

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL 60 % DAUN GANDARUSA
(*Justicia gendarussa* Burm.) DITINJAU DARI NILAI LD₅₀ DAN
PENGARUHNYA TERHADAP JUMLAH ERITROSIT, LEUKOSIT,
TROMBOSIT, SERTA KADAR HEMOGLOBIN PADA MENCIT PUTIH**

NUR ANNISA JAMAL

0305050434



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

DEPOK

2009

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL 60 % DAUN GANDARUSA
(*Justicia gendarussa* Burm.) DITINJAU DARI NILAI LD₅₀ DAN
PENGARUHNYA TERHADAP JUMLAH ERITROSIT, LEUKOSIT,
TROMBOSIT, SERTA KADAR HEMOGLOBIN PADA MENCIT PUTIH**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana farmasi**

Oleh:

NUR ANNISA JAMAL

0305050434



DEPOK

2009

SKRIPSI : UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL 60 % DAUN
GANDARUSA (*Justicia gendarussa* Burm.) DITINJAU DARI
NILAI LD₅₀ DAN PENGARUHNYA TERHADAP JUMLAH
ERITROSIT, LEUKOSIT, TROMBOSIT, SERTA KADAR
HEMOGLOBIN PADA MENCIT PUTIH

NAMA : NUR ANNISA JAMAL

NPM : 0305050434

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009


DRA. JUHENI AMIN, M.Si, Apt

PEMBIMBING I


DR. KATRIN, MS

PEMBIMBING II

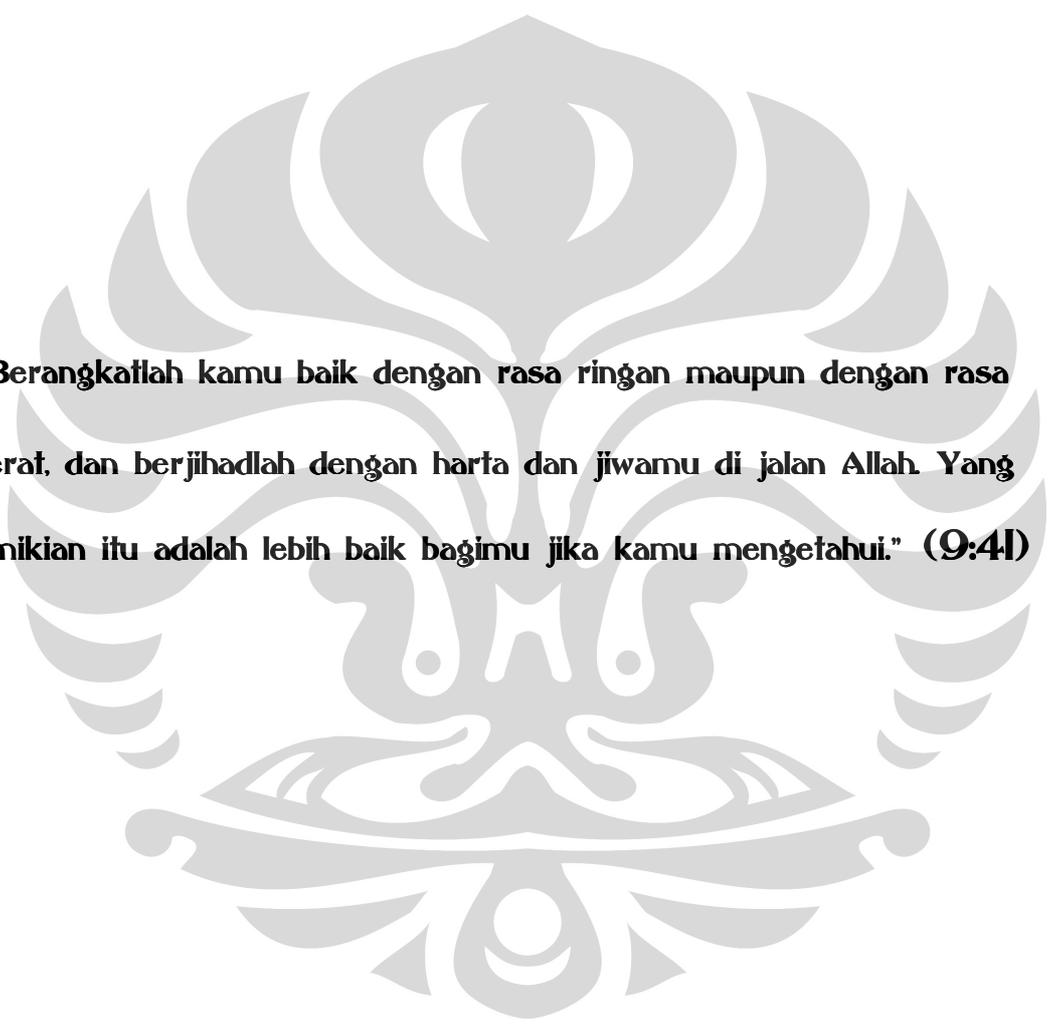
Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana:

Penguji I : Drs. Hayun, M.Si (.....)

Penguji II : Prof. Dr. Endang Hanani, MS (.....)

Penguji III : Dra. Syafrida Siregar (.....)

menapak disini untuk terakhir kalinya
membawa sejuta makna hidup sepenuh rasa
dalam perjuangan yang tak pernah padam menggapai cita



“Berangkatlah kamu baik dengan rasa ringan maupun dengan rasa berat, dan berjihadlah dengan harta dan jiwamu di jalan Allah. Yang demikian itu adalah lebih baik bagimu jika kamu mengetahui.” (9:41)

**Sebuah persembahan kecil untuk mama dan papa tercinta,
Semoga Allah selalu menjaga kalian untukku..**

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang, karena limpahan rahmat, karunia, dan cinta-NYA penulis dapat menyelesaikan penulisan dan penyusunan skripsi ini yang diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Juheini, M.Si, Apt selaku pembimbing I dan Ibu DR. Katrin, MS selaku pembimbing II yang telah memberi arahan, bimbingan, dan perhatian kepada penulis selama penulisan dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Ibu Dra. Azizahwati, MS, Apt selaku pembimbing akademis yang telah memberikan arahan terhadap akademis penulis selama masa pendidikan.
4. Ibu DR. Berna Elya, MS yang telah memberi dukungan dan perhatian kepada penulis dalam mengerjakan penelitian ini.
5. Seluruh dosen, laboran, dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu kelancaran dalam perkuliahan, penelitian, dan penyusunan skripsi.

6. Keluarga tercinta, mama, papa, dan adik-adik penulis yang selalu memberikan dukungan, semangat, doa, dan cinta yang tak terhingga kepada penulis.
7. Rekan-rekan penelitian farmakologi dan fitokimia, khususnya Emi dan Eno, terima kasih atas bantuan dan kebersamaan selama penelitian.
8. Sahabat-sahabat penulis; Hasma, Gina, Niken, Muthia, Ambar, terima kasih atas perhatian, semangat, dan dukungan selama di Farmasi.
9. Teman-teman terbaik penulis; Tika, Tami, Eko, Femmi, Lina, Kathie, Nindya, Hetty, Yuni, Tia, Desti, Laskar Berseri, terima kasih atas perhatian, bantuan, dukungan, dan canda tawa yang selalu meringankan langkah penulis.
10. Teman-teman kelompok belajar; Nuel, Itina, Itine, Oline, Wilzar, serta seluruh teman-teman Farmasi 2005 atas dukungan dan kebersamaan selama perkuliahan.
11. Rekan-rekan dan berbagai pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Penulis

2009

ABSTRAK

Daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) telah lama digunakan oleh masyarakat antara lain untuk mengobati reumatik. Pemanfaatan tanaman ini perlu ditunjang oleh data ilmiah dengan melakukan uji keamanan. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan nilai potensi toksisitas relatif (LD_{50}) ekstrak etanol daun gandarusa dan mengetahui pengaruhnya terhadap jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, dan kadar hemoglobin. Sebanyak 50 ekor mencit jantan dan 50 ekor mencit betina dikelompokkan menjadi 5 kelompok mengikuti rancangan acak lengkap. Kelompok II, III, IV dan V merupakan kelompok yang diberi ekstrak etanol daun gandarusa dengan dosis berturut-turut 4; 8; 16; dan 32 g/kg bb. Kelompok I adalah kelompok kontrol yang diberi aquadest. Pengamatan jumlah hewan uji yang mati dilakukan setelah 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan LD_{50} ekstrak etanol daun gandarusa yaitu sebesar 31,99 g/kg bb untuk jantan dan 27,85 g/kg bb untuk betina dengan kategori tidak toksik. Hasil ANAVA satu arah ($\alpha = 0,05$) terhadap jumlah eritrosit, leukosit, trombosit dan kadar hemoglobin sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan menunjukkan bahwa tidak terdapat erbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak mempengaruhi jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, dan kadar hemoglobin.

Kata kunci: ekstrak etanol, eritrosit, gandarusa, hemoglobin, leukosit,
toksisitas akut, trombosit

xii + 113 hlm.; gbr.; lamp.; tab.

Bibliografi : 39 (1961-2009)



ABSTRACT

Gandarusa leaves (*Justicia gendarussa* Burm.) has been used by Indonesian people as antirheumatic for a long time. Use of this plant should be supported by safety test data. The aim of this research was to determine potency of acute toxicity (LD_{50}) of ethanol extract of gandarusa leaves and to know its effect on the amount of erythrocyte, leucocyte, thrombocyte, and haemoglobin concentration. Fifty male mice and fifty female mice were grouped into 5 groups used completely randomized design. Group II, III, IV and V were administrated with ethanol extract of gandarusa leaves with the dossage respectively 4, 8, 16, and 32 g/kg of body weight. Evaluation of the animal's death was done after 24 hours of the administration. The test resulted LD_{50} of ethanolic extract of gandarusa leaves was 31,99 g/kg of body weight of male and 27,85 g/kg of body weight of female, categorized in not toxic. The result of one way ANOVA ($\alpha = 0,05$) to the amount of erythrocyte, leucocyte, thrombocyte and haemoglobin concentration before administration, after 24 hours and 14 days after administration showed no significant difference between those experimental groups and the control group. It could be concluded that the administration of extract ethanol of gandarusa leaves did not influence the amount of erythrocyte, leucocyte, thrombocyte and haemoglobin concentration.

Key words: acute toxicity, erythrocyte, ethanolic extract, gandarusa,
haemoglobin , leucocyte, thrombocyte

xii + 113 pages; figures; appendixes; tables

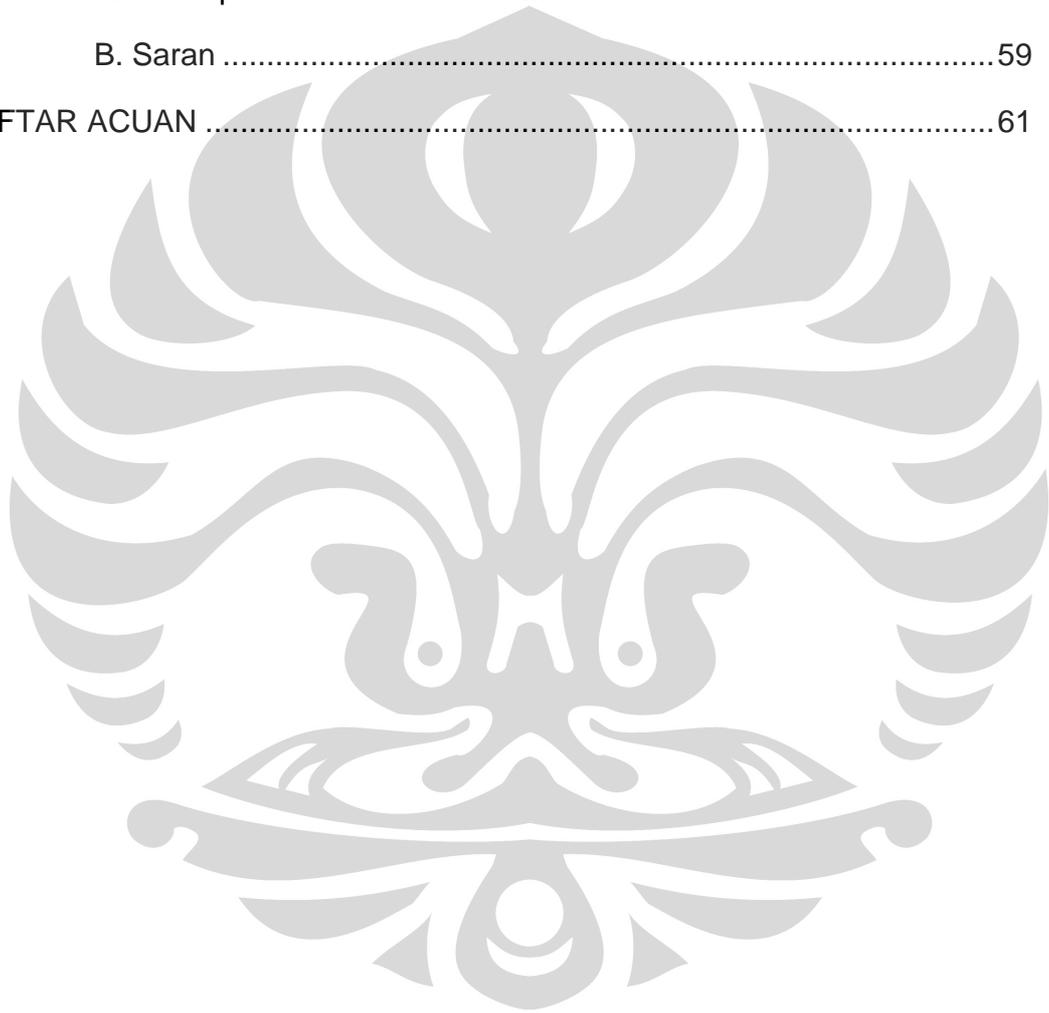
Bibliography : 39 (1961-2009)



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	3
C. Hipotesis.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Uji Toksisitas Akut	5
B. Gandarusa.....	9
C. Darah.....	12
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	21
A. Lokasi Dan Waktu Penelitian.....	21
B. Alat	21
C. Bahan.....	22
D. Cara Kerja	23

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Hasil Penelitian	37
B. Pembahasan.....	44
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	59
A. Kesimpulan	59
B. Saran	59
DAFTAR ACUAN	61



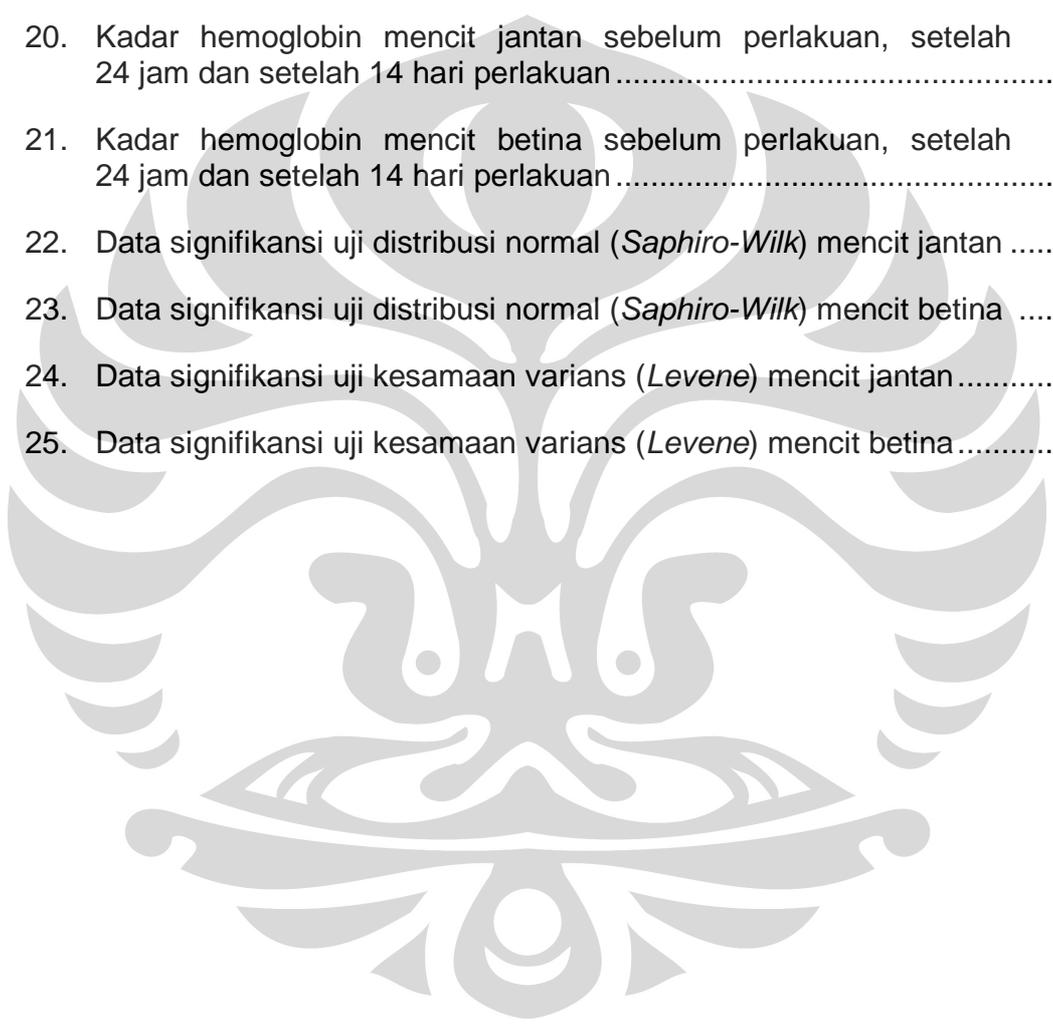
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun gandarusa	69
2. Larutan uji	69
3. Pengambilan darah melalui mata.....	70
4. Hemositometer <i>Improved Neubauer</i>	70
5. Area penghitungan sel darah pada kamar hitung <i>Improved Neubauer</i>	71
6. Hemometer Sahli	72
7. Ekstrak etanol daun gandarusa	72
8. Diagram batang jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	73
9. Diagram batang jumlah eritrosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	73
10. Diagram batang jumlah leukosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	74
11. Diagram batang jumlah leukosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	74
12. Diagram batang jumlah trombosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	75
13. Diagram batang jumlah trombosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	75
14. Diagram batang kadar hemoglobin rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	76
15. Diagram batang kadar hemoglobin rata-rata mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	76

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun gandarusa	39
2. Jumlah rata-rata eritrosit mencit putih sebelum (hari 0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	40
3. Jumlah leukosit rata-rata mencit putih sebelum (hari 0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	41
4. Jumlah trombosit rata-rata mencit putih sebelum (hari 0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	42
5. Kadar hemoglobin rata-rata mencit putih sebelum (hari 0), setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	43
6. Klasifikasi senyawa berdasarkan toksisitas relatif	79
7. Kelompok dan perlakuan.....	79
8. Tahapan perlakuan	80
9. Presentase bobot daun gandarusa kering terhadap daun gandarusa segar	80
10. Rendemen ekstrak etanol 60% daun gandarusa.....	80
11. Data susut pengeringan ekstrak etanol daun gandarusa	81
12. Data kadar air ekstrak etanol daun gandarusa.....	81
13. Data kadar abu ekstrak etanol daun gandarusa.....	81
14. Jumlah eritrosit mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	82
15. Jumlah eritrosit mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	83
16. Jumlah leukosit mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	84

17. Jumlah leukosit mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	85
18. Jumlah trombosit mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	86
19. Jumlah trombosit mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	87
20. Kadar hemoglobin mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	88
21. Kadar hemoglobin mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	89
22. Data signifikansi uji distribusi normal (<i>Saphiro-Wilk</i>) mencit jantan	90
23. Data signifikansi uji distribusi normal (<i>Saphiro-Wilk</i>) mencit betina	91
24. Data signifikansi uji kesamaan varians (<i>Levene</i>) mencit jantan.....	92
25. Data signifikansi uji kesamaan varians (<i>Levene</i>) mencit betina.....	92



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Penetapan dosis.....	95
2. Perhitungan nilai LD ₅₀ ekstrak etanol daun gandarusa	96
3. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	98
4. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah eritrosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	100
5. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	102
6. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah leukosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	104
7. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	106
8. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah trombosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	108
9. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	110
10. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap kadar hemoglobin mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan	112

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Sejak ratusan tahun yang lalu, masyarakat Indonesia sudah menggunakan tanaman obat secara empiris untuk menjaga kesehatan dan mengobati berbagai penyakit. Penelitian mengenai tanaman obat terus berlangsung bahkan meningkat akhir-akhir ini. Meskipun demikian, dalam kenyataannya hingga saat ini baru beberapa penelitian obat tradisional ataupun tanaman obat yang digunakan dalam fasilitas pelayanan kesehatan. Obat yang digunakan pada fasilitas pelayanan kesehatan harus memenuhi persyaratan aman, bermanfaat dan sudah terstandarisasi (1).

Tanaman yang telah digunakan sebagai salah satu obat tradisional adalah daun gandarusa yang memiliki khasiat sebagai obat luar untuk mengatasi memar, bengkak, sakit pinggang dan sebagai obat dalam untuk mengatasi sakit kepala, sembelit, juga rematik sendi (2). Untuk mengobati rematik sendi, digunakan daun gandarusa segar sejumlah 30-60 gram yang direbus dengan tiga gelas air sampai tersisa satu gelas. Rebusan ini dibiarkan dingin dan kemudian disaring untuk diminum (3).

Sampai saat ini pemanfaatan sebagian besar daun gandarusa adalah dengan membuat seduhan atau infus. Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap ekstrak air daun gandarusa. Hasil penelitian tersebut antara lain yaitu ekstrak air gandarusa mempunyai nilai LD₅₀ terkecil sebesar 21 g/kg bb dengan kategori praktis tidak toksik dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna dalam parameter hematologi, SGPT, SGOT, kreatinin dan urea setelah pemberian ekstrak air daun gandarusa (5). Sedangkan, ekstrak etanol 60% daun gandarusa telah dibuktikan memiliki khasiat menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan, tetapi belum diketahui keamanannya (6).

Pada penelitian ini dilakukan penentuan LD₅₀ yaitu suatu dosis yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji, akibat pemberian ekstrak etanol daun gandarusa dengan metode Weil. Dari uji ini juga dapat diamati gejala toksik dan perubahan pada parameter darah (7).

Pemeriksaan terhadap darah dilakukan dengan menghitung jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, dan kadar hemoglobin. Satu di antara penelitian uji keamanan dilakukan terhadap darah karena darah merupakan salah satu diantara komponen tubuh yang sangat penting. Darah mempunyai berbagai fungsi yaitu berperan dalam pengangkutan oksigen dan nutrisi, sistem pertahanan tubuh, dan proses pembekuan darah (8). Penelitian terhadap sel darah penting untuk klinik karena morfologi, jumlah, dan perbandingan unsur-unsur darah merupakan indikator perubahan patologis tubuh (9).

Hasil dari uji toksisitas akut ini dapat digunakan sebagai acuan untuk uji toksisitas jangka panjang. Bila hasil penelitian yang dilakukan sesuai dengan yang diharapkan maka penggunaan ekstrak etanol daun gandarusa dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

B. TUJUAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan nilai LD_{50} ekstrak etanol 60% daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) dan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap jumlah eritrosit, leukosit, trombosit serta kadar hemoglobin.

C. HIPOTESIS

1. Pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak memberikan efek toksik terhadap mencit putih.
2. Pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak mempengaruhi jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, dan kadar hemoglobin pada mencit putih.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. UJI TOKSISITAS AKUT

Sebelum suatu obat baru diberikan pada manusia, perlu dilakukan penelitian mengenai sifat farmakodinamik, farmakokinetik, dan efek toksiknya pada hewan uji. Penelitian tersebut dimaksudkan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil resiko keamanan pada manusia (10).

Uji keamanan obat dilakukan melalui uji toksisitas yang dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu toksisitas umum dan toksisitas khusus. Toksisitas umum meliputi toksisitas akut, subkronis, dan kronis yang dirancang untuk mengevaluasi secara keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan uji. Uji toksisitas khusus meliputi teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik yang dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas spesifik (7,11,12).

Uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan efek yang merugikan yang terjadi dalam waktu singkat dari pemberian suatu dosis tunggal yang diberikan dalam jangka waktu 24 jam (13). Uji toksisitas subkronis dilakukan dengan memberi bahan uji berulang-ulang, biasanya setiap hari atau lima minggu sekali selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup

hewan. Uji toksisitas kronik mencakup pemberian bahan uji berulang selama 3-6 bulan atau seumur hewan, misalnya 18 bulan untuk mencit. Pada uji toksisitas khusus seperti uji teratogenik menggunakan hewan uji yang sedang hamil untuk melihat efek bahan uji terhadap janin, sedangkan uji karsinogenik dilakukan selama 18-24 bulan untuk mencit untuk mengetahui kemungkinan menimbulkan kanker (1).

Untuk uji toksisitas akut perlu dilakukan pada sekurang-kurangnya satu spesies hewan coba, biasanya spesies pengerat yaitu mencit atau tikus, dewasa muda dan mencakup kedua jenis kelamin (1). Perlakuan berupa pemberian obat pada masing-masing hewan coba dengan dosis tunggal. Terkait dengan upaya mendapatkan dosis letal pada uji LD_{50} , pemberian obat dilakukan dengan dosis bertingkat dengan kelipatan tetap. Penentuan besarnya dosis uji pada hewan coba bertolak dengan berpedoman ekuipotensi dosis empirik sebagai dosis terendah dan ditingkatkan berdasarkan faktor logaritmik atau dengan rasio tertentu sampai batas yang masih dimungkinkan untuk diberikan. Cara pemberian diupayakan disesuaikan dengan cara penggunaannya (1).

Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk menetapkan potensi toksisitas relatif (LD_{50}), menilai gejala klinis, spektrum efek toksik, dan mekanisme kematian (1). Setelah mendapatkan perlakuan berupa pemberian obat dosis tunggal maka dilakukan pengamatan secara intensif, cermat, dengan frekuensi dan selama jangka waktu tertentu yaitu 7-14 hari, bahkan dapat lebih lama antara lain dalam kaitan dengan pemulihan gejala toksik (1).

Dari uji toksisitas akut dapat diperoleh data kualitatif berupa penampakan klinis dan morfologis efek toksik secara spesifik organ sasaran yang mungkin dirusak serta memberikan petunjuk mengenai dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama (7). Data kuantitatif yang diperoleh dari uji ini adalah LD₅₀ yang didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang diharapkan akan membunuh 50% hewan coba (7,13). Nilai LD₅₀ berguna dalam mengklasifikasikan zat kimia berdasarkan toksisitas relatif (Tabel 1).

Penentuan LD₅₀ dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain; metode Weil, metode grafik Probit, dan metode Farmakope Indonesia III (7).

1. Metode Weil (7)

Nilai LD₅₀ didapat berdasarkan rumus :

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

Keterangan:

m : nilai LD₅₀

D : dosis terkecil yang digunakan

d : log dari kelipatan dosis (Log R)

f : suatu faktor dalam tabel Weil

Nilai LD₅₀ diperoleh dari data kombinasi kematian dari percobaan yang dicocokkan dengan tabel yang dibuat Weil dengan taraf kepercayaan 95%.

2. Metode Grafik Probit (7)

Hewan uji diberi dosis-dosis yang menurun secara eksponensial sehingga didapatkan data presentasi kematian berupa garis linier. LD_{50} dihitung dengan rumus persamaan garis sederhana dengan memasukkan nilai log dosis sebagai y dan nilai dari tabel Probit sebagai x .

$$y = a + bx$$

Keterangan:

y = log dosis

x = nilai dari tabel Probit

3. Metode Farmakope Indonesia III (14)

Nilai LD_{50} dihitung dengan rumus:

$$m = a - b (\sum P_i - 0,5)$$

Keterangan:

m : log LD_{50}

a : logaritma dosis terendah yang dapat menyebabkan kematian dalam suatu kelompok

b : selisih logaritma dosis berurutan

P_i : jumlah hewan uji yang mati setelah menerima dosis i , dibagi dengan jumlah seluruh hewan uji yang menerima dosis

Syarat yang harus dipenuhi dalam metode ini adalah perlakuan menggunakan seri dosis dengan pengenceran berketepatan tetap. Jumlah hewan percobaan tiap kelompok harus sama dan dosis diatur sedemikian rupa sehingga memberikan efek kematian 0 – 100%.

B. GANDARUSA

1. Taksonomi

Gandarusa memiliki taksonomi sebagai berikut:

Dunia	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Bangsa	: Scrophulariales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: Justicia
Jenis	: <i>Justicia gendarussa</i> Burm.
Sinonim	: <i>Gendarussa vulgaris</i> T. Nees., <i>Justicia gendarussa</i> Linn., dan <i>Gendarussa</i> Rumph (15,16).

2. Nama Daerah dan Nama Asing

Gandarusa dikenal dengan bermacam-macam nama. Di Aceh, gandarusa bernama Besi-besi; di Jawa Barat: Handarusa; di Jawa Tengah: Gondarusa, Tetean, Trus; di Madura: Ghan Dharrusa; di Bima: Gandarisa; di Ternate: Puli; dan di Seram: Kawo (2).

Di berbagai negara, gandarusa juga dikenal dengan bermacam-macam nama. Di Malaysia tanaman ini dikenal dengan nama Gandarusa (sama seperti di Indonesia), Temenggong Melela, dan Urat Sugi; di Filipina: Kapanitulot, Bunlao, dan Tagpayan; dan di Thailand; Chiang Phraa Mon, Pong Dam, dan Kraduuk Kaidam (17).

3. Morfologi

Gandarusa merupakan tanaman perdu yang tumbuh tegak. Tinggi rata-rata berkisar dari 1 hingga 1,5 meter dan maksimum dapat mencapai 2 meter (2).

Daun gandarusa berbentuk lanset, pangkal bentuk baji, dengann ujung lancip. Tepi daun agak menggulung keluar. Helaian daun seperti kulit tipis dengan tekstur mulus, tidak berbulu, dan bertepi rata. Letaknya saling berhadapan (18,19).

Daun berwarna hijau gelap berukuran rata-rata 10 x 2 cm. Tulang daun berwarna ungu. Tangkai daun berwarna ungu gelap, memiliki panjang berkisar 0,5-0,75 cm. Jika digosok, daun berbau sedikit tidak enak (19).

4. Ekologi dan Penyebaran

Gandarusa merupakan tanaman liar yang tumbuh secara baik pada ketinggian 1 hingga 1500 m di atas permukaan laut. Walau termasuk tanaman liar, gandarusa ternaturalisasi di pinggiran hutan dan di atas tanggul sungai. Selain di Indonesia, gandarusa juga tersebar di Pakistan, India, Sri Lanka, Cina, Malaysia, Filipina, Thailand, dan Vietnam (16,17).

5. Kandungan Kimia

Daun Gandarusa mengandung justisin, minyak atsiri, kalsium oksalat, tanin, flavonoid, flavonol-3-glikosida, flavon, iso-orientin (luteolin-6-C-glikosida), iridoid, kumarin, luteolin, triterpen atau sterol, dan saponin (3,20,21).

6. Khasiat Kegunaan

Umumnya, gandarusa dijadikan pagar induk. Selain itu, tanaman ini juga memiliki berbagai khasiat bagi tubuh. Untuk pengobatan luar, daunnya berkhasiat mengatasi memar, bengkak, dan sakit pinggang. Untuk

pengobatan dalam, daunnya berkhasiat mengatasi sakit kepala, sembelit, dan rematik sendi (2).

Daun gandarusa juga mempunyai aktivitas antifertilitas dan efek analgesik. Infus daun gandarusa dapat menyebabkan perubahan jaringan tubulus seminiferus tikus putih dan mampu menghambat secara proporsional spermatogenesis tikus (18).

C. DARAH

Darah adalah cairan merah yang tidak tembus cahaya yang terdiri dari plasma berwarna kuning pucat (disebut serum jika dipisahkan dari fibrinogen) dan sel-sel yang terbenam di dalamnya, yaitu sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). Darah mempunyai peran dalam diagnosis klinis, karena darah mudah diambil dan banyak penyakit ditandai dengan perubahan yang spesifik pada komposisi dan sifat komponen darah (8). Penelitian tentang unsur darah penting dalam klinik karena morfologi, jumlah, dan perbandingan berbagai macam jenis sel-sel merupakan indikator dari berbagai perubahan patologis dalam tubuh. Jumlah sel yang abnormal juga mencerminkan respon tubuh terhadap proses-proses tertentu (22).

Fungsi utama darah adalah sebagai alat transportasi oksigen, karbondioksida, bahan-bahan makanan yang diserap usus, dan juga zat sisa metabolik yang akan dikeluarkan dari tubuh. Darah juga berperan dalam

mempertahankan keseimbangan asam-basa normal dalam tubuh, pengaturan keseimbangan air serta suhu tubuh, dan juga dalam pertahanan tubuh melawan infeksi (8).

Darah lengkap terdiri dari plasma darah dan sel-sel darah. Komponen cair darah yang disebut plasma terdiri dari 91-92% air yang berperan sebagai medium transport dan 8-9% zat padat. Plasma darah pada dasarnya adalah larutan air yang mengandung albumin, bahan pembeku darah, immunoglobulin (antibodi), hormon, berbagai jenis protein, dan berbagai jenis garam (23). Bahan padat yang terdapat dalam darah adalah protein seperti albumin, globulin dan fibrinogen, unsur anorganik berupa natrium, kalium, kalsium, dan lain sebagainya. Sel-sel darah terdiri dari eritrosit, leukosit, dan trombosit, yang mempunyai ukuran yang bervariasi. Leukosit merupakan sel yang paling besar, kemudian eritrosit dan platelet sel yang paling kecil. Eritrosit merupakan sel yang paling banyak, untuk setiap 500 eritrosit ada kira-kira 30 platelet dan hanya satu leukosit (23).

1. Eritrosit

Suatu kantung hemoglobin yang mengangkut O_2 dan CO_2 di dalam darah adalah eritrosit (24). Sel darah merah berbentuk seperti cakram bikonkaf, tidak berinti, dan berbentuk bundar bila dilihat pada bidang datar (22). Bentuk khas ini ikut berperan, melalui dua cara, terhadap efisiensi eritrosit mengangkut O_2 dalam darah. Pertama, bentuk bikonkaf

menghasilkan luas permukaan yang lebih besar bagi difusi O_2 menembus membran daripada yang dihasilkan oleh sel bulat dengan volume yang sama. Kedua, tipisnya sel memungkinkan O_2 berdifusi secara lebih cepat antara bagian paling dalam sel dengan eksteriornya. Eritrosit juga bersifat fleksibel sehingga memungkinkan eritrosit berjalan melalui kapiler yang sempit dan berkelok-kelok (24).

Eritrosit berumur lebih panjang dibandingkan leukosit, mampu bertahan rata-rata selama 120 hari dan harus diganti. Eritrosit dibentuk dalam sumsum tulang melalui proses yang dikenal sebagai eritropoesis. Dalam keadaan normal, sumsum tulang menghasilkan dua sampai tiga juta eritrosit per detik untuk mengimbangi musnahnya sel-sel yang tua. Penurunan penyaluran O_2 ke ginjal merangsang ginjal untuk mengeluarkan hormon eritropoetin ke dalam darah, kemudian hormon ini merangsang terjadinya eritropoesis di sumsum tulang. Eritropoetin bekerja pada turunan sel-sel bakal yang belum berdiferensiasi yang telah disiapkan untuk menjadi eritrosit, yaitu merangsang proliferasi dan pematangan eritrosit (24).

Dalam darah mencit terdapat jumlah eritrosit sebanyak 7-12 juta/mm³ darah dengan jumlah yang bervariasi menurut umur, jenis kelamin dan galur (25). Penurunan jumlah eritrosit dalam darah biasanya disertai dengan anemia, sementara peningkatan jumlah eritrosit (polisitemia) mungkin merupakan penyesuaian fisiologis (26).

2. Leukosit

Unit sistem pertahanan tubuh yang disebut leukosit bergerak (*mobile*) dan diangkut dalam darah ke tempat-tempat cedera atau ke tempat invasi mikroorganisme penyebab penyakit. Leukosit memiliki struktur yang bervariasi. Leukosit memiliki fungsi untuk menahan invasi bakteri patogen melalui proses fagositosis, mengidentifikasi, menghancurkan sel-sel kanker yang muncul di dalam tubuh, dan membersihkan tubuh dengan memfagosit debris yang berasal dari sel mati atau cedera (24). Pada mencit, jumlah sel darah putih sebesar 3000-12000/mm³ darah (25).

Produksi leukosit oleh sumsum tulang dapat melambat bahkan berhenti jika sumsum tulang terpajan bahan fisika atau kimia toksik. Dan produksi sel darah putih dapat meningkat sangat cepat pada keadaan leukemia yang merupakan suatu kanker yang disebabkan oleh proliferasi sel darah putih yang tidak terkontrol. Bila jumlah sel darah putih lebih dari normal, keadaan itu disebut leukositosis dan bila kurang dari normal disebut leukopenia (23,24).

Terdapat lima jenis leukosit yang sudah diidentifikasi dalam darah perifer, yaitu: neutrofil (55% dari total), eosinofil (1-2%), basofil (0,5-1%), monosit (6%), dan limfosit (36%). Berdasarkan gambaran nukleus dan keberadaan granula dalam sitoplasma, kelima jenis leukosit tersebut dibagi ke dalam dua kategori utama. Neutrofil, eosinofil, dan basofil dikategorikan sebagai granulosit polimorfonukleus karena mengandung banyak granula

dan nukleusnya tersegmentasi menjadi beberapa lobus dengan beragam bentuk. Sedangkan monosit dan limfosit dikategorikan sebagai agranulosit mononukleus karena memiliki sedikit granula dan nukleusnya tidak bersegmen (24). Masa hidup granulosit setelah dilepaskan dari sumsum tulang adalah 4-8 jam secara normal berada dalam sirkulasi darah dan 4-5 hari berikutnya di dalam jaringan.

Neutrofil adalah spesialis fagositik. Sel-sel ini selalu merupakan sel-sel pertahanan pertama pada infeksi bakteri, sehingga sangat berperan dalam respon peradangan. Selain itu, neutrofil juga dapat melakukan pembersihan debris (24, 27).

Eosinofil adalah sel khusus jenis lain. Peningkatan eosinofil di sirkulasi darah (eosinofilia) dikaitkan dengan keadaan alergi dan dengan infestasi parasit internal (misalnya cacing) (24).

Monosit merupakan sel fagosit professional. Setelah keluar dari pembuluh, monosit kemudian berdiam di jaringan dan membesar untuk menjadi fagosit jaringan yang dikenal sebagai makrofaga. Monosit lebih besar daripada limfosit dan mempunyai nukleus berbentuk oval. Monosit mempunyai masa edar 10-20 jam berada dalam darah sebelum beredar melalui membran kapiler ke dalam jaringan (23,24,27).

Limfosit merupakan leukosit terkecil yang ditandai oleh nukleus bulat besar yang menempati sebagian besar sel. Limfosit menghasilkan pertahanan imun terhadap sasaran yang telah diprogramkan untuk mereka. Limfosit B menghasilkan antibodi yang beredar dalam darah, sementara

limfosit T secara langsung menghancurkan sel-sel sasaran spesifik dalam suatu proses yang dikenal sebagai respon imun seluler (23,24).

Basofil secara struktural dan fungsional mirip dengan sel mast. Basofil mengeluarkan dua zat kimia yaitu histamin yang penting dalam respon alergi dan heparin yang membantu membersihkan partikel lemak dari darah (21).

3. Trombosit

Unsur sel yang terdapat dalam darah yang penting dalam hemostatis, yaitu penghentian perdarahan dari suatu pembuluh yang cedera adalah trombosit (24). Trombosit bukanlah suatu sel utuh tetapi merupakan suatu pecahan granular sel yang berbentuk piringan atau cakram-cakram protoplasma kecil, tidak berinti, dan tidak berwarna. Jumlah trombosit pada menciit adalah 600.000-1.200.000/mm³ darah (28). Bila jumlah trombosit lebih dari normal, keadaan itu disebut trombotosis dan bila kurang dari normal disebut trombotopenia (24).

Trombosit tetap berfungsi sekitar sepuluh hari untuk kemudian dikeluarkan dari sirkulasi oleh makrofag jaringan, terutama oleh makrofag yang terdapat di limpa dan hati dan diganti oleh trombosit baru yang dihasilkan oleh sumsum tulang. Trombosit tidak keluar dari pembuluh darah seperti yang terjadi pada leukosit, tetapi sekitar sepertiga trombosit total selalu tersimpan di dalam rongga-rongga berisi darah di limpa (24).

4. Hemoglobin

Bagian penting dari eritrosit dalam pengangkutan oksigen dan karbondioksida serta mempertahankan pH normal adalah hemoglobin. Hemoglobin merupakan suatu zat besi yang mengandung pigmen pernafasan yang memberi warna merah pada darah (21,24). Karena kandungan besinya, hemoglobin tampak kemerahan apabila berikatan dengan O₂ dan berwarna kebiruan apabila mengalami deoksigenisasi (24).

Hemoglobin berperan penting dalam transportasi oksigen dalam tubuh. Sebanyak 98,5% oksigen yang diangkut dalam darah terikat pada hemoglobin (24). Kadar hemoglobin dalam darah mencit berkisar antara 11,0-14,5 g/100 ml (28).

Hemoglobin terdiri dari dua bagian, yaitu bagian globin yang merupakan suatu protein yang terbentuk dari empat rantai polipeptida yang sangat berlipat-lipat dan gugus nitrogenosa nonprotein mengandung besi yang dikenal sebagai gugus heme, yang masing-masing terikat ke satu polipeptida. Setiap atom besi dapat berikatan secara reversibel dengan satu molekul oksigen sehingga satu molekul hemoglobin dapat mengangkut empat molekul oksigen (24,29).

Selain dapat berikatan dengan oksigen, hemoglobin juga dapat berikatan dengan karbon dioksida, ion hidrogen, dan karbon monoksida. Pengikatan hemoglobin dengan karbon dioksida memungkinkan darah mengangkut zat ini dari jaringan kembali ke paru. Sementara itu, kemampuan

hemoglobin untuk berikatan dengan ion hidrogen yang berasal dari asam karbonat yang terionisasi menyebabkan hemoglobin dapat menyangga asam ini, sehingga pH darah tidak terlalu terpengaruh. Sebaliknya, kemampuan hemoglobin untuk berikatan dengan karbon monoksida dapat menimbulkan bahaya. Gas ini dalam keadaan normal tidak terdapat dalam darah, tetapi jika terhirup akan menempati pengikatan O_2 di hemoglobin karena ikatan hemoglobin-CO jauh lebih kuat daripada ikatan hemoglobin- O_2 , sehingga terjadi keracunan karbon monoksida (24).



BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia Depok, dari bulan Januari sampai Mei 2009.

B. ALAT

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: *blender* (Nasional), *shaker*, *rotary evaporator* (Buchi), oven, alkoholmeter, sonde lambung, spuit (Terumo), mikrohematokrit (Marienfield), *microtube*, penangas air, timbangan analitik (Mettler-Toledo), timbangan hewan, mikroskop cahaya (Novex Holland), alat hemometer Sahli-Erka (Marienfield), hemositometer Improved Neubauer (Marienfield).

C. BAHAN

1. Bahan Uji

Pada penelitian ini bahan uji yang digunakan adalah daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) yang diperoleh dari kebun Farmasi UI, Depok.

2. Bahan-Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain: etanol 60%, asam klorida 0,1 N kit (ST-Reagensia), eter, heparin (Fahrenheit), larutan Rees-Ecker kit (ST-Reagensia), larutan Turk kit (ST-Reagensia), larutan Hayem kit (ST-Reagensia), aquadestillata.

3. Hewan Uji

Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus* L.) jantan dan betina dari galur ddY, berumur lebih kurang 2 bulan dengan berat badan 20 sampai 30 gram masing-masing berjumlah 50 ekor. Hewan uji diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

D. CARA KERJA

1. Penyiapan Simplisia Uji

Daun gandarusa dipisahkan dari cabang dan ranting, kemudian dibersihkan dengan air mengalir, dikeringkan pada udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung hingga cukup regas. Pengeringan dilanjutkan di dalam oven pada suhu 40-60^o C selama satu jam, kemudian diserbukkan menggunakan blender sehingga berukuran 30 mesh (30).

2. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi yaitu 200 gram serbuk kering simplisia dimasukkan ke dalam sebuah bejana, kemudian dituangi dengan 1000 ml etanol 60% dan ditutup. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan pengadukan sebanyak tiga kali menggunakan shaker. Setiap pengadukan dilakukan selama satu jam dan rentang waktu antar pengadukan adalah setengah jam. Kemudian campuran disaring dengan kertas saring. Maserasi dilakukan kembali terhadap ampas sebanyak empat kali dengan langkah-langkah yang sama seperti di atas (31).

Pelarut yang digunakan adalah etanol 60% yang memberikan rendemen terbanyak (6). Jumlah pelarut pada maserasi ulangan berkurang dari maserasi sebelumnya. Jika pada maserasi pertama berjumlah 1000 ml,

maka pada maserasi kedua 800 ml, pada maserasi ketiga dan keempat 600 ml dan pada maserasi kelima 500 ml.

Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur 50° C. Penguapan dilanjutkan menggunakan penangas air sampai diperoleh ekstrak kental. Kemudian ekstrak etanol daun gandarusa yang diperoleh diperiksa bentuk, rasa, warna dan baunya serta dilakukan penetapan parameter ekstrak.

3. Deskripsi Organoleptik Ekstrak

Ekstrak etanol daun gandarusa diperiksa bentuk, rasa, warna dan baunya.

4. Penetapan Parameter Ekstrak

a. Susut Pengerinan

Ekstrak ditimbang seksama sebanyak 1-2 gram dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105° C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan bantuan batang pengaduk hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5-10 mm. Kemudian dimasukkan ke dalam oven, dibuka tutupnya, dan dikeringkan pada suhu 105° C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan

dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar (14,32).

b. Kadar Air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan cara lebih kurang 10 gram ekstrak dimasukkan dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Ekstrak dikeringkan pada suhu 105° C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (32).

c. Kadar Abu

Pengukuran kadar abu dilakukan dengan cara lebih kurang 2-3 gram ekstrak yang telah digerus dan ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan. Zat dipijar di dalam tanur pada temperatur 800° C hingga arang habis, kemudian didinginkan (5 menit di udara, kemudian 10 menit di dalam desikator) dan ditimbang. Proses tersebut diulangi hingga bobot tetap (14,32).

5. Persiapan Hewan Uji

Dilakukan aklimatisasi mencit selama dua minggu di Laboratorium Farmakologi FMIPA UI. Mencit yang dijadikan hewan uji ditimbang berat badannya dan diamati keadaan fisiknya. Mencit yang digunakan dalam

percobaan harus sehat dan beratnya harus sesuai yaitu sekitar 20-30 gram. Lalu mencit yang sehat dikelompokkan secara acak dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 10 ekor mencit betina dan 10 ekor mencit jantan. Setiap mencit diberi makan juga minum dalam takaran yang sama setiap kelompok. Setiap mencit ditimbang beratnya secara berkala.

6. Penetapan Dosis

Penetapan dosis dilakukan dengan mengkonversi dosis manusia ke dosis mencit dengan mengalikannya dengan 0,0026 dan faktor farmakokinetika yaitu 10.

$$\text{Dosis} = \text{UD manusia} \times 0,0026 \times 10$$

Hasil perhitungan dosis ekstrak empiris adalah 4 g/kg bb dan dosis tersebut ditetapkan sebagai dosis terendah yang akan diberikan (Lampiran 1). Sedangkan untuk penentuan dosis terbesar perlu dilakukan orientasi terlebih dahulu untuk mengetahui dosis terbesar yang dapat diberikan pada mencit. Dosis terbesar yang digunakan adalah 32 g/kg bb mencit.

Kelompok dosis pertama adalah dosis kontrol, yang berisi aquadest. Dosis kedua berisi dosis ekstrak etanol terendah, dosis ketiga, keempat, dan kelima dihitung sebanyak 2 kali dosis sebelumnya. Pada pengujian ini, dosis yang diberikan pada mencit dibagi menjadi 5 kelompok (Tabel 7). Masing-

masing kelompok terdiri dari sepuluh 10 mencit jantan dan 10 ekor mencit betina.

7. Pembuatan Sediaan Uji

Bahan yang digunakan adalah ekstrak etanol daun gandarusa Volume maksimal yang dapat diberikan kepada mencit dalam satu kali penyondean adalah 1 ml. Larutan uji dibuat dengan menganggap bahwa berat maksimal mencit yang digunakan adalah 30 gram. Langkah pertama untuk membuat kelompok sediaan uji adalah dengan membuat sediaan uji dosis terbesar (dosis 4). Dosis 4 dibuat sebanyak 40 ml. Diambil 20 ml dari larutan dosis 4 dan diencerkan dengan aquadest sampai 40 ml untuk membuat larutan dosis 3. Larutan dosis 2 dibuat dengan mengencerkan larutan dosis 3 dan larutan dosis 1 dibuat dengan mengencerkan larutan dosis 2 (Gambar 2).

8. Penentuan LD₅₀

Pemberian obat dilakukan secara oral dan dari dosis yang diberikan dilihat hasilnya setelah 24 jam dengan menghitung jumlah mencit yang mati dari tiap kelompok. Kemudian nilai LD₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus Weil.

9. Pelaksanaan Percobaan

Percobaan dilakukan terhadap 100 ekor mencit (50 jantan dan 50 betina). Kelompok perlakuan dibagi secara acak menjadi lima kelompok berdasarkan pembagian dosisnya. Kelompok tersebut adalah sebagai berikut:

- a. Kelompok I terdiri dari 10 mencit jantan dan 10 mencit betina, hanya diberi aquadest.
- b. Kelompok II terdiri dari 10 mencit jantan dan 10 mencit betina, diberi dosis 1.
- c. Kelompok III terdiri dari 10 mencit jantan dan 10 mencit betina, diberi dosis 2.
- d. Kelompok IV terdiri dari 10 mencit jantan dan 10 mencit betina, diberi dosis 3.
- e. Kelompok V terdiri dari 10 mencit jantan dan 10 mencit betina, diberi dosis 4.

10. Cara Perlakuan

Pemberian larutan uji secara oral menggunakan sonde lambung dalam dosis tunggal dan hanya dilakukan pada hari ke-1. Dosis yang diberikan disesuaikan dengan berat badan mencit. Cara perlakuan terhadap hewan uji adalah sebagai berikut (Tabel 8):

- a. Pada hari ke-0, hewan uji ditimbang dan dilakukan penghitungan jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, dan penentuan kadar hemoglobin.
- b. Pada hari ke-1, hewan uji ditimbang sebelum diberi larutan uji secara oral. Sebelum diberi perlakuan, hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 3-4 jam, namun tetap diberi minum.
- c. Hewan uji diperlakukan sesuai dengan kelompoknya, kemudian dilakukan pengamatan terhadap gejala-gejala dan tanda-tanda toksisitas yang mungkin muncul.
- d. Penentuan LD₅₀ dilakukan setelah 24 jam dengan metode Weil.
- e. Penghitungan jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, dan penentuan kadar hemoglobin dilakukan kembali setelah 24 jam dan setelah 14 hari pemberian dosis.

11. Pengambilan Sampel Darah (33)

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan sampel darah melalui sinus orbital mata setelah mencit dibius dengan eter. Darah diambil dengan menggunakan tabung mikrohematokrit dengan gerakan menusuk sambil diputar dan ditekan pada sinus orbital. Darah yang diperoleh ditampung dalam *microtube* yang telah diberi heparin.

12. Pemeriksaan Darah

a. Perhitungan Jumlah Eritrosit

Prinsip dari perhitungan jumlah eritrosit adalah darah diencerkan dalam pipet eritrosit kemudian dimasukkan dalam kamar hitung *Improved Neubauer* (Gambar 4). Jumlah eritrosit dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi. Sebagai larutan pengencer yang digunakan adalah larutan Hayem.

1) Penyiapan Larutan Hayem

Sejumlah 2,5 g natrium sulfat, 0,5 g natrium klorida dan 0,25 g merkuri klorida dilarutkan dengan aquadest hingga 100 ml, kemudian disaring (34).

2) Prosedur Penghitungan Sel Darah Merah (34,35,36):

- a) Darah dihisap dengan pipet eritrosit sampai tepat garis 0,5
- b) Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Hayem dihisap sampai garis tanda 101, jangan sampai ada gelembung udara.
- c) Pipet diangkat dari cairan, kemudian dikocok selama 15-30 detik, tiga atau empat tetes cairan yang ada dalam batang kapiler pipet dibuang dan sisanya diteteskan dengan menyentuhkan ujung pipet dengan sudut 30° pada permukaan kamar hitung, dengan menyinggung pinggir kaca penutup.
- d) Kamar hitung dibiarkan selama 2-3 menit agar sel darah merah mengendap.

e) Eritrosit terdapat pada 5 bidang yang tersusun dari 16 bidang kecil dihitung dengan bantuan mikroskop dengan menggunakan lensa objektif besar (40 x) sampai garis-garis bagian dalam bidang tampak jelas (Gambar 5).

f) Sel yang menyinggung batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung, sebaliknya sel-sel yang menyinggung batas sebelah kanan atau bawah tidak dihitung.

g) Perhitungan

Pengenceran dalam pipet eritrosit adalah 200 kali. Luas tiap bidang kecil $1/400 \text{ mm}^2$, tinggi kamar hitung $1/10 \text{ mm}$. Sedangkan sel darah merah dihitung pada 5×16 bidang kecil yang luasnya $1/5 \text{ mm}^2$. Faktor konversi untuk mendapatkan jumlah sel darah merah per mm^3 darah menjadi $5 \times 10 \times 200 = 10.000$.

b. Perhitungan Jumlah Leukosit

Prinsipnya adalah darah diencerkan dalam pipet leukosit kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer* (Gambar 4). Jumlah sel darah putih dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi. Jumlah leukosit per mm^3 darah dapat dihitung. Sebagai larutan pengencer yang digunakan adalah larutan Turk. Metode yang digunakan untuk pengambilan sampel darah, mengisi kamar hitung sama dengan metode untuk eritrosit. Dan untuk cara perhitungan jumlah sel prinsipnya sama yaitu menggunakan mikroskop dengan pengaturan lensa objektif.

Perbedaannya terletak pada pembesaran lensa yang digunakan untuk menghitung sel.

1) Penyiapan Larutan Turk (34)

Sejumlah 3 ml asam asetat glasial dan 1 ml gentian violet 1% (b/v) diencerkan dengan aquadest hingga 100 ml, kemudian disaring.

2) Prosedur Penghitungan Sel Darah Putih (34,35,36):

- a) Darah dihisap dengan pipet leukosit sampai tepat garis 0,5.
- b) Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Turk dihisap sampai garis tanda 11, jangan sampai ada gelembung udara.
- c) Prosedur selanjutnya sama dengan pengukuran pada eritrosit.
- d) Leukosit terdapat pada 4 bidang besar yang tersusun dari 16 bidang kecil dihitung dengan bantuan mikroskop dengan menggunakan lensa objektif kecil (10 x), sampai garis-garis bagian dalam bidang tampak jelas (Gambar 5).
- e) Sel yang menyinggung batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung, sebaliknya sel-sel yang menyinggung batas sebelah kanan atau bawah tidak dihitung.
- f) Perhitungan
Pengenceran dalam pipet leukosit adalah 20 kali. Jumlah semua sel yang dihitung dalam keempat bidang itu dibagi empat menunjukkan jumlah leukosit dalam $0,1 \text{ mm}^3$. Angka tersebut dikalikan 10 untuk tinggi dan 20 untuk pengenceran untuk mendapatkan jumlah leukosit

dalam 1 mm^3 darah. Jadi jumlah sel yang dihitung dikali 50 sama dengan jumlah sel darah putih dalam 1 mm^3 darah.

c. Perhitungan Jumlah Trombosit

Prinsipnya adalah darah diencerkan dalam pipet eritrosit kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer* (Gambar 4). Jumlah trombosit dihitung dengan volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi. Sebagai larutan pengencer digunakan larutan Rees-Ecker.

1) Penyiapan Larutan Rees-Ecker (34)

Sejumlah 3,8 gram natrium sitrat ditambah dengan 0,1 gram brilliant kresil biru dan 0,2 ml formaldehid 40%, dilarutkan dalam aquadest hingga 100 ml. Kemudian larutan tersebut disaring sebelum digunakan.

2) Prosedur Penghitungan Trombosit (34,35,36):

- a) Darah dihisap dengan pipet eritrosit sampai tepat garis 0,5.
- b) Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Rees-Ecker dihisap sampai garis tanda 101, jangan sampai ada gelembung udara.
- c) Prosedur selanjutnya sama dengan pengukuran pada eritrosit.
- d) Trombosit terdapat pada bidang besar yang letaknya di tengah-tengah dihitung dengan bantuan mikroskop dengan menggunakan lensa objektif besar (40 x), sampai garis-garis bagian dalam bidang tampak jelas.

e) Sel yang menyinggung batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung, sebaliknya sel-sel yang menyinggung batas sebelah kanan atau bawah tidak dihitung.

f) Perhitungan

Pengenceran yang terjadi dalam pipet eritrosit adalah 200 kali.

Trombosit yang dihitung pada bidang seluas 1 mm^2 dengan tinggi 0,1 mm, sebagai faktor konversinya adalah 2000 kali.

d. Penetapan Kadar Hemoglobin (Metode Sahli)

Prinsipnya adalah mereaksikan hemoglobin dengan asam klorida yang menghasilkan asam hematin yang berwarna coklat tua kemudian dibandingkan secara visual dengan warna standar pada alat hemometer (Gambar 6). Prosedur penetapan kadar hemoglobin adalah sebagai berikut (34,35,36):

- 1) Lima tetes HCl 0,1 N dimasukkan dalam tabung hemometer
- 2) Sampel darah dihisap dengan pipet sampai tepat garis 0,02 ml. Darah yang masih melekat pada ujung pipet dibersihkan dengan menghisap HCl ke dalam pipet 2-3 kali sampai garis tanda 0,02 ml. Isi tabung diaduk supaya darah dan HCl bereaksi hingga berwarna coklat tua.
- 3) Tambahkan air setetes demi setetes, tiap kali diaduk dengan batang pengaduk sampai warna yang terjadi sama dengan warna standar.
- 4) Kadar hemoglobin dibaca dalam g/100 ml.

14. Pengolahan Data

Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji distribusi normal (*Saphiro-Wilk*). Uji homogenitas (*Levene*), lalu dilanjutkan dengan analisis anava satu arah, jika terdapat perbedaan secara bermakna, maka uji dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (32).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PENELITIAN

1. Ekstrak

a. Presentase Bobot Daun Kering Terhadap Daun Segar

Presentase bobot daun kering terhadap daun segar gandarusa, yaitu 26,44% dan 26,69%. Presentase rata-rata bobot daun kering terhadap daun segar adalah 26,56% (Tabel 9).

b. Nilai Rendemen

Ekstrak etanol daun gandarusa memberikan rendemen sebesar 26% (Tabel 10).

c. Deskripsi Organoleptik

Ekstrak berbentuk kental, berasa pahit, bewarna hitam kecoklatan, dan berbau spesifik (Gambar 7).

d. Pengukuran Susut Pengerinan

Hasil pengukuran susut pengerinan ekstrak etanol daun gandarusa, yaitu 22,09% dan 21,78%. Susut pengerinan rata-rata adalah 21,93% (Tabel 11).

e. Pengukuran Kadar Air

Hasil pengukuran kadar abu ekstrak, yaitu 13,12% dan 14,23%. Kadar abu rata-rata adalah 13,67% (Tabel 12).

f. Pengukuran Kadar Abu

Hasil Pengukuran Kadar air ekstrak etanol daun gandarusa, yaitu 9,94% dan 8,54%. Kadar air rata-rata adalah 9,24% (Tabel 13).

2. Uji Toksisitas Akut

a. Nilai LD50

Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun gandarusa dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 1. Hasil Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Gandarusa

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah Kematian Mencit	
		Jantan	Betina
Dosis 1 (4 g/kg bb)	10	0	0
Dosis 2 (8 g/kg bb)	10	0	0
Dosis 3 (16 g/kg bb)	10	0	0
Dosis 4 (32 g/kg bb)	10	5	7

Dari tabel di atas, hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun gandarusa menunjukkan bahwa ekstrak etanol uji pada dosis sebesar 32 g/kg bb menyebabkan kematian sebesar 50% pada kelompok mencit jantan dan 70% pada kelompok mencit betina.

Pada tabel Weil tidak didapatkan data f untuk kematian 0; 0; 0; 5 dan 0; 0; 0; 7 sehingga deret kematian digeser dan dianggap bahwa bila dosis bisa ditingkatkan maka kematian pada kelompok mencit jantan dan betina diharapkan berturut-turut, yaitu 0; 0; 5; 10 dan 0; 0; 7; 10 sehingga didapatkan $f = 1$ untuk jantan dan $f = 0,8$ untuk betina. Nilai LD_{50} ekstrak

etanol daun gandarusa diperoleh sebesar 31,99 g/kg bb untuk jantan dan 27,85 g/kg bb untuk betina dengan kategori tidak toksik (Lampiran 1).

b. Pemeriksaan darah

i. Penghitungan jumlah eritrosit

Jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan dan betina dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 2. Jumlah Rata-Rata Eritrosit Mencit Putih Sebelum (Hari 0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Jumlah Eritrosit Rata-Rata ($10^6/\text{mm}^3$)		
		Hari 0	Setelah 24 Jam	Setelah 14 Hari
Jantan	I	$7,66 \pm 1,78$	$7,54 \pm 1,34$	$7,70 \pm 1,58$
	II	$8,03 \pm 1,65$	$6,80 \pm 1,80$	$7,05 \pm 1,07$
	III	$7,48 \pm 1,34$	$7,32 \pm 1,78$	$7,77 \pm 0,76$
	IV	$8,06 \pm 1,34$	$8,12 \pm 1,19$	$7,59 \pm 0,87$
Betina	I	$8,36 \pm 0,95$	$7,45 \pm 1,34$	$7,65 \pm 0,93$
	II	$8,42 \pm 1,83$	$7,71 \pm 1,80$	$7,48 \pm 1,15$
	III	$8,59 \pm 1,51$	$7,99 \pm 1,39$	$7,83 \pm 0,99$
	IV	$7,57 \pm 2,10$	$7,52 \pm 1,82$	$7,43 \pm 1,54$

Keterangan: I kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb mencit), III dosis II (8 g/kg bb mencit), IV dosis III (16 g/kg bb mencit)

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 14 dan Tabel 15.

Hasil uji analisis variansi satu arah (one way ANOVA) terhadap jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan dan betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam, dan setelah 14 hari menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna ($\alpha = 0,05$) antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

ii. Penghitungan jumlah leukosit

Jumlah leukosit rata-rata mencit jantan dan betina dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 3. Jumlah Leukosit Rata-Rata Mencit Putih Sebelum (Hari 0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Jumlah Leukosit Rata-Rata ($10^3/\text{mm}^3$)		
		Hari 0	Setelah 24 Jam	Setelah 14 Hari
Jantan	I	5,94 ± 1,21	7,65 ± 2,64	5,92 ± 1,58
	II	7,30 ± 2,27	6,53 ± 1,65	6,45 ± 1,14
	III	5,39 ± 1,27	5,57 ± 1,54	6,67 ± 1,74
	IV	6,53 ± 2,16	6,02 ± 1,33	5,97 ± 2,05
Betina	I	6,46 ± 2,99	5,55 ± 1,75	5,99 ± 0,99
	II	7,77 ± 2,11	7,38 ± 2,70	6,28 ± 1,35
	III	6,06 ± 1,46	6,42 ± 1,94	6,20 ± 1,50
	IV	6,74 ± 1,32	6,17 ± 2,22	6,62 ± 2,06

Keterangan: I kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb mencit), III dosis II (8 g/kg bb mencit), IV dosis III (16 g/kg bb mencit)

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 16 dan Tabel 17.

Hasil uji analisis variansi satu arah (one way ANOVA) terhadap jumlah leukosit rata-rata mencit jantan dan betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam, dan setelah 14 hari menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna ($\alpha = 0,05$) antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

iii. Penghitungan jumlah trombosit

Jumlah trombosit rata-rata mencit jantan dan betina dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 4. Jumlah Trombosit Rata-Rata Mencit Putih Sebelum (Hari 0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Jumlah Trombosit Rata-Rata ($10^5/\text{mm}^3$)		
		Hari 0	Setelah 24 Jam	Setelah 14 Hari
Jantan	I	6,81 ± 1,56	5,83 ± 1,77	6,29 ± 1,21
	II	6,72 ± 1,01	6,31 ± 1,54	6,32 ± 1,33
	III	6,83 ± 1,03	6,30 ± 1,20	6,13 ± 1,20
	IV	6,78 ± 1,42	5,81 ± 1,54	5,32 ± 1,49
Betina	I	6,09 ± 1,56	6,51 ± 0,96	4,81 ± 1,07
	II	6,10 ± 1,70	6,71 ± 0,57	4,41 ± 1,58
	III	5,92 ± 1,65	5,83 ± 1,85	4,73 ± 1,39
	IV	5,86 ± 1,66	5,88 ± 1,68	6,11 ± 1,10

Keterangan: I kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb mencit), III dosis II (8 g/kg bb mencit), IV dosis III (16 g/kg bb mencit)

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 18 dan Tabel 19.

Hasil uji analisis variansi satu arah (one way ANOVA) terhadap jumlah trombosit rata-rata mencit jantan dan betina sebelum perlakuan (hari 0), setelah 24 jam, dan setelah 14 hari menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna ($\alpha = 0,05$) antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

iv. Penghitungan kadar hemoglobin

Kadar hemoglobin rata-rata mencit jantan dan betina dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 5. Kadar Hemoglobin Rata-Rata Mencit Putih Sebelum (Hari 0), Setelah 24 Jam dan Setelah 14 Hari Perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Jumlah Hemoglobin Rata-Rata (g/100 ml)		
		Hari 0	Setelah 24 Jam	Setelah 14 Hari
Jantan	I	12,1 ± 1,69	11,7 ± 1,77	12,22 ± 2,24
	II	12,15 ± 2,38	12,32 ± 2,35	11,4 ± 2,09
	III	12,2 ± 2,51	11,58 ± 2,87	12,84 ± 1,91
	IV	11,28 ± 2,74	12,06 ± 2,94	12,51 ± 2,15
Betina	I	11,92 ± 1,49	11,78 ± 2,34	11,62 ± 1,98
	II	12,56 ± 2,07	11,63 ± 2,32	12,18 ± 1,76
	III	11,66 ± 2,38	11,44 ± 1,68	11,40 ± 1,15
	IV	11,56 ± 2,36	11,91 ± 2,14	11,83 ± 1,22

Keterangan: I kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb mencit), III dosis II (8 g/kg bb mencit), IV dosis III (16 g/kg bb mencit)

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 16 dan Tabel 17.

Hasil uji analisis variansi satu arah (one way ANOVA) terhadap kadar hemoglobin rata-rata mencit jantan dan betina sebelum perlakuan (hari 0), setelah 24 jam, dan setelah 14 hari menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara bermakna ($\alpha = 0,05$) antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

B. PEMBAHASAN

Tanaman obat yang semula banyak dimanfaatkan oleh negara berkembang sekarang digunakan secara luas sampai ke negara-negara maju. Awalnya tanaman obat digunakan secara turun-temurun untuk mengatasi penyakit atau meningkatkan daya tahan tubuh. Dengan bertambah majunya ilmu pengetahuan dan berkembangnya teknologi, uji praklinik dan klinik dilakukan untuk memperoleh informasi khasiat dan keamanan. Di Indonesia obat maupun suplemen kesehatan yang ditujukan untuk konsumsi masyarakat luas harus memiliki nomor registrasi dari badan POM. Untuk mendapatkan nomor registrasi tersebut diperlukan data-data keamanan obat tersebut. Penelitian ini akan memberikan data mengenai keamanan ekstrak etanol 60 % daun gandarusa yang didapat melalui uji toksisitas akut sebagai uji keamanan pendahuluan.

Melalui uji toksisitas akut didapatkan nilai LD_{50} suatu zat yang dapat digunakan untuk menyatakan potensi toksisitas relatif suatu obat dan dipergunakan sebagai acuan dalam penentuan dosis untuk uji toksisitas

subkronik dan kronik. Pada penelitian ini juga diketahui pengaruh ekstrak etanol 60 % daun gandarusa terhadap parameter darah pada mencit putih. Pemeriksaan darah yang dilakukan meliputi penghitungan eritrosit, leukosit, trombosit dan penetapan kadar hemoglobin. Jumlah, bentuk, dan warna darah memiliki makna fungsional yang penting dalam banyak proses terjadinya suatu penyakit (9).

Penelitian diawali dengan proses penyiapan simplisia, daun gandarusa yang digunakan berasal dari kebun Farmasi FMIPA UI Depok. Tanaman gandarusa ini sudah dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor. Bagian tanaman gandarusa yang dipergunakan adalah daun yang berasal dari ruas ketiga hingga ruas ke delapan dihitung dari ujung tanaman.

Daun gandarusa segar dibersihkan dahulu sebelum digunakan. Pengeringan dilakukan dengan tujuan memperkecil kadar air yang terdapat dalam simplisia. Kadar air yang tinggi di dalam simplisia menyebabkan pelarut lebih cepat jenuh dengan air sehingga proses ekstraksi kurang efektif, selain itu pengeringan ditujukan untuk menghambat pertumbuhan jamur/bakteri penyebab pembusukan simplisia.

Pengecilan ukuran simplisia dilakukan dengan tujuan memudahkan senyawa kimia terekstraksi dari simplisia. Ukuran serbuk sebaiknya tidak terlalu besar dan tidak terlalu kecil. Ukuran serbuk yang terlalu kecil akan menyulitkan proses penyaringan karena serbuk akan menutupi pori-pori

kertas saring dan ukuran yang terlalu besar menyebabkan penyarian simplisia kurang optimal.

Sebagai obat tradisional daun gandarusa dikonsumsi dalam bentuk rebusan air. Dalam upaya mengembangkan bentuk sediaan farmasi maka dibuat sediaan berbentuk ekstrak. Pada penelitian ini, daun gandarusa diujikan dalam bentuk ekstrak etanol dengan pertimbangan etanol memiliki sifat kepolaran yang mirip dengan air sehingga diharapkan kandungan kimia yang tertarik oleh etanol tidak berbeda dengan air dan etanol mudah diuapkan juga dapat didestilasi sehingga penggunaannya hemat dalam segi waktu dan kuantitas.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi sebanyak lima kali dengan jumlah pelarut yang berkurang dan dengan pelarut yang baru. Metode maserasi dipilih untuk menghindari senyawa yang tidak tahan panas, selain itu pengocokan yang dibantu *shaker* dapat meningkatkan daya penetrasi pelarut ke dalam simplisia, sehingga proses ekstraksi lebih efektif. Pengulangan ditujukan agar lebih banyak senyawa yang dapat terekstraksi. dan jumlah pelarut yang digunakan pada maserasi ulangan lebih sedikit dari maserasi sebelumnya karena berdasarkan pertimbangan bahwa ada pelarut yang tertarik pada maserasi ulangan lebih sedikit dari maserasi sebelumnya tertahan dalam wadah selama proses penyaringan dan jumlah zat yang tertarik pada maserasi ulangan lebih sedikit dari maserasi sebelumnya.

Uji pendahuluan telah dilakukan pada penelitian sebelumnya yang bertujuan untuk menentukan konsentrasi alkohol yang menghasilkan

rendemen terbanyak, yaitu konsentrasi etanol 60% (6). Konsentrasi ini digunakan sebagai pelarut untuk proses ekstraksi daun gandarusa. Filtrat yang diperoleh dari proses maserasi kemudian dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan penangas air. Pemekatan tidak langsung dilakukan pada penangas air karena etanol masih dapat dipisahkan. Proses pemekatan dilakukan pada suhu tidak lebih dari 50° C untuk menghindari kerusakan senyawa yang tidak tahan panas seperti minyak atsiri.

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian ditentukan karakteristik spesifiknya yaitu organoleptik. Pemeriksaan ini ditujukan untuk pengenalan awal ekstrak secara sederhana. Karakteristik ekstrak non spesifik meliputi susut pengeringan, kadar air, dan kadar abu total.

Susut pengeringan adalah banyaknya bagian zat yang mudah menguap, termasuk air, ditetapkan dengan cara pengeringan, kecuali dinyatakan lain, dilakukan pada suhu 105° C sampai bobot tetap, yang dinyatakan sebagai nilai persen. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air. Tujuan penetapan susut pengeringan adalah untuk memberikan batasan minimal senyawa yang hilang pada proses pengeringan (32). Nilai susut pengeringan rata-rata ekstrak etanol daun gandarusa adalah 21,93%.

Penetapan kadar air adalah pengukuran kandungan air yang terdapat dalam ekstrak, tujuannya adalah memberikan batas minimal rentang tentang

besarnya kandungan air di dalam air (32). Nilai kadar air rata-rata ekstrak etanol daun gandarusa adalah 13,67%.

Penetapan kadar abu dilakukan untuk mengetahui kandungan mineral total yang terkandung dalam ekstrak yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Prinsip pengukuran kadar abu adalah ekstrak dipanaskan pada suhu dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik (32).

Bobot tetap berarti perbedaan dua kali penimbangan tidak lebih dari 0,50 mg untuk tiap gram zat yang digunakan. Penimbangan kedua dilakukan setelah zat dipanaskan lagi selama 1 jam (14). Kadar abu total ekstrak etanol daun gandarusa adalah 9,24%.

Nilai rendemen ekstrak, susut pengeringan, kadar air, dan kadar abu pada penelitian terdahulu berturut-turut adalah 27,13%; 21,45%; 14,64%; dan 10,44%. Nilai parameter ekstrak yang didapat pada penelitian ini hampir sama dengan nilai parameter ekstrak pada penelitian terdahulu yang membuktikan khasiat ekstrak etanol daun gandarusa dalam menurunkan kadar asam urat dalam darah. Dosis yang ditetapkan dihitung dengan memasukkan beberapa faktor di atas sehingga diharapkan efek yang ditimbulkan oleh ekstrak yang digunakan pada penelitian ini sama dengan pada penelitian terdahulu.

Penentuan LD₅₀ ini menggunakan empat kelompok dosis. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor mencit jantan dan 10 ekor mencit betina. Hal ini sesuai dengan ketentuan *World Health Organization* (WHO) yang

menyatakan bahwa pada penggunaan binatang pengerat sebagai hewan uji untuk tiap kelompok terdiri dari sedikitnya 5 ekor mencit betina dan 5 ekor mencit jantan (11).

Dosis yang digunakan pada percobaan ini ditentukan berdasarkan hasil orientasi dan uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya. Larutan uji diberikan secara oral dengan menggunakan sonde lambung. Untuk kelompok II, III, IV dan V diberikan larutan ekstrak etanol daun gandarusa dengan dosis yang sesuai dan kelompok I adalah kelompok kontrol yang hanya diberi aquadest. Empat macam tingkatan dosis yang dipakai merupakan dosis dengan kelipatan dua. Penentuan LD₅₀ dilakukan dengan metode Weil yang paling umum digunakan karena tingkat kepercayaannya tinggi (95%) dengan penggunaan hewan uji yang relatif sedikit (7).

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu mencit putih jantan dan betina galur ddY (*Deutsche Yoken*) berumur lebih kurang dua sampai tiga bulan dengan berat badan 20-30 g masing-masing 50 ekor. Hewan ini dipilih karena mempunyai sensitivitas terhadap obat dengan dosis kecil, mudah dibiakkan dan mudah didapat. Karena ukurannya yang kecil maka perawatannya lebih mudah dan lebih murah. Selain itu, banyak terdapat data toksikologi tentang jenis hewan ini (38,39).

Penggunaan dua jenis kelamin pada penelitian ini bertujuan untuk melihat perbedaan respon toksik yang mungkin timbul dari pemberian larutan uji pada kedua jenis kelamin hewan uji. Hormon seksual dapat menjadi

target ataupun dapat memodifikasi respon toksik tertentu, sehingga respon toksik dapat berbeda antara hewan jantan dan betina (11,39).

Selain dipengaruhi oleh hormon, toksisitas akut juga dapat bervariasi karena adanya perbedaan usia, kondisi kesehatan, berat badan, sifat genetik, perbedaan absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Pada hewan uji yang belum dewasa sistem enzim untuk metabolisme bahan uji belum lengkap, sehingga efek toksik yang ditimbulkan dapat menjadi lebih besar. Sedangkan hewan uji yang tua sudah mengalami penurunan fungsi organ sehingga toksisitas yang ditimbulkan juga dapat menjadi lebih besar. Berat badan yang berlebihan juga dapat mempengaruhi distribusi serta penyimpanan bahan uji, terutama yang bersifat lipofilik. Untuk memperkecil perbedaan tersebut, pada percobaan ini digunakan hewan uji dengan galur dan usia yang sama, serta berat badan yang berada dalam rentang yang dekat dengan variasi tidak melebihi 20% dari berat badan rata-rata seluruh mencit (39).

Hewan uji yang digunakan dikelompokkan secara acak dengan metode rancangan acak lengkap (RAL) satu hari sebelum percobaan dimulai, tujuannya untuk memperoleh satuan percobaan yang seseragam mungkin dalam setiap kelompok, sehingga beda yang teramati sebagian besar disebabkan oleh perlakuan. Cara yang digunakan adalah dengan metode pengundian. Semua mencit yang akan digunakan diberi nomor, kemudian dilakukan pengundian, setelah itu mencit dimasukkan ke dalam kelompok berdasarkan pengundian.

Sebelum percobaan dimulai, hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu agar dapat beradaptasi dengan lingkungan baru. Selama masa aklimatisasi hewan uji diberi makan dan minum secara teratur dan ditimbang berat badannya secara berkala, juga dilakukan pengamatan kondisi kesehatan mencit secara umum.

Mencit yang diikuti sertakan dalam penelitian adalah mencit yang sehat dengan ciri-ciri mata jernih bersinar, bulu tidak berdiri, tingkah normal, dan berat badan yang tidak menurun. Mencit yang sakit dan tidak memenuhi standar berat badan tidak diikuti dalam perlakuan.

Pengambilan darah sebelum perlakuan, setelah 24 jam perlakuan dan setelah 14 hari perlakuan dilakukan melalui sinus orbital mata. Pengambilan darah melalui mata lebih disukai daripada pengambilan darah melalui ekor karena waktu pengambilan darah lebih cepat mengingat sel darah mudah mengalami lisis sehingga dapat mengganggu jumlah sel darah (11). Darah yang diperoleh ditampung dalam *microtube* yang telah diberi heparin untuk mencegah pembekuan darah dan langsung dilakukan pemeriksaan darah.

Dalam satu hari penyondean digunakan 10 mencit yang terdiri dari 5 mencit jantan dan 5 mencit betina dari masing-masing dosis. Sebelum diberikan larutan uji, mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 3-4 jam. Tujuannya adalah untuk mengosongkan lambung hewan uji sehingga mengurangi interaksi bahan uji dengan makanan dan agar hewan uji tidak dimuntahkan kembali oleh mencit (39).

Setelah pemberian larutan uji, mencit diamati kondisinya untuk melihat apakah ada tanda-tanda toksik yang muncul atau tidak. Pengamatan pada mencit kembali dilakukan pada 24 jam setelah pemberian larutan uji dengan menghitung jumlah mencit yang mati dan melakukan pengambilan darah untuk dilakukan pemeriksaan darah. Selanjutnya hewan uji diamati selama 14 hari untuk melihat kemungkinan munculnya tanda-tanda toksisitas yang tertunda.

Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun gandarusa menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun gandarusa pada dosis 32 g/kg bb mencit menyebabkan kematian sebesar 50% pada mencit jantan dan 70% pada mencit betina. Dari tabel Weil tidak ada data f untuk kematian 0; 0; 0; 5 dan 0; 0; 0; 7. Pemberian dosis di atas dosis tertinggi tidak dapat dilakukan karena larutan uji terlalu pekat atau kental sehingga tidak dapat dikeluarkan dari sonde lambung maka deret kematian digeser dan dianggap bahwa bila dosis bisa ditingkatkan, kematian pada kelompok mencit jantan dan betina diharapkan berturut-turut, yaitu 0; 0; 5; 10 dan 0; 0; 7; 10 sehingga didapatkan $f = 1$. Dari perhitungan dihasilkan nilai LD_{50} ekstrak etanol daun gandarusa yaitu sebesar 31,99 g/kg bb untuk jantan dan 27,85 g/kg bb untuk betina dengan kategori tidak toksik. Gejala toksik yang terlihat pada pengamatan setelah pemberian oral ekstrak etanol daun gandarusa antara lain penurunan aktivitas gerak, bulu berdiri, dan terjadinya kejang sebelum mati.

Kematian pada kelompok dosis tertinggi mencapai 70% yang berarti bahwa jumlah mencit pada kelompok tersebut sudah tidak memenuhi ketentuan WHO dimana dalam setiap kelompok minimal terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina sehingga untuk pemeriksaan darah data kelompok dosis tertinggi tidak digunakan (11).

Untuk menganalisis hasil percobaan digunakan program SPSS 16. Adapun uji yang digunakan adalah uji analisis variansi satu arah (ANAVA) agar setiap kelompok perlakuan dapat langsung dibandingkan dengan kelompok lain, tidak hanya dengan kelompok kontrol. Dari hasil analisis tersebut dapat diketahui ada tidaknya hasil yang berbeda secara bermakna antara kelompok yang satu dengan yang lainnya. Jika terdapat perbedaan secara bermakna, maka analisa dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui secara lebih teliti kelompok yang memiliki perbedaan tersebut. Dalam pengujian hipotesis ada asumsi yang perlu diperhatikan, yaitu setiap populasi menyebar mengikuti distribusi normal, dengan ragam populasi yang sama (37). Maka untuk membuktikan bahwa populasi terdistribusi normal dilakukan uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) dan untuk membuktikan bahwa ragam populasi sama (homogen) dilakukan uji homogenitas (*Levene*).

Penghitungan jumlah sel darah, eritrosit, leukosit, dan trombosit dilakukan menggunakan metode kamar hitung. Penghitungan jumlah sel darah juga dapat dilakukan secara otomatis dengan menggunakan mesin penghitung sel (*Cell counter*). Penggunaan metode kamar hitung dipilih

karena masih dapat digunakan di laboratorium kecil, lebih mudah dilakukan, dan lebih murah. Penggunaan larutan pengencer dipilih untuk menjaga agar komponen darah yang diperiksa tidak mengalami lisis, namun dapat membuat komponen darah yang tidak diperiksa mengalami lisis sehingga tidak mengganggu penghitungan.

Penghitungan eritrosit dilakukan dengan metode kamar hitung menggunakan larutan pengencer yang dikenal dengan larutan Hayem. Larutan yang digunakan harus isotonik untuk mencegah lisis dan krenasi (pengkerutan) sel darah merah. Selain itu larutan pengencer juga harus mengandung fiksatif untuk mempertahankan bentuk eritrosit, mencegah autolisis dan aglutinasi sehingga masih dapat dihitung walaupun sampel telah disiapkan beberapa jam sebelumnya (35).

Hasil uji secara statistik menunjukkan bahwa jumlah eritrosit pada mencit jantan dan mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam perlakuan dan setelah 14 hari perlakuan antar kelompok tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan ($\alpha = 0,05$). Berdasarkan hasil uji ANAVA satu arah ini maka pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak berpengaruh terhadap jumlah eritrosit mencit putih (Lampiran 2 dan Lampiran 3).

Penghitungan leukosit dilakukan dengan metode kamar hitung menggunakan larutan Turk sebagai pengencer. Adanya asam lemah dalam larutan Turk mampu menghemolisis eritrosit sehingga tidak mengganggu penghitungan leukosit (35).

Hasil uji secara statistik menunjukkan bahwa jumlah leukosit pada mencit jantan dan mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam perlakuan dan setelah 14 hari perlakuan antar kelompok tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan ($\alpha = 0,05$). Berdasarkan hasil uji ANAVA satu arah ini maka pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak berpengaruh terhadap jumlah leukosit mencit putih (Lampiran 4 dan Lampiran 5).

Penghitungan trombosit juga dilakukan dengan metode kamar hitung menggunakan Rees Ecker sebagai larutan pengencer. Adanya brilliant kresil biru dalam larutan Rees Ecker akan mewarnai trombosit menjadi kebiruan, sehingga memudahkan penghitungannya (34).

Hasil uji secara statistik menunjukkan bahwa jumlah trombosit pada mencit jantan dan mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam perlakuan dan setelah 14 hari perlakuan antar kelompok tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan ($\alpha = 0,05$). Berdasarkan hasil uji ANAVA satu arah ini maka pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak berpengaruh terhadap jumlah trombosit mencit putih (Lampiran 6 dan Lampiran 7).

Pengukuran kadar hemoglobin berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya kelainan terhadap eritrosit. Untuk pengukuran kadar hemoglobin digunakan metode Sahli yang tidak mahal, mudah dilakukan, sederhana, dan masih banyak digunakan di laboratorium klinik. Dengan metode ini hemoglobin diukur sebagai hematin asam, dengan cara menambahkan asam klorida ke dalam sampel darah, kemudian warna yang diperoleh dibandingkan secara visual dengan warna standar yang terdapat dalam alat

hemometer. Metode lain yang dapat digunakan adalah dengan catra fotoelektrik (sianmethemoglobin) yang ketelitiannya dapat mencapai lebih kurang 2%, tetapi cara ini lebih sulit dilakukan dibandingkan dengan cara Sahli (35).

Hasil uji secara statistik menunjukkan bahwa kadar hemoglobin pada mencit jantan dan mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam perlakuan dan setelah 14 hari perlakuan antar kelompok tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan ($\alpha = 0,05$). Berdasarkan hasil uji ANAVA satu arah ini maka pemberian ekstrak etanol daun gandarusa tidak berpengaruh terhadap kadar hemoglobin mencit putih (Lampiran 8 dan Lampiran 9).

Data keseluruhan yang diperoleh mengenai jumlah eritrosit, leukosit, trombosit dan kadar hemoglobin memperlihatkan terjadinya penurunan dan peningkatan jumlah yang fluktuatif pada penghitungan sebelum perlakuan, setelah 24 jam perlakuan dan setelah 14 hari perlakuan. Perbedaan nilai hitung tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain adanya variasi biologis, faktor lingkungan, ketidakhomogenan larutan uji, dan ketidaktepatan penghitungan sel-sel darah.

Adanya variasi biologis antara hewan uji tidak dapat dihindari sehingga nilai normal parameter darah antara satu hewan dan hewan lainnya dapat berbeda-beda. Faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban, udara juga dapat menyebabkan perubahan yang signifikan pada nilai parameter darah. Penggunaan aquadest untuk larutan uji menyebabkan ketidakhomogenan karena meninggalkan klorofil yang tidak larut. Walaupun klorofil bukan zat

berkhasiat yang mempengaruhi efek, molekul-molekul zat berkhasiat dapat terperangkap dalam molekul-molekul klorofil sehingga dosis yang diberikan tidak tepat. Perbedaan nilai hitung juga dapat disebabkan oleh banyaknya faktor kesalahan dalam penghitungan jumlah sel dan kadar hemoglobin secara manual seperti ketidaktepatan dalam mengencerkan, ketidaktepatan dalam mereaksikan sampel, dan kesalahan paralaks.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Nilai LD_{50} ekstrak etanol 60% daun gandarusa adalah sebesar 31,99 g/kg bb untuk jantan dan 27,85 g/kg bb untuk betina dengan kategori tidak toksik.
2. Pemberian ekstrak etanol 60% daun gandarusa hingga dosis 16 g/kg bb tidak mempengaruhi jumlah eritrosit, leukosit, trombosit, dan kadar hemoglobin.

B. SARAN

Untuk lebih mendukung dan melengkapi data keamanan ekstrak etanol daun gandarusa yang digunakan untuk penggunaan dalam jangka waktu yang lama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas ekstrak etanol daun gandarusa dengan uji toksisitas subkronik dan kronik.

DAFTAR ACUAN

1. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2000: 4 dan 15.
2. Heyne, K. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya, 1987: 1759.
3. Dalimartha, S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1*. Ungaran: Trubus Agriwidya, 1999: 62-63.
4. Soemardji, A.A., Endang K., Cucu A. Toksisitas Akut dan penentuan LD₅₀ Oral Ekstrak Air daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.F.) pada Mencit Swiss Webster. Bandung: Institut Teknologi Bandung, 2002: 1.
5. Ratnasooriya, W.D, S.A. Deraniyagala, D.C. Dehigaspitiya. Antinociceptive activity and toxicological study of aqueous leaf extract of *Justicia gendarussa* Burm. F. in Rats. *Pharmacognosy Magazine* 3(11), 2007: 149.
6. Julian, M. Iqbal. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.) Terhadap Tikus Putih Jantan yang Dibuat Hiperurisemia Dengan Kalium Oksonat. Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA UI. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 2008: 37 dan 55.
7. Harmita dan Radji M. *Buku Ajar Analisa Hayati*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas MIPA Universitas Indonesia, 2004: 49-78.
8. Schmid, R.F. & G. Thews. *Human Physiology*. 2nd rev.ed. Translated by Marguerite A.B, Thorson. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1989: 402.

9. Murray, R.K., Daryl K.G., Peter A.M., Victor, W.R. *Biokimia Harper*. ed. 25. Alih bahasa: Andry Hartono. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2003: 702.
10. Setiawati, A, Zunilda S.B., Suyatna F.D. Pengantar Farmakologi. *Dalam: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Indonesia. Farmakologi dan Terapi*. ed. 4. Jakarta: Gaya Baru, 1995: 21.
11. World Health Organization. *Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines*. Geneva: World Health Organization. 1993: 1, 35-40.
12. Loomis, TA. *Toksikologi Dasar*. ed. 3. Alih bahasa: Drs. Imono Argo Donatus. Semarang: IKIP Semarang Press, 1978: 225.
13. Donatus. *Toksikologi Dasar*. Yogyakarta :Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, 2001: 151-165, 187.
14. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. 1995. *Farmakope Indonesia*. ed. III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995: xxxiii, 840, 910.
15. Jones, Jr., Samuel B., Arlene E.L. *Plant Systematics*. ed. 2. Singapura: McGraw-Hill Book Co., 1987: 477-48.
16. Kasahara, S. & Seizaburo H. *Medicinal Herb Index in Indonesia*. Tanpa Kota Terbit: PT Eisai Indonesia, 1986: 318.
17. Padua, L. S., N. Bunyaphatsara, dan RHMJ Lemmens. *Plant Resources of South East Asia No. 12 (1) Medicinal and Poisonous Plants 1*. Bogor: Prosea Foundation. 1999: 330.
18. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. *Vademekum Bahan Obat Alam*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989: 69.

19. Van Steenis, CGGJ, dkk. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta Pusat: Pradnya Paramita, 1975: 393.
20. Sudarsono, Didik G., Subagus W., Imono A.D., Purnomo. *Tumbuhan Obat Tradisional dan Penggunaan*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional Universitas Gaja Mada, 2002: 94.
21. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Justicia gendarussa Burm. F. http://www.warintek.riset.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depk/es/1-162.pdf, 23 Mei 2009, pk. 21.00.
22. Lesson, R.C., Thomas S.L., Anthony A.P.. *Buku Ajar Histologi*. ed. 5. Terj. dari *Text of Histology*, oleh Brahm U.P. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1991: 159-180, 383-388.
23. Price, S.A. & Lorraine M.W. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. ed. 4 buku I. Terj. dari *Pathophysiology: Clinical Concepts Of Disease Processes*, oleh Peter A. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1994: 119-121.
24. Sherwood, L. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. ed. 2. Terj. dari *Human Physiology : From Cells To Systems*, oleh Brahm U.P. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2001: 345-364.
25. Derelanko, M.J., Hollinger, Manfred A. *Handbook of Toxicology*. 2nd.ed. USA: CRC Press LLC, 2002: 51.
26. Junqueira, C, Carneiro J, Kelley RO. *Histologi Dasar*. ed. 8. Terj. dari *Basic Histology*, oleh Jan T. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1998: 229.
27. Guyton, A.C. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Terj dari *Textbook of Medical Physiology*, oleh Irawati S. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran, 1995: 529-530, 544-545.

28. UNMC. Breeding, Physiological and Nutritional Parameter by Species, Appendix D. <http://www.unmc.edu/Education/Guide/appends.html>, 23 April 2009, pk. 20.30.
29. Levinson, SA & MacFate RP. *Clinical Laboratory Diagnosis*. 6th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1961: 721-727.
30. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989: xx.
31. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Acuan Sediaan Herbal*. ed. 1. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2000: 3.
32. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 2000: 14,16,17.
33. Hoff, J. *Methods of Blood Collection in The Mouse*. Lab. Animal 29 (10). Michigan : University of Michigan, 2000: 50-51.
34. Gandasoebata, R. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat, 2006: 11-15, 16-17,19-21,35-37.
35. Brown, B.A. *Hematology: Principles and Procedures*. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febriger, 1980: 71-72, 75-83, 100-102.
36. Davidshon, I. & John BH. *Todd-Sanford, Clinical Diagnosis By Laboratory Methods*. 14th ed. Philadelphia: WB. Sanders Company, 1971: 128, 139-143, 155-160.
37. Santoso, S. *Panduan Lengkap Menguasai SPSS 16*. Jakarta: Elex Media Komputindo, 2008: 237-247.
38. Parmart, NS & Prakash S. *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford, UK: Alpha Science International Ltd, 2006: 46.

39. Wallace, H.A. *Principle and Methods of Toxicology*. New York: Raven Press, 1982: 1-26.







Gambar 1. Daun gandarusa



Gambar 2. Larutan uji

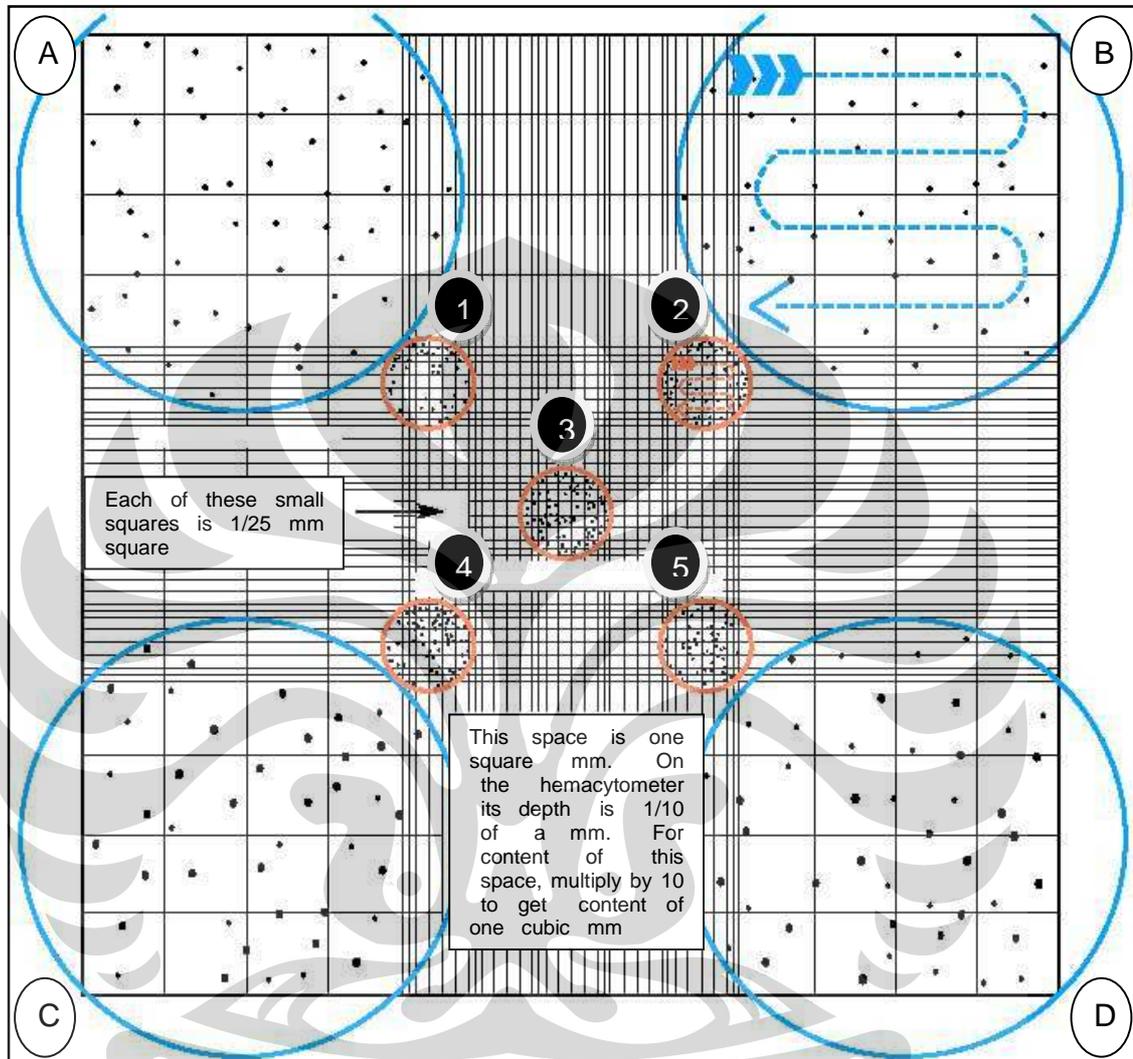
Keterangan : I Kontrol (aquadest), II dosis 1 (4 g/kg bb), III dosis 2 (8 g/kg bb), IV dosis 3 (16 g/kg bb), V dosis 4 (32 g/kg bb)



Gambar 3. Pengambilan darah melalui mata



Gambar 4. Hemositometer *Improved Neubauer*



Gambar 5. Area penghitungan sel darah pada kamar hitung
Improved Neubauer

Keterangan:

A-B-C-D adalah daerah penghitungan sel darah putih

1-2-3-4-5 adalah daerah penghitungan sel darah merah

Huruf, angka dan panah tidak nyata terlihat dalam kamar hitung

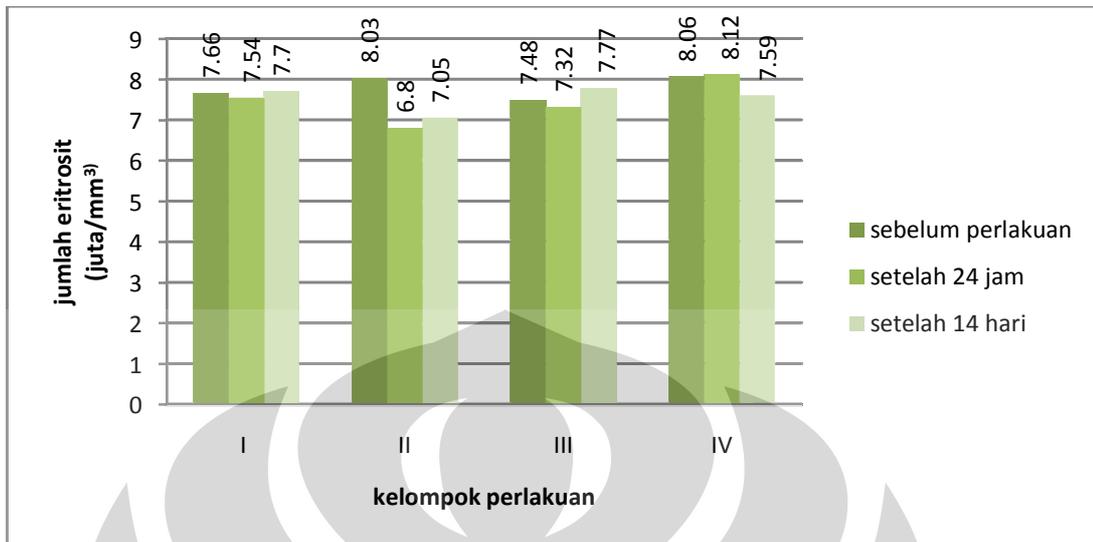
Lingkaran menggambarkan daerah yang terlihat di mikroskop



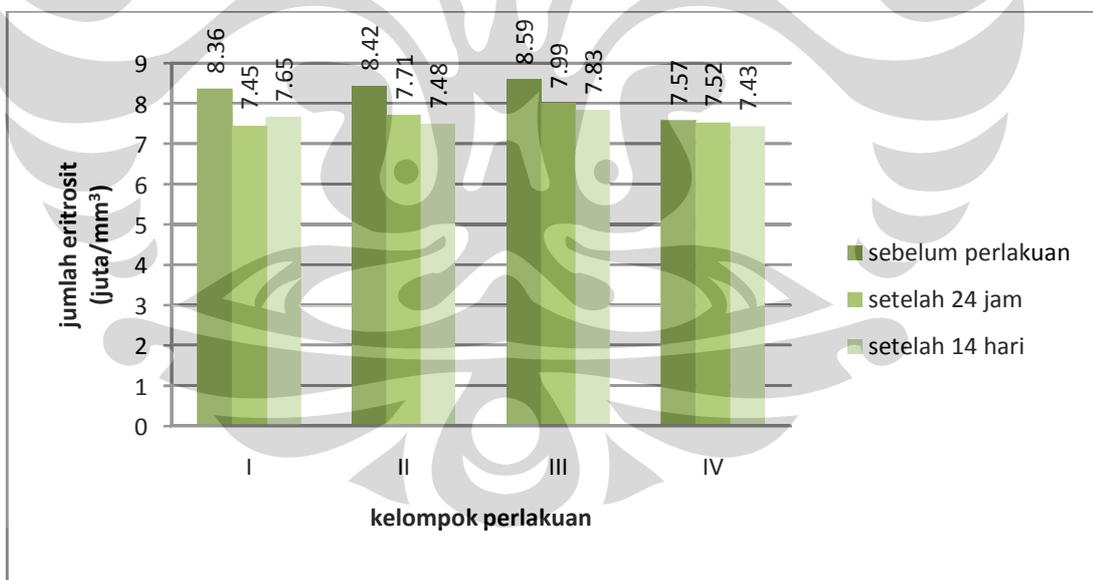
Gambar 6. Hemometer Sahli



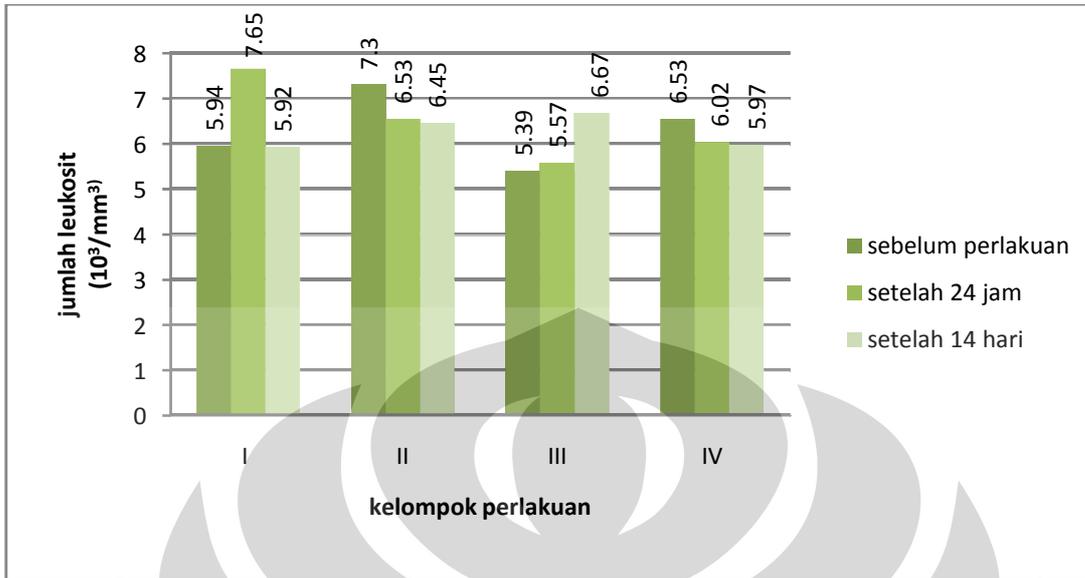
Gambar 7. Ekstrak etanol daun gandarusa



Gambar 8. Diagram batang jumlah eritrosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.
Keterangan : I Kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb), III dosis II (8 g/kg bb), IV dosis III (16 g/kg bb)

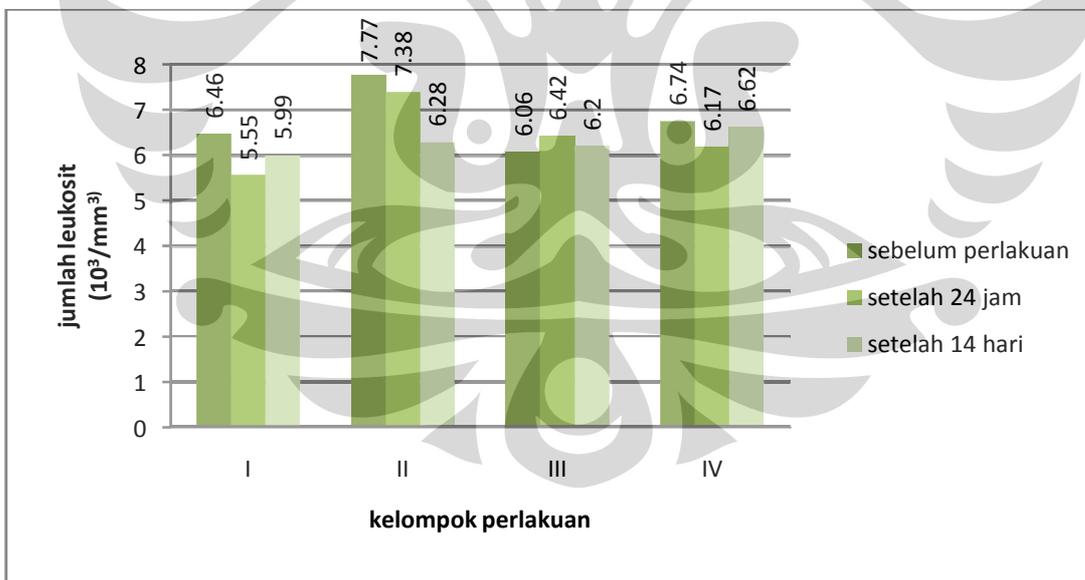


Gambar 9. Diagram batang jumlah eritrosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.
Keterangan : I Kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb), III dosis II (8 g/kg bb), IV dosis III (16 g/kg bb)



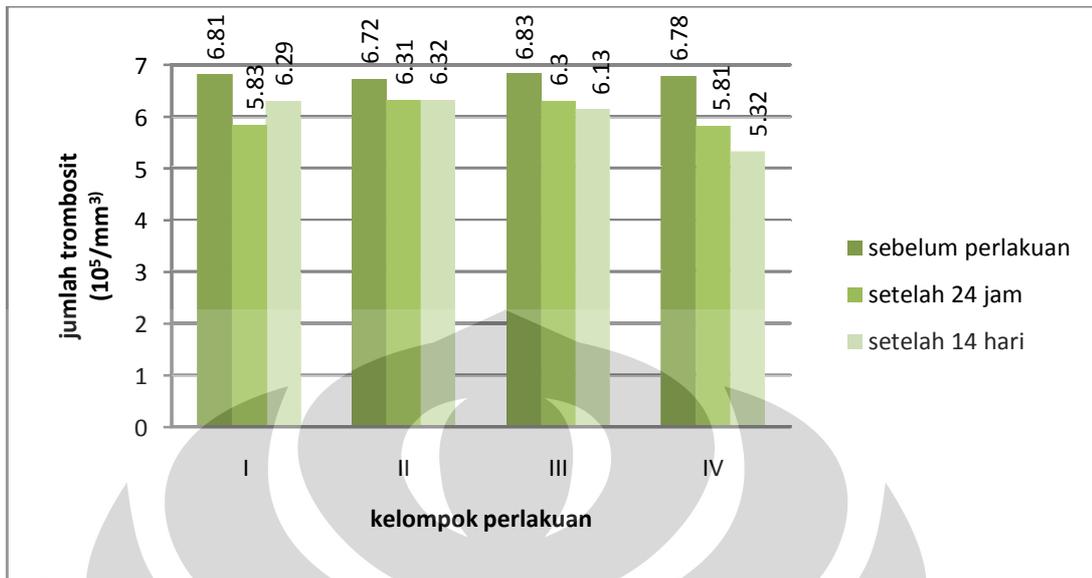
Gambar 10. Diagram batang jumlah leukosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

Keterangan : I Kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb), III dosis II (8 g/kg bb), IV dosis III (16 g/kg bb)

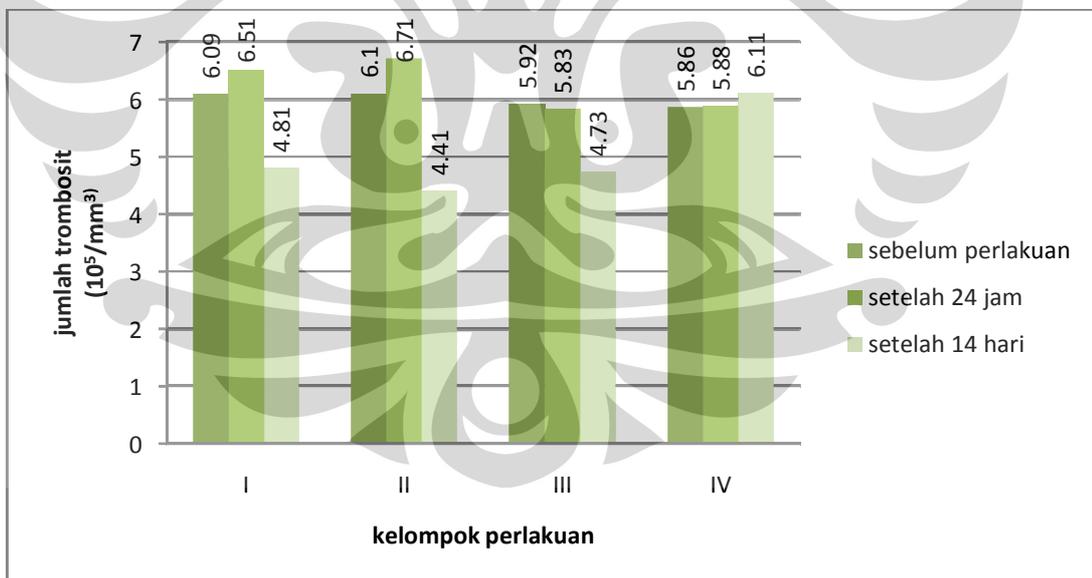


Gambar 11. Diagram batang jumlah leukosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.

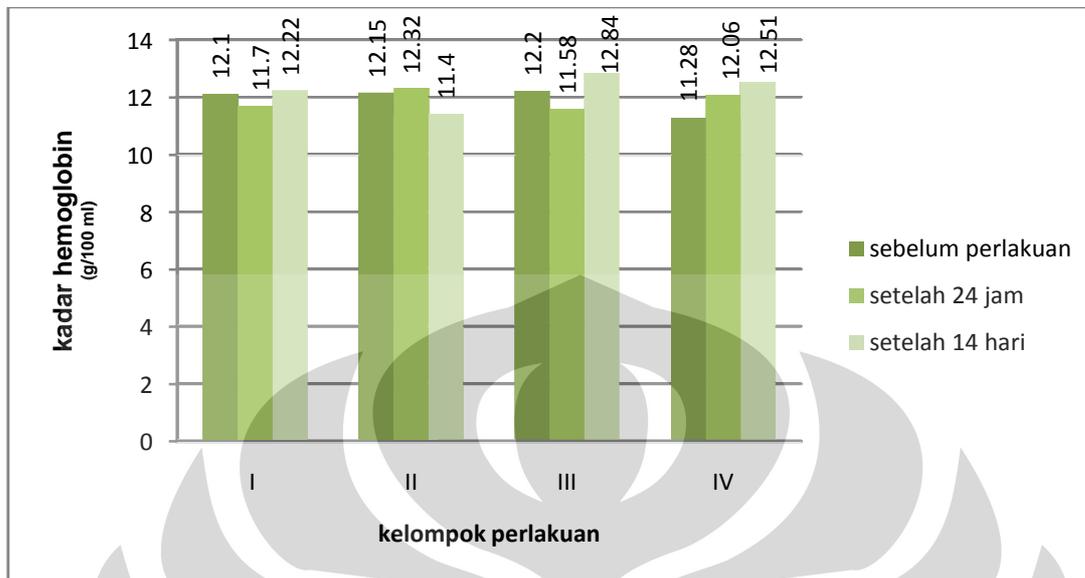
Keterangan : I Kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb), III dosis II (8 g/kg bb), IV dosis III (16 g/kg bb)



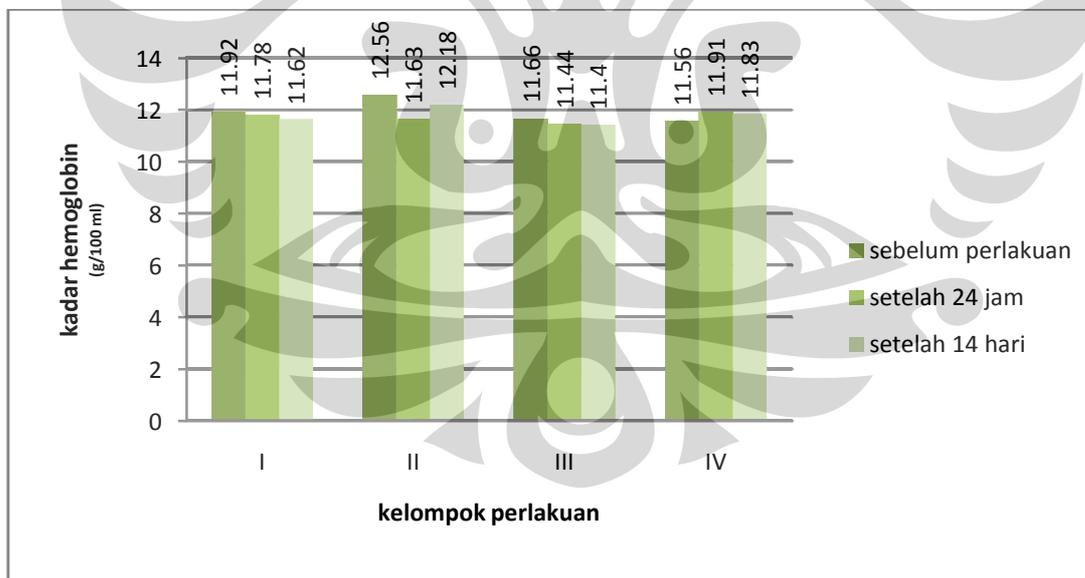
Gambar 11. Diagram batang jumlah trombosit rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan. Keterangan : I Kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb), III dosis II (8 g/kg bb), IV dosis III (16 g/kg bb)



Gambar 12. Diagram batang jumlah trombosit rata-rata mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan. Keterangan : I Kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb), III dosis II (8 g/kg bb), IV dosis III (16 g/kg bb)



Gambar 13. Diagram batang kadar hemoglobin rata-rata mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan. Keterangan: I Kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb), III dosis II (8 g/kg bb), IV dosis III (16 g/kg bb)



Gambar 15. Diagram batang kadar hemoglobin rata-rata mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan. Keterangan : I Kontrol (aquadest), II dosis I (4 g/kg bb), III dosis II (8 g/kg bb), IV dosis III (16 g/kg bb)



Tabel 6. Klasifikasi senyawa berdasarkan toksisitas relatif

KATEGORI	LD ₅₀
Super toksik	5 mg/kg atau kurang
Sangat toksik	5-50 mg/kg
Toksik	50-500 mg/kg
Cukup toksik	0,5-5 g/kg
Sedikit Toksik	5-15 g/kg
Tidak toksik	> 15 g/kg

Tabel 7. Kelompok dan perlakuan

KELOMPOK	DOSIS
Kelompok I (kontrol)	Aquadest
Kelompok II	4 g/kg bb
Kelompok III	8 g/kg bb
Kelompok IV	16 g/kg bb
Kelompok V	32 g/kg bb

Tabel 8. Tahapan perlakuan

No	Perlakuan	Hari ke-0	Hari ke-1	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
1	Penimbangan	v	v	v	v
2	Penyondean	x	v	x	x
3	Hematologi	v	x	v	v

Tabel 9. Presentase bobot daun gandarusa kering terhadap daun gandarusa segar

Bobot Daun Segar(g)	Bobot Daun Kering(g)	Presentase(%)
817,0	216,0	26,44
625,6	167,0	26,69
rata-rata		26,56

Tabel 10. Rendemen ekstrak etanol 60% daun gandarusa

Bobot Simplisia(g)	Bobot Ekstrak(g)	Rendemen Ekstrak(%)
200,0	52,0	26,00

Tabel 11. Data susut pengeringan ekstrak etanol daun gandarusa

Bobot Ekstrak (g)	Bobot Sisa Pengeringan (g)	Bobot yang Hilang (g)	Susut Pengeringan(%)
1,0120	0,7884	0,2236	22,09
1,0038	0,7852	0,2186	21,78
	rata-rata		21,93

Tabel 12. Data kadar air ekstrak etanol daun gandarusa

Bobot Ekstrak (g)	Bobot Sisa Pengeringan (g)	Bobot yang Hilang (g)	Kadar Air (%)
10,1513	8,8190	1,3323	13,12
10,0480	8,6186	1,4294	14,23
	rata-rata		13,67

Tabel 13. Data kadar abu ekstrak etanol daun gandarusa

Bobot Ekstrak (g)	Bobot Sisa Pengeringan (g)	Kadar Abu (%)
2,3667	0,2353	9,94
2,0319	0,1736	8,54
	rata-rata	9,24

Tabel 14. Jumlah eritrosit mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

KELOMPOK	JUMLAH ERITROSIT ($10^6/\text{mm}^3$)		
	SEBELUM PERLAKUAN	SETELAH 24 JAM	SETELAH 14 HARI
Kontrol (aquadest)	10,67	7,47	7,00
	9,41	5,30	5,46
	8,780	9,85	mati
	8,20	6,63	6,05
	7,65	8,50	7,86
	4,30	6,25	8,68
	5,95	7,83	9,46
	7,03	7,50	9,88
	7,18	7,04	6,25
	7,40	8,98	8,65
Jumlah rata-rata \pm SD	7,66 \pm 1,78	7,54 \pm 1,34	7,70 \pm 1,58
Dosis 1 (4 g/kg bb)	10,66	5,15	5,75
	6,71	5,84	6,35
	10,21	6,84	6,74
	8,21	5,92	7,88
	9,10	10,54	8,70
	5,93	6,34	7,28
	7,57	4,80	mati
	8,84	9,32	7,99
	6,32	6,25	7,30
	6,75	6,95	5,45
Jumlah rata-rata \pm SD	8,03 \pm 1,65	6,80 \pm 1,80	7,05 \pm 1,07
Dosis 2 (8 g/kg bb)	5,48	6,55	8,58
	7,07	6,30	mati
	8,20	5,04	6,80
	7,58	5,02	8,33
	7,26	8,85	7,56
	10,48	9,35	8,58
	7,10	7,25	7,15
	7,43	7,75	8,57
	6,13	6,70	7,56
	8,09	10,39	6,78
Jumlah rata-rata \pm SD	7,48 \pm 1,34	7,32 \pm 1,78	7,77 \pm 0,76
Dosis 3 (16 g/ kg bb)	10,51	7,40	mati
	5,99	9,25	8,61
	8,09	8,15	6,61
	9,10	10,75	8,45
	7,45	7,75	8,05
	8,05	8,52	8,23
	8,28	6,55	6,02
	7,18	7,48	7,13
	6,63	7,18	7,66
	9,35	8,14	7,55
Jumlah rata-rata \pm SD	8,06 \pm 1,34	8,12 \pm 1,19	7,59 \pm 0,87

Tabel 15. Jumlah eritrosit mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

KELOMPOK	JUMLAH ERITROSIT ($10^6/\text{mm}^3$)		
	SEBELUM PERLAKUAN	SETELAH 24 JAM	SETELAH 14 HARI
Kontrol (aquadest)	8,02	7,85	6,90
	8,32	6,37	7,66
	7,98	6,94	7,23
	9,80	8,25	8,35
	7,40	8,89	8,98
	9,12	5,61	6,90
	8,25	7,66	6,78
	7,35	8,75	8,35
	9,93	5,28	6,49
	7,45	8,89	8,90
Jumlah rata-rata \pm SD	8,36 \pm 0,95	7,45 \pm 1,34	7,65 \pm 0,93
Dosis 1 (4 g/kg bb)	9,76	9,37	6,61
	7,08	8,05	mati
	8,67	5,90	9,87
	7,66	8,97	8,75
	5,45	6,99	5,78
	6,10	4,55	7,26
	11,08	7,09	7,13
	8,87	7,34	7,45
	10,41	7,89	7,90
	9,08	10,91	6,78
Jumlah rata-rata \pm SD	8,42 \pm 1,83	7,71 \pm 1,80	7,48 \pm 1,15
Dosis 2 (8 g/kg bb)	9,36	9,98	7,18
	8,61	7,80	7,45
	6,57	7,06	8,65
	6,35	6,82	7,89
	7,98	9,56	6,26
	11,50	8,78	9,66
	9,24	7,90	7,65
	9,60	8,30	8,24
	7,96	5,19	6,78
	8,76	8,50	8,56
Jumlah rata-rata \pm SD	8,59 \pm 1,51	7,99 \pm 1,39	7,83 \pm 0,99
Dosis 3 (16 g/ kg bb)	4,15	9,67	5,06
	10,28	10,46	9,80
	6,78	5,00	6,57
	8,09	9,08	7,68
	7,64	7,37	8,51
	7,50	6,98	5,06
	6,90	6,78	7,56
	8,76	7,98	7,90
	10,79	5,05	8,90
	4,80	6,78	7,23
Jumlah rata-rata \pm SD	7,57 \pm 2,10	7,52 \pm 1,82	7,43 \pm 1,53

Tabel 16. Jumlah leukosit mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

KELOMPOK	JUMLAH LEUKOSIT ($10^3/\text{mm}^3$)		
	SEBELUM PERLAKUAN	SETELAH 24 JAM	SETELAH 14 HARI
Kontrol (aquadest)	4,70	4,45	5,90
	6,10	7,90	6,10
	4,450	5,90	mati
	5,25	4,20	3,75
	7,20	8,55	4,40
	5,00	8,25	5,80
	7,50	10,40	7,40
	7,90	9,10	9,00
	5,50	12,30	4,80
	5,80	5,45	6,15
Jumlah rata-rata \pm SD	5,94 \pm 1,21	7,65 \pm 2,64	5,92 \pm 1,58
Dosis 1 (4 g/kg bb)	6,35	7,60	6,50
	5,95	8,50	6,25
	7,30	7,00	6,75
	9,05	4,50	5,80
	7,45	3,90	4,90
	3,00	5,45	5,20
	11,10	5,55	mati
	9,60	6,70	8,45
	5,80	7,20	6,40
	7,40	8,90	7,80
Jumlah rata-rata \pm SD	7,30 \pm 2,27	6,53 \pm 1,65	6,45 \pm 1,14
Dosis 2 (8 g/kg bb)	4,70	4,10	9,00
	5,40	6,80	mati
	4,50	3,20	6,70
	6,00	5,60	4,30
	8,60	4,25	4,90
	4,60	7,55	5,30
	4,10	4,50	8,90
	5,45	6,80	7,80
	5,00	7,50	7,50
	5,60	5,40	5,60
Jumlah rata-rata \pm SD	5,39 \pm 1,27	5,57 \pm 1,54	6,67 \pm 1,74
Dosis 3 (16 g/ kg bb)	4,00	8,90	mati
	6,05	4,80	10,35
	10,15	5,20	4,90
	6,75	5,50	4,95
	9,65	5,60	3,40
	4,30	5,70	4,80
	6,60	7,00	8,00
	7,80	4,30	5,60
	4,20	7,05	6,00
	5,75	6,20	5,75
Jumlah rata-rata \pm SD	6,53 \pm 2,16	6,02 \pm 1,33	5,97 \pm 2,05

Tabel 17. Jumlah leukosit mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

KELOMPOK	JUMLAH LEUKOSIT ($10^3/\text{mm}^3$)		
	SEBELUM PERLAKUAN	SETELAH 24 JAM	SETELAH 14 HARI
Kontrol (aquadest)	7,70	7,60	6,80
	4,35	4,80	5,65
	5,50	3,40	6,05
	10,50	3,70	8,35
	4,35	4,95	6,20
	3,75	5,60	4,80
	6,70	6,75	5,20
	5,60	5,50	5,50
	12,60	8,90	5,60
	3,50	4,25	5,70
Jumlah rata-rata \pm SD	6,46 \pm 2,99	5,55 \pm 1,75	5,99 \pm 0,99
Dosis 1 (4 g/kg bb)	6,00	5,40	7,00
	6,85	7,20	mati
	9,70	5,40	7,40
	8,75	3,80	5,85
	9,75	8,75	4,70
	7,60	9,40	6,35
	4,10	7,15	5,35
	8,90	5,95	8,50
	5,50	7,30	7,00
	10,50	13,45	4,35
Jumlah rata-rata \pm SD	7,77 \pm 2,11	7,38 \pm 2,70	6,28 \pm 1,35
Dosis 2 (8 g/kg bb)	4,35	5,65	6,65
	5,80	6,90	5,75
	5,70	5,50	5,70
	6,60	7,60	6,10
	8,30	3,15	5,20
	5,50	8,75	8,90
	4,60	9,40	4,50
	7,80	7,15	6,00
	4,35	5,95	8,60
	7,60	4,15	4,60
Jumlah rata-rata \pm SD	6,06 \pm 1,48	6,42 \pm 1,94	6,20 \pm 1,50
Dosis 3 (16 g/ kg bb)	6,05	10,80	4,10
	8,35	6,20	10,15
	6,70	3,40	6,75
	8,80	7,30	9,65
	7,80	3,20	4,30
	5,00	7,40	6,60
	7,40	5,35	6,70
	5,35	5,40	5,60
	5,40	7,40	7,45
	6,50	5,20	4,90
Jumlah rata-rata \pm SD	6,74 \pm 1,32	6,17 \pm 2,22	6,62 \pm 2,06

Tabel 18. Jumlah trombosit mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

KELOMPOK	JUMLAH TROMBOSIT ($10^5/\text{mm}^3$)		
	SEBELUM PERLAKUAN	SETELAH 24 JAM	SETELAH 14 HARI
Kontrol (aquadest)	6,42	7,40	6,12
	6,80	4,46	7,80
	6,40	4,00	mati
	8,80	8,20	7,20
	8,78	4,80	5,30
	7,20	7,12	5,72
	3,20	2,70	5,52
	6,24	6,80	4,42
	7,22	5,80	6,52
	7,02	7,00	8,04
Jumlah rata-rata \pm SD	6,81 \pm 1,56	5,83 \pm 1,77	6,29 \pm 1,21
Dosis 1 (4 g/kg bb)	6,40	6,24	8,40
	4,46	6,40	5,80
	7,60	6,40	7,78
	6,44	6,80	4,44
	6,00	4,32	5,60
	7,20	7,60	5,68
	7,40	3,28	mati
	7,40	8,64	7,44
	6,40	6,22	6,52
	7,86	7,20	5,02
Jumlah rata-rata \pm SD	6,72 \pm 1,01	6,31 \pm 1,54	6,32 \pm 1,33
Dosis 2 (8 g/kg bb)	6,40	6,20	8,44
	5,46	5,20	mati
	8,10	6,40	5,92
	5,04	5,60	4,10
	7,60	5,88	6,80
	6,66	4,22	6,84
	7,24	7,64	6,40
	6,42	6,20	5,52
	8,00	7,40	5,34
	7,40	8,24	5,86
Jumlah rata-rata \pm SD	6,83 \pm 1,03	6,30 \pm 1,20	6,13 \pm 1,20
Dosis 3 (16 g/ kg bb)	6,00	4,20	mati
	5,20	8,60	7,46
	6,00	6,08	3,32
	8,20	9,20	6,40
	7,72	7,10	4,60
	7,42	7,40	4,24
	7,20	6,60	4,50
	6,00	5,70	7,50
	5,62	6,40	4,34
	7,20	6,50	5,54
Jumlah rata-rata \pm SD	6,66 \pm 1,01	6,78 \pm 1,42	5,32 \pm 1,49

Tabel 19. Jumlah trombosit mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

KELOMPOK	JUMLAH TROMBOSIT ($10^5/\text{mm}^3$)		
	SEBELUM PERLAKUAN	SETELAH 24 JAM	SETELAH 14 HARI
Kontrol (aquadest)	7,24	5,64	6,20
	6,00	6,04	5,16
	6,00	7,20	3,56
	7,50	6,40	4,20
	2,32	6,00	6,20
	6,40	7,10	4,64
	4,80	4,60	5,38
	7,20	7,60	3,14
	6,20	6,84	4,04
	7,20	7,66	5,60
Jumlah rata-rata \pm SD	6,09 \pm 1,56	6,51 \pm 0,96	4,81 \pm 1,07
Dosis 1 (4 g/kg bb)	7,20	7,00	6,80
	4,46	6,60	Mati
	6,00	6,60	6,60
	4,80	5,64	3,46
	6,00	6,40	3,00
	4,88	7,20	4,10
	6,48	6,00	6,00
	8,60	7,40	2,32
	8,76	7,20	6,00
	3,80	7,08	3,80
Jumlah rata-rata \pm SD	6,10 \pm 1,70	6,71 \pm 0,57	4,41 \pm 1,58
Dosis 2 (8 g/kg bb)	6,40	5,20	6,20
	7,40	6,00	3,94
	3,00	4,40	5,34
	3,20	6,40	3,16
	6,60	8,20	5,40
	4,82	5,70	3,40
	6,82	7,80	4,10
	6,60	2,58	5,16
	7,40	8,00	7,34
	7,00	4,04	3,26
Jumlah rata-rata \pm SD	5,92 \pm 1,65	5,83 \pm 1,85	4,73 \pm 1,39
Dosis 3 (16 g/ kg bb)	4,80	6,06	7,60
	7,46	5,60	6,20
	5,92	3,60	7,70
	3,80	6,08	5,90
	8,60	4,80	6,00
	6,40	7,22	6,70
	5,20	3,20	6,04
	6,24	6,40	6,10
	7,00	7,00	4,10
	3,20	8,80	4,80
Jumlah rata-rata \pm SD	5,86 \pm 1,66	5,88 \pm 1,68	6,11 \pm 1,10

Tabel 20. Kadar hemoglobin mencit jantan sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

KELOMPOK	KADAR HEMOGLOBIN (g/100 ml)		
	SEBELUM PERLAKUAN	SETELAH 24 JAM	SETELAH 14 HARI
Kontrol (aquadest)	14,00	10,10	13,800
	13,20	9,20	8,00
	11,800	14,40	mati
	10,00	12,40	13,20
	13,20	10,00	9,60
	10,80	12,20	13,20
	9,40	13,10	14,40
	14,00	12,00	12,40
	11,20	13,60	14,40
	13,40	10,00	11,00
Jumlah rata-rata ± SD	12,1 ± 1,69	11,7 ± 1,77	12,22 ± 2,24
Dosis 1 (4 g/kg bb)	12,1	14,80	8,0
	10,30	11,00	8,40
	11,40	8,3	12,00
	15,00	14,00	12,00
	13,60	13,00	10,20
	10,40	11,60	12,40
	15,90	15,90	mati
	8,60	13,60	12,20
	10,20	9,80	13,40
	14,00	11,20	14,00
Jumlah rata-rata ± SD	12,15 ± 2,38	12,32 ± 2,35	11,4 ± 2,09
Dosis 2 (8 g/kg bb)	11,80	9,10	13,40
	15,20	8,60	mati
	11,00	8,50	13,00
	16,00	12,20	10,60
	8,80	9,80	11,20
	14,80	14,80	16,00
	10,60	10,00	10,00
	10,40	14,00	13,80
	9,80	16,80	13,40
	13,60	12,00	14,20
Jumlah rata-rata ± SD	12,2 ± 2,51	11,58 ± 2,87	12,84 ± 1,91
Dosis 3 (16 g/ kg bb)	8,60	11,80	mati
	8,00	9,40	8,40
	17,40	10,40	16,00
	13,00	15,60	11,60
	12,40	9,80	11,40
	12,00	9,00	12,40
	9,40	12,00	12,00
	12,00	15,80	13,00
	10,00	16,80	13,00
	10,00	10,00	14,80
Jumlah rata-rata ± SD	11,28 ± 2,74	12,06 ± 2,94	12,51 ± 2,15

Tabel 21. Kadar hemoglobin mencit betina sebelum perlakuan, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

KELOMPOK	KADAR HEMOGLOBIN (g/100 ml)		
	SEBELUM PERLAKUAN	SETELAH 24 JAM	SETELAH 14 HARI
Kontrol (aquadest)	13,00	13,80	12,80
	12,00	10,60	12,60
	10,80	7,00	7,80
	10,80	11,80	11,80
	12,60	9,60	11,80
	13,20	15,20	9,40
	9,80	13,20	12,60
	11,40	12,80	13,00
	10,80	12,80	14,40
	14,80	11,00	10,00
Jumlah rata-rata ± SD	11,92 ± 1,49	11,78 ± 2,34	11,62 ± 1,98
Dosis 1 (4 g/kg bb)	11,90	13,40	12,40
	8,80	10,40	mati
	15,80	8,50	11,80
	13,60	14,00	10,00
	15,00	9,00	14,40
	10,90	12,80	8,80
	11,60	10,00	12,80
	14,00	10,00	13,00
	12,00	15,20	13,60
	12,00	13,00	12,80
Jumlah rata-rata ± SD	12,56 ± 2,07	11,63 ± 2,32	12,18 ± 1,76
Dosis 2 (8 g/kg bb)	12,10	14,40	12,40
	8,30	10,40	10,00
	14,00	8,80	12,00
	12,40	11,60	10,00
	10,00	10,00	10,80
	9,20	13,20	11,40
	12,00	10,40	10,40
	14,40	12,80	13,00
	9,20	11,00	13,00
	15,00	11,80	11,00
Jumlah rata-rata ± SD	11,66 ± 2,38	11,44 ± 1,68	11,40 ± 1,15
Dosis 3 (16 g/ kg bb)	13,10	15,90	10,10
	8,30	10,00	13,00
	14,00	11,20	12,60
	10,40	12,80	11,40
	14,80	10,60	12,00
	9,80	10,80	9,40
	8,80	12,60	12,60
	14,40	11,40	13,00
	11,00	9,00	12,40
	11,00	14,80	11,80
Jumlah rata-rata ± SD	11,56 ± 2,36	11,91 ± 2,14	11,83 ± 1,22

Tabel 22. Data signifikansi uji distribusi normal (*Saphiro-Wilk*) mencit jantan

Parameter	Kelompok	Hari ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
Eritrosit	I	0,983	0,858	0,208
	II	0,535	0,340	0,577
	III	0,308	0,685	0,998
	IV	0,985	0,052	0,627
Leukosit	I	0,362	0,717	0,666
	II	0,891	0,828	0,756
	III	0,140	0,422	0,488
	IV	0,272	0,428	0,135
Trombosit	I	0,069	0,599	0,838
	II	0,151	0,381	0,699
	III	0,545	0,926	0,855
	IV	0,392	0,350	0,258
Hemoglobin	I	0,246	0,427	0,173
	II	0,682	0,947	0,228
	III	0,394	0,294	0,640
	IV	0,243	0,059	0,725

Keterangan: Nilai signifikansi dibandingkan dengan α (0,05), jika nilai signifikansi $> \alpha$ maka data terdistribusi normal

Tabel 23. Data signifikansi uji distribusi normal (*Saphiro-Wilk*) mencit betina

Parameter	Kelompok	Hari ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
Eritrosit	I	0,128	0,247	0,208
	II	0,893	0,993	0,577
	III	0,720	0,879	0,998
	IV	0,797	0,627	0,627
Leukosit	I	0,095	0,585	0,080
	II	0,665	0,301	0,962
	III	0,291	0,968	0,121
	IV	0,640	0,421	0,366
Trombosit	I	0,170	0,592	0,661
	II	0,505	0,401	0,385
	III	0,120	0,698	0,389
	IV	0,878	0,878	0,436
Hemoglobin	I	0,696	0,826	0,397
	II	0,820	0,399	0,196
	III	0,410	0,965	0,307
	IV	0,373	0,561	0,077

Keterangan: Nilai signifikansi dibandingkan dengan α (0,05), jika nilai signifikansi $> \alpha$ maka data terdistribusi normal

Tabel 24. Data signifikansi uji kesamaan varians (*Levene*) Mencit Jantan

Parameter	Hari ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
Eritrosit	0,619	0,755	0,585
Leukosit	0,415	0,089	0,515
Trombosit	0,918	0,510	0,687
Hemoglobin	0,551	0,343	0,940

Keterangan: Nilai signifikansi dibandingkan dengan α (0,05), jika nilai signifikansi $> \alpha$ maka data bervariasi homogen

Tabel 25. Data signifikansi Uji Kesamaan Varians (*Levene*) mencit betina

Parameter	Hari ke-0	Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
Eritrosit	0,267	0,767	0,585
Leukosit	0,067	0,831	0,278
Trombosit	0,895	0,340	0,356
Hemoglobin	0,276	0,536	0,187

Keterangan: Nilai signifikansi dibandingkan dengan α (0,05), jika nilai signifikansi $> \alpha$ maka data bervariasi homogen





Lampiran 1. Penetapan dosis

Dosis daun gandarusa segar untuk rematik sendi adalah 45 gram. Persentase bobot daun kering terhadap daun segar dan besar rendeman ekstrak yang diperoleh berturut-turut adalah 26,56% dan 26%. Faktor konversi dari manusia ke mencit, yaitu 0,0026 dan faktor farmakokinetika adalah 10, maka dosis sediaan uji untuk mencit adalah $0,0026 \times 10 \times 45 \times 26,56\% \times 26\% = 0,08 \text{ g/20 g bb mencit}$ atau 4 g/kg bb . Dosis ini kemudian akan ditetapkan sebagai dosis terendah yang akan diberikan. Sedangkan penentuan dosis terbesar dilakukan dengan uji pendahuluan untuk mengetahui dosis terbesar yang dapat disondekan kepada mencit, diperoleh dosis $0,64 \text{ g/20 g bb mencit}$ atau 32 g/kg bb .

Berikut ini perhitungan dosis yang akan diberikan:

- Dosis 1 = 4 g/kg bb
- Dosis 2 = $2 \times \text{dosis 1} = 8 \text{ g/kg bb}$
- Dosis 3 = $2 \times \text{dosis 2} = 16 \text{ g/kg bb}$
- Dosis 4 = $2 \times \text{dosis 3} = 32 \text{ g/kg bb}$

Lampiran 2. Perhitungan nilai LD₅₀ ekstrak etanol daun gandarusa

Pada penelitian ini penentuan LD₅₀ dilakukan dengan metode Weil.

Nilai LD₅₀ didapat berdasarkan rumus :

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

Keterangan:

m : nilai LD₅₀

D : dosis terkecil yang digunakan

d : log dari kelipatan dosis (Log R)

f : suatu faktor dalam tabel Weil

Tingkatan dosis yang digunakan adalah 4 g/kg bb; 8 g/kg bb; 16 g/kg bb; 32 g/kg bb dan jumlah kematian yang terjadi berturut-turut adalah 0; 0; 0; 5 untuk mencit jantan dan 0; 0; 0; 7 untuk mencit betina. Dari tabel Weil tidak didapatkan data f untuk jumlah kematian tersebut sehingga deret kematian digeser dan dianggap bahwa bila dosis bisa ditingkatkan maka kematian pada kelompok mencit jantan dan betina diharapkan berturut-turut, yaitu 0; 0; 5; 10 dan 0; 0; 7; 10 sehingga didapatkan f = 1 untuk jantan dan f = 0,8 untuk betina. Dosis terkecil yang digunakan adalah 8 g/kg bb.

Perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{Log } m &= \log D + d (f + 1) \\ &= \log 8000 + \log 2 (1+1) \\ &= 3,903 + 0,301 (2) \\ &= 3,903 + 0,602 \\ &= 4,505 \\ m &= 31,99 \text{ g/kg bb (jantan)}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Log } m &= \log D + d (f + 1) \\ &= \log 8000 + \log 2 (0,8+1) \\ &= 3,903 + 0,301 (1,8) \\ &= 3,903 + 0,5418 \\ &= 4,4448 \\ m &= 27,85 \text{ g/kg bb (betina)}\end{aligned}$$

Dari hasil perhitungan di atas, dapat disimpulkan bahwa LD_{50} ekstrak etanol daun gandarusa adalah sebesar 31,99 g/kg bb untuk jantan dan 27,85 g/kg bb untuk betina.

Lampiran 3. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah eritrosit
mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah
14 hari perlakuan

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Hipotesa :

Ho = tidak ada perbedaan jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

H1 = ada perbedaan jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P < 0,05$ maka Ho ditolak

jika $P > 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan:

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
eri_0	Between Groups	2.434	3	.811	.342	.795
	Within Groups	85.367	36	2.371		
	Total	87.800	39			
eri_24	Between Groups	8.978	3	2.993	1.241	.309
	Within Groups	86.827	36	2.412		
	Total	95.805	39			
eri_14	Between Groups	2.881	3	.960	.768	.521
	Within Groups	40.022	32	1.251		
	Total	42.902	35			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,795; maka H_0 diterima

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,309; maka H_0 diterima

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,521; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

- a. data jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- b. data jumlah eritrosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- c. data jumlah eritrosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 4. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah eritrosit mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Hipotesa :

Ho = tidak ada perbedaan jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

H1 = ada perbedaan jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P < 0,05$ maka Ho ditolak

jika $P > 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan:

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
eri_0	Between Groups	6.206	3	2.069	.756	.526
	Within Groups	98.519	36	2.737		
	Total	104.725	39			
eri_24	Between Groups	1.758	3	.586	.228	.876
	Within Groups	92.530	36	2.570		
	Total	94.288	39			
eri_14	Between Groups	1.292	3	.431	.305	.822
	Within Groups	50.868	36	1.413		
	Total	52.160	39			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,526; maka H_0 diterima

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,876; maka H_0 diterima

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,822; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

- a. data jumlah eritrosit mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- b. data jumlah eritrosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- c. data jumlah eritrosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 5. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah leukosit
mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah
14 hari perlakuan

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Hipotesa :

Ho = tidak ada perbedaan jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

H1 = ada perbedaan jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P < 0,05$ maka Ho ditolak

jika $P > 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan:

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
leu_0	Between Groups	19.989	3	6.663	2.066	.122
	Within Groups	116.087	36	3.225		
	Total	136.076	39			
leu_24	Between Groups	24.013	3	8.004	2.315	.092
	Within Groups	124.453	36	3.457		
	Total	148.466	39			
leu_14	Between Groups	3.584	3	1.195	.433	.730
	Within Groups	88.186	32	2.756		
	Total	91.770	35			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,122; maka H_0 diterima

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,092; maka H_0 diterima

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,730; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

- a. data jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- b. data jumlah leukosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- c. data jumlah leukosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 6. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap jumlah leukosit
mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah
14 hari perlakuan

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar
hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam
dan setelah 14 hari perlakuan

Hipotesa :

Ho = tidak ada perbedaan jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum,
setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

H1 = ada perbedaan jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum,
setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P < 0,05$ maka Ho ditolak

jika $P > 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan:

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
leu_0	Between Groups	15.935	3	5.312	1.217	.318
	Within Groups	157.137	36	4.365		
	Total	173.072	39			
leu_24	Between Groups	17.450	3	5.817	1.221	.316
	Within Groups	171.534	36	4.765		
	Total	188.985	39			
leu_14	Between Groups	2.086	3	.695	.306	.821
	Within Groups	81.693	36	2.269		
	Total	83.779	39			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,318; maka H_0 diterima

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,316; maka H_0 diterima

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,821; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

- a. data jumlah leukosit mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- b. data jumlah leukosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- c. data jumlah leukosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 7. Uji Analisis Variansi (ANAVA 1-arah) terhadap jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Hipotesa :

Ho = tidak ada perbedaan jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

H1 = ada perbedaan jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P < 0,05$ maka Ho ditolak

jika $P > 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan:

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
tro_0	Between Groups	.200	3	.067	.048	.986
	Within Groups	49.727	36	1.381		
	Total	49.928	39			
tro_24	Between Groups	4.513	3	1.504	.671	.575
	Within Groups	80.661	36	2.241		
	Total	85.174	39			
tro_14	Between Groups	5.867	3	1.956	1.132	.351
	Within Groups	55.278	32	1.727		
	Total	61.145	35			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,986; maka H_0 diterima

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,575; maka H_0 diterima

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,351; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

- a. data jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna
- b. data jumlah trombosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- c. data jumlah trombosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 8. Uji Analisis Variansi (ANAVA 1-arah) terhadap jumlah trombosit
mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah
14 hari perlakuan

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Hipotesa :

Ho = tidak ada perbedaan jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

H1 = ada perbedaan jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P < 0,05$ maka Ho ditolak

jika $P > 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan:

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
tro_0	Between Groups	.381	3	.127	.047	.986
	Within Groups	97.826	36	2.717		
	Total	98.207	39			
tro_24	Between Groups	4.250	3	1.417	.776	.515
	Within Groups	65.763	36	1.827		
	Total	70.013	39			
tro_14	Between Groups	14.100	3	4.700	2.686	.061
	Within Groups	61.254	35	1.750		
	Total	75.354	38			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,986; maka H_0 diterima

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,515; maka H_0 diterima

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,061; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

- a. data jumlah trombosit mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- b. data jumlah trombosit mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- c. data jumlah trombosit mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 9. Uji Analisis Variansi (ANAVA 1-arah) terhadap kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Hipotesa :

Ho = tidak ada perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

H1 = ada perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P < 0,05$ maka Ho ditolak

jika $P > 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan:

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
hb_0	Between Groups	5.684	3	1.895	.339	.797
	Within Groups	201.140	36	5.587		
	Total	206.824	39			
hb_24	Between Groups	3.199	3	1.066	.165	.919
	Within Groups	232.509	36	6.459		
	Total	235.708	39			
hb_14	Between Groups	10.302	3	3.434	.776	.516
	Within Groups	141.547	32	4.423		
	Total	151.849	35			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,797; maka H_0 diterima

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,919; maka H_0 diterima

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,516; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

- a. data kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- b. data kadar hemoglobin mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- c. data kadar hemoglobin mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 10. Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-arah) terhadap kadar hemoglobin mencit betina pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Hipotesa :

Ho = tidak ada perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

H1 = ada perbedaan kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum, setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian : jika $P < 0,05$ maka Ho ditolak

jika $P > 0,05$ maka Ho diterima

Hasil perhitungan:

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
hb_0	Between Groups	6.067	3	2.022	.455	.715
	Within Groups	159.928	36	4.442		
	Total	165.995	39			
hb_24	Between Groups	1.226	3	.409	.089	.965
	Within Groups	164.390	36	4.566		
	Total	165.616	39			
hb_14	Between Groups	1.177	3	.392	.144	.933
	Within Groups	98.037	36	2.723		
	Total	99.214	39			

Nilai P pada sebelum perlakuan = 0,715 ; maka Ho diterima

Nilai P pada 24 jam setelah perlakuan = 0,965; maka Ho diterima

Nilai P pada 14 hari setelah perlakuan = 0,933; maka Ho diterima

Kesimpulan:

- a. data kadar hemoglobin mencit jantan pada sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- b. data kadar hemoglobin mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.
- c. data kadar hemoglobin mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.