



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI TOKSISITAS AKUT
CAMPURAN FRAKSI AIR EKSTRAK ETANOL
DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.) DAN HERBA
SELEDRI (*Apium graveolens* L.) DITINJAU DARI NILAI LD₅₀
DAN KADAR KREATININ PLASMA SERTA
HISTOLOGIS GINJAL PADA MENCIT**

SKRIPSI

**TRI WAHYUNI
0606071001**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI TOKSISITAS AKUT
CAMPURAN FRAKSI AIR EKSTRAK ETANOL
DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.) DAN HERBA
SELEDRI (*Apium graveolens* L.) DITINJAU DARI NILAI LD₅₀
DAN KADAR KREATININ PLASMA SERTA
HISTOLOGIS GINJAL PADA MENCIT**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi**

**TRI WAHYUNI
0606071001**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2010**

ii

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Tri Wahyuni

NPM : 0606071001

Tanda Tangan :

Tanggal : 6 Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Tri Wahyuni
NPM : 0606071001
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Uji Toksisitas Akut Campuran Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan Herba Seledri (*Apium graveoens* L.) Ditinjau dari Nilai LD₅₀ dan Kadar Kreatinin Plasma serta Histologis Ginjal Pada Mencit

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Santi Purna Sari, M.Si (.....)
Pembimbing II : Prof. Dr. Endang Hanani (.....)
Penguji : Dra. Juheini Amin, M.Si (.....)
Penguji : Dr. Herman Suryadi, MS (.....)
Penguji : Dr. Arry Yanuar, MS (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 6 Juli 2010

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah subhanahuwata'ala yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan dan menyusun skripsi ini tepat pada waktunya. Skripsi ini merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi FMIPA UI.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Ibu Santi Purna Sari, M.Si, selaku pembimbing atas kesabarannya yang luar biasa, kebaikannya dalam memberi bimbingan, pengarahan dan masukan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Prof. Dr. Endang Hanani, MS., selaku pembimbing atas kebaikan dalam membagikan ilmunya dan kesabarannya dalam memberi pengarahan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Bpk Drs. Hayun M.Si, selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bantuan, saran, dan nasihat selama masa perkuliahan.
4. Ibu Dr. Yahdiana Harahap selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Ibu Dr. Katrin, MS., selaku Kepala Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia, Ibu DR. Retnosari Andrajati selaku Kepala Laboratorium Farmakologi dan Bapak Drs. Hayun, M.Si., sebagai Kepala Laboratorium Kimia Farmasi Kuantitatif atas izin penggunaan alat dan laboratorium sehingga penelitian dapat berjalan dengan sangat lancar.
6. Bapak Dr. Dadang Kusmana yang telah memberikan saran, dan bantuan selama penelitian berlangsung.
7. Seluruh dosen Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah sangat membantu dalam penelitian dan perkuliahan serta praktikum.
8. Seluruh laboran, serta karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu dalam penelitian, penyusunan skripsi, perkuliahan, dan praktikum (Mbak Ulfa, Mbak Yayuk, Mas Agus, Pak Makruf, Pak suroto, Bu Larmi, Pak Surya, Mas Indra).

9. Ibu, bapak yang selalu memberikan doa, dukungan, semangat, dan kasih sayang yang tulus dan kakak-kakakku (Mas Topah, Mas Kin) yang senantiasa mengingatkan dan memberikan pengarahan pada penulis.
10. Teman-teman penelitian di laboratorium fitokimia (kak dwit, tuti, arika, ciro, dede), laboratorium farmakologi (rianti, lita, sandi, kak anti, celi, ayu), laboratorium kimia kualitatif (dira, ajeng mega), laboratorium kimia kuantitatif (sinta, nisa, nisu, marbot, maul, indra, hifzi), laboratorium farmasetika (adita, erni, nida, nyoz), laboratorium mikrobiologi (dudu, ekos, nanda, sari, yoyon), terima kasih atas bantuan selama penelitian, kesabaran atas keluh kesah selama penelitian, dan tentunya terima kasih atas semangatnya.
11. Kak ndit, mbak atika, kak retno, kak lisna terima kasih atas bantuan dan saran yang diberikan selama masa penelitian.
12. Teman-teman farmasi angkatan 2006 terima kasih atas bantuan, keceriaan, kebersamaan selama masa perkuliahan dan penelitian.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan Farmasi pada khususnya.

Penulis

2010

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tri Wahyuni
NPM : 0606071001
Program Studi : S1
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Toksisitas Akut Campuran Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) Ditinjau dari Nilai LD₅₀ dan Kadar Kreatinin Plasma serta Histologis Ginjal Pada Mencit

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 6 Juli 2010

Yang menyatakan

(Tri Wahyuni)

ABSTRAK

Nama : Tri Wahyuni
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Toksisitas Akut Campuran Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) Ditinjau dari Nilai LD₅₀ dan Kadar Kreatinin Plasma serta Histologis Ginjal Pada Mencit

Campuran ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan herba seledri (*Apium graveolens* L.) telah diteliti dapat menurunkan tekanan darah (antihipertensi). Senyawa aktif yang diduga memiliki aktifitas sebagai penurun tekanan darah adalah flavonoid yang merupakan senyawa polar. Pemisahan senyawa polar dengan senyawa nonpolar ekstrak etanol dapat dilakukan dengan fraksinasi. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan nilai *Lethal Dose-50* (LD₅₀) campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri dengan metode Weil dan pengaruhnya terhadap fungsi ginjal berdasarkan kadar kreatinin plasma dan histologis ginjal. Penelitian ini dilakukan dengan rancangan acak lengkap menggunakan 25 ekor mencit jantan dan 25 ekor mencit betina galur DDY yang terbagi dalam 5 kelompok. Kelompok I sampai IV diberikan campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri dengan dosis 8,33; 16,67; 33,33 dan 66,67 g/kg bb yang disuspensikan dengan CMC 0,5%. Kelompok V merupakan kelompok kontrol yang hanya diberikan suspensi CMC 0,5%. LD₅₀ ditentukan berdasarkan jumlah kematian dalam kelompok uji selama 24 jam dari satu kali pemberian bahan uji secara oral. Hasil menunjukkan bahwa bahan uji sampai dosis tertinggi bersifat praktis tidak toksik dengan nilai LD₅₀ sebesar 27,058 g/kg bb untuk kelompok jantan dan 31,081 g/kg bb kelompok betina. Penelitian dilanjutkan dengan pengukuran kadar kreatinin plasma secara kolorimetri dan pengukuran preparat histologis ginjal yang dibuat dengan metode pewarnaan hematoksilin-eosin. Hasil menunjukkan bahwa dengan peningkatan dosis pemberian menyebabkan peningkatan kadar kreatinin plasma dan penurunan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus.

Kata kunci:

Antihipertensi, *Apium graveolens*, histologis ginjal, kreatinin, LD₅₀, *Sonchus arvensis*, toksisitas akut

xvii + 102 halaman; 16 gambar; 23 tabel; 29 lampiran

Bibliografi : 37 (1972 - 2008)

ABSTRACT

Name : Tri Wahyuni
Program Study : Pharmacy
Title : Acute Toxicity of Combination of Aqueous Fraction of Ethanolic Extract Tempuyung Leaves (*Sonchus arvensis* L.) and Celery Herb (*Apium graveolens* L.) Observed by LD₅₀ Value and Effect to Plasma Creatinin Level and Histology of Kidney on Mice

Combination of ethanolic extract of tempuyung leaves (*Sonchus arvensis* L.) and celery herb (*Apium graveolens* L.) had been investigated decrease blood pressure. The active compound which predicted has an ability in this effect was a polar compound known as flavonoid. Separation of the polar compound from the nonpolar ones of ethanolic extract was carried out by fractionation. The aimed of this experiment was to determine LD₅₀ value of combination of aqueous fraction of ethanolic extract tempuyung leaves and celery herb by Weil method and its effect of plasm creatinin level and histology of kidney. This study was conducted by employing a complete random design using 25 male and 25 female mice of DDY strain which divided into 5 groups. The first group until fourth group were administrated combination of aqueous fraction of ethanolic extract tempuyung leaves and celery herb with the dose variation 8,33; 16,67; 33,33 and 66,67 g/kg bw which suspension in CMC 0,5 % orally. The fifth group was normal control administrated suspension CMC 0,5%. The LD₅₀ was determined by the total of death in group during 24 hours after giving a single dose of suspension. The result showed that suspension was practically non toxic with the LD₅₀ value was 27,058 g/kg bw for male mice and 31,081 g/kg bw for female mice. The examined was continued with measuring plasm creatinin level by colorimetri methods and histology of kidney by hematoxylin-eosin staining. The result showed that plasm creatinin level increased and space between Bowman capsule and glomerulus reduced with increasing dose.

Keywords:

Acute toxicity, Antihypertension, *Apium graveolens*, creatinin, histologist of kidney, LD₅₀, *Sonchus arvensis*

xvii + 102 pages; 16 pictures; 23 tables; 29 appendices

Bibliography : 37 (1972-2008)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Hipotesis	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Toksisitas Akut	4
2.2 Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.)	7
2.3 Seledri (<i>Apium graveolens</i> L.)	9
2.4 Metode Ekstraksi	11
2.5 Flavonoid	13
2.6 Spektrofotometer.....	16
2.7 Kromatografi.....	17
2.8 Ginjal.....	18
2.8 Kreatinin	19
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	21
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	21
3.2 Alat	21
3.3 Bahan	21
3.4 Cara Kerja.....	22
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
4.1 Serbuk simplisia.....	38
4.2 Ekstrak Etanol	39
4.3 Identifikasi Flavonoid Ekstrak Etanol	40
4.4 Fraksi Air Ekstrak Etanol.....	40
4.5 Karakterisasi Fraksi Air Ekstrak Etanol	41
4.6 Kandungan Kimia Fraksi Air Ekstrak Etanol	42
4.7 Toksisitas Akut	44
4.8 Kadar Kreatinin Plasma	45

4.9 Pengukuran Histologis Ginjal	48
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran	51
DAFTAR ACUAN.....	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Reaksi pembentukan kompleks kuersetin dengan $AlCl_3$	16
2.2 Reaksi kimia pada pengukuran kreatinin plasma.....	20
3.1 Tanaman tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.) dan herba seledri (<i>Apium graveolens</i> L.)	55
3.2 Pengambilan darah melalui sinus orbital mata	55
4.1 Pola kromatogram fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:5) pada lempeng <i>silica gel</i> F ₂₅₄	56
4.2 Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin dengan persamaan garis: $y = -0,00908 + 0,00875x$; $r = 0,9996$	56
4.3 Diagram batang kadar kreatinin plasma rata-rata mencit jantan setelah 24 jam dan setelah 14 hari	57
4.4 Diagram batang kadar kreatinin plasma rata-rata mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari.....	57
4.5 Diagram batang diameter rata-rata kapsula Bowman mencit jantan.....	58
4.6 Diagram batang diameter rata-rata kapsula Bowman mencit Betina.....	58
4.7 Diagram batang jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan.....	59
4.8 Diagram batang jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit betina.....	59
4.9 Histologis ginjal kelompok dosis I (8,33 g/kg bb). Perbesaran 400x.....	60
4.10 Histologis ginjal kelompok dosis II (16,67 g/kg bb). Perbesaran 400x	60
4.11 Histologis ginjal kelompok dosis III(33,33 g/kg bb). Perbesaran 400x	61

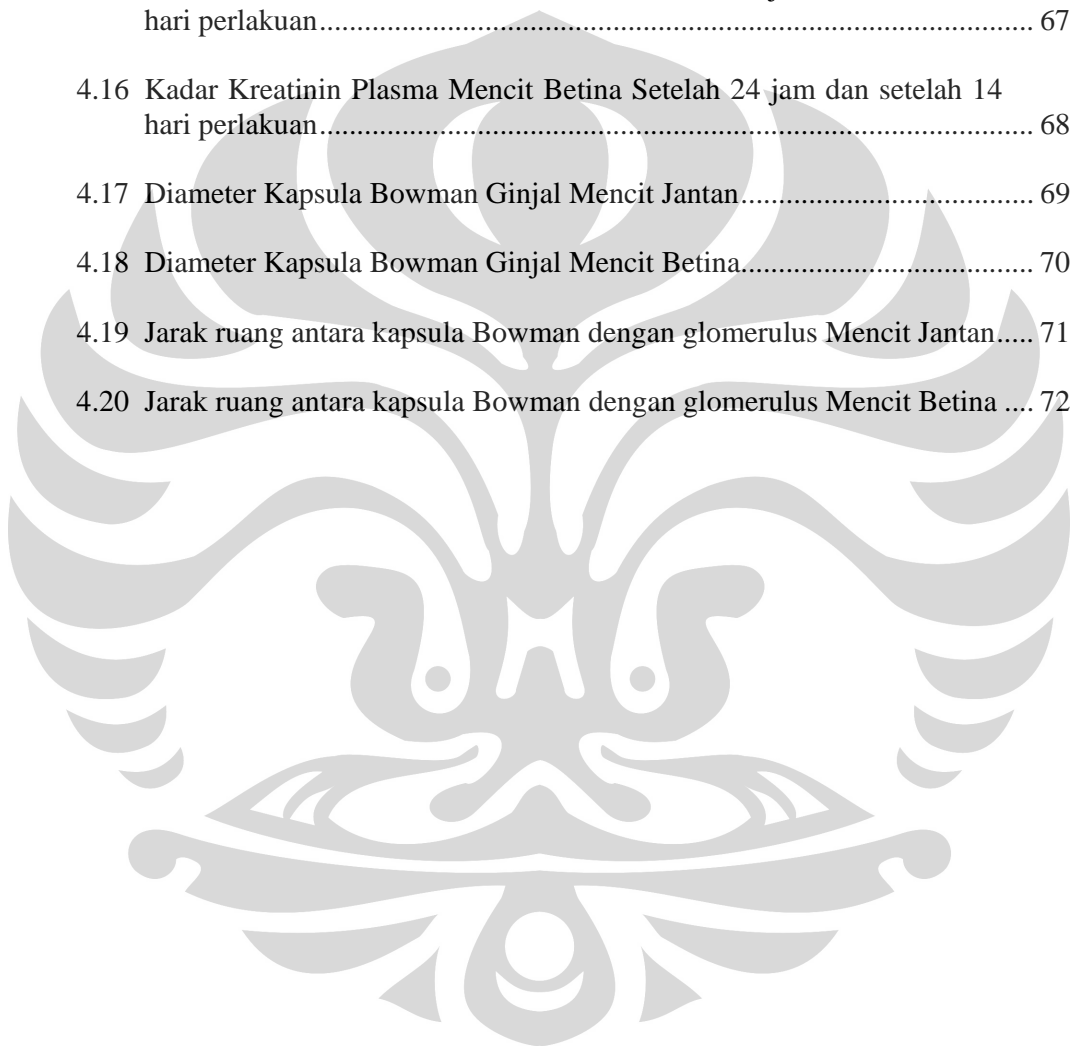
4.12 Histologis ginjal kelompok dosis kontrol (CMC 0,5%). Perbesaran
400x..... 61



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Klasifikasi zat kimia/obat berdasarkan toksisitas relatif	7
3.1 Pembagian kelompok perlakuan.....	31
3.2 Tahap pengukuran kadar kreatinin plasma.....	32
4.1 Hasil uji toksisitas akut campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri	44
4.2 Kadar kreatinin plasma rata-rata mencit jantan dan mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	45
4.3 Diameter rata-rata kapsula Bowman mencit jantan dan mencit betina setelah 14 hari perlakuan.....	48
4.4 Jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan dan mencit betina	49
4.5 Persentase bobot daun tempuyung kering terhadap daun tempuyung segar dan herba seledri kering terhadap herba seledri segar	62
4.6 Randemen ekstrak etanol daun tempuyung dan ekstrak etanol herba seledri.....	62
4.7 Persentase bobot fraksi air terhadap bobot ekstrak etanol daun tempuyung dan ekstrak etanol herba seledri	62
4.8 Kadar abu total fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan fraksi air ekstrak etanol herba seledri	63
4.9 Kadar abu tidak larut asam fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan fraksi air ekstrak etanol herba seledri	63
4.10 Kadar senyawa yang larut dalam air fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri.....	64
4.11 Kadar senyawa yang larut dalam etanol fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri.....	64

4.12	Konsentrasi larutan standar kuersetin pada kurva kalibrasi	65
4.13	Penetapan kadar flavonoid total fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri.....	65
4.14	Jumlah kematian pada kelompok uji setelah 24 jam dan 14 hari pemberian larutan uji	66
4.15	Kadar Kreatinin Plasma Mencit Jantan Setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	67
4.16	Kadar Kreatinin Plasma Mencit Betina Setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan.....	68
4.17	Diameter Kapsula Bowman Ginjal Mencit Jantan.....	69
4.18	Diameter Kapsula Bowman Ginjal Mencit Betina.....	70
4.19	Jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus Mencit Jantan.....	71
4.20	Jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus Mencit Betina	72



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
3.1 Proses ekstraksi simplisia	73
3.2 Proses fraksinasi ekstrak etanol	74
3.3 Penetapan dosis.....	75
3.4 Pembuatan larutan uji	76
3.5 Perhitungan kadar kreatinin plasma	77
4.1 Hasil identifikasi determinasi <i>Sonchus arvensis</i> L. dan <i>Apium graveolens</i> L.	78
4.2 Perhitungan nilai LD ₅₀ menggunakan metode Weil.....	79
4.3 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk terhadap kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan (SPSS 15.0).....	81
4.4 Uji Homogenitas Varian Levene terhadap kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan (SPSS 15.0).....	82
4.5 Analisis Uji Kruskal Wallis terhadap kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan (SPSS 15.0)	83
4.6 Uji Analisis Variansi (ANAVA 1-Arah) terhadap kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan (SPSS 15.0).....	84
4.7 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk terhadap kadar kreatinin plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan (SPSS 15.0).....	85
4.8 Uji Homogenitas Varian Levene terhadap kadar kreatinin plasma mencit betina pada 24 jam dan 14 hari setelah perlakuan (SPSS 15.0).....	86
4.9 Analisis Uji Kruskal Wallis terhadap kadar kreatinin plasma mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan (SPSS 15.0)	87
4.10 Uji Analisis Variansi (ANAVA 1-Arah) terhadap kadar kreatinin plasma mencit betina pada 14 hari setelah perlakuan (SPSS 15.0).....	88

4.11 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk terhadap diameter kapsula Bowman mencit jantan (SPSS 15.0).....	89
4.12 Uji Homogenitas Varian Levene terhadap diameter kapsula Bowman mencit jantan (SPSS 15.0).....	90
4.13 Analisis Uji Kruskal Wallis terhadap diameter kapsula Bowman mencit jantan (SPSS 15.0).....	91
4.14 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk terhadap diameter kapsula Bowman mencit betina (SPSS 15.0).....	92
4.15 Uji Homogenitas Varian Levene terhadap diameter kapsula Bowman mencit betina (SPSS 15.0).....	93
4.16 Analisis Uji Kruskal Wallis terhadap diameter kapsula Bowman mencit betina (SPSS 15.0).....	94
4.17 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk terhadap jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan (SPSS 15.0).....	95
4.18 Uji Homogenitas Varian Levene terhadap jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan (SPSS 15.0).....	96
4.19 Analisis Uji Kruskal Wallis terhadap jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan (SPSS 15.0).....	97
4.20 Analisis Uji Mann-Whitney terhadap jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan (SPSS 15.0).....	98
4.21 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk terhadap jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit betina (SPSS 15.0).....	99
4.22 Uji Homogenitas Varian Levene terhadap jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit betina (SPSS 15.0).....	100
4.23 Uji Analisis Variansi (ANAVA 1-Arah) terhadap jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit betina(SPSS 15.0).....	101
4.24 Uji Analisis Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit betina (SPSS 15.0).....	102

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hipertensi merupakan gangguan kesehatan yang perlu segera ditanggulangi karena prevalensinya yang tinggi dan merupakan faktor risiko utama penyakit kardiovaskular, serebrovaskular dan renovaskular yang dapat mengarah pada serangan jantung, stroke dan kegagalan ginjal bahkan kematian (Dipiro, Talbert, Gary, 2006; Furie, Peter, 2004).

Pertimbangan pengobatan hipertensi berkaitan dengan efek samping yang dapat terjadi karena pemberian obat-obat antihipertensi seperti golongan diuretik, *beta bloker*, *alfa bloker*, penghambat ACE dan antagonis kalsium. Obat antihipertensi tersebut memiliki efek samping yang bervariasi dan cukup serius, misalnya obat-obat diuretik golongan tiazid memiliki efek samping hipokalemia, sedangkan obat antihipertensi golongan antagonis kalsium menyebabkan efek hipotensi yang berlebihan (Nafrialdi, 2007). Akibat efek samping dan efek yang tidak diinginkan dari obat antihipertensi tersebut, penderita hipertensi umumnya beralih ke pengobatan herbal.

Pengobatan herbal untuk hipertensi contohnya daun tempuyung dan herba seledri. Daun tempuyung bekerja sebagai agen diuretik, sedangkan herba seledri bekerja sebagai agen vasorelaksasi (Acuan sediaan herbal, 2000; Han, Kim, Jang, 2008). Kombinasi daun tempuyung dan herba seledri diharapkan memiliki efek anti hipertensi yang lebih optimal.

Kandungan senyawa aktif dalam herba seledri yang diduga sebagai antihipertensi adalah flavonoid. Hal ini terbukti dengan adanya suatu penelitian yang menunjukkan bahwa apigenin yang merupakan bagian dari flavonoid berperan sebagai agen vasorelaksasi (Zhang, Park, Kim, 2002; Han, Kim, Jang, 2008). Flavonoid merupakan suatu senyawa polar. Oleh karena itu, untuk

memisahkan senyawa polar dengan senyawa nonpolar, maka dilakukan fraksinasi ekstrak tersebut.

Supaya dapat digunakan dalam sistem pelayanan kesehatan, obat tradisional secara medis harus memiliki data ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian ilmiah tentang khasiat, keamanan dan standar kualitasnya. Hal yang sangat penting yang harus dilakukan adalah perlunya dilakukan penelitian terhadap toksisitas untuk mengetahui keamanan dari senyawa yang terkandung dalam fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri (Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional, 2000).

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut, dinilai dari LD₅₀ yang bertujuan mencari besarnya dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% sekelompok hewan uji. Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan terhadap gejala toksik dan perubahan patologik organ ginjal hewan uji (Nafrialdi, 2007). Pengamatan terhadap organ ginjal disebabkan karena senyawa aktif yang diujikan pada penelitian ini selain bekerja sebagai vasodilator juga sebagai agen diuretik, sehingga sangat berhubungan erat dengan fungsi ginjal. Ginjal berfungsi sebagai alat ekskresi bahan yang tidak diperlukan lagi dan berbahaya bagi tubuh seperti kreatinin (Corwin, 2001). Kerusakan ginjal oleh obat dan zat kimia dapat mengakibatkan hilangnya kemampuan mengekskresi produk-produk sisa metabolisme seperti kreatinin sehingga menyebabkan peningkatan kadar kreatinin plasma serta dapat mengakibatkan hilangnya kemampuan regenerasi sel ginjal, sehingga ginjal akan mengalami kerusakan permanen yang dapat menimbulkan kematian.

1.2 Tujuan Penelitian

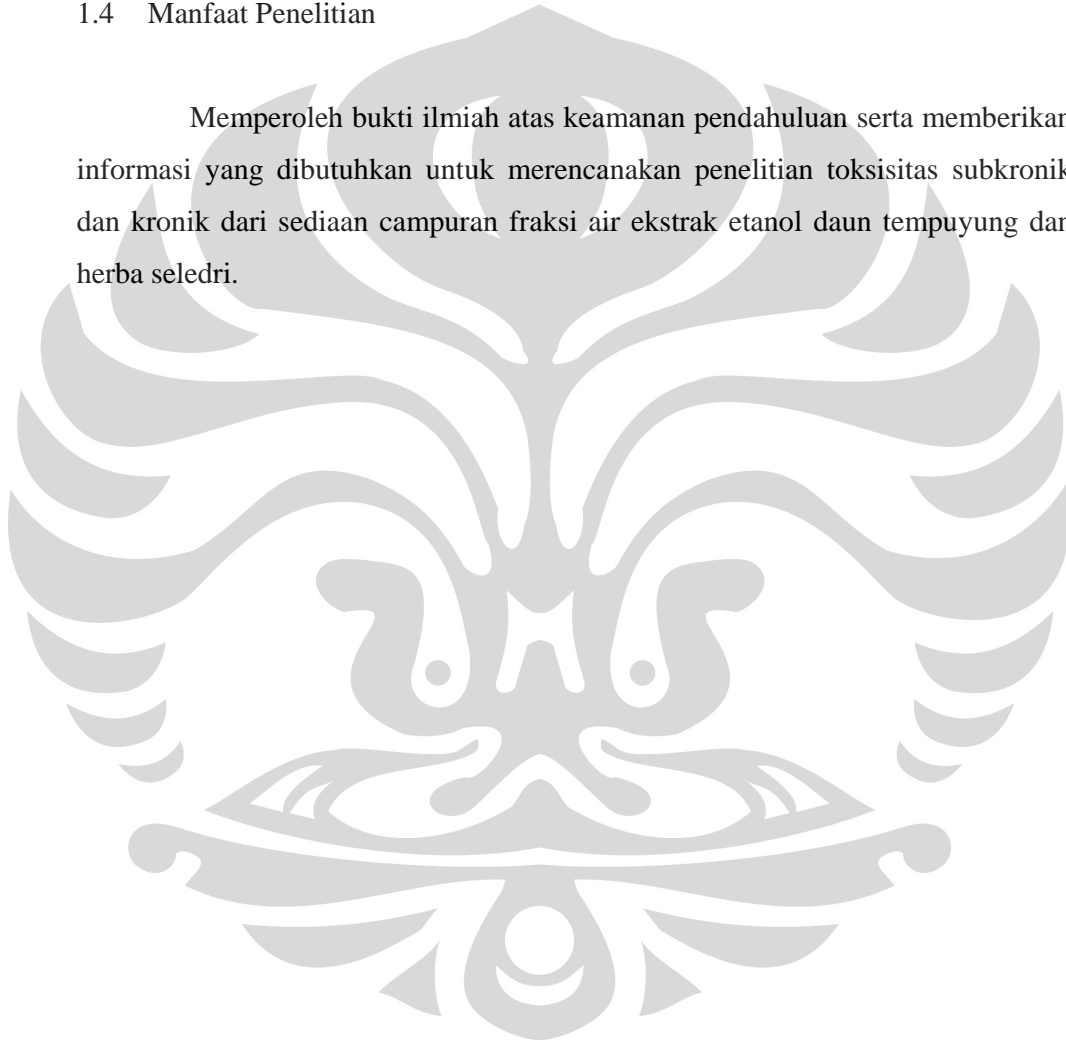
Untuk mengetahui toksisitas akut campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan herba seledri (*Apium graveolens* L.) ditinjau dari nilai LD₅₀ dan pengaruhnya terhadap kadar kreatinin plasma serta histologis ginjal mencit.

1.3 Hipotesis

Pemberian campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri tidak memberikan efek toksik terhadap mencit dan tidak mempengaruhi kadar kreatinin plasma serta histologis ginjal mencit.

1.4 Manfaat Penelitian

Memperoleh bukti ilmiah atas keamanan pendahuluan serta memberikan informasi yang dibutuhkan untuk merencanakan penelitian toksisitas subkronik dan kronik dari sediaan campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Toksisitas Akut

Setiap zat yang dikonsumsi manusia harus aman bagi tubuh manusia termasuk didalamnya obat-obatan kimia atau herbal. Persyaratan untuk memperoleh izin edar dari Badan POM, obat herbal harus memiliki data uji praklinik. Uji praklinik merupakan penelitian eksperimental yang dikerjakan secara *in vivo* maupun *in vitro* menggunakan berbagai hewan uji antara lain mencit dan tikus. Uji praklinik terdiri atas uji toksikologi untuk menilai keamanan obat yang diuji serta uji farmakodinamik untuk pemberian informasi tentang khasiat (Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional, 2000). Setelah uji praklinik, uji keamanan obat herbal dilanjutkan dengan uji klinik yang dilakukan pada manusia untuk membuktikan manfaat obat sesuai indikasi yang diajukan, dan memastikan status keamanan obat herbal tersebut.

Sebagai pendahuluan pada uji praklinik dilakukan uji toksikologi yang terdiri atas dua macam, yaitu toksisitas umum dan toksisitas khusus. Penelitian mengenai toksisitas umum suatu zat dibagi menjadi tiga jenis yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas jangka pendek, dan uji toksisitas jangka panjang. Uji toksisitas akut dilakukan dengan memberi zat yang diuji sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam. Uji toksisitas jangka pendek dilakukan dengan memberikan bahan berulang-ulang, biasanya setiap hari atau lima kali seminggu, selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan. Sementara uji toksisitas jangka panjang dilakukan dengan memberi zat uji berulang-ulang selama masa hidup hewan uji, atau sekurang-kurangnya sebagian besar dari masa hidupnya (Franck, 1995; Harmita, 2005). Penelitian mengenai toksisitas khusus terdiri dari uji

teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik, yang pelaksanaannya disesuaikan dengan indikasi obat yang bersangkutan.

Penelitian toksisitas akut bertujuan mencari besarnya dosis tunggal yang membunuh 50% dari sekelompok hewan uji (LD_{50}). Pada tahap ini sekaligus diamati gejala toksik dan perubahan patologi organ pada hewan yang bersangkutan (Nafrialdi, 2007). Nilai LD_{50} yang didapat berguna untuk mengklasifikasikan suatu zat sesuai dengan toksisitas relatifnya (Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional, 2000). Pada uji toksisitas akut dapat digunakan mencit ataupun tikus. Hewan ini dipilih karena harganya relatif murah, mudah didapat, dan mudah ditangani. Selain itu terdapat banyak data toksikologi tentang jenis hewan ini (Franck, 1995). Berbagai metode tersedia untuk menghitung nilai LD_{50} , yaitu :

a. Metode prosedur penetapan range oleh Weil

Metode Weil menyediakan tabel untuk menghitung nilai LD_{50} dengan tingkat kepercayaan 95%. Pada prosedur ini diperbolehkan penggunaan 2-10 hewan uji pada setiap tingkat dosis, dan atau empat atau lebih dosis yang dibedakan dengan faktor geometrik yang konstan, biasanya 2 (Harmita, 2005; Franck, 1995).

Nilai LD_{50} didapat berdasarkan rumus :

$$\log m = \log D + d(f + 1) \quad (2.1)$$

Dimana m adalah harga LD_{50} ; D adalah dosis terendah yang digunakan; d adalah nilai log R (log kelipatan dosis); f adalah suatu faktor dalam tabel Weil.

Terkait dengan upaya mendapatkan dosis letal pada uji LD_{50} , pemberian obat dilakukan dengan besar dosis bertingkat dengan kelipatan tetap. Cara pemberian diupayakan disesuaikan dengan cara penggunaannya (Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional, 2000).

Selain digunakan untuk klasifikasi zat kimia sesuai dengan toksisitas relatifnya, LD_{50} juga berguna untuk mengevaluasi dampak keracunan yang tidak

disengaja, perencanaan penelitian toksisitas subkronik dan kronik pada hewan, memberikan informasi tentang mekanisme toksisitas, pengaruh umur, seks, faktor pejamu, dan faktor lingkungan lainnya, variasi respon antarspesies hewan, memberikan informasi tentang reaktivitas suatu populasi hewan, memberi sumbangan bagi informasi yang dibutuhkan dalam merencanakan pengujian obat pada manusia dan dalam pengendalian mutu zat kimia, serta deteksi pencemaran toksik (Loomis TA, 1978).

b. Metode probit kertas logaritma Miller and Tainter

Hewan uji diberi dosis yang menurun secara eksponensial sehingga didapatkan data persentase kematian berupa garis linear. LD₅₀ dengan rumus persamaan garis sederhana dengan memasukkan nilai log dosis sebagai y dan nilai dari tabel probit sebagai x .

$$y = a + bx \quad (2.2)$$

Dimana y adalah log dosis; x adalah nilai dari tabel probit (Harmita, 2005) .

c. Metode Farmakope Indonesia III (FI III)

Nilai LD₅₀ dihitung dengan rumus:

$$m = a - b(\sum Pi - 0,5) \quad (2.3)$$

Dimana m adalah log LD₅₀; a adalah logaritma dosis terendah yang dapat menyebabkan kematian dalam satu kelompok; b adalah selisih logaritma dosis berurutan; Pi adalah 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 kelompok dosis dengan pengenceran ketepatan tetap. Jumlah hewan coba tiap kelompok harus

sama dan diatur sedemikian rupa memberikan efek kematian 0-100% (Farmakope Indonesia ed IV, 1995)

Tabel 2.1 Klasifikasi zat kimia/obat berdasarkan toksisitas relatif

Kategori	LD50
Super toksik	5 mg/kg atau kurang
Amat sangat toksik	5-50 mg/kg
Sangat toksik	50-500 mg/kg
Toksik sedang	0,5-5 g/kg
Toksik ringan	5-15 g/kg
Praktis tidak toksik	>15 g/kg

2.2 Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

2.2.1 Taksonomi (Joanne, Anderson, David, 2007)

Tanaman tempuyung diklasifikasikan sebagai berikut:

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Asterales
Suku	: Asteraceae
Marga	: <i>Sonchus</i>
Jenis	: <i>Sonchus arvensis</i> L.

2.2.2. Nama Daerah dan Nama Asing (Indeks Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia, 1995)

Indonesia

Jawa : Tempuyung

Sunda : Jombang, j. lalakina, galibug, lempung, rayana

Inggris : Sow thistle

Perancis : laitron des champs

China : Niu she tou

2.2.3 Deskripsi

Sonchus arvensis adalah tanaman tahunan tinggi 1-2 m. Batang berlubang, bergetah putih, hijau keputihan. Bunga majemuk. Daun tunggal tidak bertangkai, helai daun berbentuk lonjong atau berbentuk lanset, berlekuk menjari atau berlekuk tidak teratur; pangkal daun menyempit atau berbentuk panah sampai berbentuk jantung; pinggir daun bergerigi tidak teratur; panjang daun 6-48 cm, lebar daun 2-10 cm; permukaan daun sebelah atas agak kasar dan berwarna lebih pucat (Materia Medika Indonesia jilid V, 1989).

2.2.4 Kandungan Kimia

Sonchus arvensis mengandung banyak senyawa kimia, seperti golongan flavonoid (luteolin-7-O-glukosida dan apigenin-7-O-glukosida), dan kumarin. Kandungan flavonoid total dalam daun tempuyung terbesar adalah apigenin-7-O-glikosida (Sriningsih, Hapsoro, Sumaryono, 2008).

2.2.5 Kegunaan

Sonchus arvensis biasa digunakan sebagai anti inflamasi, sedatif, peluruh batu ginjal, hipertensi, dan pengobatan penyakit asam urat (Wakidi, 2003). Di negara Cina, tanaman ini digunakan sebagai insektisida (Perry, Lily, 1985).

2.3 Seledri (*Apium graveolens* L.)

2.3.1 Taksonomi (Joanne, Anderson, David, 2007)

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Umbelliflorae
Bangsa	: Apiales
Suku	: Umbelliferae
Marga	: <i>Apium</i>
Jenis	: <i>Apium graveolens</i> L.

2.3.2 Nama Daerah dan Nama Asing (Indeks tumbuh-tumbuhan Indonesia, 1995)

Indonesia (Jawa)	: saladri, selderi, seleri, daun sop, daun soh, sadri, dan sederi
Malaysia	: daun sup
Filipina	: kintsay
Singapura	: celerypote (Sawu)
Thailand	: phakpum, phakkhaopun

2.3.3 Deskripsi Tanaman

Herba seledri terdiri atas seluruh bagian tanaman tanpa bunga yang dikeringkan dari *Apium graveolens*. Bau khas aromatik, rasa agak asin, agak pedas, dan menimbulkan rasa tebal di lidah. Daun majemuk, menyirip, tipis, rapuh, jumlah anak daun 3-7 helai, bentuk belah ketupat miring, panjang 2-8 cm, lebar 2-5 cm. Pangkal dan ujung anak daun runcing. Batang pendek dengan rusuk-rusuk dan alur membujur (Materia Medika Indonesia jilid VI, 1995).

2.3.4 Kandungan Kimia

Kandungan kimia seledri antara lain kumarin, flavonoid (apiin, apigenin), ftalida (3-n-butylftalida), dan steroid (Perry, Lily, 1985).

2.3.5 Efek Farmakologi

Tanaman seledri memiliki efek hipotensif (menurunkan tekanan darah). Percobaan perfusi pembuluh darah meyakinkan bahwa apigenin mempunyai efek sebagai vasodilator perifer yang berhubungan dengan efek hipotensifnya. Tekanan darah umumnya mulai turun setelah satu hari pengobatan, diikuti dengan meningkatnya volume urin yang dikeluarkan. Herba seledri bermanfaat sebagai diuretik, stimulant produksi urin, dan membantu kontrol tubuh terhadap cairan yang berlebihan (Zhang, Kim, 2002; Han, Kim, Jang, 2008).

Pemberian 3-n-butylftalida (BuPh) dengan dosis 2,0-4,0 mg/hari pada tikus yang dibuat hipertensi menimbulkan efek hipotensif atau menurunkan tekanan darah dan juga dapat mengurangi hormon stres yang dapat menyebabkan kontraksi pembuluh darah (Tsi, Tan, 1998). Sari air herba seledri dosis 0,14 gram/200g bb/hari; 0,72 gram/200g bb/hari dan 3,6 gram/200g bb/hari menunjukkan adanya efek menurunkan kadar kolesterol dan lipid pada tikus putih yang diberi diet tinggi kolesterol dan lemak (Juheini, 2002).

2.3.6 Efek Samping, Efek yang tidak diinginkan, dan Interaksi Obat

Pada penderita yang sensitif terhadap tanaman apiaceae mungkin terjadi dermatitis dan reaksi anafilaksis. Penggunaan herba seledri segar lebih dari 200 gram sekali minum dapat menyebabkan penurunan tekanan darah secara tajam hingga dapat terjadi syok (Acuan Sediaan Herbal, 2000). Interaksi herba seledri dengan obat antikoagulan (contoh: warfarin) dapat menambah efek antikoagulan yang berakibat pada peningkatan risiko perdarahan (Dipiro, Talbert, Gary, 2000).

2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi (berasal dari kata *extractio*; latin) adalah suatu proses penarikan zat dari bahan alam dengan menggunakan pelarut tertentu, dimana zat yang diinginkan tersebut larut didalamnya (Howard, 1989). Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, cahaya, udara, dan derajat keasaman. Diketahuinya senyawa aktif yang dikandung suatu simplisia akan mempermudah pemilihan cara ekstraksi yang tepat (Acuan Sediaan Herbal, 2000).

Sejumlah metode menggunakan pelarut organik atau pelarut yang mengandung air diterapkan dalam ekstraksi bahan alam. Pada ekstraksi cair-padat bahan tanaman mengalami kontak dengan pelarut. Proses keseluruhannya bersifat dinamis dan dapat disederhanakan kedalam beberapa tahap. Pada tahap pertama misalnya pelarut harus berdifusi ke dalam sel, pada tahap selanjutnya pelarut harus dapat melarutkan metabolit tanaman, dan akhirnya harus berdifusi keluar sel meningkatkan jumlah metabolit yang terekstraksi (Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, 2000). Beberapa metode yang sering digunakan dalam ekstraksi bahan alam antara lain (Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, 2000) :

2.4.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Prosedurnya dilakukan dengan merendam bahan tanaman (simplisia) dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup pada suhu kamar. Pengadukan sesekali ataupun secara konstan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Setelah ekstraksi, residu bahan tanaman harus dipisahkan dari pelarut. Hal ini melibatkan proses pemisahan kasar dengan cara dekantasi, biasanya dilanjutkan dengan penyaringan. Kelemahan yang utama dari maserasi adalah prosesnya cukup memakan waktu yang lama, dapat berlangsung beberapa jam sampai beberapa minggu. Beberapa senyawa

tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada temperatur kamar. Akan tetapi, maserasi tidak menyebabkan degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas karena dilakukan pada temperatur kamar

b. Perkolasi

Pada perkolasi, serbuk tanaman direndam dalam pelarut pada sebuah alat perkolator. Perkolasi cukup sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar. Seperti pada maserasi, untuk mengekstrak secara menyeluruh dilakukan dengan penambahan pelarut yang baru (*fresh solvent*) dan semua ekstrak dikumpulkan. Untuk meyakinkan perkolasi sudah sempurna, perkolat dapat diuji adanya metabolit dengan reagen spesifik.

2.4.2 Cara Panas

a. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Refluks

Ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Kekurangan yang utama dari metode ini adalah terdegradasinya komponen yang tidak tahan panas.

c. Digesti

Adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50⁰C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96-98⁰C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air.

2.5 Flavonoid

2.5.1 Deskripsi

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar dimana terdapat dalam semua tumbuhan hijau (Markham, 1988). Umumnya, flavonoid yang merupakan metabolit sekunder tanaman terdapat dalam bentuk terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Oleh karena itu, dalam menganalisis flavonoid akan lebih baik jika memeriksa aglikon yang terdapat dalam bentuk ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis sebelum memperhatikan kemurnian glikosida yang mungkin terdapat dalam ekstrak asalnya.

Flavonoid menurut strukturnya merupakan senyawa induk flavon. Flavonoid merupakan senyawa fenol (polifenol) dan mengandung sistem aromatik terkonjugasi. Dengan demikian senyawa flavonoid akan menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum UV dan sinar tampak.

Dengan demikian, golongan flavonoid memiliki ciri-ciri sebagai berikut:

- a. Umumnya berupa senyawa polifenol
- b. Senyawa fenolnya berikatan dengan gula sebagai glikosida sehingga mudah larut dalam air

- c. Terdapat dalam vakuola tumbuhan sebagai campuran, jarang dijumpai dalam bentuk tunggal
- d. Mencakup banyak pigmen pada seluruh dunia tumbuhan, mulai dari fungi sampai angiospermae
- e. Merupakan suatu senyawa dengan sistem aromatik terkonjugasi sehingga memiliki serapan yang kuat pada daerah spektrum UV-Vis
- f. Aglikon flavonoid dapat larut dalam basa karena senyawa polifenolnya bersifat agak asam.

2.5.2 Sifat Kelarutan

Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil. Oleh karena itu flavonoid larut dalam pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol, air.

2.5.3 Identifikasi

Sebagian besar senyawa flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida. Pada prinsipnya, ikatan glikosida terbentuk apabila gugus hidroksil dari alkohol beradisi kepada gugus karbonil dari gula, sama seperti adisi alkohol kepada aldehid yang dikatalisa oleh asam yang menghasilkan suatu asetal (Harborn, 1987)

Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono-, di- atau triglikosida dimana satu, dua atau tiga gugus hidroksil dalam molekul flavonoid terikat oleh gula. Poliglikosida larut dalam air dan sedikit larut dalam pelarut organik seperti eter, benzen, kloroform dan aseton.

Cara identifikasi dari flavonoid yaitu dengan cara:

a. Reduksi dengan Zn

Adanya flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna merah intensif setelah penambahan serbuk Zn

b. Reduksi dengan Mg

Adanya flavonoid ditunjukkan dengan warna merah keunguan dengan penambahan serbuk Mg. Hal ini dikarenakan Mg lebih bersifat elektropositif dibandingkan dengan Zn sesuai dengan deret volta sehingga Mg lebih bersifat reduktor kuat (reduksi Mg lebih sensitif daripada reduksi Zn).

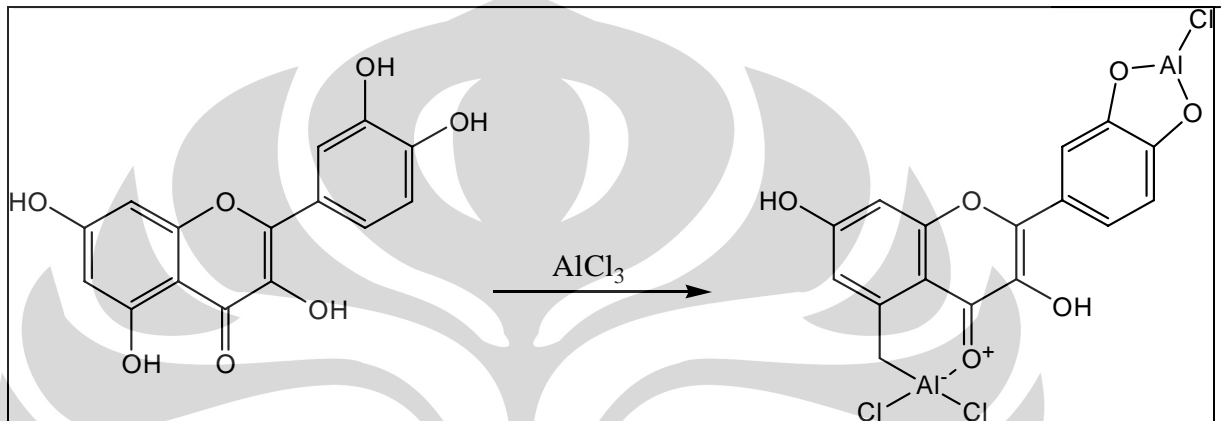
c. Uji fluoresensi

Fluoresensi ini terjadi karena terdapat senyawa kompleks yang berwarna karena adanya gugus OH dalam flavonoid pada posisi orto. Fluoresensi dengan sinar UV pada panjang gelombang 425 nm.

2.5.4 Uji Kimia untuk Penetapan Kadar Flavonoid Total

Analisis kadar flavonoid total dalam suatu bahan tanaman, dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis, kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, kromatografi gas-spektrofotometri massa, dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Walaupun teknik kromatografi dalam kombinasi dengan analisis spektrum serapan dan spektrofotometri massa dapat memberikan informasi untuk identifikasi dan kuantifikasi flavonoid, tetapi metode ini memerlukan peralatan yang lebih canggih, standard untuk zat aktifnya lebih banyak, dan memerlukan waktu yang lebih lama. Metode spektrofotometri merupakan metode yang mudah dilakukan dan sesuai untuk analisis secara rutin. Ada dua jenis metode spektrofotometri untuk menentukan kadar flavonoid total, yaitu metode 2,4-dinitrofenilhidrazin dan metode aluminium klorida (Chan, Yang, Wen, 2002). Metode 2,4-dinitrofenilhidrazin digunakan jika flavonoid yang ditentukan kadarnya berupa flavanon dan flavanonol, sedangkan flavonoid golongan flavon dan flavonol ditentukan kadarnya dengan metode Chang (Chang, Yang, Wen, 2002).

Flavonoid dalam daun tempuyung dan herba seledri terdapat dalam bentuk flavon dan flavonol, sehingga lebih sesuai ditetapkan kadarnya dengan metode spektrofotometri menggunakan aluminium klorida (metode Chang). Perbandingan yang digunakan adalah kuersetin. Flavonoid (kuersetin) akan bereaksi dengan aluminium klorida (AlCl_3) membentuk suatu kompleks, reaksinya sebagai berikut:



Gambar 2.1 Reaksi pembentukan kompleks kuersetin dengan AlCl_3

2.6 Spektrofotometer

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton) (Harmita, 2005).

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk berbagai macam keperluan antara lain: analisis struktur suatu senyawa, penetapan kadar, pemeriksaan kemurnian, dan identifikasi suatu zat. Pada spektrofotometri, pelarut yang dapat digunakan adalah semua cairan yang sesuai, namun dapat diperoleh dalam bentuk murni dan tidak menunjukkan absorpsi pelarut tersebut pada daerah ukur 220 sampai 800 nm, serta dengan mudah dapat melarutkan senyawa yang akan dianalisis. Pelarut yang terutama digunakan adalah air, etanol, metanol, dan heksan (Harmita, 2005).

2.7 Kromatografi

Kromatografi adalah prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih. Salah satu fase bergerak dalam arah tertentu dan di dalam zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion. Dengan pemisahan ini, masing-masing zat dapat diidentifikasi dengan metode analitik (Farmakope Indonesia ed IV, 1995).

Secara umum, teknik kromatografi menggunakan dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak membawa zat terlarut melalui media hingga terpisah dari zat terlarut lainnya. Berdasarkan bentuk fase gerak, kromatografi dapat dibagi menjadi kromatografi cair (KC) dan kromatografi gas (KG). Fase diam dapat bertindak sebagai zat penjerap (contohnya alumina, silika gel, dan resin penukar ion) atau bertindak melarutkan zat terlarut sehingga terjadi partisi antara fase diam dan fase gerak (Farmakope Indonesia ed IV, 1995).

Jenis kromatografi yang umum digunakan dalam analisis senyawa alam adalah kromatografi kolom (KK), kromatografi kertas (KKt), kromatografi lapis tipis (KLT), dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis umumnya digunakan untuk identifikasi. Pada kromatografi lapis tipis, zat penjerap merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik, atau logam secara merata. Perkiraan identifikasi diperoleh dengan pengamatan bercak dengan R_f yang identik dan ukuran yang hampir sama, dengan menotolkan zat uji dan baku pembanding pada lempeng yang sama. Harga R_f diperoleh dengan mengukur jarak antara titik awal dengan titik paling depan (Farmakope Indonesia ed IV, 1995).

2.8 Ginjal

2.8.1 Anatomi Ginjal

Ginjal merupakan sepasang organ berbentuk seperti kacang (*bean-shaped*) yang terletak di luar rongga peritoneum di bagian posterior, sebelah atas dinding abdomen (Corwin, 2001). Ginjal pada orang dewasa memiliki panjang 11,5 cm, lebarnya 6 cm, tebal 3,5 cm dan berat kedua ginjal bervariasi antara 120-170 gram atau lebih kurang 0,4% dari berat badan (Purnomo, 2000).

Potongan longitudinal ginjal memperlihatkan dua daerah yang berbeda yaitu korteks dan medula. Korteks mengandung semua kapiler glomerulus dan sebagian segmen tubulus pendek, sedangkan medula yang berada disebelah dalam merupakan tempat sebagian besar segmen tubulus (Corwin, 2001).

Nefron merupakan unit dasar struktural dan fungsional dari ginjal yang disatukan satu sama lain oleh jaringan ikat. Setiap ginjal terdiri dari sekitar satu juta nefron. Setiap nefron terdiri dari satu glomerulus dan satu tubulus renal. Tubulus renal terdiri dari kapsula Bowman, tubulus proksimal, lengkung Henle dan tubulus distal (Sherwood, 2001).

2.8.2 Fungsi Ginjal

Ginjal berperan penting dalam mempertahankan homeostasis tubuh dengan berbagai cara. Fungsi spesifik yang dilakukan oleh ginjal adalah mempertahankan keseimbangan air dalam tubuh, mengatur jumlah dan konsentrasi sebagian besar ion ekstraseluler, memelihara volume plasma yang sesuai, membantu memelihara keseimbangan asam-basa tubuh, dan memelihara osmolaritas. Ginjal juga berfungsi untuk mengekskresikan berbagai senyawa asing seperti obat, pestisida dan senyawa eksogen non-nutrisi lainnya. Produk-produk sisa metabolisme seperti urea, asam urat, dan kreatinin juga diekskresikan oleh ginjal. Ginjal dapat mensekresikan senyawa khusus seperti eritropoetin, renin dan kreatinin (Sherwood, 2001).

2.8.3 Patofisiologi Ginjal

Kerusakan ginjal dapat ditandai dengan kelainan fungsi reabsorpsi tubulus dan filtrasi glomerulus. Kelainan fungsi reabsorpsi tubulus dapat menyebabkan hilangnya zat-zat yang masih berguna bagi tubuh seperti elektrolit, mineral, dan glukosa. Kelainan filtrasi glomerulus menyebabkan berkurangnya pengeluaran terhadap zat yang tidak dibutuhkan lagi dan berbahaya bagi tubuh seperti urea, asam urat, dan kreatinin. Perubahan filtrasi glomerulus juga dapat menyebabkan lolosnya zat-zat yang memiliki berat molekul besar seperti protein yang seharusnya dapat tertahan oleh glomerulus. Pada keadaan yang lebih parah kelainan tersebut dapat menyebabkan gagal ginjal. Penyakit gagal ginjal dapat dibedakan menjadi dua macam yaitu gagal ginjal akut dan gagal ginjal kronik (Corwin, 2001).

Gagal ginjal kronik adalah gagal ginjal yang berkaitan dengan penurunan fungsi ginjal dalam hal ini adalah GFR (glomerulus filtration rate) secara progresif dan ireversibel. Pada gagal ginjal, GFR dapat turun menjadi kurang dari 5% dari normal pada stadium akhirnya. Pada kondisi ini hanya sedikit nefron fungsional yang tersisa, selain itu ditemukan pula jaringan parut dan atrofi tubulus di seluruh ginjal. Gambaran klinis gagal ginjal ini sama seperti pada gagal ginjal akut namun lebih parah (Corwin, 2001).

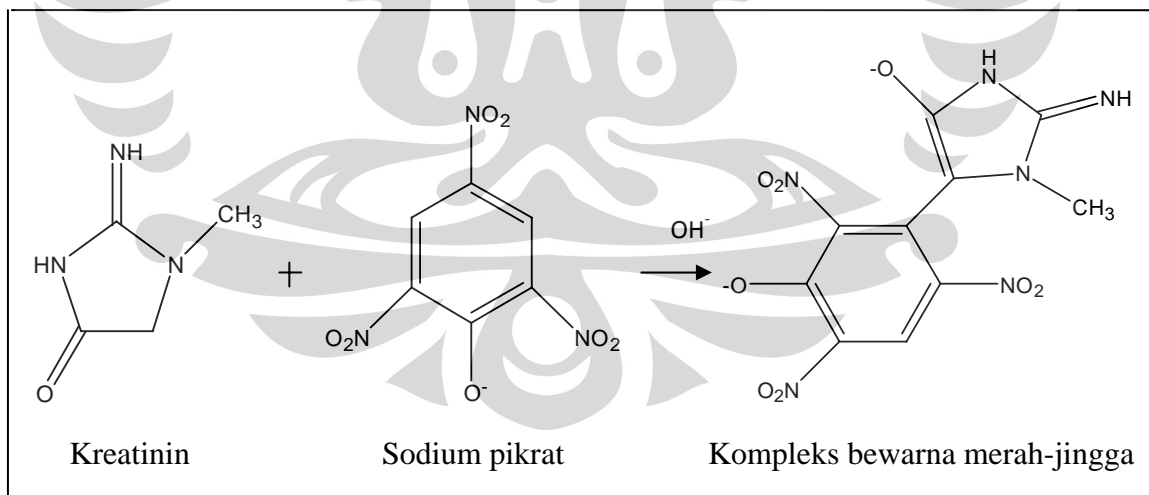
2.9 Kreatinin

Kreatinin merupakan suatu zat yang dibentuk di dalam otot dari kreatin fosfat secara ireversibel, melalui proses dehidrasi nonenzimatik dan pelepasan gugus fosfat. Banyaknya ekskresi kreatinin dalam urin 24 jam sebanding dengan massa otot (Murray, 2003). Pada wanita konsentrasi kreatinin sekitar 0,7 mg/100 mL darah dan pada pria 1,5 mg/100 mL darah. Jika kadar kreatinin dalam darah lebih besar dari nilai tersebut maka dicurigai pasien mengalami penyakit ginjal (Corwin, 2001).

Kreatinin merupakan indikator yang lebih baik dibandingkan dengan urea untuk menilai fungsi ginjal karena tidak terpengaruh adanya peningkatan atau penurunan asupan protein dalam makanan dan penguraian protein yang tidak lazim

seperti cedera otot. Kreatinin seluruhnya diekskresikan dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Oleh karena itu, peningkatan kadar kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal serta dapat digunakan untuk memperkirakan GFR (Franck, 1995). Penurunan fungsi ginjal sebesar 50% digambarkan dengan kenaikan kadar kreatinin serum sebanyak dua kali lipat, sedangkan penurunan 75% fungsi ginjal digambarkan dengan kenaikan tiga kali lipat dari kadar kreatinin serum (Corwin, 2001).

Metode yang dapat digunakan untuk mengukur kadar kreatinin dalam darah ada dua macam yaitu metode kimia dan metode enzimatik. Metode kimia yang digunakan didasarkan pada reaksi Jaffe yaitu reaksi antara kreatinin dengan asam pikrat dalam larutan yang alkalin (larutan pikrat alkalin) sehingga membentuk kompleks kreatinin pikrat yang berwarna merah jingga. Kompleks berwarna ini kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm (Merck, 1976). Metode enzimatik berdasarkan reaksi yang melibatkan sejumlah enzim yang kemudian akan menghasilkan produk berwarna. Produk berwarna inilah yang akan diukur serapannya (Burtis, Ashwood, 1999).



Gambar 2.2 Reaksi kimia pada pengukuran kreatinin plasma [Sumber: Kaplan, A., Pesce A., 1996]

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium farmakologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Penelitian dilakukan dari bulan Februari 2010 sampai bulan Mei 2010.

3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: blender (National), *shaker*, *rotary evaporator* (Buchi), alkoholmeter, oven (Hotpack), *waterbath*, kertas saring, cawan penguap (Jangkar), krus silikat (Jangkar), alat-alat gelas, sonde lambung, spuit (Terumo), *mikrotube*, penangas air (Lab-Line), timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan (Mettler-Toledo), sentrifugator (Biofuge 13, Heraeus Sepatech), pipet Eppendorf (Socorex), spektrofotometer (Genesys 20 dan UV-Shimadzu 1601), Vortex (Health H-VM-300 Touch), lemari pendingin, mikroskop cahaya (Nikon SE), mikroprojektor (Ken A-Vision), tanur (Thermolyne), bejana kromatografi (Camag), alat spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-530), kuvet (Merck), alat refluks.

3.3 Bahan

a. Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan mencit (*Mus musculus L.*) jantan dan betina dari galur DDY (deutschland denken yoken), berumur lebih kurang dua bulan

dengan berat badan 20 - 30 gram masing-masing berjumlah 25 ekor. Hewan uji diperoleh dari bagian nonruminansia dan satwa harapan, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

b. Bahan Uji

Pada penelitian ini bahan uji yang digunakan adalah herba seledri (*Apium graveolens* L.) yang diperoleh dari pasar Bogor dan daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dari kebun Departemen Farmasi UI, Depok. Daun tempuyung dan herba seledri dapat dilihat pada Gambar 3.1.

c. Bahan Kimia

Pelarut dan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: metanol (Merck), etanol 96 % (Merck), dan etil asetat (Merk), aquades, n-heksan (Merck), kloroform (Merck), asam klorida (Merck), Alumunium (III) klorida (Merck), Na asetat (Merck), standar kuersetin (Sigma, Germany), petroleum eter (Merck), serbuk Zn (seng), serbuk Mg (magnesium), serbuk halus borat dan asam oksalat, standar kreatinin, asam pikrat, natrium hidroksida, heparin sodium (PT. Pratapa Nirmala), CMC Daiichi (PT. Brataco Chemica), dietil eter, natrium klorida 0,9%, lempeng silica gel 60 F₂₅₄ (Merck).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pengumpulan, Penyiapan dan Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Tempuyung dan Herba Seledri

Daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan herba seledri (*Apium graveolens* L.) dibersihkan dengan air mengalir, lalu dipotong. Selanjutnya dikeringkan pada udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung selama beberapa hari hingga cukup regas. Pengeringan dilanjutkan dalam oven pada suhu 40-50°C selama 1 jam. Kemudian diserbukkan menggunakan blender selama 5 menit.

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung dan Herba Seledri

Serbuk *A. graveolens* dan *S. arvensis* masing-masing sebanyak 257 gram dan 250 gram ditimbang. Masing-masing dimasukkan ke dalam botol coklat yang terpisah, dan dimaserasi dengan pelarut sampai seluruh serbuk terendam. Masing-masing serbuk dimaserasi dengan menggunakan etanol 70% sebanyak 1 L. Maserasi dilakukan selama 6 jam dengan pengocokan tiap satu jam sekali selama 1 jam. Kemudian didiamkan selama semalam. Maserasi dilakukan beberapa kali sampai didapat filtrat yang tidak berwarna. Maserasi serbuk daun tempuyung dan herba seledri dilakukan dengan cara yang sama. Ekstrak hasil maserasi dipekatkan dengan evaporator vakum sampai sepertiganya, setelah itu diuapkan di atas waterbath sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental daun tempuyung dan herba seledri disimpan dalam lemari pendingin 4-11° C dalam wadah tertutup rapat. Proses ekstraksi daun tempuyung dan herba seledri dapat dilihat dalam Lampiran 3.1

3.4.3 Identifikasi Flavonoid Pada Ekstrak Kental Etanol Daun Tempuyung dan Herba Seledri

Sebelum difraksinasi, ekstrak kental etanol diidentifikasi terlebih dahulu kandungan flavonoidnya. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara reduksi Zn, reduksi Mg, dan dengan uji fluoresensi

a. Pembuatan Larutan Percobaan

Sebanyak 1 gram ekstrak kental disari dengan 20 mL metanol selama 10 menit, kemudian disaring dan filtrat diencerkan dengan 20 mL aquadest. Kemudian filtrat ditambahkan 10 mL petroleum eter untuk menarik senyawa-senyawa pengotor yang bersifat nonpolar, lalu dikocok dengan hati-hati dan kemudian didiamkan. Lapisan metanol diambil dan diuapkan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$, lalu dilarutkan dalam 10 mL etil asetat dan disaring. Maka didapatkan larutan percobaan.

b. Reduksi dengan Zn

Sebanyak 1 mL larutan percobaan diuapkan hingga kering, lalu dilarutkan dalam 2 mL etanol 95%. Kemudian ditambahkan sedikit serbuk Zn (seng) dan 2 mL HCl 2N. Adanya flavonoid terlihat dari timbulnya warna merah intensif setelah 2-5 menit.

c. Reduksi dengan Mg

Sebanyak 1 mL larutan percobaan diuapkan hingga kering lalu dilarutkan dalam 2 mL etanol 95%. Kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg (magnesium) dan 5 ml HCl pekat. Adanya flavonoid terlihat dari timbulnya warna jingga hingga merah ungu.

d. Uji Fluoresensi

Sebanyak 1 mL larutan percobaan diuapkan hingga kering, lalu dibasahkan dengan aseton dan ditambahkan serbuk halus borat dan asam oksalat. Kemudian dipanaskan dengan hati-hati diatas penangas air. Sisa yang didapat dicampur dengan 10 mL eter. Adanya flavonoid ditandai dengan timbulnya fluorosensi kuning intensif pada campuran jika diamati dibawah sinar UV 366 nm.

3.4.4 Fraksinasi Ekstrak Kental Etanol Daun Tempuyung dan Herba Seledri

Fraksinasi dilakukan dengan penggunaan pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu air dan n-heksan. Tahap pertama yang dilakukan adalah Ekstrak etanol dilarutkan dengan air panas suhu 40°C-50°C. Setelah larut homogen, disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian dicampur dengan n-heksana dengan perbandingan 1:1 pada corong pisah, sehingga diperoleh fraksi n-heksana dan fraksi air. Tahap yang sama dilakukan sampai diperoleh lapisan heksan yang berwarna jernih.

Fraksi air ini kemudian diuapkan di waterbath dengan suhu 40°-50°C sampai kental. Fraksi air kental inilah yang akan menjadi larutan uji. Proses fraksinasi dapat dilihat pada Lampiran 3.2.

3.4.5 Karakteristik Fraksi Air Daun Tempuyung dan Herba Seledri

Pengujian terhadap fraksi air sebagai tahap dalam melengkapi data dalam penetapan parameter fraksi sesuai dengan monografi resmi Materia Medika Indonesia (MMI) dan uji kandungan kimia fraksi dilakukan sebagai tambahan parameter fraksi air yang mengacu pada prosedur Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat dari Departemen Kesehatan (Materia Medika Indonesia Jilid.VI, 1995).

a. Parameter Non Spesifik

i. Kadar Abu Total

Lebih kurang 2-3 gram zat yang telah digerus dan ditimbang seksama, masukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara lalu ratakan. Zat dipijar perlahan-lahan hingga arang habis, lalu dinginkan krus silikat dalam desikator, dan ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Materia Medika Indonesia Jilid.VI, 1995).

ii. Kadar Abu yang tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total, didihkan dengan 25 mL asam klorida encer selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, dan disaring melalui kertas saring bebas abu, dan dipijar hingga bobot tetap, kemudian ditimbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Materia Medika Indonesia Jilid.VI, 1995).

b. Parameter Spesifik

i. Organoleptik

Parameter ini, menggunakan pancaindra dalam mendeskripsikan bentuk, bau, warna, dan rasa fraksi air tersebut.

ii. Senyawa Terlarut Dalam Pelarut Tertentu

Parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu meliputi:

1. Kadar Senyawa yang Larut Dalam Air

Sejumlah 5 gram serbuk kering simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air-kloroform menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring dan 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, dan residu dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap ekstrak awal (Materia Medika Indonesia Jilid.VI, 1995).

2. Kadar Senyawa yang Larut Dalam Etanol

Sejumlah 5 gram serbuk kering simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 95% menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring cepat dengan menghindarkan penguapan etanol, kemudian 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, dan residu dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam etanol 95% terhadap ekstrak awal (Materia Medika Indonesia Jilid.VI, 1995).

3.4.6 Uji Kandungan Kimia Fraksi

a. Pola Kromatogram dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Pola kromatogram dilakukan terhadap fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri. Pola kromatogram dapat diperoleh melalui kromatografi lapis tipis menggunakan berbagai fase gerak yang sesuai dengan kandungan kimia yang dianalisis.

i. Pembuatan Larutan Uji

Sejumlah 3-5 gram fraksi air ekstrak etanol dari daun tempuyung dan herba seledri dilarutkan dalam metanol sampai diperoleh larutan dengan kadar ± 5000 ppm. Kemudian larutan tersebut disaring. Larutan ini sebagai larutan uji.

ii. Pelaksanaan Kromatografi Lapis Tipis

Sebanyak 5 μL larutan uji ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis *silica gel 60 F₂₅₄* yang telah diaktifkan, kemudian dicoba dengan berbagai fase gerak antara lain heksan, kloroform, metanol, etanol, propanol, butanol. Pelarut-pelarut ini kemudian dikombinasi untuk mendapatkan eluen yang sesuai dengan berbagai perbandingan volume. Kombinasi yang digunakan antara lain propanol-air (2:1), kloroform-metanol (1:9), kloroform-etanol (1:2), kloroform-propanol (1:2), kloroform-butanol (1:2), etanol-butanol (2:3), kloroform-metanol-air (3:4:1), kloroform-etanol-air (4:5:1), kloroform-etanol-propanol (1:1:2), kloroform-etanol-butanol (1:2:1), kloroform-propanol-air (2:6:1), kloroform-butanol-air (5:8:1), kloroform-metanol-etil asetat (3:4:1), kloroform-etanol-etil asetat (3:4:1), kloroform-propanol-etil asetat (3:4:1), kloroform-butanol-etil asetat (3:4:1), heksan-etanol-air (4:5:1), kloroform-etanol-propanol-butanol (1:2:1:1), Butanol-asam asetat-air (4:1:5). Fase gerak yang memberikan pemisahan paling baik digunakan untuk percobaan selanjutnya.

b. Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Tempuyung dan Herba Seledri

Fraksi air yang sudah dikentalkan ditimbang seksama lebih kurang 1 gram, lalu dihidrolisis dengan HCl 4N selama 30 menit, lalu larutan disaring. Ekstrak kemudian disari dengan 15 mL etil asetat sebanyak 3 kali, fraksi etil asetat dikumpulkan dan dipekatkan. Hasil ekstrak etil asetat dimasukkan ke dalam labu bersumbat 25 mL, dilarutkan dengan metanol dan tambahkan hingga garis batas. Larutan tersebut sebagai larutan uji. Larutan uji dipipet 0,5 mL lalu dilarutkan dengan metanol 1,5 ml pada tabung reaksi, kemudian tambahkan pereaksi yang terdiri dari

0,1 mL AlCl_3 10% (b/v); 0,1 mL Na asetat 1 M; 2,8 ml aquadest, larutan dicampur hingga homogen dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya larutan diukur serapannya pada alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm dengan menggunakan larutan blanko tanpa penambahan AlCl_3 tetapi digantikan dengan air suling. Kandungan flavonoid total dinyatakan dengan kesetaraan pembanding kuersetin (Chang, Chia-Chi., Yang, Ming-Hua., Wen, Hwe-me., 2002).

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan menggunakan pembanding kuersetin. Kuersetin dipilih sebagai pembanding karena kuersetin merupakan senyawa yang sudah murni dari golongan flavonoid, selain hal itu kuersetin lebih mudah diperoleh dan harganya tidak terlalu mahal. Kuersetin baku ditimbang seksama 25,0 mg dan dilarutkan dengan metanol dalam labu takar 100 ml dan diencerkan hingga garis batas. Larutan tersebut digunakan sebagai larutan induk yang selanjutnya dipipet dan diencerkan dengan metanol sehingga diperoleh 6 konsentrasi yang berbeda. Tiap-tiap konsentrasi dipipet 0,5 mL lalu dilarutkan dengan 1,5 mL metanol kemudian tambahkan pereaksi yang terdiri dari AlCl_3 10% 0,1 mL; Na asetat 1 M 0,1 mL; 2,8 mL aquadest pada tiap-tiap konsentrasi. Larutan dicampur hingga homogen dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 415 nm dengan menggunakan larutan blanko tanpa kuersetin (Chang, Chia-Chi., Yang, Ming-Hua., Wen, Hwe-me., 2002).

3.4.7 Persiapan Hewan Uji

Sebelum dilakukan pemberian campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri, mencit diaklimatisasi selama satu minggu di kandang hewan FMIPA UI. Setiap mencit diberi makan dan minum serta ditimbang berat badannya setiap hari. Mencit yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, warna putih bersih, mata jernih, tingkah laku normal, serta mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu yang diukur secara rutin.

3.4.8 Penetapan Dosis

Penentuan dosis terbesar dilakukan dengan uji pendahuluan untuk mengetahui dosis terbesar yang dapat disondekan kepada mencit. Hasil uji pendahuluan menghasilkan bahwa dosis terbesar yang masih dapat masuk sonde lambung adalah 2 gram dalam 1 mL. Dosis ini merupakan dosis untuk mencit dengan berat badan 30 gram. Dosis tersebut merupakan dosis IV. Dosis III diperoleh dari pengenceran dosis IV. Pengenceran yang sama dilakukan terhadap dosis III untuk mendapatkan dosis II. Pengenceran yang sama dilanjutkan sampai diperoleh dosis I. Penetapan dosis dapat dilihat pada Lampiran 3.3

3.4.9 Pembuatan Larutan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri dengan perbandingan 5:1. Larutan uji dibuat dengan menimbang bahan uji dengan dosis yang telah ditentukan yang kemudian disuspensikan dalam larutan CMC 0,5%. Pembuatan larutan uji selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 3.4.

3.4.10 Pembuatan Larutan dan Pereaksi

a. Pembuatan pereaksi

Larutan pikrat alkalis dibuat dengan mencampur larutan asam pikrat jenuh dengan natrium hidroksida 2% dengan perbandingan 1:1. Larutan asam pikrat jenuh dibuat dengan memasukkan asam pikrat ke dalam 100 mL aquades hingga terbentuk larutan jenuh. Larutan natrium hidroksida 2% dibuat dengan menimbang 2,0 g natrium hidroksida, kemudian dilarutkan dalam aquades hingga volume 100,0 mL. Pereaksi ini harus selalu dibuat baru.

b. Pembuatan Larutan Standar Kreatinin 0,010 mg/mL

Kreatinin standar ditimbang seksama lebih kurang 50,0 mg lalu dilarutkan dalam aquades hingga volume 100,0 mL di dalam labu ukur. Setelah itu dipipet 1,0

mL larutan dengan menggunakan pipet volume dan diencerkan dengan aquades hingga volume 50,0 mL di dalam labu ukur, diperoleh larutan standar kreatinin 0,010 mg/mL.

3.4.11 Pelaksanaan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian dilakukan dengan menggunakan 50 ekor mencit putih masing-masing 25 ekor mencit putih jantan dan 25 ekor mencit betina yang dibagi secara acak kedalam 5 kelompok perlakuan. Kelompok I adalah kelompok perlakuan yang diberi larutan uji dosis I. Kelompok II adalah kelompok perlakuan yang diberi larutan uji dosis II. Kelompok III adalah kelompok yang diberi larutan uji dosis III. Kelompok IV adalah kelompok yang diberi larutan uji dosis IV. Kelompok V merupakan kelompok kontrol yang diberi larutan CMC 0,5%.

Pada penelitian ini, pengelompokan hewan uji berdasarkan rumus Federer.

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15 \quad (3.1)$$

Dimana t adalah jumlah beda kelompok tiap perlakuan terhadap hewan coba dan n merupakan jumlah ulangan.

Beda kelompok perlakuan adalah 5 ($t=5$), maka:

$$(5 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \approx 5$$

Jadi jumlah mencit dalam tiap kelompok adalah 5 ekor jantan dan 5 ekor betina. Dalam penelitian yang akan dilakukan, digunakan 4 tingkatan dosis dan ditambah 1 kelompok kontrol.

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Mencit Jantan (ekor)	Jumlah Mencit Betina (ekor)
I	Diberi larutan uji dosis I 8,33 g/kg bb	5	5
II	Diberi larutan uji dosis II 16,67 g/kg bb	5	5
III	Diberi larutan uji dosis III 33,33 g/kg bb	5	5
IV	Diberi larutan uji dosis IV 66,67 g/kg bb	5	5
V	Kontrol normal diberi larutan CMC 0,5 %	5	5

Larutan uji diberikan secara oral sekali selama 24 jam dengan menggunakan sonde lambung dalam jumlah tertentu sesuai dengan dosis yang diberikan. Pemberian dosis disesuaikan dengan berat badan mencit. Setelah 24 jam dari pemberian dosis, dilakukan pengambilan darah dari sinus orbital yang kemudian diukur kadar kreatininnya. Pada hari ke-15 dari penyondean larutan uji dilakukan pengambilan sampel darah kembali dari sinus orbital sehingga diperoleh plasma untuk diukur kadar kreatinin yang dilanjutkan dengan pembedahan pada hewan uji untuk diambil organ ginjal yang akan dibuat untuk preparat histologis.

a. Pengambilan Plasma Darah

Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital mata. Mencit terlebih dahulu dibius dengan menggunakan eter, setelah itu dengan mikrohematokrit mata ditusuk pada bagian sinus orbital, yaitu pada sudut bola mata dengan mengarah ke daerah belakang bola mata, digerakkan masuk sambil diputar-putar sehingga darah akan keluar karena aksi kapilaritas. Darah yang keluar ditampung dalam mikrotube yang telah diberi heparin. Mikrotube yang berisi darah kemudian dimasukkan ke

dalam tabung sentrifugasi secara hati-hati, lalu disentrifuse dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan filtrat jernih. Filtrat yang jernih ini adalah supernatan yang merupakan plasma yang akan diukur kadar kreatininnya. Gambar pengambilan darah melalui sinus orbital dapat dilihat pada Gambar 3.2.

b. Pengambilan Organ Ginjal

Pengambilan organ ginjal dilakukan dengan cara pembedahan. Sebelum pembedahan mencit dibius terlebih dahulu dengan menggunakan eter lalu biarkan sampai mati. Kemudian tubuhnya diletakkan telentang pada papan bedah. Keempat kakinya diikat, bagian dada dan perut diolesi dengan alkohol 70% kemudian dilakukan pembedahan. Mencit yang dibedah, ginjalnya diambil, dimasukkan ke dalam gelas kimia berisi natrium klorida 0,9% untuk menghilangkan darah yang menempel pada jaringan ginjal, lalu dilakukan prosedur pembuatan sediaan histologis.

3.4.12 Pengukuran Kadar Kreatinin Plasma

Pengukuran kadar kreatinin plasma dilakukan dengan menggunakan metode Jaffe.

Tabel 3.2 Tahap Pengukuran Kadar Kreatinin Plasma

	Sampel	Standar	Blanko
Sampel darah	1,5 mL	-	-
disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit.			
Kemudian dipipet ke dalam tabung baru			
Larutan asam pikrat jenuh	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Larutan NaOH	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Supernatan	100 μ L	-	-
Standar kreatinin	-	100 μ L	-
Aquades	-	-	100 μ L

Larutan pereaksi, standar, dan sampel diinkubasikan pada suhu konstan. Masing-masing larutan sampel, standar dan blanko dicampur dengan baik dalam tabung yang terpisah dan diukur serapannya pada detik ke-30 ($A_{t=30}$) dan serapannya pada detik ke-90 ($A_{t=90}$). Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang 515 nm (Direction for Use Clinical Chemistry, 1976).

Kadar kreatinin plasma dihitung dengan rumus:

$$\text{kadar kreatinin plasma} = \frac{A_{t=90}(\text{sampel}) - A_{t=30}(\text{sampel})}{A_{t=90}(\text{standar}) - A_{t=30}(\text{standar})} \times C \quad (3.2)$$

Dimana $A_{t=90}$ adalah serapan pada pengukuran detik ke-90; $A_{t=30}$ adalah serapan pada pengukuran detik ke-30, sementara C merupakan konsentrasi standar kreatinin. Perhitungan kadar kreatinin plasma dapat dilihat pada Lampiran 3.5.

3.4.13 Pembuatan Sediaan Histologis

Setelah ginjal dibersihkan dan dicuci dengan larutan fisiologis natrium klorida 0,9%, selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologis. Tahapan pembuatan preparat histologis sebagai berikut:

1. Fiksasi

Ginjal dimasukkan ke dalam larutan Bouin (campuran asam pikrat jenuh 70 bagian, formalin 25 bagian, dan asam asetat glasial 5 bagian) lalu direndam selama 24 jam dalam tempat tertutup rapat.

2. Dehidrasi dan Penjernihan

Dehidrasi dilakukan dengan merendam ginjal dalam alkohol dengan konsentrasi meningkat, yaitu berturut-turut dalam alkohol 70% selama 24 jam, kemudian dalam alkohol 96% sebanyak dua kali masing-masing selama 1 jam, lalu dalam alkohol absolut, dua kali masing-masing selama 1 jam. Setelah itu direndam dalam larutan benzil benzoat selama 24 jam, lalu dalam benzol sebanyak dua kali masing-masing 15 menit.

3. Infiltrasi

Jaringan ginjal yang telah didehidrasi direndam dalam paraffin cair dalam dua tahap: paraffin I selama 1 jam, paraffin II selama 1 jam, di dalam inkubator pada suhu 60°C.

4. Penanaman (*embedding*)

Jaringan ginjal yang telah diinfiltrasi dimasukkan ke dalam cetakan berupa kotak-kotak kertas yang berisi paraffin cair hingga terendam, kemudian dibiarkan pada suhu kamar hingga dingin dan membeku. Setelah paraffin menjadi keras maka blok paraffin yang berisi jaringan dapat dilepaskan dari kotak kertas. Kelebihan paraffin di sekitar jaringan dipotong dan dirapikan lalu direkatkan pada kayu pemegang dengan pemanasan

5. Penyayatan (*sectioning*)

Sebelum dilakukan penyayatan, kayu pemegang dipasang pada mikrotom dan pisau mikrotom diatur agar mendapat sayatan berbentuk pita. Tebal sayatan adalah 7 μm .

6. Penempelan Pada Gelas Objek (*mounting*)

Penempelan dilakukan pada gelas objek yang telah diolesi sedikit albumin mayer (campuran putih telur dan gliserin dengan perbandingan 1:1) dan ditetesi air. Sayatan diletakkan pada gelas objek yang dipanaskan di atas paraffin stretcher dengan suhu 47°C sampai jaringan mengembang dengan baik.

7. Melarutkan Paraffin (*deparaffination*)

Paraffin yang melekat di seputar sayatan, dihilangkan dengan cara merendam gelas objek pada larutan xilol selama lebih kurang 6 menit.

8. Hidrasi

Gelas objek yang sudah dibersihkan dari paraffin dimasukkan dalam larutan alkohol dengan konsentrasi turun: alkohol absolut, alkohol 96%, dan alkohol 70% masing-masing selama 3 menit.

9. Pewarnaan (*staining*)

Gelas objek yang telah dihidrasi direndam dalam larutan hematoksilin selama 4 menit, kemudian dicuci dalam bak air dengan air mengalir hingga bagian gelas objek di luar jaringan bersih dari zat warna. Bila warna jaringan terlalu ungu, maka gelas objek dicelupkan ke dalam larutan HCl 1% selama beberapa detik, selanjutnya direndam ke dalam larutan eosin selama 4 menit

10. Dehidrasi

Gelas objek yang telah diwarnai direndam dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat yaitu alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, alkohol absolut selama 3 menit, campuran alkohol : xilol (1:1) selama 5 menit.

11. Penjernihan

Gelas objek yang telah didehidrasi direndam dalam larutan xilol sebanyak tiga kali, masing-masing 2 menit.

12. Penutupan

Sebelum xilol mengering setetes entelan ditetaskan di atas preparat kemudian ditutup perlahan-lahan dengan kaca penutup dan dijaga agar tidak terdapat gelembung udara.

3.4.14 Pengamatan Mikroskopik Preparat Histologis Ginjal

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan membandingkan preparat histologis ginjal antara kelompok kontrol dan kelompok uji dengan menggunakan

mikroskop cahaya. Untuk mengetahui besarnya kerusakan yang terjadi maka dilakukan pengukuran diameter kapsula Bowman serta jarak antara kapsula Bowman dan glomerulus. Pengamatan dilakukan terhadap sampel dengan menggunakan mikroprojektor yang dipasang pada lensa dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali.

3.4.15 Pengukuran Preparat Histologis Ginjal

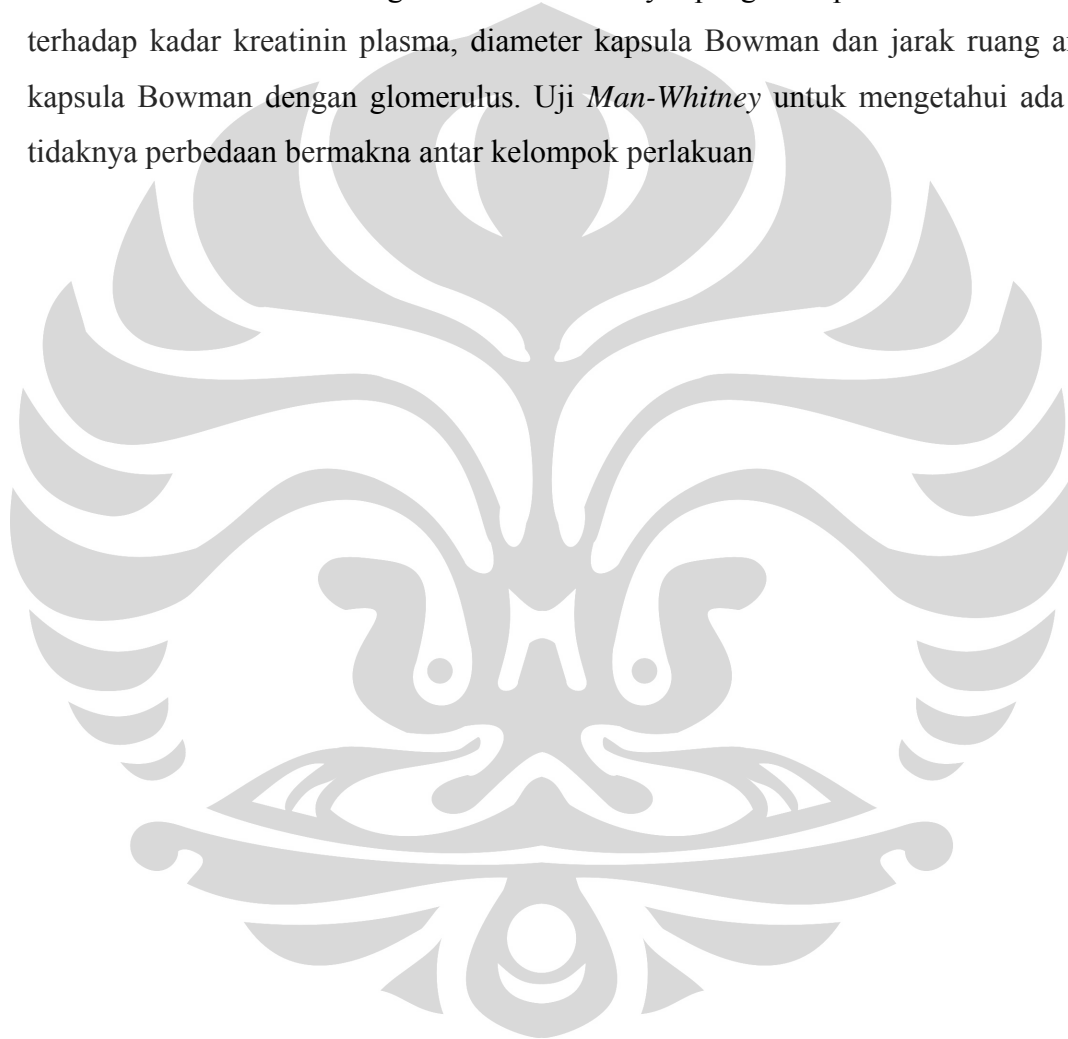
Pengukuran preaparat histologis ginjal dilakukan dengan mengukur diameter kapsula Bowman yang terpanjang dan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus. Jumlah diameter kapsula Bowman maupun jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus yang diukur adalah sebanyak 50 buah yang dipilih secara acak dari 16 irisan ginjal tiap preparat. Diameter kapsula Bowman yang telah diukur, kemudian dihitung nilai rata-ratanya. Pada pengukuran jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus, yang dihitung adalah jarak terjauh antara glomerulus dengan kapsula Bowman. Pengukuran jarak ruang dilakukan dari bagian tepi glomerulus sampai bagian tepi kapsula Bowman. Hasil pengukuran jarak ruang antara kapsula bowman dengan glomerulus dari 50 kali pengukuran dalam preparat yang sama tersebut, kemudian di hitung rata-ratanya.

3.4.16 Pengolahan Data

Hasil perhitungan kadar kreatinin plasma baik setelah 24 jam maupun setelah 14 hari pemberian bahan uji, diameter kapsula Bowman, dan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus dianalisis secara statistik. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan homogenitas *Levene*. Jika data terdistribusi dengan normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji analisis varian satu arah (ANOVA) untuk melihat adanya pengaruh pemberian campuran hasil fraksi air ekstrak etanol terhadap kadar kreatinin plasma, diameter kapsula Bowman, serta jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus. Analisis data dapat dilanjutkan dengan uji BNT (beda nyata terkecil) bila terdapat

perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan. Uji BNT ini untuk mengetahui perbedaan terkecil antar kelompok.

Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi secara normal atau homogen, analisis data dilanjutkan dengan metode uji nonparametrik. Metode uji nonoparametrik yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*. Uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian larutan uji terhadap kadar kreatinin plasma, diameter kapsula Bowman dan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus. Uji *Man-Whitney* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Serbuk Simplisia

Penelitian diawali dengan proses penyiapan simplisia, daun tempuyung yang digunakan berasal dari kebun Departemen Farmasi FMIPA UI Depok, yang dilakukan dalam tiga kali pengambilan. Sementara tanaman seledri yang digunakan berasal dari pasar Bogor. Kedua tanaman ini sudah dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor. Bagian tanaman tempuyung yang digunakan adalah daun yang berasal dari tanaman tempuyung yang sedang atau sudah berbunga. Bagian tanaman seledri yang digunakan adalah seluruh bagian tanaman kecuali bagian bunga.

Daun tempuyung dan herba seledri dibersihkan dahulu sebelum digunakan. Dilanjutkan dengan pengeringan daun tempuyung dan herba seledri. 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 dan bakteri penyebab pembusukan simplisia.

Pengecilan ukuran simplisia dilakukan dengan tujuan memudahkan senyawa kimia terekstraksi dari simplisia. Ukuran serbuk sebaiknya tidak terlalu besar ataupun 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.

Persentase bobot daun tempuyung kering terhadap daun tempuyung segar dan herba seledri kering terhadap herba seledri segar berturut-turut adalah 25,39% dan 20,18%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.5.

4.2 Ekstrak Etanol

Proses ekstraksi daun tempuyung dan herba seledri dilakukan dengan cara maserasi (cara dingin) dengan tujuan mencegah terjadinya penguapan zat-zat yang dapat terjadi pada ekstraksi dengan cara panas (soxlet, refluks, digesti, infus, dekok). Adanya pengocokan atau pengadukan berulang dapat membuat penarikan senyawa kimia berlangsung lebih baik. Pengocokan atau pengadukan dilakukan hingga filtrat tidak berwarna lagi. Bila mengisolasi senyawa dari jaringan hijau, keberhasilan ekstraksi dengan alkohol berkaitan langsung dengan seberapa besar klorofil tertarik oleh pelarut yang digunakan. Filtrat yang jernih memperlihatkan bahwa klorofil yang terkandung dalam suatu tanaman. Tertariknya semua klorofil yang ada, diharapkan kandungan senyawa dalam tumbuhan akan tertarik seluruhnya.

Pelarut etanol sifatnya tidak toksik. Hal ini penting karena hasil ekstrak etanol yang akan difraksinasi akan diberikan secara oral pada hewan coba. Selain itu, etanol mudah diuapkan dan dapat didestilasi sehingga penggunaannya hemat dalam segi waktu dan kuantitas. Filtrat yang diperoleh dari proses maserasi kemudian dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath*. Proses pemekatan dilakukan pada suhu 40°C-50°C untuk menghindari kerusakan senyawa yang tidak tahan panas.

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian ditentukan organoleptik, dengan digunakannya pancaindra untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. Ekstrak daun tempuyung berbentuk kental, berwarna coklat kehitaman, bau tidak khas, dan pahit. Ekstrak seledri berbentuk kental, berwarna coklat hitam, berbau khas, dan pahit. Pemeriksaan ini bertujuan untuk pengenalan awal ekstrak secara sederhana. Selain itu juga dilakukan pengukuran nilai rendemen ekstrak. Ekstrak daun tempuyung memberikan rendemen sebesar 25,52% dan ekstrak herba seledri memberikan rendemen sebesar 20,93%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.6.

4.3 Identifikasi Flavonoid Ekstrak Etanol

Identifikasi ini dilakukan untuk memastikan adanya flavonoid pada ekstrak daun tempuyung maupun herba seledri. Apabila terkandung flavonoid maka dapat dilanjutkan dengan fraksinasi.

Pada reduksi Zn didapatkan hasil yang negatif untuk ekstrak tempuyung maupun ekstrak seledri, yaitu dengan tidak timbul warna merah intensif 2-5 menit setelah penambahan HCl 2N. Sedangkan hasil yang positif didapatkan pada reduksi Mg, hal ini terlihat dari timbulnya warna jingga, baik pada ekstrak daun tempuyung maupun ekstrak seledri setelah penambahan HCl pekat. Pada uji fluoresensi, timbul warna kuning intensif pada ekstrak daun tempuyung maupun ekstrak seledri. Warna kuning intensif ini terlihat di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm.

Hasil identifikasi menandakan adanya senyawa flavonoid golongan flavon dan flavonol pada ekstrak etanol daun tempuyung maupun herba seledri. Hal tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga pada saat direduksi dengan Mg dan timbulnya warna kuning intensif pada sinar UV 366 nm. Mg merupakan oksidator yang lebih kuat daripada Zn, oleh karena itu pada saat ekstrak etanol tersebut direduksi dengan Zn warna merah tidak muncul. Warna kuning timbul pada sinar UV 366 nm akibat gugus kromofor yang terdapat dalam flavonoid.

4.4 Fraksi Air Ekstrak Etanol

Fraksinasi dilakukan dengan cara ekstrak kental dilarutkan dengan air yang suhunya 40°C-50°C yang bertujuan untuk mempercepat proses pelarutan. Penggunaan pelarut heksan pada fraksinasi dengan alasan pengotor-pengotor seperti lemak yang merupakan senyawa nonpolar dapat tertarik pada lapisan heksan. Fraksinasi ekstrak etanol daun tempuyung dilakukan sampai empat kali. Hal ini disebabkan ekstrak daun tempuyung memiliki pengotor-pengotor seperti lemak yang lebih banyak daripada ekstrak etanol herba seledri. Persentase bobot fraksi air terhadap ekstrak etanol daun tempuyung sebesar 75,63%, sedangkan 74,10% untuk

Universitas Indonesia

persentase bobot fraksi air terhadap bobot ekstrak etanol herba seledri. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.7.

4.5 Karakterisasi Fraksi Air Ekstrak Etanol

Parameter nonspesifik meliputi kadar abu total dan kadar abu yang tidak larut asam. Kadar abu total fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri secara berurutan adalah 5,28% dan 8,11%. Kadar abu yang tidak larut asam masing-masing fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri secara berurutan adalah 0,98% dan 2,13%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.8 dan Tabel 4.9.

Sedangkan parameter spesifik meliputi organoleptik dan kadar senyawa yang larut dalam pelarut tertentu, yaitu air dan etanol. Organoleptis fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung berbentuk kental, berwarna hitam, dengan bau tidak khas, dan berasa pahit. Sedangkan fraksi air ekstrak etanol herba seledri adalah berbentuk kental, berwarna hitam kecoklatan, berbau khas dan tajam, dan berasa pahit. Kadar senyawa larut dalam air dari fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri secara berurutan adalah 89,01% dan 90,20% . Kadar senyawa larut dalam etanol dari fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri secara berurutan adalah 68,99% dan 60,08%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.10 dan Tabel 4.11.

Prinsip pengukuran kadar abu pada fraksi air adalah fraksi dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga yang tersisa hanya unsur mineral dan organik. Tujuannya adalah memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya fraksi. Pemijaran sampai bobot tetap berarti pemijaran yang harus dilanjutkan pada suhu $800^{\circ} \pm 25^{\circ} \text{C}$ hingga hasil dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,50 mg untuk tiap gram zat yang digunakan. Kadar abu total dari fraksi air ekstrak etanol herba seledri lebih besar dibandingkan daun tempuyung, ini berarti kandungan mineral dalam fraksi air ekstrak etanol herba seledri lebih banyak.

Hal tersebut dapat disebabkan karena herba seledri merupakan bagian seluruh tanaman selain bunga, sedangkan daun tempuyung adalah salah satu bagian dari tanaman tempuyung, yaitu bagian daun saja. Selain itu adanya pengaruh dari tempat tumbuh yang berbeda. Kadar abu yang berbeda dapat disebabkan karena faktor tempat tumbuh yang berbeda yang mengakibatkan kandungan mineral dalam tanah sebagai pertumbuhannya juga berbeda.

Hasil penelitian diperoleh kadar senyawa larut air dari kedua fraksi air lebih besar dibandingkan senyawa yang larut dalam etanol. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam kedua fraksi air tersebut lebih banyak senyawa yang larut dalam air dibandingkan senyawa yang larut dalam etanol, artinya banyak senyawa yang bersifat sangat polar, sesuai dengan kepolaran air yang tinggi.

4.6 Kandungan Kimia Fraksi Air Ekstrak Etanol

a. Pola kromatogram dengan metode Kromatografi Lapis Tipis

Pola kromatogram dari ekstrak etanol dan fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri dapat diperoleh melalui kromatografi lapis tipis menggunakan campuran eluen butanol-asam asetat-air (4:1:5). Pemilihan kombinasi eluen tersebut karena pada eluen tersebut spot yang ditunjukkan oleh fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri terlihat paling jelas daripada spot yang ditunjukkan apabila digunakan kombinasi eluen lain. Spot yang terbentuk diamati pada sinar UV 254 nm dan sinar UV 366 nm. Rf untuk fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung 0,9; 0,8; 0,6; 0,5. Rf untuk fraksi air ekstrak etanol herba seledri 0,9; 0,8. Pola kromatogram dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Pemilihan komposisi fase gerak dilakukan dengan memperhitungkan kepolaran campuran fase gerak sehingga sesuai dengan kepolaran senyawa yang akan diidentifikasi. Pada totalan fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung maupun herba seledri terdapat beberapa spot, yang artinya dalam fraksi air tersebut terdapat beberapa senyawa. Akan tetapi untuk fraksi air herba seledri, pemisahan spot yang ditunjukkan lebih jelas daripada fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung. Rf yang

disebutkan hanya nilai Rf yang berasal dari fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri karena spot yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri tidak sejelas yang ditunjukkan oleh fraksi. Hal ini disebabkan masih terdapat pengotor-pengotor dalam ekstrak etanol.

b. Penetapan kadar Flavonoid total

Penetapan kadar flavonoid total dihitung berdasarkan kurva kalibrasi dari enam konsentrasi larutan baku kuersetin yang berbeda yaitu 25, 40, 50, 60, 75, dan 90 ppm dalam pelarut metanol dan diukur pada panjang gelombang maksimum 433,5 nm. Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = -0,00908707 + 0,00875587 x$, dengan $r = 0,9996$. Dari hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid total dalam fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung sebesar 0,94% dan kadar flavonoid total fraksi air ekstrak etanol herba seledri sebesar 1,70%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.2 dan Tabel 4.12, Tabel 4.13.

Pada uji kandungan kimia fraksi air ditetapkan kadar flavonoid total tiap fraksi secara spektrofotometer dengan metode Chang. Metode ini dipilih karena memiliki prosedur yang lebih sederhana, cepat, dan ekonomis, serta diketahui lebih spesifik untuk flavonoid golongan flavon dan flavonol. Pada pengukuran digunakan pereaksi aluminium (III) klorida yang akan membentuk kompleks tahan asam dengan gugus keton C-4 dan gugus hidroksil C-3 atau C-5 pada flavon dan flavonol, serta membentuk kompleks yang tidak tahan asam dengan gugus orto-hidroksi pada cincin A atau B pada flavonoid.

Pada penetapan kadar flavonoid total dilakukan juga hidrolisis dengan penambahan asam klorida 4N dan pemanasan dengan refluks selama 30 menit. Hal ini bertujuan untuk melepaskan gugus gula dari ikatan glikosidanya sehingga flavonoid ditetapkan kadarnya sebagai aglikon.

4.7 Toksisitas Akut

Hasil uji toksisitas akut campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 4.1 Hasil uji toksisitas akut campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri setelah 24 jam

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah Kematian Mencit	
		Jantan	betina
Dosis I (8,33 g/kg bb)	5	0	0
Dosis II (16,67 g/kg bb)	5	0	0
Dosis III (33,33 g/kg bb)	5	4	1
Dosis IV (66,67 g/kg bb)	5	5	5
Dosis V (CMC 0,5%)	5	0	0

Dari tabel di atas, hasil uji toksisitas akut campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri menunjukkan bahwa campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri pada dosis sebesar 33,33 g/kg bb menyebabkan kematian sebesar 80% pada kelompok mencit jantan dan 20% pada kelompok mencit betina.

Pada tabel Weil, untuk jantan dengan deret kematian 0; 0; 4; 5 didapatkan nilai f sebesar 0,70000. Sementara, untuk betina dengan deret kematian 0; 0; 1; 5 tidak didapatkan nilai f. Sehingga untuk deret kematian mencit betina diubah dengan deret kematian yang mendekati deret kematian 0,0,1,5 yaitu 0,0,3,5. Dengan demikian diperoleh nilai f sebesar 0,90000. Nilai LD_{50} campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri diperoleh sebesar 27,058 g/kg bb untuk jantan dan untuk betina sebesar 31,081 g/kg bb dengan kategori praktis tidak toksik (Tabel 2.1 dan Lampiran 4.2).

Hasil uji toksisitas akut pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada dosis I, dan dosis II baik kelompok mencit jantan maupun mencit betina tidak menimbulkan respon kematian pada hewan, sedangkan pada kelompok dosis III dan

dosis IV (dosis tertinggi) ditemukan respon kematian 4 dan 5 ekor mencit jantan, sementara pada mencit betina ditemukan respon kematian sebesar 1 dan 5 ekor mencit untuk dosis III dan dosis IV. Penyebab kematian hewan uji mungkin disebabkan larutan uji mengandung dosis fraksi air ekstrak etanol yang toksik, sehingga pemberian dalam jumlah yang besar dapat menyebabkan kematian. Hasil ini kemudian dicocokkan ke dalam tabel Weil untuk ditentukan nilai LD₅₀ dari campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri. Menurut kriteria Loomis (1978), hasil tersebut mempunyai makna toksikologi bahwa potensi ketoksikan akut sediaan uji yang berupa campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri termasuk dalam kategori praktis tidak toksik (>15 g per kg berat badan). Perbedaan nilai respon toksik antara dua jenis kelamin yang berbeda, dimana mencit jantan lebih peka terhadap larutan uji. Perbedaan respon toksik ini disebabkan oleh adanya faktor hormon seksual yang dapat memodifikasi respon toksik tertentu.

4.8 Kadar Kreatinin Plasma

Tabel 4.2 Kadar kreatinin plasma rata-rata mencit jantan dan mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

Jenis Kelamin	Kelompok	Kadar kreatinin plasma rata-rata (mg/dl)	
		Setelah 24 jam	Setelah 14 hari
Jantan	I	2,05 ± 0,119	0,61 ± 0,255
	II	2,25 ± 0,306	0,84 ± 0,189
	III	3,33	0,9
	V	1,75 ± 0,500	0,64 ± 0,427
	Betina	I	2,25 ± 0,250
	II	2,42 ± 0,612	0,70 ± 0,350
	III	2,43 ± 0,554	0,8 ± 0,07
	V	2,15 ± 0,136	0,65 ± 0,355

Keterangan : I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Kontrol (CMC 0,5%)

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.3, gambar 4.4, Tabel 4.15, Tabel 4.16.

Pengukuran kadar kreatinin dilakukan secara kolorimetri dengan metode Jaffe. Metode ini dipilih karena simpel, akurat, hasilnya diterima secara ilmiah, pengukuran cepat, dan banyak digunakan.

Metode ini berdasarkan reaksi antara kreatinin dengan asam pikrat pada suasana basa menghasilkan kompleks kreatinin-pikrat yang berwarna kuning-jingga dengan serapan optimum pada panjang gelombang 515 nm. Reaksi pembentukan kompleks kreatinin-pikrat sangat peka terhadap temperatur dan perubahan pH. Oleh karena itu, reaksi pembentukan kompleks ini harus berlangsung pada temperatur konstan, yaitu 30°C. Temperatur harus dijaga konstan karena serapan ion pikrat dan serapan kreatinin pikrat akan meningkat sejalan dengan meningkatnya temperatur reaksi. Selain itu, jika reaksi berlangsung pada temperatur tinggi dapat terganggu oleh senyawa-senyawa seperti glukosa, protein, dan asam urat. Hal tersebut disebabkan karena pada temperatur tinggi senyawa-senyawa tersebut dapat bereaksi dengan ion pikrat, sehingga menyebabkan tingginya nilai serapan kreatinin

Serapan dikur pada detik ke-30 dan detik ke-90 setelah pencampuran sampel plasma maupun standar dengan larutan pikrat alkalis. Tujuan dari cara ini adalah mengukur serapan sebelum senyawa lain seperti bilirubin yang bereaksi lebih lambat dapat memberikan gangguan secara signifikan.

Untuk mengetahui fungsi ginjal dapat dilakukan pengukuran kadar kreatinin dalam darah maupun dalam urin, tetapi pengukuran kadar kreatinin dalam darah lebih banyak dilakukan karena pengerjannya yang cukup mudah. Kadar kreatinin dalam darah akan meningkat bila terjadi penurunan filtrasi glomerulus, sehingga adanya peningkatan kreatinin dalam darah dapat menunjukkan adanya penurunan fungsi ginjal.

Berdasarkan uji distribusi normal dan homogenitas, diperoleh data kadar kreatinin plasma setelah 24 jam pada mencit jantan tidak terdistribusi normal dan tidak bervariasi homogen. Pada uji *Kruskal-Wallis* hasilnya adalah kadar kreatinin

plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna. Sementara untuk data kadar kreatinin plasma setelah 14 hari pada mencit jantan terdistribusi secara normal dan bervariasi homogen. Hasil uji ANAVA satu arah dengan menunjukkan bahwa kadar kreatinin plasma setelah 14 hari antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4.3 – 4.6.

Sedangkan data kadar kreatinin plasma setelah 24 jam pada mencit betina tidak terdistribusi normal dan tidak bervariasi homogen. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa kadar kreatinin plasma tidak berbeda secara bermakna antar kelompok perlakuan. Sementara untuk data kadar kreatinin plasma setelah 14 hari pada mencit betina terdistribusi secara normal dan bervariasi homogen. Hasil uji ANAVA satu arah menunjukkan bahwa tidak ada perberbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4.7 – 4.10.

Pada kadar kreatinin mencit jantan, apabila dilihat dari hasil diagram batang menunjukkan bahwa semakin meningkatnya dosis yang diberikan maka kadar kreatinin plasma semakin meningkat, baik kadar kreatinin plasma setelah 24 jam maupun setelah 14 hari. Akan tetapi pada kadar kreatinin plasma setelah 24 jam, peningkatan yang terjadi terlihat signifikan antar kelompok perlakuan. Sementara untuk mencit betina, peningkatan yang terjadi tidak signifikan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa mencit jantan lebih sensitif terhadap pemberian campuran fraksi air tersebut daripada mencit betina. Secara tidak langsung faktor hormonal ikut mempengaruhi respon perbedaan kadar kreatinin plasma.

Terdapat perbedaan hasil yang ditunjukkan oleh diagram batang dengan data analisis statistik. Hal ini mungkin disebabkan oleh jumlah data yang kurang seragam. Sementara pada diagram batang, perbedaan yang terjadi dapat langsung terlihat karena data yang ada pada diagram batang tidak terpengaruh oleh perbedaan jumlah data, selain itu dalam diagram batang tidak membedakan data terdistribusi normal atau homogen.

4.9 Pengukuran Histologis Ginjal

Untuk mendukung hasil analisis darah, maka dilakukan juga pemeriksaan histologis ginjal. Pemeriksaan histologis ginjal dilakukan secara kuantitatif, yaitu dengan cara mengukur diameter kapsula Bowman dan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus.

Tabel 4.3 Diameter rata-rata kapsula Bowman mencit jantan dan mencit betina

Jenis Kelamin	Kelompok	Diameter rata-rata kapsula Bowman
		(μm) \pm SD
Jantan	I	57,65 \pm 3,562
	II	60,57 \pm 7,655
	III	61,27
	V	59,73 \pm 2,380
	Betina	I
	II	60,08 \pm 1,573
	III	60,85 \pm 0,304
	V	60,33 \pm 4,116

Keterangan : I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Kontrol (CMC 0,5%)

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.5, gambar 4.6, Tabel 4.17, Tabel 4.18.

Berdasarkan uji distribusi normal dan homogenitas, diperoleh data diameter rata-rata kapsula Bowman mencit jantan tidak terdistribusi normal dan bervariasi homogen. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna diameter kapsula Bowman antar kelompok (Lampiran 4.11 – 4.13).

Sedangkan data diameter rata-rata kapsula Bowman mencit betina tidak terdistribusi normal tetapi bervariasi homogen. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan (Lampiran 4.14 – 4.16).

Pada diagram batang menunjukkan bahwa dengan semakin meningkatnya pemberian dosis larutan uji tidak mempengaruhi diameter kapsula Bowman baik pada mencit jantan atau betina. Hasil yang sama juga terlihat pada analisis data secara statistik yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok baik jantan maupun betina.

Tabel 4.4 Jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan dan mencit betina

Jenis Kelamin	Kelompok	Jarak ruang antara kapsula Bowman dengan Glomerulus
		(μm) \pm SD
Jantan	I	8,63 \pm 0,172
	II	5,55 \pm 1,153
	III	4,99
	V	8,98 \pm 0,343
	Betina	I
	II	7,17 \pm 1,211
	III	3,48 \pm 0,07
	V	9,09 \pm 0,507

Keterangan : I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Kontrol (CMC 0,5 %)

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.7, Gambar 4.8, Tabel 4.19, dan Tabel 4.20.

Berdasarkan uji distribusi normal dan homogenitas, diperoleh data jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dan glomerulus pada mencit jantan terdistribusi normal dan tidak bervariasi homogen. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna. Setelah diuji dengan metode *Mann-Whitney* diperoleh hasil bahwa perbedaan tersebut terjadi antara kelompok I

dengan kelompok II dan antara kelompok II dengan kontrol. Hasil selengkapnya ada di Lampiran 4.17 – 4.20.

Sedangkan data jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dan glomerulus pada mencit betina terdistribusi normal dan terdistribusi homogen. Data tersebut kemudian diuji dengan menggunakan uji ANAVA yang hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara kelompok II dengan kontrol.

Pada diagram batang jarak ruang antar kapsula Bowman dengan glomerulus baik pada mencit jantan maupun mencit betina menunjukkan bahwa semakin meningkatnya pemberian dosis larutan uji, maka jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus semakin menyempit. Hasil yang sama juga terlihat pada analisis data secara statistik yang menunjukkan terdapat perbedaan jarak ruang antar kelompok baik pada mencit jantan maupun mencit betina.

Kesimpulan yang dapat diambil dari data-data tentang ukuran diameter kapsula Bowman dan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus baik pada mencit jantan maupun mencit betina adalah terjadinya peningkatan ukuran glomerulus dengan semakin meningkatnya dosis pemberian. Hal ini disebabkan karena terjadinya penyempitan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus, yang tidak diiringi dengan perubahan diameter kapsula Bowman.

Dosis campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri memberikan efek pada ukuran diameter glomerulus. Semakin tinggi dosis campuran fraksi yang diberikan semakin membesar glomerulus pada mencit. Membesarnya ukuran glomerulus yang terus menerus akan mengakibatkan pecahnya glomerulus. Selain hal tersebut, glomerulus yang pecah ini diakibatkan oleh kerusakan jaringan ikat yang terdapat dalam glomerulus. Kondisi yang sama juga terjadi pada jaringan ikat di sekitar kapsula Bowman. Selain adanya kerusakan jaringan ikat, kerusakan juga terjadi pada tubulus-tubulus yang berada di sekitar kapsula Bowman yang ditunjukkan dengan semakin membesarnya diameter tubulus-tubulus.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Potensi ketoksikan campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri masuk dalam kategori praktis tidak toksik, dengan nilai LD_{50} 27,058 g/kg bb untuk mencit jantan dan 31,081 g/kg bb untuk mencit betina. Peningkatan dosis campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri menyebabkan peningkatan kadar kreatinin plasma dan penurunan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus.

5.2 Saran

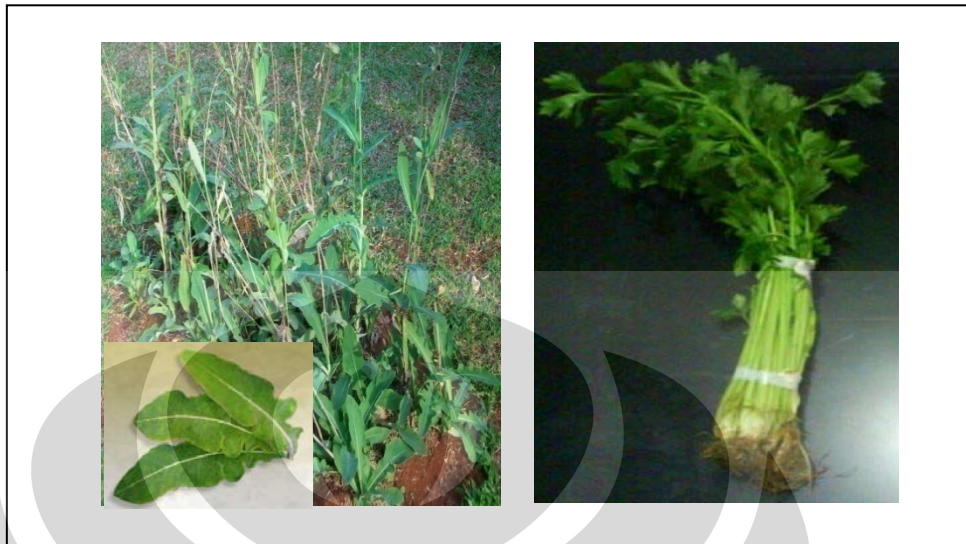
Perlu dilakukan uji aktifitas fraksi etil asetat untuk mendapatkan dosis senyawa aktif yang lebih tepat dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas campuran hasil fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri dengan uji toksisitas subkronik dan kronik untuk lebih mendukung dan melengkapi data keamanan campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri yang digunakan dalam jangka waktu yang lama.

DAFTAR ACUAN

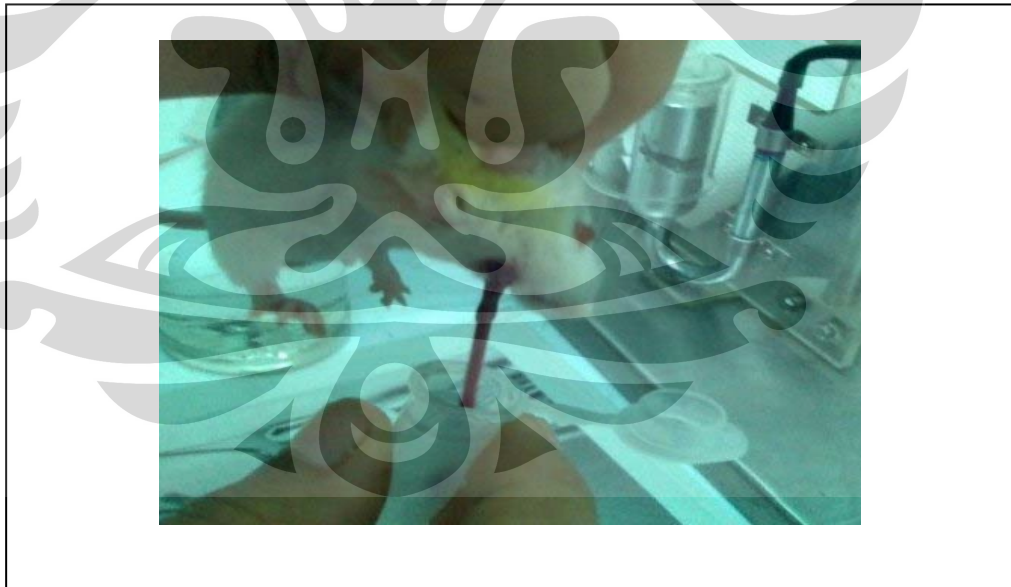
- Acuan Sediaan Herbal*. (2000). Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Burtis, CA, Ashwood, ER. (1999). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry (3rd ed)*. Philadelphia: W.B. Saunders.
- Chang, Chia-Chi., Yang, Ming-Hua., Wen, Hwe-mei., Chern, Jiing-Chuan. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J of Food and Drug An.*, Vol.10, No.3, 178-182.
- Ciulei, I. (1984). *Methodology for Analysis of Vegetables Drugs*. Bucharest-Rumania: Chemical Industries Branch Division-Industrial Operation UNIDO.
- Corwin, Elizabeth. (2001). *Buku Saku Patofisiologi* (Brahm U. Pendit, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Dipiro, J.T., Talbert, R. L., Gary, C. Y., Gary, R.M., Weels, B. G., Posey L.,M. (2006). *Pharmacotherapy: A pathophysiologic approach (6th ed)* [Computer software]. U.S.A. : The McGraw-Hill.
- Direction for Use Clinical Chemistry*. (1976). Darmstadt: MERCK.
- Farmakope Indonesia, Ed IV*. (1995). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Franck, C Lu. (1995). *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko Edisi 2* (Edi Nugroho, Penerjemah.). Jakarta: UI Press.
- Furie, Karen L., Peter J.Kelly. (2004). *Handbook of Stroke Prevention in Clinical Practice* [Computer software]. New Jersey: Humana Press.
- Harborn, J.B. (1987). *Metoda Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi 2* (Padmawinata K & Soediro I, Penerjemah). Bandung: ITB.
- Harmita & Maksum Radji. (2005). *Buku Ajar Analisis Hayati Ed.2*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Hidup Sehat dengan Produk holtikultura Nusantara*. (2003). Jakarta: Departemen Pertanian.

- Howard, A. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV* (Ibrahim, Farida, Asmanizar & Iis Aisyah, Penerjemah.). Jakarta: UI Press.
- Indeks Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia Ed 2.* (1995). Jakarta: . P.T. Eisai Indonesia.
- Ji-hwa, Han., Ki Jung Kim., Hyun-Jong Jang. (2008). Effects of Apigenin on Glutamat-induced $[Ca^{2+}]_i$ Increases in Cultured Rat Hippocampal Neurons. *Korean J Physiol Pharmacol*, Vol. 12, 43-49.
- Joanne.B, Linda A.Anderson, J.David Phillipson. (2007). *Herbal Medicines third edition* [Computer Software]. Jerman: Pharmaceutical Press.
- Juheini. (2002). Pemanfaatan Herba Seledri (*Apium graveolens L.*) untuk Menurunkan Kadar Kolesterol dan Lipid dalam Darah Tikus Putih yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak. *J Makara,Sains.*, Vol.6, No.2, 1-6.
- Kaplan, A., Pesce A. (1996). *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Corelation 3rd ed.* USA: Mosby-Year Book.
- Kuhn, Merilly . (2002). Herbal Remedies: Drug- Herb Interactions. *J Critical Care Nurse*, Vol.22, No.2, 22-35.
- Loomis TA. (1978). *Toksikologi Dasar Edisi III* (Drs. Imono Argo Donatus, Penerjemah.). Semarang: IKIP Semarang Press.
- Lutsgarten JA, Wenk RE. (1972). Simple, Rapid, Kinetic Method for Serum Creatinine Measurement. *Clinical Chemistry*, Vol.18, No.11, 1419-1422.
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* (Padmawinata, Penerjemah.). Bandung: ITB.
- Materia Medika Indonesia Jilid I.* (1977). Jakarta:, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Materia Medika Indonesia Jilid V.* (1989). Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Materia Medika Indonesia Jilid VI.* (1995). Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Murray, Robert K. (2003). *Biokimia Harper. Ed 25* (Andry Hartono, Penerjemah.) Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

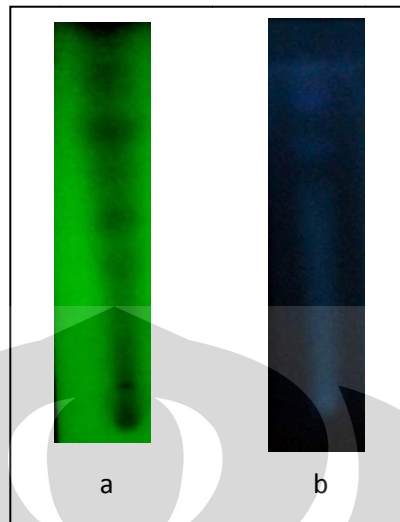
- Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* (2000). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional.* (2000). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia Dirjen POM.
- Perry, Lily May. (1985). *Medicinal Plants of East and Southeast Asia.* USA: The Massachusetts Institute of Technology.
- Purnomo, Basuki B. (2000). *Dasar-dasar Urologi.* Jakarta: Sagung Seto.
- Nafrialdi, dan Sulistia G.G. (2007). Antihipertensi. Dalam: Sulistia G.G.(ed).(2007). *Farmakologi dan Terapi.* (Edisi 5). Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 341-360.
- Sherwood, Lauralee. (2001). *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem Ed 2* (Bram Pendit, Penerjemah.). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sriningsih, Hapsoro Wisnu Adji, Wahono Sumaryono. (2008). Analisa Senyawa Golongan Flavonoid Herba Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*). Jakarta: Universitas Pancasila Press.
- Tsi,D.,Tan B.K.H. (1998). Cardiovascular pharmacology of 3-n-butylphthalide in spontaneously hypertensive rats. *J Phytotherapy Research*, Vol.11, No.8, 576-582.
- Vademikum Bahan Obat Alam.* (1989). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Yong-He, Zhang., Yang-Su Park., Kim Tack-Joong,. (2002). Endothelium-dependent vasorelaxant and antiproliferative effects of apigenin. *General Pharmacology*, Vol. 35, 341-347.



Gambar 3.1 Tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan herba seledri (*Apium graveolens* L.)

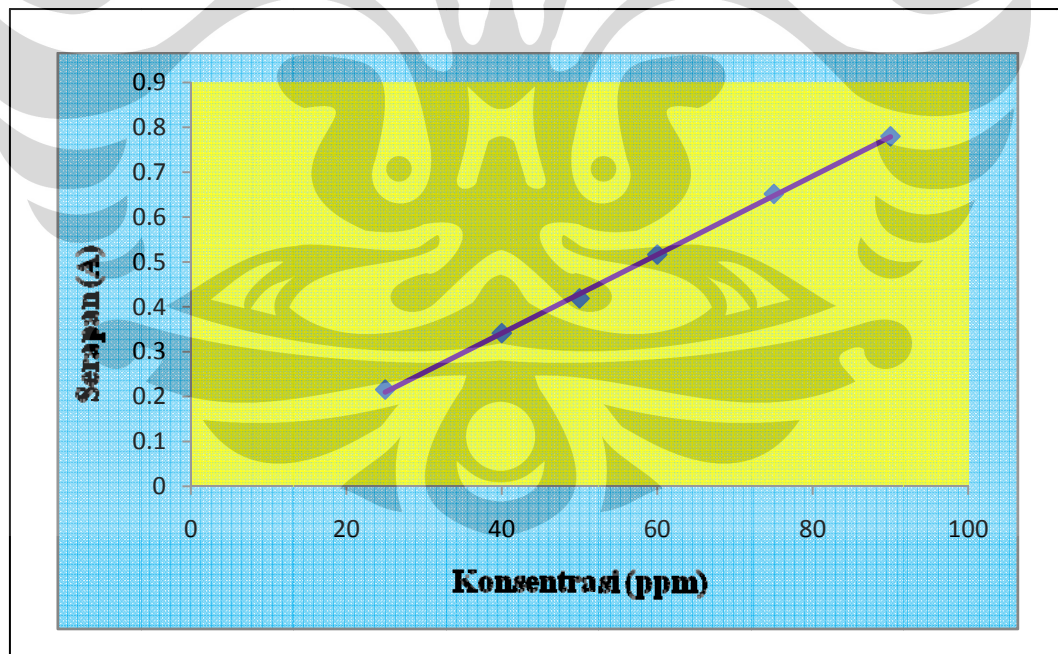


Gambar 3.2 Pengambilan darah melalui sinus orbital mata



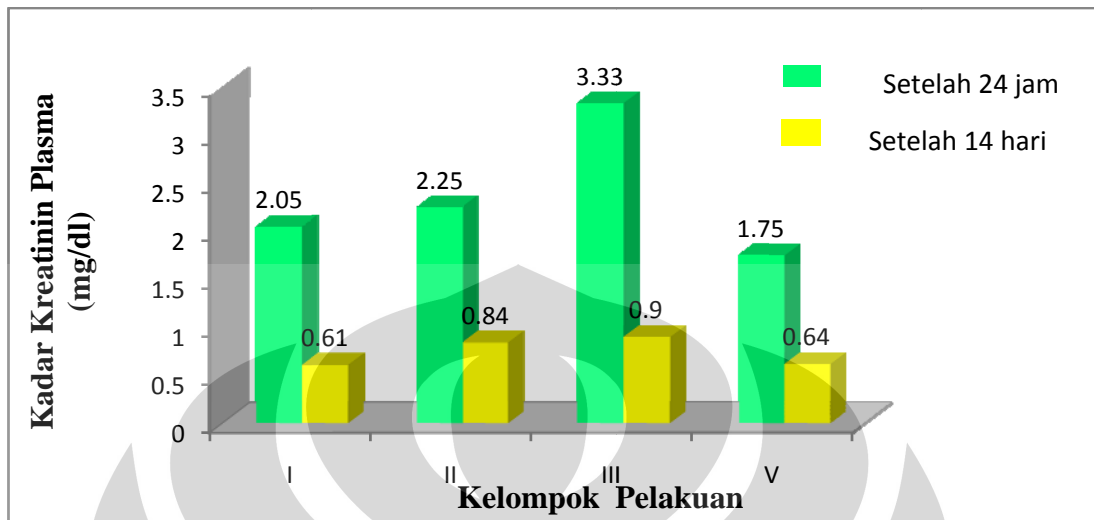
Keterangan: a. fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung pada sinar ultraviolet λ 254 nm
b. fraksi air ekstrak etanol herba seledri pada sinar ultraviolet λ 366 nm

Gambar 4.1 Pola kromatogram fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:5) pada lempeng *silica gel* F₂₅₄



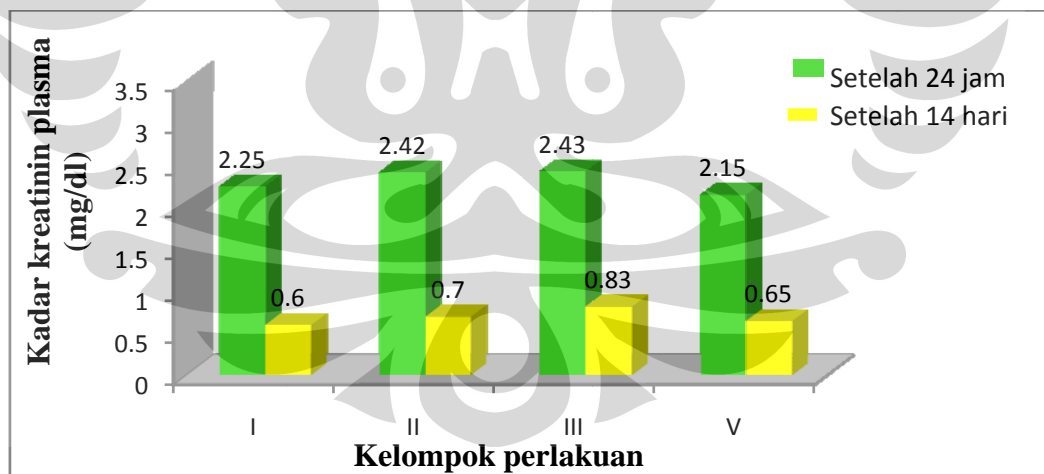
Gambar 4.2 Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin dengan persamaan garis :

$$y = -0,00908 + 0,00875x; r = 0,9996$$



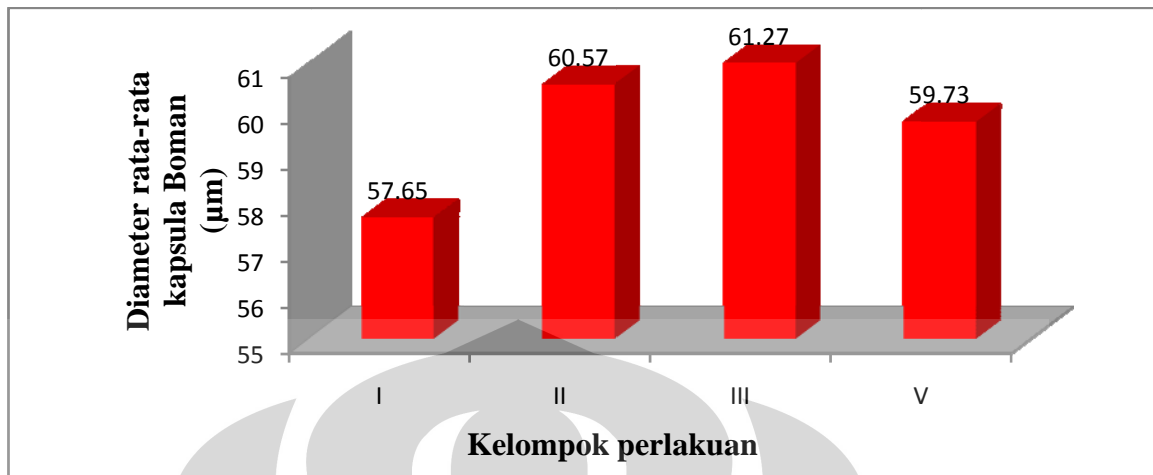
Keterangan: I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Dosis kontrol (CMC 0,5%)

Gambar 4.3 Diagram batang kadar kreatinin plasma rata-rata mencit jantan setelah 24 jam dan setelah 14 hari setiap kelompok perlakuan



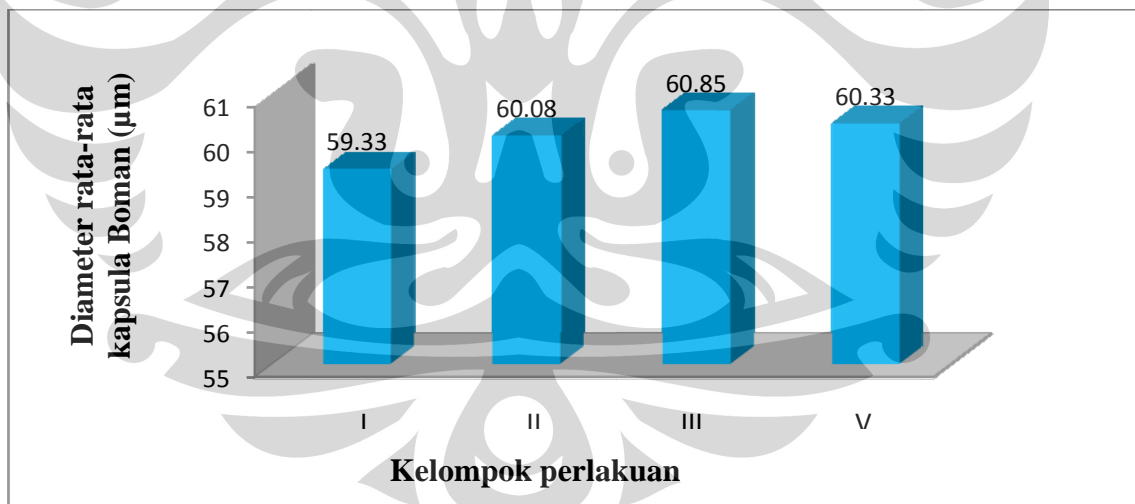
Keterangan: I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Dosis kontrol (CMC 0,5%)

Gambar 4.4 Diagram batang kadar kreatinin plasma rata-rata mencit betina setelah 24 jam dan setelah 14 hari setiap kelompok perlakuan



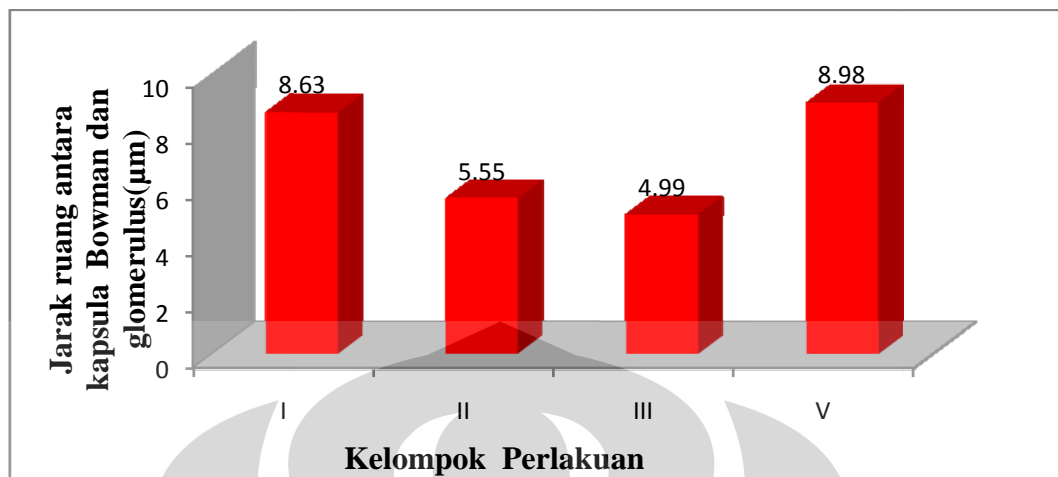
Keterangan: I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Dosis kontrol (CMC 0,5%)

Gambar 4.5 Diagram batang diameter rata-rata kapsula Bowman mencit jantan setiap kelompok perlakuan



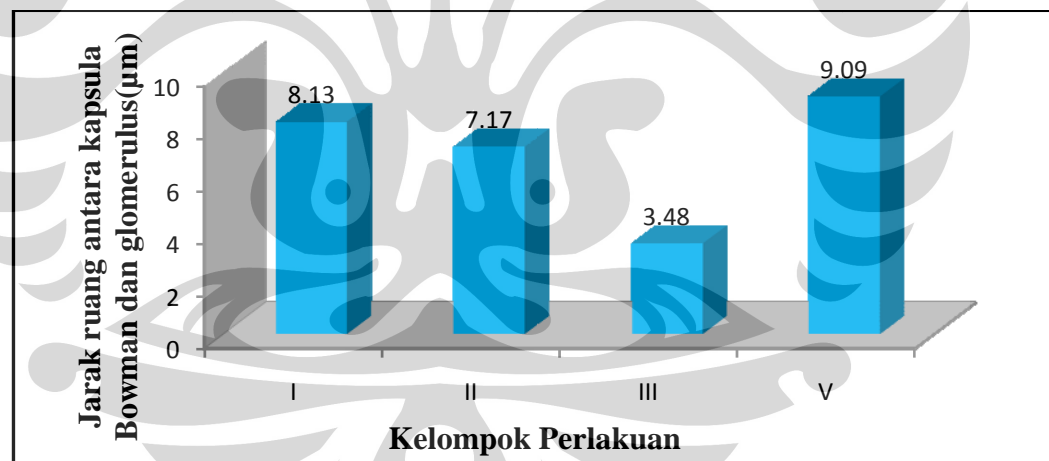
Keterangan: I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Dosis kontrol (CMC 0,5%)

Gambar 4.6 Diagram batang diameter rata-rata kapsula Bowman mencit Betina setiap kelompok perlakuan



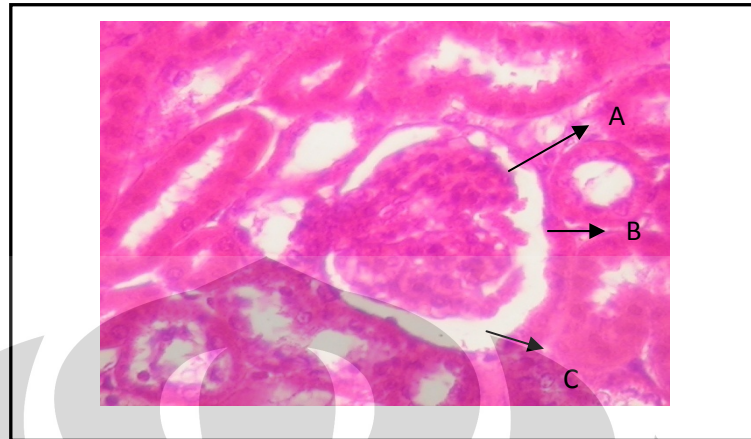
Keterangan: I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Dosis kontrol (CMC 0,5%)

Gambar 4.7 Diagram batang jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan setiap kelompok perlakuan



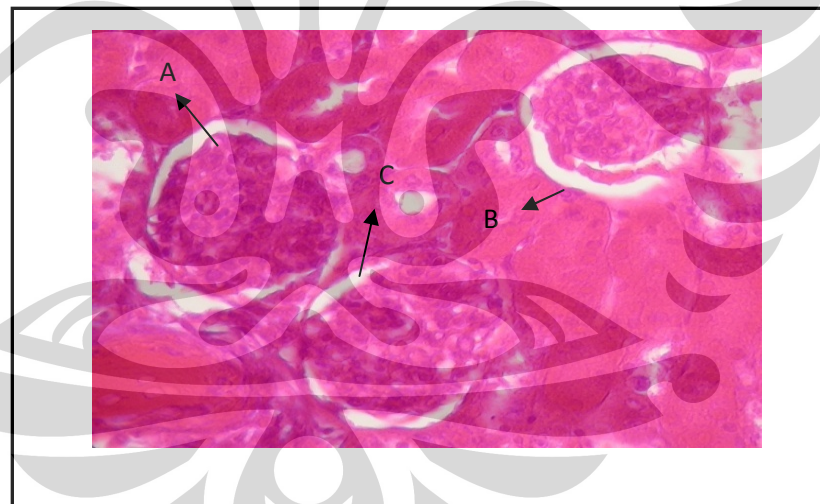
Keterangan: I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Dosis kontrol (CMC 0,5%)

Gambar 4.8 Diagram batang jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit betina setiap kelompok perlakuan



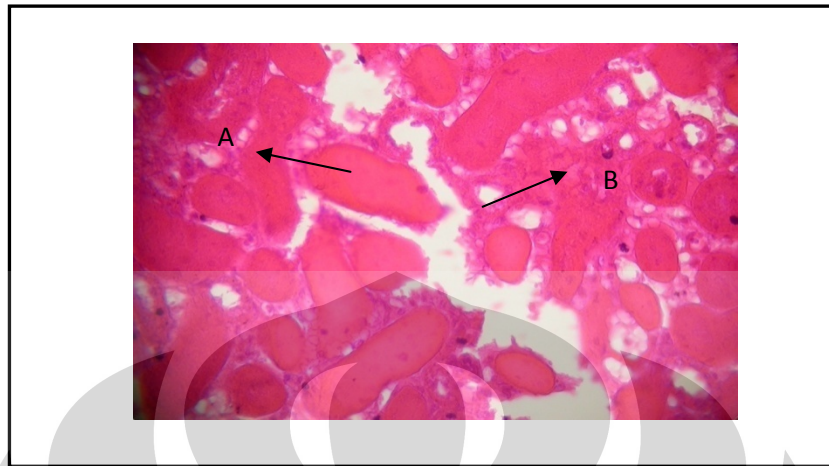
Keterangan : A = Glomerulus; B = Kapsula Bowman; C = Ruang antara glomerulus dan kapsula Bowman

Gambar 4.9 Histologis ginjal kelompok dosis I (8,33 g/kg bb)



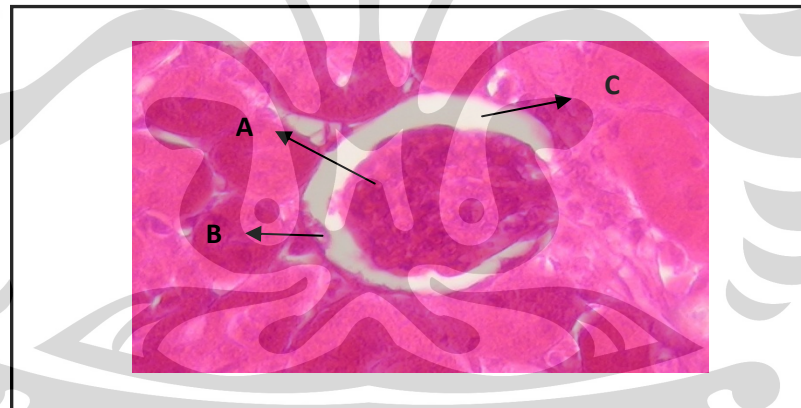
Keterangan : A = Glomerulus; B = Kapsula Bowman; C = Ruang antara glomerulus dan kapsula Bowman

Gambar 4.10 Histologis ginjal kelompok dosis II (16,67 g/kg bb)



Keterangan : A =Tubulus yang membesar ; B = Jaringan ikat yang lepas

Gambar 4.11 Histologis ginjal kelompok dosis III (33,33 g/kg bb)



Keterangan : A = Glomerulus; B = Kapsula Bowman; C = Ruang antara glomerulus dan kapsula Bowman

Gambar 4.12 Histologis ginjal kelompok kontrol (CMC 0,5%)

Tabel 4.5 Persentase bobot daun tempuyung kering terhadap daun tempuyung segar dan herba seledri kering terhadap herba seledri segar

	Bobot daun segar (g)	Bobot daun kering (g)	Persentase (%)
Daun Tempuyung	1.515,3	380,9	25,13
	80,12	20,56	25,66
Rata-rata			25,39
Herba Seledri	2.014,0	400,1	19,86
	977,76	200,54	20,51
Rata-rata			20,18

Tabel 4.6 Rendemen ekstrak etanol daun tempuyung dan ekstrak etanol herba seledri

	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
Daun Tempuyung	250,0	63,80	25,52
Herba Seledri	257,0	53,80	20,93

Tabel 4.7 Persentase bobot fraksi air terhadap bobot ekstrak etanol daun tempuyung dan ekstrak etanol herba seledri

	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Persentase fraksi (%)
Daun tempuyung	9,87	6,93	70,21
	6,55	5,31	81,06
Rata-rata persentase bobot fraksi terhadap bobot ekstrak			75,63%
Herba seledri	2,47	1,78	72,06
	2,18	1,66	76,14
Rata-rata persentase bobot fraksi terhadap bobot ekstrak			74,10%

Tabel 4.8 Kadar abu total fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan fraksi air ekstrak etanol herba seledri

	Kode fraksi	Berat fraksi (g)	Berat abu (g)	Kadar abu total (%)	Kadar abu total rata- rata (%)
Daun tempuyung	T ₁	1,1616	0,056	4,82	5,28
	T ₂	1,563	0,081	5,18	
	T ₃	1,211	0,071	5,86	
Kisaran kadar abu total fraksi air ekstrak etanol daun Tempuyung 4,82 – 5,86%					
Herba seledri	S ₁	1,561	0,101	6,47	8,11
	S ₂	2,061	0,186	9,02	
	S ₃	2,044	0,181	8,85	
Kisaran kadar abu total fraksi air ekstrak etanol herba seledri 6,47 – 9,02%					

Tabel 4.9 Kadar abu tidak larut asam fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan fraksi air ekstrak etanol herba seledri

	Kode fraksi	Berat fraksi (g)	Berat abu (g)	Kadar abu (%)	Kadar abu tidak larut asam rata-rata (%)
Daun tempuyung	T ₁	1,1616	0,013	1,11	0,98
	T ₂	1,563	0,015	0,95	
	T ₃	1,211	0,011	0,90	
Kisaran kadar abu tidak larut asam fraksi air ekstrak etanol daun Tempuyung 0,90 – 1,11%					
Herba seledri	S ₁	1,561	0,030	1,92	2,13
	S ₂	2,061	0,041	1,98	
	S ₃	2,044	0,051	2,49	
Kisaran kadar abu tidak larut asam fraksi air ekstrak etanol herba seledri 1,92 – 2,49%					

Tabel 4.10 Kadar senyawa larut dalam air fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri

	Kode fraksi	Berat fraksi (g)	Berat fraksi larut air (g)	Kadar senyawa larut air (%)	Kadar senyawa larut air rata-rata (%)
Daun tempuyung	T1	1,15	1,03	89,56	89,01
	T2	0,52	0,46	88,46	
Kisaran kadar senyawa larut dalam air fraksi air ekstrak etanol daun Tempuyung					88,46-89,56%
Herba seledri	S1	1,49	1,39	93,28	90,20
	S2	1,32	1,15	87,12	
Kisaran senyawa larut dalam air fraksi air ekstrak etanol herba seledri					87,12-93,28%

Tabel 4.11 Kadar senyawa yang larut dalam etanol fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri

	Kode fraksi	Berat fraksi (g)	Berat fraksi larut etanol (g)	Kadar senyawa larut etanol (%)	Kadar senyawa larut etanol rata- rata (%)
Daun tempuyung	T1	1,18	0,81	68,64	68,99
	T2	0,62	0,43	69,35	
Kisaran kadar senyawa larut dalam etanol fraksi air ekstrak etanol daun Tempuyung					68,64-69,35%
Herba seledri	S1	1,14	0,72	63,15	60,08
	S2	1,21	0,69	57,02	
Kisaran kadar senyawa larut dalam etanol asam fraksi air ekstrak etanol herba seledri					57,02 – 63,15%

Tabel 4.12 Konsentrasi larutan standar kuersetin pada kurva kalibrasi

Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)
25	0,21523
40	0,34113
50	0,41850
60	0,51623
75	0,65145
90	0,77993

Table 4.13 Penetapan kadar flavonoid total fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri

	Kode fraksi	Berat fraksi	Serapan pada λ 433,5 nm (y)	Kadar flavonoid total (%)	Kadar flavonoid total rata-rata (%)
Daun tempuyung	T1	0,12	0,41125	0,93	0,94
	T2	0,17	0,4121	0,96	
Herba Seledri	S1	0,11	0,73882	1,70	1,70
	S2	0,19	0,7215	1,71	

Tabel 4.14 Jumlah kematian pada kelompok uji setelah 24 jam dan 14 hari pemberian larutan uji

Kelompok	Dosis (g/kg bb)	Σ Kematian setelah 24 jam		Σ Kematian setelah 14 hari	
		Jantan	Betina	Jantan	Betina
		I	8,33	0	0
II	16,67	0	0	1	0
III	33,33	4	1	4	3
IV	66,67	5	5	5	5
V	CMC 0,5%	0	0	0	0

Tabel 4.15 Kadar kreatinin plasma mencit jantan setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

	Kelompok				
	I	II	III	IV	V(Kontrol)
Kreatinin Plasma	2,00	2,00	-	-	1,25
Setelah 24 Jam	2,25	2,75	-	-	2,25
dari Perlakuan	2,00	2,25	-	-	1,75
(mg/dl)	2,00	2,00	-	-	1,25
	2,00	2,25	3,33	-	2,25
Rata-rata ± SD	2,05 ± 0,119	2,25 ± 0,306	3,33	-	1,75 ± 0,500
Kreatinin Plasma	1,00	1,00	-	-	1,25
Setelah 14 Hari	0,29	0,88	-	-	0,29
dari Perlakuan	0,55	-	-	-	0,60
(mg/dl)	0,66	0,93	-	-	0,86
	0,57	0,57	0,90	-	0,21
Rata-rata ± SD	0,61 ± 0,255	0,84 ± 0,189	0,90	-	0,64 ± 0,427

Keterangan : I. Dosis I (8,33 g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Kontrol (CMC 0,5 %)

Tabel 4.16 Kadar Kreatinin Plasma Mencit Betina Setelah 24 jam dan setelah 14 hari perlakuan

	Kelompok				
	I	II	III	IV	V(Kontrol)
	2,00	2,00	2,25	-	2,00
Kreatinin Plasma	2,50	2,75	-	-	2,00
Setelah 24 Jam dari	2,25	2,00	2,00	-	2,25
Perlakuan (mg/dl)	2,50	3,35	3,25	-	2,25
	2,00	2,00	2,25	-	2,25
Rata-rata ± SD	2,25 ± 0,250	2,42 ± 0,612	2,43 ± 0,554	-	2,15 ± 0,136
	0,75	1,00	-	-	1,25
Kreatinin Plasma	0,40	1,13	-	-	0,70
Setelah 14 Hari dari	0,60	0,65	-	-	0,50
Perlakuan (mg/dl)	0,73	0,33	0,82	-	0,46
	0,52	0,42	0,83	-	0,36
Rata-rata ± SD	0,60 ± 0,146	0,70 ± 0,350	0,83 ± 0,07	-	0,65 ± 0,355

Keterangan : I. Dosis I (8,33g/kg bb); II. Dosis II (16,67 g/kg bb); III. Dosis III (33,33 g/kg bb); V. Kontrol (CMC 0,5 %)

Tabel 4.17 Diameter Kapsula Bowman Ginjal Mencit Jantan

Kelompok	Diameter kapsula Bowman (μm)	Nilai rata-rata dari diameter rata-rata kapsula Bowman \pm SD(μm)
Dosis I (8,33 g/kg bb)	59,91	57,65 \pm 3,562
	59,73	
	58,58	
	52,38	
Dosis II (16,67 g/kg bb)	70,17	60,57 \pm 7,655
	63,09	
	55,93	
	53,10	
Dosis III (33,33 g/kg bb)	61,27	61,27
Kontrol (CMC 0,5 %)	58,97	59,73 \pm 2,380
	63,05	
	59,49	
	57,42	

Tabel 4.18 Diameter Kapsula Bowman Ginjal Mencit Betina

Kelompok	Diameter kapsula Bowman (μm)	Nilai rata-rata dari diameter rata-rata kapsula Bowman \pm SD(μm)
Dosis I (8,33 g/kg bb)	61,06	59,33 \pm 3,175
	62,92	
	56,42	
	56,90	
Dosis II (16,67 g/kg bb)	62,30	60,08 \pm 1,573
	59,03	
	60,09	
	58,90	
Dosis III (33,33 g/kg bb)	60,63	60,85 \pm 0,304
	61,06	
	62,59	
Kontrol (CMC 0,5 %)	61,86	60,33 \pm 4,116
	62,69	
	54,18	

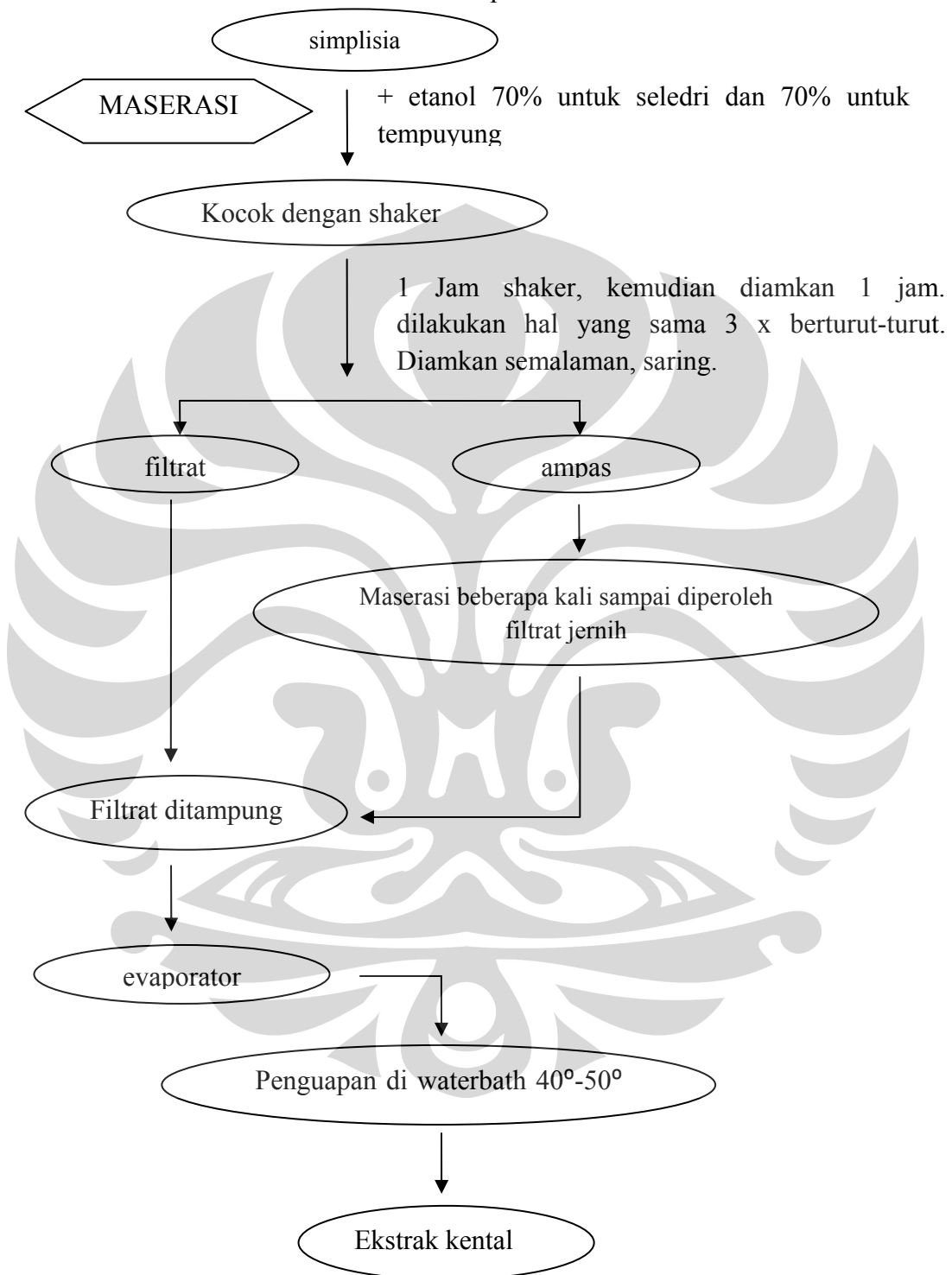
Tabel 4.19 Jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus Mencit Jantan

Kelompok	Jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus (μm)	Nilai rata-rata dari jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dengan glomerulus \pm SD (μm)
Dosis I (8,33 g/kg bb)	8,76	8,625 \pm 0,172
	8,40	
	8,76	
	8,58	
Dosis II (16,67 g/kg bb)	6,99	5,550 \pm 1,153
	4,42	
	4,86	
	5,96	
Dosis III (33,33 g/kg bb)	4,99	4,99
Kontrol (CMC 0,5 %)	8,85	8,979 \pm 0,343
	9,11	
	8,58	
	9,38	

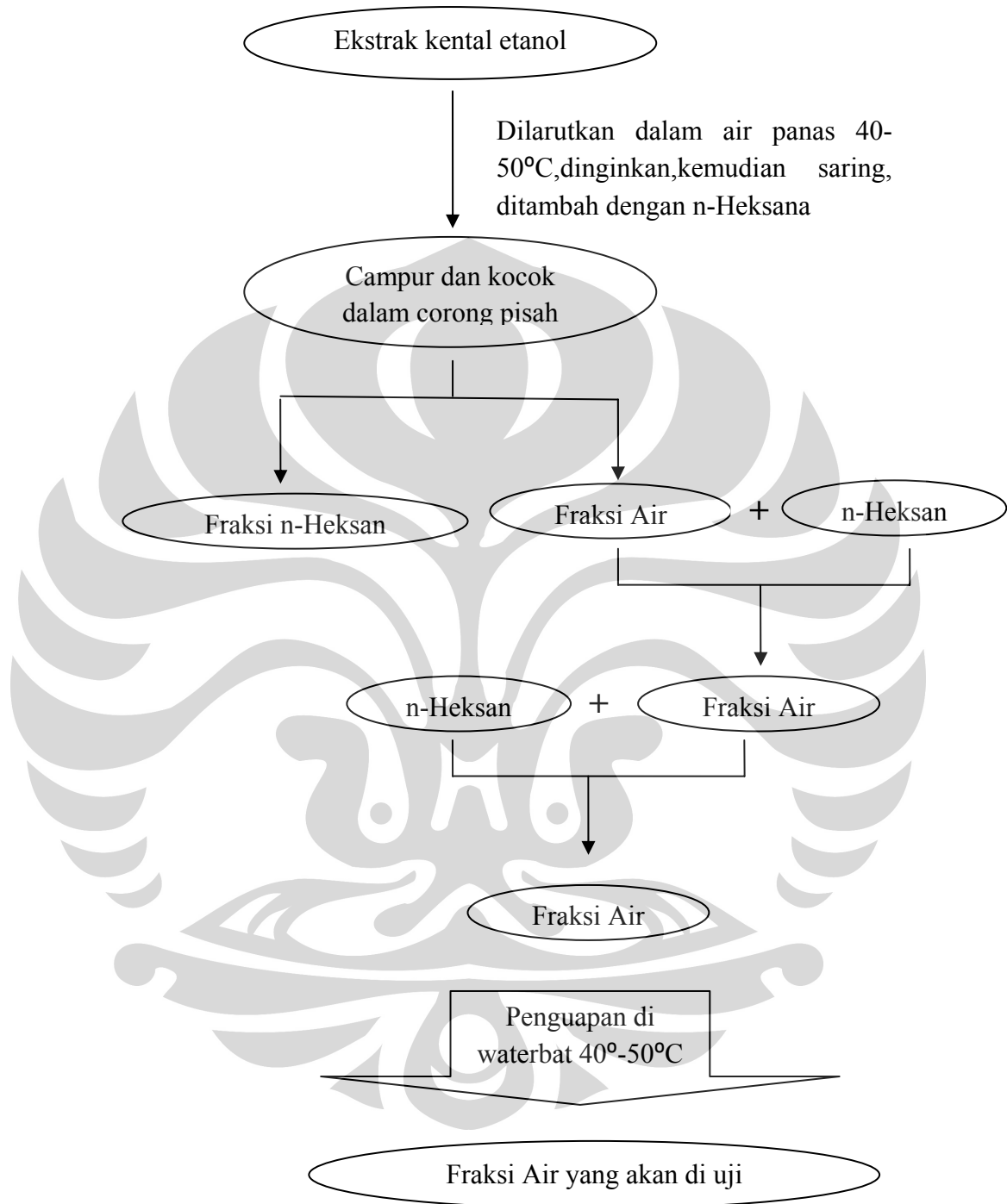
Tabel 4.20 Jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus Mencit Betina

Kelompok	Jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus (μm)	Nilai rata-rata dari jarak ruang rata-rata antara kapsula Bowman dengan glomerulus \pm SD (μm)
Dosis I (8,33 g/kg bb)	8,05	8,13 \pm 0,160
	8,23	
	7,96	
	8,31	
Dosis II (16,67 g/kg bb)	8,76	7,17 \pm 1,211
	7,34	
	6,69	
	5,90	
Dosis III (33,33 g/kg bb)	3,48	3,48 \pm 0,07
	3,47	
Kontrol (CMC 0,5 %)	8,67	9,09 \pm 0,507
	9,02	
	9,82	
	8,85	

Lampiran 3.1 Proses Ekstraksi Simplisia



Lampiran 3.2 Proses fraksinasi ekstrak kental etanol



Lampiran 3.3 Penetapan dosis

Penentuan dosis terbesar dilakukan dengan uji pendahuluan untuk mengetahui dosis terbesar yang dapat disondekan kepada mencit, diperoleh dosis 2 g/30g bb mencit atau 66,67 g/kg bb.

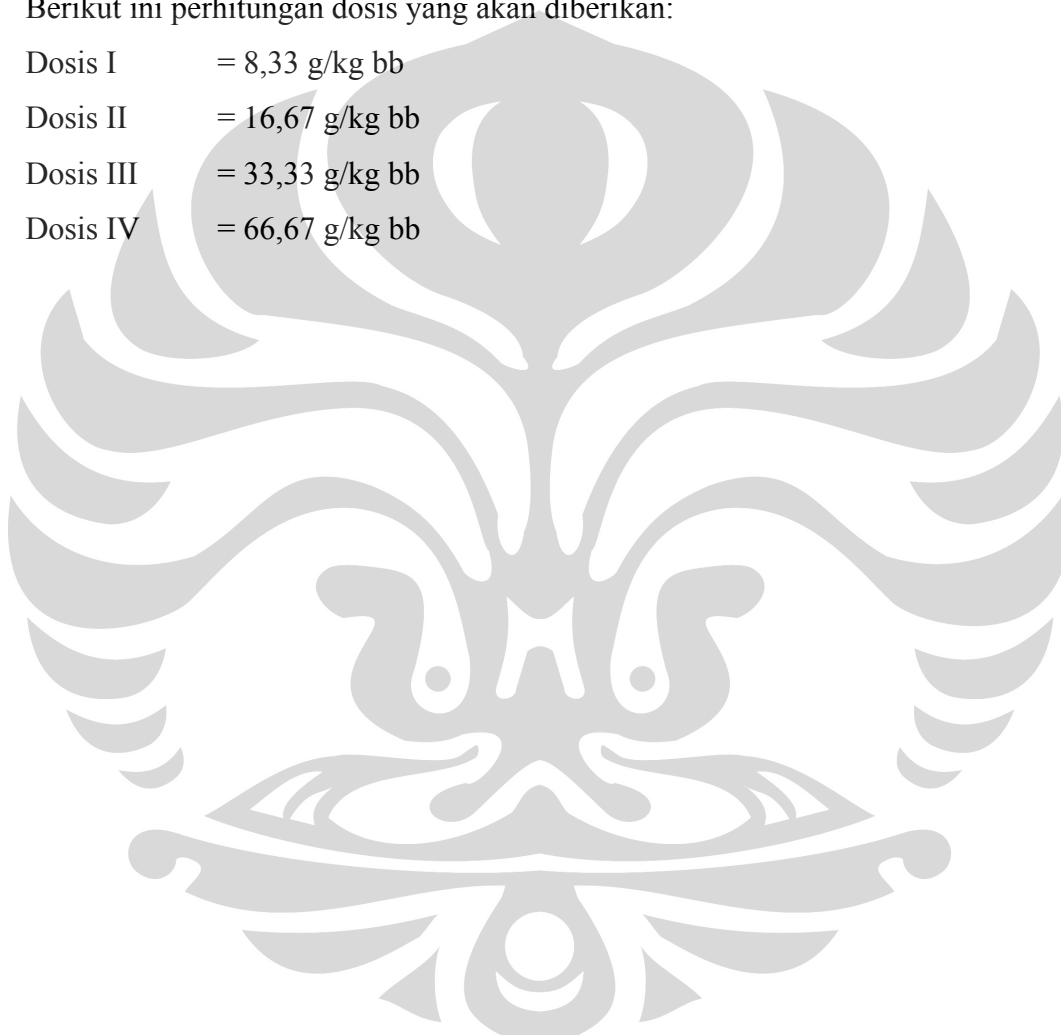
Berikut ini perhitungan dosis yang akan diberikan:

Dosis I = 8,33 g/kg bb

Dosis II = 16,67 g/kg bb

Dosis III = 33,33 g/kg bb

Dosis IV = 66,67 g/kg bb



Lampiran 3.4 Pembuatan larutan uji

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan menimbang fraksi air ekstrak etanol yang sudah dikentalkan dengan cara diuapkan kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 0,5%. Larutan CMC 0,5% dibuat dengan menimbang 0,5 g CMC kemudian dikembangkan dalam 10 mL air panas dengan suhu sekitar 70°C selama 30 menit lalu digerus hingga homogen dan ditambahkan dengan aquadest hingga volumenya 100 mL.

Setiap mencit dengan berat 30 g pada pemberian per oral disonde dengan 1 mL larutan uji sekali pakai. Jumlah mencit 50 ekor, yang terbagi dalam 5 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina. Supaya diperoleh kondisi yang sama, maka dibagi menjadi 5 kali perlakuan dalam pemberian larutan uji. Perlakuan pertama dilakukan hari pertama, yaitu penyondean dilakukan pada mencit jantan dan betina kelompok I, II, III, IV dan V. Hal yang sama dilakukan untuk hari kedua, ketiga, keempat dan kelima.

Suspensi bahan uji dosis III diperoleh dari pengenceran dosis IV, dosis II diperoleh dari pengenceran dosis III, dosis I diperoleh dari pengenceran dosis II dan dosis V yang merupakan kelompok kontrol yang diberikan larutan CMC 0,5%.

Bahan uji yang ditimbang berupa 6,67 g fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan 1,33 g fraksi air ekstrak etanol herba seledri dicampur dengan 4 ml CMC 0,5% sampai homogen. Suspensi ini merupakan dosis IV. Maka jumlah suspensi yang dibutuhkan untuk dosis III, II, dan I adalah:

Dosis III: diambil 2 mL suspensi dosis IV, kemudian ditambahkan larutan CMC 0,5% sebanyak 2 mL.

Dosis II: diambil 2 mL suspensi dosis III, kemudian ditambahkan larutan CMC 0,5% sebanyak 2 mL.

Dosis I: diambil 2 mL suspensi dosis II, kemudian ditambahkan larutan CMC 0,5% sebanyak 2 mL.

Larutan uji yang disondekan ke mencit dikonversikan sesuai dengan berat badan. Kelompok kontrol diberikan larutan CMC 0,5% 1 mL tiap 30 g berat badan mencit.

Lampiran 3.5 Perhitungan kadar kreatinin plasma

Konsentrasi standar kreatinin	: 1,00 mg/dL
Serapan standar pada detik ke- 30 ($A_{t=30}$)	: 0,015
Serapan standar pada detik ke- 90 ($A_{t=90}$)	: 0,019
Serapan sampel pada detik ke- 30 ($A_{t=30}$)	: 0,019
Serapan sampel pada detik ke- 90 ($A_{t=90}$)	: 0,028

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar kreatinin plasma} &= \frac{A_{t=90}(\text{sampel}) - A_{t=30}(\text{sampel})}{A_{t=90}(\text{standar}) - A_{t=30}(\text{standar})} \times C \\
 &= \frac{0,028 - 0,019}{0,019 - 0,015} \times 1,00 \text{ mg/dL} \\
 &= 2,25 \text{ mg/dL}
 \end{aligned}$$

Maka kadar kreatinin plasma yang didapat adalah 2,25 mg/dL

Lampiran 4.1 Hasil Identifikasi Determinasi *Sonchus arvensis* L. dan *Apium graveolens* L.



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 3 Februari 2010

Nomor : 086/IPH.1.02/If.8/II/2010
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Tri Wahyuni
UI - DEPOK

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Daun Tempuyung	<i>Sonchus arvensis</i> L.	Asteraceae
2	Herba Seledri	<i>Apium graveolens</i> L.	Apiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
NIP. 195111041975011001



D:\Ident 2010\Tri Wahyuni.doc\JJA-Abdul R.

Page 1 of 1

Lampiran 4.2 Perhitungan nilai LD₅₀ menggunakan metode Weil

Dengan menggunakan Metode Weil, nilai LD₅₀ dapat ditentukan berdasarkan rumus:

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

Dimana:

m : Nilai LD₅₀

D : Dosis terkecil yang digunakan

d : Log dari kelipatan dosis (Log R)

f : Suatu faktor dalam tabel Weil

Hasil pengamatan:

Kelompok	Dosis (g/kg bb)	Log Dosis	Kematian	
			Jantan	Betina
I	8,33	0,9206	0	0
II	16,67	1,2219	0	0
III	33,33	1,5228	4	1
IV	66,67	1,8239	5	5

Berdasarkan Tabel Weil, diperoleh nilai f pada kelompok Jantan adalah 0,70000.

Sehingga dapat dimasukkan dalam perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Log } LD_{50} = \text{log } 8,33 + \text{log } 2 (0,70000 + 1)$$

$$\text{Log } LD_{50} = 0,9206 + 0,301 (1,7)$$

$$\text{Log } LD_{50} = 1,4323$$

$$LD_{50} = 27,058 \text{ g/kg bb}$$

Sedangkan dari tabel Weil tidak didapatkan data f untuk jumlah kematian mencit betina sehingga deret kematian yang diambil adalah deret kematian yang paling

mendekati, yaitu 0,0,3,5. Nilai f untuk kelompok betina dengan deret kematian 0,0,3,5 adalah nilai f sebesar 0,90000 adalah:

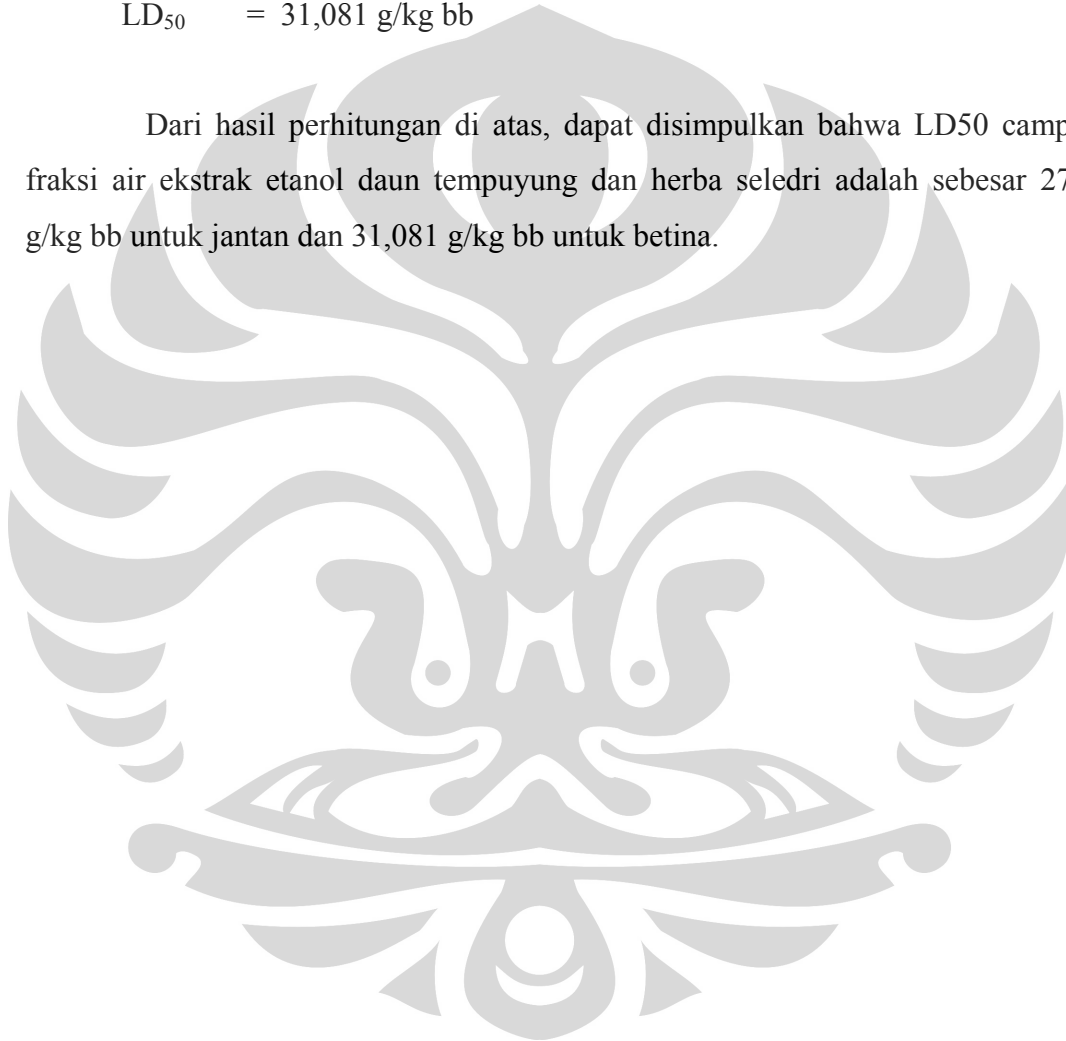
$$\text{Log LD}_{50} = \log 8,33 + \log 2 (0,90000 + 1)$$

$$\text{Log LD}_{50} = 0,9206 + 0,301 (1,9)$$

$$\text{Log LD}_{50} = 1,4925$$

$$\text{LD}_{50} = 31,081 \text{ g/kg bb}$$

Dari hasil perhitungan di atas, dapat disimpulkan bahwa LD50 campuran fraksi air ekstrak etanol daun tempuyung dan herba seledri adalah sebesar 27,058 g/kg bb untuk jantan dan 31,081 g/kg bb untuk betina.



Lampiran 4.3 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Kadar Kreatinin Plasma Mencit Jantan Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data kadar kreatinin plasma terdistribusi normal atau tidak.

Hipotesis : Ho = data kadar kreatinin plasma terdistribusi normal

Ha = data kadar kreatinin plasma tidak terdistribusi normal

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Hasil Perhitungan :

Hasil Uji Normalitas				
	Kelompok Perlakuan	Shapiro-Wilk		
		Statistik	df	Signifikansi
Kreatinin_24Jantan	I	0,552	5	0,000
	II	0,833	5	0,146
	V (Kontrol)	0,821	5	0,119
Kreatinin_14Jantan	I	0,948	5	0,722
	II	0,854	4	0,239
	V(Kontrol)	0,942	5	0,678

Kesimpulan :

- Data kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak terdistribusi normal.
- Data kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan terdistribusi normal.

Lampiran 4.4 Uji Homogenitas Varian Levene Terhadap Kadar Kreatinin Plasma
Mencit Jantan Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas variansi data kadar kreatinin plasma

Hipotesis : Ho = data kadar kreatinin plasma variansi homogen

Ha = data kadar kreatinin plasma tidak variansi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Hasil Perhitungan :

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df2	Sig.
Kreatinin_24Jantan	3,990	2	12	0,047
Kreatinin_14Jantan	1,660	2	11	0,234

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0,047; maka Ho ditolak

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,234; maka Ho diterima

Kesimpulan:

- a. Data kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak terdistribusi homogen.
- b. Data kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan terdistribusi homogen.

Lampiran 4.5 Analisis Uji Kruskal Wallis Terhadap Kadar Kreatinin Plasma Mencit Jantan Pada 24 Jam Setelah Perlakuan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada data kadar kreatinin plasma

Hipotesa : H_0 = data kadar kreatinin plasma antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

H_a = data kadar kreatinin plasma antar kelompok perlakuan berbeda secara bermakna

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian:

Jika nilai signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$; maka H_0 ditolak

Hasil uji Kruskal Wallis

	kadar
Chi-Square	2.756
df	2
Asymp. Sig.	.252

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0,252; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data kreatinin plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 4.6 Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-Arah) Terhadap Kadar Kreatinin Plasma Mencit Jantan Pada 14 Hari Setelah Perlakuan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan

Hipotesis : H_0 = Tidak ada perbedaan kadar kreatinin plasma pada 14 hari setelah perlakuan

H_a = ada perbedaan kadar kreatinin plasma pada 14 hari setelah perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Hasil Perhitungan :

ANOVA

kadar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.137	2	.068	.683	.525
Within Groups	1.100	11	.100		
Total	1.236	13			

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,525; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data kadar kreatinin plasma mencit jantan antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna setelah 14 hari.

Lampiran 4.7 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Kadar Kreatinin Plasma Mencit Betina Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data kadar kreatinin plasma terdistribusi normal atau tidak.

Hipotesis : Ho = data kadar kreatinin plasma terdistribusi normal

Ha = data kadar kreatinin plasma tidak terdistribusi normal

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Hasil Perhitungan :

Hasil Uji Normalitas				
Shapiro-Wilk				
Kelompok Perlakuan		Statistik	df	Signifikansi
Kreatinin_24Betina	I	0,821	5	0,119
	II	0,774	5	0,049
	III	0,801	4	0,103
	V (Kontrol)	0,684	5	0,006
Kreatinin_14Betina	I	0,935	5	0,634
	II	0,916	5	0,505
	V(Kontrol)	0,835	5	0,152

Kesimpulan :

- a. Data kadar kreatinin plasma mencit betina pada 24 jam setelah perlakuan tidak terdistribusi normal.
- b. Data kadar kreatinin plasma mencit betina pada 14 hari setelah perlakuan terdistribusi normal.

Lampiran 4.8 Uji Homogenitas Varian Levene terhadap Kadar Kreatinin Plasma
Mencit Betina Pada 24 Jam dan 14 Hari Setelah Perlakuan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas variansi data kadar kreatinin plasma

Hipotesis : Ho = data kadar kreatinin plasma variansi homogen

Ha = data kadar kreatinin plasma tidak variansi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Hasil Perhitungan :

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df2	Sig.
Kreatinin_24Betina	4,247	3	15	0,023
Kreatinin_14Betina	1,888	2	12	0,194

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0,023; maka Ho ditolak

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,194; maka Ho diterima

Kesimpulan:

- Data kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak bervariasi homogen.
- Data kadar kreatinin plasma mencit jantan pada 14 hari setelah perlakuan bervariasi homogen

Lampiran 4.9 Analisis Uji Kruskal Wallis Terhadap Kadar Kreatinin Plasma Mencit
Betina Pada 24 Jam Setelah Perlakuan

(SPSS 15.0)

Tujuan :Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada data kadar kreatinin plasma

Hipotesa :Ho = data kadar kreatinin plasma antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = data kadar kreatinin plasma antar kelompok perlakuan berbeda secara bermakna

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian:

Jika nilai signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$; maka Ho ditolak

Hasil uji Kruskal Wallis

Test Statistics(a,b)

	kadar
Chi-Square	.583
Df	3
Asymp. Sig.	.900

Nilai signifikansi pada 24 jam setelah perlakuan = 0,900; maka Ho diterima

Kesimpulan:

Data kreatinin plasma mencit jantan pada 24 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 4.10 Uji Analisis Variansi (ANOVA 1-Arah) Terhadap Kadar Kreatinin Plasma Mencit Betina Pada 14 Hari Setelah Perlakuan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar kreatinin plasma mencit betina pada 14 hari setelah perlakuan

Hipotesis : Ho = Tidak ada perbedaan kadar kreatinin plasma pada 14 hari setelah perlakuan

Ha = adak perbedaan kadar kreatinin plasma pada 14 hari setelah perlakuan

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Hasil Perhitungan :

ANOVA

kadar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.028	2	.014	.156	.858
Within Groups	1,083	12	.090		
Total	1,112	14			

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,858; maka Ho diterima

Kesimpulan:

Data kadar kreatinin plasma mencit betina pada 14 hari setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 4.11 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Diameter Kapsula Bowman Mencit Jantan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data diameter kapsula Bowman terdistribusi normal atau tidak.

Hipotesis : H_0 = data diameter kapsula Bowman terdistribusi normal

H_a = data diameter kapsula Bowman tidak terdistribusi normal

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Hasil Perhitungan :

Kelompok Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikansi
I	0,756	4	0,044
II	0,950	4	0,714
Kontrol	0,921	4	0,542

Kesimpulan : Data diameter kapsula Bowman tidak terdistribusi normal.

Lampiran 4.12 Uji Homogenitas Varian Levene Terhadap Diameter Kapsula
Bowman Mencit Jantan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas variansi diameter kapsula
Bowman

Hipotesis : H_0 = data diameter kapsula Bowman variansi homogen

H_a = data diameter kapsula Bowman tidak variansi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Hasil Perhitungan :

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df2	Sig.
Diameter_Jantan	4,235	2	9	0,051

Nilai signifikansi diameter kapsula Bowman mencit jantan 0,051

Kesimpulan:

Data diameter kapsula Bowman mencit jantan bervariasi homogen

Lampiran 4.13 Analisis Uji Kruskal Wallis Terhadap Diameter Kapsula Bowman
Mencit Jantan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada data diameter kapsula Bowman mencit jantan

Hipotesa : H_0 = data diameter kapsula Bowman antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

H_a = data diameter kapsula Bowman antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian:

Jika nilai signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$; maka H_0 ditolak

Hasil uji Kruskal Wallis

	diameter
Chi-Square	.269
df	2
Asymp. Sig.	.874

Nilai signifikansi diameter kapsula Bowman 0,874; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data diameter kapsula Bowman mencit jantan tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 4.14 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Diameter Kapsula
Bowman Mencit Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data diameter kapsula Bowman terdistribusi normal atau tidak.

Hipotesis : H_0 = data diameter kapsula Bowman terdistribusi normal

H_a = data diameter kapsula Bowman tidak terdistribusi normal

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Hasil Perhitungan :

Kelompok Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikansi
I	0,880	4	0,338
II	0,851	4	0,229
III	-	-	-
Kontrol	0,701	4	0,012

Kesimpulan :

Data diameter kapsula Bowman tidak terdistribusi normal.

Lampiran 4.15 Uji Homogenitas Varian Levene Terhadap Diameter Kapsula
Bowman Mencit Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas variansi data diameter kapsula
Bowman

Hipotesis : Ho = data diameter kapsula Bowman bervariansi homogen

Ha = data diameter kapsula Bowman tidak variansi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Hasil Perhitungan :

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df2	Sig.
Diameter_Jantan	2,222	2	9	0,164

Nilai signifikansi diameter kapsula Bowman mencit jantan 0,164

Kesimpulan:

Data diameter kapsula Bowman mencit betina bervariansi homogen

Lampiran 4.16 Analisis Uji Kruskal Wallis Terhadap Diameter Kapsula Bowman Mencit Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada data diameter kapsula Bowman mencit betina

Hipotesa : H_0 = data diameter kapsula Bowman antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

H_a = data diameter kapsula Bowman antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian:

Jika nilai signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$; maka H_0 ditolak

Hasil uji Kruskal Wallis

	diameter
Chi-Square	.462
df	2
Asymp. Sig.	.794

Nilai signifikansi diameter kapsula bowman 0,794; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data diameter kapsula Bowan mencit betina tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 4.17 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Jarak Ruang Antara Kapsula Bowman Dengan Glomerulus Mencit Jantan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus terdistribusi normal atau tidak.

Hipotesis :
 H_0 = data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus terdistribusi normal
 H_a = data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus tidak terdistribusi normal.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Hasil Perhitungan :

Kelompok Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	Df	Signifikansi
I	0,863	4	0,272
II	0,951	4	0,724
Kontrol	0,994	4	0,977

Kesimpulan :

Data jarak ruang antara kapsula Bowman dan glomerulus terdistribusi normal.

Lampiran 4.18 Uji Homogenitas Varian Levene Terhadap Jarak Ruang Antara Kapsula Bowman Dengan Glomerulus Mencit Jantan

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas variansi data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus

Hipotesis : Ho = data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus bervariasi homogen

Ha = data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus tidak bervariasi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Hasil Perhitungan :

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df2	Sig.
Jarak_Jantan	8,836	2	9	0,008

Nilai signifikansi diameter kapsula Bowman mencit jantan 0,008

Kesimpulan:

Data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus tidak bervariasi homogen

Lampiran 4.19 Analisis Uji Kruskal Wallis Terhadap Jarak Ruang Antara Kapsula Bowman Dengan Glomerulus Mencit Jantan

(SPSS 15.0)

Tujuan :Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna pada data diameter kapsula Bowman mencit jantan

Hipotesa :Ho = data diameter kapsula Bowman antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Ha = data diameter kapsula Bowman antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian:

Jika nilai signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$; maka Ho ditolak

Hasil uji Kruskal Wallis

	Jarak
Chi-Square	8.608
df	2
Asymp. Sig.	.014

Nilai signifikansi diameter kapsula Bowman 0,014; maka Ho ditolak

Kesimpulan:

Data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus mencit jantan berbeda secara bermakna

Lampiran 4.20 Analisis Uji Mann-Whitney Terhadap Jarak Ruang Antara Kapsula Bowman Dengan Glomerulus Mencit Jantan

Perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus

Hipotesa : Ho = tidak ada perbedaan bermakna jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus
Ha = ada perbedaan bermakna jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus

Signifikansi (α): 0,05

Kriteria Pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$; maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$; maka Ho ditolak

Hasil Uji Mann Whitney

Kelompok	kelompok	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
I	II	.000	10.000	-2.323	.020
	V(kontrol)	2.500	12.500	-1.607	.108
II	V(kontrol)	.000	10.000	-2.309	.021

Keputusan :

- ada perbedaan bermakna antara kelompok I dan kelompok II.
- tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok I dan kelompok kontrol.
- ada perbedaan bermakna antara kelompok II dan kelompok V (kontrol)

Lampiran 4.21 Uji Distribusi Normal Saphiro-Wilk Terhadap Jarak Ruang Antara Kapsula Bowman Dengan Glomerulus Mencit Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus terdistribusi normal atau tidak.

Hipotesis : H_0 = data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus terdistribusi normal

H_a = data jarak ruan7 antara kapsula Bowman dengan glomerulus tidak terdistribusi normal.

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria Pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Hasil Perhitungan :

Kelompok Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikansi
I	0,944	4	0,681
II	0,977	4	0,886
Kontrol	0,868	4	0,291

Kesimpulan : Data diameter kapsula Bowman terdistribusi normal.

Lampiran 4.22 Uji Homogenitas Varian Levene Terhadap Jarak Ruang Antara
Kapsula Bowman Dengan Glomerulus Mencit Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas variansi data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus

Hipotesis : Ho = data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus bervariasi homogen

Ha = data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus tidak bervariasi homogen

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Hasil Perhitungan :

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df2	Sig.
Jarak_Betina	3,339	2	9	0,082

Nilai signifikansi diameter kapsula Bowman mencit jantan 0,082

Kesimpulan:

Data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus terdistribusi homogen

Lampiran 4.23 Uji Analisis Variansi (ANAVA 1-Arah) Terhadap Jarak Ruang
Antara Kapsula Bowman Dengan Glomerulus Mencit Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus

Hipotesis : H_0 = Tidak ada perbedaan jarak ruang antara kapsula bowman dengan glomerulus

H_a = ada perbedaan jarak ruang antar kapsula Bowman dengan glomerulus

Signifikansi (α) : 0,05

Kriteria pengujian :

Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Hasil Perhitungan :

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.354	2	3.677	6.304	.019
Within Groups	5.250	9	.583		
Total	12.603	11			

Nilai signifikansi pada 14 hari setelah perlakuan = 0,019; maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Data jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus berbeda secara bermakna

Lampiran 4.24 Uji Analisis Beda Nyata Terkecil (BNT) Terhadap Jarak Ruang
Antara Kapsula Bowman Dengan Glomerulus Mencit Betina

(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui besarnya perbedaan terkecil antar kelompok terhadap
perbedaan jarak ruang antara kapsula Bowman dengan glomerulus

Hasil Uji BNT :

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jarak
LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
dosis I	dosis II	.96500	.54004	.108	-.2567	2.1867
	KONTROL	-.95250	.54004	.112	-2.1742	.2692
dosis II	dosis I	-.96500	.54004	.108	-2.1867	.2567
	KONTROL	-1.91750*	.54004	.006	-3.1392	-.6958
KONTROL	dosis I	.95250	.54004	.112	-.2692	2.1742
	dosis II	1.91750*	.54004	.006	.6958	3.1392

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Kesimpulan:

Terdapat perbedaan terkecil antara kelompok normal dengan dosis II sebesar 0,006