup>.

Informasi terkait senyawa yang diujikan, metabolismenya, terjadinya bioakumulasi perlu diperhatikan. Hewan uji mengalami pertumbuhan, terjadi perubahan berat badan, dan perubahan dalam konsumsi makanan, dan mungkin juga penurunan berat badan sehingga untuk mendapat dosis yang konstan per kg berat badan

konsentrasi zat yang diujikan perlu disesuaikan secara berkala. Hal ini dapat dilakukan per minggu ketika dalam pertumbuhan yang pesat dan dua minggu setelahnya<sup>(8)</sup>.

Pengamatan yang dilakukan mencakup penampilan secara fisik, perilaku, dan kelainan yang mungkin muncul<sup>(8)</sup>. Berat badan hewan uji ditimbang minimal tiap 7 hari. Konsumsi makanan dan minuman pada masing-masing hewan uji atau pada kelompok hewan uji diukur minimal tiap 7 hari. Tanda dan gejala klinis yang muncul diamati setiap hari selama waktu uji. Pemeriksaan hematologi dan kimia darah dilakukan minimal dua kali selama uji, dapat dilakukan pada awal dan akhir percobaan. Pemeriksaan urin dilakukan minimal satu kali selama uji. Pada akhir uji dilakukan pembedahan untuk pemeriksaan histopatologi<sup>(5)</sup> Hewan uji yang mati atau hampir mati diambil untuk dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis. Perlu dilakukan pemeriksaan untuk meminimalkan adanya hewan uji yang memakan hewan uji lain<sup>(8)</sup>.

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan adalah pemeriksaan hematologi yang meliputi hematokrit, hemoglobin, angka eritrosit, jumlah leukosit total, dan leukosit diferensial. Sedangkan tes laboratorium klinis mencakup pemeriksaan glukosa darah puasa, kadar dalam serum aspartat aminotransferase (AST), alanin aminotransferase (ALT), alkali fosfatase (AP), kreatin kinase (CK), laktat dehidrogenase (LDH), protein total, albumin, globulin, nitrogen urea dalam darah (BUN), trigliserida, kolesterol, kreatinin, dan elemen seperti natrium, kalium, kalsium, dan klorida<sup>(8)</sup>.

Analisis urin yang mungkin dilakukan adalah warna, berat jenis, dan pH urin; dan pemeriksaan protein, glukosa, kreatinin, keton, sel darah merah, dan kristal dan bahan amorf dalam urin. Organ yang umumnya dalam pemeriksaan ditimbang adalah hati, ginjal, adrenal, jantung, otak, tiroid, dan testis atau ovarium. Histologi yang diamati adalah otak, sumsum tulang belakang, saraf mata dan optik, kelenjar ludah mayor, timus, tiroid, jantung, aorta,

paru-paru dengan bronkus, perut, usus kecil, usus besar, kelenjar adrenal, pankreas, hati, kandung empedu, limfa, ginjal, kandung kemih, otot skelet, dan tulang dan sumsumnya<sup>(8)</sup>.

(3) Uji toksisitas kronis

Uji ketoksikan kronis umumnya sama dengan uji ketoksikan sub kronis, tetapi dibedakan oleh rentang waktu penelitian<sup>(5)</sup>. Uji toksisitas kronis umumnya dilakukan lebih dari satu tahun<sup>(11)</sup>. Uji toksisitas kronis umumnya dilakukan untuk menilai efek toksik paling rendah dari pemberian suatu bahan untuk menganalisis paparan berulang, meneliti efek toksik dari peningkatan dosis bahan kimia selama perpanjangan masa penggunaan obat, identifikasi perbaikan subyek uji setelah sumber paparan toksik dihindari, memprediksi keamanan penggunaan jangka panjang suatu senyawa<sup>(6)</sup>.

Terdapat beberapa tujuan uji toksisitas kronis yang tumpang tindih dengan uji toksisitas akut, yaitu:

- (a) Penentuan dosis letal dan efek pada organ serta jaringan,
- (b) Identifikasi hubungan kausal dosis pemberian dan perubahan fisiologis, biokimia, dan morfologi,
- (c) Monitoring perbedaan varietas hewan uji terhadap respon yang diberikan<sup>(6)</sup>.

**2. Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir)**



**Gambar 1.** Kangkung darat.

a. Morfologi kangkung darat

Tanaman kangkung tumbuh secara menjalar dan memiliki banyak cabang. Memiliki akar tunggang dan cabang akar yang menyebar. Tangkai daun melekat pada buku-buku batang secara langsung dengan daun berbentuk seperti hati. Bunga berbentuk seperti terompet. Buah berbentuk bulat, dan di dalam buah terdapat tiga butir biji. Biji berbentuk bulat, memiliki banyak segi, dan berwarna cokelat kehitaman<sup>(4)</sup>.

b. Varietas kangkung darat

Kangkung darat memiliki varietas yang lebih banyak dibanding dengan kangkung air (*Ipomoea aquatica*), antara lain varietas bangkok, biru, cinde, sukabumi, dan sutra. Varietas yang terbaik adalah varietas sutra. Varietas sutra dapat memproduksi daun 12-44 ton/hektar, memproduksi biji 6 ton/hektar, dan minimal 39 hari dari waktu tanam sudah dapat dipanen<sup>(4)</sup>.

c. Klasifikasi tanaman kangkung darat

Kingdom : Plantae (tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (berpembuluh)

Superdivisio : Spermatophyta (menghasilkan biji)

Divisio : Magnoliophyta (berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)

Sub-kelas : Asteridae

Ordo : Solanales

Familia : Convolvulaceae (suku kangkung-kangkungan)

Genus : *Ipomoea*

Spesies : *Ipomoea reptans*, Poir (kangkung darat)

d. Kandungan kangkung darat

Kangkung darat memiliki kandungan antara lain kalori, protein, lemak, karbohidrat, serat, mineral (seperti kalsium, fosfor, besi, natrium, kalium, nitrogen, magnesium), vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C, niasin, air. Kandungan lain kangkung darat yaitu karoten, hentriakontan, dan sitosterol<sup>(4)</sup>.

e. Khasiat kangkung darat

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Helminawati dan Wiwik (2011), diperoleh bahwa kangkung darat memiliki aktifitas antihiperqlikemia. Aktivitas antihiperqlikemia kangkung darat diketahui dari terjadinya penurunan kadar gula darah dan adanya pencegahan kerusakan sel  $\beta$  pankreas pada mencit galur DDY jantan yang diinduksi Streptozotosin setelah dipejankan infusa kangkung darat<sup>(2,3)</sup>.

### 3. Obat herbal terstandar

Obat tradisional adalah obat yang dibuat dari bahan alam, yang mana memiliki kandungan yang sangat beragam, sehingga dalam pembuatannya diperlukan tata cara yang benar untuk menjamin mutu obat tradisional yang dihasilkan. Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Benar (CPOTB) meliputi semua hal yang berkaitan dengan pembuatan obat tradisional, yang ditujukan agar obat tradisional yang dihasilkan sesuai dengan persyaratan mutu yang telah ditentukan. Mutu obat tradisional tergantung pada bahan awal produk, proses produksi dan pengawasan mutu, bangunan, peralatan, dan personalia yang terkait. Saat ini produk obat bahan alam sudah berkembang, tidak hanya dalam bentuk Obat Tradisional tetapi juga dalam bentuk Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka<sup>(12)</sup>.

Simplisia merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan, dan merupakan bahan yang dikeringkan. Ekstrak merupakan sediaan kental, diperoleh dengan proses ekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati maupun hewani menggunakan pelarut tertentu yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan, dan melalui proses tertentu sehingga massa yang tersisa memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstrak cair merupakan sediaan yang diperoleh dari simplisia nabati dengan menggunakan pelarut atau pengawet etanol<sup>(13)</sup>.

Parameter-parameter yang digunakan dalam pengujian ekstrak terstandar yaitu:

- a. Parameter susut pengeringan: dilakukan pengeringan pada suhu 105<sup>0</sup> C selama 30 menit atau sampai berat konstan, kemudian sisa zat ditimbang,

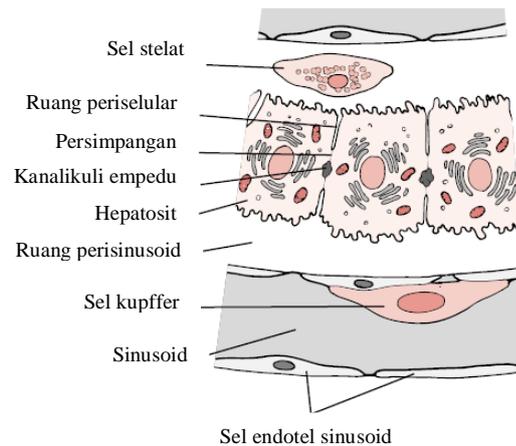
- b. Parameter bobot jenis: yaitu massa per satuan volum pada suhu kamar, diukur menggunakan alat tertentu (misal piknometer),
- c. Parameter kadar air: yaitu pengukuran kadar air dalam bahan, dilakukan dengan cara titrasi, destilasi, atau gravimetri,
- d. Parameter kadar abu: bahan dipanaskan pada suhu senyawa organik dan turunannya dapat terdestruksi dan menguap,
- e. Parameter sisa pelarut: menentukan kandungan sisa pelarut tertentu, secara umum dilakukan dengan kromatografi gas,
- f. Parameter sisa pestisida: menentukan kandungan pestisida yang mungkin ada,
- g. Parameter cemaran logam berat: menentukan kandungan logam berat dengan spektroskopi,
- h. Parameter cemaran mikroba: mengidentifikasi adanya mikroba yang patogen dengan analisis mikrobiologi<sup>(13)</sup>.

Obat herbal terstandar merupakan obat bahan alam yang telah diuji secara praklinik keamanan dan khasiatnya, bahan baku dan produknya telah distandardisasi. Kriteria yang harus dimiliki obat herbal terstandar antara lain:

- a. Semua bahan yang digunakan memenuhi persyaratan mutu, keamanan, dan khasiat,
- b. Pembuatan sesuai dengan Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Benar (CPOTB) atau Cara Pembuatan Obat yang Benar (CPOB) yang berlaku,
- c. Terdapat penandaan yang berisi informasi lengkap dan obyektif<sup>(10)</sup>.

#### **4. Hati**

Hati memiliki berat 2,5% berat badan orang dewasa, sehingga hati merupakan organ terbesar dalam tubuh. Hati berperan penting dalam menjaga keseimbangan kadar gula darah. Fungsi lain dari hati yaitu mengatur sirkulasi lipid dalam bentuk lipoprotein dengan densitas sangat rendah (VLDL/ *very low density lipoproteins*) dalam darah, mengambil senyawa toksik dan obat dalam sirkulasi portal yang kemudian dimetabolisme oleh hati. Dilihat dari berbagai fungsi hati, maka hati merupakan organ yang sangat penting untuk pengaturan sistem tubuh<sup>(14)</sup>.



**Gambar 2.** Hati secara mikroskopi<sup>(14)</sup>.

Hati merupakan organ yang berperan dalam proses metabolisme. Adanya senyawa toksik dalam hati dapat menyebabkan penurunan fungsi hati, cedera pada sel, dan kegagalan fungsi hati. Respon hati terhadap adanya senyawa toksik tergantung pada intensitas paparan, banyaknya sel yang terkena, dan durasi paparan<sup>(15)</sup>.

Ada dua mekanisme kematian sel hati secara morfologi, yaitu nekrosis dan apoptosis. Nekrosis yaitu keadaan membengkaknya sel, kemudian terjadi kebocoran sel, disintegrasi nuklear, dan masuknya sel-sel inflamasi. Terjadinya nekrosis sel dapat ditandai dengan pelepasan enzim alanin aminotransferase (ALT) atau aspartat aminotransferase (AST) ke dalam plasma. ALT dan AST merupakan enzim hati. Apoptosis merupakan suatu mekanisme yang bertujuan untuk menghilangkan sel-sel yang sudah tidak diperlukan lagi. Apoptosis merupakan suatu proses yang normal terjadi di dalam tubuh, tetapi menjadi tidak normal jika terjadi dalam jumlah yang besar<sup>(15)</sup>.

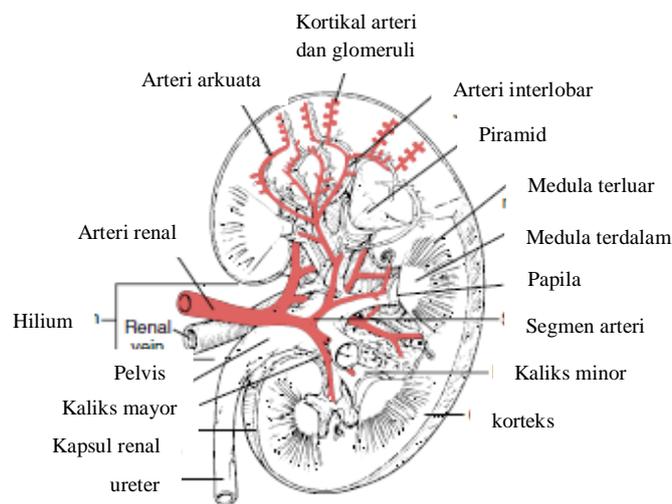
ALT sebelumnya disebut SGPT (*serum glutamic-pyruvic transaminase*), digunakan untuk prosedur skrining penyakit hati pada pasien yang tidak terdiagnosis. Keuntungan pemeriksaan ALT adalah karena ALT merupakan enzim spesifik untuk hati, sedangkan kekurangannya adalah ALT kurang sensitif, pasien dengan penyakit hati yang signifikan (misal sirosis hepatic) mungkin memiliki ALT normal. Analisis ALT dilakukan dengan pengukuran ALT pada serum dengan spektrofotometri dan menggunakan

reagen yang sesuai. ALT meningkat jika terjadi kerusakan seluler pada hepar. ALT terdapat sedikit pada sel darah merah dan sel otot lurik. ALT terdapat dalam sitosol. Peningkatan ALT tidak berkorelasi terhadap tingkat keparahan kerusakan sel hati.  $T_{1/2}$  ALT serum kira-kira 1-2 hari atau kurang, dan kadar ALT serum akan menurun setelah 1-2 minggu kerusakan hati berhenti<sup>(16)</sup>.

AST sebelumnya disebut SGOT (*serum glutamic-oxaloacetic transaminase*), indikasi dan cara pengukuran sama dengan ALT. Kekurangan pemeriksaan AST yaitu AST tidak spesifik seperti ALT. AST terdapat dalam mitokondria. Peningkatan AST secara signifikan menggambarkan kerusakan hepatosit yang serius, karena mitokondria tidak mudah rusak seperti mitokondria. AST terdapat pada jaringan lain (termasuk otot dan sel darah merah) dalam jumlah yang signifikan, sehingga peningkatan AST tidak spesifik mencerminkan kerusakan sel hati<sup>(16)</sup>.

## 5. Ginjal

Ginjal terdiri dari nefron yang merupakan unit fungsional ginjal. Ginjal tidak dapat membentuk nefron baru, sehingga jika terjadi kerusakan pada nefron bersifat ireversibel. Setiap nefron terdiri dari glomerulus (dilewati cairan yang difiltrasi dari darah) dan tubulus (tempat cairan hasil filtrasi glomerulus diubah menjadi urin)<sup>(9)</sup>.



**Gambar 3.** Anatomi Ginjal<sup>(17)</sup>.

Ginjal memiliki fungsi antara lain mengatur osmolalitas cairan tubuh, keseimbangan elektrolit, keseimbangan asam dan basa, keseimbangan cairan ekstraseluler, dan tekanan darah arteri; mengekskresikan produk hasil

metabolisme, senyawa obat, dan senyawa beracun; memproduksi hormon, misal eritropoietin; menurunkan hormon peptida<sup>(17)</sup>.

Tiga proses dasar pembentukan urin yang melibatkan ginjal yaitu filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus, dan sekresi tubulus. Filtrasi glomerulus yaitu darah melewati glomerulus, kemudian plasma bebas protein mengalir ke kapsula bowman. Reabsorpsi tubulus adalah pengambilan kembali senyawa-senyawa yang masih dibutuhkan oleh tubuh dari tubulus ginjal ke plasma kapiler peritubulus. Sekresi tubulus merupakan perpindahan senyawa dari kapiler peritubulus ke dalam lumen tubulus<sup>(18)</sup>

Ginjal sangat berperan dalam fungsi ekskresi senyawa dalam tubuh yang sudah tidak digunakan lagi oleh tubuh, juga dalam pengatur keseimbangan cairan ekstraselular, keseimbangan elektrolit, dan keseimbangan asam dan basa. Manifestasi yang paling umum dari terjadinya toksistas pada ginjal adalah gagal ginjal akut, yaitu penurunan fungsi ginjal secara mendadak yang terjadi akibat adanya cedera. Gambaran dari penurunan fungsi ginjal adalah terjadinya penurunan LFG (laju filtrasi glomerulus). Penurunan LFG mungkin terjadi karena faktor prerenal (vasokonstriksi ginjal, penurunan volume intravaskular, dan tidak cukupnya output jantung), faktor post renal (obstruksi saluran kemih atau kandung kemih), dan faktor intrarenal (nefritis glomerulus, cedera pada sel tubulus, kematian sel, kerusakan pembuluh darah ginjal, dan nefritis interstisial). Jika suatu senyawa toksik menyebabkan kerusakan tubulus secara langsung, maka akan terjadi obstruksi tubulus dan terjadi penurunan LFG<sup>(19)</sup>.

## **B. Keterangan Empiris**

Penelitian yang dilakukan bersifat eksploratif, yaitu untuk mendapatkan jawaban mengenai:

1. Kemungkinan adanya gejala toksik setelah pemberian berulang secara peroral ekstrak etanolik kangkung darat terstandar pada mencit betina galur DDY.
2. Kemungkinan terjadinya toksisitas pada hepar dan ginjal setelah pemberian berulang secara peroral ekstrak etanolik kangkung darat terstandar pada mencit betina galur DDY.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan mencit, timbangan analitik, seperangkat alat gelas (labu takar, gelas beker, gelas ukur, pipet), seperangkat alat bedah (gunting bedah, pinset), dan seperangkat alat untuk pemeriksaan histopatologi organ.

##### **2. Bahan**

###### **a. Bahan uji**

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar.

###### **b. Bahan lain**

Bahan lain yang digunakan yaitu formalin 10% untuk fiksasi organ, akuades, jarum oral, *eppendorf*, dan pot untuk organ.

###### **c. Hewan uji**

Hewan uji yang digunakan yaitu mencit betina galur DDY, umur 2 sampai 3 bulan, rentang berat badan 20-30 gram, dan sehat. Hewan uji diperoleh dari Laboratorium penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM) Bidang Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan.

#### **B. Jalannya Penelitian**

##### **1. Determinasi kangkung**

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi kampus terpadu Universitas Islam Indonesia, jalan kaliurang KM 14,5. Kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) diperoleh dari Desa Krajan, Wedomartani, Condong Catur, Yogyakarta, yang selanjutnya dibuat menjadi ekstrak terstandar.

## 2. Pembuatan ekstrak etanolik kangkung darat

Bagian tanaman kangkung darat yang digunakan adalah batang dan daun. Kangkung darat yang digunakan dipilih yang berkualitas baik, segar, dan berwarna hijau. Batang dan daun kangkung darat dipotong-potong secara terpisah kemudian dikeringkan dalam lemari pengering. Simplisia kering yang diperoleh diserbuk menggunakan *blender*. Serbuk kering kangkung darat diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Cairan hasil maserasi disaring dan dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut. Selanjutnya dilakukan analisis organoleptis, pola kromatogram, kandungan kimia, rendemen ekstrak, kadar air, kadar abu, bobot jenis, cemaran mikroba, cemaran kapang dan khamir, dan cemaran logam berat.

## 3. *Ethical clearance*

*Ethical clearance* penelitian diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Medis dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.

## 4. Pembuatan larutan stok ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dan penetapan dosis

### a. Dosis I (480 mg/ kg, larutan stok 480 mg/10 ml)

Dibuat dengan melarutkan 480 mg ekstrak kental kangkung darat dalam 10 ml akuades dan ditambah tween 80 sebagai surfaktan sebanyak 1,3 ml. Volume pemejanaan pada penelitian ini adalah 0,2 ml tiap 20 gram berat badan mencit, sehingga diperoleh dosis I sebesar 480 mg/ kg dengan perhitungan:

$$\frac{480\text{mg}}{10\text{ml}} = \frac{x}{0,2\text{ml}/20\text{gBB}}$$

$$x = \frac{480\text{mg} \times 0,2\text{ml}}{10\text{ml}}$$

$$x = 9,6 \text{ mg}/20\text{g BB} = 480 \text{ mg}/ \text{kg}$$

### b. Dosis II (759 mg/ kg, larutan stok 759 mg/10 ml)

Dibuat dengan melarutkan 759 mg ekstrak kental kangkung darat dalam 10 ml akuades dan ditambah tween 80 sebagai surfaktan sebanyak 1,3 ml. Volume pemejanaan pada penelitian ini adalah 0,2 ml tiap 20 gram berat badan mencit, sehingga diperoleh dosis II sebesar 759 mg/20g dengan perhitungan:

$$\frac{759\text{mg}}{10\text{ml}} = \frac{x}{0,2\text{ml}/20\text{gBB}}$$

$$x = \frac{759\text{mg} \times 0,2\text{ml}}{10\text{ml}}$$

$$x = 15,18 \text{ mg}/20\text{g BB} = 759 \text{ mg/ kg}$$

- c. Dosis III (1200 mg/ kg, larutan stok 1200 mg/10 ml)

Dibuat dengan melarutkan 1200 mg ekstrak kental kangkung darat dalam 10 ml akuades dan ditambah tween 80 sebagai surfaktan sebanyak 1,3 ml. Volume pemejanaan pada penelitian ini adalah 0,2 ml tiap 20 gram berat badan mencit, sehingga diperoleh dosis III sebesar 1200 mg/ kg dengan perhitungan:

$$\frac{1200\text{mg}}{10\text{ml}} = \frac{x}{0,2\text{ml}/20\text{gBB}}$$

$$x = \frac{1200\text{mg} \times 0,2\text{ml}}{10\text{ml}}$$

$$x = 24 \text{ mg}/20\text{g BB} = 1200 \text{ mg/ kg}$$

## 5. Pengelompokan hewan uji

Sebelum diberi perlakuan hewan uji diadaptasikan selama kurang lebih 1 minggu. Dua puluh ekor mencit dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit dengan pengelompokan sebagai berikut:

- Kelompok I: kelompok kontrol negatif, dipejankan secara per oral akuades 10 ml/ kg.
- Kelompok II: kelompok dosis terendah, dipejankan secara per oral sediaan uji dengan dosis 480 mg/ kg.
- Kelompok III: kelompok dosis menengah, dipejankan secara per oral sediaan uji dengan dosis 759 mg/ kg.
- Kelompok IV: kelompok dosis tertinggi, dipejankan secara per oral sediaan uji dengan dosis 1200 mg/ kg.

## 6. Cara pemejanaan

Pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dilakukan secara peroral 1 kali sehari selama 14 hari. Pemejanaan dilakukan dengan menggunakan jarum oral untuk mencit, dengan cara memasukkan jarum oral melalui mulut sampai ke lambung hewan uji.

## 7. Pemeliharaan hewan uji

Selama masa penelitian, seluruh mencit dikandangkan dalam kotak plastik yang ditutup kawat kasa di atasnya dan diberi alas sekam. Tiap kandang dihuni oleh 5 ekor mencit berdasarkan kelompok uji. Pakan mencit berupa pellet. Kandang-kandang mencit ditempatkan dalam ruangan yang sama dengan kelembaban udara yang tetap ( $\pm 50\%$ ), ruangan ber-AC dengan suhu  $20^{\circ}$ - $25^{\circ}$ C, ventilasi cukup dan dengan penerangan 12 jam sehari.

## 8. Pengamatan hewan uji

- Pengamatan gejala klinik (aktivitas gerak, kejang, muntah, refleks kornea, refleks badan dan perilaku), diamati selama 3 jam setelah setiap pemberian zat uji.
- Penimbangan berat badan mencit setiap 5 hari sekali selama masa uji dan dilakukan sebelum pemejanan zat uji.
- Pada akhir masa uji, hewan uji pada masing-masing kelompok dikorbankan untuk diambil organnya dan dibuat preparat histologi untuk pemeriksaan histopatologi. Sebelum dibedah mencit dimatikan terlebih dahulu dengan eter, dengan cara mencit dimasukkan dalam wadah tertutup berisi kapas yang diberi eter kemudian mencit didiamkan di dalamnya hingga mati.

**Tabel I.** Pengamatan tanda dan gejala toksik

Sistem Organ	Pengamatan dan Pemeriksaan	Tanda-tanda Umum Ketoksikan
SSP dan Somator	Perilaku	Perubahan sikap terhadap pengamat, vokalisasi, gelisah, sedasi.
	Gerakan	Tremor, keterpaksaan gerak.
	Kereaktifan terhadap aneka rangsang	Keberangasan, kepasifan.
Sistem Saraf Otonom	Sekresi	Saliva, lakrimasi.
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran
Kardiovaskular	Palpitasi di daerah karidiak	Getaran, denyut kuat/lemah.
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare, konstipasi.
	Konsistensi tinja	Tidak terbentuk, warna hitam.
Genitourinari	Vulva, kelenjar mammae	Bengkak.
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kelembekan, kemerahan, pelepahan, piloereksi.
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus, kematian.

## 9. Pengukuran ALT dan AST

Pengukuran kadar ALT dan AST dilakukan sebelum pemberian dosis berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar (hari ke-0) dan setelah pemberian dosis berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar (hari ke-15). Pengukuran kadar ALT dan AST dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Darah hewan uji diambil melalui mata untuk kemudian diukur kadar ALT dan AST.

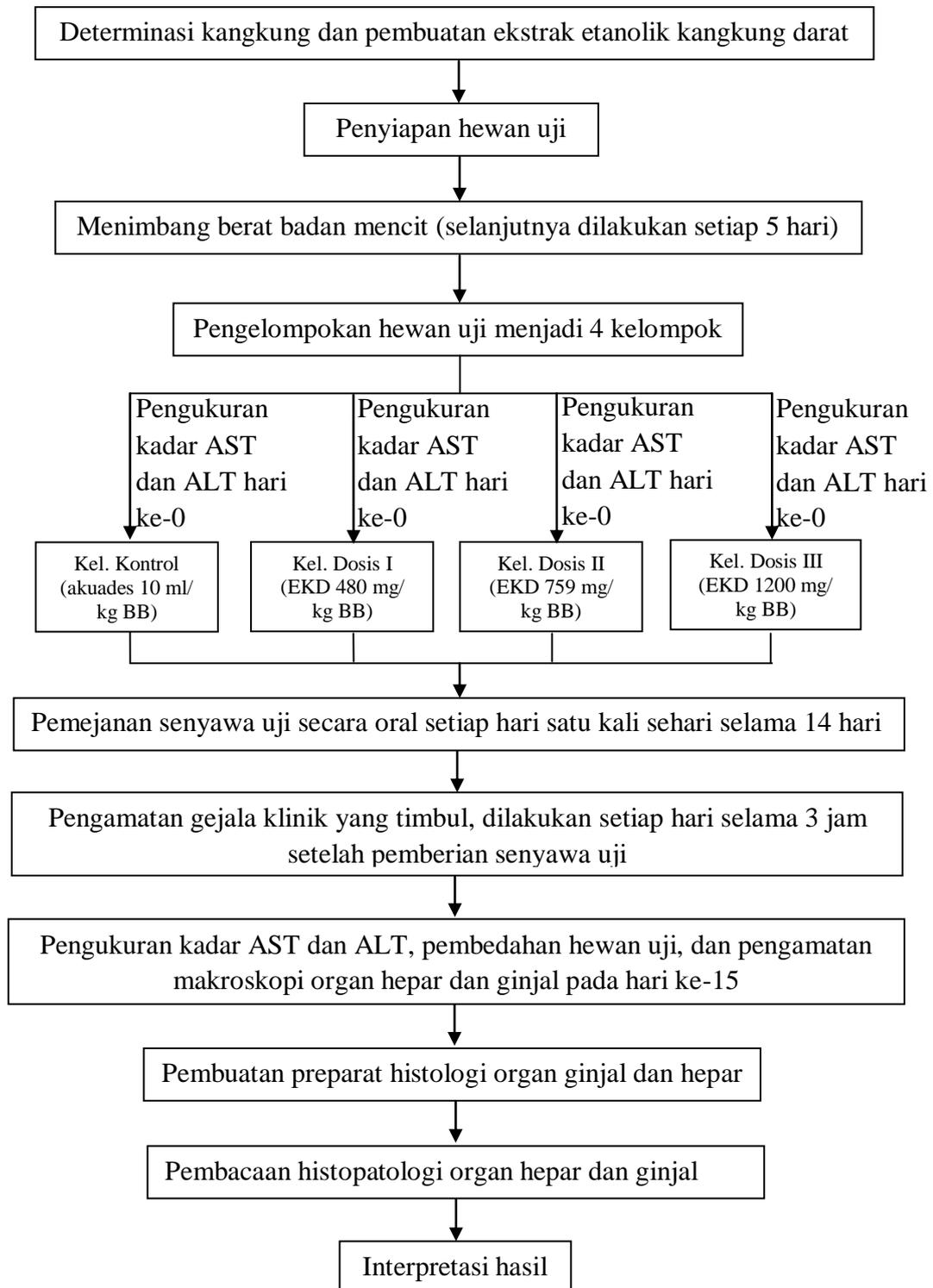
#### **10. Pemeriksaan histopatologi**

Hewan uji yang dikorbankan diambil organ ginjal dan hepar. Organ hepar dan ginjal yang diambil dicuci dengan akuades dan difiksasi dengan larutan formalin 10%. Kemudian untuk pembuatan dan pembacaan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Umum Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada (FKH UGM). Data hasil pemeriksaan histopatologi dianalisis secara kualitatif, dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

#### **C. Analisis Data**

1. Data hasil pengamatan gejala toksik dianalisis secara kualitatif
2. Data berat badan dianalisis dengan analisis statistik, diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov*. Jika data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dilanjutkan dengan analisis varian (ANOVA) satu arah, kemudian dilanjutkan dengan uji tukey dengan taraf kepercayaan 95%.
3. Data pemeriksaan ALT dan AST dianalisis dengan analisis statistik, diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov*. Jika data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dilanjutkan dengan analisis varian (ANOVA) satu arah, kemudian dilanjutkan dengan uji tukey dengan taraf kepercayaan 95%.
4. Data pengamatan histopatologi dianalisis secara kualitatif.

Berikut adalah sistematika penelitian:



**Gambar 4.** Skema penelitian.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Secara umum uji toksisitas diperlukan karena adanya pemikiran bahwa suatu efek bahan kimia dalam jaringan tubuh terjadi karena adanya interaksi antara bahan kimia tersebut dengan sistem biologik, efek toksik merupakan manifestasi terjadinya gangguan sistem biologik<sup>(11)</sup>. Kajian keamanan pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar penting dilakukan karena ketika ekstrak kangkung darat terstandar digunakan untuk pengobatan, ekstrak kangkung darat diberikan secara berulang dalam jangka waktu yang cukup lama. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kajian keamanan pemberian berulang selama 14 hari ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dengan mengamati ada tidaknya gejala toksik yang timbul akibat pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar pada mencit betina galur DDY, serta terhadap perubahan histopatologi organ ginjal dan hepar mencit betina galur DDY.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Medis dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada. Kangkung darat diperoleh dari desa Krajan, Wedomartani, Condong Catur, Yogyakarta, yang selanjutnya dibuat menjadi ekstrak terstandar dan dilakukan beberapa uji. Uji toksisitas pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dilakukan terhadap 20 mencit betina galur DDY. Kajian keamanan pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar diperoleh dari pengamatan gejala toksik, pemeriksaan AST dan ALT serta histopatologi untuk organ hepar, dan pemeriksaan histopatologi untuk organ ginjal.

#### **1. Penyiapan ekstrak etanolik kangkung darat terstandar**

##### **a. Determinasi kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir)**

Determinasi kangkung darat dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi kampus terpadu Universitas Islam Indonesia, jalan kaliurang KM 14,5. Determinasi kangkung darat bertujuan untuk memastikan tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah *Ipomoea reptans*, Poir sehingga tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan tanaman uji. Buku

“*Flora of Java*” digunakan sebagai acuan dalam penentuan kunci determinasi. Seluruh bagian tanaman digunakan ketika determinasi. Hasil determinasi tanaman kangkung darat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

1.b; 2.b; 3.b; 4.b; 6.b; 7.b; 9.b; 10.b; 11.b; 12.b; 13.b; 14.a; 15.a → golongan 8.

109.b; 119.b; 120.a; 121.a; 122.b; 123.b; 107. *Convolvulacea*.

1.b; 2.b; 3.b; 4.b; 5.b; 6.a → *Ipomoea reptans*, Poir

Spesies: *Ipomoea reptans*, Poir; *Ipomoea aquatica*, F.

Hasil determinasi menunjukkan bahwa kangkung yang digunakan adalah benar *Ipomoea reptans*, Poir. Dapat dinyatakan bahwa bahan uji yang digunakan dalam penelitian tepat.

b. Pembuatan ekstrak etanolik kangkung darat terstandar



**Gambar 5.** Kangkung darat sebelum (1) dan setelah (2, 3) pengeringan.

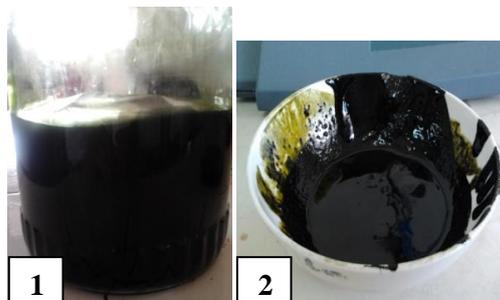
Kangkung darat diperoleh dari daerah yang sama untuk menghindari variasi kandungan kimia. Setelah pemanenan kangkung darat dikeringkan dan diserbuk untuk menjadi simplisia kering kemudian dimaserasi.



**Gambar 6.** Proses maserasi kangkung darat.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode ini dipilih karena dianggap lebih aman, yang mana dalam metode maserasi tidak terdapat proses pemanasan, sehingga

senyawa tidak rusak karena pemanasan. Setelah proses ekstraksi, cairan dikentalkan dengan rotary evaporator pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  dengan kecepatan putaran 60 rpm. Proses dengan rotary evaporator bertujuan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak, sehingga dapat diperoleh ekstrak kental.



**Gambar 7.** Ekstrak etanolik kangkung darat sebelum (1) dan setelah (2) diproses dengan rotary evaporator.

Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, didasarkan dari hasil orientasi. Orientasi dilakukan terhadap pelarut etanol 30%, 70%, dan 96%, hasil orientasi menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% dapat menyari zat aktif dalam kangkung lebih banyak dibanding etanol 30% dan 70%, ditunjukkan dengan warna cairan hasil penyarian yang lebih hijau dan lebih pekat.

Nilai rendemen yang diperoleh dari ekstraksi maserasi kangkung darat yaitu 8,21%. Sebanyak 200 gram simplisia kering yang diekstraksi menghasilkan 164,19 gram ekstrak kental.

c. Standardisasi ekstrak etanolik kangkung darat

Ekstrak kental kangkung darat perlu distandarkan dengan dilakukan beberapa uji untuk menjadi ekstrak terstandar. Parameter standardisasi terdiri dari parameter spesifik dan non spesifik. Parameter spesifik antara lain organoleptis, pola kromatografi lapis tipis, dan penetapan kadar senyawa marker. Parameter non spesifik antara lain pengukuran sisa pelarut etanol, rendemen ekstrak, kadar air, kadar abu, bobot jenis, cemaran mikroba, cemaran kapang dan khamir, dan cemaran logam berat. Data hasil uji parameter-parameter spesifik dan non spesifik ekstrak kangkung darat dibandingkan dengan nilai standar dari literatur

yang sesuai kemudian diinterpretasikan. Berikut ini adalah hasil standardisasi ekstrak etanolik kangkung darat yang telah dilakukan:

**Tabel II.** Hasil standardisasi ekstrak etanolik kangkung darat<sup>(20)</sup>

No.	Parameter	Hasil	Kriteria standar
1.	Rendemen	8,21%	-
2.	Organoleptik	Bau : Khas kangkung Rasa : Asam, Pahit Warna : Hitam kehijauan Bentuk : Kental	-
3.	Kadar Air	16,45%	Ekstrak kental 5-30% <sup>(21)</sup>
4.	Kadar Abu Total Tidak larut asam	5,97% 5,44%	±13,74% <sup>(22)</sup>
5.	Bobot jenis	1,133 g/mL	
6.	Total Cemar Mikroba	Angka Lempeng Total : Negatif Uji perkiraan Coliform : Negatif	< 10 koloni/g <sup>(23)</sup> < 3 koloni/g <sup>(23)</sup>
7.	Total Cemar Kapang & Khamir	Negatif	<10 koloni/g <sup>(23)</sup>
8.	Total Cemar Logam Berat Pb dan Cd.	Negatif	Pb < 10mg/kg <sup>(23)</sup> Cd <0,3 mg/kg <sup>(23)</sup>
9.	Pola kromatogram	Nilai Rf : 0,20;0,37;0,43; 0,48; 0,57;0,67; 0,92 Nilai Rf β-karoten : 0,92	-
10.	Kadar β-karoten	26,799% (b/b)	380 μg <sup>(24)</sup>

Berdasarkan hasil standardisasi ekstrak etanolik kangkung darat pada tabel di atas, maka dapat disimpulkan bahwa ekstraksi kangkung darat yang telah dilakukan menghasilkan ekstrak etanolik kangkung darat yang terstandar. Hasil uji standardisasi ekstrak etanolik kangkung darat dibandingkan dengan standar dan diperoleh nilai yang memenuhi standar.

## 2. Penetapan dosis uji

Peringkat dosis yang digunakan dalam uji toksisitas dosis berulang yaitu 3 sampai 4 kelompok dengan waktu pemberian 5 sampai 21 hari<sup>(11)</sup>. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok hewan uji dengan 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok peringkat dosis. Variasi dosis ekstrak etanolik kangkung darat terstandar yang digunakan yaitu 480 mg/ kg; 759 mg/ kg; dan 1200 mg/ kg yang diperoleh dari uji toksisitas akut yang telah dilakukan sebelumnya. Ekstrak etanolik kangkung darat terstandar diberikan 1 kali sehari selama 14 hari. Dosis terendah (dosis I) pada uji toksisitas berulang merupakan dosis terendah pada uji toksisitas akut yaitu 480 mg/ kg, dosis

tertinggi (dosis III) pada uji toksisitas berulang merupakan dosis kedua pada uji toksisitas akut yaitu 1200 mg/ kg, dan dosis tengah-tengah (dosis II) diambil diantara dosis terendah dan dosis tertinggi pada uji toksisitas berulang yaitu 759 mg/ kg.

### 3. Pengamatan gejala toksik

Pengamatan gejala toksik dilakukan setiap hari setelah pemberian larutan uji, dilakukan selama 3 jam karena dalam waktu tersebut diperkirakan senyawa uji sudah mengalami peristiwa adsorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Hasil pengamatan gejala toksik kemudian dianalisis secara kuantitatif untuk memperkirakan mekanisme efek toksik yang mungkin terjadi. Hasil pengamatan gejala toksik selama 14 hari perlakuan yaitu:

**Tabel III.** Hasil pengamatan gejala toksik

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Kelompok			
			K	D I	D II	D III
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	+
	Gerakan	Tremor	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-
Kepasifan		-	-	-	-	
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran	-	-	-	-
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-
		Denyut kuat	-	-	-	-
		Denyut lemah	-	-	-	-
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	+
		Konstipasi	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	+
		Hitam	-	-	-	-
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Bengkak	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal	-	-	-	-
		Kurus	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-

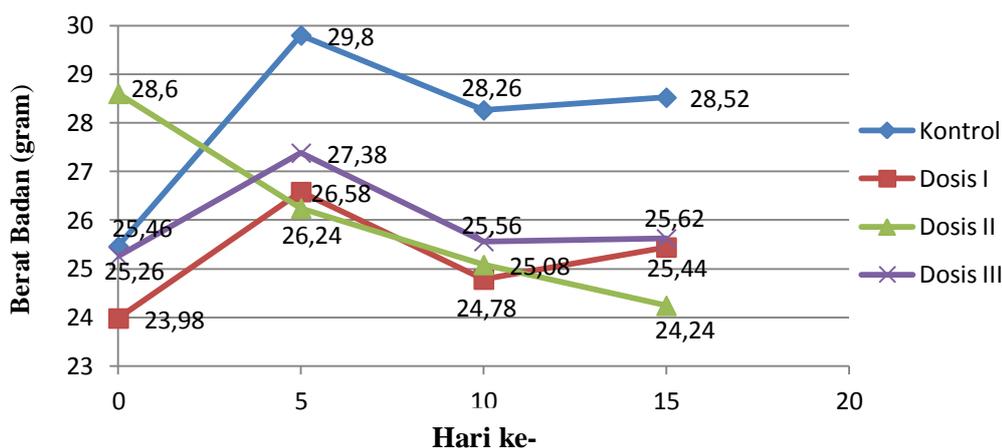
Ket: K = kontrol (akuades 10 ml/ kg); D I = variasi dosis I (480 mg/ kg); D II = variasi dosis II (759 mg/ kg); D III = variasi dosis III (1200 mg/ kg); - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat hewan uji kelompok kontrol, dosis 480 mg/ kg, dan dosis 759 mg/ kg secara pengamatan visual tidak mengalami gejala toksik. Kelompok dosis 1200 mg/ kg mengalami efek sedasi pada pemejanaan hari ke-4 sampai ke-14. Hal ini disimpulkan berdasarkan pengamatan hewan uji kelompok dosis III terlihat lebih lemas atau mengantuk dibanding kelompok lainnya beberapa saat setelah pemberian senyawa uji. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kangkung darat memiliki efek sedasi diduga karena adanya kalium dan natrium yang terkandung di dalam kangkung<sup>(25)</sup>. Hari ke-7 sampai ke-14 feses hewan uji kelompok dosis 1200 mg/ kg berwarna hitam dan agak keras, sedangkan hewan uji kelompok lain tidak, kemungkinan ekstrak etanolik kangkung darat dapat menyebabkan konstipasi pada dosis tertentu dikarenakan kandungan zat besi yang cukup tinggi di dalam kangkung, yang mana zat besi dapat menyebabkan konstipasi<sup>(26)</sup>. Tiap 100 gram kangkung mengandung 3,20 mg zat besi<sup>(4)</sup>. Feses yang berwarna hitam pada hewan uji kelompok dosis III juga kemungkinan karena kandungan zat besi yang tinggi di dalam kangkung, asupan zat besi dapat menyebabkan feses berwarna hitam<sup>(26)</sup>.

#### **4. Pengamatan perubahan berat badan**

Penting dilakukannya pengamatan terhadap perubahan berat badan dalam mempelajari kemungkinan adanya efek toksik dari suatu senyawa. Penimbangan berat badan mencit dilakukan setiap 5 hari selama masa uji sebelum pemejanaan senyawa uji dan pemberian makanan. Penimbangan berat badan mencit dilakukan pada hari ke-0, 5, 10, dan 15. Hari ke-0 adalah penimbangan sebelum pemberian senyawa uji, sedangkan hari ke-15 adalah penimbangan setelah pemberian senyawa uji secara berulang selama 14 hari atau sebelum pembedahan. Selain untuk pengamatan kemungkinan adanya efek toksik senyawa uji, penimbangan berat badan mencit juga penting dilakukan untuk menentukan volume pemejanaan.

Data berat badan hewan uji selama 15 hari, dalam 4 kali penimbangan, dihitung rata-ratanya sehingga diperoleh nilai rata-rata berat badan hewan uji tiap kelompok selama 4 kali penimbangan. Berikut adalah grafik rata-rata berat badan mencit dalam 4 kali penimbangan:



**Gambar 8.** Grafik perubahan berat badan hewan uji selama masa perlakuan.

Grafik di atas menunjukkan data perubahan berat badan mencit selama masa uji. Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa berat badan hewan uji mengalami kenaikan dan penurunan. Hewan uji kelompok kontrol, dosis 480 mg/ kg, dan dosis 1200 mg/ kg mengalami kenaikan berat badan pada penimbangan hari ke-5 dan mengalami penurunan pada penimbangan hari ke-10, tetapi kemudian mengalami kenaikan lagi pada penimbangan hari ke-15. Berbeda dengan kelompok lainnya, hewan uji kelompok dosis 759 mg/ kg terus mengalami penurunan pada penimbangan hari ke-5, 10, dan 15. Berikut ini adalah data rata-rata perubahan berat badan pada tiap hewan uji selama masa uji:

**Tabel IV.** Rata-Rata Perubahan Berat Badan Mencit Perhari

Mencit ke-	Purata Perubahan Berat Badan Mencit Perhari Selama 15 hari (gram/hari)			
	Kontrol	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	+ 0,067	+ 0,167	- 0,267	- 0,033
2	+ 0,22	+ 0,1	- 0,38	+ 0,153
3	+ 0,287	+ 0,053	- 0,233	- 0,047
4	+ 0,227	+ 0,1	- 0,367	+ 0,16
5	+ 0,22	+ 0,067	- 0,207	+ 0,113
Rata-rata	+ 0,204	+ 0,097	- 0,291	+ 0,024

Ket: + = peningkatan berat badan; - = penurunan berat badan

Data perubahan berat badan hewan uji perhari pada tabel di atas kemudian dianalisis statistik. Analisis statistik diawali dengan uji *Kolmogorof-Smirnov* untuk mengetahui data tersebut terdistribusi normal atau tidak dilihat dari nilai signifikansinya, jika  $p > 0,05$  maka data

terdistribusi normal dilanjutkan dengan analisis varian (ANOVA) satu arah kemudian dilanjutkan dengan uji tukey dengan taraf kepercayaan 95%. Analisis statistik data perubahan berat badan mencit perhari menunjukkan nilai  $p > 0,05$  yaitu 0,330 pada uji *Kolmogorof-Smirnov* jadi data terdistribusi normal<sup>(27)</sup>. Analisis statistik dilanjutkan dengan ANOVA, dari tabel *Test of Homogeneity of Variances* diperoleh nilai signifikansi  $> 0,05$  yaitu 0,093 yang mengindikasikan varian antar kelompok adalah sama, dari tabel ANOVA nilai signifikasnsi  $< 0,05$  yaitu 0,00 maka dapat disimpulkan tiap kelompok memiliki rata-rata berat badan yang berbeda signifikan<sup>(27)</sup>. Setelah uji ANOVA kemudian dilanjutkan uji tukey dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui kelompok mana yang mengalami perubahan berat badan berbeda signifikan dengan kelompok lainnya, diperoleh hasil bahwa rata-rata perubahan berat badan mencit kelompok dosis 759 mg/ kg berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok lainnya ditunjukkan dengan nilai signifikansi  $< 0,05$  dan terdapat tanda bintang pada tabel *mean difference*<sup>(27)</sup>. Perubahan berat badan antara kelompok kontrol, dosis 480 mg/ kg dan dosis 1200 mg/ kg tidak berbeda signifikan disimpulkan dari nilai signifikansi  $> 0,05$ . Berikut ini adalah nilai signifikansi pada uji tukey untuk data perubahan berat badan:

**Tabel V.** Nilai signifikansi uji tukey data perubahan berat badan mencit

Perbandingan Kelompok		Signifikansi	Keterangan
Kontrol	Dosis I	0,192	Tb
	Dosis II	0,000	B
	Dosis III	0,083	Tb
Dosis I	Dosis II	0,000	B
	Dosis III	0,963	Tb
Dosis II	Dosis III	0,000	B

Keterangan: B: Bermakna; Tb: Tidak bermakna.

Semua kelompok diberi pakan dalam jumlah yang sama selama masa uji. Hasil pengamatan sisa pakan kelompok kontrol, dosis 480 mg/ kg, dan dosis 1200 mg/ kg rata-rata tidak mengalami perubahan jumlah sisa pakan dari awal sampai akhir penelitian, tetapi pada kelompok dosis 759 mg/ kg mengalami peningkatan jumlah sisa pakan pada hari ke-10 sampai ke-14 yang menunjukkan bahwa hewan uji kelompok dosis 759 mg/ kg mengalami penurunan asupan makanan pada hari ke-10 sampai ke-14.

## 5. Pengukuran ALT dan AST

Pengukuran ALT (alanin aminotransferase) dan AST (aspartat aminotransferase) penting dilakukan untuk menilai fungsi hati, ALT dan AST merupakan enzim yang dihasilkan oleh hati. ALT dan AST akan meningkat ketika terjadi nekrosis sel hati<sup>(15)</sup>. Pengukuran ALT dan AST mencit dilakukan sebelum pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar yaitu pada hari ke-0 dan pada akhir penelitian sebelum pembedahan yaitu pada hari ke-15. Nilai hasil pengukuran ALT dan AST sebelum dan setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dibandingkan perubahannya. Nilai hasil pengukuran ALT dan AST hewan uji setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dibandingkan dengan nilai normal mencit berdasarkan literatur.

Hasil pengukuran kadar ALT dan AST mencit setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar mengalami kenaikan dibandingkan sebelum pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar. Berikut ini adalah hasil pengukuran kadar ALT dan AST hewan uji sebelum dan setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat:

**Tabel VI.** Hasil pengukuran kadar ALT dan AST

Kelompok		AST (U/L)		ALT (U/L)	
		Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan	Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan
Kontrol	1	22,75	21,43	18,19	18,35
	2	22,49	22,14	17,48	18,06
	3	22,27	21,85	18,58	18,74
Rata-rata ± SD		22,50 ± 0,24	21,81 ± 0,36	18,08 ± 0,56	18,38 ± 0,34
Dosis I	1	21,59	22,33	18,16	19,23
	2	22,24	22,79	17,58	19,00
	3	21,49	22,43	17,93	18,42
Rata-rata ± SD		21,77 ± 0,41	22,52 ± 0,24	17,89 ± 0,29	18,88 ± 0,42
Dosis II	1	22,33	25,44	18,42	22,24
	2	22,14	24,05	17,77	21,65
	3	22,62	25,28	18,09	22,79
Rata-rata ± SD		22,36 ± 0,24	24,92 ± 0,76	18,09 ± 0,33	22,23 ± 0,57
Dosis III	1	21,69	29,19	17,02	25,73
	2	21,94	29,39	17,67	26,28
	3	21,91	28,16	18,68	26,09
Rata-rata ± SD		21,85 ± 0,14	28,91 ± 0,66	17,79 ± 0,84	26,03 ± 0,28

Jika sel hepar cedera maka terjadi kerusakan membran sel dan organel sel yang menyebabkan enzim intrasel masuk ke pembuluh darah, sehingga kadar enzim hati seperti AST dan ALT akan meningkat dalam darah<sup>(28)</sup>. Berdasarkan data hasil pemeriksaan kadar ALT dan AST hewan uji di atas dapat disimpulkan semakin tinggi dosis senyawa uji maka terjadi peningkatan kadar ALT dan AST yang semakin tinggi pula. Menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanolik kangkung darat yang diberikan maka fungsi hati semakin menurun didasarkan pada peningkatan kadar ALT dan AST. Meskipun kadar ALT dan AST mencit kelompok perlakuan (dosis I, dosis II, dan dosis III) mengalami kenaikan setelah pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari, tetapi kenaikan kadar ALT dan AST masih dalam rentang normal. Kadar normal ALT mencit yaitu  $\leq 35$  U/L dan kadar normal AST mencit yaitu  $\leq 45$  U/L<sup>(29)</sup>.

Hasil pengukuran kadar ALT dan AST kemudian dianalisis statistik yang diawali dengan uji *Kolmogorof-Smirnov* untuk mengetahui data tersebut terdistribusi normal atau tidak, jika  $p > 0,05$  maka disimpulkan data terdistribusi normal kemudian dilakukan analisis varian (ANOVA) satu arah dan dilanjutkan dengan uji tukey dengan taraf kepercayaan 95%. Uji *Kolmogorof-Smirnov* untuk pengukuran ALT menunjukkan nilai  $p > 0,05$  yaitu 0,452 jadi data terdistribusi normal<sup>(27)</sup>. Berdasarkan tabel *Test of Homogeneity of Variances* pada uji ANOVA diperoleh nilai signifikansi  $> 0,05$  yaitu 0,739 yang menunjukkan bahwa varian antar kelompok sama, dari tabel ANOVA nilai signifikasnsi  $< 0,05$  yaitu 0,00 menyatakan bahwa tiap kelompok memiliki kadar ALT yang berbeda signifikan<sup>(27)</sup>. Hasil uji tukey menunjukkan perbedaan kadar ALT yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok dosis 759 mg/ kg dan dosis 1200 mg/ kg ditunjukkan dari nilai signifikansi  $< 0,05$  sedangkan antara kelompok kontrol dan dosis 480 mg/ kg tidak berbeda signifikan yang mana nilai signifikansinya  $> 0,05$ . Berikut ini adalah nilai signifikansi pada uji tukey untuk pengukuran nilai ALT:

**Tabel VII.** Nilai signifikansi uji tukey pengukuran kadar ALT

Perbandingan Kelompok		Signifikansi	Keterangan
Kontrol	Dosis I	0,495	Tb
	Dosis II	0,000	B
	Dosis III	0,000	B
Dosis I	Dosis II	0,000	B
	Dosis III	0,000	B
Dosis II	Dosis III	0,000	B

Keterangan: B: Bermakna; Tb: Tidak bermakna.

Uji *Kolmogorof-Smirnov* untuk pengukuran AST menunjukkan nilai  $p > 0,05$  yaitu 0,582 maka dikatakan data terdistribusi normal<sup>(27)</sup>. Tabel *Test of Homogeneity of Variances* pada uji ANOVA diperoleh nilai signifikansi  $> 0,05$  yaitu 0,121 sehingga dapat disimpulkan bahwa varian antar kelompok sama, pada tabel ANOVA nilai signifikansi  $< 0,05$  yaitu 0,00 mengindikasikan tiap kelompok memiliki kadar AST yang signifikan berbeda<sup>(27)</sup>. Hasil uji tukey menunjukkan perbedaan kadar AST yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok dosis 759 mg/ kg dan dosis 1200 mg/ kg dilihat dari nilai signifikansi  $< 0,05$ , sedangkan antara kelompok kontrol dan dosis 480 mg/ kg tidak berbeda signifikan dilihat dari nilai signifikansi  $> 0,05$ . Berikut ini adalah nilai signifikansi pada uji tukey untuk pengukuran nilai AST:

**Tabel VIII.** Nilai signifikansi uji tukey pengukuran kadar AST

Perbandingan Kelompok		Signifikansi	Keterangan
Kontrol	Dosis I	0,436	Tb
	Dosis II	0,000	B
	Dosis III	0,000	B
Dosis I	Dosis II	0,000	B
	Dosis III	0,000	B
Dosis II	Dosis III	0,000	B

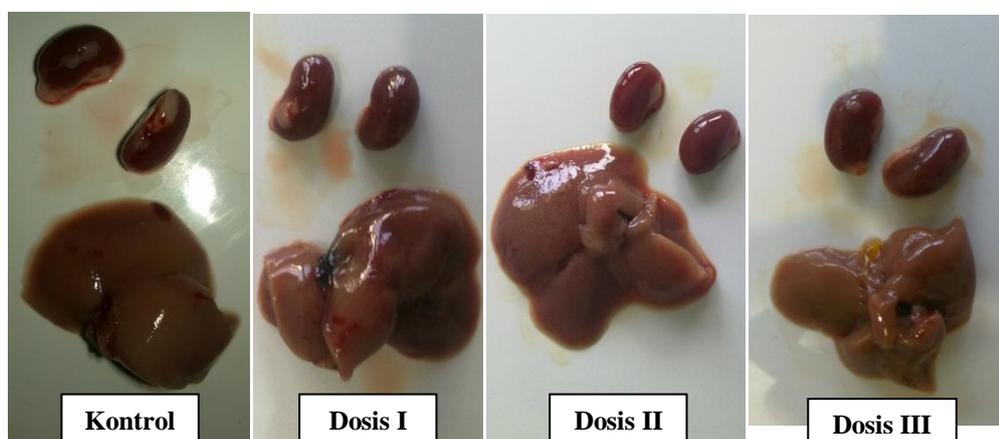
Keterangan: B: Bermakna; Tb: Tidak bermakna.

Berdasarkan analisis di atas dapat disimpulkan bahwa nilai ALT dan AST mencit setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari mengalami peningkatan tetapi masih dalam kadar yang normal. Kadar ALT dan AST kelompok dosis 759 mg/ kg dan dosis 1200 mg/ kg berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol, sedangkan kelompok dosis 480 mg/ kg tidak berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Peningkatan kadar ALT dan AST dalam plasma dapat terjadi karena adanya cedera sel<sup>(32)</sup>.

## 6. Pengamatan organ

Pengamatan histopatologi organ dilakukan untuk melihat kemungkinan terjadinya perubahan organ dalam tingkat selular setelah pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar untuk mengetahui efek toksik dan kerusakan organ yang mungkin terjadi. Pengamatan ini dilakukan secara kualitatif dengan mengamati preparat organ dengan mikroskop.

Hewan uji yang telah diberi perlakuan selama 14 hari, dikorbankan pada hari ke-15 untuk diambil organ ginjal dan hati yang kemudian dibuat preparat histologi. Hewan uji yang dikorbankan sebanyak 3 hewan uji dalam masing-masing kelompok. Hewan uji dimatikan menggunakan eter dengan kapas yang dimasukkan ke dalam toples. Mencit dimasukkan ke dalam toples tersebut, ditutup rapat, dan ditunggu sampai mencit mati. Mencit yang sudah mati, dibedah dan dilakukan pengamatan secara makroskopi dengan mengamati organ secara langsung atau kasat mata. Hasil pengamatan makroskopi dapat digunakan untuk memeperkuat hasil pengamatan mikroskopi (histopatologi). Berikut ini adalah hasil pengamatan makroskopi organ salah satu hewan uji dari masing-masing kelompok:



**Gambar 9.** Hasil pengamatan makroskopi organ hepar dan ginjal

Pengamatan organ hewan uji secara kasat mata tidak menunjukkan adanya ketidaknormalan bentuk organ hepar dan ginjal secara makroskopik pada semua hewan uji dalam tiap kelompok. Bentuk organ hewan uji dari semua kelompok tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Berikut ini adalah

data hasil pengamatan makroskopik organ hati dan ginjal mencit setelah perlakuan selama 14 hari:

**Tabel IX.** Hasil pengamatan makroskopik organ mencit setelah 14 hari perlakuan

Kelompok		Organ	
		Ginjal	Hepar
Kontrol	1	Normal	Normal
	2	Normal	Normal
	3	Normal	Normal
Dosis I	1	Normal	Normal
	2	Normal	Normal
	3	Normal	Normal
Dosis II	1	Normal	Normal
	2	Normal	Normal
	3	Normal	Normal
Dosis III	1	Normal	Normal
	2	Normal	Normal
	3	Normal	Normal

Hewan uji yang sudah dibedah diambil organ hati dan ginjal. Organ hati dan ginjal tersebut dicuci dengan akuades untuk menghilangkan darah yang menempel karena darah yang menempel tersebut dapat menghalangi bahan fiksasi masuk ke jaringan, bahan fiksasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu formalin 10%. Organ disayat sedikit agar bahan fiksasi dapat meresap ke jaringan, kemudian dimasukkan ke dalam formalin 10% pada pot organ agar organ tidak mengalami perubahan morfologi jaringan organ. Tujuan dilakukannya fiksasi yaitu untuk mencegah otolisis, mempertahankan morfologi sel dan jaringan agar sebisa mungkin sama dengan ketika pengambilan, dan untuk mengeraskan jaringan untuk diproses selanjutnya<sup>(30)</sup>. Pot organ pada masing-masing hewan uji diberi tanda agar tidak tertukar. Organ yang sudah difiksasi dipotong kecil untuk kemudian dibuat preparat histologi.

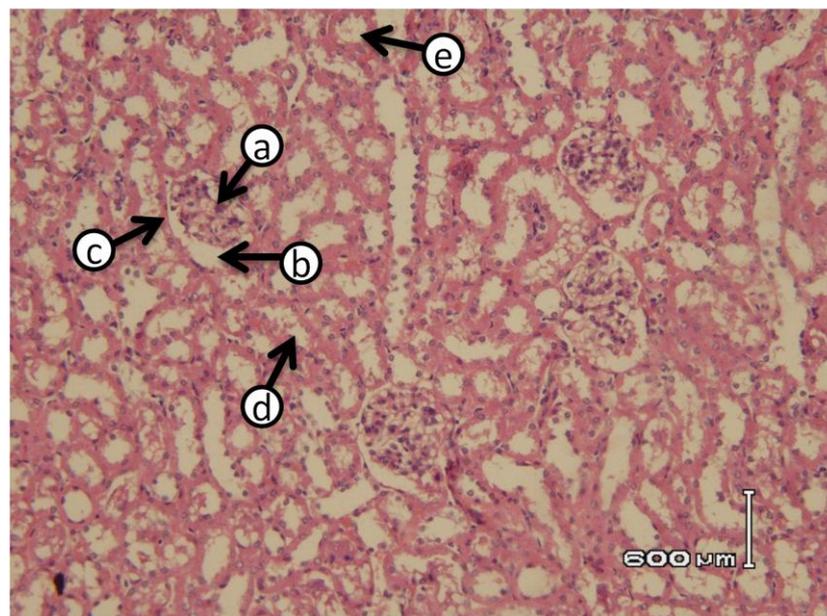
Preparat histologi dibaca menggunakan mikroskop dengan perbesaran tertentu hingga terlihat bentuk sel organ yang diamati. Hasil pengamatan histopatologi organ diinterpretasikan secara kualitatif dengan melihat kemungkinan adanya ketidaknormalan organ hepar dan ginjal pada tingkat selular. Di bawah ini adalah hasil pemeriksaan histopatologi organ hepar dan ginjal mencit setelah 14 hari perlakuan:

**Tabel X.** Pemeriksaan histopatologi organ mencit setelah 14 hari perlakuan

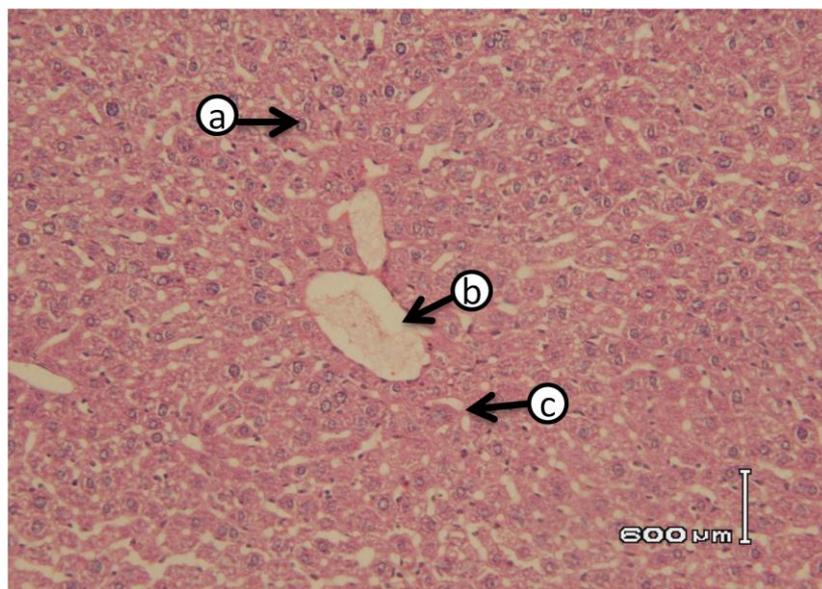
Kelompok		Organ	
		Ginjal	Hepar
Kontrol	1	R	-
	2	K	-
	3	-	-
Dosis I	1	D, R	D, P
	2	D, R, P	D, P
	3	D, R	P
Dosis II	1	-	-
	2	K, P	-
	3	R	P
Dosis III	1	D, R	-
	2	-	-
	3	K, P	-

Keterangan: - = normal; D= degenerasi vakuoler; K= kongesti, P= sel radang sekitar pembuluh darah; R= infiltrasi sel radang.

Kelompok kontrol menunjukkan ketidaknormalan pada organ ginjal berupa infiltrasi sel radang pada hewan uji nomor 1 dan kongesti pada hewan uji nomor 2, sedangkan hewan uji nomor 3 tidak mengalami perubahan (gambar 12). Kongesti terjadi karena kegagalan cairan darah keluar dari jaringan sehingga terjadi penumpukan<sup>(31)</sup>. Hepar ketiga hewan uji tidak mengalami perubahan (gambar 13).



**Gambar 10.** Ginjal normal secara mikroskopik hewan uji kelompok kontrol nomor 3 dengan pengecatan HE perbesaran 20x10: a. Glomerulus, b. Ruang bowman, c. kapsula bowman pars parietalis, d. Tubulus, e. Ansa henle



**Gambar 11.** Hepar normal secara mikroskopik hewan uji kelompok kontrol nomor 3 dengan pengecatan HE perbesaran 20x10: a. Hepatosit, b. Vena sentral, c. sinusoid

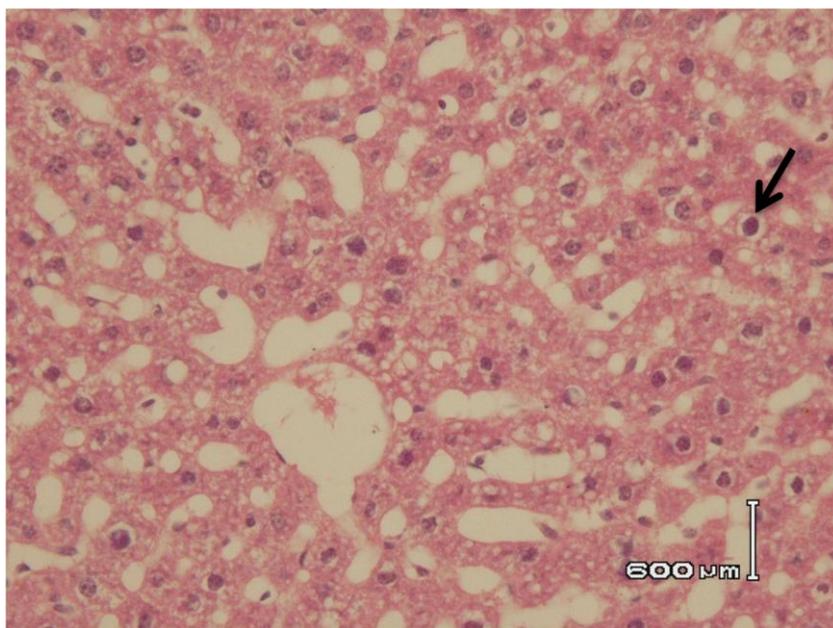
Degenerasi vakuoler pada hepar terjadi pada hewan uji kelompok dosis 480 mg/ kg (nomor 1 dan 2) ditunjukkan pada gambar 14. Degenrasi vakuoler pada ginjal terjadi pada hewan uji kelompok dosis 480 mg/ kg (nomor 1, 2 dan 3) dan kelompok dosis 759 mg/ kg nomor 1, ditunjukkan pada gambar 15. Degenerasi vakuoler disebut juga degenerasi hidrofik, pada beberapa sel terjadi refraksi sitoplasma dengan inti di tengah dan batas sel terlihat jelas. Degenerasi ini disebut degenerasi hidrofik karena zat yang berada dalam sitoplasma menyerupai cairan. Vakuol terdapat menyebar di dalam sel dengan ukuran yang berbeda-beda tetapi tidak mengisi penuh sitoplasma<sup>(32)</sup>. Degenerasi hidrofik disebabkan oleh gangguan pada membran sel sehingga sejumlah cairan masuk ke dalam sitoplasma<sup>(33)</sup>.

Kongesti pada ginjal terjadi pada kelompok kontrol nomor 2, kelompok dosis 759 mg/ kg nomor 2, dan kelompok dosis 1200 mg/ kg nomor 3 (gambar 16). Kongesti terjadi karena kegagalan cairan darah keluar dari jaringan sehingga terjadi penumpukan cairan darah. Obstruksi pada vena dapat menyebabkan kongesti lokal. Kongesti yang parah menyebabkan jaringan yang mengalami berwarna merah kebiruan, yang mana terjadi penumpukan deoksihemoglobin (hemoglobin yang tidak mengikat oksigen).

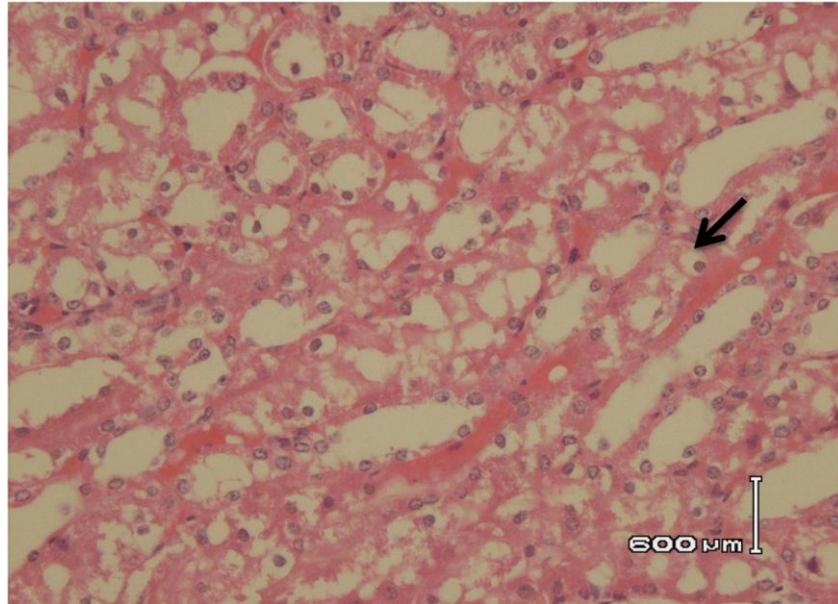
Kemungkinan terjadi hipoksia yang cukup berat dan dapat menyebabkan kematian sel jika terdapat darah yang tidak mengandung oksigen dalam waktu yang cukup lama<sup>(31)</sup>. Terjadinya kongesti secara mikroskopik tampak pelebaran pada pembuluh darah vena yang terisi penuh oleh darah<sup>(33)</sup>.

Adanya sel radang sekitar pembuluh darah yang disebut juga perivaskulitis pada hepar terjadi pada hewan uji kelompok dosis 480 mg/ kg (nomor 1, 2, dan 3) dan dosis 759 mg/ kg nomor 3 (gambar 17). Sel radang sekitar pembuluh darah pada ginjal terjadi pada hewan uji kelompok dosis 480 mg/ kg nomor 2, kelompok dosis 759 mg/ kg nomor 2, dan kelompok dosis 1200 mg/ kg nomor 3 (gambar 18). Peradangan ini kemungkinan akibat pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar.

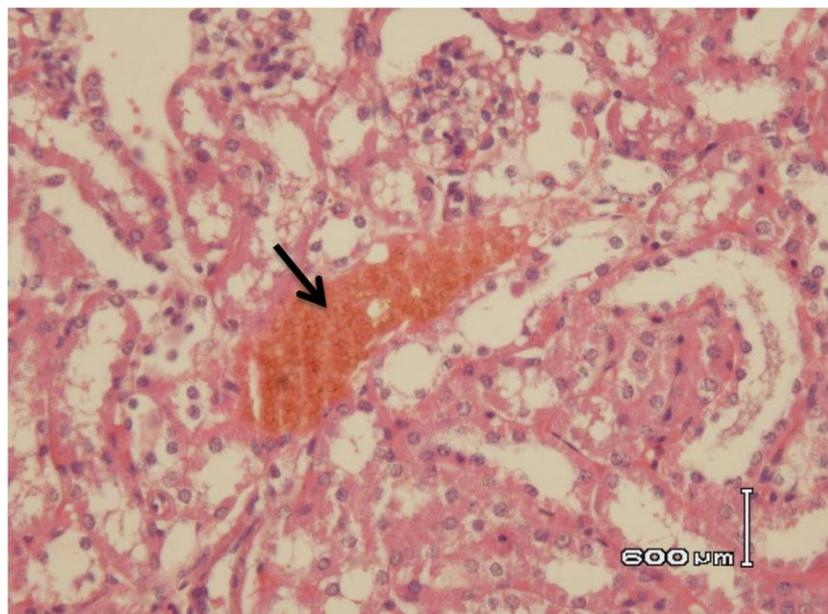
Infiltrasi sel radang pada ginjal terjadi pada hewan uji kelompok kontrol nomor 1, kelompok dosis 480 mg/ kg (nomor 1, 2, dan 3), kelompok dosis 759 mg/ kg nomor 3, dan kelompok dosis 1200 mg/ kg nomor 1 ditunjukkan pada gambar 19. Infiltrasi sel radang yang terjadi pada ginjal kemungkinan akibat pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar.



**Gambar 12.** Degenerasi vakuoler hepar hewan uji kelompok dosis 480 mg/ kg nomor 1 dengan pengecatan HE perbesaran 40x10 (tanda panah).



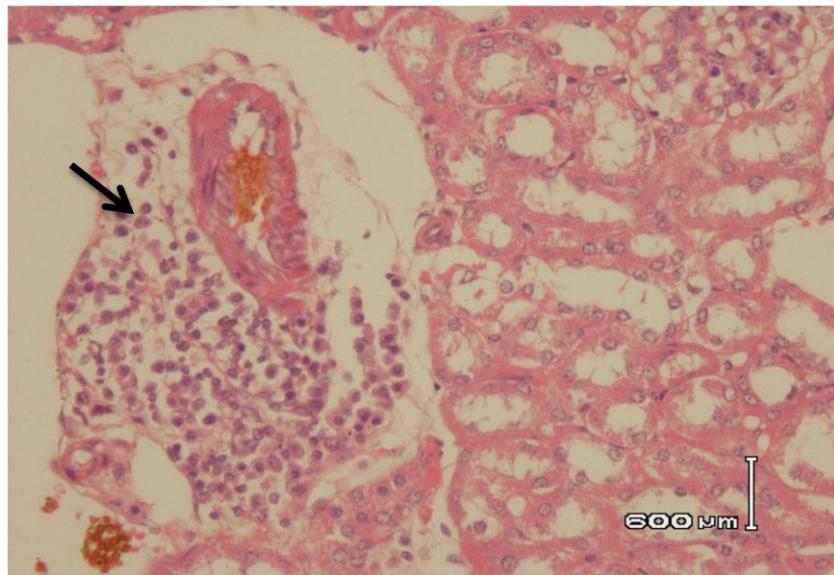
**Gambar 13.** Degenerasi vakuoler ginjal hewan uji kelompok dosis 480 mg/kg nomor 2 dengan pengecatan HE perbesaran 40x10 (tanda panah).



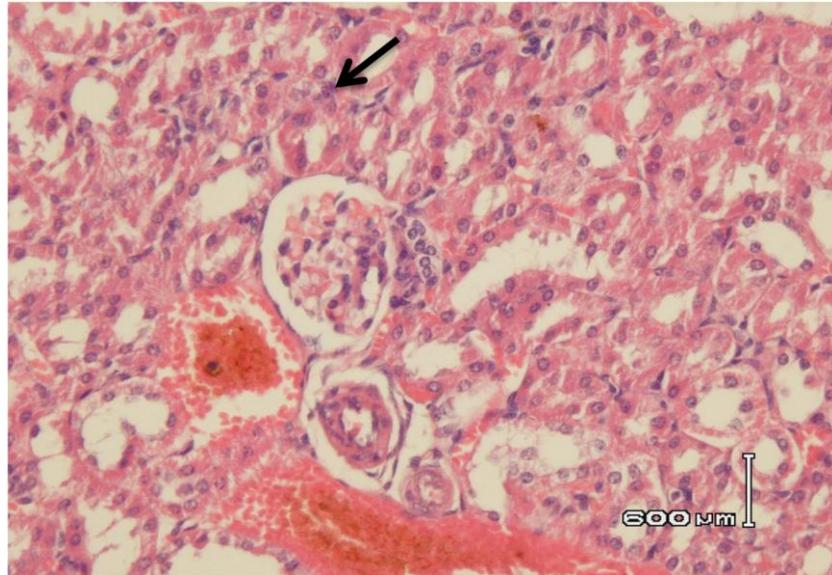
**Gambar 14.** Kongesti ginjal hewan uji kelompok dosis 1200 mg/kg nomor 3 dengan pengecatan HE perbesaran 40x10 (tanda panah).



**Gambar 15.** Radang sekitar pembuluh darah pada hepar hewan uji kelompok dosis 759 mg/ kg nomor 3 dengan pengecatan HE perbesaran 40x10 (tanda panah).



**Gambar 16.** Radang sekitar pembuluh darah pada ginjal hewan uji kelompok dosis 480 mg/ kg nomor 2 dengan pengecatan HE perbesaran 40x10 (tanda panah).



**Gambar 17.** Infiltrasi sel radang pada ginjal hewan uji kelompok dosis 759 mg/ mg nomor 3 dengan pengecatan HE perbesaran 40x10 (tanda panah).

Ketidaknormalan akibat pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari pada organ ginjal dan hepar hewan uji yang berupa degenerasi vakuoler, peradangan, dan kongesti saling berhubungan. Degenerasi vakuoler yang berupa penumpukan cairan di dalam sel dapat memicu peradangan. Adanya peradangan menyebabkan peningkatan jumlah eritrosit pada daerah radang, sehingga terjadi akumulasi eritrosit pada pembuluh darah. Akumulasi eritrosit menyebabkan kongesti yang secara mikroskopik terlihat warna merah pada pembuluh darah.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

1. Selama pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari, hewan uji kelompok kontrol, dosis 480 mg/ kg, dan dosis 759 mg/ kg tidak mengalami gejala toksik, sedangkan hewan uji kelompok dosis 1200 mg/ kg mengalami efek sedasi, konstipasi, dan feses berwarna hitam. Berat badan rata-rata hewan uji kelompok dosis 759 mg/ kg mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan kelompok lainnya ( $p < 0,05$ ).
2. Berdasarkan hasil histopatologi organ ginjal dan hepar hewan uji setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari terlihat adanya degenerasi vakuoler, peradangan, dan kongesti. Degenerasi vakuoler memicu terjadinya reaksi peradangan yang menyebabkan penumpukan eritrosit di daerah peradangan sehingga terjadi kongesti. Setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat selama 14 hari, kadar AST dan ALT hewan uji kelompok dosis 759 mg/ kg dan dosis 1200 mg/ kg mengalami peningkatan yang signifikan sedangkan hewan uji kelompok dosis 480 mg/ kg meningkat tetapi tidak signifikan.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan pemeriksaan organ lain selain hati dan ginjal untuk mengetahui kemungkinan adanya efek toksik pada organ selain hati dan ginjal.
2. Penting untuk dilakukan uji toksisitas sub kronis dan kronis untuk jangka waktu pemberian senyawa uji yang lebih lama.
3. Perlu dilakukan pengukuran kimia darah untuk penilaian fungsi ginjal yang lebih valid.

## DAFTAR PUSTAKA

- (1) Malalavidhane, T.S.; Wickramasinghe, S.M.D.N., Perera, M. S.A., Jansz, E.R., 2003, Oral Hypoglycaemic Activity of *Ipomoea aquatica* in STZ induced, Diabetic Wistar Rats and Type II Diabetics. *Phytother.* Vol.17, 1098-1100.
- (2) Helminawati, 2011, Uji Efek Antihiperglikemia Infusa Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) pada Mencit Swiss Jantan yang Diinduksi Streptozotocin, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (3) Setyawati, W. D., 2011, Uji Efektifitas Antihiperglikemia Infusa Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terhadap Gambaran Histopatologis Pankreas Mencit Swiss Jantan yang Diinduksi Streptozotocin, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (4) Santoso, H. B., 2008, *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat*, Agromedia Pustaka, Jakarta, 44-47.
- (5) Donatus, I. A., 2005, *Toksikologi Dasar*, Edisi 2, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 187-189.
- (6) Barile, F. A., 2008, *Principles of Toxicology Testing*, Taylor and Francis Group, United States of America, 21-22, 89-97.
- (7) Eaton, D. L., and Gilbert, S. G., 2008, Principles of Toxicology, In Klassen, C. D., *Casarett and Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*, Seventh Edition, The McGraw-Hill Companies, Inc, Washington, 11, 18, 31-32.
- (8) Lu, F. C., 2009, *Lu's Basic Toxicology, Fundamental, Target Organs, and Risk Assessment*, Informa Healthcare, New York, 91-95.
- (9) Guyton, A. C. and Hall, J. E., 2006, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 11, diterjemahkan oleh Irawati, Ramadhani, D., Indriyani, F., Dany, F., Nuryanto, I., Rianti, S. S. P., Resmisari, T., dan Suryono, Y. J., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 327,332-333.
- (10) Anonim, 2005, *Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar, dan Fitofarmaka*, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- (11) Ngatidjan, 2006, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 1,3,8,18-20, 51, 151.
- (12) Anonim, 2005, *Pedoman Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik*, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- (13) Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 3, 5, 13-24.
- (14) Tso, P., and McGill, J., 2003, The Physiology of the Liver, In Rhoades, R. A., and Tanner, G. A., *Medical Physiology*, Second Edition, Lippincott Williams & Wilkins press, London, 514,515.
- (15) Jaeschke, H., 2008, Toxic Response of the Liver, In Klassen, C. D., *Casarett and Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*, Seventh Edition, The McGraw-Hill Companies, Inc, Washington, 557, 562.

- (16) Willard, M. D., and Twedt, D. C., 2004, Gastrointestinal, Pancreatic, and Hepatic Disorders, In Willard, M. D., and Tvdten, H., *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, Fifth Edition, Elsevier Inc., United States of America, 214-216.
- (17) Tanner, G. A., 2003, Kidney Function, In Rhoades, R. A., and Tanner, G. A., *Medical Physiology*, Second Edition, Lippincott Williams & Wilkins press, London, 378, 379.
- (18) Sherwood, L., 2009, Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem, diterjemahkan oleh Brahm U. Pendit, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 558-559.
- (19) Schnellmann, R. G., Toxic Response of the Kidney, In Klassen, C. D., *Casarett and Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*, Seventh Edition, The McGraw-Hill Companies, Inc, Washington, 583, 586-588.
- (20) Djuwarno, E. N., 2012, Standardisasi Ekstrak Etanolik Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir), *Skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (21) Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H. Y., 2011, *Standarisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- (22) Johantika, E.E.B., 2002, Pemanfaatan Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) dalam Pembuatan Biskuit Tinggi Serat Makanan, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- (23) Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Dirjen POM, Depkes RI, Jakarta.
- (24) Khomsan, A. 2009, *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*, Buku Kompas, Jakarta, 146.
- (25) Anggara, R., 2009, Pengaruh Ekstrak Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terhadap Efek Sedasi pada Mencit Balb/c, *Karya Tulis Ilmiah*, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- (26) Martindale, 2007, *The Complete Drug Reference*, The Pharmaceutical Press, London.
- (27) Trihendradi, C., 2009, *Step by Step SPSS 16 Analisis Data Statistik*, Penerbit ANDI, Yogyakarta, 153-157, 255.
- (28) Underwood, J. C. E., 1994, *Patologi Umum dan Sistemik*, Vol. 2, Editor edisi bahasa Indonesia Sarjadi, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 472.
- (29) Esau, C., Davis, S., Murray, S. F., Yu, X. X., Pandey, S. K., Pear, M., Watts, L., Booten, S. L., Graham, M., Mckay, R., Subramaniam, A., Propp, S., Lollo, B. A., Freier, S., Bennett, C. F., Bhanot, S., Monia, B. P., 2006, miR-122 Regulation of Lipid Metabolism Revealed by In Vivo Antisense Targeting, *Cell Metabolism*, 3: 89.
- (30) Miranti, I. P., 2005, *Pengolahan Jaringan untuk Penelitian Hewan Coba*, Media Medika Muda Januari-Juni 2010, available at [http://eprints.undip.ac.id/22187/1/01\\_terkini\\_-\\_dr\\_ika\\_-\\_01-04.pdf](http://eprints.undip.ac.id/22187/1/01_terkini_-_dr_ika_-_01-04.pdf), (diakses pada 9 Mei 2012).
- (31) Mitchell, R. N., et al., 2006, *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit Robbins and Cotran*, Edisi 7, diterjemahkan oleh Andry Hartono., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 79.
- (32) Staf Pengajar Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1973, *Kumpulan Kuliah Patologi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 228, 243.

- (33) Sudiono, J., Kurniadhi, B., Hendrawan, A., dan Djimantoro, B., 2001, *Penuntun Praktikum Patologi Anatomi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 9, 10, 15, 16.

## Lampiran 1

## Surat Determinasi Kangkung Darat

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
JURUSAN FARMASI FMIPA UII  
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

---

**SURAT KETERANGAN**

Nomor:103/UII/Jur Far/det/III/2012

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi  
Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

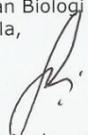
Nama : Ginna Zabrina  
NIM : 08613169  
Pada tanggal : 15 Maret 2012

Telah mendeterminasi 1 ( satu ) species tanaman dengan bimbingan  
Dra.Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Ipomoea reptans*, Poir ( kangkung darat )

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 15 Maret 2012  
Bagian Biologi Farmasi  
Kepala,

  
Hady Anshory T.S.Si., Apt.  
NIP.056130703

## Lampiran 2

## Hasil Determinasi Tanaman Kangkung Darat

- 1.b. berbunga sejati
- 2.b. tumbuhan menjalar
- 3.b. daun tidak berbentuk jarum
- 4.b. bukan bangsa rumput
- 6.b. daun jelas
- 7.b. bukan bangsa palem
- 9.b. tumbuhan tidak memanjat/melilit
- 10.b. daun tidak tersusun rapat
- 11.b. ibu tulang daun dapat dibedakan jelas dari jaring urat daun dan dari anak cabang tulang daun
- 12.b. tidak semua daun duduk dalam karangan atau tidak ada daun sama sekali
- 13.b. tumbuh-tumbuhan berbentuk lain
- 14.a. daun tersebar, kadang-kadang sebagian berhadapan
- 15.a. daun tunggal, tetapi tidak berbagi menyirip  
(golongan 8. Tanaman dengan daun tunggal dan tersebar)
- 109.b. tanaman daratan (atau tumbuh) diantara tanaman bakau
- 119.b. tanaman bukan benalu
- 120.a. Tanaman bergetah
- 121.a. Rumput-rumputan (herba)
- 122.b. Bunga besar, tidak dengan bongkol dengan pembalut
- 123.b. Tabung mahkota ke atas melebar menjadi berbentuk terompet tanpa taju.  
Tangkai sari lepas
- 107. Famili *Convolvuceae*
  - 1.b. buah kotak dengan 4 (jarang 6) kelep, terbelah membuka, kebanyakan bergigi  
2 atau 6. Daun kelopak lain. Mahkota lebih panjang dari 0,5 cm.....(*ipomea*)
  - 2. *Ipomea*
    - 1.b. Rumput-rumput membelit atau menjalar
    - 2.b. helaian daun tidak berbagi menyirip
    - 3.b. Bunga majemuk berbentuk panjang atau bunga tunggal

Lampiran 2 (lanjutan)

4.b. Tanaman menjalar pada buku-bukunya keluar akar. Tabung mahkota paling panjang 5 cm. Kepala putik dan benang-benang sari tertutup di dalam tabung

5.b. Helaihan daun tidak seperti kulit. Dengan ujung yang runcing atau tumpul. Tidak pernah rompang

6.a. Tanaman tanpa umbi dalam tanah. Batang tebal dan berongga atau seperti bunga karang. Kadang-kadang mengapung. Bakal buah gundul. Biji-biji berbulu halus rapat.

Hasil: *Ipomoea reptans* Poir

## Lampiran 3

## Surat Keterangan Ethical Clearance



**MINISTRY OF NATIONAL EDUCATION  
FACULTY OF MEDICINE GADJAH MADA UNIVERSITY  
MEDICAL AND HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE (MHREC)**

**ETHICS COMMITTEE APPROVAL**

Ref : KE/FK/ 341 /EC

Title of the Research Protocol : Kajian Keamanan Pemberian Berulang Ekstrak Kangkung Darat (Ipomea reptans P) Terstandar terhadap Fungsi Ginjal dan Hepar Mencit Galur DDY Betina

Documents Approved : Study Protocol

Principle Investigator : Ginna Zabrina

Name of medically Responsible Physician(s) : 1. Farida Hayati, M.Si., Apt  
2. Dr. drh. Retno Murwanti, MP

Date of Approval : 07 MAY 2012

(Valid for one year beginning from the date of approval)

Institution(s)/place(s) of research : Laboratorium Farmakologi Fakultas MIPA UII

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) states that the above protocol meets the ethical principle outlined in the Declaration of Helsinki 1975 and therefore can be carried out.

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) has the right to monitor the research activities at any time. The investigator(s) is/are obliged to submit final report upon the completion of the study or a progress report in case a continuing review is needed.

Prof.dr.Mohammad Hakimi, Sp.OG (K),Ph.D  
Chairman

Dr. dr. Eti Nurwening Sholikhah, M.Kes  
Secretary

## Lampiran 4

## Surat Keterangan Hewan Uji



UNIVERSITAS GADJAH MADA  
**LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU**  
**( LPPT – UGM )**

Bidang Layanan Penelitian Pra – Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan

Jl. Agro Karang Malang Kampus UGM

Telp. (0274) 7497705, FAX. ( 0274 ) 546868, e-mail: lppt\_info@mail.ugm.ac.id

**SURAT KETERANGAN**  
**NO : 219/LP3HP/30 - III/2012**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dr. drh. Pudji Astuti, M. P.  
 NIP : 19601012 198703 2 001  
 Jabatan : Kabid Unit Pra Klinik – LPPT UGM.

Menerangkan bahwa ;

Nama : Ginna Zabrina  
 NIM : 08613169  
 Instansi : Fakultas MIPA Jurusan Farmasi UII YK.

Pada bulan Maret 2012 membeli mencit putih (*Mus musculus L.*) Betina Galur DDY usia 2-3 bulan sejumlah 24 (Dua puluh empat) ekor dari Unit Pra-klinik - LPPT Universitas Gadjah Mada

Hewan tersebut dalam keadaan masih Fertile dan tidak terinfeksi penyakit sehingga tidak menularkan penyakit.

Menurut keterangan dari yang bersangkutan, Hewan tersebut akan dibawa ke Fakultas MIPA UII Yogyakarta dan akan digunakan sebagai hewan percobaan penelitian.

Demikian surat keterangan ini dibuat, agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas kerjasama yang baik di ucapkan terima kasih.

Yogyakarta, 30 Maret 2012

Kabid Unit Pra-Klinik,

  
 Dr. drh. Pudji Astuti, M. P.  
 NIP : 19601012 198703 2 001

## Lampiran 5

## Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Kontrol

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Hari ke-							
			1	2	3	4	5	6	7	
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	
	Gerakan	Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	
Keberangasan		-	-	-	-	-	-	-		
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	
		Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	
Pernafasan	Lubang hidung	Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	
		Terdapat kotoran	-	-	-	-	-	-	-	
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah Kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	
		Denyut kuat	-	-	-	-	-	-	-	
		Denyut lemah	-	-	-	-	-	-	-	
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-	
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Hitam	-	-	-	-	-	-	-	
		Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-
		Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	
Lain-lain	Kondisi umum	Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	
		Sikap abnormal	-	-	-	-	-	-	-	
		Kurus	-	-	-	-	-	-	-	
		Kematian	-	-	-	-	-	-	-	

Ket: - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

## Lampiran 5 (lanjutan)

## Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Kontrol

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Hari ke-						
			8	9	10	11	12	13	14
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Tremor	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran	-	-	-	-	-	-	-
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut lemah	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam	-	-	-	-	-	-	-
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal	-	-	-	-	-	-	-
		Kurus	-	-	-	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-	-	-	-

Ket: - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

## Lampiran 6

## Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis 480 mg/ kg

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Hari ke-						
			1	2	3	4	5	6	7
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Tremor	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-
Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	
	Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran	-	-	-	-	-	-	-
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut lemah	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk Hitam	-	-	-	-	-	-	-
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal	-	-	-	-	-	-	-
		Kurus	-	-	-	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-	-	-	-

Ket: - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

## Lampiran 6 (lanjutan)

## Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis 480 mg/ kg

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Hari ke-						
			8	9	10	11	12	13	14
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Tremor	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran	-	-	-	-	-	-	-
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut lemah	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam	-	-	-	-	-	-	-
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal	-	-	-	-	-	-	-
		Kurus	-	-	-	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-	-	-	-

Ket: - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

## Lampiran 7

## Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis 759 mg/ kg

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Hari ke-						
			1	2	3	4	5	6	7
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Tremor	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-
Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	
	Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran	-	-	-	-	-	-	-
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut lemah	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam	-	-	-	-	-	-	-
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal	-	-	-	-	-	-	-
		Kurus	-	-	-	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-	-	-	-

Ket: - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

## Lampiran 7 (lanjutan)

## Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis 759 mg/ kg

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Hari ke-						
			8	9	10	11	12	13	14
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Tremor	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran	-	-	-	-	-	-	-
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut lemah	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam	-	-	-	-	-	-	-
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal	-	-	-	-	-	-	-
		Kurus	-	-	-	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-	-	-	-

Ket: - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

## Lampiran 8

## Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis 1200 mg/ kg

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Hari ke-						
			1	2	3	4	5	6	7
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	+	+	+	+
	Gerakan	Tremor	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-
Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	
	Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran	-	-	-	-	-	-	-
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut lemah	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	+
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam	-	-	-	-	-	-	+
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal	-	-	-	-	-	-	-
		Kurus	-	-	-	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-	-	-	-

Ket: - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

## Lampiran 8 (lanjutan)

## Hasil Pengamatan Gejala Klinis Kelompok Dosis 1200 mg/ kg

Pengamatan		Gejala/ perilaku	Hari ke-						
			8	9	10	11	12	13	14
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	+	+	+	+	+	+	+
	Gerakan	Tremor	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-
Sistem syaraf otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Terdapat kotoran	-	-	-	-	-	-	-
Kardio-Vaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut lemah	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	+	+	+	+	+	+	+
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam	+	+	+	+	+	+	+
Genito-urinari	Kelenjar mammae, vulva	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi umum	Sikap abnormal	-	-	-	-	-	-	-
		Kurus	-	-	-	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-	-	-	-

Ket: - = tidak mengalami gejala klinis; + = mengalami gejala klinis

## Lampiran 9

## Hasil Pengukuran Berat Badan Hewan Uji

Kontrol	Hari ke-0 (gram)	Hari ke-5 (gram)	Hari ke-10 (gram)	Hari ke-15 (gram)	Perubahan BB selama 15 hari (gram)	Perubahan BB per hari (gram)
1	23	26	23,5	24	+ 1	+ 0,067
2	24,2	29	27	27,5	+ 3,3	+ 0,22
3	26,7	31	29,5	31	+ 4,3	+ 0,287
4	26,2	30,5	30,9	29,6	+ 3,4	+ 0,227
5	27,2	32,5	30,4	30,5	+ 3,3	+ 0,22
				Rata-rata	+ 3,06	+ 0,204

Ket: + = peningkatan berat badan; - = penurunan berat badan

Dosis I	Hari ke-0 (gram)	Hari ke-5 (gram)	Hari ke-10 (gram)	Hari ke-15 (gram)	Perubahan BB selama 15 hari (gram)	Perubahan BB per hari (gram)
1	21	26,2	23	23,5	+ 2,5	+ 0,167
2	24	26,3	25,2	25,5	+ 1,5	+ 0,1
3	24,7	29,2	27,6	25,5	+ 0,8	+ 0,053
4	23,5	25,5	22,3	25	+ 1,5	+ 0,1
5	26,7	25,7	25,8	25,7	+ 1	+ 0,067
				Rata-rata	+ 1,46	+ 0,097

Ket: + = peningkatan berat badan; - = penurunan berat badan

Dosis II	Hari ke-0 (gram)	Hari ke-5 (gram)	Hari ke-10 (gram)	Hari ke-15 (gram)	Perubahan BB selama 15 hari (gram)	Perubahan BB per hari (gram)
1	29	26	25,9	25	- 4	- 0,267
2	30	26,1	26	24,3	- 5,7	- 0,38
3	27,5	26	25,1	24	- 3,5	- 0,233
4	28,5	25,5	23	23	- 5,5	- 0,367
5	28	27,6	25,4	24,9	- 3,1	- 0,207
				Rata-rata	- 4,36	- 0,291

Ket: + = peningkatan berat badan; - = penurunan berat badan

Dosis III	Hari ke-0 (gram)	Hari ke-5 (gram)	Hari ke-10 (gram)	Hari ke-15 (gram)	Perubahan BB selama 15 hari (gram)	Perubahan BB per hari (gram)
1	25	24,2	24	24,5	- 0,5	- 0,033
2	23	28,3	25,3	25,3	+ 2,3	+ 0,153
3	26,3	26,3	25	25,6	- 0,7	- 0,047
4	26	28,7	28,2	28,4	+ 2,4	+ 0,16
5	26	29,4	25,3	24,3	- 1,7	+ 0,113
				Rata-rata	+ 0,36	+ 0,024

Ket: + = peningkatan berat badan; - = penurunan berat badan

## Lampiran 10

## Hasil ANOVA Perubahan Berat Badan

```

NPAR TESTS
  /K-S (NORMAL)=PerubahanBB
  /STATISTICS DESCRIPTIVES

  /MISSING ANALYSIS.

```

**Npar Tests**

[DataSet0]

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
PerubahanBB	20	.02100	.205076	-.380	.287

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		PerubahanBB
N		20
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	.02100
	Std. Deviation	.205076
Most Extreme Differences	Absolute	.212
	Positive	.117
	Negative	-.212
Kolmogorov-Smirnov Z		.948
Asymp. Sig. (2-tailed)		.330

a. Test distribution is Normal.

```

ONEWAY PerubahanBB BY Kelompok
  /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
  /MISSING ANALYSIS

  /POSTHOC=TUKEY BONFERRONI ALPHA(0.05) .

```

**Oneway**

[DataSet0]

**Descriptives**

PerubahanBB

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	5	.20420	.081699	.036537	.10276	.30564	.067	.287
1	5	.09740	.044026	.019689	.04273	.15207	.053	.167
2	5	-.29080	.078570	.035137	-.38836	-.19324	-.380	-.207
3	5	.07320	.103929	.046478	-.05584	.20224	-.047	.160
Total	20	.02100	.205076	.045856	-.07498	.11698	-.380	.287

### Test of Homogeneity of Variances

PerubahanBB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.546	3	16	.093

### ANOVA

PerubahanBB	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.697	3	.232	36.305	.000
Within Groups	.102	16	.006		
Total	.799	19			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable:PerubahanBB

	(I) Kelom pok	(J) Kelom pok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	0	1	.106800	.050584	.192	-.03792	.25152
		2	.495000*	.050584	.000	.35028	.63972
		3	.131000	.050584	.083	-.01372	.27572

	1	0	-.106800	.050584	.192	-.25152	.03792
		2	.388200*	.050584	.000	.24348	.53292
		3	.024200	.050584	.963	-.12052	.16892
	2	0	-.495000*	.050584	.000	-.63972	-.35028
		1	-.388200*	.050584	.000	-.53292	-.24348
		3	-.364000*	.050584	.000	-.50872	-.21928
	3	0	-.131000	.050584	.083	-.27572	.01372
		1	-.024200	.050584	.963	-.16892	.12052
		2	.364000*	.050584	.000	.21928	.50872
Bonferroni	0	1	.106800	.050584	.305	-.04537	.25897
		2	.495000*	.050584	.000	.34283	.64717
		3	.131000	.050584	.118	-.02117	.28317
	1	0	-.106800	.050584	.305	-.25897	.04537
		2	.388200*	.050584	.000	.23603	.54037
		3	.024200	.050584	1.000	-.12797	.17637
	2	0	-.495000*	.050584	.000	-.64717	-.34283
		1	-.388200*	.050584	.000	-.54037	-.23603
		3	-.364000*	.050584	.000	-.51617	-.21183
	3	0	-.131000	.050584	.118	-.28317	.02117
		1	-.024200	.050584	1.000	-.17637	.12797
		2	.364000*	.050584	.000	.21183	.51617

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

## Homogeneous Subsets

PerubahanBB				
	Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD <sup>a</sup>	2	5	-.29080	
	3	5		.07320
	1	5		.09740
	0	5		.20420



Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

## Lampiran 11

## Hasil ANOVA Pengukuran ALT

```

NPAR TESTS
  /K-S (NORMAL) =ALT
  /STATISTICS DESCRIPTIVES

  /MISSING ANALYSIS.

```

**Npar Tests**

[DataSet0]

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ALT	12	21.3817	3.22122	18.06	26.28

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		ALT
N		12
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	21.3817
	Std. Deviation	3.22122
Most Extreme Differences	Absolute	.248
	Positive	.248
	Negative	-.161
Kolmogorov-Smirnov Z		.859
Asymp. Sig. (2-tailed)		.452

a. Test distribution is Normal.

```

ONEWAY ALT BY Kelompok
  /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
  /MISSING ANALYSIS

  /POSTHOC=TUKEY BONFERRONI ALPHA(0.05) .

```

**Oneway**

[DataSet0]

## Descriptives

ALT								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	18.3833	.34122	.19701	17.5357	19.2310	18.06	18.74
1	3	18.8833	.41741	.24099	17.8464	19.9202	18.42	19.23
2	3	22.2267	.57012	.32916	20.8104	23.6429	21.65	22.79
3	3	26.0333	.27934	.16128	25.3394	26.7273	25.73	26.28
Total	12	21.3817	3.22122	.92988	19.3350	23.4283	18.06	26.28

## Test of Homogeneity of Variances

ALT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.427	3	8	.739

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Dependent Variable:ALT

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	0	1	-.50000	.34003	.495	-1.5889	.5889
		2	-3.84333 <sup>*</sup>	.34003	.000	-4.9322	-2.7544
		3	-7.65000 <sup>*</sup>	.34003	.000	-8.7389	-6.5611
	1	0	.50000	.34003	.495	-.5889	1.5889
		2	-3.34333 <sup>*</sup>	.34003	.000	-4.4322	-2.2544
		3	-7.15000 <sup>*</sup>	.34003	.000	-8.2389	-6.0611
	2	0	3.84333 <sup>*</sup>	.34003	.000	2.7544	4.9322
		1	3.34333 <sup>*</sup>	.34003	.000	2.2544	4.4322
		3	-3.80667 <sup>*</sup>	.34003	.000	-4.8956	-2.7178

	3	0	7.65000*	.34003	.000	6.5611	8.7389
		1	7.15000*	.34003	.000	6.0611	8.2389
		2	3.80667*	.34003	.000	2.7178	4.8956
Bonferroni	0	1	-.50000	.34003	1.000	-1.6829	.6829
		2	-3.84333*	.34003	.000	-5.0263	-2.6604
		3	-7.65000*	.34003	.000	-8.8329	-6.4671
	1	0	.50000	.34003	1.000	-.6829	1.6829
		2	-3.34333*	.34003	.000	-4.5263	-2.1604
		3	-7.15000*	.34003	.000	-8.3329	-5.9671
	2	0	3.84333*	.34003	.000	2.6604	5.0263
		1	3.34333*	.34003	.000	2.1604	4.5263
		3	-3.80667*	.34003	.000	-4.9896	-2.6237
	3	0	7.65000*	.34003	.000	6.4671	8.8329
		1	7.15000*	.34003	.000	5.9671	8.3329
		2	3.80667*	.34003	.000	2.6237	4.9896

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

## Homogeneous Subsets

### ALT

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Tukey HSD <sup>a</sup>	0	3	18.3833		
	1	3	18.8833		
	2	3		22.2267	
	3	3			26.0333
Sig.			.495	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

## Lampiran 12

## Hasil ANOVA Pengukuran AST

```

NPAR TESTS
  /K-S (NORMAL) =AST
  /STATISTICS DESCRIPTIVES

  /MISSING ANALYSIS.

```

**Npar Tests**

[DataSet0]

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
AST	12	24.5400	2.93744	21.43	29.39

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		AST
N		12
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	24.5400
	Std. Deviation	2.93744
Most Extreme Differences	Absolute	.224
	Positive	.224
	Negative	-.145
Kolmogorov-Smirnov Z		.777
Asymp. Sig. (2-tailed)		.582

a. Test distribution is Normal.

```

ONEWAY AST BY Kelompok
  /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
  /MISSING ANALYSIS

  /POSTHOC=TUKEY BONFERRONI ALPHA(0.05) .

```

**Oneway**

[DataSet0]

### Descriptives

AST								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
0	3	21.8067	.35698	.20610	20.9199	22.6934	21.43	22.14
1	3	22.5167	.24194	.13968	21.9157	23.1177	22.33	22.79
2	3	24.9233	.76055	.43910	23.0340	26.8126	24.05	25.44
3	3	28.9133	.66003	.38107	27.2737	30.5529	28.16	29.39
Total	12	24.5400	2.93744	.84797	22.6736	26.4064	21.43	29.39

### Test of Homogeneity of Variances

AST

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.643	3	8	.121

### ANOVA

AST					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	92.514	3	30.838	102.790	.000
Within Groups	2.400	8	.300		
Total	94.914	11			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable:AST

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	0	1	-.71000	.44722	.436	-2.1422	.7222

	2		-3.11667 <sup>*</sup>	.44722	.001	-4.5488	-1.6845
	3		-7.10667 <sup>*</sup>	.44722	.000	-8.5388	-5.6745
1	0		.71000	.44722	.436	-.7222	2.1422
	2		-2.40667 <sup>*</sup>	.44722	.003	-3.8388	-.9745
	3		-6.39667 <sup>*</sup>	.44722	.000	-7.8288	-4.9645
2	0		3.11667 <sup>*</sup>	.44722	.001	1.6845	4.5488
	1		2.40667 <sup>*</sup>	.44722	.003	.9745	3.8388
	3		-3.99000 <sup>*</sup>	.44722	.000	-5.4222	-2.5578
3	0		7.10667 <sup>*</sup>	.44722	.000	5.6745	8.5388
	1		6.39667 <sup>*</sup>	.44722	.000	4.9645	7.8288
	2		3.99000 <sup>*</sup>	.44722	.000	2.5578	5.4222
Bonferroni	0	1	-.71000	.44722	.906	-2.2658	.8458
		2	-3.11667 <sup>*</sup>	.44722	.001	-4.6725	-1.5608
		3	-7.10667 <sup>*</sup>	.44722	.000	-8.6625	-5.5508
	1	0	.71000	.44722	.906	-.8458	2.2658
		2	-2.40667 <sup>*</sup>	.44722	.004	-3.9625	-.8508
		3	-6.39667 <sup>*</sup>	.44722	.000	-7.9525	-4.8408
	2	0	3.11667 <sup>*</sup>	.44722	.001	1.5608	4.6725
		1	2.40667 <sup>*</sup>	.44722	.004	.8508	3.9625
		3	-3.99000 <sup>*</sup>	.44722	.000	-5.5458	-2.4342
	3	0	7.10667 <sup>*</sup>	.44722	.000	5.5508	8.6625
		1	6.39667 <sup>*</sup>	.44722	.000	4.8408	7.9525
		2	3.99000 <sup>*</sup>	.44722	.000	2.4342	5.5458

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

## Homogeneous Subsets

### AST

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Tukey HSD <sup>a</sup>	0	3	21.8067		
	1	3	22.5167		

2	3		24.9233	
3	3			28.9133
Sig.		.436	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

## Lampiran 13

## Hasil Pemeriksaan Histopatologi Organ



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
**LABORATORIUM PATOLOGI**  
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
 UNIVERSITAS GADJAH MADA

Jl. Fauna, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Tlp. (0274) 9061103, 560862 Fax. 560861

No. : 51/PA/IX/2012

Hal : hasil histopatologi

Kepada

Yth. Ginna Sabrina

Jur. Farmasi, Fakultas MIPA – UII

Yogyakarta

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan hasil histopatologi kulit mencit dg perlakuan sbb.:

No.	Kontrol		Dosis 1		Dosis 2		Dosis 3	
	Hati	Ren	Hati	Ren	Hati	Ren	Hati	Ren
1.	-	R	D,P	D,R	-	-	-	D,R
2.	-	K	D,P	D,R,P	-	K,P	-	-
3.	-	-	P	D,R	P	R	-	KP

Keterangan :

D : degenerasi vacuoler

P : sel radang sekitar p.darah

K : kongesti

R : infiltrasi sel radang

Demikian hasilnya, diucapkan terima kasih atas kerja samanya.

Yogyakarta, 22 Mei 2012

Ketua,

Prof. drh. Kurniasih, MVSc., PhD.

NIP. 19510522 1977032 001