

**UJI TOKSISITAS AKUT
EKSTRAK ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*,
Poir) TERSTANDAR SECARA ORAL PADA MENCIT JANTAN
GALUR DDY**

SKRIPSI



Oleh:

LIPUTRI SARTIKA NINGRUM

08613195

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

**UJI TOKSISITAS AKUT
EKSTRAK ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*,
Poir) TERSTANDAR SECARA ORAL PADA MENCIT
JANTAN GALUR DDY**

SKRIPSI

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



Oleh:

LIPUTRI SARTIKA NINGRUM

08613195

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

SKRIPSI

UJI TOKSISITAS AKUT
EKSTRAK ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*,
Poir) TERSTANDAR SECARA ORAL PADA MENCIT
JANTAN GALUR DDY



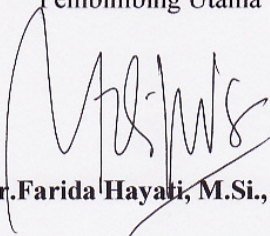
Yang diajukan oleh:

LIPUTRI SARTIKA NINGRUM

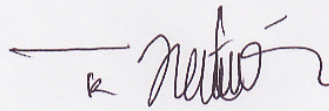
08613195

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama


Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping


Dr. drh. Retno Murwanti, M.P

SKRIPSI

UJI TOKSISITAS AKUT
EKSTRAK ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea
reptans, Poir*) TERSTANDAR SECARA ORAL PADA MENCIT
JANTAN GALUR DDY

Yang diajukan oleh:
LIPUTRI SARTIKA NINGRUM
08613195

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

Tanggal 09 Juni 2012

Ketua Penguji :

Hj. 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 Ananda Ningrum, M.Si, Apt**

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Yandi Syukri, M.Si, Apt

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 09 Juni 2012

Penulis,

Liputri Sartika Ningrum

Karya ini kupersembahkan

Kepada Allah SWT, karena kasih sayang, rahmat dan karunia-Nya skripsi ini dapat terselesaikan. Sujud syukur atas kelancaran dan kemudahan yang diberikan oleh-Nya

Kepada Rasulullah SAW, karena syafaat dari beliau kita berada di Zaman yang seperti ini.

Kedua orang tua saya, Alm. H. Rajuli Syarkawie, MM dan Hj. Endang Tri Rochani, SE yang selalu mengajarkan kegigihan perjuangan hidup serta doa, kasih sayang dan motivasi yang tak henti-henti nya dilimpahkan kepada saya.

Adik-adik tersayang (Ayu Dwi S.N dan Thresna Suci S.N) yang selalu mengajarkan arti indahnyanya berbagi, saling mengisi dan melindungi sesama

Keluarga besar Jambi, Kuala Tungkal, Solo, Jakarta yang selalu memberikan dukungan semangat dan doa kepada saya

Muhamad Ardiansyah selaku orang yang selalu mendampingi saya dalam suka dan duka, yang tak pernah lelah memberikan motivasi dan pelajaran hidup.

Sahabat-sahabat tercinta (Tyas, Ginna, Shifa, Elok, Heny, Idham, Gorby) yang tak pernah lelah memberikan semangat dan bantuan dalam proses penyelesaian skripsi ini.

Teman-teman KKN UII angkatan 42 unit 29, yang selalu mengajarkan kebersamaan hidup

Teman-teman semua yang tak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas semuanya.

TERIMA KASIH

Harapan saya semoga skripsi ini bermanfaat untuk siapapun

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Alhamdulillah Rabbil 'Alamin, segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas limpahan kasih sayang- Nya yang telah memberi karunia, petunjuk dan kemudahan bagi penulis sehingga penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir) TERSTANDAR SECARA ORAL PADA MENCIT JANTAN GALUR DDY** akhirnya dapat diselesaikan oleh penulis.

Adapun maksud penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi syarat kelulusan strata-1 Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dan motivasi yang diberikan oleh berbagai pihak, penulisan skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Yandi Syukri, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan bantuan dan dukungannya selama ini.
2. Bapak M. Hatta Prabowo, M.Si., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
3. Hj.Dr.Farida Hayati, M.Si,Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, saran serta motivasi dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
4. Dr.drh.Retno Murwanti,M.P., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, saran serta motivasi dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Arief Nurrochmad, M.Sc, Apt selaku dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan masukan yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini.

6. Vitarani Dwi Ananda Ningrum M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan masukan yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini.
7. Kedua orangtuaku tercinta dan adek-adekku yang telah mendukung dan mendoakan kelancaran skripsi ini.
8. Seluruh staf laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang baik selama proses penelitian skripsi ini.
9. Staf LPPT, FKH, FK Universitas Gajah Mada, yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang baik selama proses penelitian skripsi ini.
10. Segenap civitas akademik Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang secara tidak langsung telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Berbagai pihak yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penyusun menyadari bahwa penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan tidak terlepas dari kekurangan, oleh karena itu dengan segenap kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dengan segala kekurangannya dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kefarmasian.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.,

Yogyakarta, Juni 2012

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------|
| | hal |
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iv |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | v |
| KATA PENGANTAR | vi |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xi |
| DAFTAR TABEL..... | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xv |
| INTISARI | xvii |
| <i>ABSTRACT</i> | xviii |
| BAB I. PENDAHULUAN..... | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 3 |
| C. Tujuan Penelitian | 3 |
| D. Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB II. STUDI PUSTAKA..... | 4 |
| A. Tinjauan Pustaka..... | 4 |
| 1. Aspek Toksikologi..... | 4 |
| a. Toksikologi..... | 4 |
| b. Uji Toksikologi..... | 5 |
| c. Faktor-faktor yang Berpengaruh pada Uji Toksikologi | 7 |
| d. Uji Ketoksikan Akut..... | 10 |
| 2. Toksikologi Organ Sasaran..... | 15 |
| 3. Kangkung Darat (<i>Ipomoea reptans</i> , Poir)..... | 23 |
| a. Klasifikasi tanaman kangkung | 23 |
| b. Kandungan kangkung..... | 24 |
| c. Khasiat kangkung..... | 24 |

| | |
|--|----|
| 4. Obat Tradisional..... | 24 |
| a. Definisi | 25 |
| b. Klasifikasi Obat Tradisional..... | 25 |
| c. Ketepatan Penggunaan Obat Tradisional | 26 |
| B. Keterangan Empirik | 28 |
| BAB III. METODE PENELITIAN | 29 |
| A. Alat dan Bahan..... | 29 |
| B. Skematis Jalannya Penelitian | 29 |
| 1. Ethical Clearance..... | 29 |
| 2. Determinasi Tanaman Kangkung Darat (<i>Ipomoea reptans</i> , Poir) | 30 |
| 3. Optimasi Dosis Penelitian | 30 |
| 4. Pengelompokkan Hewan Uji..... | 30 |
| 5. Cara Pemeliharaan Hewan | 31 |
| 6. Pembuatan Sediaan Uji | 31 |
| 7. Penetapan Dosis Sediaan dan Cara Pemejanaan..... | 31 |
| 8. Pengamatan Gejala Toksik..... | 32 |
| 9. Pengambilan Organ | 33 |
| 10. Pengamatan Spektrum Efek Toksik | 33 |
| 11. Pengamatan Potensi Ketoksikan Akut (LD ₅₀)..... | 34 |
| C. Analisis Hasil..... | 34 |
| 1. Analisis Hasil Kuantitatif..... | 34 |
| a. Penetapan nilai LD ₅₀ | 34 |
| b. Perubahan berat badan | 34 |
| 2. Analisis Hasil Kualitatif..... | 34 |
| a. Wujud Efek Toksik | 34 |
| b. Spektrum Efek Toksik | 34 |
| D. Skema Penelitian..... | 35 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 36 |
| A. Preparasi Ekstrak Kangkung Darat Terstandar..... | 36 |
| 1. Determinasi Tanaman Kangkung Darat..... | 36 |
| 2. Pengumpulan bahan, Pengeringan,dan Penyerbukan Simplisia | 37 |
| 3. Pembuatan Ekstrak Kangkung Darat | 38 |

| | |
|--|----|
| 4. Standarisasi Ekstrak Kangkung Darat..... | 39 |
| B. Penetapan Dosis dan Pembuatan Larutan Stok..... | 41 |
| C. Potensi Ketoksikan Akut..... | 41 |
| D. Pengamatan Gejala Toksik | 44 |
| E. Kondisi Umum..... | 45 |
| F. Spektrum Efek Toksik | 48 |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN | 61 |
| A. Kesimpulan | 61 |
| B. Saran | 61 |
| DAFTAR PUSTAKA | 62 |
| LAMPIRAN..... | 65 |

DAFTAR GAMBAR

| | Hal |
|--|-----|
| Gambar 1. Gambar kangkung darat dan kangkung air..... | 23 |
| Gambar 2. Skema Penelitian | 35 |
| Gambar 3. Gambar kangkung darat sebelum dan setelah pengeringan . | 37 |
| Gambar 4. Gambar proses maserasi ekstrak kangkung darat..... | 38 |
| Gambar 5. Gambar ekstrak kangkung darat sebelum dan setelah di <i>rotary evaporator</i> | 39 |
| Gambar 6. Larutan stok dosis 1, dosis 2, dosis 3, dosis 4 | 41 |
| Gambar 7. Gambar kondisi makroskopis secara visual, pembengkakan organ usus dan lambung hewan uji oleh infeksi bakteri | 43 |
| Gambar 8. Grafik purata berat badan mencit jantan selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar | 47 |
| Gambar 9. Irisan melintang jaringan lambung mencit jantan yang mengalami radang 24 jam setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 55 |
| Gambar 10. Irisan melintang jaringan lambung mencit jantan normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 55 |
| Gambar 11. Irisan melintang jaringan hati mencit jantan yang mengalami degenerasi melemak 24 jam setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 56 |

| | | |
|------------|--|----|
| Gambar 12. | Irisan melintang jaringan hati mencit jantan normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 56 |
| Gambar 13. | Irisan melintang jaringan paru-paru mencit jantan yang mengalami pneumonia interstitialis 24 jam setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 57 |
| Gambar 14. | Irisan melintang jaringan paru-paru mencit jantan normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 57 |
| Gambar 15. | Irisan melintang jaringan hati mencit jantan yang mengalami nekrosis 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 58 |
| Gambar 16. | Irisan melintang jaringan ginjal mencit jantan yang normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 58 |
| Gambar 17. | Irisan melintang jaringan jantung mencit jantan yang normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 59 |
| Gambar 18. | Irisan melintang jaringan limpa mencit jantan yang yang normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm | 59 |

DAFTAR TABEL

| | Hal |
|---|-----|
| Tabel I. Pemeriksaan fisik dalam uji ketoksikan | 33 |
| Tabel II. Hasil standarisasi ekstrak etanol kangkung darat..... | 40 |
| Tabel III. Tabel jumlah mencit jantan yang mati pada pengamatan selama 24 jam setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal | 42 |
| Tabel IV. Data keadaan hewan uji yang di eksklusikan dalam penelitian | 42 |
| Tabel V. Tabel jumlah mencit jantan yang mati pada pengamatan selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal | 43 |
| Tabel VI. Tabel hasil pemejanaan kualitatif gejala-gejala toksik pada hewan uji selama 24 jam setelah pemejanaan sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 44 |
| Tabel VII. Tabel hasil pemejanaan kualitatif gejala-gejala toksik pada hewan uji selama 15 hari setelah pemejanaan sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 45 |
| Tabel VIII. Tabel rata-rata perubahan berat badan mencit jantan perhari selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal | 46 |
| Tabel IX. Persentase selisih berat badan mencit jantan selama 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 48 |
| Tabel X. Hasil pengamatan makroskopi organ-organ vital mencit jantan 24 jam setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 49 |

| | | |
|-------------|---|----|
| Tabel XI. | Hasil pengamatan makroskopi organ-organ vital mencit jantan 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 49 |
| Tabel XII. | Hasil pemeriksaan histopatologi organ-organ vital mencit jantan pengamatan 24 jam setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 51 |
| Tabel XIII. | Hasil pemeriksaan histopatologi organ-organ vital mencit jantan pengamatan 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 51 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Hal |
|---------------|--|
| Lampiran 1. | Surat Determinasi kangkung darat 65 |
| Lampiran 2. | Surat Keterangan Kelayakan Etik (<i>Ethical Clearance</i>)... 66 |
| Lampiran 3. | Surat Keterangan Pembelian 40 ekor Mencit Jantan galur DDY 67 |
| Lampiran 4. | Perhitungan dosis dan volume pemejanan sediaan ekstrak kangkung darat terstandar pada mencit jantan secara oral dosis tunggal..... 68 |
| Lampiran 5. | Perhitungan hasil rendemen ekstrak kangkung darat (<i>Ipomoea reptans</i> , Poir)..... 70 |
| Lampiran 6.a. | Perhitungan hasil konversi ekstrak kangkung darat dosis tertinggi ke bobot kangkung kering..... 71 |
| Lampiran 6.b. | Perhitungan hasil konversi ekstrak kangkung darat dosis terendah ke bobot kangkung kering 72 |
| Lampiran 6.c. | Konversi dosis tertinggi ekstrak kangkung darat terstandar ke berat kangkung basah yang biasa dikonsumsi manusia..... 73 |
| Lampiran 7.a. | Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok kontrol yang diberi larutan aquadest 10 ml/kgBB selama 15 hari 74 |
| Lampiran 7.b. | Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok dosis 1 yang diberi ekstrak kangkung darat terstandar 480 mg/kgBB secara oral dosis tunggal selama 15 hari..... 75 |
| Lampiran 7.c. | Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok dosis 2 yang diberi ekstrak kangkung darat terstandar 1200 mg/kgBB secara oral dosis tunggal selama 15 hari..... 76 |

| | | |
|----------------|--|----|
| Lampiran 7.d. | Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok dosis 3 yang diberi ekstrak kangkung darat terstandar 3000 mg/kgBB secara oral dosis tunggal selama 15 hari..... | 77 |
| Lampiran 7.e. | Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok dosis 4 yang diberi ekstrak kangkung darat terstandar 7500 mg/kgBB secara oral dosis tunggal selama 15 hari..... | 78 |
| Lampiran 8. | Penimbangan berat badan mencit jantan setelah pemberian sediaan ekstrak kental kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal | 79 |
| Lampiran 9. | Rata-rata perubahan berat badan mencit jantan per hari dan selama 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal | 81 |
| Lampiran 10.a. | Uji distribusi normal dari perubahan berat badan mencit jantan hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal | 83 |
| Lampiran 10.b. | Hasil tes homogeneity of variances dari perubahan berat badan mencit jantan hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 84 |
| Lampiran 10.c. | Hasil analisis varian satu jalan dari perubahan berat badan mencit jantan hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal..... | 85 |
| Lampiran 11. | Hasil Pemeriksaan Histopatologi mencit jantan galur DDY yang diberikan ekstrak kangkung darat terstandar selama 24 jam dan selama 15 hari | 86 |

**UJI TOKSISITAS AKUT
EKSTRAK ETANOLIK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*,
Poir) TERSTANDAR SECARA ORAL PADA MENCIT
JANTAN GALUR DDY**

INTISARI

Pemanfaatan kangkung darat sebagai terapi Diabetes Mellitus telah dibuktikan secara empiris, maupun ilmiah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infusa kangkung darat memiliki aktivitas antihiperglikemia pada mencit galur Swiss jantan yang diinduksikan streptozotisin (STZ). Belum ada kajian secara ilmiah mengenai efek keamanan ekstrak kangkung darat agar dapat memenuhi persyaratan kategori obat herbal terstandar sebagai alternatif pilihan terapi. Salah satu pengujian efek keamanan dari sediaan herbal adalah uji toksisitas akut, yang bertujuan untuk mengetahui potensi ketoksikan akut ekstrak kangkung darat terstandar. Uji toksisitas akut diukur berdasarkan tolak ukur kuantitatif berupa LD₅₀ dan tolak ukur kualitatif berupa wujud efek toksik, serta pengamatan makroskopis dan mikroskopis organ vital dari hewan uji. Penelitian dengan rancangan acak lengkap pola searah dilakukan menggunakan 45 ekor mencit jantan galur DDY yang dibagi dalam 5 kelompok. Satu kelompok sebagai kontrol dan 4 kelompok untuk 4 peringkat dosis. Dosis terendah sebesar 480 mg/kgBB. Dosis tertinggi adalah dosis tertinggi yang secara teknis masih dapat diberikan pada mencit yaitu sebesar 7500 mg/kgBB. Peringkat dosis berturut-turut adalah 480; 1200; 3000; 7500 mg/kgBB, sebagai kontrol diberikan aquadest sebesar 10 ml/kgBB. Pengamatan dilakukan selama 24 jam, sesering mungkin pada saat 6 jam pertama. Apabila tidak ada hewan uji yang mati maka 3 ekor mencit dari tiap kelompok dikorbankan dan 6 ekor mencit lainnya diamati kemungkinan munculnya toksisitas yang tertunda, dalam hal ini sampai hari ke- 15. Berdasarkan data hasil pengamatan secara kuantitatif didapatkan potensi ketoksikan akut (LD₅₀) semu lebih besar 7500 mg/kgBB. Berdasarkan data hasil kualitatif yang berupa pengamatan gejala-gejala klinik dan gambaran histopatologi menunjukkan bahwa sediaan ekstrak kangkung darat terstandar tidak menimbulkan efek toksik pada mencit jantan galur DDY.

Kata kunci : Kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir), toksisitas akut, LD₅₀, mencit jantan galur DDY.

**ACUTE TOXICITY TEST
STANDARDIZED ORAL ADMINISTRATION OF *Ipomoea
reptans*, Poir ETANOLIC EXTRACT ON MALE DDY STRAIN
MICE**

ABSTRACT

Ipomoea reptans, Poir as Diabetes Mellitus therapy has been proven empirically and scientifically. The research result shows that *Ipomoea reptans*, Poir infuse has antihyperglycemic activity on male Swiss strain mice that has been induced streptozotocin (STZ). There is no scientific discourse about the safety effect of *Ipomoea reptans*, Poir to fulfill the requirement of standardized herbal drugs as alternative therapy option. One of safety effect tests of herbal substance is acute toxicity test, to acknowledge the potential acute toxic of standardized *Ipomoea reptans*, Poir extract. Acute toxicity test measured based on quantitative standard of LD₅₀ and qualitative standard of toxic effect form, and macroscopic and microscopic observation on vital organ of the tested animal. Completely randomized design used in this research has tested 45 male DDY strain mice divided in 5 groups. One group as the controlled group and 4 other groups treated by 4 different dosage levels. The lowest dosage is 480 mg/kg of body weight and the highest dosage that can be technically tolerated by the mice is 7500 mg/kg of body weight. The dosage rank is 480; 1200; 3000; 7500 mg/kg of body weight, and as the control, 10 ml/kg of body weight of aquadest used. Observation was conducted in 24 hour, more frequently conducted in the first 6 hour. If no tested animals die, 3 mice of each group would be dismissed and the 6 other mice were observed to see the possibility of delayed toxicity, within 15 days. According to the quantitative observation result, the acute toxic potentials apparent LD₅₀ is higher than 7500 mg/kg of body weight. The qualitative data result by clinical research and histopatology description, it shows that standardized *Ipomoea reptans*, Poir substance does not show toxic effect on male DDY strain mice.

Key words : *Ipomoea reptans*, Poir, acute toxicity, LD₅₀, male DDY strain mice.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penduduk Amerika hampir 18,2 milyar telah mengalami Diabetes Mellitus (DM), namun hanya dua pertiganya yang telah terdiagnosa⁽¹⁾. Menurut survei WHO, Indonesia memiliki urutan ke-4 jumlah penderita DM terbesar dunia, prevalensinya akan terus meningkat dari tahun ke tahun dan diperkirakan pada tahun 2025 akan mencapai 5,4%⁽²⁾.

Secara epidemiologi, hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 diperoleh bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7% dan di daerah pedesaan menduduki ranking keenam yaitu 5,8%⁽³⁾.

Pada dasarnya, penanganan DM dapat dilakukan dengan cara : pengaturan pola makan, olah raga teratur dan penggunaan obat antidiabetika oral. Tetapi obat-obat antidiabetika yang beredar di pasaran selain memiliki efek samping yang cukup besar karena penggunaannya dalam jangka waktu relatif lama, juga memiliki harga yang relatif mahal⁽¹⁰⁾.

Oleh karena itu, masyarakat selalu berupaya untuk mencari alternatif pengobatan lain misalnya pengobatan dengan bahan alam. Selain mudah didapat, harga relatif murah, juga efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat sintetik. Salah satu bahan alam yang secara empiris dapat menurunkan kadar glukosa darah adalah kangkung⁽⁴⁾.

Menurut Kallita *et al*, 2006 kangkung darat memiliki vitamin C yang merupakan antioksidan seluler paling tinggi dibandingkan dengan *Salvinia cuculata*, *Trapa natans*, dan *Lemna minor*. Kandungan antioksidan dan vitamin yang terdapat dalam kangkung dapat melindungi sel terhadap kerusakan reaksi oksigen spesies (ROS) dan resistensi reseptor insulin⁽⁵⁾.

Secara empiris kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai terapi DM. Penelitian terhadap infusa kangkung darat telah dilakukan secara ilmiah menggunakan hewan coba mencit Swiss jantan yang diinduksi STZ dan dapat disimpulkan bahwa infusa kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) memiliki aktivitas antihiperqlikemia pada mencit Swiss jantan yang di induksi STZ⁽⁶⁾.

Standardisasi ekstrak kangkung darat serta pengujian efek keamanan dari kangkung darat merupakan salah satu parameter yang menjadi dasar terbentuknya herbal terstandar sebagai alternatif pilihan terapi pada pasien DM. Standarisasi ekstrak kangkung darat sebelumnya telah dilakukan oleh Djuwarno, 2012 dengan melakukan pengujian secara spesifik (aspek organoleptis, profil kromatografi lapis tipis, dan aspek penetapan kdar marker) dan non spesifik (pengukuran kadar air, pengukuran bobot jenis, pengukuran sisa pelarut etanol, penetapan kadar abu, pengukuran cemaran logam, penetapan cemaran mikroba dan kapang), dari hasil pengujian parameter tersebut telah didapatkan ekstrak kangkung darat yang terstandardisasi⁽³⁴⁾.

Meskipun secara empiris kangkung darat telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk alternatif terapi DM, namun tidak sepenuhnya aman, karena obat tradisional ini merupakan senyawa asing bagi tubuh, sehingga sangatlah penting mengetahui potensi ketoksikannya. Belum ada kajian ilmiah mengenai batas keamanan dari kangkung darat sampai saat ini sehingga peneliti melakukan pengujian batas keamanan kangkung darat tersebut.

Pengujian batas keamanan dari kangkung darat terstandar (*Ipomoea reptans*, Poir) menggunakan uji ketoksikan akut yang bertujuan untuk mengetahui potensi ketoksikan ekstrak kangkung darat melalui uji kualitatif berupa penampakan klinis, morfologis efek toksik senyawa uji dan uji kuantitatif berupa nilai LD₅₀ menggunakan metode analisis probit (kertas grafik probit Miller dan Tainter), dan spektrum efek toksiknya. Dengan diketahuinya potensi ketoksikan akut ekstrak kangkung darat

terstandar ini, maka dapat digunakan untuk menilai batas keamanan atau indeks terapi (LD_{50}/ED_{50}) sediaan ekstrak kangkung darat terstandar (*Ipomoea reptans*, Poir) tersebut.

B. Perumusan Masalah

1. Seberapa besar potensi ketoksikan akut dari pemberian ekstrak kangkung darat terstandar pada mencit jantan galur DDY?
2. Apakah ekstrak kangkung darat terstandar yang diberikan secara oral dosis tunggal pada mencit jantan galur DDY dapat menimbulkan gejala-gejala toksik?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Potensi ketoksikan akut berupa LD_{50} setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar pada mencit jantan galur DDY.
2. Gejala-gejala toksik yang mungkin timbul setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal pada mencit jantan galur DDY.

D. Manfaat Penelitian

Pada penelitian ini diharapkan memperoleh kajian ilmiah tentang keamanan ekstrak kangkung darat terstandar sehingga dapat dilanjutkan menjadi sediaan herbal terstandar yang dapat bermanfaat sebagai alternatif pilihan terapi pengobatan diabetes mellitus.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Aspek Toksikologi

a. Toksikologi

1) Definisi

Toksikologi dapat didefinisikan sebagai kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan sistem biologi lainnya. Selain itu toksikologi juga membahas penilaian kuantitatif tentang berat dan kekerapan efek toksik yang di timbulkan sehubungan dengan terpejannya organisme hidup tadi⁽⁸⁾.

Cakupan toksikologi sangat luas dalam hal menangani penelitian toksisitas bahan-bahan kimia yang digunakan, antara lain (1) dalam bidang kedokteran untuk tujuan diagnostik, pencegahan, terapeutik, (2) dalam bidang industri makanan digunakan sebagai zat tambahan langsung maupun tak langsung, (4) dalam pertanian sebagai pestisida, zat pengatur pertumbuhan, penyerbuk buatan, zat tambahan makanan hewan, (5) dalam industri kimia sebagai pelarut, komponen, bahan antara bagi plastik serta banyak jenis bahan kimia lainnya⁽⁸⁾.

Toksikologi merupakan suatu multidisiplin ilmu, dikarenakan toksikologi memiliki keterkaitan dengan rangkaian dari ilmu antar bidang, meliputi biologi, kimia, biokimia, fisiologi, imunologi, patologi, farmakologi, dan kesehatan masyarakat. Suatu zat yang akan digunakan untuk keperluan terapi pada manusia dan hewan harus diketahui batas aman dari zat kimia tersebut, untuk melakukan penilaian terhadap batas aman terhadap zat kimia tersebut diperlukan pengetahuan farmakologi. Ketika terjadi antar aksi antara zat kimia tersebut dengan sistem biologi pada manusia dan hewan, diperlukan pengetahuan fisika-kimia dan biologi untuk mempelajari mekanisme tingkat molekul dan perwujudan dari pengaruh toksik yang terjadi. Serta diperlukan pengetahuan kesehatan masyarakat

untuk mengetahui dan mengendalikan faktor lingkungan yang menyebabkan kemungkinan terjadinya keracunan dari suatu zat kimia tersebut⁽⁹⁾.

2) Ruang Lingkup

Berdasarkan aplikasinya, ruang lingkup kajian toksikologi secara garis besar dipisahkan menjadi tiga bagian pokok yaitu : toksikologi lingkungan, toksikologi ekonomi, toksikologi kehakiman.

(1) Toksikologi lingkungan adalah cabang toksikologi yang dapat mengetahui mekanisme bagaimana racun menyerang suatu organisme dan menyebabkan timbulnya efek yang tidak dikehendaki serta menguraikan *exposure* dari zat kimia yang pada dasarnya merupakan pencemar lingkungan, makanan, atau air yang tak disengaja terhadap jaringan biologi (khususnya manusia)⁽⁹⁾. Toksikologi lingkungan berhubungan dengan dampak zat kimia yang dihasilkan berpotensi merugikan terhadap organisme hidup/polutan.

(2) Toksikologi ekonomi adalah cabang toksikologi yang membahas dari segi manfaat dan nilai ekonomis dari xenobiotik. Selain itu toksikologi ekonomis menguraikan pengaruh berbahaya zat kimia yang dengan sengaja diberikan pada jaringan biologis (khususnya manusia) dengan maksud untuk mencapai pengaruh atau efek khas (misal obat, zat tambahan, dan pestisida).

(3) Toksikologi kehakiman adalah cabang toksikologi yang membahas pengaruh zat kimia yang berbahaya terhadap manusia dilihat dari aspek hukum dan medisnya⁽⁹⁾.

Namun tidak dapat dilepaskan bahwa toksikologi merupakan disiplin ilmu antar bidang yang sangat berkaitan dan tidak dapat dipisahkan satu sama lain.

b. Uji Toksikologi

Dilakukannya suatu uji toksisitas adalah untuk memaparkan adanya efek toksik yang terjadi serta untuk meneliti batas keamanan dengan menggunakan cara kuantitatif untuk mendapatkan tingkat keamanan dari zat tersebut⁽¹³⁾. Uji toksikologi dapat dibagi menjadi dua golongan yakni uji ketoksikan tak khas dan uji ketoksikan khas. Uji toksikologi yang memiliki sifat lebih luas dan umum karena dirancang untuk mengevaluasi dan

mengetahui keseluruhan atau spektrum efek toksik suatu senyawa pada hewan uji merupakan jenis dari uji ketoksikan tak khas, yang mana dalam jenis uji ketoksikan tak khas ini meliputi uji ketoksikan akut, uji ketoksikan subkronis, dan uji ketoksikan kronis⁽⁹⁾. Perbedaan mendasar dari ketiga jenis uji ketoksikan ini adalah jumlah pemberian senyawa uji serta lamanya durasi waktu pemberian.

- 1) Uji ketoksikan akut yaitu, uji ketoksikan yang cara pemberian senyawa ujinya hanya sekali dosis tunggal dan pengamatan potensi ketoksikan sangat singkat yaitu selama 24 jam setelah pemberian senyawa uji. Tujuan dari uji ketoksikan akut ini adalah untuk menentukan potensi ketoksikan sebagai akibat pemberian suatu senyawa kimia dan untuk menentukan peringkat letalitas senyawa tersebut⁽¹¹⁾.
- 2) Uji ketoksikan subkronis yaitu, uji ketoksikan yang bertujuan untuk mengungkapkan spektrum efek toksik senyawa uji, dan memperlihatkan apakah terdapat hubungan antara spektrum efek toksik yang dihasilkan dengan takaran dosis yang diberikan dalam jangka waktu 1-3 bulan. Cara pemberian senyawa uji pada uji toksisitas subkronis dilakukan secara berulang-ulang biasanya sekali sehari atau lima kali seminggu dalam jangka waktu tiga sampai empat bulan⁽¹¹⁾ atau selama jangka waktu $\pm 10\%$ dari masa hidup hewan.
- 3) Uji ketoksikan kronis, yaitu uji ketoksikan yang pada dasarnya serupa dengan uji ketoksikan subkronis hanya saja durasi pemejanan takaran dosis senyawa uji dan masa pengamatan serta pemeriksaannya mempunyai waktu lebih lama dibandingkan uji toksisitas subkronis⁽¹¹⁾. Uji toksisitas kronik dilakukan dengan memberikan zat kimia berulang-ulang selama masa hidup atau sebagian besar masa hidup hewan.

Uji ketoksikan khas bersifat lebih spesifik karena uji tersebut dirancang untuk mengevaluasi efek yang khas dari suatu senyawa kimia secara lebih rinci pada aneka ragam jenis hewan uji. Uji ketoksikan khas meliputi uji potensiasi, keteratogenikan, kemutagenikkan, reproduksi, kulit, mata, dan perilaku⁽¹¹⁾.

- 1) Uji potensiasi ditujukan untuk mengevaluasi suatu senyawa kimia memiliki pengaruh yang memungkinkan senyawa tersebut dapat meningkatkan efek dari senyawa kimia yang lain.
- 2) Uji keteratogenikkan, adalah uji ketoksikan yang ditujukan untuk mengevaluasi efek dari suatu senyawa yang menyebabkan teratogenik terhadap janin (fetus) pada hewan bunting.
- 3) Uji reproduksi, adalah uji ketoksikan yang ditujukan untuk mengevaluasi efek sesuatu senyawa atas kemampuan reproduksi hewan uji.
- 4) Uji kemutagenikkan, yaitu uji yang ditujukan untuk mengevaluasi efek mutagen yang dihasilkan dari sesuatu senyawa pada sistem kode genetik hewan uji.
- 5) Uji perilaku, adalah uji yang ditujukan untuk menentukan efek sesuatu senyawa atas berbagai macam pola tingkah laku setelah dilakukan pemejanaan senyawa uji pada hewan uji.

c. Faktor-faktor yang Berpengaruh pada Hasil Uji Toksikologi

Tujuan dari dilakukan uji toksikologi adalah untuk memperoleh data atau informasi tentang tingkat keamanan bahan uji pada manusia secara tidak langsung dengan menggunakan hewan uji sebagai subyek penelitian.

Dalam suatu penelitian atau uji toksikologik selalu diusahakan agar keadaan keracunan yang terjadi pada manusia dapat ditiru. Untuk itu, keadaan yang dibuat pada penelitian sedapat mungkin mendekati keadaan yang sebenarnya⁽³³⁾. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil uji toksisitas yaitu:

1. Faktor Bahan Uji

Bahan uji sebaiknya mempunyai sifat dan ciri yang sama dengan bahan yang dicurigai atau dikhawatirkan dapat menyebabkan keracunan pada manusia⁽³³⁾.

a. Sifat fisikokimia

Sifat fisikokimia bahan uji mempengaruhi absorpsi, distribusi, dan eliminasi bahan uji, selain itu dapat mempengaruhi kemampuan suatu

bahan dalam menimbulkan efek toksik. Stabilitas bahan uji juga dapat menimbulkan ketoksikan pada keadaan tertentu⁽³³⁾.

b. Kemurnian bahan uji

Dalam kenyataan sehari-hari, suatu bahan dapat bersifat toksik jika diberikan sebagai senyawa murni dan tidak toksik jika berada sebagai ikatan atau campuran. Untuk memperoleh hasil yang sesuai dengan keadaan keracunan pada manusia, maka bahan uji yang diberikan kedalam tubuh harus disesuaikan dalam keadaan sehari-hari⁽³³⁾.

c. Bentuk sediaan bahan uji

Bentuk sediaan dapat mempengaruhi timbulnya suatu efek toksik yang dapat diamati pada suatu uji atau penelitian toksikologi. Kecepatan absorpsi, distribusi, disposisi dan eliminasi bahan uji ditentukan oleh kemampuan bahan uji melewati membran yang kemampuan tersebut ditentukan oleh bentuk sediaan⁽³³⁾.

d. Dosis bahan Uji

Secara umum dosis bahan uji dibawah nilai ambang toksik tidak dapat menimbulkan gejala toksik. Meskipun bahan-bahan tertentu dapat menimbulkan efek toksik tanpa tergantung pada dosis. Penentuan dosis harus dikaitkan pada dosis yang digunakan pada manusia dengan mengingat volume maksimal yang secara teknis dapat diberikan. Hal ini dapat dilakukan dengan mengkonversikan dosis pada manusia kepada hewan uji dengan cara yang dianjurkan, sehingga dosis tersebut setara dengan dosis pada manusia⁽³³⁾.

2. Faktor Hewan Uji

Pada dasarnya, terdapat perbedaan dalam tanggapan tubuh terhadap bahan (kimia) antara manusia dengan hewan uji. Di antara jenis-jenis hewan uji sendiri atau bahkan di antara hewan dalam satu jenis pun sangat bersifat individual terhadap respon bahan kimia yang masuk ke dalam tubuh. Perbedaan itu dapat terjadi karena ada perbedaan dalam hal absorpsi, distribusi, disposisi, biotransformasi, dan ekskresinya⁽³³⁾. Beberapa faktor hewan uji yang dapat mempengaruhi hasil uji toksisitas yaitu :

- a. Jenis dan galur
Dalam suatu penelitian toksikologi dianjurkan menggunakan hewan uji dari satu galur yang sama. Namun demikian, meskipun berada dalam satu galur yang sama, masih ada variasi biologik yang bersifat individual. Untuk menghindari ketidakseragaman hasil karena faktor ini, jumlah hewan uji perlu diperbanyak hingga memenuhi syarat statistik⁽³³⁾.
- b. Umur hewan uji
Perbedaan umur dalam keadaan tertentu dapat menyebabkan perbedaan fisiologik, misalnya kemampuannya dalam absorpsi, biotransformasi, dan eliminasi, sehingga perbedaan umur dapat juga menyebabkan perbedaan efek toksik. Umur juga dapat berpengaruh terhadap ketersediaan hormon tertentu yang dapat berpengaruh pada hasil uji toksikologi⁽³³⁾.
- c. Jenis kelamin
Perbedaan jenis kelamin dapat mempengaruhi perbedaan dalam parameter fisiologik, misalnya komposisi hormon tertentu sehingga dapat menyebabkan hasil yang berbeda. Oleh karena itu untuk menghilangkan faktor perbedaan itu dianjurkan untuk menggunakan hewan uji dari 2 jenis kelamin yang memenuhi syarat statistika⁽³³⁾.
- d. Berat badan
Berat badan yang tidak sama pada umur yang sama umumnya menunjukkan perbedaan dalam status kesehatan hewan uji. Oleh karena itu dianjurkan untuk menggunakan hewan uji yang mempunyai berat badan dan umur hampir sama⁽³³⁾.
- e. Status kesehatan
Adanya penyakit dalam hewan uji dapat menyebabkan hasil uji tidak dapat dipercaya, karena syarat utama dalam menggunakan hewan uji ialah sehat. Pemeliharaan hewan uji harus diperhatikan. Disamping lingkungan yang sehat, makanan yang memenuhi syarat merupakan faktor penting yang harus diperhatikan⁽³³⁾.

d. Uji Ketoksikan Akut

1) Definisi

Uji ketoksikan akut merupakan salah satu bagian dari uji ketoksikan tak khas. Uji ketoksikan akut dapat didefinisikan sebagai uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan atau dipejankan dengan dosis tunggal pada hewan uji tertentu dan pengamatannya dilakukan selama 24 jam⁽⁹⁾. Pada kasus tertentu pengamatannya dilakukan selama 7-14 hari⁽¹²⁾. Uji ini dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam masa yang singkat setelah pemejanaan dengan dosis tertentu⁽¹¹⁾. Uji ketoksikan akut senyawa yang diberikan dapat diabsorpsi dengan cepat sehingga menghasilkan efek toksik segera tetapi dapat juga menghasilkan efek yang tertunda⁽⁷⁾. Uji ini dikerjakan dengan cara memberikan dosis tunggal senyawa uji pada hewan uji. Takaran dosis yang dianjurkan paling tidak empat peringkat dosis, berkisar dari dosis terendah yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji sampai dengan dosis tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji⁽¹¹⁾.

2) Prinsip Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam waktu yang singkat setelah pemejanaan atau pemberiannya dengan takaran tertentu. Takaran dosis yang dianjurkan paling tidak empat peringkat dosis, berkisar dari dosis terendah yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji sampai dengan dosis tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji. Biasanya pengamatan dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus tertentu selama 7-14 hari untuk melihat efek toksik yang tertunda. Pengamatan tersebut meliputi: gejala-gejala klinis seperti nafsu makan, bobot badan, keadaan mata dan bulu, tingkah laku, jumlah hewan yang mati, serta histopatologi organ⁽⁹⁾. Hasil dari pengujian toksisitas dapat dipengaruhi oleh kondisi hewan uji, sehingga sebelum dilakukan pengujian, hewan uji harus dilakukan standarisasi⁽²¹⁾. Kondisi hewan uji perlu diperhatikan berupa pola makan, minum, status puasa, keadaan lingkungan penelitian, usia, dan berat badan. Jenis hewan uji yang dapat dilakukan untuk uji toksisitas akut

minimal pada dua jenis hewan uji roden dan nirroden, jantan maupun betina⁽¹¹⁾. Hewan uji yang biasa digunakan untuk uji toksisitas biasanya mencit galur Swiss, mencit galur NMRI, mencit galur DDY, tikus galur Wistar, tikus galur Sprague Dawley, kelinci Himalaya, kelinci putih New Zealand, monyet *Cynomolgus*, monyet Rhesus.

Cara pemberian senyawa uji terhadap hewan uji dilakukan melalui jalur yang memungkinkan manusia terpejani dengan senyawa tersebut. Pilihan cara pemejanaan bisa melalui oral, intramuscular, dan intravena. Data kuantitatif yang didapatkan dari pengujian toksisitas akut adalah berupa nilai LD₅₀, data tersebut digunakan untuk mengetahui potensi ketoksikan senyawa relatif terhadap senyawa lain. Selain itu, dapat digunakan untuk memperkirakan takaran dosis uji toksikologi lainnya⁽¹¹⁾.

3) Tujuan

Tujuan uji ketoksikan akut adalah untuk menentukan peringkat dosis letal suatu senyawa, yaitu kisaran dosis toksik/letal yang diberikan pada satu jenis hewan uji atau lebih, diperoleh gambaran kerugian yang terjadi akibat peningkatan dosis tunggal, dan untuk mengetahui mekanisme yang memerantarai terjadinya kematian hewan uji⁽⁹⁾. Uji ini juga dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam masa waktu yang singkat setelah pemejanaan atau pemberiannya dengan takaran tertentu⁽¹¹⁾.

4) Kriteria LD₅₀

LD₅₀ dapat dihubungkan dengan Efektif Dosis 50 (ED₅₀) yaitu dosis yang secara terapeutik efektif terhadap 50 % dari sekelompok hewan uji. Hubungan tersebut dapat berupa perbandingan antara LD₅₀ (dosis yang menimbulkan efek letal) dengan ED₅₀ (dosis yang menimbulkan efek yang diharapkan) dan disebut Indeks Terapeutik (IT), yaitu perbandingan antara dosis obat yang memberikan efek terapi yang samar dengan dosis obat yang menyebabkan efek toksik yang nyata dan merupakan angka yang menyatakan batas keamanan suatu obat. Makin besar indeks terapeutik suatu obat makin aman obat tersebut⁽⁹⁾. Nilai LD₅₀ digunakan sebagai tolok ukur kuantitatif dalam uji ketoksikan akut, selain itu nilai LD₅₀ yang diperoleh

dapat digunakan untuk mengklasifikasikan potensi ketoksikan suatu senyawa kimia berdasarkan toksisitas relatifnya, mengevaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja pada hewan uji, memberikan informasi tentang mekanisme ketoksikan yang terjadi, faktor-faktor yang mempengaruhi ketoksikan, serta perubahan fisik yang mempengaruhi bioavailabilitas⁽⁹⁾. Tingkat keracunan senyawa kimia atau obat berdasarkan nilai LD₅₀ dan klasifikasi toksisitas akut digolongkan berdasarkan kriteria derajat toksisitas menurut Lu 1995 sebagai berikut :

- Super toksik, bila 5 mg/kgBB atau kurang
- Amat sangat toksik 5 - 50 mg/kgBB
- Sangat toksik 50 – 500 mg/kgBB
- Toksik sedang 500 – 5000 mg/kgBB
- Toksik ringan 5000 – 15000 mg/kgBB
- Praktis tidak toksik > 15000 mg/kgBB⁽⁸⁾.

5) Tolok ukur

Penentuan harga LD₅₀ dapat diperoleh dengan berbagai macam metode, diantaranya adalah metode yang paling sering digunakan adalah metode grafik Lithfield dan Wilcoxon, kertas grafik probit logaritma Miller dan Tainter, dan tata cara menemukan kisaran dosis dari Weil⁽⁹⁾. Pada dasarnya ketiga metode ini didasarkan pada kekerabatan antara peringkat dosis dan persen hewan yang menunjukkan respon, namun tiap-tiap cara memiliki keuntungan dan kelemahan. Untuk data yang berasal dari uji ketoksikan akut yang menggunakan hewan uji rodent dengan frekuensi distribusi normal, metode perhitungan berasal dari analisis probit (metode kertas grafik Miller dan Tainter). Metode ini sering digunakan untuk menghitung dosis yang dapat mempengaruhi 50% hewan uji. Metode Miller dan Tainter merupakan prosedur yang paling praktis, representatif, dan mudah untuk menentukan harga LD₅₀ dan memperkirakan kesalahan baku⁽¹²⁾.

Dalam uji ketoksikan akut, ada dua parameter utama yang digunakan sebagai tolok ukur, yakni kualitatif dan kuantitatif. Tolok ukur kualitatif dilihat berdasarkan wujud efek toksik yang diperoleh dari data gejala-gejala

toksik yang tampak pada kulit, mata, dan fungsi vital dari hewan uji serta dilihat pula dari spektrum efek toksik dari data hasil pemeriksaan histopatologi. Tolok ukur kuantitatif diperoleh dari penetapan nilai LD₅₀ menggunakan data perhitungan statistik LD₅₀ serta perubahan berat badan yang menggunakan data statistik *one way* ANOVA dan uji Tukey HSD⁽¹³⁾.

6) Kondisi efek toksik

Kondisi efek toksik adalah berbagai keadaan atau faktor yang dapat mempengaruhi keefektifan absorpsi, distribusi, dan eliminasi zat kimia didalam tubuh, sehingga akan menentukan keberadaan zat kimia utuh atau metabolitnya dalam sel sasaran serta toksisitasnya, atau keefektifan antar aksinya dengan sel sasaran⁽¹¹⁾. Faktor tersebut meliputi kondisi paparan zat kimia berupa jalur paparan, lama waktu paparan, jenis paparan, dosis paparan, saat paparan atau kondisi subyek (mahluk hidup) yang meliputi keadaan fisiologi (umur, berat badan, suhu tubuh, kecepatan aliran darah, kecepatan waktu pengosongan lambung) dan keadaan patologi (penyakit kardiovaskular, hati, saluran cerna). Kondisi-kondisi tersebut mempengaruhi ketersediaan biologi zat kimia di sel sasaran, sehingga menentukan toksisitasnya.

7) Mekanisme efek toksik

Keberadaan zat kimia dalam tubuh setelah mengalami proses absorpsi, distribusi, serta eliminasi, menimbulkan efek toksik berdasarkan atas sifat dan tempat kejadiannya melalui dua cara yaitu mekanisme luka intrasel/toksik intrasel dan mekanisme luka ekstrasel/toksik ekstrasel⁽⁹⁾.

Mekanisme luka intrasel/toksik intrasel bersifat langsung karena zat kimia langsung masuk pada sel sasaran dan menyebabkan gangguan sel melalui cara pendesakan, ikatan kovalen, substitusi, dan peroksidasi, sehingga dapat diartikan mekanisme luka intrasel adalah mekanisme yang diawali oleh aksi tertentu dalam sel sasaran atau toksisitas yang diawali dengan interaksi secara langsung antara zat kimia atau metabolitnya dengan reseptornya. Sebelum terjadi efek yang tidak diinginkan akibat mekanisme luka intrasel, pertama kali tubuh memberikan kompensasi atau homeostatis yang responnya berupa aksi perbaikan atau adaptasi. Namun bila mekanisme

tubuh tidak mampu lagi menanggulangi, maka timbullah respon toksik yang pada dasarnya berwujud sebagai perubahan atau kekacauan biokimia, fungsional, atau struktural. Mekanisme luka ekstrasel/toksik ekstrasel bersifat tidak langsung menuju sel sasaran, tetapi mempengaruhi lingkungan sekitar sel sasaran yang efeknya dapat mempengaruhi perubahan struktur dan fungsi sel sasaran⁽¹¹⁾, dikarenakan kelangsungan hidup dari sel bergantung pada faktor lingkungan ekstrasel untuk memenuhi kebutuhan metabolik basal dan pengaturan aktifitas sel⁽¹¹⁾.

8) Wujud efek toksik

Wujud efek toksik seringkali merupakan campuran dikarenakan pada prosesnya terdapat keterkaitan antara satu dan lainnya, walaupun pada dasarnya perubahan yang terjadi dapat berupa perubahan biokimia, fungsional dan struktural. Penghambatan respirasi seluler, perubahan keseimbangan cairan elektrolit dalam tubuh, dan gangguan pasok energi dapat dikategorikan pada jenis efek toksik yang didasarkan pada perubahan biokimiawi. Jenis efek toksik yang dapat mempengaruhi fungsi homeostasis tertentu yang berkaitan dengan antaraksi racun yang terbalikkan dengan reseptor atau tempat aktif enzim dengan gambaran klinis yang terdeteksi berupa anoksia, gangguan pernafasan, gangguan sistem saraf pusat, hipertensi atau hipotensi, perubahan kontraksi atau relaksasi otot dapat dikategorikan jenis efek toksik yang didasarkan pada perubahan fungsional. Jenis efek toksik yang terwujud sebagai kekacauan struktural yang termasuk didalamnya adalah degenerasi lemak, nekrosis, karsinogenesis, mutagenesis, dan teratogenesis dapat dikategorikan jenis efek toksik yang didasarkan pada perubahan morfologi sel⁽¹¹⁾.

9) Sifat efek toksik

Sifat efek toksik yang terjadi pada dasarnya dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu terbalikkan dan tak terbalikkan. Pada masing-masing jenis sifat efek toksik memiliki karakteristik atau ciri khas yang berbeda. Ciri khas dari sifat efek toksik terbalikkan meliputi : (1) efek toksik yang telah ditimbulkan dapat dengan cepat kembali menjadi normal, (2) reseptor yang terpapar racun akan dapat kembali ke kedudukan semula, bila kadar racun yang ada

dalam tempat aksi atau reseptor tertentu telah habis, (3) takaran racun, kecepatan absorpsi, distribusi dan eliminasi racunnya sangat mempengaruhi ketoksikan racun yang terjadi. Sedangkan ciri khas dari sifat efek toksik yang bersifat tak terbalikkan meliputi : (1) kerusakan yang terjadi sifatnya menetap dan tidak dapat terbalikkan, (2) sifat toksik yang akan ditimbulkan pada pemejanan racun berikutnya memberikan kerusakan yang sifatnya sama sehingga justru memungkinkan terjadinya penumpukan efek toksik, dan (3) efek toksik yang selektif dapat ditimbulkan oleh pemejanan dengan takaran yang sangat kecil dalam jangka panjang dibandingkan dengan pemejanan racun pada takaran besar dalam jangka pendek⁽¹¹⁾.

10) Pengamatan dan Evaluasi Uji Toksisitas Akut

Pengamatan dilakukan pada semua hewan yang digunakan saat penelitian setelah 14 hari mendapat perlakuan. Pola perkembangan berat badan, konsumsi makanan dan minuman harus dicatat pada interval mingguan saat perlakuan. Analisa urin, tinja, fungsi kardiovaskular, parameter hematologi, respirasi, dan fungsi motorik maupun fungsi sensorik. Selain itu, dilakukan uji makroskopik secara histologis pada jaringan untuk menunjukkan dan menganalisa perubahan yang terlihat pada jaringan serta gejala keracunan yang mungkin timbul saat setelah perlakuan⁽²¹⁾.

2. Toksikologi Organ Sasaran

Organ yang mengalami toksik karena suatu senyawa kimia, pada umumnya tidak diketahui dengan jelas penyebabnya, hanya saja mekanisme yang paling mungkin bagaimana suatu toksikan mempengaruhi organ tertentu telah diketahui. Mekanisme yang umum mendasari adalah kepekaan suatu organ, seperti pada neuron dan otot jantung yang sangat dipengaruhi oleh keberadaan ATP yang dihasilkan oleh oksidasi mitokondria, kapasitasnya dalam metabolisme anaerobik juga kecil, dan ion bergerak dengan cepat melalui membran sel sehingga jaringan itu sangat peka terhadap kekurangan oksigen yang timbul karena gangguan sistem pembuluh darah atau hemoglobin. Mekanisme lain yang mendasari adalah lebih tingginya kadar bahan kimia atau metabolitnya di organ sasaran. Selain itu, dapat juga dipengaruhi oleh penyebaran seperti pada kulit dan saluran

nafas yang merupakan tempat peyerapan udara dari luar serta tempat metabolisme dan ekskresi yang tinggi sehingga lebih peka terkena toksikan. Mekanisme yang lain meliputi ambilan selektif dari organ, biotransformasi yang mana akibat bioaktivasi yang terjadi dapat membentuk metabolit yang reaktif sehingga menyebabkan sel-sel di dekatnya menjadi lebih rentan⁽⁸⁾.

a. Jantung

Sistem kardiovaskular terdiri dari dua bagian : jantung dan pembuluh darah. Sistem kardiovaskular mempunyai 3 fungsi dasar, yakni meliputi (1) transpor oksigen dan nutrisi ke dalam sel, (2) membawa sisa hasil metabolisme, dan (3) menghantar substansi lain misal hormon dari satu tempat ke tempat lain⁽¹⁹⁾. Meskipun jantung bukan organ sasaran biasa, organ ini dapat dirusak oleh berbagai jenis zat kimia. Zat itu bekerja secara langsung pada otot jantung atau secara tak langsung melalui susunan syaraf atau pembuluh darah. Sistem pembuluh darah terdiri dari : arteri, arteriol, kapiler, venula, dan vena. Suatu toksikan dapat mempengaruhi salah satu dari pembuluh ini, bahaya efeknya bergantung pada berapa vitalnya peran organ yang dipasok oleh pembuluh darah yang terkena⁽⁸⁾. Mekanisme yang memungkinkan dipengaruhi toksikan adalah penggunaan energi dan pergerakan ion kalsium intrasel. Contoh efek-efek toksik yang sering terjadi pada jantung berupa gangguan pada sintesa asam nukleat, aritmia, depresi miokardium, akumulasi butiran lipid pada otot jantung, dll⁽⁸⁾.

Jantung terdiri dari beberapa lapisan. Lapisan yang paling dalam yang disebut endokardium, kemudian lapisan tengah yang disebut miokardium serta lapisan luar yang disebut perikardium. Sel-sel miokardium yang terdapat pada jantung masing-masing berukuran sekitar 15 x 80 μm . Kontraksi dari miokardium melibatkan pembebasan energi dari metabolisme oksidatif, penyimpanan energi oleh adenosine trifosfat dan kreatin fosfat, serta penggunaan energi oleh protein kontraktil⁽⁸⁾.

Kinerja jantung diperoleh oleh berbagai hal, diantaranya karena pemakaian obat-obat anestesi dan obat-obat lain. Obat-obat tertentu pada pemakaian sehari dapat menimbulkan efek pada sistem kardiovaskular dengan berbagai cara, antara lain mengganggu secara langsung atau tidak

langsung terhadap kontraktilitas/inotropik, menimbulkan aritmia sehingga terjadi bradikardi berat, takikardi berat, aktivasi atrial dan kontraksi yang tidak sinkron, hilangnya aktivasi atrial/kontraksi, aktivasi aberrant yang dapat menyebabkan gangguan waktu kontraksi, aktivitas irregular ventrikel, atau berupa kombinasi dari hal-hal tersebut di atas, gangguan atau perubahan *preload* dan *afterload*⁽¹⁹⁾.

b. Ginjal

Ginjal merupakan organ sasaran utama dari efek toksik jika dibandingkan dengan organ lain, dikarenakan semua senyawa kimia yang masuk ke dalam tubuh sebagian besar di ekskresikan melalui ginjal. Toksikan yang dihasilkan dari senyawa kimia diekskresikan melalui ginjal⁽⁸⁾. Dikarenakan ginjal merupakan jalur ekskresi terbesar dari bermacam zat xenobiotik dan metabolitnya, sehingga kerusakan ginjal yang disebabkan efek toksik menyebabkan fungsi ekskresi dan metabolik ginjal dan sangat mempengaruhi kerusakan organ lainnya karena penyakit yang terjadi di ginjal dapat juga mempengaruhi manifestasi toksik berbagai zat kimia⁽⁸⁾.

Nefron adalah struktur yang menonjol dan memiliki peranan lebih banyak di ginjal. Efek toksikan secara potensial dapat merusak semua bagian nefron, yang mana tingkat kerusakannya sangat beragam sesuai dengan berat ketoksikan yang dihasilkan. Efek toksik yang muncul bermacam-macam, dalam kategori ringan berupa perubahan biokimia atau perubahan fungsi ginjal ringan dan dalam kategori berat berupa nekrosis di ginjal atau gagal ginjal⁽⁸⁾. Telah banyak dilaporkan kelainan pada sistem saluran kemih akibat penggunaan obat. Diperoleh data sebesar 2-15%, adanya gagal ginjal karena obat dan zat kimia. Kerusakan ginjal atau organ lain dalam sistem saluran kemih dapat dicegah atau diketahui lebih dini dengan memantau fungsi ginjal secara teratur pada setiap penggunaan obat yang mempunyai potensi tinggi untuk menimbulkan kerusakan pada ginjal⁽¹⁴⁾.

Gambaran klinis dari efek toksik karena pengaruh penggunaan obat-obatan yang menonjol pada gagal ginjal karena pengaruh berupa oliguria sampai anuria dalam beberapa jam sampai beberapa hari setelah terjadinya

kegagalan sirkulasi atau masuknya obat nefrotoksik kedalam tubuh. Kerusakan vaskuler, penyumbatan pada saluran kemih dan uremia prerenal merupakan mekanisme yang memungkinkan terjadinya kerusakan organ pada sistem saluran kemih karena penggunaan obat⁽¹⁴⁾.

Dalam menilai efek ginjal suatu toksikan, sebaiknya dipertimbangkan beberapa faktor diluar ginjal yang mungkin mempengaruhi volume darah atau tekanan darah, karena beberapa faktor tersebut dapat merusak fungsi ginjal secara tidak langsung. Selain itu, penyakit ginjal, seperti penyakit ginjal yang berkaitan dengan usia, lebih banyak ditemukan dan harus dipertimbangkan⁽⁸⁾.

c. Hati

Hati adalah organ pemetabolisme terbesar untuk semua senyawa xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh melalui jalur gastrointestinal. Semua zat yang masuk melalui gastrointestinal, akan melalui proses penyerapan menuju ke pembuluh darah. Zat yang bersifat lebih toksikan, oleh vena porta hati akan dibawa ke hati untuk di metabolisme menjadi zat yang kurang toksik sehingga lebih mudah diekskresikan, karena pada hati terdapat banyak terdapat enzim pemetabolisme yang salah satunya adalah sitokrom P-450. Dikarenakan fungsi hati sebagai pemetabolisme dan detoksifikasi zat makanan, obat dan toksikan sangat besar, sehingga hati merupakan organ sasaran dari efek toksik oleh senyawa-senyawa tertentu yang justru menjadi lebih aktif setelah melewati proses metabolisme di hati⁽⁸⁾.

Toksikologi hati dipersulit oleh berbagai kerusakan hati dan berbagai mekanisme yang menyebabkan kerusakan itu. Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel dalam sel hati, mengakibatkan berbagai jenis kerusakan hati⁽⁸⁾. Obat dapat menimbulkan kerusakan hati melalui berbagai cara, baik yang dapat diperkirakan dan bergantung dosis diacu sebagai hepatotoksik-intrinsik, prosesnya dikenal sebagai toksisitas-intrinsik dan aksinya dapat terjadi secara langsung atau tidak langsung, maupun yang tidak dapat diperkirakan dan tak bergantung dosis terjadi bilamana kerentanan individu terhadap obat lebih penting daripada toksisitas obatnya. Kejadian ini terjadi karena reaksi

hipersensitivitas yang diperantarai oleh mekanisme alergi atau karena keabnormalan metabolik menuju penumpukan metabolit toksik⁽¹¹⁾.

Kerusakan hati yang disebabkan oleh obat dapat berwujud kerusakan hati yang akut (meliputi jenis luka sitotoksik seperti nekrosis atau *steatosis*, luka kholestatik yang menggambarkan terjadinya penahanan aliran empedu terdiri dari luka yang terwujud sebagai respon radang dan yang tanpa respon radang, dan campuran dari luka sitotoksik dan luka *kholestatik*) dan kerusakan hati kronis seperti sirosis, hepatitis aktif kronis, nekrosis hepatik subakut, *steatosis*, hepatitis peliosis, tumor hepatik, dan fosfolipidosis⁽¹¹⁾.

1) Perlemakan hati (*Steatosis*)

Perlemakan hati (*Steatosis*) yaitu hati yang mengandung berat lipid lebih dari 5 %. Meskipun berbagai toksikan itu akhirnya menyebabkan penimbunan lipid dalam hati, mekanisme yang mendasarinya beragam. Mungkin mekanisme yang paling umum adalah rusaknya pelepasan trigliserid ke plasma⁽⁸⁾.

2) Nekrosis

Nekrosis hati adalah kematian hepatosit. Nekrosis dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) atau massif. Biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Nekrosis hati merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis karena hati mempunyai kapasitas pertumbuhan kembali yang luar biasa. Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma. Tidak ada perubahan ultra struktural membran yang dapat dideteksi sebelum pecah. Namun ada beberapa perubahan morfologik awal yang mendahului kematian sel berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma, dan disagregasi polisom⁽⁸⁾.

3) Kolestatik

Jenis kerusakan hati yang biasanya bersifat akut ini, lebih jarang ditemukan dibandingkan dengan perlemakan hati dan nekrosis. Berkurangnya aktivitas ekskresi empedu pada membrane kanalikulus tampaknya merupakan mekanisme utama kolestatik⁽⁸⁾.

4) Sirosis

Sirosis ditandai oleh adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian besar hati. Kumpulan hepatosit muncul sebagai nodul yang dipisahkan oleh lapisan berserat ini. Sirosis berasal dari nekrosis sel tunggal karena kurangnya mekanisme perbaikan⁽⁸⁾.

Beberapa kerusakan hati yang diuraikan diatas, yaitu nekrosis, steatosis, dan sirosis, punya beberapa cirri umum : (a) Kerusakan ini secara relatif dengan mudah dihasilkan pada hewan coba. (b) Banyak toksikan dapat menyebabkan beberapa jenis kerusakan semacam itu⁽⁸⁾.

d. Lambung

Sistem gastrointestinal merupakan pintu gerbang masuknya semua zat makanan, cairan obat dan toksikan ke dalam tubuh. Lambung dan duodenum adalah salah satu dari organ pada sistem pencernaan yang merupakan tempat zat-zat tersebut diubah menjadi unit-yang dapat diserap oleh saluran cerna. Lambung sering mengalami efek samping obat, khususnya obat antinyeri, antiradang, antirematik. Ketidakseimbangan antara faktor-faktor defensif pada lambung dan duodenum dapat menimbulkan gastritis, duodenitis, tukak lambung, dan tukak duodenum melalui mekanisme perlukaan langsung terhadap mukosa, menurunkan ketahanan mukosa, dan menaikkan sekresi asam lambung⁽¹⁵⁾.

Gejala klinik yang dihasilkan oleh toksikan bervariasi, berkaitan dengan potensi toksik yang dihasilkan serta kelainan yang terjadi⁽¹⁵⁾. Pada anatomi makroskopik lambung, terdapat mukosa yang mengandung banyak kelenjar profunda. Dalam daerah pylorus dan kardia, kelenjar mensekresi mukus, kelenjar ini mengandung sel parietalis, yang mensekresi asam hidroklorida dan faktor intrinsik serta sel principalis (utama, zimogen, peptic) yang mensekresikan pepsinogen⁽¹⁶⁾.

e. Paru-paru (sistem pernafasan)

Banyak toksikan yang dapat mempengaruhi sistem pernafasan pada manusia atau hewan. Toksikan dapat memberikan efek sistemik setelah diserap dari saluran nafas dan disebarkan ke jaringan lain; toksikan tersebut

dapat juga menginduksi efek lokal pada saluran nafas dan mempengaruhi saluran nafas setelah pejalan lewat jalur-jalur lainnya⁽⁸⁾.

Pada paru-paru dapat mudah terjadi edema. Karena susunan jaringannya longgar seperti sarang lebah menyebabkan tidak ada tekanan jaringan yang berarti melawan pembebasan cairan⁽¹⁷⁾. Alveoli paru-paru merupakan tempat pertukaran oksigen dan karbon dioksida dalam darah dan diudara, serta merupakan tempat utama penyerapan toksikan yang terdapat dalam bentuk gas dan uap. Toksik dapat memberikan efek sistemik setelah diserap dari saluran nafas dan disebarkan ke jaringan lain, toksikan tersebut dapat juga menginduksi efek lokal pada saluran nafas⁽⁸⁾.

Adapun beberapa gejala-gejala kelainan yang terjadi akibat terjadinya gangguan pernafasan :

1) Sianosis

Hemoglobin reduksi mempunyai warna gelap dan pewarnaan jaringan kebiruan kehitaman yang dinamai sianosis. Wujud dari kerusakan ini adalah kerusakan fungsional, dimana tubuh kekurangan pasok oksigen, sifat dari kerusakan ini adalah reversibel (terbalikkan), kondisi dari gejala keracunan ini adalah kulit berwarna kebiru-biruan yang terlihat pada bibir, perut, tangan dan kaki. Biasanya senyawa toksik mengikat hemoglobin darah yang akhirnya membentuk kompleks sehingga hemoglobin darah tidak dapat berikatan dengan oksigen sehingga tubuh kekurangan oksigen dan pasok energi pun terhambat.

2) Hipoksia hipoksik

Merupakan masalah dalam individu normal di tempat tinggi serta merupakan komplikasi pneumonia dan berbagai penyakit lain. Wujud dari kerusakan ini adalah kerusakan struktural dimana ada perubahan kompensasi dalam jaringan, sifat dari kerusakan ini adalah reversibel⁽¹⁶⁾.

f. Limpa

Limpa merupakan salah satu organ sistem limfoid terbesar selain timus, tonsil, dan kelenjar limfe. Limpa memiliki fungsi menghancurkan sel

darah merah yang sudah tua atau abnormal. Dalam limpa terdapat sel-sel yang bersifat imunokompeten sehingga limpa berperan juga dalam sistem kekebalan tubuh. Limpa menangkap darah dan kontraksi berirama, kapsulanya memompakan plasma kedalam pembuluh limfe, sehingga limpa mengandung reservoir darah yang kaya sel⁽¹⁶⁾.

Perubahan sekunder berupa pembesaran pada limpa sering teramati pada penyakit primer yang terjadi di limpa. Kerusakan sel darah merah, leukosit dan trombosit yang meluas oleh limpa, dapat terjadi. Pembesaran limpa dapat menyingkirkan sejumlah besar dari satu atau lebih unsur-unsur darah yang terbentuk, yang menyebabkan anemia, leukopenia, dan trombositopenia⁽¹⁷⁾.

Pulpa putih limpa tempat berbagai limfosit dan makrofag, merupakan bagian sistem limfoid. Oleh karena itu pulpa putih tersebut terlibat dalam proses penyakit sejenis yang mempengaruhi jaringan-jaringan limfoid lainnya dalam tubuh, juga bereaksi terhadap rangsangan imunologi, kebanyakan dengan cara yang sama seperti nodus limfatik. Jadi dalam beberapa bentuk penyakit autoimun, dan pada infeksi sistemik tertentu, folikel limfoid limpa menunjukkan gambaran aktif seperti sentra germina yang membesar dengan limfosit yang berubah, dan sel plasma menjadi matur⁽¹⁷⁾.

Anemia berarti defisiensi sel darah merah yang disebabkan karena kehilangan sel darah merah yang terlalu banyak atau pembentukan sel darah merah yang terlalu lambat. Beberapa penyakit lazim anemia adalah sebagai berikut : pendarahan, aplasia, sum-sum tulangnya dihancurkan. Penyebab lazim hal ini adalah keracunan obat atau radiasi sinar gamma, misalnya pemaparan ke radiasi akibat ledakan bom nuklir, kegagalan pematangan karena kekurangan vitamin B12 atau asam folat, hemolisis sel darah merah dengan berbagai kemungkinan penyebab⁽²⁰⁾.

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



Gambar 1. kangkung darat *Ipomoea reptans*, P(kiri,tengah) dan kangkung air *Ipomoea aquatica*, F (kanan)⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾.

a. Klasifikasi Tanaman kangkung

| | |
|--------------|---|
| 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 | : <i>Ipomoea</i> |
| Spesies | : <i>Ipomoea reptans</i> , Poir (kangkung darat) <i>Ipomoea aquatica</i> , Forks. (kangkung air) ⁽¹⁸⁾ . |

Tanaman kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) adalah salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Berdasarkan tempat hidupnya, tanaman kangkung dapat dibedakan menjadi kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) dan kangkung air (*Ipomoea aquatica*). Akan tetapi, jumlah varietas kangkung darat lebih banyak dibandingkan kangkung air⁽¹⁸⁾.

Kangkung mempunyai daun yang licin dan berbentuk mata panah, sepanjang 5-6 inci. Tumbuhan ini memiliki batang yang menjalar dengan daun berselang dan batang yang menegak pada pangkal daun. Tumbuhan ini berwarna hijau pucat dan menghasilkan bunga berwarna putih. Cara tumbuhnya kangkung adalah menjalar dengan banyak percabangan. Sistem perakarannya tunggang dengan cabang cabang akar yang menyebar ke berbagai penjuru. Secara alamiah,

Kangkung ini dapat ditemukan di kolam, rawa, sawa, dan tegalan. Varietas kangkung darat terbagi menjadi varietas Cina, Bangkok, Biru, Cinde, Sukabumi, dan Sutra. Sedangkan varietas kangkung air terbagi menjadi varietas Sumenep⁽¹⁸⁾.

b. Kandungan kangkung

Menurut Prasad *et al*, 2008 dan Ismail *et al*, 2003, kandungan dari kangkung air adalah β -karoten, riboflavin, vitamin C, vitamin E dan memiliki aktivitas antioksidan^(27,28).

Sedangkan Kandungan dari kangkung darat adalah flavonoid, polyphenol, vitamin E dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dibandingkan dengan *Centella asiatica*, *Nyctanthes arbortristis*, dll^(29, 30). Menurut Kallita *et al*, 2006 kangkung darat memiliki vitamin C paling tinggi dibandingkan dengan *Salvinia cuculata*, *Trapa natans*, *Lemna minor*⁽³⁰⁾.

c. Khasiat kangkung

Di Srilangka kangkung air digunakan sebagai terapi DM. Pada penelitian yang dilakukan oleh Malalavidhane *et al*, 2001 disimpulkan bahwa kangkung air (*Ipomoea aquatica*) dapat sebagai antihiperqlikemia pada tikus Wistar dosis 3,4g/kgbb yang diberikan selama seminggu dengan metode induksi streptozotocin⁽³¹⁾.

Pada penelitian yang dilakukan Helminawati, 2011 infusa kangkung darat (*Ipomoea reptans*, P) memiliki efek antihiperqlikemia pada mencit Swiss jantan yang diinduksi STZ dosis 40 mg/KgBB⁽⁶⁾.

4. Obat Tradisional

Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan ketrampilan yang secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya⁽²⁴⁾.

Obat herbal telah diterima secara luas di hampir seluruh Negara di dunia. Menurut WHO, Negara-negara di Afrika, Asia dan Amerika Latin menggunakan obat herbal sebagai pelengkap pengobatan primer yang mereka terima. Bahkan di Afrika, sebanyak 80% dari populasi menggunakan obat herbal untuk pengobatan primer⁽²⁵⁾.

Faktor pendorong terjadinya peningkatan penggunaan obat herbal di negara maju adalah usia harapan hidup yang lebih panjang pada saat prevalensi penyakit kronik meningkat, adanya kegagalan penggunaan obat modern untuk penyakit tertentu di antaranya kanker serta semakin luas akses informasi mengenai obat herbal di seluruh dunia⁽²⁴⁾.

WHO merekomendasi penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker. WHO juga mendukung upaya-upaya dalam peningkatan keamanan dan khasiat dari obat tradisional. Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat modern⁽²⁵⁾.

a. Definisi

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian atau galenik, atau campuran dari bahan tersebut, yang secara turun menurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman⁽²⁶⁾.

b. Klasifikasi obat tradisional

Penggolongan obat tradisional dibagi menjadi tiga golongan yaitu:

1) Jamu

Jamu adalah obat tradisional yang disediakan secara tradisional, misalnya dalam bentuk serbuk seduhan, pil, dan cairan yang berisi seluruh bahan tanaman yang menjadi penyusun jamu tersebut serta digunakan secara tradisional. Pada umumnya, jenis ini dibuat dengan mengacu pada resep peninggalan leluhur yang disusun dari berbagai tanaman obat yang jumlahnya cukup banyak, berkisar antara 5 – 10 macam bahkan lebih. Bentuk jamu tidak memerlukan pembuktian ilmiah sampai dengan klinis, tetapi cukup dengan bukti empiris. Jamu yang telah digunakan secara turun-menurun selama berpuluh-puluh tahun bahkan mungkin ratusan tahun, telah membuktikan keamanan dan manfaat secara langsung untuk tujuan kesehatan tertentu⁽²⁶⁾.

2) Obat herbal terstandar

Obat herbal terstandar adalah obat tradisional yang disajikan dari ekstrak atau penyarian bahan alam yang dapat berupa tanaman obat, binatang, maupun mineral. Untuk melaksanakan proses ini membutuhkan peralatan yang lebih kompleks dan berharga mahal, ditambah dengan tenaga kerja yang mendukung dengan pengetahuan maupun ketrampilan pembuatan ekstrak. Selain proses produksi dengan teknologi maju, jenis ini pada umumnya telah ditunjang dengan pembuktian ilmiah berupa penelitian-penelitian pre-klinik seperti standart kandungan bahan berkhasiat, standart pembuatan ekstrak tanaman obat, standart pembuatan obat tradisional yang higienis, dan uji toksisitas akut maupun kronis⁽²⁶⁾.

3) Fitofarmaka

Fitofarmaka merupakan bentuk obat tradisional dari bahan alam yang dapat disejajarkan dengan obat modern karena proses pembuatannya yang telah terstandar, ditunjang dengan bukti ilmiah sampai dengan uji klinik pada manusia.. Dengan uji klinik akan lebih meyakinkan para profesi medis untuk menggunakan obat herbal di sarana pelayanan kesehatan. Masyarakat juga bisa didorong untuk menggunakan obat herbal karena manfaatnya jelas dengan pembuktian secara ilmiah⁽²⁶⁾.

c. Ketepatan Penggunaan Obat Tradisional

Efek samping obat tradisional relatif kecil jika digunakan secara tepat, yang meliputi :

1) Kebenaran bahan

Tanaman obat di Indonesia terdiri dari beragam spesies yang kadang kala sulit untuk dibedakan satu dengan yang lain. Kebenaran bahan menentukan tercapai atau tidaknya efek terapi yang diinginkan.

2) Ketepatan dosis

Tanaman obat, seperti halnya obat buatan pabrik memang tak bisa dikonsumsi sembarangan. Tetap ada dosis yang harus dipatuhi, seperti halnya resep dokter. Takaran yang tepat dalam penggunaan obat tradisional memang belum banyak didukung oleh data hasil penelitian. Peracikan secara tradisional menggunakan takaran sejumput, segenggam atau pun

seruas yang sulit ditentukan ketepatannya. Penggunaan takaran yang lebih pasti dalam satuan gram dapat mengurangi kemungkinan terjadinya efek yang tidak diharapkan karena batas antara racun dan obat dalam bahan tradisional amatlah tipis. Dosis yang tepat membuat tanaman obat bisa menjadi obat, sedangkan jika berlebih bisa menjadi racun.

3) Ketepatan waktu penggunaan

Ketepatan waktu penggunaan obat tradisional menentukan tercapai atau tidaknya efek yang diharapkan.

4) Ketepatan cara penggunaan

Satu tanaman obat dapat memiliki banyak zat aktif yang berkhasiat di dalamnya. Masing-masing zat berkhasiat kemungkinan membutuhkan perlakuan yang berbeda dalam penggunaannya.

5) Ketepatan telaah informasi

Perkembangan teknologi informasi saat ini mendorong derasnya arus informasi yang mudah untuk diakses. Informasi yang tidak didukung oleh pengetahuan dasar yang memadai dan telaah atau kajian yang cukup seringkali mendatangkan hal yang menyesatkan. Ketidaktahuan bisa menyebabkan obat tradisional berbalik menjadi bahan membahayakan.

6) Tanpa penyalahgunaan

Tanaman obat maupun obat tradisional relatif mudah untuk didapatkan karena tidak memerlukan resep dokter, hal ini mendorong terjadinya penyalahgunaan manfaat dari tanaman obat maupun obat tradisional tersebut.

7) Ketepatan pemilihan obat untuk indikasi tertentu

Dalam satu jenis tanaman dapat ditemukan beberapa zat aktif yang berkhasiat dalam terapi. Rasio antara keberhasilan terapi dan efek samping yang timbul harus menjadi pertimbangan dalam pemilihan jenis tanaman obat yang akan digunakan dalam terapi⁽³²⁾.

B. Keterangan Empirik

Penelitian ini bersifat eksploratif, yaitu untuk mendapatkan jawaban mengenai :

1. Potensi ketoksikan akut berupa LD_{50} setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar pada mencit jantan galur DDY.
2. Gejala-gejala toksik yang mungkin timbul setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal pada mencit jantan galur DDY.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. Sediaan uji

Sediaan uji berupa ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) yang diperoleh di Krajan, Wedomartani Kabupaten Sleman Jogjakarta, pada bulan Februari 2012 dan telah melalui proses standarisasi di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.

b. Subjek uji

Hewan uji yang digunakan 45 ekor mencit jantan galur DDY dengan umur rata-rata antara 40-60 hari dan berat badan 20-30 gram. Hewan uji berasal dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada Jalan Kaliurang KM 4 Sekip Utara Jogjakarta.

c. Bahan lainnya

Formalin 10 % digunakan untuk fiksasi organ diperoleh dari Kimia Farma. Akuades teknis yang digunakan berasal dari Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Islam Indonesia, jarum suntik oral merek Nipro dengan skala 0,1 ml, sarung tangan dan masker.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan hewan (*Ohaus*), seperangkat alat bedah (gunting, pinset, penjepit), dan alat-alat gelas yang biasa digunakan (beker glass, gelas ukur, erlenmeyer) untuk keperluan pembuatan dan pengamatan histopatologi.

B. Skematis Jalannya Penelitian

1. *Ethical Clearence*

Pengajuan *Ethical Clearence* penelitian dilakukan di Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.

2. **Determinasi tanaman kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir)**

Determinasi tanaman kangkung darat dilakukan di Laboratorium Bagian Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia Jalan Kaliurang KM 14. Tujuan dilakukannya determinasi tanaman adalah untuk memastikan tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah *Ipomoea reptans* Poir, sehingga tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan tanaman uji sebagai subjek penelitian.

3. **Optimasi dosis penelitian**

Optimasi dosis sediaan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia. Hasil optimasi dosis penelitian didapatkan dosis terendah dan dosis tertinggi penelitian. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilakukan penetapan variasi dosis penelitian.

4. **Pengelompokkan hewan uji**

Adapun yang perlu diperhatikan dalam pemilihan mencit sebagai hewan uji adalah umur, berat badan, satu galur, dan sehat. Sejumlah hewan uji terpilih selanjutnya diadaptasikan di laboratorium kurang lebih selama seminggu. Hewan uji digunakan 45 ekor mencit jantan galur DDY dengan umur rata-rata antara 40-60 hari dan berat badan 20-30 gram. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok sebanyak 9 ekor. Satu kelompok menjadi kontrol dan 4 kelompok lain untuk 4 peringkat dosis. Sediaan uji diberikan pada hewan uji secara per oral. Kecepatan pemberiannya hanya sekali. Kelompok hewan uji adalah sebagai berikut :

- a) kontrol : diberikan akuades 10 ml/kgBB secara oral dosis tunggal
- b) kelompok I : diberikan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis 480 mg/kgBB secara oral dosis tunggal
- c) kelompok II : diberikan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis 1200 mg/kgBB secara oral dosis tunggal
- d) kelompok III : diberikan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis 3000 mg/kgBB secara oral dosis tunggal
- e) kelompok IV : diberikan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis 7500 mg/kgBB secara oral dosis tunggal

5. **Cara Pemeliharaan Hewan**

- a. Selama masa penelitian, seluruh mencit dikandangkan dalam bak plastik transparan dengan ukuran 50x40x10 cm yang ditutup kawat kasa diatasnya dan beralaskan sekam. Tiap kandang dihuni oleh 9 ekor mencit berdasarkan kelompok uji. Semua mencit Mencit diberikan makan berupa pellet dan diberi air minum mineral. Kandang- kandang mencit ditempatkan dalam ruangan yang sama dengan kelembapan udara yang tetap ($\pm 50\%$), ruangan ber-AC dengan suhu 25° C, ventilasi cukup dan dengan penerangan 12 jam sehari.
- b. Empat puluh mencit tersebut dibagi menjadi lima kelompok penelitian yaitu, satu kelompok kontrol sebanyak 8 ekor mencit dan 4 kelompok perlakuan sebanyak 8 ekor mencit.
- c. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok dengan variasi dosis yang berbeda dengan kelipatan yang tetap.

6. **Pembuatan sediaan uji**

Sediaan uji yaitu ekstrak kangkung darat terstandarisasi. Pembuatan ekstrak kangkung darat menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96 % dan melalui proses standarisasi yang menggunakan parameter non spesifik meliputi uji bobot jenis, uji kadar air, uji kadar abu, uji cemaran logam, uji cemaran mikroba, serta parameter spesifik meliputi uji kandungan kimia, uji organoleptik, uji deskripsi tanaman. Standarisasi ekstrak kangkung darat dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Islam Indonesia.

7. **Penetapan dosis sediaan dan cara pemejanaan**

Dosis sediaan uji yang diberikan ditentukan pertama kali dari hasil orientasi yaitu terdiri dari 4 peringkat dosis. Dosis terendah sebesar 480 mg/kgBB yang merupakan hasil dari optimasi dosis dan dosis tertinggi sebesar 7500 mg/kgBB dan merupakan dosis yang secara teknis masih dapat diberikan pada hewan uji, karena pada orientasi sampai dosis maksimal yang masih bisa diberikan kepada hewan uji, hewan uji tidak ada yang mati.

Sediaan uji diberikan kepada hewan uji secara oral, dengan pemberian sekali. Sebelum perlakuan, hewan uji dipuaskan dahulu selama 18-24 jam, dengan tetap diberi minum.

8. Pengamatan gejala toksik

Masa pengamatan dilakukan selama 24 jam. Frekuensi pengamatan dilakukan sesering mungkin pada masa 6 jam pertama. Apabila tidak ada hewan uji yang mati pada akhir masa 24 jam tersebut, maka 3 ekor mencit dari tiap kelompok dikorbankan dan 6 ekor mencit lainnya dalam tiap kelompok tetap dipelihara dan diamati kemungkinan munculnya toksisitas yang tertunda, dalam hal ini pengamatan dilakukan sampai hari ke- 15.

Kriteria pengamatan meliputi :

- a. Pengamatan fisik terhadap gejala-gejala toksik : kulit dan bulu, dan mukosa membran, sistem pernafasan, sistem peredaran darah, sistem autonom dan saraf pusat, sistem saluran cerna, sistem genitounari, pola perilaku, serta aktivitas somatomotor. Untuk lebih jelas lihat tabel I.
Masa pengamatan fisik dilakukan selama 6 jam pertama setelah pemberian sediaan uji, kemudian pengamatan selanjutnya dilakukan setiap 24 jam sekali
- b. Perubahan berat badan pada akhir masa uji. Berat badan pada jam ke- 0, bila sampai 24 jam tidak ada hewan uji yang mati. Berat badan hewan uji ditimbang setiap 5 hari sekali sampai hari ke- 15.
- c. Menghitung jumlah hewan uji yang mati pada masing-masing kelompok uji, tujuan perhitungan jumlah kematian hewan uji adalah untuk mendapatkan nilai LD_{50} sehingga dapat ditentukan potensi ketoksikan akut setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar pada hewan uji mencit jantan galur DDY.
- d. Pada akhir masa uji, 3 hewan uji yang masih hidup dikorbankan serta diambil organ vital (paru-paru, jantung, hati, limpa, lambung, dan ginjal) untuk diamati.
- e. Pengamatan histopatologi terhadap beberapa organ-organ vital (paru-paru, jantung, hati, limpa, lambung, dan ginjal).

Tabel I. Pemeriksaan fisik dalam uji ketoksikan⁽¹²⁾.

| Sistem Organ | Pengamatan dan Pemeriksaan | Tanda-tanda Umum Ketoksikan |
|---------------------|-------------------------------------|---|
| SSP dan Somatomotor | Perilaku | Perubahan sikap terhadap pengamat, gelisah. |
| | Gerakan | Kedutan, tremor, ataksia, keterpaksaan gerak. |
| | Kereaktifan terhadap aneka rangsang | Keberangasan, kepekaan, anesthesia |
| | Refleks serebral dan spinal | Lemah, tidak ada. |
| Sistem Saraf Otonom | Sekresi | Saliva, lakrimasi. |
| Pernafasan | Sifat dan laju nafas | Bradipnea, dispnea. |
| Kardiovaskular | Palpitasi daerah kardiak | Bradikardia, takikardia |
| Saluran cerna | Peristiwa perut | Diare, sembelit |
| | Konsistensi tinja | Tidak terbentuk warna hitam. |
| Genitourinari | Penis | Prolap. |
| Kulit dan Bulu | Warna, keutuhan | Kelembekan, kemerahan |
| Membran mukosa | Konjungtiva mulut | Kongesti, pendarahan, sianosis |
| Lain-lain | Kondisi umum | Perawakan abnormal, kurus. |

9. Pengambilan organ

Hewan uji dikorbankan secara fisik dengan cara dimasukkan ke dalam eter sampai mati dan dilakukan pembedahan pada bagian perut secara melintang untuk diambil beberapa organ vital seperti : paru-paru, jantung, hati, limpa, lambung, dan ginjal. Organ-organ tersebut dicuci dengan aquadest dan difiksasi dengan larutan formalin 10 %. Kemudian untuk pembuatan preparat dan pembacaan histopatologi organ dikirim ke Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.

Data hasil hispatologi yang diperoleh kemudian diinterpretasikan, dengan cara membandingkan organ-organ vital kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol dengan menggunakan mikroskop. Untuk interpretasi hasil hispatologi ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada.

10. Pengamatan spektrum efek toksik

Spektrum efek toksik dilihat dari kondisi makroskopis dan mikroskopis terhadap organ vital pada mencit jantan, meliputi jantung, paru, ginjal, hati, limpa, dan lambung. Kondisi mikroskopis dilakukan dengan membuat preparat organ dengan diameter satu sentimeter yang telah diawetkan dengan formalin 10 % dan tersimpan dalam paraffin, organ di potong vertikal 5 μ m. Organ diletakkan pada slide kaca dan diwarnai dengan *Hematoxylin stain*. Perubahan patologis dilihat secara mikroskopis setelah pewarnaan⁽²²⁾.

11. Pengamatan potensi ketoksikan akut (LD_{50})

Tujuan pengamatan potensi ketoksikan akut untuk mengetahui pada dosis berapa ekstrak kangkung darat terstandar dapat mematikan minimal 50% hewan uji⁽²³⁾. Perlakuan dengan mengamati hewan uji yang mati selama 24 jam setelah dipejankan ekstrak kangkung darat terstandar dan dilakukan pengamatan terhadap jumlah hewan uji yang mati pada 15 hari berikutnya untuk mengamati kemungkinan munculnya toksisitas tertunda.

C. Analisis Hasil

1. Analisis hasil kuantitatif

a. Penetapan nilai LD_{50}

Penetapan nilai LD_{50} yang merupakan tolok ukur kuantitatif menggunakan metode kertas grafik Miller dan Tainter (analisis probit). Bila sampai dengan batas volume maksimum yang secara teknis dapat diberikan pada hewan uji, dosis yang diberikan tidak menimbulkan kematian pada hewan uji, maka dosis tertinggi tersebut dinyatakan sebagai LD_{50} semu. Dari harga LD_{50} yang diperoleh selanjutnya dipakai untuk mengevaluasi potensi ketoksikan akut dari ekstrak kangkung darat terstandar⁽²²⁾.

b. Perubahan berat badan

Data perubahan berat badan dianalisis secara kuantitatif dengan uji statistik parametrik, yaitu uji analisis satu arah varians (*one way ANOVA*) dengan taraf kepercayaan 95%⁽²²⁾.

2. Analisis hasil kualitatif

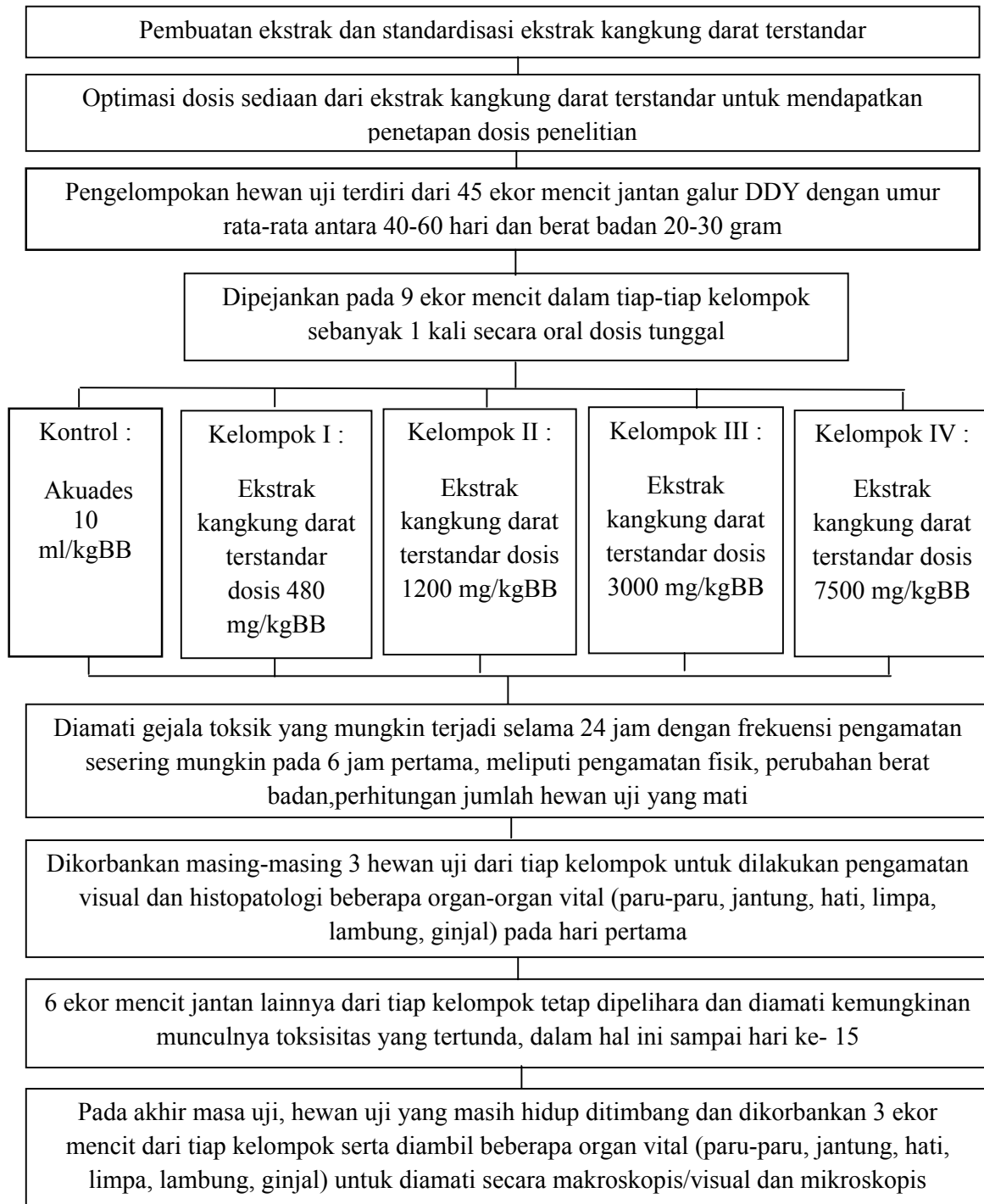
a. Wujud efek toksik

Wujud efek toksik dievaluasi secara kualitatif menggunakan data yang diperoleh dari data gejala-gejala toksik yang nampak pada kulit, mata, dan fungsi vital⁽²²⁾.

b. Spektrum efek toksik

Spektrum efek toksik dievaluasi dari data hasil pemeriksaan histopatologi, dan digunakan untuk lebih menegaskan adanya ketoksikan sistemik⁽²²⁾.

D. Skema Penelitian



Gambar 2. skema jalannya penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan selain untuk mengetahui potensi ketoksikan akut berupa LD₅₀ juga untuk mengetahui gejala-gejala toksik yang ditimbulkan setelah diberikan ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar secara oral dosis tunggal pada mencit jantan galur DDY. Hewan uji yang digunakan 45 ekor mencit jantan galur DDY dengan umur rata-rata antara 40-60 hari dan berat badan 20-30 gram. Adapun sebelumnya penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.

Data yang diamati dalam uji ketoksikan akut ini adalah tolok ukur kuantitatif yaitu jumlah hewan uji yang mati untuk menentukan potensi ketoksikan akut (LD₅₀) dan tolok ukur kualitatif yang berupa gejala dan wujud efek toksik yang muncul selama masa uji serta interpretasi data hasil histopatologi organ-organ vital (jantung, paru-paru, lambung, hati, limfa, ginjal) 24 jam dan 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal.

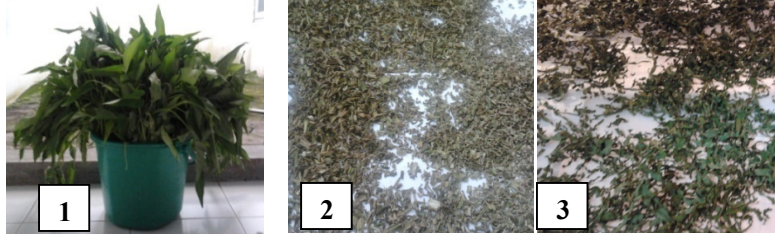
A. Preparasi Ekstrak Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) Terstandar

1. Determinasi tanaman kangkung darat (*Ipomoea Reptans*, Poir)

Kangkung darat yang digunakan sebelumnya di lakukan determinasi tanaman di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia Jalan Kaliurang KM 14. Tujuan dilakukan determinasi tanaman tersebut adalah untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah *Ipomoea reptans*, Poir sehingga tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan tanaman uji yang digunakan sebagai subjek penelitian, dikarenakan kesalahan dalam pemilihan subjek penelitian akan mempengaruhi hasil dari penelitian tersebut. Bagian tanaman yang dilakukan determinasi adalah seluruh bagian tanaman kecuali bagian akarnya.

Dari determinasi tanaman di peroleh hasil : 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a → golongan 8 - 109b – 119b – 120a – 121a – 122b – 123b (*Convolvulaceae*...107) – 107b (*Ipomoea*...2) – 1b – 2b (*Ipomoea reptans*, Poir).

2. Pengumpulan Bahan, Pengeringan dan Penyerbukan Simplisia



Gambar 3. Kangkung darat sebelum pengeringan (1), daun kangkung darat (2), batang kangkung darat (3) setelah pengeringan

Kangkung darat yang digunakan sebagai subjek penelitian berasal dari satu tempat yang sama yaitu Desa Krajan Wedomartani Sleman Yogyakarta dengan tujuan untuk menghindari variasi kandungan kimia. Pemanenan kangkung tidak dilakukan secara keseluruhan melainkan dilakukan dalam 5 tahap. Kangkung darat yang telah dipanen kemudian dicuci pada air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada tanaman selanjutnya disortasi secara teliti, dipilih kangkung darat yang masih segar, hijau, dan tidak layu. Bagian dari kangkung darat yang digunakan adalah batang dan daun. Kangkung darat yang telah disortasi kemudian dipisahkan antara batang dan daunnya selanjutnya masing-masing bagian dipotong kecil-kecil, dimaksudkan untuk mempercepat dan mempermudah proses pengeringan dari kangkung darat tersebut. Jumlah kangkung darat basah yang akan dikeringkan sebanyak 82 kg.

Pengeringan kangkung darat dilakukan dalam lemari pengering. Pengeringan daun dilakukan sekitar \pm 24 jam, sedangkan pengeringan batang dilakukan sekitar \pm 48 jam atau sampai keadaan daun dan batang benar-benar kering. Tujuan pengeringan tanaman tersebut adalah untuk mengurangi kadar air dari kangkung darat, dikarenakan keberadaan air dalam simplisia menyebabkan pertumbuhan mikroba sehingga dapat menurunkan mutu simplisia yang akan

distandarisasi tersebut. Jumlah kangkung kering yang didapat sebanyak 8,2 kg.

Kangkung yang telah kering kemudian dibuat serbuk menggunakan blender dan dipersiapkan untuk proses ekstraksi selanjutnya. Jumlah kangkung kering yang siap untuk dilakukan proses maserasi sebesar 2 kg.

3. Pembuatan ekstrak kangkung darat

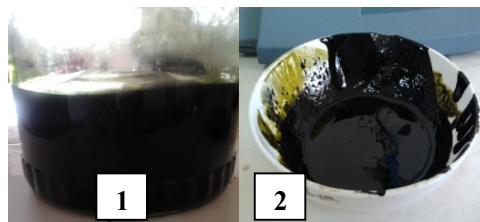


Gambar 4. Proses maserasi ekstrak kangkung darat

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Jumlah kangkung kering yang akan diekstraksi sebanyak 2 kg. Ekstraksi kangkung darat ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Jenis ekstraksi ini dianggap aman karena selama proses ekstraksi tidak terdapat pemanasan sehingga cocok dilakukan pada kangkung darat yang senyawanya dapat rusak oleh pemanasan. Prinsip maserasi adalah penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama tiga hari pada temperatur kamar, dan terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Kandungan senyawa kimia yang tersari selama proses ini sebagian besar senyawa yang bersifat nonpolar seperti karotenoid. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan. Setelah 2 hari dilakukan perendaman, cairan yang didapat di saring menggunakan kain penyaring,

dilakukan 2x penyaringan ulang menggunakan kertas saring dan corong bunchner sebelum filtrat dipekatan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 60⁰ C dengan kecepatan putaran 60 rpm, dibutuhkan waktu sekitar 2 jam untuk setiap 500 ml cairan untuk dihasilkan ekstrak yang kental dan terbebas dari pelarutnya. Simplisia yang sudah disari dimaserasi lagi sampai 2 kali (remaserasi), dimaksudkan untuk memaksimalkan penyarian Maserasi dilakukan kurang lebih selama dua hari menggunakan pelarut etanol 96% pada suhu kamar 25°C dan remaserasi dilakukan dua kali selama dua hari. Remaserasi adalah proses ekstraksi dengan dilakukan pengulangan dan penambahan pelarut setelah penyaringan maserat pertama serta dilakukan pengadukan secara kontinu.

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi didapatkan dari hasil orientasi. Orientasi yang dilakukan menggunakan etanol 30%, 70%, dan 96%. Hasil orientasi menunjukkan pada etanol 96% zat aktif dalam kangkung lebih banyak tersari dibandingkan dengan pelarut konsentrasi lainnya, hal ini ditunjukkan pada warna yang dihasilkan dari ekstrak lebih pekat dan kental. Selain itu, kadar air yang dihasilkan dari etanol 96% lebih sedikit sehingga waktu yang dibutuhkan untuk memisahkan antara air dan ekstrak tidak terlalu lama dan kemungkinan tumbuhnya mikroba menjadi lebih rendah. Dari hasil ekstraksi tersebut didapatkan rendemen ekstrak kangkung darat sebesar 8,21 %.



Gambar 5. Ekstrak kangkung darat sebelum (1), dan setelah (2) di *rotary evaporator*

4. Standardisasi ekstrak kangkung darat

Standarisasi dilakukan untuk mendapatkan suatu ekstrak terstandar, sehingga pada tahap selanjutnya dapat dilakukan pengujian keamanan / toksisitas terhadap hewan uji mencit untuk mendapatkan data keamanan dari ekstrak terstandar tersebut. Standardisasi ekstrak etanol kangkung darat meliputi

parameter spesifik dan nonspesifik. Parameter spesifik terdiri atas aspek organoleptik, aspek profil kromatografi lapis tipis, dan aspek penetapan kadar marker. Sedangkan untuk parameter nonspesifik terdiri atas pengukuran kadar air, pengukuran bobot jenis, pengukuran sisa pelarut etanol, penetapan kadar abu, pengukuran cemaran logam, penetapan cemaran mikroba dan kapang. Parameter spesifik berupa profil kromatogram dan kadar senyawa marker mengacu pada penelitian yang telah ada. Parameter nonspesifik berupa pengukuran kadar air, pengukuran bobot jenis, pengukuran sisa pelarut etanol, dan penetapan kadar abu dilakukan secara eksplorasi dengan membandingkan dengan literatur yang ada. Untuk parameter nonspesifik berupa pengukuran cemaran logam, dan penetapan cemaran mikroba dan kapang menggunakan acuan standar yang telah ditetapkan BPOM. Proses standarisasi dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Islam Indonesia. Dibawah ini berikut tabel hasil standarisasi yang telah dibandingkan dengan standar BPOM dan acuan lainnya⁽³⁴⁾ :

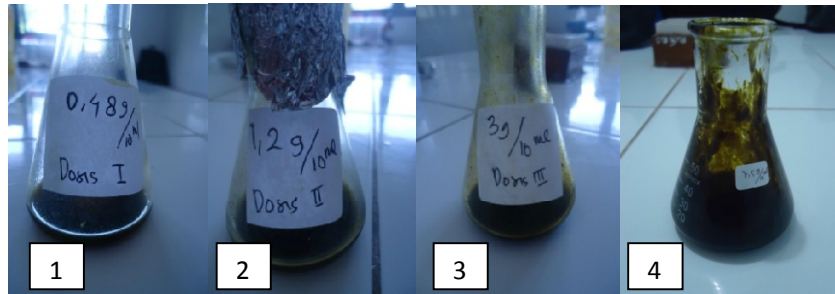
Tabel II. Hasil standarisasi ekstrak etanol kangkung darat⁽³⁴⁾.

| No. | Parameter | Hasil | Acuan |
|-----|---|---|--|
| 1. | Rendemen ekstrak kangkung darat | 8,21% | - |
| 2. | Organoleptik | Bau : Khas kangkung Rasa : Asam, Pahit Warna : Hitam kehijauan Bentuk : Kental | - |
| 3. | Kadar Air | 16,45%±0,05 | Ekstrak kental (5%-30%) ⁽³⁵⁾ . |
| 4. | Kadar Abu <ul style="list-style-type: none"> • Total • Tidak larut asam | 5,97% 5,44% | Kadar abu kangkung darat ±13,74% ⁽³⁶⁾ . |
| 5. | Bobot jenis | 1,133 gr/mL | - |
| 6. | Total Cemaran Mikroba | Angka Lempeng Total : Negatif Uji perkiraan Coliform : Negatif | BPOM: < 10 koloni/gr < 3 koloni/gr ⁽³⁷⁾ . |
| 7. | Total Cemaran Kapang & Khamir | Negatif | BPOM: < 10 koloni/gr ⁽³⁷⁾ . |
| 8. | Total Cemaran Logam Berat Pb dan Cd. | Negatif | BPOM : Pb : < 10mg/Kg Cd: < 0,3mg/Kg ⁽³⁷⁾ . |
| 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) | 380ug ⁽³⁸⁾ . |

B. Penetapan Dosis dan Pembuatan Larutan Stok

Peringkat dosis yang digunakan diperoleh dengan melakukan percobaan pendahuluan atau orientasi, yaitu dengan cara memberikan sediaan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis tertinggi yang secara teknis masih dapat diberikan kepada hewan uji. Pemberian sediaan uji dengan dosis tertinggi ternyata tidak menimbulkan kematian pada hewan uji. Hasil dari orientasi diperoleh dosis tertinggi yaitu 7500 mg/kgBB. Peringkat dosis yang digunakan yaitu 480; 1200; 3000; 7500 mg/kgBB. Dengan faktor perkalian 2,5. Sebagai kontrol diberikan dosis 10 ml/kgBB. Cara pemejanan hewan uji adalah secara oral dosis tunggal.

Pembuatan larutan stok menggunakan campuran tween 80 sebanyak 1,3 ml baru kemudian dilarutkan dalam aquadest ad 10 ml. Tween 80 disini digunakan sebagai surfaktan, karena ekstrak kental kangkung darat tidak dapat larut dalam aquadest. Jumlah ekstrak kental kangkung darat yang ditimbang untuk 4 peringkat dosis adalah 0,48 gram/10ml; 1,2 gram/10 ml; 3 gram/10 ml; 7,5 gram/10 ml. pelarut yang digunakan adalah akuades.



Gambar 6. Larutan stok dosis 1(1), dosis 2(2), dosis 3(3), dosis 4(4).

C. Potensi Ketoksikan Akut (LD_{50})

Hewan uji baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan yang diamati selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji, ternyata tidak ada hewan uji yang mati. Hasil dari pengamatan terhadap hewan uji selama 24 jam setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal dapat dilihat pada tabel III.

Tabel III. Jumlah mencit jantan yang mati pada pengamatan selama 24 jam setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Perlakuan | N | Jumlah Mencit yang Mati | Respon (%) | LD ₅₀ Semu |
|----------|--------------------------------|---|-------------------------|------------|-----------------------|
| Kontrol | Larutan akuades 10 ml/kgBB | 9 | 0 | 0 | > 7500 mg/kgBB |
| I | Sediaan uji dosis 480 mg/kgBB | 9 | 0 | 0 | |
| II | Sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB | 9 | 0 | 0 | |
| III | Sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB | 9 | 0 | 0 | |
| IV | Sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB | 9 | 0 | 0 | |

Selanjutnya 3 ekor hewan uji dari masing-masing kelompok dikorbankan dan pengamatan terhadap 6 ekor hewan uji lainnya dilanjutkan sampai hari ke-15 untuk mengamati kemungkinan adanya efek toksik yang tertunda. Hasil dari pengamatan terhadap hewan uji sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal dari dosis terendah sampai dengan dosis tertinggi didapatkan 1 hewan uji yang mati pada kelompok dosis IV di hari ke-8, kematian hewan tersebut disertai dengan penurunan berat badan drastis dibandingkan hewan yang lain dalam 1 kelompok, serta terjadi pembengkakan lambung dan usus pada hewan tersebut. Berdasarkan hal tersebut, dapat dikatakan bahwa kematian mencit karena adanya infeksi oleh bakteri. Mencit tersebut dieksklusikan dari penelitian karena tidak memenuhi kriteria inklusi dari hewan uji yaitu berbadan sehat. Berikut hasil pengamatan kondisi makroskopis secara visual perubahan ketidaknormalan organ lambung dan usus hewan uji tersebut (gambar 7) beserta data keadaan hewan uji yang di eksklusikan dalam penelitian (tabel IV):

Tabel IV. Data Keadaan hewan uji yang di eksklusikan dalam penelitian

| Nama Mencit | Berat badan Hari ke 0 | Berat badan Hari ke 1 | Berat badan Hari ke 5 | Berat badan Hari ke 8 | Kondisi makroskopis organ | Keterangan |
|-------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Mencit 1 | 34,4 | 31 | 25,8 | 23 | Pembengkakan lambung dan usus | Mati karena infeksi bakteri |



Gambar 7. Kondisi makroskopis secara visual, pembengkakan organ usus dan lambung hewan uji oleh infeksi bakteri

Hasil pengamatan selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar terhadap mencit jantan pada kelompok dosis terendah (480 mg/kgBB) sampai dengan dosis tertinggi (7500 mg/kgBB) tidak menunjukkan adanya perubahan perilaku serta kematian hewan uji (Tabel V).

Tabel V. Jumlah mencit jantan yang mati pada pengamatan selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Perlakuan | N | Jumlah Mencit yang Mati | Respon (%) | LD ₅₀ Semu |
|----------|--------------------------------|---|-------------------------|------------|-----------------------|
| Kontrol | Larutan akuades 10 ml/kgBB | 6 | 0 | 0 | > 7500 mg / kgBB |
| I | Sediaan uji dosis 480 mg/kgBB | 6 | 0 | 0 | |
| II | Sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB | 6 | 0 | 0 | |
| III | Sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB | 6 | 0 | 0 | |
| IV | Sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB | 5 | 0 | 0 | |

Berdasarkan data yang dilihat dari tabel V, dapat dikatakan bahwa tidak ada kematian hewan uji karena pengaruh peringkat dosis yang diberikan, sehingga harga LD₅₀ sediaan ekstrak kangkung darat terstandar dosis tunggal yang diberikan secara oral tidak dapat di hitung atau tidak dapat dinyatakan dengan pasti. LD₅₀ yang diperoleh adalah LD₅₀ semu, sebatas peringkat dosis tertinggi yang secara teknis dapat diterima oleh hewan uji, yaitu lebih besar dari 7500 mg/kgBB atau setara dengan 91,35 gram serbuk kangkung kering dan 7,09 kg kangkung basah. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa

pengonsumsi kangkung darat pada manusia hingga 7,09 kg masih dapat dikatakan tidak akan menyebabkan ketoksikan atau dengan kata lain masih relatif aman untuk dikonsumsi oleh manusia. Berdasarkan kriteria Lu,1995 hasil tersebut mempunyai makna toksikologi termasuk dalam kategori toksik ringan (5000 - 15000 mg/kgBB).

D. Pengamatan Gejala Toksik

Sebelum pengamatan gejala toksik dilakukan, perlu diketahui kondisi awal dan kebiasaan dari hewan uji yang digunakan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada hewan uji setelah pemberian sediaan uji. Gejala toksik yang diamati meliputi perubahan perilaku, gerak (kedutan, tremor, ataksia, keterpaksaan gerak), kereaktifan terhadap aneka rangsang (keberangasan, kapasifan), refleks serebral dan spinal, sekresi, pernapasan, kardiovaskular, kulit dan konsistensi tinja.

Pengamatan kualitatif terhadap gejala-gejala toksik yang mungkin timbul dilakukan terus menerus pada 6 jam pertama dan sesering mungkin selama 24 jam setelah pemejanaan sediaan uji. Kemudian pengamatan uji dilakukan sampai hari ke-15. Pengamatan dilakukan setiap hari pada waktu yang sama selama 3 jam yaitu pukul 09.00-12.00 kurang lebih sejak hari ke-0 sampai hari ke-15, untuk mengetahui kemungkinan timbulnya efek toksik yang tertunda. Hasil pengamatan gejala toksik kemudian dapat dianalisis secara kualitatif untuk memperkirakan mekanisme efek toksik yang mungkin terjadi (lampiran 7a-7e). Hasil pengamatan gejala toksik selama 24 jam dan selama 15 hari adalah sebagai berikut :

Tabel VI. Hasil pemejanaan kualitatif gejala-gejala toksik pada hewan uji selama 24 jam setelah pemejanaan sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Perlakuan | N | Gejala Toksik |
|----------|--------------------------------|---|---------------|
| Kontrol | Larutan akuades 10 ml/kgBB | 9 | - |
| I | Sediaan uji dosis 480 mg/kgBB | 9 | - |
| II | Sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB | 9 | - |
| III | Sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB | 9 | - |
| IV | Sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB | 9 | - |

Keterangan : (-) tidak menunjukkan gejala toksik

Tabel VII. Hasil pemejanaan kualitatif gejala-gejala toksik pada hewan uji selama 15 hari setelah pemejanaan sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Perlakuan | N | Gejala Toksik |
|----------|--------------------------------|---|---------------|
| Kontrol | Larutan akuades 10 ml/kgBB | 6 | - |
| I | Sediaan uji dosis 480 mg/kgBB | 6 | - |
| II | Sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB | 6 | - |
| III | Sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB | 6 | - |
| IV | Sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB | 5 | - |

Keterangan : (-) tidak menunjukkan gejala toksik

Dari hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik hewan uji bahwa sampai hari ke-15 setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar sampai dosis tertinggi yaitu 7500 mg/kgBB pada hewan uji mencit tidak terdapat gejala-gejala toksik. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar sampai dengan dosis tertinggi yang secara teknis dapat diterima oleh hewan uji ternyata tidak mempengaruhi sistem saraf otonom, pernafasan, kulit, rambut, sekresi dan kematian.

E. Kondisi Umum

Pengamatan terhadap kondisi umum hewan uji meliputi perubahan berat badan dan nafsu makan yang digunakan untuk mengetahui mekanisme kematian akibat pemberian suatu sediaan. Pemberian sediaan pada hewan uji yang mengakibatkan kematian dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan. Diantaranya yaitu sediaan uji mempengaruhi fungsi organ-organ vital tubuh sehingga mengganggu proses homeostatis tubuh sehingga keseimbangan dalam tubuh terganggu, kemudian timbul kekacauan struktural yang sering kali merupakan wujud akhir dari perubahan fungsional dan atau biokimia. Hal ini dapat diketahui dengan pemeriksaan histopatologi. Kemungkinan yang lain yaitu pemberian sediaan uji pada hewan uji menyebabkan selera makan hewan uji berkurang, yang dapat menurunkan daya tahan tubuhnya dan mengganggu proses homeostatis tubuh, sehingga hewan uji mudah sakit dan kemudian mati.

Gejala-gejala toksik atau efek toksik pada organ-organ saluran pencernaan bisa mempengaruhi proses pencernaan, nafsu makan dan juga absorpsi makanan pada usus. Hal ini dapat menyebabkan perubahan berat badan yang signifikan walaupun tidak menyebabkan kematian. Berarti perubahan berat badan bisa sebagai salah satu indikator adanya efek toksik atau tidak.

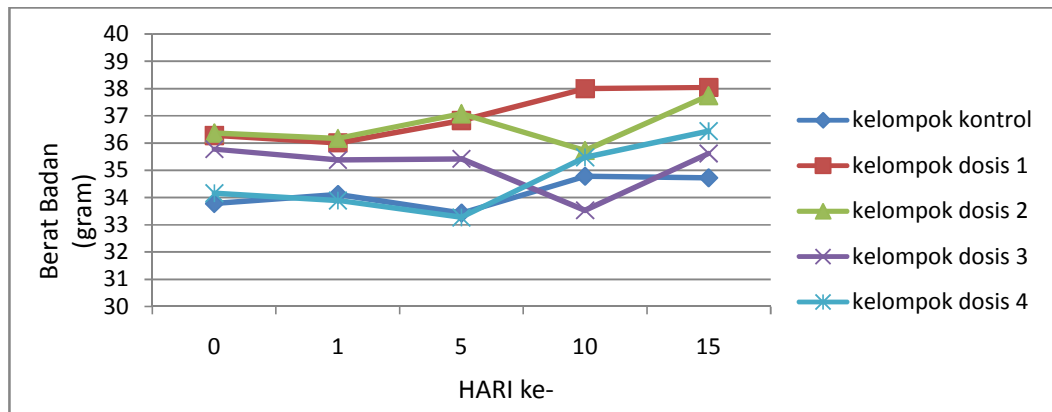
Data perubahan berat badan hewan uji dianalisis secara statistik dengan uji anava satu jalan dengan taraf kepercayaan 95 %. Analisis statistik diawali dengan uji *Kolmogorof-Smirnov* untuk mengetahui data tersebut terdistribusi normal atau tidak dilihat dari nilai signifikansinya, jika $p > 0,05$ maka data terdistribusi normal dilanjutkan dengan analisis varian (ANOVA) satu arah kemudian dilanjutkan dengan uji tukey dengan taraf kepercayaan 95%⁽³⁹⁾. Analisis statistik data perubahan berat badan mencit perhari menunjukkan nilai $p > 0,05$ yaitu 0,636 pada uji *Kolmogorof-Smirnov*, sehingga dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Analisis statistik dilanjutkan dengan ANOVA, dari tabel *Test of Homogeneity of Variances* diperoleh nilai signifikansi $> 0,05$ yaitu didapatkan hasil 0,117 yang mengindikasikan varian antar kelompok adalah sama, dari tabel ANOVA nilai signifikansi $> 0,05$ yaitu 0,306 maka dapat disimpulkan rata-rata berat badan kelima kelompok uji adalah sama (dapat dilihat pada lampiran 10a-10c), sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata perubahan berat badan mencit jantan selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal tidak menunjukkan perubahan yang bermakna.

Berdasarkan data hasil analisis perubahan berat badan mencit jantan selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar tidak menunjukkan perubahan berat badan yang signifikan terhadap kelompok kontrol, berarti pemberian dosis terendah 480 mg/kgBB sampai dosis tertinggi 7500 mg/kgBB tidak berpengaruh pada asupan makanan dan perubahan berat badan pada mencit jantan. Perubahan berat badan hewan uji juga dapat dilihat pada grafik dan tabel rata-rata perubahan berat badan mencit jantan perhari selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

Tabel VIII. Rata-rata perubahan berat badan mencit jantan perhari selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Perlakuan | N | Rata-rata perubahan berat badan perhari (g) $\bar{X} \pm SE$ | Keterangan |
|----------|--------------------------------|---|---|------------|
| Kontrol | Larutan akuades 10 ml/kgBB | 6 | -0,029 \pm 0,073 | tb |
| I | Sediaan uji dosis 480 mg/kgBB | 6 | 0,124 \pm 0,067 | tb |
| II | Sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB | 6 | 0,066 \pm 0,032 | tb |
| III | Sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB | 6 | -0,015 \pm 0,032 | tb |
| IV | Sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB | 5 | 0,082 \pm 0,077 | tb |

Keterangan : tb : perbedaan tidak bermakna ($p > 0,05$) dengan analisis variansi satu jalan taraf kepercayaan 95%



Gambar 8. Grafik purata berat badan mencit jantan selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar

Grafik diatas menunjukkan data perubahan berat badan mencit jantan yang masih hidup sampai hari ke-15. Berdasarkan grafik tersebut, setiap kelompok hewan uji mengalami perubahan berat badan berupa kenaikan dan penurunan yang berbeda dari hari ke 0 sampai hari ke 15. Pada kelompok kontrol hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami kenaikan berat badan sebesar 1%; hari ke- 1 sampai ke- 5 mengalami penurunan berat badan sebesar 2,06%; hari ke-5 sampai ke- 10 mengalami kenaikan berat badan sebesar 3,88% dan hari ke-10 sampai ke-15 mengalami penurunan sebesar 0,17%. Pada kelompok dosis 1 untuk hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami penurunan berat badan sebesar 0,75%; hari ke- 1 sampai ke-5 mengalami kenaikan berat badan sebesar 2,23%; hari ke-5 sampai ke- 10 mengalami kenaikan berat badan sebesar 3,08% dan hari ke-10 sampai ke-15 mengalami kenaikan berat badan sebesar 0,13%. Pada kelompok dosis 2 untuk hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami penurunan berat badan sebesar 0,53%; hari ke- 1 sampai ke-5 mengalami kenaikan berat badan sebesar 2,43%; hari ke-5 sampai ke- 10 mengalami penurunan berat badan sebesar 3,78% dan hari ke-10 sampai ke-15 mengalami kenaikan berat badan sebesar 5,35%. Pada kelompok dosis 3 untuk hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami penurunan berat badan sebesar 1,13%; hari ke- 1 sampai ke-5 mengalami kenaikan berat badan sebesar 0,11%; hari ke-5 sampai ke- 10 mengalami penurunan berat badan sebesar 5,64% dan hari ke-10 sampai ke-15 mengalami kenaikan berat badan sebesar 5,87%. Pada kelompok dosis 4 untuk hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami penurunan berat

badan sebesar 0,80%; hari ke- 1 sampai ke-5 mengalami penurunan berat badan sebesar 1,86%; hari ke-5 sampai ke- 10 mengalami kenaikan berat badan sebesar 6,23% dan hari ke-10 sampai ke-15 mengalami kenaikan berat badan sebesar 2,63%. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa dosis sediaan tidak mempengaruhi berat badan dari hewan uji dikarenakan tidak terjadinya kenaikan ataupun penurunan yang konstan pada tiap kelompok hewan uji akibat pemberian ekstrak kangkung darat terstandar. Persentase selisih berat badan mencit jantan selama 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal dapat dilihat pada tabel IX.

Tabel IX. Persentase selisih berat badan mencit jantan selama 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Perlakuan | Hari ke - 1 | Hari ke - 5 | Hari ke - 10 | Hari ke - 15 |
|-------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|
| Perubahan kontrol | +1,00% | -2,06% | +3,88% | -0,17% |
| Perubahan dosis 1 | -0,75% | +2,23% | +3,08% | +0,13% |
| Perubahan dosis 2 | -0,53% | +2,43% | -3,78% | +5,35% |
| Perubahan dosis 3 | -1,13% | +0,11% | -5,64% | -5,87% |
| Perubahan dosis 4 | -0,80% | -1,86% | +6,23% | +2,63% |

Keterangan : + : peningkatan berat badan
- : penurunan berat badan

F. Spektrum Efek Toksik

Spektrum efek toksik pada penelitian ini dilihat dari kondisi organ-organ vital pada mencit. Adapun organ-organ yang diamati adalah jantung, paru-paru, ginjal, hati, lambung, dan limpa. Kondisi yang diamati adalah berupa kondisi makroskopis dan kondisi mikroskopis. Pengamatan kondisi makroskopis terhadap bentuk beberapa organ vital (jantung, paru-paru, limpa, hati, ginjal, lambung) dilakukan secara visual atau kasat mata. Hasil pengamatan makroskopi dapat digunakan untuk memperkuat hasil pengamatan mikroskopi (histopatologi). Berikut adalah data hasil pengamatan makroskopi organ-organ vital mencit jantan setelah dipejankan ekstrak kangkung darat terstandar dosis tunggal selama 24 jam dan selama 15 hari adalah sebagai berikut :

Tabel X. Hasil pengamatan makroskopi organ-organ vital mencit jantan 24 jam setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Mencit | Organ | | | | | |
|----------|--------|---------|---------|--------|-------|-------|-----------|
| | | Jantung | Lambung | Ginjal | Hati | Limpa | Paru-Paru |
| I | 1 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 2 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 3 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| II | 1 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 2 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 3 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| III | 1 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 2 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 3 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| IV | 1 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 2 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 3 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| V | 1 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 2 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 3 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |

Tabel XI. Hasil pengamatan makroskopi organ-organ vital mencit jantan 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Mencit | Organ | | | | | |
|----------|--------|---------|---------|--------|-------|-------|-----------|
| | | Jantung | Lambung | Ginjal | Hati | Limpa | Paru-Paru |
| I | 4 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 5 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 6 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| II | 4 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 5 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 6 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| III | 4 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 5 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 6 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| IV | 4 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 5 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 6 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| V | 4 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 5 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |
| | 6 | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p | t.a.p |

Keterangan tabel X dan tabel XI :

Kelompok I : diberikan larutan akuades 10 ml/kgBB secara oral dosis tunggal,

Kelompok II : diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar 480 mg/kgBB secara oral dosis tunggal,

Kelompok III : diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar 1200 mg/kgBB secara oral dosis tunggal,

Kelompok IV : diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar 3000 mg/kgBB secara oral dosis tunggal,

Kelompok V : diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar 7500 mg/kgBB secara oral dosis tunggal

t.a.p : tidak ada perubahan.

Pengamatan kondisi mikroskopis dilakukan dengan pembuatan preparat organ yang telah diawetkan pada formalin 10 % dengan metode hematoksilin-eosin, kemudian diamati kondisi histopatologinya dibawah mikroskop dengan pembesaran tertentu. Pembuatan preparat organ yang akan di histopatologi diawali dengan pencucian organ yang telah diambil dari hewan uji berupa jantung, paru-paru, limpa, lambung, hati, dan ginjal. Pencucian organ menggunakan akuades. Pencucian organ tersebut ditujukan untuk membersihkan darah yang melekat pada organ-organ tersebut. Selanjutnya organ yang telah bersih dicuci disayat sedikit di bagian tertentu agar bahan fiksasi dapat meresap ke jaringan. Tujuan fiksasi ke dalam jaringan adalah untuk mencegah otolisis, mempertahankan morfologi sel dan jaringan agar sebisa mungkin sama dengan ketika pengambilan, dan untuk mengeraskan jaringan untuk diproses selanjutnya⁽⁴⁰⁾. Kemudian organ tersebut dimasukkan kedalam formalin 10% pada pot organ. Tujuan pemberian formalin 10% adalah agar organ tidak mengalami perubahan morfologis jaringan organ. Pot organ tersebut diberi etiket sesuai dengan peringkat dosis masing-masing.

Sebelum pengamatan histopatologi hewan, dilakukan pembuatan preparat organ dengan diameter satu sentimeter yang telah diawetkan dengan formalin 10 % dan tersimpan dalam paraffin, organ di potong vertikal 5 μ m. Organ diletakkan pada slide kaca dan diwarnai dengan *Hematoxylin stain*. *Hematoxylin* mewarnai unsur basofilik jaringan sedangkan *Eosin* mewarnai unsur asidofilik jaringan. Selanjutnya dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan pembesaran tertentu. Perubahan patologis dilihat secara mikroskopis setelah dilakukan pewarnaan. Data hasil histopatologi jaringan mencit jantan setelah dipejankan ekstrak kangkung darat dosis tunggal selama 24 jam dan selama 15 hari adalah sebagai berikut (Tabel XII dan Tabel XIII):

Tabel XII. Hasil pemeriksaan histopatologi organ-organ vital mencit jantan 24 jam setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Mencit | Organ | | | | | |
|----------|--------|---------|---------|--------|------|-------|-----------|
| | | Jantung | Lambung | Ginjal | Hati | Limpa | Paru-Paru |
| I | 1 | - | R | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | G | - | - |
| | 3 | - | - | DH | G | - | - |
| II | 1 | - | - | - | DM | - | - |
| | 2 | - | - | - | DM | - | - |
| | 3 | - | - | - | DM | - | - |
| III | 1 | - | - | - | G | - | - |
| | 2 | - | - | - | G | - | - |
| | 3 | - | - | - | G | - | - |
| IV | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | DM | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - |
| V | 1 | - | - | - | - | - | PI |
| | 2 | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - |

Tabel XIII. Hasil pemeriksaan histopatologi organ-organ vital mencit jantan selama 15 hari setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | Mencit | Organ | | | | | |
|----------|--------|---------|---------|--------|------|-------|-----------|
| | | Jantung | Lambung | Ginjal | Hati | Limpa | Paru-Paru |
| I | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | N | - | - |
| | 6 | - | - | - | - | - | - |
| II | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |
| | 6 | - | - | - | DM | - | - |
| III | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |
| | 6 | - | - | - | DM | - | - |
| IV | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |
| | 6 | - | - | - | DM | - | - |
| V | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |
| | 6 | - | - | - | - | - | - |

Keterangan tabel XII dan tabel XIII :

- Kelompok I : diberikan larutan akuades 10 ml/kgBB secara oral dosis tunggal,
 Kelompok II : diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar 480 mg/kgBB secara oral dosis tunggal,
 Kelompok III : diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar 1200 mg/kgBB secara oral dosis tunggal,
 Kelompok IV : diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar 3000 mg/kgBB secara oral dosis tunggal,
 Kelompok V : diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar 7500 mg/kgBB secara oral dosis tunggal
- DH : Degenerasi Hidropik
 DM : Degenerasi Melemak
 PI : Pneumonia interstitialis
 G : Infiltrasi Glikogen
 N : Nekrosis
 R : Radang

Berdasarkan data hasil pemeriksaan mikroskopis selama 24 jam setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal terdapat beberapa perubahan histopatologi organ. Perubahan yang terjadi berupa degenerasi melemak pada organ hati terhadap 3 hewan uji dari kelompok II (pemberian ekstrak kangkung darat terstandar dosis 480 mg/kgBB) pada pengamatan 24 jam setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal. Hal ini ditunjukkan dengan adanya vakuola-vakuola lemak pada sitoplasma tetapi dengan jumlah yang tidak banyak dan tidak besar (lihat gambar 11). Perlemakan hati adalah hati yang mengandung berat lipid lebih dari 5 % atau telah terjadi penimbunan lipid dalam hati dan adanya lemak di dalam sel-sel normal pada jaringan adiposa. Degenerasi melemak masih dikategorikan pada tingkat kerusakan hati yang ringan, dan bersifat reversibel. Degenerasi melemak dalam jangka waktu yang lama juga dapat mengakibatkan kerusakan parah yang bersifat irreversibel seperti nekrosis pada hati⁽⁴¹⁾.

Faktor-faktor yang dapat menyebabkan terjadinya degenerasi melemak antara lain obesitas, asupan lemak/KH yang berlebihan, ketidakseimbangan diet protein dan karbohidrat hingga mengakibatkan terganggunya sintesis apolipoprotein-A, meningkatnya mobilisasi trigliserida, menurunnya oksidasi asam lemak⁽⁴¹⁾, dan yang paling umum adalah rusaknya pelepasan trigliserida hati ke plasma⁽⁸⁾. Pada kasus ini, faktor yang dicurigai menjadi penyebab terjadinya degenerasi melemak terhadap hewan uji kelompok II adalah obesitas karena asupan konsumsi makanan yang berlebihan sehingga mengakibatkan mobilisasi cadangan lemak meningkat, hal ini dapat dilihat dari berat badan hewan uji 1 sebesar 34,6 gram, hewan uji 2 sebesar 35 gram, hewan uji 3 sebesar 37,5 gram. Jenis degenerasi melemak pada hewan uji kelompok II adalah reversibel dan kategori ringan, hal ini dapat dilihat dari data hasil histopatologi hewan uji kelompok II setelah 15 hari pemberian ekstrak kangkung darat terstandar mengalami penurunan degenerasi melemak (dapat dilihat tabel XIII), sehingga dapat dikatakan bahwa degenerasi melemak yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh senyawa kimia dari pemberian ekstrak kangkung darat terstandar, melainkan dipengaruhi oleh faktor obesitas yang mengakibatkan mobilisasi cadangan lemak meningkat yang terjadi pada mencit jantan tersebut.

Perubahan lain yang terjadi dari hasil pengamatan histopatologi selama 24 jam terhadap organ hati adalah terdapatnya perubahan berupa infiltrasi glikogen terhadap 3 hewan uji pada kelompok III (pemberian ekstrak kangkung darat terstandar dosis 1200 mg/kgBB) dan 1 hewan uji pada kelompok I (kontrol 10 ml/BB). Infiltrasi terjadi akibat gangguan yang sifatnya sistemik dan kemudian mengenai sel-sel yang semula sehat karena akibat adanya metabolit-metabolit yang menumpuk dalam jumlah berlebihan. Kemungkinan faktor penyebab terjadinya infiltrasi glikogen pada hewan uji tersebut adalah kondisi hewan uji pada saat akan dilakukan pembedahan tidak dipuaskan terlebih dahulu sehingga glikogen masih banyak tersimpan di hati dan belum dipecah untuk masuk ke dalam jaringan dan menyebabkan terjadinya infiltrasi glikogen pada hati, sehingga dapat dikatakan bahwa infiltrasi glikogen yang terjadi bukan dipengaruhi oleh senyawa kimia yang dihasilkan setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar.

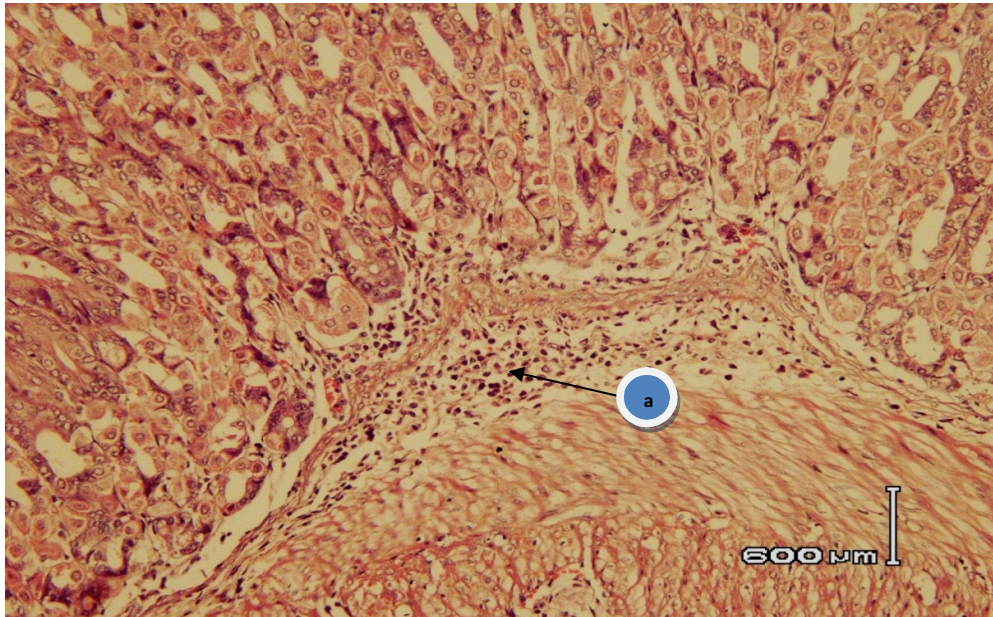
Secara umum, masih terdapat perubahan jaringan organ lain dalam data hasil histopatologi jaringan mencit selama 15 hari. Salah satu perubahan lain yang terjadi berupa degenerasi hidropik pada ginjal terhadap 1 dari 6 hewan uji kelompok I selama pengamatan 24 jam dan 15 hari. Faktor penyebabnya dicurigai oleh adanya gangguan air dan elektrolit yang berat pada ginjal mencit tersebut. Dikarenakan perubahan jaringan organ tersebut bukan karena efek toksik dari pemberian sediaan kangkung darat terstandar sehingga perubahan tersebut dapat diabaikan.

Pada jaringan organ paru-paru terhadap 1 dari 6 hewan uji kelompok V selama pengamatan 24 jam dan 15 hari terdapat perubahan jaringan organ berupa pneumonia interstitialis dengan infiltrasi sel radang dalam ukuran kecil dan tidak mempengaruhi fungsi dari organ vital tersebut. Faktor penyebab yang dicurigai terjadinya pneumonia interstitialis adalah masuknya secara tidak sengaja senyawa kimia ke dalam rongga paru-paru pada saat pemejanaan ekstrak kangkung darat secara oral, sehingga penyebab terjadinya perubahan jaringan tersebut bukan karena senyawa kimia dari pemberian ekstrak kangkung darat terstandar, melainkan sedikit kesalahan faktor teknis pelaksanaan pemejanaan yang tidak

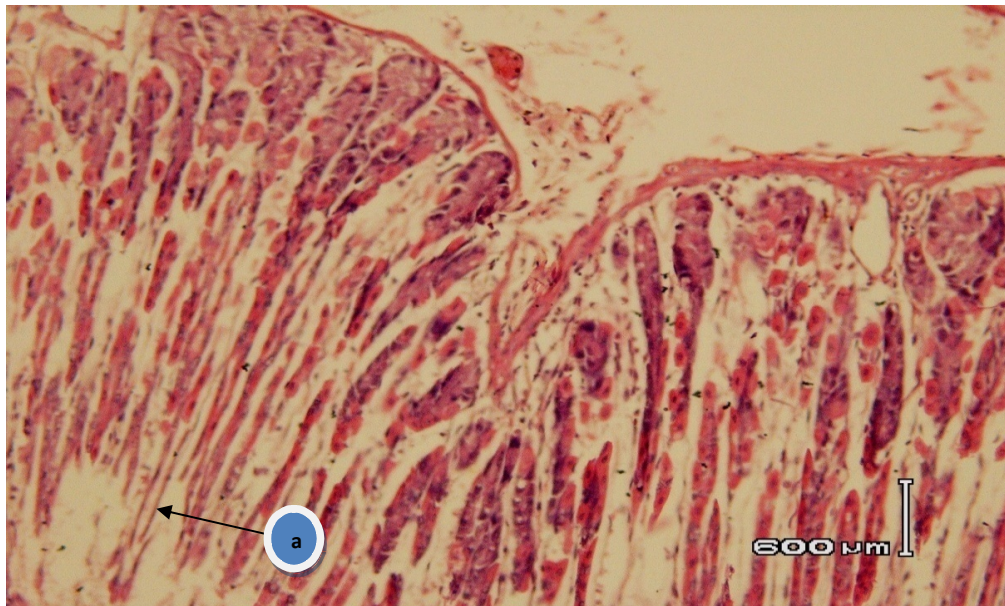
disengaja pada hewan uji tersebut. Selain itu, hanya terdapat 1 dari 9 hewan uji kelompok V, sehingga perubahan tersebut dapat diabaikan.

Pada organ hati terdapat perubahan jaringan organ pada 1 dari 6 hewan uji kelompok I (kelompok kontrol) pada pengamatan 24 jam dan 15 hari setelah pemberian akuades berupa nekrosis berukuran kecil, dikarenakan terjadinya nekrosis hanya pada 1 hewan uji yang tidak diberikan perlakuan ekstrak kangkung darat terstandar, maka perubahan tersebut dapat diabaikan.

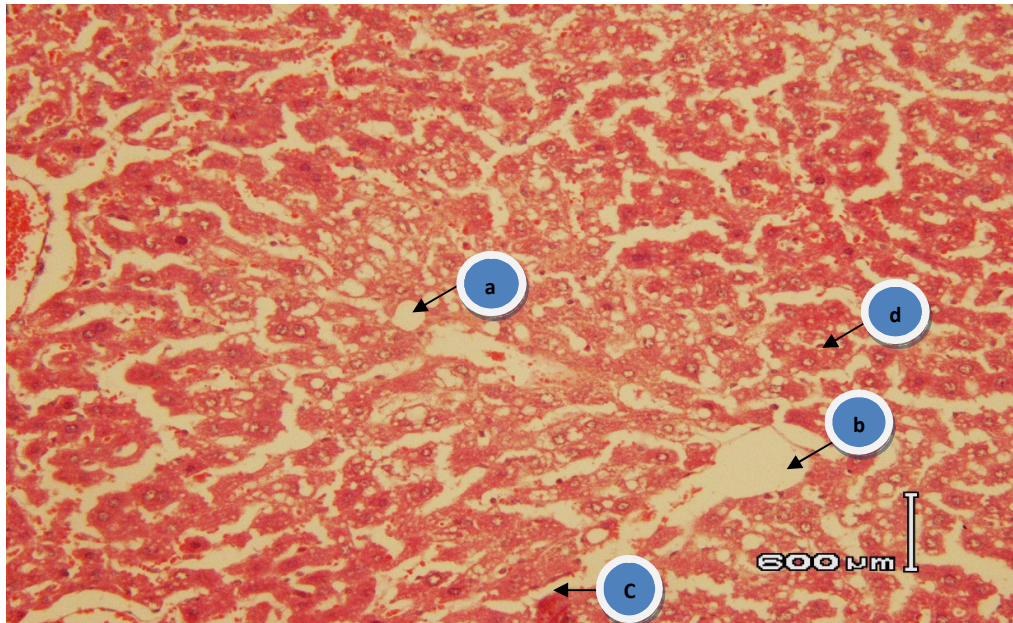
Dari hasil pemeriksaan mikroskopis tersebut, dapat disimpulkan bahwa tidak ada efek toksik yang teramati pada organ-organ setelah dilakukan pemberian ekstrak kangkung darat terstandar, dikarenakan kondisi organ-organ vital dari kelompok dosis terendah yaitu 480 mg/kgBB sampai dosis tertinggi yaitu 7500 mg/kgBB tidak mengalami perubahan organ yang bermakna serta tidak berbeda dengan kelompok kontrol yaitu dalam keadaan normal.



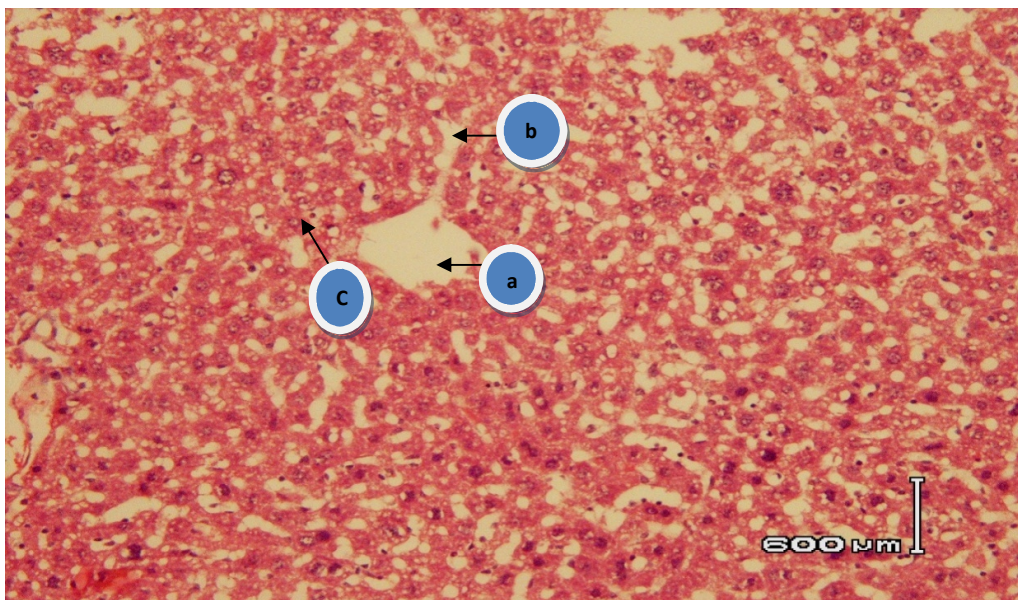
Gambar 9. Irisan melintang jaringan lambung mencit jantan yang mengalami radang 24 jam setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecatan hematoxilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm. a.radang



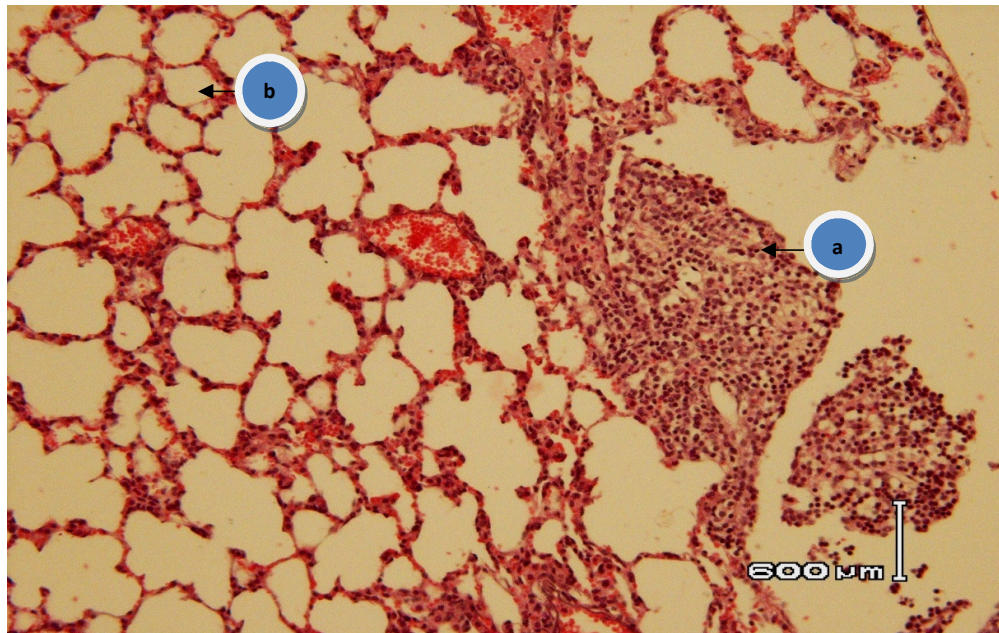
Gambar 10. Irisan melintang jaringan lambung mencit jantan normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecatan hematoxilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm. a.Epitel mukosa



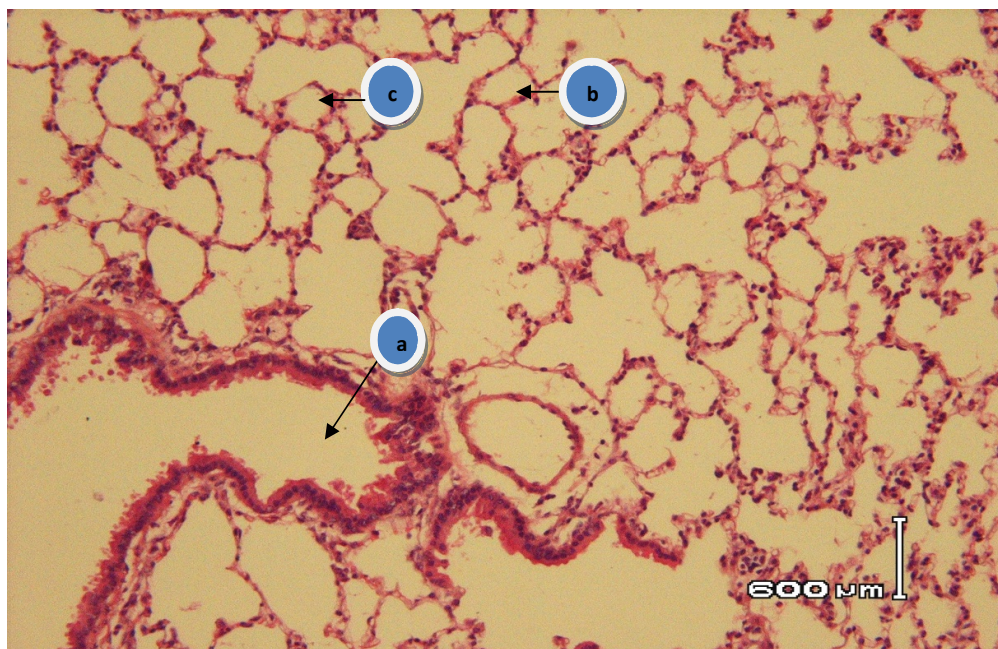
Gambar 11. Irisan melintang jaringan hati mencit jantan yang mengalami degenerasi melemak 24 jam setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoxilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm . a.perlemakan hati b. vena sentralis c.sinusoid d. hepatosit



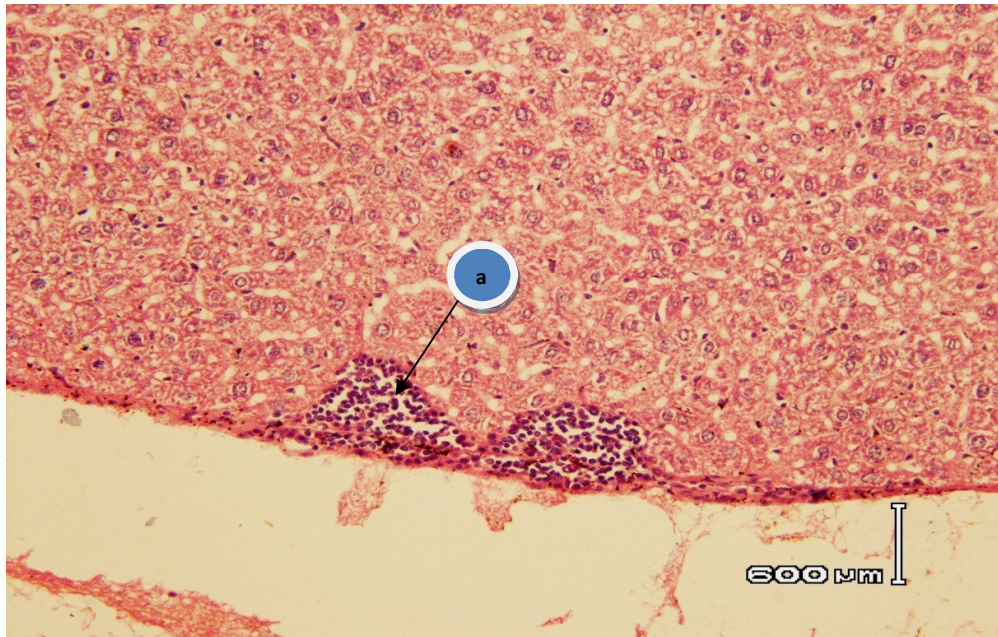
Gambar 12. Irisan melintang jaringan hati mencit jantan normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoxilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm . a.vena sentralis b. sinusoid c. hepatosit



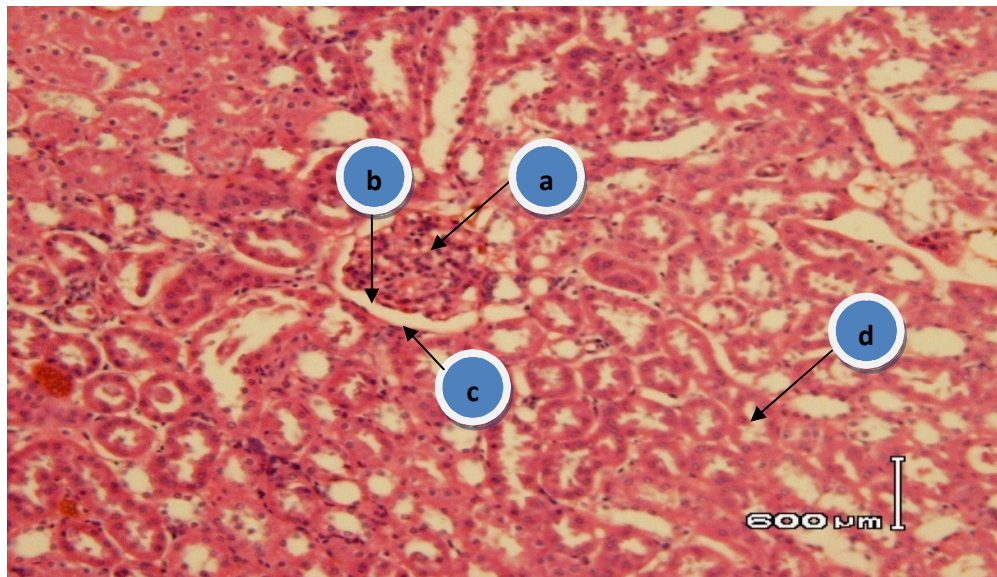
Gambar 13. Irisan melintang jaringan paru-paru mencit jantan yang mengalami pneumonia interstitialis 24 jam setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm . a. pneumonia interstitialis b.alveoli



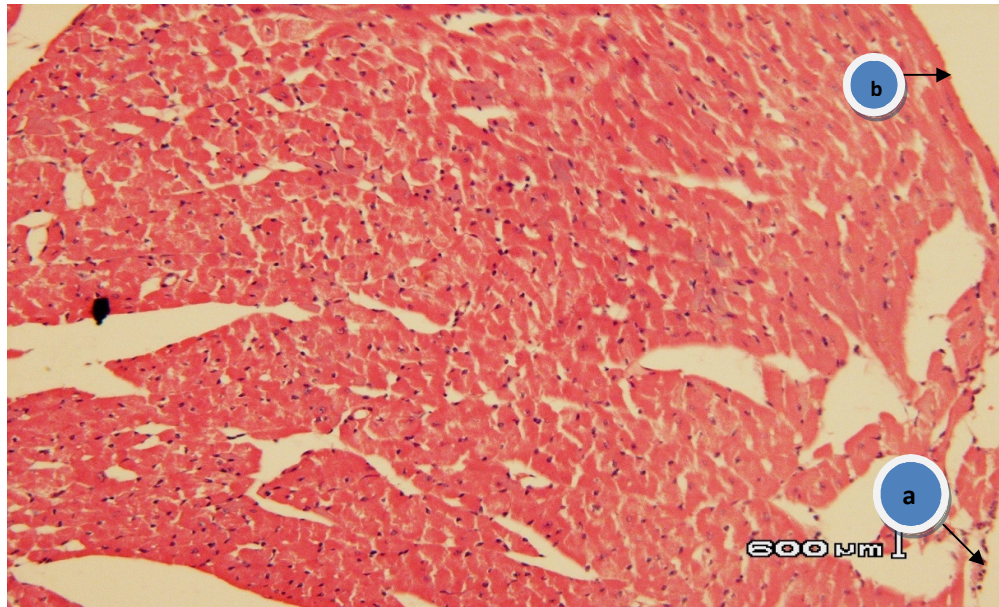
Gambar 14. Irisan melintang jaringan paru-paru mencit jantan normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm . a. bronkiolus terminalis b. alveoli c. sel-sel alveolus



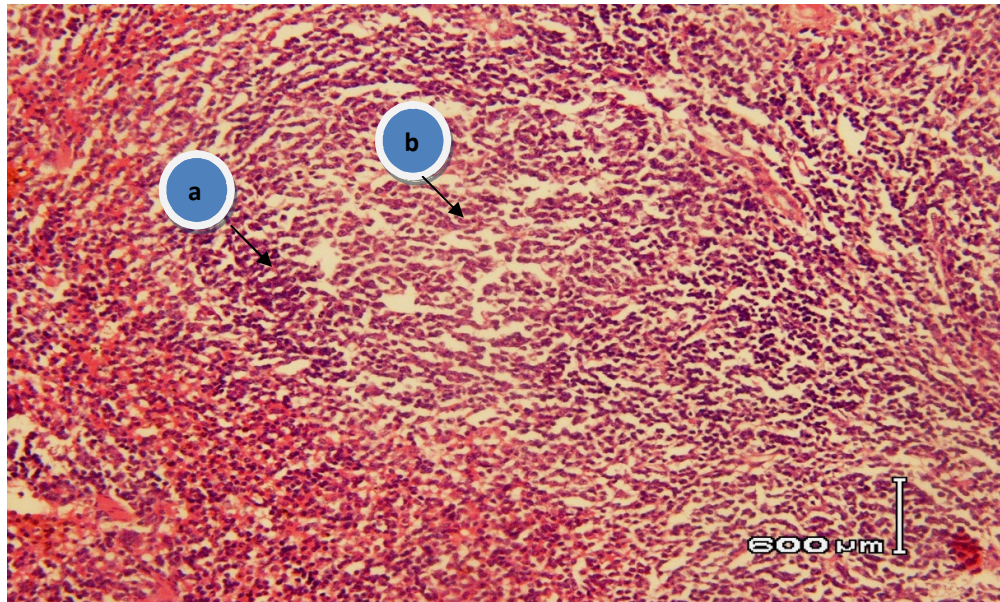
Gambar 15. Irisan melintang jaringan hati mencit jantan yang mengalami nekrosis 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm. a. nekrosis



Gambar 16. Irisan melintang jaringan ginjal mencit jantan yang normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoksilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μm. a. glomerulus b. ruang bowman c. Kapsula bowman pars parietalis d. tubulus kontortus proksimal



Gambar 17. Irisan melintang jaringan jantung mencit jantan yang normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoxilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μ m. a. sel purkinje b. miokardium



Gambar 18. Irisan melintang jaringan limpa mencit jantan yang normal 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal, pengecetan hematoxilin-eosin, perbesaran 20x, skala 600 μ m. a. pulpa putih b. pulpa merah

Berdasarkan gambar hasil histopatologi organ terlihat ada beberapa perubahan jaringan yang terjadi terhadap beberapa organ vital setelah pemejian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal pada mencit jantan galur DDY. Pada jaringan lambung (gambar 9) terlihat adanya radang pada jaringan di lambung yang ditandai dengan adanya infiltrasi/penumpukan sel-sel radang di daerah tertentu. Radang dalam jaringan lambung terjadi pada 1 hewan uji dari kelompok kontrol setelah perlakuan 24 jam, dikarenakan radang yang ditimbulkan tidak dipengaruhi oleh senyawa kimia yang terdapat dalam kangkung darat, maka perubahan jaringan tersebut dapat diabaikan. Pada jaringan hati terdapat sedikit perubahan jaringan seperti degenerasi melemak (gambar 11) yang terlihat dengan adanya penumpukan vakuola-vakuola lemak pada sitoplasma tetapi dengan jumlah yang tidak banyak dan tidak besar. Selain itu terjadi sedikit perubahan pada jaringan hati berupa nekrosis yang ditandai dengan penumpukan sel-sel radang di daerah tertentu pada 1 hewan uji kelompok kontrol (gambar 15), dikarenakan perubahan tersebut tidak dipengaruhi oleh senyawa yang terdapat dalam kangkung darat maka perubahan tersebut dapat diabaikan. Pada jaringan paru-paru terdapat sedikit perubahan jaringan berupa pneumonia interstitialis (gambar 13) yang ditandai dengan infiltrasi sel-sel radang pada bagian interstitialis jaringan paru dan terjadi hanya pada 1 hewan uji, sehingga perubahan yang terjadi dapat diabaikan. Berdasarkan hasil gambar foto jaringan organ secara mikroskopis dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat efek toksik yang teramati dalam gambar pada 24 jam dan 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal pada mencit jantan galur DDY.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Sediaan ekstrak kangkung darat terstandar yang diberikan secara oral dosis tunggal pada mencit jantan mempunyai LD₅₀ semu lebih besar dari 7500 mg/kgBB atau setara dengan 91,35 gram serbuk kangkung kering dan 7,09 kg kangkung basah. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa konsumsi kangkung darat pada manusia hingga 7,09 kg masih dapat dikatakan tidak akan menyebabkan ketoksikan atau dengan kata lain masih relatif aman untuk dikonsumsi oleh manusia. Berdasarkan kriteria Lu,1995 hasil tersebut mempunyai makna toksikologi termasuk dalam kategori toksik ringan (5000 – 15000 mg/kgBB).
2. Pengamatan efek toksik secara makroskopis dan mikroskopis terhadap mencit jantan galur DDY setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal mulai dari dosis terendah sebesar 480 mg/kgBB sampai dengan dosis tertinggi 7500 mg/kgBB tidak menunjukkan adanya gejala efek toksik yang terjadi.

B. Saran

1. Perlu dilakukan kajian keamanan lanjutan berupa uji toksisitas subkronis, karena penggunaan kangkung darat dipergunakan dalam jangka waktu yang lama dan dijadikan alternatif terapi pengobatan pada penderita DM.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Dipiro, J., Talbert, L.R., Yee, G.C., Matzke, G R., Wells, B.G., Possey, L.M., 2008, *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 7 edition*, Micc Grow Hill Medical, Washington DC, 1205-1207.
- (2) Anonim. 2004,American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes.*Diabetes Mellitus Care.* 27, S15-S35.
- (3) Anonim. 2010, *Tahun 2030 Prevalensi Diabetes Melitus Di Indonesia Mencapai 21,3 Juta Orang.* Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (Available from:<http://www.Depkes.go.id>, diakses pada tanggal 1 Desember 2011).
- (4) Heyne, K., 2001, *Tumbuhan berguna Indonesia I*, Jakarta Sarana Wana Jaya, Jakarta,1, 16.
- (5) Maritim, A.C., Sanders, A.R., Watkins B.J., 2002, Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review, *J Biochem Molecular Toxycology*, 17:24.
- (6) Helminawati, 2011, Uji Efek Antihiperqlikemia 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.
- (7) Hodgson, E. and Levi, P., 2000, *A Textbook of Modern Toxicology*, Second Ed., McGraw-Hill Companies Inc, Singapore, 292-294.
- (8) Lu, Frank C., 1995, *Toksikologi Dasar: Asas, Organ, Sasaran, dan Penilaian Resiko*, Edisi Kedua, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1-5,46-53,86,89,92-93, 207-213,224-225,295-299.
- (9) Loomis, T.A., 1978, (Edisi terjemahan, Alih Bahasa Imono Argo Donatus), *Toksikologi Dasar*, Edisi 3, IKIP Press, Semarang, 20, 225-241.
- (10) Widowati, L., Dzulkarnain, B., Sa'roni, 1997, *Tanaman Obat Untuk Diabetes Mellitus*, *Cermin Dunia Kedokteran*, no. 0125-913, 53-54.
- (11) Donatus, I.A., 2005, *Toksikologi Dasar*, Edisi 2, Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta, 124-159,189-190, 200-209.
- (12) Balazs, T., 1970, Measurement of Acute Toxicity, in paget, G.E. (Ed), *Methods in Toxicology*, Blackwell scientific publication oxford, 49-75.
- (13) Cassarett, L.J., and Doull,J, 1991, *Toxicology, The Basic Science of Poisons*, 4th Ed, Klaassen, C.D., Eaton, D.L., (Eds), Mac Millan Co.Inc., New York, 12-13.
- (14) Danu, S.S., 1995, Ginjal dan saluran kemih, dalam Suryawati, S, *Efek Samping Obat*, Edisi Kedua, Pusat Studi Farmakologi Klinik dan Kebijakan Obat UGM, PT. Karipta, Jogjakarta.
- (15) Handiwandoyo, S., 1995, Sistem Gastrointestinal, dalam Suryawati, S, *Efek Samping Obat*, Edisi kedua, Pusat Studi Farmakologi Klinik dan Kebijakan Obat UGM, PT. Karipta, Jogjakarta, 209, 213.
- (16) Ganong, W.F., 1995, *Fisiologi Kedokteran*, Edisi 14, EGC, Jakarta 463-467, 472-477.
- (17) Robbins & Kumar, 1995, *Patologi II*, Edisi IV, EGC, Jakarta, 29-30, 69-127, 183.
- (18) Santosa, H.B., 2008, *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat*, Jakarta, Agromedia Pustaka, 44.

- (19) Anonim, 2011, *Kangkung Ipomoea Reptans*, available at : <http://id.wikipedia.org/wiki/Kangkung> (diakses 3 Desember 2011)
- (20) Guyton, A.C., 1984. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi ke tujuh. Penerbit Buku Kedokteran. Universitas Indonesia E.G.C. Jakarta.
- (21) Mayer, D., 2006, *Drug Discovery and Evaluation*, Section III, elektronik book, 779-782.
- (22) Sukohartono, 2004, Uji Ketoksikan Akut Perasan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linn) Secara Oral Pada Mencit Jantan Galur Swiss, Skripsi, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (23) Hutadilok-Towatana,N.,Wantana,R., Pharkphoom,P., 2009, Evaluation of the toxicity of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* extract, *J Appl Phycol* (2010), 22:599–605: DOI 10.1007/s10811-009-9499-5.
- (24) Sukandar E.Y, 2011, Tren dan Paradigma Dunia Farmasi, Industri-Klinik-Teknologi Kesehatan, disampaikan dalam orasi ilmiah Dies Natalis Institut Teknologi Bandung, http://itb.ac.id/focus/focus_file/orasi-ilmiah-dies-45.pdf, diakses 26 Desember 2011.
- (25) WHO, 2003, Traditional medicine, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>, diakses 26 Desember 2011.
- (26) Anonim, 2005, *Kriteria Dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar, Dan Fitofarmaka.*, BPOM RI, Jakarta.
- (27) Prasad, K .N., Shivamurthy, G.R., Aradhya, M.S., 2008, *Ipomoea aquatica*, An Underutilized Green Leafy Vegetable: A Review. *International Journal of Botany*. 4 (1), 123-129, ISSN 1811-9700
- (28) Ismail, A., 2003, Determination of Vitamin C, β -caroten, and Riboflavin Contents in Five Green Vegetables Organically and Conventionally Grown, 9:31-39.
- (29) Dasgupta, N., De.B., 2006, Antioxidant activity of some leafy vegetables of india: a Comparative study, Pharmacognosy Research Laboratory, Department of Botany, Calcutta University, India.
- (30) Kalita, P., Mukhopadhyay, P.K., Mukherjee, A.K., 2006, *Evaluation of the nutritional quality of four unexplored aquatic weeds from northeast India for the formulation of cost-effective fish feeds*, di akses tanggal 26 Desember 2011.
- (31) Malalavidhane, T.S.; Wickramasinghe, S.M., and Jansz,E.R., 2001,. An aqueous extract of the green leafy vegetable *Ipomoea aquatica* is as effective as the oral hypoglycemic drug tolbutamide in reducing the blood sugar levels of Wistar rats. *Phytother*. 15, 635-637.
- (32) Sari, L.O.R.K., 2006, Pemanfaatan OBAT Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian Vol III No. 1 April 2006*, <http://jurnal.farmasi.ui.ac.id/pdf/2006/v03n01/lusia0301.pdf>, diakses tgl 26 Desember 2011
- (33) Ngatidjan, 2006, *Metode Laboratorium Dalam Toksikologi*, Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta,60-64.

- (34) Djuwarno, E. N., 2012, Standarisasi Ekstrak Etanolik Kangkung Darat berdasarkan pada Parameter Spesifik dan Nonspesifik, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- (35) Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H. Y., 2011, *Standarisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- (36) Johantika, E.E.B., 2002, Pemanfaatan Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) dalam Pembuatan Biskuit Tinggi Serat Makanan, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- (37) Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Dirjen POM, Depkes RI, Jakarta.
- (38) Khomsan, A. 2009, *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*, Buku Kompas, Jakarta. 146.
- (39) Trihendradi, C., 2009, *Step by Step SPSS 16 Analisis Data Statistik*, Penerbit ANDI, Yogyakarta, 153-157, 255.
- (40) Yusuf, A. A., 2009, *Histoteknik Dasar*, Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 5.
- (41) Susanti, R., 2002, Intoksikasi 2,3,7,8 *Tetrachlorodibenzo -p-Dioxin (TCDD)* : II. Efek terhadap Histopatologis Hati, Ginjal, dan Paru Tikus Putih (*rattus norvegicus*), diakses tanggal 27 Mei 2012.

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman kangkung darat

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

SURAT KETERANGAN

Nomor:105/UII/Jur Far/det/III/2012

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

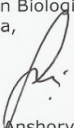
Nama : Liputri Sartika Ningrum
NIM : 08613195
Pada tanggal : 15 Maret 2012

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. Surat keterangan Ethical Clearence dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada



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

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

Ref : KE/FK/ 342 /EC

Title of the Research Protocol : Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kangkung Darat (Ipomea reptans Poir) Terstandar Secara Oral pada Mencit Jantan Galur DDY

Documents Approved : Study Protocol

Principle Investigator : Liputri Sartika Ningrum

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 3. Surat keterangan pembelian hewan uji 40 ekor mencit jantan galur DDY di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM



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 : 217/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 : Liputri Sartika Ningrum
 NIM : 08613195
 Instansi : Fakultas MIPA Jurusan Farmasi UII YK.

Pada bulan Maret 2012 membeli mencit putih (*Mus musculus L.*) Jantan Galur DDY usia 2-3 bulan sejumlah 40 (Empat puluh) 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 4. Perhitungan dosis dan volume pemejanan sediaan ekstrak kangkung darat terstandar pada mencit jantan secara oral dosis tunggal

Nama Sediaan : Ekstrak kangkung darat terstandar
Bentuk sediaan : ekstrak kental

Hasil Orientasi dosis : dosis tertinggi = 750 mg/ml

Volume larutan stok : dosis 1 = 0,48 g/10ml
 dosis 2 = 1,2 g/10ml
 dosis 3 = 3 g/10ml
 dosis 4 = 7,5 g/10ml

Perhitungan dosis :

- Dosis 1 : $48 \text{ mg/ml} \times 0,2 \text{ ml/20 g} = 9,6 \text{ mg/20 gramBB} = 480 \text{ mg/kgBB}$
- Dosis 2 : $120 \text{ mg/ml} \times 0,2 \text{ ml/20g} = 24 \text{ mg/20 gramBB} = 1200 \text{ mg/kgBB}$
- Dosis 3 : $3 \text{ gram/ml} \times 0,2 \text{ ml/20 g} = 60 \text{ mg/20 gramBB} = 3000 \text{ mg/kgBB}$
- Dosis 4 : $750 \text{ mg/ml} \times 0,2 \text{ ml/20 g} = 150 \text{ mg/20 gramBB} = 7500 \text{ mg/kgBB}$

Faktor perkalian tetap = 2,5

Volume pemejanan hewan uji pada tiap kelompok perlakuan

- Kelompok kontrol
 - Mencit 1 : $29,6 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,29 \text{ ml}$
 - Mencit 2 : $33,3 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,33 \text{ ml}$
 - Mencit 3 : $31,0 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,31 \text{ ml}$
 - Mencit 4 : $36,4 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$
 - Mencit 5 : $30,4 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,30 \text{ ml}$
 - Mencit 6 : $35,0 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$
 - Mencit 7 : $31,6 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,32 \text{ ml}$
 - Mencit 8 : $37,6 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 9 : $39,0 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,39 \text{ ml}$
- Kelompok dosis 1
 - Mencit 1 : $37,7 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 2 : $39,5 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,39 \text{ ml}$
 - Mencit 3 : $36,0 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$
 - Mencit 4 : $34,9 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$
 - Mencit 5 : $39,4 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,39 \text{ ml}$
 - Mencit 6 : $31,5 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,32 \text{ ml}$
 - Mencit 7 : $36,0 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$
 - Mencit 8 : $33,0 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,33 \text{ ml}$
 - Mencit 9 : $38,5 \text{ g/20 g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,39 \text{ ml}$

- Kelompok dosis 2
 - Mencit 1 : $36,3 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$
 - Mencit 2 : $40,1 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,40 \text{ ml}$
 - Mencit 3 : $41,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,41 \text{ ml}$
 - Mencit 4 : $32,2 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,32 \text{ ml}$
 - Mencit 5 : $37,5 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 6 : $33,7 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$
 - Mencit 7 : $35,8 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$
 - Mencit 8 : $37,7 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 9 : $33,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,33 \text{ ml}$

- Kelompok dosis 3
 - Mencit 1 : $36,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$
 - Mencit 2 : $37,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,37 \text{ ml}$
 - Mencit 3 : $38,2 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 4 : $37,6 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 5 : $35,1 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$
 - Mencit 6 : $35,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$
 - Mencit 7 : $38,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 8 : $34,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$
 - Mencit 9 : $31,1 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,31 \text{ ml}$

- Kelompok dosis 4
 - Mencit 1 : $25,5 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,26 \text{ ml}$
 - Mencit 2 : $33,3 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,33 \text{ ml}$
 - Mencit 3 : $37,5 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 4 : $38,5 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,39 \text{ ml}$
 - Mencit 5 : $37,5 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$
 - Mencit 6 : $34,4 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$
 - Mencit 7 : $32,7 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,33 \text{ ml}$
 - Mencit 8 : $34,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$
 - Mencit 9 : $34,0 \text{ g}/20 \text{ g} \times 0,2 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$

Lampiran 5. Perhitungan hasil rendemen ekstrak kental kangkung darat (*Ipomea reptans*, Poir)

Diketahui :

- Berat kangkung basah yang total = 82 kg
- Berat kangkung kering total = 8,2 kg
- Berat serbuk kangkung = 8,2 kg
- Serbuk simplisia yang digunakan untuk maserasi = 2000 g
- Ekstrak kental kangkung darat yang diperoleh = 164,19 g

% Rendemen ekstrak kental kangkung darat yang diperoleh adalah :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Ekstrak kental yang Diperoleh}}{\text{Simplisia kering yang diekstraksi}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen ekstrak kental kangkung darat} = \frac{164,19 \text{ gr}}{2000 \text{ gr}} \times 100\% = 8,21\%$$

Lampiran 6.a. Perhitungan hasil konversi ekstrak kangkung darat dosis tertinggi ke bobot kangkung kering

Diketahui rendemen = 8,21 %

dosis efektif infusa kangkung = 89, 28 mg/20gBB atau 4464 mg/kgBB

Rumus rendemen : $\frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100 \%$

- Ekstrak tertinggi yang dipakai 750 mg/ml
Maka:

$$\frac{750 \text{ mg/ml}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100 \% = 8, 21\%$$

$$\frac{750 \text{ mg/ml}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100 \% = 8, 21\%$$

$$\frac{750 \text{ mg/ml}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100 = 8, 21$$

$$\begin{aligned} \text{Berat serbuk kering} &= 9135,2 \text{ mg/ml} \times 0,2 \text{ ml/20gramBB} = 1827,04 \text{ mg/20gramBB} \\ &= 91352 \text{ mg/kgBB atau } 91,35 \text{ g/kgBB} \end{aligned}$$

Perbandingan dosis tertinggi dengan dosis terapi kangkung darat :

$$\frac{91352 \text{ mg/kgBB}}{4464 \text{ mg/kgBB}} = 20, 48$$

Maka, dosis tertinggi sebesar 20, 48 kali dosis efektif

Lampiran 6.b. Perhitungan hasil konversi ekstrak kangkung darat dosis terendah ke bobot kangkung kering

Diketahui rendemen = 8,21 %

dosis efektif infusa kangkung = 89, 28 mg/20gBB atau 4464 mg/kgBB

Rumus rendemen : $\frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100 \%$

- Ekstrak tertinggi yang dipakai 48 mg/ml
Maka:

$$\frac{48 \text{ mg/ml}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100 \% = 8, 21\%$$

$$\frac{48 \text{ mg/ml}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100 \% = 8, 21\%$$

$$\frac{48 \text{ mg/ml}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100 = 8, 21$$

$$\begin{aligned} \text{Berat serbuk kering} &= 584, 65 \text{ mg/ml} \times 0,2 \text{ ml/20gramBB} = 116,93 \text{ mg/20gBB} \\ &= 5846,5 \text{ mg/kgBB atau } 5,85 \text{ g/kgBB} \end{aligned}$$

Perbandingan dosis terendah dengan dosis terapi kangkung darat :

$$\frac{5846,5 \text{ mg/kgBB}}{4464 \text{ mg/kgBB}} = 1,31$$

4464 mg/kgBB

Maka, dosis terendah sebesar 1,31 kali dosis efektif

Lampiran 6.c. Konversi dosis tertinggi ekstrak kangkung darat terstandar ke berat kangkung basah yang biasa dikonsumsi manusia

| | |
|---------------------------------------|--|
| Faktor konversi mencit ke manusia | = 387,9 |
| Berat kangkung darat basah u/ ekstrak | = 82 kg |
| Berat kangkung kering u/ ekstrak | = 8,2 kg |
| Berat kangkung kering penelitian | = 91,35 gram/kgBB atau 1827,04 mg/20 gram BB |

Kangkung basah :

| | |
|--|---|
| <u>Berat kangkung darat basah u/ ekstrak</u> | = <u>berat kangkung kering u/ ekstrak</u> |
| Berat kangkung basah penelitian | = berat kangkung kering penelitian |

$$\frac{82000 \text{ gram}}{X} = \frac{8200 \text{ gram}}{91,35 \text{ gram/kgBB}}$$

$$X = 913,5 \text{ g/kgBB atau sama dengan } 18,27 \text{ mg/20 gramBB}$$

Konversi dari berat kangkung darat basah pada mencit ke berat kangkung basah pada manusia : $18,27 \text{ mg/20 gramBB} \times 387,9 = 7086,93 \text{ gram}$ atau 7,08 kg kangkung darat basah.

Jadi konsumsi jumlah kangkung darat hingga 7,08 kg masih dapat dikatakan relatif aman atau tidak menimbulkan efek toksik pada manusia.

Lampiran 7.a. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok kontrol yang diberi larutan akuades 10 ml/kgBB selama 15 hari

| Pengamatan | Perilaku | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| Perilaku | Perubahan sikap Gelisah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gerakan | Kedutan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tremor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Ataksia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Keterpaksaan gerak | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Kereaktifan terhadap rangsang | Keberangasan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kepasifan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Anestesia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Refleks serebral,spinal | Lemah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tidak ada | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sekresi | Saliva | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Lakrimasi | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sifat dan laju nafas | Bradipnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Dispnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palpitasi di daerah kardiak | Bradikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | takikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Peristiwa perut | Diare | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sembelit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konsistensi tinja | Tidak terbentuk | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Warna hitam | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Penis | Prolap | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Warna, keutuhan | Kelembekan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kemerahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konjungtiva mulut | Kongesti | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Perdarahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sianosis | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lain-lain | Makan sedikit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Keterangan :

- + : Hewan uji menampakkan gejala toksik
- : Hewan uji tidak menampakkan gejala toksik

Lampiran 7.b. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok dosis 1 yang diberi ekstrak kangkung darat terstandar 480 mg/kgBB secara oral dosis tunggal selama 15 hari.

| Pengamatan | Perilaku | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| Perilaku | Perubahan sikap Gelisah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gerakan | Kedutan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tremor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Ataksia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Keterpaksaan gerak | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Kereaktifan terhadap rangsang | Keberangasan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kepasifan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Anestesia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Refleks serebral,spinal | Lemah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tidak ada | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sekresi | Saliva | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Lakrimasi | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sifat dan laju nafas | Bradipnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Dispnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palpitasi di daerah kardiak | Bradikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | takikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Peristiwa perut | Diare | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sembelit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konsistensi tinja | Tidak terbentuk | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Warna hitam | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Penis | Prolap | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Warna, keutuhan | Kelembekan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kemerahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konjungtiva mulut | Kongesti | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Perdarahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sianosis | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lain-lain | Makan sedikit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Keterangan :

- + : Hewan uji menampakkan gejala toksik
- : Hewan uji tidak menampakkan gejala toksik

Lampiran 7.c. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok dosis 2 yang diberi ekstrak kangkung darat terstandar 1200 mg/kgBB secara oral dosis tunggal selama 15 hari.

| Pengamatan | Perilaku | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| Perilaku | Perubahan sikap Gelisah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gerakan | Kedutan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tremor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Ataksia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Keterpaksaan gerak | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Kereaktifan terhadap rangsang | Keberangasan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kepasifan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Anestesia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Refleks serebral,spinal | Lemah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tidak ada | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sekresi | Saliva | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Lakrimasi | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sifat dan laju nafas | Bradipnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Dispnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palpitasi di daerah kardiak | Bradikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | takikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Peristiwa perut | Diare | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sembelit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konsistensi tinja | Tidak terbentuk | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Warna hitam | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Penis | Prolap | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Warna, keutuhan | Kelembekan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kemerahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konjungtiva mulut | Kongesti | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Perdarahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sianosis | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lain-lain | Makan sedikit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Keterangan :

- + : Hewan uji menampakkan gejala toksik
- : Hewan uji tidak menampakkan gejala toksik

Lampiran 7.d. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok dosis 3 yang diberi ekstrak kangkung darat terstandar 3000 mg/kgBB secara oral dosis tunggal selama 15 hari.

| Pengamatan | Perilaku | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| Perilaku | Perubahan sikap Gelisah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gerakan | Kedutan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tremor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Ataksia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Keterpaksaan gerak | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Kereaktifan terhadap rangsang | Keberangasan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kepasifan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Anestesia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Refleks serebral,spinal | Lemah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tidak ada | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sekresi | Saliva | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Lakrimasi | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sifat dan laju nafas | Bradipnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Dispnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palpitasi di daerah kardiak | Bradikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | takikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Peristiwa perut | Diare | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sembelit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konsistensi tinja | Tidak terbentuk | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Warna hitam | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Penis | Prolap | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Warna, keutuhan | Kelembekan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kemerahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konjungtiva mulut | Kongesti | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Perdarahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sianosis | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lain-lain | Makan sedikit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Keterangan :

- + : Hewan uji menampakkan gejala toksik
- : Hewan uji tidak menampakkan gejala toksik

Lampiran 7.e. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala-gejala toksik mencit jantan kelompok dosis 4 yang diberi ekstrak kangkung darat terstandar 7500 mg/kgBB secara oral dosis tunggal selama 15 hari.

| Pengamatan | Perilaku | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| Perilaku | Perubahan sikap Gelisah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gerakan | Kedutan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tremor | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Ataksia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Keterpaksaan gerak | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Kereaktifan terhadap rangsang | Keberangasan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kepasifan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Anestesia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Refleks serebral,spinal | Lemah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Tidak ada | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sekresi | Saliva | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Lakrimasi | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sifat dan laju nafas | Bradipnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Dispnea | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palpitasi di daerah kardiak | Bradikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | takikardia | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Peristiwa perut | Diare | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sembelit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konsistensi tinja | Tidak terbentuk | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Warna hitam | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Penis | Prolap | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Warna, keutuhan | Kelembekan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Kemerahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Konjungtiva mulut | Kongesti | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Perdarahan | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sianosis | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lain-lain | Makan sedikit | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Keterangan :

- + : Hewan uji menampakkan gejala toksik
- : Hewan uji tidak menampakkan gejala toksik

Lampiran 8. Penimbangan berat badan mencit jantan setelah pemberian sediaan ekstrak kental kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kelompok | | Berat Badan Mencit Betina (gram) hari ke- | | | | |
|--------------------------|---|---|------|------|------|------|
| | | 0 | 1 | 5 | 10 | 15 |
| Kontrol | 1 | 29,6 | 33,5 | - | - | - |
| | 2 | 33,3 | 31,5 | 33 | 34,5 | 34,5 |
| | 3 | 31 | 35 | - | - | - |
| | 4 | 36,4 | 35,6 | 33,8 | 32,5 | 34,6 |
| | 5 | 30,4 | 29,2 | 30,2 | 33,6 | 33,7 |
| | 6 | 35 | 33,7 | 32,9 | 34 | 33,4 |
| | 7 | 31,6 | 33,2 | 35,7 | 37,1 | 35,8 |
| | 8 | 37,6 | 36 | 35 | 37 | 36,3 |
| | 9 | 39 | 39,4 | - | - | - |
| Dosis I 480mg/kgBB | 1 | 37,7 | 36,6 | 38 | 40,5 | 41,9 |
| | 2 | 39,5 | 37,5 | 39,7 | 41 | 41,8 |
| | 3 | 36 | 34,6 | - | - | - |
| | 4 | 34,9 | 35 | - | - | - |
| | 5 | 39,4 | 39,2 | 40,8 | 42,4 | 41,5 |
| | 6 | 31,5 | 37,5 | 35 | 33,5 | 31 |
| | 7 | 36 | 35 | 33 | 34,6 | 34,5 |
| | 8 | 33 | 31,2 | 34,5 | 36 | 37,6 |
| | 9 | 38,5 | 37,5 | - | - | - |
| Dosis II 1200mg/kgBB | 1 | 36,3 | 37 | - | - | - |
| | 2 | 40,1 | 39,7 | 40,1 | 39 | 41 |
| | 3 | 41 | 40,5 | 41,5 | 39,5 | 42,4 |
| | 4 | 32,2 | 32 | 33,2 | 32,2 | 34,4 |
| | 5 | 37,5 | 37,5 | - | - | - |
| | 6 | 33,7 | 33,2 | 33,2 | 31,5 | 33,3 |
| | 7 | 35,8 | 35,5 | 36 | 34,9 | 35,4 |
| | 8 | 37,7 | 36,7 | 38,5 | 37,3 | 40 |
| | 9 | 33 | 33,5 | - | - | - |
| Dosis III 3000mg/kgBB | 1 | 36 | 35,5 | 36 | 35 | 37,3 |
| | 2 | 37 | 36,9 | 33,5 | 32,8 | 35 |
| | 3 | 38,2 | 38,2 | - | - | - |
| | 4 | 37,6 | 37,6 | - | - | - |
| | 5 | 35,1 | 34,2 | 35,2 | 33,2 | 35,2 |
| | 6 | 35 | 34,5 | 34,5 | 32,3 | 34,2 |
| | 7 | 38 | 37,8 | 38,8 | 35,9 | 37,2 |
| | 8 | 34 | 33,2 | 34,5 | 32 | 34,8 |
| | 9 | 31,1 | 30,5 | - | - | - |

| | | | | | | |
|-------------------------|---|------|------|------|------|------|
| Dosis IV 7500mg/kgBB | 1 | 25,5 | 27,5 | - | - | - |
| | 2 | 33,3 | 31,4 | 33,3 | 35,6 | 37,3 |
| | 3 | 37,5 | 40,8 | - | - | - |
| | 4 | 38,5 | 38,3 | 39,5 | 41,5 | 41,8 |
| | 5 | 37,5 | 36 | 36 | 34 | 36 |
| | 6 | 34,4 | 31 | 25,8 | * | * |
| | 7 | 32,7 | 32,5 | 33,5 | 34,8 | 34,6 |
| | 8 | 34 | 33 | 31,5 | 31,5 | 31,5 |
| | 9 | 34 | 34,5 | - | - | - |

Lampiran 9. Rata-rata perubahan berat badan mencit jantan per hari dan selama 15 hari setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

| Kontrol | Hari ke-0 (gram) | Hari ke-1 (gram) | Hari ke 5 (gram) | Hari ke 10 (gram) | Hari ke 15 (gram) | Perubahan BB selama 15 hari | Perubahan BB per hari (gram) |
|---------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1 | 33,3 | 31,5 | 33 | 34,5 | 34,5 | 1,2 | 0,08 |
| 2 | 36,4 | 35,6 | 33,8 | 32,5 | 34,6 | -1,8 | -0,12 |
| 3 | 30,4 | 29,2 | 30,2 | 33,6 | 33,7 | 3,3 | 0,22 |
| 4 | 35 | 33,7 | 32,9 | 34 | 33,4 | -1,6 | -0,107 |
| 5 | 31,6 | 33,2 | 35,7 | 37,1 | 35,8 | 4,2 | 0,28 |
| 6 | 37,6 | 36 | 35 | 37 | 36,3 | -1,3 | -0,087 |
| | | | | | Rata-rata | 0,667 | 0,044 |

| Dosis I | Hari ke-0 (gram) | Hari ke-1 (gram) | Hari ke 5 (gram) | Hari ke 10 (gram) | Hari ke 15 (gram) | Perubahan BB selama 15 hari | Perubahan BB per hari (gram) |
|---------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1 | 37,7 | 36,6 | 38 | 40,5 | 41,9 | 4,2 | 0,28 |
| 2 | 39,5 | 37,5 | 39,7 | 41 | 41,8 | 2,3 | 0,153 |
| 3 | 39,4 | 39,2 | 40,8 | 42,4 | 41,5 | 2,1 | 0,14 |
| 4 | 31,5 | 37,5 | 35 | 33,5 | 31 | -0,5 | -0,033 |
| 5 | 36 | 35 | 33 | 34,6 | 34,5 | -1,5 | -0,1 |
| 6 | 33 | 31,2 | 34,5 | 36 | 37,6 | 4,6 | 0,307 |
| | | | | | Rata-rata | 1,867 | 0,125 |

| Dosis II | Hari ke-0 (gram) | Hari ke-1 (gram) | Hari ke 5 (gram) | Hari ke 10 (gram) | Hari ke 15 (gram) | Perubahan BB selama 15 hari | Perubahan BB per hari (gram) |
|----------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1 | 40,1 | 39,7 | 40,1 | 39 | 41 | 0,9 | 0,06 |
| 2 | 41 | 40,5 | 41,5 | 39,5 | 42,4 | 1,4 | 0,093 |
| 3 | 32,2 | 32 | 33,2 | 32,2 | 34,4 | 2,2 | 0,147 |
| 4 | 33,7 | 33,2 | 33,2 | 31,5 | 33,3 | -0,4 | -0,027 |
| 5 | 35,8 | 35,5 | 36 | 34,9 | 35,4 | -0,4 | -0,027 |
| 6 | 37,7 | 36,7 | 38,5 | 37,3 | 40 | 2,3 | 0,153 |
| | | | | | Rata-rata | 1 | 0,067 |

| Dosis III | Hari ke-0 (gram) | Hari ke-1 (gram) | Hari ke 5 (gram) | Hari ke 10 (gram) | Hari ke 15 (gram) | Perubahan BB selama 15 hari | Perubahan BB per hari (gram) |
|-----------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1 | 36 | 35,5 | 36 | 35 | 37,3 | 1,3 | 0,087 |
| 2 | 37 | 36,9 | 33,5 | 32,8 | 35 | -2 | -0,133 |
| 3 | 35,1 | 34,2 | 35,2 | 33,2 | 35,2 | 0,1 | 0,007 |
| 4 | 35 | 34,5 | 34,5 | 32,3 | 34,2 | -0,8 | -0,053 |
| 5 | 38 | 37,8 | 38,8 | 35,9 | 37,2 | -0,8 | -0,053 |
| 6 | 34 | 33,2 | 34,5 | 32 | 34,8 | 0,8 | 0,053 |
| | | | | | Rata-rata | -0,233 | -0,015 |

| Dosis IV | Hari ke-0 (gram) | Hari ke-1 (gram) | Hari ke 5 (gram) | Hari ke 10 (gram) | Hari ke 15 (gram) | Perubahan BB selama 15 hari | Perubahan BB per hari (gram) |
|----------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1 | 33,3 | 31,4 | 33,3 | 35,6 | 37,3 | 4 | 0,267 |
| 2 | 38,5 | 38,3 | 39,5 | 41,5 | 41,8 | 3,3 | 0,22 |
| 3 | 37,5 | 36 | 36 | 34 | 36 | -1,5 | -0,1 |
| 4 | 32,7 | 32,5 | 33,5 | 34,8 | 34,6 | 1,9 | 0,127 |
| 5 | 34 | 33 | 31,5 | 31,5 | 32,5 | -1,5 | -0,1 |
| | | | | | Rata-rata | 1,24 | 0,083 |

Lampiran 10.a. Uji distribusi normal dari perubahan berat badan mencit jantan hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | PerubahanBB |
|---------------------------------|----------------|-------------|
| N | | 29 |
| Normal Parameters ^a | Mean | .04462 |
| | Std. Deviation | .144408 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .138 |
| | Positive | .138 |
| | Negative | -.076 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | .745 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .636 |
| a. Test distribution is Normal. | | |

Lampiran 10.b. Hasil tes homogeneity of variances dari perubahan berat badan mencit jantan hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

Test of Homogeneity of Variances

PerubahanBB

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.068 | 4 | 24 | .117 |

Hipotesis :

H_0 : Kelima varians populasinya identik

H_1 : Kelima varians populasinya tidak identik

Pengambilan keputusan :

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan :

Terlihat bahwa Levene Test hitung adalah 2,068 dengan nilai probabilitas 0,117. Oleh karena probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima, atau kelima varians sama.

Lampiran 10.c. Hasil analisis varian satu jalan dari perubahan berat badan mencit jantan hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

ANOVA

PerubahanBB

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | .103 | 4 | .026 | 1.278 | .306 |
| Within Groups | .481 | 24 | .020 | | |
| Total | .584 | 28 | | | |

Hipotesis :

H_0 : Kelima varians populasinya identik

H_1 : Kelima varians populasinya tidak identik

Pengambilan keputusan :

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan :

Terlihat bahwa F hitung adalah 1,278 dengan nilai probabilitas 0,306. Oleh karena probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima, atau rata-rata berat badan kelima kelompok uji adalah sama.

Lampiran 11. Data Pemeriksaan Hasil Histopatologi jaringan mencit jantan setelah 24 jam dan 15 hari pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
LABORATORIUM PATOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA

Jl. Agro, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Telp. (0274) 9061103, 9061107, 560862 Fax. 560861

No : 52/PA/IX/2012
 Hal : Hasil Histopatologi

Yth. Sdr. Li Putri
 Fakultas Farmasi - UII
 Yogyakarta

Berikut disampaikan hasil histopatologi jaringan mencit dengan perlakuan:

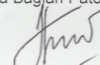
| Perlakuan/ Kelompok | Organ | | | | | |
|------------------------|-------|--------|-------|---------|------|---------|
| | Paru | Ginjal | Limpa | Jantung | Hati | Lambung |
| KJ11 | - | - | - | - | - | R ✓ |
| KJ12 | - | - | - | - | G | - |
| KJ13 | - | DH | - | - | G | - |
| PJ11 | - | - | - | - | DM | - |
| PJ12 | - | - | - | - | DM | - |
| PJ13 | - | - | - | - | DM ✓ | - |
| PJ21 | - | - | - | - | G | - |
| PJ22 | - | - | - | - | G | - |
| PJ23 | - | - | - | - | G | - |
| PJ31 | - | - | - | - | - | - |
| PJ32 | - | - | - | - | DM | - |
| PJ33 | - | - | - | - | - | - |
| PJ41 | PI | ✓ | - | - | - | - |
| PJ42 | - | - | - | - | - | - |
| PJ43 | - | - | - | - | - | - |
| PJK1(15) ✓ | - | ✓ | - | - | - | - |
| PJK2(15) | - | - | - | - | N | ✓ |
| PJK3(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ11(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ12(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ13(15) | - | - | - | - | DM | - |
| PJ21(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ22(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ23(15) | - ✓ | - | ✓ | - | DM | - |
| PJ31(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ32(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ33(15) | - | - | - | - | DM | - |
| PJ41(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ42(15) | - | - | - | - | - | - |
| PJ43(15) | - | - | - | - | - | - |

KETERANGAN :

- : Normal N : Nekrosis
 DH : Degenerasi hidropik PI : Pneumonia interstitialis
 DM : Degenerasi melemak R : Radang
 G : Infiltrasi glikogen

Demikian hasilnya, diucapkan terima kasih atas kerja samanya

Yogyakarta, 23 Mei 2012
 Ketua Bagian Patologi


 Prof. drh. Kunriyah, MVSc., Ph.D.
 NIP. 195105221977032001.