



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN
RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**
Jalan Raya Palembang – Prabumulih KM. 32 Indralaya Kabupaten Ogan Ilir 30662
Telepon. dan Faksimile (0711) 581077
Laman : lppm.unsri.ac.id Surel : lppm@unsri.ac.id

**KONTRAK PENELITIAN TAHUN TUNGGAL
PENELITIAN TERAPAN
SKEMA PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI (PTUPT)
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
Tahun Anggaran 2021
Nomor : 0165/UN9/SB3.LP2M.PT/2021**

Pada hari ini Selasa tanggal tiga belas bulan Juli tahun Dua Ribu Dua Puluh Satu, kami yang bertandatangan di bawah ini:

1. Samsuryadi. S.Si., M.Kom., Ph.D. : Sebagai Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sriwijaya yang berkedudukan di Indralaya dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Rektor Universitas Sriwijaya, yang berkedudukan di Jalan Palembang-Prabumulih, KM 32 Indralaya, Kabupaten Ogan Ilir untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**;
2. Dr. Salni, M.Si : Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2021 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama-sama sepakat mengikatkan diri dalam suatu Kontrak Penelitian Tahun Tunggol Tahun Anggaran 2021 Skema Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) Nomor Kontrak: 227/E4.1/AK.04.PT/2021 dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagai berikut.

**PASAL 1
RUANG LINGKUP**

- (1) Ruang lingkup **Kontrak Penelitian** ini meliputi pelaksanaan Penelitian Tahun Tunggol Penelitian Terapan yang pendanaannya bersumber dari Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Direktorat Sumber Daya Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Tahun Anggaran 2021, Nomor SP DIPA-023.17.1690439/2021 revisi ke 04 tanggal 4 Juni 2021.
- (2) **PIHAK PERTAMA** memberi pekerjaan kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima pekerjaan tersebut dari **PIHAK PERTAMA**, untuk melaksanakan dan menyelesaikan Penelitian Tahun Tunggol Penelitian Terapan Tahun Anggaran 2021 dengan judul "Pengembangan bahan bioaktif antibakteri dari daun Karamunting (*Rhodomyrthus tomentosa* (Aiton) Hassk) untuk Mengobati Penyakit Diare Infeksi".

PASAL 2
DANA PENELITIAN

- (1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** sebesar **Rp 196.067.000,- (Seratus sembilan puluh enam juta enam puluh tujuh ribu rupiah)** sudah termasuk pajak yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah merevisi proposal penelitian dan telah menggunggah ke laman SIMLITABMAS.
- (2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Direktorat Sumber Daya, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi Tahun Anggaran 2021 Nomor SP DIPA-023.17.1.690439/2021, tanggal 4 Juni 2021.

PASAL 3
JANGKA WAKTU

- (1) Kontrak Penelitian ini dilaksanakan dalam jangka waktu 1 (satu) tahun.
- (2) Keberlanjutan penelitian ditentukan berdasarkan hasil penilaian atas capaian tahun berjalan yang dilakukan oleh Komite Penilaian Keluaran Penelitian dan/atau *Reviewer* Keluaran Penelitian.

PASAL 4
HAK DAN KEWAJIBAN PARA PIHAK

- (1) **PIHAK PERTAMA** mempunyai Hak dan Kewajiban:
 - a. **PIHAK PERTAMA** berhak untuk mendapatkan dari **PIHAK KEDUA** keluaran penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 6;
 - b. **PIHAK PERTAMA** berkewajiban untuk memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) dan dengan tata cara pembayaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 5;
 - c. **PIHAK PERTAMA** mempunyai hak menerima dokumen hasil unggahan di laman SIMLITABMAS sebagai berikut:
 1. Revisi proposal penelitian;
 2. Surat pernyataan kesanggupan penyusunan laporan penelitian;
 3. Catatan harian pelaksanaan penelitian;
 4. Laporan kemajuan pelaksanaan penelitian;
 5. Surat Pernyataan Tanggung Jawab Belanja (SPTB) atas dana penelitian yang telah ditetapkan;
 6. Laporan akhir penelitian dan;
 7. Keluaran penelitian.
- (2) Hak dan Kewajiban **PIHAK KEDUA**:
 - a. **PIHAK KEDUA** berhak menerima dana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1);
 - b. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** luaran Penelitian Terapan dengan judul "**Pengembangan bahan bioaktif antibakteri dari daun Karamunting (Rhodomyrthus tomentosa (Aiton) Hassk) untuk Mengobati Penyakit Diare Infeksi**".
 - c. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk bertanggungjawab dalam penggunaan dana penelitian yang diterimanya sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui.

PASAL 5
TATA CARA PEMBAYARAN DANA PENELITIAN

- (1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap yaitu:
- a. Pembayaran Tahap pertama (70 %) sebesar **Rp 137.246.900,- (Seratus tiga puluh tujuh juta dua ratus empat puluh enam ribu sembilan ratus rupiah)** sudah termasuk pajak yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah merevisi proposal penelitian dan telah menggunggah ke laman SIMLITABMAS;
 - b. Pembayaran Tahap kedua (30%) sebesar **Rp 58.820.100,- (Lima puluh delapan juta delapan ratus dua puluh ribu seratus rupiah)** sudah termasuk pajak yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah Pihak Pertama menerima Dokumen berupa Laporan Kemajuan pelaksanaan Penelitian, Surat Pernyataan Tanggungjawab Belanja (SPTB) atas dana penelitian yang telah ditetapkan.
- (a) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) akan disalurkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** ke rekening sebagai berikut:

| | |
|----------------|--------------------|
| Nama | : Dr. Salni, M.Si. |
| Nomor Rekening | : 0110155234 |
| Nama Bank | : BNI |

- (b) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggung jawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud pada ayat (1) yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam menyampaikan data peneliti, nama bank, nomor rekening, dan persyaratan lainnya yang tidak sesuai dengan ketentuan.

PASAL 6
TARGET LUARAN

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk mencapai target luaran wajib berupa publikasi ilmiah pada **jurnal internasional** bereputasi
- (2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk melaporkan perkembangan pencapaian target luaran sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada **PIHAK PERTAMA**

PASAL 7
LAPORAN PELAKSANAAN PENELITIAN

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** berupa laporan kemajuan pelaksanaan penelitian dan Surat Pernyataan Tanggungjawab Belanja (SPTB) atas dana penelitian yang telah ditetapkan paling lambat tanggal 18 September 2021.
- (2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** berupa revisi proposal penelitian, surat pernyataan kesanggupan penyusunan laporan penelitian, catatan harian pelaksanaan penelitian, laporan kemajuan pelaksanaan penelitian, Surat Pernyataan Tanggungjawab Belanja (SPTB), laporan akhir penelitian, dan luaran penelitian atas dana penelitian yang telah di tetapkan.
- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah revisi proposal penelitian, catatan harian pelaksanaan penelitian, laporan kemajuan pelaksanaan penelitian, surat pernyataan kesanggupan penyusunan laporan penelitian, Surat Pernyataan Tanggungjawab Belanja (SPTB), laporan akhir dan luaran penelitian atas dana penelitian yang telah ditetapkan, dan luaran penelitian ke SIMLITABMAS **paling lambat tanggal 16 November tiap tahun Anggaran berjalan.**

- (4) Laporan hasil Penelitian sebagaimana tersebut pada ayat (4) harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:
- Bentuk/ukuran kertas A4;
 - Di bawah bagian cover ditulis:

Dibiayai oleh:
Direktorat Sumber Daya
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor: 227/E4.1/AK.04.PT/2021

PASAL 8 PENCANTUMAN PEMBERI DANA PENELITIAN DALAM PUBLIKASI ILMIAH

PIHAK KEDUA wajib mencantumkan setiap publikasi, makalah, dan/atau ekspos dalam bentuk apa pun yang berkaitan dengan hasil penelitian ini mencantumkan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Direktorat Sumber Daya, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi sebagai pemberi dana, dengan nomor Kontrak 227/ E4.1/AK.04.PT/2021.

PASAL 9 MONITORING DAN EVALUASI

PIHAK PERTAMA dalam rangka pengawasan akan melakukan Monitoring dan Evaluasi internal terhadap kemajuan pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2021 ini sebelum pelaksanaan Monitoring dan Evaluasi eksternal oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Direktorat Sumber Daya, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi.

PASAL 10 PENGANTIAN KEANGGOTAAN

- Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi pelaksanaan Penelitian ini dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan tertulis dari Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Direktorat Sumber Daya, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi.
- Apabila Ketua tim pelaksana penelitian tidak dapat menyelesaikan penelitian atau mengundurkan diri, maka **PIHAK KEDUA wajib menunjuk pengganti Ketua Tim Pelaksana penelitian yang merupakan salah satu anggota tim setelah mendapat persetujuan dari** Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Direktorat Sumber Daya, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi.
- Dalam hal tidak adanya pengganti ketua tim pelaksana penelitian sesuai dengan syarat ketentuan yang ada, maka penelitian dibatalkan dan dana dikembalikan ke Kas Negara.

PASAL 11 PAJAK

Ketentuan pengenaan pajak pertambahan nilai dan/atau pajak penghasilan dalam rangka pelaksanaan kegiatan penelitian ini wajib dilaksanakan oleh **PIHAK KEDUA** sesuai dengan peraturan perundang-undangan di bidang perpajakan.

PASAL 12
KEKAYAAN INTELEKTUAL

- (1) Hak Kekayaan Intelektual yang dihasilkan dari pelaksanaan penelitian diatur dan dikelola sesuai dengan peraturan perundang-undangan.
- (2) Setiap Publikasi, makalah, dan/atau ekspos dalam bentuk apa pun yang berkaitan dengan hasil penelitian ini wajib mencantumkan Direktorat Sumber Daya Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi sebagai pemberi dana.
- (3) Hasil penelitian berupa peralatan adalah milik negara dan dapat dihibahkan kepada institusi/lembaga melalui Berita Acara Serah Terima (BAST)

PASAL 13
INTEGRITAS AKADEMIK

- (1) Pelaksana penelitian wajib menjunjung tinggi integritas akademik yaitu komitmen dalam bentuk perbuatan yang berdasarkan pada nilai kejujuran, kredibilitas, kewajaran, kehormatan, dan tanggung jawab dalam kegiatan penelitian yang dilaksanakan.
- (2) Penelitian dilakukan sesuai dengan kerangka etika, hukum, dan profesionalitas, serta kewajiban sesuai dengan peraturan yang berlaku.
- (3) Penelitian dilakukan dengan menjunjung tinggi standar ketelitian dan integritas tertinggi dalam semua aspek penelitian.

PASAL 14
KEADAAN KAHAR

- (1) **PARA PIHAK** dibebaskan dari tanggung jawab atas keterlambatan atau kegagalan dalam memenuhi kewajiban yang dimaksud dalam **Kontrak Penelitian** disebabkan atau diakibatkan oleh peristiwa atau kejadian di luar kekuasaan **PARA PIHAK** yang dapat digolongkan sebagai keadaan memaksa (*force majeure*).
- (2) Peristiwa atau kejadian yang dapat digolongkan keadaan memaksa (*force majeure*) dalam **Kontrak Penelitian** ini adalah bencana alam, wabah penyakit, kebakaran, perang, blockade, peledakan, sabotase, revolusi, pemberontakan, huru-hara, serta adanya tindakan pemerintah dalam bidang ekonomi dan moneter yang secara nyata berpengaruh terhadap pelaksanaan **Kontrak Penelitian** ini.
- (3) Apabila terjadi keadaan memaksa (*force majeure*) maka pihak yang mengalami wajib memberitahukan kepada pihak lainnya secara tertulis, selambat-lambatnya dalam waktu 7 (tujuh) hari kerja sejak terjadinya keadaan memaksa (*force majeure*), disertai dengan bukti-bukti yang sah dari pihak yang berwajib, dan **PARA PIHAK** dengan itikad baik akan segera membicarakan penyelesaiannya.

PASAL 15
PENYELESAIAN SENGKETA

Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam pelaksanaan perjanjian ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan mufakat, dan apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian dilakukan melalui proses hukum.

PASAL 16
AMANDEMEN KONTRAK

Apabila terdapat hal lain yang belum diatur atau terjadi perubahan dalam Kontrak Penelitian ini, maka akan dilakukan amandemen **Kontrak Penelitian**.

 A

**PASAL 17
SANKSI**

- (1) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan telah berakhir, **PIHAK KEDUA** tidak melaksanakan kewajiban sebagaimana dimaksud dalam Pasal 4 ayat (1), maka **PIHAK KEDUA** dikenai sanksi administratif.
- (2) Sanksi administratif sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dapat berupa penghentian pembayaran dan/atau Ketua Tim Pelaksana Penelitian tidak dapat mengajukan proposal penelitian dalam kurun waktu dua tahun berturut-turut.

**PASAL 18
LAIN-LAIN**

- (1) **PIHAK KEDUA** menjamin bahwa penelitian dengan judul tersebut di atas belum pernah dibiayai dan/atau diikutsertakan pada Pendanaan Penelitian lainnya, baik yang diselenggarakan oleh instansi, lembaga, perusahaan atau yayasan, baik di dalam maupun di luar negeri.
- (2) Segala sesuatu yang belum cukup diatur dalam Perjanjian ini dan dipandang perlu diatur lebih lanjut dan dilakukan perubahan oleh **PARA PIHAK**, maka perubahan-perubahannya akan diatur dalam perjanjian tambahan atau perubahan yang merupakan satu kesatuan dan bagian yang tidak terpisahkan dari Perjanjian ini.

**PASAL 19
PERALIHAN**

Seluruh kegiatan penelitian yang sudah dilakukan **PIHAK KEDUA** berdasarkan Kontrak Penelitian Tahun Tunggal Penelitian Terapan Tahun Anggaran 2021 antara Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional dengan (Universitas Sriwijaya) Nomor 227 /SP2H/LT/DRPM/2021 tanggal 18 Maret 2021 tetap dapat dilaksanakan dan diakui sampai dengan ditandatanganinya **Kontrak Penelitian** ini.

**PASAL 20
PENUTUP**

- (1) Kontrak penelitian tahun jamak untuk penelitian lanjutan tahun anggaran sebelumnya dicabut dan dinyatakan tidak berlaku terhitung pada tanggal ditandatanganinya Kontrak Penelitian ini.
- (2) Kontrak ini dibuat rangkap 3 (tiga) bermaterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, dan biaya materai dibebankan kepada **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA



Samsuryadi, S.Si., M.Kom., Ph.D.
NIDN 0004027101

PIHAK KEDUA



Dr. Salni, M.Si.
NIDN: 0023086604

PROTEKSI ISI LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN AKHIR PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: 05b2d187-4698-4e1a-a8b2-e9f8b67f9ec7
Laporan Akhir Penelitian: tahun ke-3 dari 3 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

Pengembangan bahan bioaktif antibakteri dari daun Karamunting (*Rhodomyrthus tomentosa* (Aiton) Hassk) Untuk Mengobati Penyakit Diare Infeksi

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

| Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi | Tema | Topik (jika ada) | Rumpun Bidang Ilmu |
|--|------|-------------------------------------|---------------------------------|
| Bidang Lingkungan dan Keanekaragaman Hayati | - | Pengembangan formulasi tanaman obat | Biologi (dan Bioteknologi Umum) |

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

| Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan) | Skema Penelitian | Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan) | SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan) | Target Akhir TKT | Lama Penelitian (Tahun) |
|---|--|---------------------------------------|------------------------------------|------------------|-------------------------|
| Penelitian Desentralisasi | Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi | SBK Riset Terapan | SBK Riset Terapan | 5 | 3 |

2. IDENTITAS PENGUSUL

| Nama, Peran | Perguruan Tinggi/ Institusi | Program Studi/ Bagian | Bidang Tugas | ID Sinta | H-Index |
|--|-----------------------------|-----------------------|---|----------|---------|
| SALNI Ketua Pengusul | Universitas Sriwijaya | Biologi | | 5974355 | 1 |
| HANIFA MARISA M.S. Anggota Pengusul 1 | Universitas Sriwijaya | Biologi | pengujian aktivitas antidiare <i>Shigella dysenteriae</i> . Persiapan tikus uji dan kandang pemeliharaan, persiapan kultur bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> , melakukan sonde bakteri dan | 0 | 0 |

| | | | | | |
|--|------------------------------|--------------|--|----------------|----------|
| | | | <p>melakukan sonde pengobatan bahan bioaktif 2 kali sehari. Pengambilan sampel faeces tikus, melakukan kultur bakteri faces, dan mengamati jumlah koloni bakteri, Menguji tingkat toksisitas akut bahan bioaktif dari daun karamunting pada mencit percobaan. Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar abu, penetapan kadar abu yang tidak larut asam, penetapan kadar sari yang larut dalam air, penetapan kadar sari yang larut dalam etanol dan penetapan kadar air</p> | | |
| <p>Dr. Dra POEDJI LOEKITOWATI HARIANI M.Si</p> <p>Anggota Pengusul 2</p> | <p>Universitas Sriwijaya</p> | <p>Kimia</p> | <p>Pengujian aktivitas antidiare Escherichia coli meliputi : Persiapan tikus uji dan kandang pemeliharaan, persiapan kultur bakteri Escherichia coli, melakukan sonde bakteri dan melakukan sonde pengobatan bahan bioaktif 2 kali sehari. Pengambilan sampel faeces tikus, melakukan kultur bakteri faces, dan mengamati jumlah koloni bakteri. Menguji tingkat toksisitas sub akut bahan bioaktif dari daun karamunting pada mencit</p> | <p>5973518</p> | <p>4</p> |

| | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|
| | | | percobaan . Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid dan triterpenoid | | |
|--|--|--|--|--|--|

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

| Mitra | Nama Mitra |
|----------------------|----------------|
| Mitra Calon Pengguna | PT DEXA MEDICA |

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

| Tahun Luaran | Jenis Luaran | Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>) | Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>) |
|--------------|-----------------------------------|---|--|
| 3 | Dokumentasi hasil uji coba produk | Ada | - |

Luaran Tambahan

| Tahun Luaran | Jenis Luaran | Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>) | Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>) |
|--------------|---|---|--|
| 3 | Prosiding dalam pertemuan ilmiah Nasional | sudah terbit/sudah dilaksanakan | Seminar bidang farmasi |

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 3 Tahun Rp. 0

Tahun 1 Total Rp. 0

Tahun 2 Total Rp. 0

Tahun 3 Total Rp. 0

6. HASIL PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

Penyakit diare infeksi Salmonellosis dan Shigellosis masih menjadi masalah bagi masyarakat Indonesia. Usaha menemukan obat alternatif yang murah dan aman untuk diare infeksi masih sangat diperlukan. Pemanfaatan keanekaragaman hayati menjadi salah satu riset unggulan Universitas Sriwijaya. Daun Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa*) secara

tradisional telah digunakan untuk mengobati diare dan infeksi kulit. Karamunting sangat potensial dikembangkan sebagai sumber bahan baku obat fitofarmaka. Dari daun karamunting diperoleh senyawa antibakteri baru Rhodomyrtone^{1,2}. Rhodomyrtone sangat potensial karena aktivitasnya yang kuat terhadap bakteri gram positif dan gram negatif termasuk bakteri resisten MRSA, Tujuan penelitian untuk melakukan pengujian praklinik dari bahan bioaktif antibakteri dari daun karamunting untuk mengobati penyakit diare infeksi. Uji praklinik meliputi pengujian aktivitas bahan bioaktif terhadap bakteri penyebab diare secara in vitro (tahun pertama), menguji efektivitas sediaan fitofarmaka dengan bahan bioaktif antibakteri dari daun karamunting dalam menyembuhkan penyakit diare pada tikus percobaan secara in vivo (tahun kedua). Selanjutnya uji toksisitas akut dan subakut untuk mengetahui keamanan bahan bioaktif. Skrining fitokimia dan karakterisasi untuk standarisasi obat fitofarmaka (tahun ketiga).

Pada tahun pertama telah diperoleh produk bahan bioaktif berupa ekstrak n-heksan dan etilasetat dari daun karamunting yang aktif terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhi* secara in vitro. Dari ekstrak n-heksana telah diisolasi senyawa antibakteri N1 berupa essential oil, N2 senyawa antibiotika baru dan N3 senyawa Rhodomyrtoson D. Dari ekstrak etil asetat diisolasi senyawa E1 berupa essential oil, E2 senyawa rhodomyrtone dan E3. Hasil penelitian pada tahun kedua diperoleh bahan bioaktif berupa ekstrak n-heksan dan etil asetat dapat menyembuhkan infeksi diare pada tikus percobaan yang disebabkan bakteri *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhi* secara in vivo. Hasil penelitian ini telah terbit di jurnal Malaysia Journal of Fundamental and Applied Science dan telah di review di jurnal molekul.

Luaran utama penelitian tahun kedua adalah dokumen feasibility produk (pendaftaran paten) sedangkan luaran tambahan adalah artikel ilmiah pada jurnal internasional, sedangkan pada tahun ketiga luaran utama berupa produk dan luaran tambahan seminar nasional. TKT tahun kedua adalah TKT 4 yaitu percobaan dan pengujian skala laboratorium untuk mengevaluasi dan mengkaji efektivitas, keamanan dan efek samping produk. TKT tahun ketiga adalah TKT 5 yaitu pengujian tingkat keamanan prototype skala lab berdasarkan standard yang berlaku.

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

Karamunting, Diare, Salmonellosis, Shigellosis, Rhodomyrtone

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

I. HASIL UJI TOKSISITAS AKUT MENGGUNAKAN METODE *FIXED DOSE*

PROSEDUR PENGUJIAN UJI TOKSISITAS AKUT

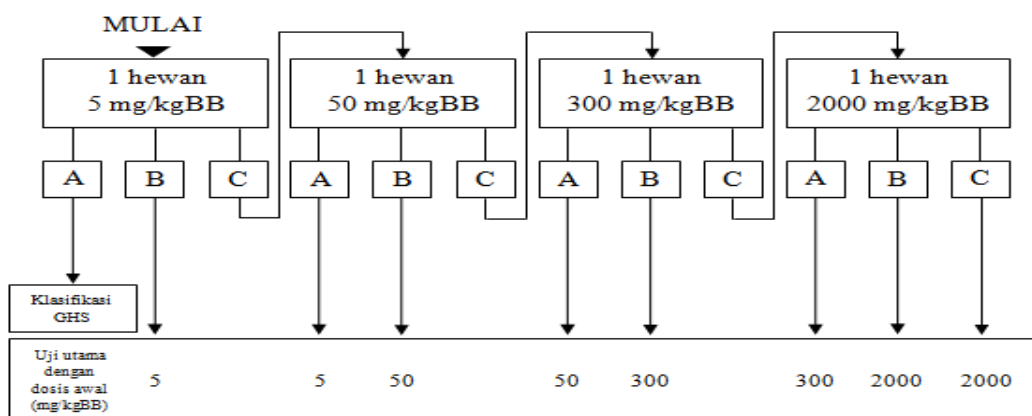
Sebelum dilakukan prosedur pengujian, hewan uji harus diaklimatisasi selama 7 hari. Selama masa aklimatisasi hewan uji diberi minum dan pakan standar. Sebelum diberi perlakuan hewan uji dipuasakan dahulu selama 14-18 jam, namun air minum boleh diberikan.

1. Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan, jumlah hewan uji yang digunakan masing-masing 1 ekor untuk tiap tingkatan dosis. Dosis yang digunakan dapat dipilih dari tingkatan *fixed dose*: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB. Pengujian kali ini dosis awal yang digunakan adalah 5 mg/kgBB (1). Pada uji pendahuluan digunakan 2 ekor tikus, 1 ekor tikus sebagai kontrol normal yang diberi akuades dan tikus lainnya diberi sediaan uji dosis tunggal 5 mg/kgBB menggunakan oral sonde. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 5 mg/kgBB. Namun jika tidak terjadi kematian ataupun kemunculan gejala toksik pada hewan uji, maka uji pendahuluan dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 50 mg/kgBB. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 50 mg/kgBB. Namun jika pada dosis 50 mg/kgBB tidak menghasilkan kematian dan gejala toksik pada hewan uji maka dosis awal dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 300 mg/kgBB. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 300 mg/kgBB. Namun jika pada dosis 300 mg/kgBB tidak menghasilkan kematian dan gejala toksik pada hewan uji maka dosis awal dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 2000 mg/kgBB. Pengamatan secara rutin dilakukan pada 4 jam pertama setelah pemberian dosis selama 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap ada tidaknya kematian ataupun gejala toksik yang muncul dari hewan uji. Interval waktu pengamatan minimal 24 jam pada setiap dosis.

Prosedur Uji Pendahuluan (OECD, 2001; BPOM, 2014)

Dosis awal uji pendahuluan 5 mg/kgBB



Keterangan:

A = Mati

B = Menunjukkan gejala toksisitas

C = Tidak ada gejala toksisitas

2. Uji Utama

Sebelum diberi perlakuan hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari. Hewan uji dipuasakan selama 14-18 jam, namun air minum boleh diberikan. Setelah dipuasakan, hewan ditimbang dan diberikan sediaan uji dalam dosis tunggal secara oral menggunakan sonde. Setelah diberikan perlakuan, pakan boleh diberikan kembali setelah 3-4 jam (2). Dosis awal yang dipilih untuk uji utama ditentukan dari hasil yang diperoleh pada uji pendahuluan. Pada uji utama ini hewan uji dilebihkan 1 ekor

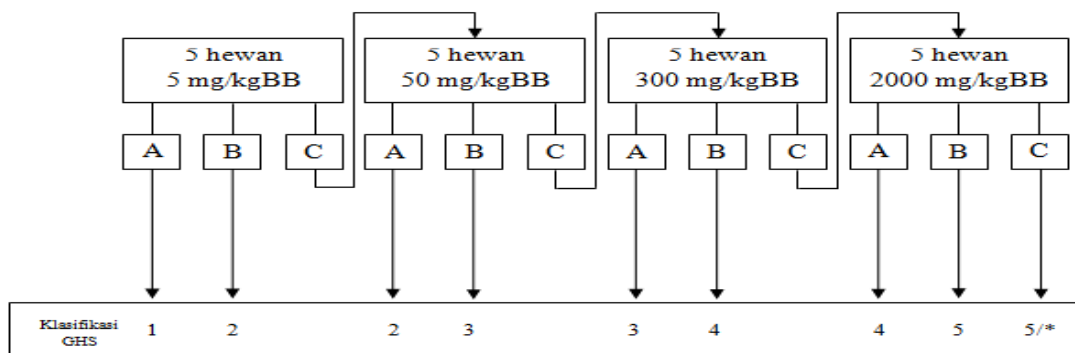
pada tiap kelompok untuk mencegah kekurangan sampel jika terjadi kematian atau hilangnya hewan uji pada saat penelitian. Sehingga hewan uji yang digunakan pada uji utama sebanyak 5 ekor setiap kelompok. Kelima ekor hewan uji tersebut terdiri dari 1 ekor hewan dari uji pendahuluan dan 4 ekor hewan tambahan. (2). Jika pada uji pendahuluan tidak ada kematian pada tingkat dosis 2000 mg/kgBB maka tidak perlu diberikan dosis melampaui 2000 mg/kgBB. Pengamatan secara rutin dilakukan pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji dan secara periodik setiap 4 jam selama 24 jam pertama kemudian sehari sekali selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan meliputi ada tidaknya kematian ataupun gejala toksik yang ditunjukkan oleh hewan uji (2).

Tabel1. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus)

| Dosis (mg/kgBB) | Kematian | Kategori |
|-----------------|--|------------------|
| 5 | ≥2 dari 5 ekor mati | 1 |
| 5 | ≥1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 2 |
| 50 | ≥2 dari 5 ekor mati | |
| 50 | ≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 3 |
| 300 | ≥2 dari 5 ekor mati | |
| 300 | ≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau <1 mati | 4 |
| 2000 | ≥2 dari 5 ekor mati | |
| 2000 | ≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 5 |
| | Tidak ada gejala toksisitas | 5 / unclassified |

(Keterangan: 1. Sangat toksik; 2. Toksik; 3. Toksik sedang; 4 Toksik ringan; 5. Praktis tidak toksik) (sumber: OECD, 2001)

Prosedur Uji Utama (OECD, 2001; BPOM, 2014)



Keterangan:

- A = ≥2 ekor mati
- B = ≥1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian
- C = Tidak ada gejala toksisitas
- * = tidak terklasifikasikan

3. Pengamatan

Hal- hal yang harus diamati dalam periode observasi yaitu jumlah hewan yang mengalami gejala toksik, seperti perubahan tingkah laku hewan (jalan mundur, jalan menggunakan perut, tremor, diare, dan salivasi.), serta jumlah hewan yang mati selama uji. Berat badan masing-masing hewan uji harus dicatat pada saat sebelum diberikan sediaan uji dan 2 minggu setelahnya. Pada akhir penelitian, hewan yang masih bertahan hidup ditimbang dan kemudian dikorbankan. Seluruh hewan (termasuk yang mati selama penelitian maupun yang dikorbankan) harus dinekropsi. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap makroskopik organ berupa perubahan bentuk, warna, dan bobot organ (khususnya organ hati, ginjal, dan jantung). Selain itu dilakukan juga pengukuran kadar parameter biokimia berupa SGOT, SGPT, kreatinin dan ureum pada darah hewan uji.

4. Penetapan Kadar biokimia

Pemeriksaan kadar biokimia dilakukan dengan menggunakan alat Biosystem A15 di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang. Pengambilan sampel darah hewan uji dilakukan dengan metode plexus retro-orbital dari vena bagian mata. Darah ditampung ke dalam tabung *vacutainer* non-EDTA. Darah disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 5000 rpm. Serum yang terpisah dimasukkan ke dalam kuvet yang telah disiapkan menggunakan mikropipet. Tiap kadar parameter biokimia (SGOT, SGPT, Kreatinin, Ureum) dihitung menggunakan A15 Analyzer. Pengoperasian A15 Analyzer menggunakan komputer.

Tabel 2. Reagen Penetapan Kadar SGOT, SGPT, Ureum, dan Kreatinin

| Kadar | Reagen 1 (R ₁) | Reagen 2 (R ₂) |
|-----------------|---|--|
| SGOT (4:1) | Tris 121 mmol/L, L-aspartate 362 mmol/L, Malate dehydrogenase >460 U/L, Lactate dehydrogenase >660 U/L, pH 7,8 | NADH 1,9 mmol/L, 2-Oxoglutarate 75 mmol/L, Sodium hydroxide 148 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| SGPT (4:1) | Tris 150 mmol/L, L-alanin 750 mmol/L, Lactate dehydrogenase >1350 U/L, pH 7,3 | NADH 1,9 mmol/L, 2-Oxoglutarate 75 mmol/L, Sodium hydroxide 148 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| Urea (4:1) | Tris 100 mmol/L, 2-Oxoglutarate 5,6 mmol/L, Urease >140 U/mL, Glutamate dehydrogenase >140 U/mL, Etileneglicol 220 g/L, Sodium azide 0,95, pH 7,3 | NADH 1,5 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| Kreatinin (1:1) | NaOH 0,4 mol/L, Detergent | Picric acid 25 mmol/L |

Prosedur pengoperasian dimulai dengan membuka aplikasi A15 Analyzer. Sampel dibedakan dengan menggunakan "kode sampel". Klik indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang akan dihitung. Klik posisi untuk menentukan posisi kuvet pada rak A15 Analyzer. Masukkan kuvet yang berisi serum ke dalam rak A15 Analyzer. Kemudian klik *accept* dan *continue*. A15 Analyzer secara otomatis mengambil sampel serum di dalam kuvet dan reagen dari indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang akan dihitung. Kemudian secara otomatis alat akan menghitung konsentrasi dari indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang dihitung. Hasil pengukuran akan tampil dilayar monitor (3).

5. Analisis Data

Analisis data penelitian diproses dengan aplikasi pengolah data SPSS. Hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas (*Normality Test*). Untuk mengetahui adanya perbedaan berat badan, kadar SGOT, SGPT, kreatinin, dan kadar ureum hewan uji pada saat sebelum dan sesudah perlakuan, data berat badan hewan uji yang diperoleh dianalisis dengan uji T berpasangan (*Paired T-test*). Untuk data bobot organ dan juga kadar SGOT, SGPT, kreatinin, serta kadar ureum dilakukan uji T independen (*Independent T-test*), analisis ini dilakukan untuk membandingkan 2 kelompok perlakuan yang berbeda.

HASIL UJI TOKSISITAS AKUT

1. Berat Badan Tikus

Tabel 3. Bobot tikus

| Kelompok | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| kontrol | 246,75 | 246,01 | 246,15 | 245,53 | 245,76 | 245,92 | 245,04 | 245,45 | 245,73 | 244,97 | 245,06 | 245,22 | 245,51 | 245,67 | 245,72 |
| | 208,22 | 208,63 | 208,81 | 208,93 | 209,32 | 209,96 | 210 | 210,22 | 210,54 | 210,99 | 211,26 | 211,74 | 212,05 | 212,22 | 212,56 |
| | 219,63 | 220,06 | 220,25 | 221,68 | 221,9 | 222,49 | 223,09 | 223,63 | 224,14 | 224,83 | 225,08 | 225,19 | 225,22 | 225,32 | 225,62 |
| | 234,7 | 234,98 | 234,21 | 234,38 | 233,45 | 233,81 | 233,77 | 232,92 | 232,13 | 232,37 | 232,58 | 232,7 | 232,92 | 233,17 | 233,25 |
| | 230,07 | 230,73 | 231,24 | 231,6 | 231,74 | 232,4 | 233,36 | 234,82 | 235,13 | 235,94 | 236,4 | 237,02 | 237,79 | 238,91 | 239,52 |
| | Rata-rata±sd | 227,87 ±14,68 | 228,08 ±14,31 | 228,13 ±14,20 | 228,42 ±13,82 | 228,43 ±13,64 | 228,92 ±13,47 | 229,05 ±13,18 | 229,41 ±13,23 | 229,53 ±13,14 | 229,82 ±12,78 | 230,08 ±12,75 | 230,37 ±12,69 | 230,70 ±12,77 | 231,06 ±12,92 |
| | 209,65 | 208,06 | 207,98 | 207,17 | 207,76 | 207,98 | 208,04 | 208,87 | 207,23 | 207,72 | 207,58 | 207,75 | 207,09 | 207,9 | 208,1 |
| | 230,29 | 231,63 | 232,02 | 232,22 | 233,38 | 234,28 | 235,25 | 236,57 | 237,71 | 238,14 | 238,96 | 239,42 | 239,95 | 240,35 | 240,69 |
| | 240,79 | 241,12 | 241,19 | 241,48 | 241,96 | 242,67 | 242,47 | 242,62 | 242,43 | 243,24 | 243,51 | 243,78 | 243,96 | 244,01 | 244,27 |
| | 210,7 | 211,34 | 211,91 | 212,34 | 213 | 213,75 | 214,03 | 214,76 | 215,46 | 215,8 | 216,54 | 216,83 | 216,98 | 217,17 | 217,38 |
| | 202,38 | 202,88 | 203,45 | 204,16 | 205,01 | 205,79 | 207,44 | 207,82 | 208,03 | 208,15 | 208,21 | 208,51 | 208,97 | 209,04 | 209,37 |
| | Rata-rata±sd | 218,76 ±16,08 | 219,01 ±16,49 | 219,31 ±16,39 | 219,47 ±16,46 | 220,22 ±16,47 | 220,89 ±16,58 | 221,45 ±16,31 | 222,13 ±16,30 | 222,17 ±16,73 | 222,61 ±16,91 | 222,96 ±17,13 | 223,26 ±17,19 | 223,39 ±17,41 | 223,69 ±17,30 |

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| BB sebelum | Kontrol | .159 | 5 | .200* | .992 | 5 | .987 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .292 | 5 | .190 | .900 | 5 | .409 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| BB sesudah | Kontrol | .159 | 5 | .200* | .973 | 5 | .894 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .248 | 5 | .200* | .832 | 5 | .144 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Paired Samples Test

| | Paired Differences | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|--|--------------------|---------|----------------|-----------------|--|----------|---|------|-----------------|
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| | | | | | Pair 1 kontrol BB sebelum - kontrol BB sesudah | -3.46000 | | | |
| Pair 2 Dosis BB sebelum - Dosis BB sesudah | -5.20000 | 4.49876 | 2.01191 | -10.78595 | .38595 | 2.585 | 4 | .061 | |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan bobot tikus.

2. Gejala Klinis dan Kematian Hewan Uji

a. uji pendahuluan

Tabel 4. Gejala klinis dan kematian hewan uji

| Kelompok | Jumlah Tikus | Gejala Klinis | | | | | Kematian hewan uji |
|---------------------|--------------|---------------|---|---|---|---|--------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Kontrol | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 5 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 50 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 300 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 2000 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |

b uji utama

Tabel 5. Gejala klinis dan kematian hewan uji selama 14 hari pengamatan

| Kelompok | Tikus | Gejala Klinis | | | | | Kematian hewan uji |
|---------------------|-------|---------------|---|---|---|---|--------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Kontrol | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 2000 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |

Keterangan : 1. Salivasi; 2. Diare; 3. Jalan menggunakan perut; 4. Jalan mundur; dan 5. Tremor (-) tidak menunjukkan gejala atau kematian hewan uji

3. Kadar Biokimia Tikus

3.1 SGOT

a. Data kadar SGOT

Tabel 6. Kadar SGOT tikus

| Tikus | SGOT Kontrol | | SGOT Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|--------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 197.0 | 165.0 | 209.0 | 249.0 |
| 2 | 191.0 | 219.0 | 186.0 | 163.0 |
| 3 | 221.0 | 168.0 | 179.0 | 166.0 |
| 4 | 233.0 | 173.0 | 227.0 | 202.0 |
| 5 | 215.0 | 244.0 | 185.0 | 148.0 |
| Rata-rata±sd | 211.40±17.29 | 193,80±35.65 | 197.20±20.20 | 185,60±40.61 |

Kesimpulan : berdasarkan tabel, kadar masih dalam batas normal. Kadar normal SGOT tikus jantan menurut (4) adalah 60-300 U/L.

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGOT sebelum Kontrol | .198 | 5 | .200* | .951 | 5 | .742 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .242 | 4 | . | .937 | 4 | .635 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | |
|--------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|--|
| | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | |
| SGOT sebelum | Equal variances assumed | .312 | .592 | 1.194 | 8 | .267 | 14.20000 | 11.89117 | |
| | Equal variances not assumed | | | 1.194 | 7.813 | .267 | 14.20000 | 11.89117 | |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sebelum perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGOT sesudah | | | | | | |
| Kontrol | .320 | 5 | .103 | .827 | 5 | .131 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .285 | 5 | .200* | .888 | 5 | .347 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGOT sesudah | Equal variances assumed | | .030 | .866 | .339 | 8 | .743 | 8.20000 | 24.16609 |
| | Equal variances not assumed | | | | .339 | 7.868 | .743 | 8.20000 | 24.16609 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar SGOT.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | | | |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|----------|------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | t | Df | Sig. (2-tailed) |
| Lower | Upper | | | | | | | | |
| Pair 1 | Kontrol SGOT sebelum - Kontrol SGOT sesudah | 1.76000E1 | 43.32782 | 19.37679 | -36.19859 | 71.39859 | .908 | 4 | .415 |
| Pair 2 | Dosis SGOT sebelum - Dosis SGOT sesudah | 1.16000E1 | 30.07989 | 13.45214 | -25.74912 | 48.94912 | .862 | 4 | .437 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar SGOT.

3.2 SGPT

a. Data kadar SGPT

Tabel 7. Kadar SGPT tikus

| Tikus | SGPT Kontrol | | SGPT Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|--------------|-------------|-------------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 83.0 | 86.0 | 71.0 | 113.0 |
| 2 | 71.0 | 76.0 | 82.0 | 77.0 |
| 3 | 72.0 | 80.0 | 68.0 | 79.0 |
| 4 | 80.0 | 77.0 | 73.0 | 72.0 |
| 5 | 69.0 | 101.0 | 67.0 | 84.0 |
| Rata-rata±sd | 75.00±6.12 | 84.00±10.27 | 72.20±5.97 | 85.00±16.23 |

Menurut Nagmoti *et al.* (5) batas kadar normal SGPT untuk tikus putih yaitu 65,12–111,50 U/L. kadar SGPT dari tikus ke 1 setelah pemberian sediaan uji berada diatas batas normal kadar SGPT tikus, namun peningkatan kadar tidak sampai 2 kali lipat dari sebelumnya. Kenaikan kadar SGOT maupun SGPT hingga 2-4 kali dari nilai normal baru menunjukkan terjadinya kerusakan ringan (6).

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| SGPT sebelum Kontrol | .288 | 5 | .200* | .878 | 5 | .301 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .247 | 5 | .200* | .875 | 5 | .286 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGPT sebelum | Equal variances assumed | .272 | .616 | .732 | 8 | .485 | 2.80000 | 3.82623 |
| | Equal variances not assumed | | | .732 | 7.995 | .485 | 2.80000 | 3.82623 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| | Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGPT sesudah | Kontrol | .252 | 5 | .200* | .836 | 5 | .155 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .325 | 5 | .092 | .795 | 5 | .073 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|-------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGPT sesudah | Equal variances assumed | variances | .463 | .515 | -.116 | 8 | .910 | -1.00000 | 8.59069 |
| | Equal variances not assumed | not assumed | | | -.116 | 6.761 | .911 | -1.00000 | 8.59069 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar SGPT.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | | | |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|----------|--------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | t | df | Sig. (2-tailed) |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Kontrol SGPT sebelum - Kontrol SGPT sesudah | -9.00000 | 13.47219 | 6.02495 | -25.72794 | 7.72794 | -1.494 | 4 | .210 |
| Pair 2 | Dosis SGPT sebelum - Dosis SGPT sesudah | -1.28000E1 | 18.57956 | 8.30903 | -35.86957 | 10.26957 | -1.540 | 4 | .198 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar SGPT.

3.3 Kreatinin

a. Data kadar kreatinin

Tabel 8. Kadar Kreatinin tikus

| Tikus | Kreatinin Kontrol | | Kreatinin Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|-------------------|-----------|------------------------------|-----------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 0.47 | 0.31 | 0.4 | 0.49 |
| 2 | 0.45 | 0.49 | 0.44 | 0.52 |
| 3 | 0.58 | 0.35 | 0.33 | 0.44 |
| 4 | 0.69 | 0.34 | 0.54 | 0.41 |
| 5 | 0.26 | 0.49 | 0.27 | 0.28 |
| Rata-rata±sd | 0.49±0.16 | 0.40±0.09 | 0.40±0.10 | 0.43±0.09 |

Kesimpulan : berdasarkan tabel, kadar masih dalam batas normal. Rentang normal kreatinin pada tikus wistar yaitu 0,2-0,8 mg/dL (7).

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Kreatinin sebelum | .202 | 5 | .200* | .977 | 5 | .916 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .138 | 5 | .200* | .989 | 5 | .975 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|-------------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | F | Sig. | T | Df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| kreatinin sebelum | Equal variances assumed | .625 | .452 | 1.100 | 8 | .303 | .09400 | .08542 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.100 | 6.840 | .308 | .09400 | .08542 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Kreatinin sesudah | .301 | 5 | .156 | .801 | 5 | .083 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .223 | 5 | .200* | .922 | 5 | .543 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | |
|-------------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|--|
| | | F | Sig. | T | Df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | |
| kreatinin sesudah | Equal variances assumed | .106 | .754 | -.561 | 8 | .590 | -.03200 | .05701 | |
| | Equal variances not assumed | | | -.561 | 7.964 | .590 | -.03200 | .05701 | |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar Kreatinin.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | | | |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|--------|-------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | t | df | Sig. (2-tailed) |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Kontrol kreatinin sebelum - Kontrol kreatinin sesudah | .09400 | .22985 | .10279 | -.19139 | .37939 | .914 | 4 | .412 |
| Pair 2 | Dosis kreatinin sebelum - Dosis kreatinin sesudah | -.03200 | .09808 | .04386 | -.15378 | .08978 | -.730 | 4 | .506 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar kreatinin.

3.4 Ureum

a. Data kadar ureum

Tabel 9. Kadar ureum tikus

| Tikus | Ureum Kontrol | | Ureum Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|---------------|------------|--------------------------|------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 36.29 | 37.78 | 29.34 | 36.47 |
| 2 | 36.35 | 41.08 | 24.97 | 35.69 |
| 3 | 46.59 | 45.33 | 28.74 | 34.07 |
| 4 | 36.77 | 38.56 | 32.93 | 38.02 |
| 5 | 26.95 | 59.7 | 29.34 | 38.02 |
| Rata-rata±sd | 36.59±6.95 | 44.49±9.00 | 29.06±2.83 | 36.45±1.67 |

Batas normal kadar ureum tikus wistar yaitu 12-42 mg/dL (8). Berdasarkan tabel kadar ureum pada kelompok tikus berada dalam batas normal kadar ureum tikus, baik sebelum maupun sesudah pemberian kombinasi fraksi daun karamunting.

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| | kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------|----------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| ureum sebelum | 1 | .290 | 5 | .198 | .898 | 5 | .399 |
| | 2 | .219 | 4 | . | .974 | 4 | .864 |

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|---------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|----------------|-----------------|-----------------------|
| | | F | Sig. | T | Df | Sig.(2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| ureum sebelum | Equal variances assumed | .840 | .386 | 2.243 | 8 | .055 | 7.52600 | 3.35465 |
| | Equal variances not assumed | | | 2.243 | 5.289 | .072 | 7.52600 | 3.35465 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)**Tests of Normality**

| | Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------|----------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| ureum sesudah | 1 | .263 | 5 | .200* | .811 | 5 | .099 |
| | 2 | .226 | 5 | .200* | .910 | 5 | .465 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|---------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| ureum sesudah | Equal variances assumed | 4.401 | .069 | 1.963 | 8 | .085 | 8.03600 | 4.09291 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.963 | 4.276 | .117 | 8.03600 | 4.09291 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar ureum.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

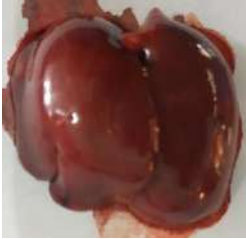





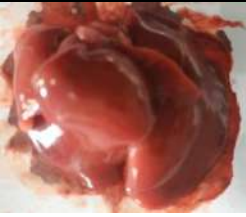



Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | | | |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|----------|--------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | T | df | Sig. (2-tailed) |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | kontrol ureum sebelum - kontrol ureum sesudah | -7.90000 | 14.05255 | 6.28449 | -25.34855 | 9.54855 | -1.257 | 4 | .277 |
| Pair 2 | dosis ureum sebelum - dosis ureum sesudah | -7.39000 | 2.36401 | 1.05722 | -10.32531 | -4.45469 | -6.990 | 4 | .002 |











Kesimpulan : nilai signifikan kelompok dosis menunjukkan $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok dosis, namun masih dalam rentang normal kadar ureum tikus. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar **SGPT**.

4. Makroskopis Organ





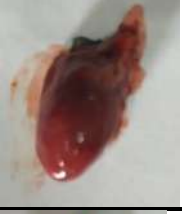





a. organ hati

| Tikus | Kontrol | Dosis 2000 mg/KgBB |
|-------|---|---|
| 1 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| 4 |  |  |
| 5 |  |  |

b. organ ginjal

| Tikus | Kontrol | Dosis 2000 mg/KgBB |
|-------|---|---|
| 1 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| 4 |  |  |
| 5 |  |  |

c. organ jantung

| Tikus | Kontrol | Dosis 2000 mg/KgBB |
|-------|--|---|
| 1 |  Kontrol |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| 4 |  |  |
| 5 |  Kontrol |  |

4.1 Bobot Relatif Organ tikus

Tabel 10. Bobot organ relatif tikus

| Kelompok | Tikus | Hati | Ginjal | Jantung |
|--------------------|-------|--------|--------|---------|
| Kontrol | 1 | 4,26 % | 0,64 % | 0,68 % |
| | 2 | 3,50 % | 0,70 % | 0,75 % |
| | 3 | 3,70 % | 0,59 % | 0,71 % |
| | 4 | 3,43 % | 0,57 % | 0,72 % |
| | 5 | 4,19 % | 0,67 % | 0,71 % |
| Dosis 2000 mg/KgBB | 1 | 4,47 % | 0,77 % | 0,77 % |
| | 2 | 3,69 % | 0,74 % | 0,71 % |
| | 3 | 3,91 % | 0,56 % | 0,71 % |
| | 4 | 3,39 % | 0,79 % | 0,75 % |
| | 5 | 4,06 % | 0,82 % | 0,78 % |

a. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ hati)

Tests of Normality

| Kelompok | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| organ hati | Kontrol | .233 | 5 | .200* | .861 | 5 | .231 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .150 | 5 | .200* | .995 | 5 | .994 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| | | | | | | | | |
| organ hati | Equal variances assumed | .000 | .987 | -.175 | 7 | .866 | -.04900 | .28047 |
| | Equal variances not assumed | | | -.171 | 5.967 | .870 | -.04900 | .28634 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ hati

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ ginjal)

Tests of Normality

| Kelompok | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| organ ginjal | Kontrol | .192 | 5 | .200* | .953 | 5 | .762 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .316 | 5 | .114 | .816 | 5 | .109 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

>> Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| organ ginjal | Equal variances assumed | | .750 | .412 | -1.966 | 8 | .085 | -.10200 | .05188 |
| | Equal variances not assumed | | | | -1.966 | 6.066 | .096 | -.10200 | .05188 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ ginjal.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ jantung)

Tests of Normality

| Kelompok | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| organ jantung | Kontrol | .237 | 5 | .200* | .950 | 5 | .740 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .250 | 5 | .200* | .862 | 5 | .234 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|---------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| organ jantung | Equal variances assumed | | 1.251 | .296 | -1.622 | 8 | .143 | -.03000 | .01849 |
| | Equal variances not assumed | | | | -1.622 | 7.482 | .146 | -.03000 | .01849 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ jantung.

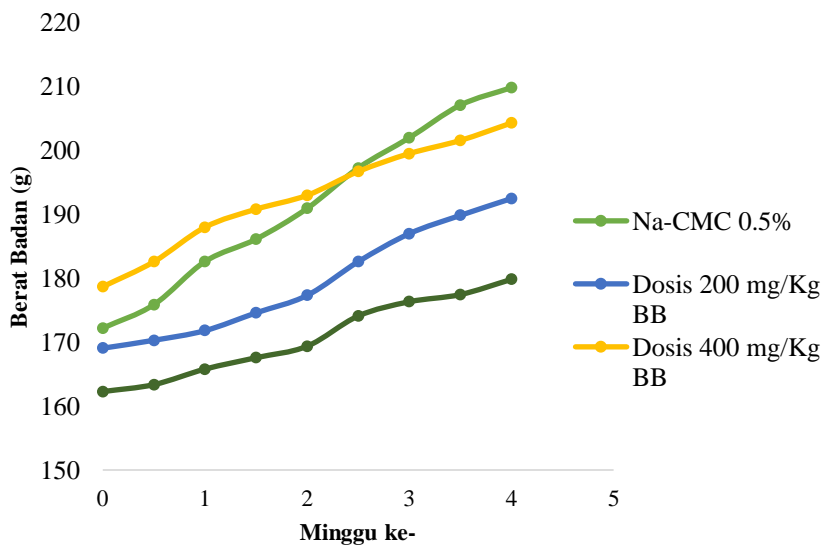
2. HASI UJI TOKSISITAS SUB KRONIS

4.1 Preparasi Fraksi Daun Karamunting

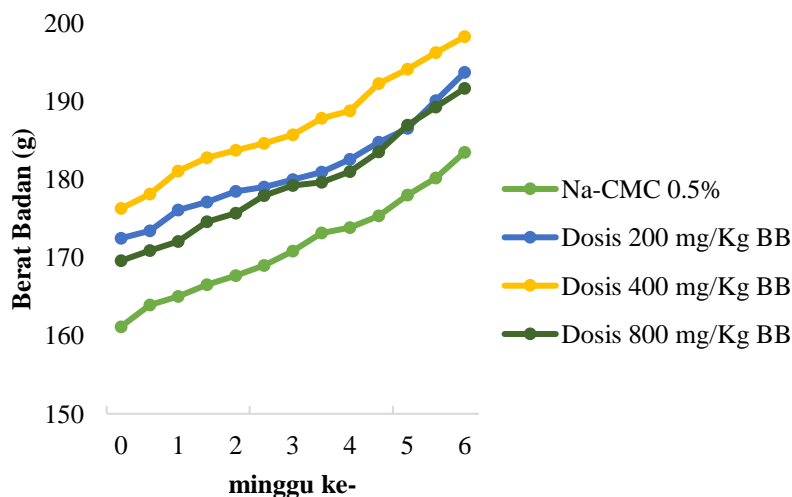
Tanaman karamunting yang digunakan telah dilakukan identifikasi ditempat Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Padang, Sumatera Barat. Persen rendemen fraksi daun karamunting yang menggunakan pelarut *n*-heksana diperoleh sebesar 3,78% dan fraksi dengan pelarut etil asetat diperoleh sebesar 10,15%. Fraksi *n*-heksana daun karamunting diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu steroid, tanin, dan fenol (tahun ke 2). Berdasarkan penelitian tahun ke 2 yang menggunakan sampel daun karamunting dari daerah yang sama, diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun karamunting yaitu senyawa flavonoid, tanin, steroid, fenol, dan saponin.

4.2 Berat Badan Tikus

Berat badan tikus adalah salah satu data pendukung guna melihat pengaruh toksisitas. Penimbangan berat badan dilakukan dua kali dalam seminggu. Data penimbangan berat badan disajikan dalam bentuk gambar grafik sebagai berikut:



Gambar 6 Berat badan tikus 0-28 hari



Gambar 7 Berat badan tikus kelompok satelit

Berdasarkan gambar 6 dan 7, menunjukkan terjadinya peningkatan bobot setiap minggunya. Perubahan berat badan dapat terjadi karena proses pertumbuhan yang dialami oleh tikus (9). Secara statistik, kelompok tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa pada uji *One Way ANOVA* tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p > 0,05$). Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak berpengaruh terhadap berat badan tikus. Pada uji t-

berpasangan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$) untuk kelompok tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi peningkatan berat badan tikus.

Berdasarkan analisis statistik berat badan tikus kelompok satelit, menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol. Sedangkan uji t-berpasangan menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) antara sebelum dengan sesudah perlakuan pada semua kelompok. Artinya terdapat peningkatan berat badan yang signifikan pada kelompok satelit. Hal ini dapat terjadi karena untuk kelompok satelit dilakukan pengamatan lanjut selama 14 hari setelah pemberian sediaan uji, sehingga proses pertumbuhan dapat lebih meningkat.

4.3 Gejala Klinis dan Kematian Hewan Uji

Pengamatan terhadap gejala toksisitas diantaranya dengan melihat gejala klinis yang dialami selama penelitian serta kematian hewan uji. parameter kualitatif gejala klinis yang diamati yaitu salivasi, diare, jalan menggunakan perut, jalan mundur, dan tremor. Hasil pengamatan gejala toksisitas hewan uji dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4. Gejala toksisitas hewan uji selama 0-28 hari

| Parameter | Tikus | Na-CMC 0.5% | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|----------------------------|-------|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Salivasi | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Diare | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Jalan menggunakan perut | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Jalan mundur | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Tremor | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Kematian hewan uji | | - | - | - | 1 |

Keterangan : (-) tidak ada gejala

(1) Hari ke-14

Tabel 5. Gejala toksisitas kelompok satelit selama 0-42 hari

| Parameter | Tikus | Na-CMC 0.5% | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|----------------------------|-------|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Salivasi | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Diare | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Jalan menggunakan perut | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Jalan mundur | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Tremor | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Kematian hewan uji | | - | - | - | - |

Berdasarkan tabel 4, menunjukkan tidak adanya gejala klinis, namun terdapat 1 ekor hewan uji kelompok dosis 800 mg/KgBB yang mati pada hari ke-14. Hewan uji yang mati ditemukan dalam keadaan kaku sehingga tidak dapat dilakukan otopsi. Kematian kemungkinan dapat disebabkan oleh faktor eksternal seperti stress hewan uji atau sifat kanibal yang dimiliki oleh tikus. Sedangkan pada tabel 5, menunjukkan tidak adanya gejala toksisitas pada hewan uji kelompok satelit.

4.4 Kadar Hematologi Tikus

Pengambilan darah tikus dilakukan dengan metode *plexus retro-orbital* dari vena mata. Organ mata tikus dapat beregenerasi dengan cepat, sehingga darah bisa diambil kembali pada organ yang sama untuk pengukuran selanjutnya dan juga kemungkinan mendapatkan darah yang lisis itu kecil serta mudah dilakukan (10). Pemeriksaan hematologi penelitian ini terdiri dari kadar hemoglobin, jumlah eritrosit, dan jumlah leukosit. Data hasil pemeriksaan kadar hematologi dapat dilihat pada lampiran 8. Rata-rata pemeriksaan hematologi dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 6. Rata-rata Hemoglobin sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Kadar Hemoglobin (g/dL) | |
|-------------------|-------------------------|------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 11.40±0.10 | 15.20±0.10 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 9.90±0.44 | 14.10±1.08 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 10.17±0.68 | 14.30±2.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 10.60±2.10 | 12.63±5.31 |

Berdasarkan tabel 6, pada kelompok tikus sebelum pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa adanya kadar Hb yang berada dibawah rentang normal. Rentang normal kadar Hb tikus menurut Mitruka dan Rawnsly (11) yaitu 11,1-18 g/dL. Penurunan kadar Hb dapat terjadi pada anemia, sirosis, hipertiroidisme, perdarahan, dan peningkatan asupan cairan (12). Setelah 28 hari pemberian sediaan uji menunjukkan terjadinya peningkatan kadar Hb, namun masih dalam batas normal.

Tabel 7. Rata-rata Eritrosit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) | |
|-------------------|---|-----------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 6.07±0.21 | 8.58±0.24 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 5.30±0.36 | 7.53±0.78 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 5.23±0.15 | 7.76±0.58 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 5.77±1.12 | 6.34±2.66 |

Rentang normal kadar eritrosit yaitu $7,2-9,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Berdasarkan tabel 7, kadar eritrosit terjadi peningkatan namun masih dalam rentang normal. Sedangkan untuk kelompok sebelum pemberian sediaan uji menunjukkan kadar eritrosit dibawah batas normal. Jumlah sel darah dapat menurun pada anemia, penurunan fungsi ginjal, dan hemolisis (12). Sel darah merah juga dapat menurun karena perdarahan dan malnutrisi.

Berdasarkan uji ANOVA, kadar eritrosit sebelum dan sesudah menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Sedangkan dari uji t-berpasangan menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p<0,05$) pada kelompok kontrol dan kelompok dosis, kecuali kelompok dosis 800 mg/KgBB. Artinya terdapat peningkatan yang signifikan pada kelompok tersebut, namun rata-rata kadar eritrosit pada kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/KgBB, dan kelompok dosis 400 mg/KgBB masih dalam batas normal eritrosit tikus. Peningkatan signifikan yang terjadi bukan berarti dipengaruhi oleh pemberian kombinasi fraksi daun karmunting, karena pada dosis 800 mg/KgBB tidak menunjukkan adanya peningkatan signifikan terhadap kadar eritrosit.

Tabel 8. Rata-rata Leukosit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Jumlah Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$) | |
|-------------------|--|------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 15.13±1.90 | 14.03±2.78 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 13.90±4.33 | 15.87±2.44 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 11.27±0.59 | 11.43±1.88 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 12.50±1.30 | 11.93±0.67 |

Rentang normal kadar leukosit tikus yaitu $3-14,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Kadar leukosit pada tabel 8 menunjukkan bahwa terdapat penurunan dan peningkatan kadar setelah pemberian sediaan uji. Penurunan leukosit tikus masih dalam rentang normal. Terjadinya peningkatan jumlah leukosit diatas normal kemungkinan dapat disebabkan oleh adanya perdarahan, trauma, nekrosis, toksin, leukemia, makanan, ataupun stres (12).

Data kadar leukosit tikus baik sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji, dari hasil analisis ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna ($p>0,05$) antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Begitu juga dengan uji t-berpasangan yang menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) untuk tiap kelompok tikus antarwaktu sebelum dengan sesudah pemberian sediaan uji. Artinya bahwa pemberian kombinasi fraksi daun karmunting tidak mempengaruhi kadar leukosit tikus.

Tabel 9. Rata-rata kadar hematologi kelompok satelit

| Kelompok | Hb (g/dL) | Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) | Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$) |
|-------------------|------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Na-CMC 0.5% | 14.50±0.85 | 7.05±0.07 | 9.45±4.60 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 14.25±1.63 | 7.95±0.07 | 11.95±3.61 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 14.80±0.00 | 7.75±0.35 | 12.95±2.19 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 13.45±1.63 | 7.30±1.27 | 14.10±1.13 |

Kadar hematologi pada kelompok satelit (tabel 9), menunjukkan bahwa baik kadar Hb maupun kadar eritrosit dan leukosit masih dalam rentang normal. Hasil analisis statistik ketiga kadar tersebut, menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0.05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Artinya kombinasi fraksi daun karamunting juga tidak mempengaruhi kadar hematologi untuk kelompok satelit.

Kadar hematologi dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis dan memantau toksisitas yang terjadi pada hewan uji (11). Parameter hematologi darah tidak memiliki pola yang konsisten antara peningkatan dosis dengan perubahan parameter hematologi dan terhadap waktu pengukuran. Pola yang tidak tetap ini diduga karena adanya faktor variasi sedikit dari hewan coba dalam satu kelompok (13).

4.5 Kadar Biokimia Tikus

Darah tikus diambil dengan metode *plexus retro-orbital* dari vena mata. Darah kemudian disentrifugasi untuk memisahkan plasma dengan serum, sehingga serum dapat digunakan untuk pemeriksaan kadar biokimia. Penentuan kadar biokimia dilakukan terhadap parameter SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum. Data hasil pemeriksaan kadar hematologi dapat dilihat pada lampiran 11. Berikut tabel rata-rata dari hasil pemeriksaan kadar biokimia:

Tabel 10. Rata-rata kadar pemeriksaan SGOT sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar SGOT (U/L) | |
|-------------------|------------------|----------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 171.54±2.40 | 257.63±13.62 a |
| Dosis 200 mg/KgBB | 186.54±58.82 | 224.80±16.89 a |
| Dosis 400 mg/KgBB | 154.15±22.91 | 251.19±14.05 a |
| Dosis 800 mg/KgBB | 247.72±34.24 | 306.92±30.86 b |

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda, berbeda nyata pada uji lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test) pada $\alpha=0,05$

SGOT merupakan enzim yang sebagian besar ditemukan dalam otot jantung dan hati, sementara dalam konsentrasi sedang dapat ditemukan pada otot rangka, ginjal, dan pankreas (14). Oleh karena itu, SGOT kurang spesifik terhadap kerusakan hati. Kadar normal SGOT tikus jantan menurut Hall (4) adalah 60-300 U/L. Berdasarkan tabel 10, menunjukkan bahwa terdapat kadar SGOT yang berada di atas batas normal kadar SGOT tikus serta menunjukkan terjadinya peningkatan kadar setiap kelompok. Peningkatan kadar SGOT dapat terjadi pada MI, penyakit hati, pankreatitis akut, trauma, serta anemia hemolitik akut (12). Kenaikan kadar SGOT maupun SGPT hingga 2-4 kali dari nilai normal baru menunjukkan terjadinya kerusakan ringan (4). Sedangkan pada tabel tidak menunjukkan peningkatan kadar SGOT yang melebihi 2-4 kali dari nilai sebelum perlakuan.

Hasil uji statistik kadar SGOT dapat dilihat pada Lampiran 12A. Berdasarkan uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok sesudah pemberian sediaan uji. Dilihat dari uji lanjut *Post Hoc DMRT* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) antar kelompok dosis 800 mg/KgBB dengan kelompok kontrol serta dengan kelompok dosis 200 mg/KgBB dan juga dengan kelompok dosis 400 mg/KgBB. Dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB tidak menunjukkan perbedaan ($p>0,05$) dengan kontrol. Hasil uji t-berpasangan kadar SGOT menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) pada kelompok kontrol, kelompok dosis 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB. Peningkatan yang signifikan pada kelompok kontrol dengan kelompok dosis 400 mg/KgBB masih dalam batas normal kadar SGOT tikus jantan. Sedangkan kelompok dosis 800 mg/KgBB, hal ini dapat dikaitkan dengan hasil pemeriksaan histologi, karena peningkatan kadar SGOT yang signifikan dapat disebabkan oleh banyak faktor, diantaranya yaitu trauma atau cedera otot.

Tabel 11. Rata-rata kadar pemeriksaan SGPT sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar SGPT (U/L) | |
|-------------------|------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 64.18±4.91 | 82.23±6.65 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 51.78±9.41 | 69.62±2.95 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 52.38±10.53 | 70.86±5.41 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 84.37±32.22 | 65.56±18.55 |

SGPT lebih banyak terdapat dalam hati dibandingkan jaringan otot jantung dan lebih spesifik menunjukkan fungsi hati daripada SGOT. Menurut Nagmoti *et al.* (2010) batas kadar normal SGPT untuk tikus putih yaitu 65,12–111,50 U/L. Berdasarkan tabel 11, menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar setelah pemberian sediaan uji. Nilai peningkatan kadar SGPT yang signifikan adalah dua kali lipat dari nilai normal (12). Peningkatan kadar SGPT tidak sampai 2 kali lipat dari kadar sebelum perlakuan dan kadar SGPT masih dalam batas normal.

Kadar SGPT berdasarkan hasil analisis statistiknya diperoleh hasil bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antar kelompok kontrol dengan kelompok dosis, baik untuk kadar sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi kadar SGPT. Begitu juga hasil dari uji t-berpasangan yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antarwaktu sebelum dan sesudah pemberian pemberian kombinasi fraksi daun karamunting. Namun, pada kelompok kontrol menunjukkan terjadinya peningkatan kadar SGPT secara signifikan ($p<0,05$). Hal tersebut kemungkinan dapat disebabkan karena faktor yang tidak dapat dikontrol dalam penelitian, seperti faktor stress hewan uji.

Tabel 12. Rata-rata kadar pemeriksaan Kreatinin sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar Kreatinin (mg/dL) | |
|-------------------|-------------------------|-----------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 0.42±0.04 | 0.35±0.05 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 0.39±0.06 | 0.32±0.20 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 0.33±0.04 | 0.37±0.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 0.43±0.07 | 0.35±0.11 |

Berdasarkan rata-rata kadar kreatinin pada tabel 12, menunjukkan bahwa terdapat peningkatan dan penurunan kadar kreatinin. Konsentrasi kreatinin serum dapat meningkat pada gangguan fungsi ginjal baik yang disebabkan oleh nefritis, penyumbatan saluran urin, penyakit otot atau dehidrasi akut dan dapat menurun akibat distripi otot, atropi, malnutrisi atau penurunan masa otot akibat penuaan (12). Peningkatan dan penurunan kadar kreatinin yang terjadi masih dalam rentang normal kreatinin pada tikus wistar yaitu 0,2-0,8 mg/dL (7).

Kadar kreatinin berdasarkan hasil analisis statistik (Lampiran 12C) menunjukkan bahwa antara kelompok normal dengan kelompok dosis tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,05$). Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar kreatinin. Pada uji t-berpasangan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) terhadap kelompok kontrol, namun peningkatan kreatinin secara signifikan masih dalam rentang normal kadar kreatinin tikus. Peningkatan yang signifikan pada kelompok kontrol dapat dipengaruhi oleh hal yang tidak dapat dikendalikan dalam penelitian, seperti faktor stres hewan uji.

Tabel 13. Rata-rata kadar pemeriksaan Ureum sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar Ureum (mg/dL) | |
|-------------------|---------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 39.12±6.57 | 33.53±6.05 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 37.19±0.22 | 30.16±3.75 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 32.53±5.31 | 26.65±2.75 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 36.62±5.08 | 43.29±13.09 |

Berdasarkan kadar ureum pada tabel 13, menunjukkan bahwa kadar masih berada dalam batas normal kadar ureum tikus wistar yaitu 12-42 mg/dL (10). Kadar ureum sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji, berdasarkan hasil analisis ANOVA (Lampiran 12D) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok dosis. Artinya setelah pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi kadar ureum. Berdasarkan uji t-berpasangan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$). Hal tersebut berarti tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar ureum antarwaktu sebelum dengan sesudah pemberian sediaan uji.

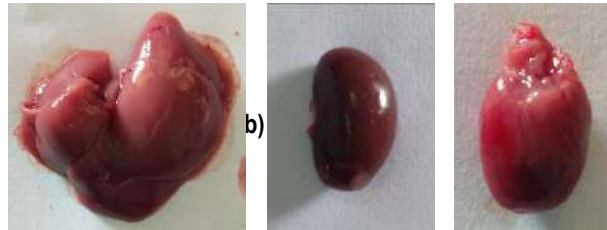
Tabel 14. Rata-rata kadar pemeriksaan biokimia kelompok satelit

| Kelompok | SGOT (U/L) | SGPT (U/L) | Kreatinin (mg/dL) | Ureum (mg/dL) |
|-------------------|--------------|-------------|-------------------|---------------|
| Na-CMC 0.5% | 251,92±76,35 | 58,18±11,03 | 0,65±0,14 | 43,11±0,85 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 314,90±63,62 | 83,98±16,96 | 0,65±0,09 | 45,81±6,35 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 275,91±8,49 | 80,98±12,72 | 0,58±0,11 | 42,52±8,46 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 287,91±50,89 | 69,28±29,27 | 0,65±0,01 | 37,73±5,93 |

Hasil analisis statistik ANOVA (Lampiran 13) untuk kadar SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum, diperoleh data yang terdistribusi normal ($p>0,05$). Berdasarkan analisis ANOVA, dapat diketahui bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antar kelompok. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting hingga hari ke-42 (kelompok satelit) dari setiap kelompok menunjukkan tidak berpengaruh terhadap setiap parameter biokimia tersebut.

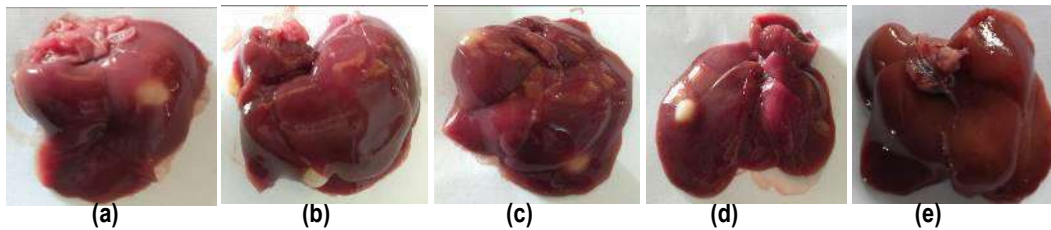
4.6 Makroskopis Organ

Makroskopis organ dilakukan terhadap hati, ginjal, dan jantung. Berikut ini gambar hasil makroskopis organ kelompok kontrol:



Gambar 8 Organ normal (a) hati; (b) ginjal; dan (c) jantung

Berdasarkan gambar 8, organ hati yang normal berwarna merah tua, organ ginjal berwarna merah kecoklatan, dan jantung berwarna merah. Hasil gambar makroskopis organ lainnya dapat dilihat pada lampiran 14. Pada lampiran 14A, menunjukkan adanya kerusakan organ hati pada satu atau dua ekor tikus dalam tiap kelompok setelah pemberian sediaan uji selama 28 hari. Sedangkan dalam lampiran 14B, secara makroskopis menunjukkan organ hati, ginjal, dan jantung yang normal dan tidak terdapat tanda-tanda kerusakan pada setiap organ tersebut. Hasil gambar makroskopis yang menunjukkan kerusakan organ hati diantaranya dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 9 Organ hati terbentuk massa (a) kontrol, (b) dosis 200 mg/KgBB, (c) dosis 200 mg/KgBB, (d) dosis 800 mg/KgBB ; dan bintik-bintik (d) dosis 800 mg/KgBB

Berdasarkan gambar 9, menunjukkan adanya kerusakan organ hati yang ditandai dengan terbentuknya suatu massa dan bintik-bintik organ hati tikus. Menurut Robins dan Kumar (15), hati yang normal memiliki permukaan yang rata dan halus serta berwarna merah tua, sedangkan hati yang abnormal memiliki permukaan yang berbintik-bintik, terdapat kista dan mengalami perubahan warna misalnya berwarna kuning atau hitam. Namun, kerusakan yang terlihat pada organ hati bisa disebabkan karena hewan uji yang digunakan sudah terpapar penyakit atau terinfeksi sebelumnya, hal ini karena tidak semua tikus dari setiap kelompok menunjukkan tanda kerusakan secara makroskopis.

4.7 Bobot Organ Hati, Ginjal, dan Jantung

Pengamatan bobot organ bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ. Data bobot organ dapat digunakan sebagai penunjang untuk melihat lebih detail ada tidaknya kerusakan pada suatu organ. Data bobot organ relatif dapat dilihat pada lampiran 15. Berikut diperoleh rata-rata dari bobot organ relatif:

Tabel 15. Rata-rata bobot organ relatif sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Bobot Organ (%) | | |
|-------------------|-----------------|-----------|-----------|
| | Hati | Ginjal | Jantung |
| Na-CMC 0.5% | 3.25±0.46 | 0.72±0.05 | 0.51±0.03 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 3.81±0.51 | 0.77±0.08 | 0.52±0.01 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 3.67±0.27 | 0.74±0.08 | 0.54±0.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 4.03±0.70 | 0.78±0.07 | 0.56±0.02 |

Tabel 16. Rata-rata bobot organ relatif kelompok satelit

| Kelompok | Bobot Organ (%) | | |
|-------------------|-----------------|-----------|-----------|
| | Hati | Ginjal | Jantung |
| Na-CMC 0.5% | 4.36±0.37 | 0.77±0.03 | 0.48±0.01 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 4.09±0.19 | 0.75±0.03 | 0.50±0.11 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 4.13±0.33 | 0.74±0.05 | 0.56±0.02 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 3.66±0.35 | 0.78±0.02 | 0.55±0.01 |

Menurut Linder (16) menyatakan bahwa bobot relatif hati tikus yaitu 2,3-3,10% bobot badan dan bobot relatif ginjal tikus percobaan yaitu berkisar antara 0,4-0,9% bobot badan tikus. Sedangkan bobot relatif organ jantung tikus putih sebesar 0,26-0,58 (Schoeffner *et al.*, 1999). Berdasarkan tabel 15 dan 16 menunjukkan bahwa organ ginjal dan jantung masih dalam batas normal, sedangkan organ hati berada diatas batas normal untuk semua kelompok termasuk kelompok kontrol yang hanya diberi Na CMC 0,5%. Berdasarkan hasil statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) antara kelompok perlakuan dengan kelompok normal. Artinya bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ hati, ginjal, dan jantung tikus.

4.7 Mikroskopis organ

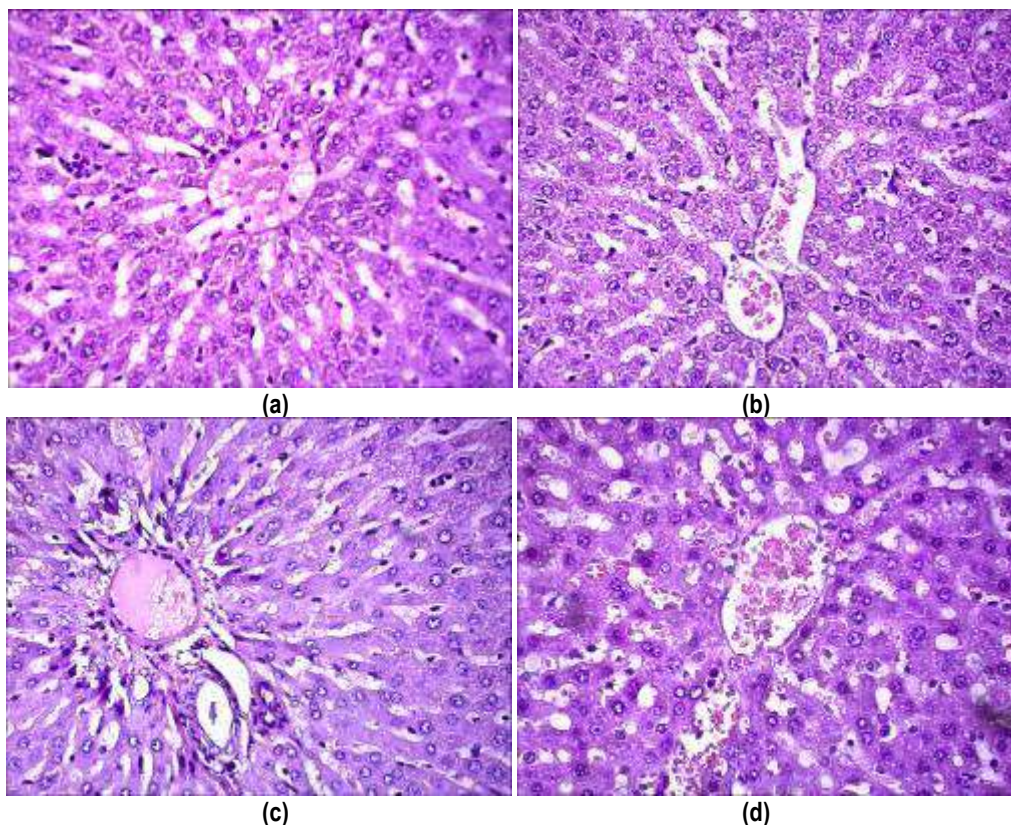
Mikroskopis organ dilakukan pada hati dan ginjal tikus setelah 28 hari. Sampel organ menggunakan 1 ekor tikus setiap kelompoknya. Tikus yang digunakan sebagai sampel histologi yaitu tikus 1 pada semua kelompok uji. Berikut hasil skoring dan gambar kerusakan pada jaringan hati:

Tabel 17. Hasil skoring kerusakan organ hati

| Kelompok | Degenerasi hidropik | Degenerasi lemak | Nekrosis |
|-------------------|---------------------|------------------|----------|
| Kontrol | 0 | 0 | 0 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 1 (20%) | 1 (40%) | 1 (30%) |
| Dosis 400 mg/KgBB | 2 (30%) | 2 (60%) | 2 (40%) |
| Dosis 800 mg/KgBB | 2 (60%) | 2 (70%) | 3 (80%) |

Berdasarkan tabel 17, histologi hati pada kelompok kontrol dalam kondisi normal, dimana jaringan hati menunjukkan tidak adanya degenerasi dan nekrosis. Sedangkan pada kelompok dosis secara histologi menunjukkan bahwa semakin tinggi pemberian dosis kombinasi fraksi daun karamunting maka kerusakan semakin besar. Kelompok dosis mengalami kerusakan sel hati yang ditandai dengan adanya degenerasi hidropik, degenerasi lemak, dan nekrosis.

Degenerasi ditandai dengan perubahan sitoplasma sel karena cairan sel bertambah dan membengkak, tetapi inti sel dapat mempertahankan integritas selama sel tidak mengalami cedera yang parah. Degenerasi hidropik ditandai dengan sitoplasma mengalami vakuolisasi dan vakuola-vakuola Nampak jernih. degenerasi hidropik merupakan kondisi dimana sel menerima cairan lebih banyak dari normalnya dan terakumulasi dalam sitoplasma sel sehingga sitoplasma sel membengkak. Degenerasi melemak pada hati meunjukkan ketidakseimbangan proses metabolisme, sehingga terjadi perubahan morfologi dan penurunan fungsi hepar akibat akumulasi lemak dalam sitoplasma (17). Degenerasi lemak ditandai dengan terbentuknya vakuola jernih yang berbentuk bulat pada sel hepar. Vakuola tersebut berisi lemak dan mendesak inti sel hepar ke tepi (18).



Gambar 10 Histologi hati (a) kontrol, (b) dosis 200 mg/KgBB, (c) dosis 400 mg/KgBB, (d) dosis 800 mg/KgBB

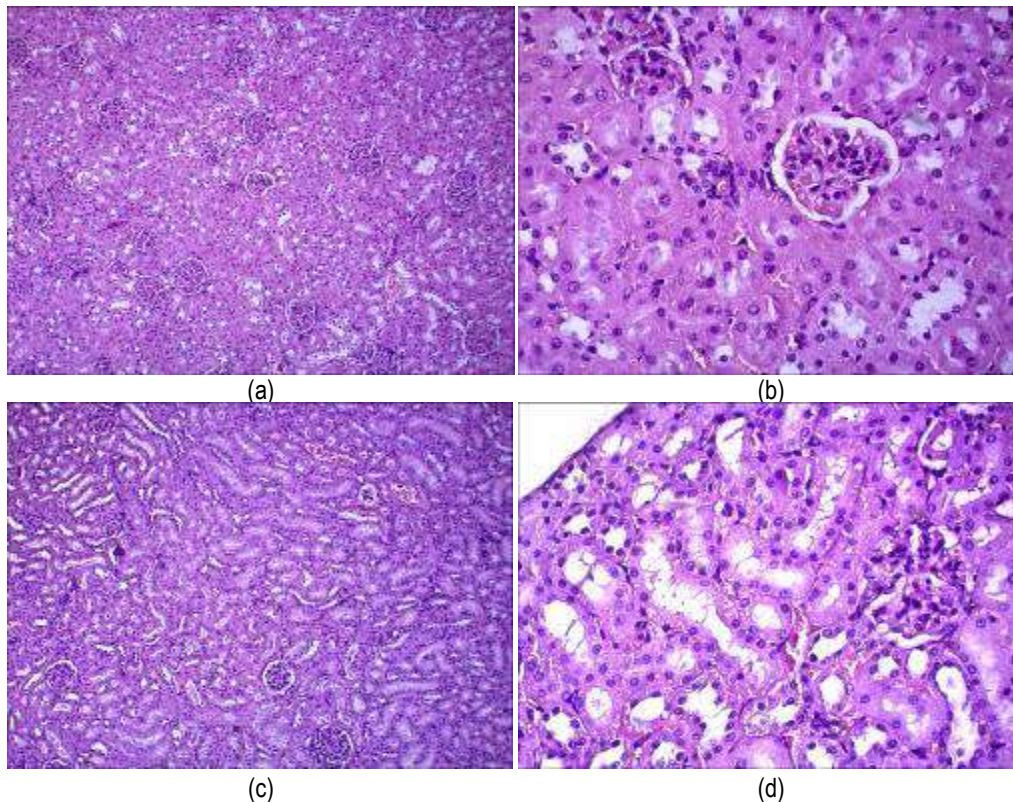
Pengamatan secara mikroskopis juga dilakukan terhadap ginjal. Pengamatan dilakukan untuk melihat kerusakan pada jaringan ginjal setelah pemberian kombinasi fraksi daun karamunting secara berulang selama 28 hari. Berikut data hasil skoring kerusakan dan gambar histologi ginjal perbesaran 100x dan 400x:

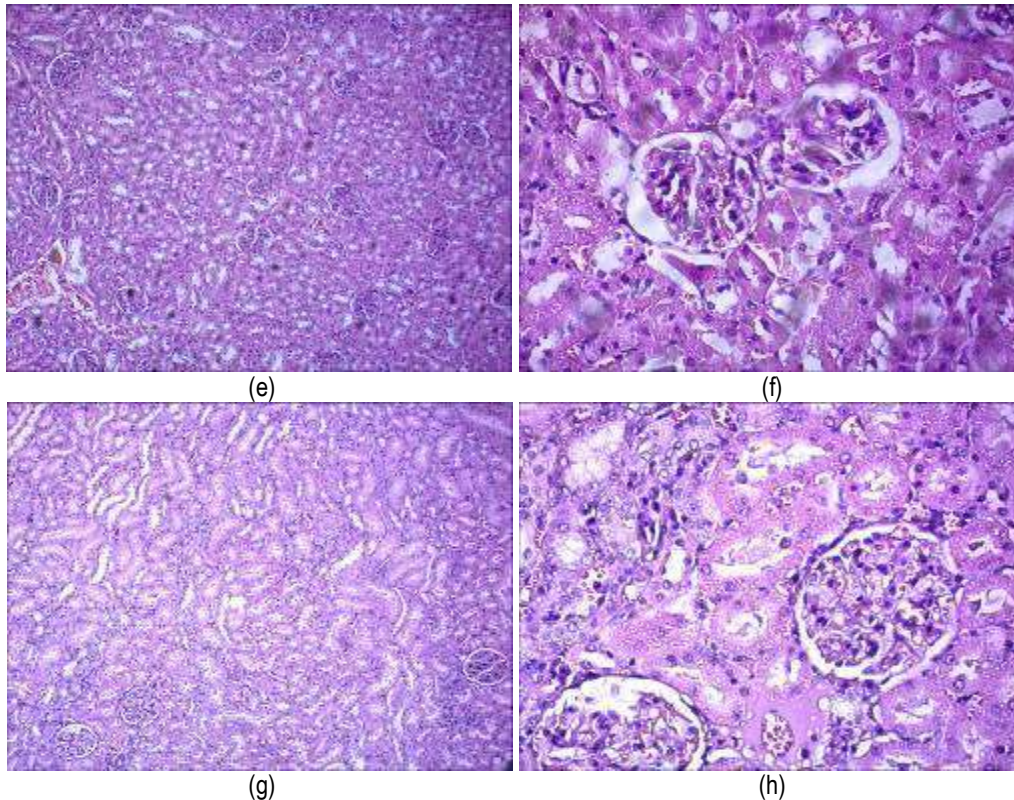
Tabel 18. Hasil skoring kerusakan organ ginjal

| Parameter | Kontrol | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|-------------------------|---------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dilatasi sel tubulus | 0 | 2 (60%) | 1 (10%) | 2 (60%) |
| Hilangnya brush border | 0 | 2 (60%) | 1 (10%) | 2 (60%) |
| Protein cast (silinder) | 0 | 1 (10%) | 0 | 1 (30%) |
| Vakuolisasi sel | 0 | 2 (60%) | 1 (5%) | 2 (60%) |
| Nekrosis | 0 | 1 (20%) | 1 (10%) | 1 (10%) |

Hasil mikroskopis ginjal menunjukkan kerusakan ginjal pada kelompok dosis yang ditandai dengan hilangnya brush border, dilatasi sel tubulus, terbentuknya protein cast, vakuolisasi sel, dan nekrosis, hal tersebut menunjukkan tanda-tanda terjadinya nekrosis tubular akut. Nekrosis merupakan kematian sel akibat jejas saat individu masih hidup. Secara mikroskopik terjadi perubahan inti yaitu hilangnya kromatin, robek (karioreksis), inti pucat tidak nyata (kariolisis). Vakuolisasi sel (ciri terjadinya degenerasi melemak) adalah proses terbentuknya rongga-rongga pada sel dinding kapiler tubulus sehingga inti sel menjadi tergeser ke tepi. Dilatasi atau pelebaran lumen tubulus ginjal dapat disebabkan oleh hilangnya brush border. Selain itu, kumpulan protein yang membentuk cast berakibat penyaluran melalui tubulus ginjal terhambat juga merangsang terjadi pelebaran atau dilatasi tubulus (19).

Berdasarkan tabel 18, kerusakan paling rendah terjadi pada kelompok dosis 400 mg/KgBB. Kelompok dosis 200 mg/KgBB lebih besar mengalami kerusakan dibandingkan dosis 400 mg/KgBB. Berdasarkan kadar biokimia, kadar ureum berada diatas batas normal, sedangkan kadar kreatinin masih dalam rentang normal. Kadar kreatinin lebih spesifik dari ureum dalam melihat kerusakan pada ginjal. Berdasarkan analisis statistik kadar biokimia (ureum dan kreatinin) menunjukkan tidak adanya pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting. Kerusakan ginjal diduga dapat disebabkan oleh faktor lain yang tidak dapat dikontrol, seperti kondisi stres hewan uji. Kondisi stres menyebabkan penurunan aliran darah ke ginjal (20). Akibatnya ginjal kekurangan suplai oksigen, sehingga dapat menyebabkan terjadinya hipoksia. Sel tubulus ginjal yang mengalami hipoksia lebih mudah mengalami gangguan fungsi





Gambar 11 histologi ginjal (a) kontrol (100x); (b) kontrol (400x); (c) dosis 200 mg/KgBB (100x); (d) dosis 200 mg/KgBB (400x); (e) dosis 400 mg/KgBB (100x); (f) dosis 400 mg/KgBB (400x); (g) dosis 800 mg/KgBB (100x); dan (h) dosis 800 mg/KgBB (400x)

5.1 Karakterisasi Fraksi *n*-heksan Daun Karamunting

Karakterisasi ekstrak merupakan suatu parameter pengukuran untuk dapat mengetahui mutu ekstrak berdasarkan syarat standar yang telah ditentukan. Karakterisasi fraksi terbagi menjadi parameter spesifik dan parameter non spesifik. Karakterisasi spesifik pada fraksi *n*-heksana daun karamunting meliputi organoleptik, pengujian kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Sedangkan, karakterisasi non spesifik fraksi meliputi pengujian kadar air, susut pengeringan, kadar abu tidak larut asam dan kadar abu total (21). Hasil karakterisasi fraksi *n*-heksana daun karamunting disajikan pada Tabel 3.

Table 3. Karakterisasi Fraksi *n*-heksana

| No. | Karakterisasi Ekstrak | Hasil (Rata-rata \pm simpangan baku) | Persyaratan (Depkes, 2008) |
|---------------------------------|-------------------------|--|----------------------------|
| Parameter Spesifik : | | | |
| 1. | Organoleptik | | |
| | Bentuk | Kental seperti karamel | |
| | Warna | Hijau kehitaman | - |
| | Bau | Khas ekstrak | |
| | Rasa | Pahit | |
| 2. | Kadar sari larut air | 3,34 \pm 8,89 | \geq 11,5% |
| 3. | Kadar sari larut etanol | 31,67 \pm 5,77 | \geq 11,4% |
| Parameter non spesifik : | | | |
| 1. | Kadar air | 6,67 \pm 1,53% | \leq 10% |
| 2. | Susut pengeringan | 7,16 \pm 1,75% | \leq 11% |

| | | | |
|----|----------------------------|--------------|---------------------------|
| 3. | Kadar abu total | 0,95 ± 0,09% | ≤ 16,6% |
| 4. | Kadar abu tidak larut asam | 0,61 ± 0,09% | ≤ 0,7% |
| 5. | Uji cemaran mikroba | 0 cfu/g | ≤ 1×10 ⁴ cfu/g |
| 6. | Uji cemaran logam Pb | 1,4606 mg/Kg | ≤ 10 mg/Kg |
| 7. | Uji cemaran logam Cd | 0,2189 mg/Kg | ≤ 0,3 mg/Kg |

5.2. Hasil Organoleptik

Parameter organoleptik dilakukan terhadap ekstrak untuk memberikan petunjuk atau pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan tekstur. Data yang didapat digunakan sebagai dasar untuk menguji ekstrak secara fisis selama penyimpanan yang dapat mempengaruhi khasiatnya. Pemeriksaan organoleptik berperan penting karena terkait dengan kemurnian dan mencegah pemalsuan bahan baku pada obat tradisional. Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana daun karamunting memiliki bentuk ekstrak kental seperti karamel dengan warna hijau kehitaman dan bau khas ekstrak serta rasa yang pahit. Warna hitam kehijauan ekstrak disebabkan oleh perubahan warna yang terjadi ketika dilakukan proses pengeringan dan warna tersebut sesuai dengan warna simplisia saat direndam dalam cairan penyari.

5.3. Kadar Air

Pengujian kadar air pada fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung dalam fraksi yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antidiare. Pengujian kadar air menggunakan metode gravimetri dengan menggunakan prinsip penguapan air pada bahan dengan pemansan suhu 105°C hingga berat konstan (21). Kadar air yang tinggi dapat mempermudah kapang, jamur dan mikroorganisme lainnya sehingga dapat menurunkan mutu dari ekstrak. Hasil rata-rata persentase kadar air fraksi *n*-heksana daun karamunting adalah 6,67% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih besar dari 10%, maka ekstrak dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama dan tidak mudah ditumbuhi mikroba sehingga tidak membutuhkan pengawet selama masa simpan.

5.4. Susut Pengeringan

Penentuan susut pengeringan bertujuan memberikan pada batasan maksimal jumlah senyawa yang hilang pada proses pengeringan dengan suhu 105°C selama 30 menit hingga bobot konstan (21). Hasil susut pengeringan fraksi *n*-heksana menunjukkan persen kadar pelarut dan air yang terdapat dalam fraksi yang menguap setelah dipanaskan pada suhu 105°C. Pada suhu 105°C, air akan menguap dan senyawa-senyawa yang memiliki titik didih yang lebih rendah dari air akan ikut menguap. Hasil rata-rata persentase susut pengeringan pada fraksi *n*-heksana daun karamunting sebesar 7,16% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu tidak boleh lebih besar dari 11%.

5.4.1. Kadar Abu Total Dan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Penetapan kadar abu berhubungan dengan tingkat keamanan pada bahan baku obat tradisional. Hasil pengujian kadar abu total dapat diketahui persentase kandungan senyawa anorganik yang apabila masuk kedalam tubuh dapat beresiko untuk merusak organ (22). Kadar abu tidak larut asam dapat diketahui tingkat pengotor pada ekstrak oleh logam-logam silikat. Baik logam maupun silikat yang berasal dari tanah dan air yang dihisap oleh jaringan tumbuhan (24). Prinsip pengujian kadar abu dimana ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap hingga hanya unsur mineral dan organik saja menggunakan tanur suhu ±600°C selama 3 jam.

Kadar abu total pada fraksi *n*-heksana daun karamunting yang diperoleh sebesar 0,95% dan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,61%. Hasil ini sesuai dengan persyaratan kadar abu total yaitu tidak lebih besar dari 16,6% dan kadar abu tidak larut asam tidak lebih besar dari 0,7%. Kadar abu yang terlalu tinggi dapat disebabkan karena pengolahan yang kurang bersih pada tahap pencucian daun segar. Kadar abu tidak larut asam berkaitan dengan jumlah kandungan mineral dalam ekstrak, kemurnian dan kontaminan (24).

5.4.2. Kadar Sari Larut Air Dan Kadar Sari Larut Etanol

Penetapan kadar sari fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk menunjukkan bahan-bahan yang dapat disari oleh air maupun etanol. Bahan-bahan yang larut dalam air terdiri dari karbohidrat, garam-garam dan sebagian vitamin-vitamin serta sebagian bahan-bahan organik. Penetapan kadar sari pada fraksi *n*-heksana daun karamunting sangat penting karena erat kaitannya dengan jumlah bahan-bahan terlarut dalam pelarut air dan pelarut etanol.

Hasil pengujian menunjukkan kadar sari larut air yaitu 3,34% (Tabel 3) tidak memenuhi persyaratan yaitu tidak kurang dari 11,5%. Hal ini diduga karena pelarut yang digunakan bersifat non polar (*n*-heksana) sehingga senyawa yang larut dalam air sangat sedikit. Hasil kadar sari larut etanol yaitu sebesar 31,67% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan kadar sari larut etanol yaitu tidak kurang dari 11,4%. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam fraksi *n*-heksana daun karamunting yang bersifat polar (larut air) lebih sedikit dibandingkan senyawa aktif yang bersifat semi polar-non polar (larut etanol).

5.4.3. Uji Cemar Mikroba

Pengujian cemaran mikroba bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba nonpatogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh dan berbahaya (toksik) bagi kesehatan (21)... Hasil pengujian menunjukkan nilai cemaran mikroba fraksi *n*-heksana daun karamunting sebesar 0 cfu/g. Hasil ini sesuai dengan persyaratan mutu obat tradisional dimana batas maksimum cemaran mikroba tidak boleh lebih dari 1×10^4 cfu/g.

5.4.4. Uji Cemar Logam

Pengujian cemaran logam pada standarisasi ekstrak sangat penting untuk dilakukan, karena kandungan logam berat yang tinggi dalam bahan baku obat tradisional dapat memahayakan kesehatan dan bersifat toksik bagi tubuh (21). Efek toksik dari logam berat yang sering terjadi adalah karsinogenik, gangguan sistem imun, gangguan susunan saraf, gangguan dan kerusakan ginjal, efek terhadap pernafasan (25). Oleh karena itu, pengujian cemaran logam berat ini sangat penting dilakukan pada ekstrak.

Identifikasi kandungan logam pada fraksi *n*-heksana daun karamunting menggunakan alat spektroskopi serapan atom dengan menganalisa kandungan logam Pb dan Cd. Hasil pengujian diperoleh cemaran logam Pb sebesar 1,4606 mg/Kg dan logam Cd sebesar 0,2189 mg/Kg. Hasil ini sesuai dengan persyaratan yaitu cemaran logam Pb yaitu tidak lebih dari 10 mg/Kg (10 ppm) dan logam Cd tidak lebih dari 0,3 mg/Kg (0,3 ppm). Tingginya kandungan logam berat dalam ekstrak dapat disebabkan oleh adanya pencemar yang berdekatan dengan ekstrak.

6.1 Skrining Fitokimia Fraksi *n*-heksana Daun Karamunting

Skrining fitokimia pada fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi. Skrining fitokimia penting dilakukan karena berhubungan dengan upaya untuk menggali potensi dari suatu tumbuhan obat. Pengujian skrining fitokimia dilakukan terhadap beberapa golongan senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, fenolik, tannin, steroid, dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia fraksi *n*-heksana daun karamunting ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Skrining fitokimia ekstrak etanol buah karamunting

| Golongan Senyawa | Hasil |
|------------------|-------|
| Flavonoid | + |
| Alkaloid | - |
| - Mayer | - |
| - Wagner | - |
| - Dragendorf | - |
| Steroid | + |
| Triterpenoid | - |
| Tanin | + |
| Fenolik | + |
| Saponin | - |

Keterangan: + (terdapat senyawa metabolit sekunder)

- (tidak terdapat senyawa metabolit sekunder)

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi *n*-heksana daun karamunting adalah steroid, fenolik, tanin dan tidak mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan saponin. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sinulingga (26) dimana pada skrining fitokimia fraksi *n*-heksana daun karamunting tidak terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, saponin. Skrining fitokimia fraksi *n*-heksana daun karamunting dapat dilihat pada Lampiran 9.

Uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann bouchard (asam asetat anhidrat- H_2SO_4). Reaksi positif triterpenoid dengan pereaksi Liebermann (asam asetat anhidrat- H_2SO_4) menghasilkan warna merah-ungu sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan stereroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (27). Hasil yang diperoleh negative triterpenoid dan positif steroid pada fraksi *n*-heksana daun karamunting yang terbukti dengan terbentuknya warna

hijau pada larutan uji steroid yang dapat dilihat pada Lampiran 9. Gambar 6 adalah mekanisme pembentukan senyawa kompleks antara pereaksi Liebermann dengan senyawa steroid.

Reagen FeCl_3 ditambahkan pada sampel untuk mengidentifikasi senyawa fenol dan tanin. FeCl_3 yang ditambahkan berguna untuk melihat ada tidaknya gugus fenol dalam sampel. Ion Fe^{3+} akan bereaksi dengan tanin atau senyawa fenolik membentuk senyawa kompleks berwarna biru kehitaman. Warna biru kehitaman yang terbentuk merupakan tanda positif dari identifikasi senyawa golongan fenolik dan tanin (28). Hal ini sesuai dengan hasil yang didapat bahwa fraksi *n*-heksana daun karamunting positif mengandung senyawa tanin dan fenolik yang dibuktikan dengan terbentuknya 2 lapisan larutan yaitu warna hijau kehitaman pada lapisan atas dan kuning bening pada lapisan bawah yang dapat dilihat pada Lampiran 9. Gambar 7 adalah mekanisme pembentukan senyawa kompleks antara FeCl_3 dengan senyawa fenolik.

6.3 Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Karamunting

Skrining fitokimia dilakukan pada fraksi etil asetat daun karamunting bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi tersebut. Skrining fitokimia perlu dilakukan pada tumbuhan yang menjadi kandidat bahan obat karena diperlukan untuk mengetahui kandungan dan pemanfaatan dari suatu tumbuhan obat. Fraksi etil asetat daun karamunting dilakukan pengujian skrining fitokimia terhadap beberapa golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, tanin, steroid, dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting ditunjukkan pada tabel sebagai berikut.

Tabel 4.2 Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting

| Golongan Senyawa | Hasil |
|------------------|-------|
| Flavonoid | + |
| Alkaloid | |
| - Mayer | - |
| - Wagner | - |
| - Dragendorf | - |
| Steroid | + |
| Triterpenoid | - |
| Tanin | + |
| Fenolik | + |
| Saponin | + |

Keterangan : Positif (+) dan negatif (-)

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung didalam ekstrak etil asetat daun karamunting antara lain flavonoid, steroid, tanin, fenolik, dan saponin. Fraksi etil asetat daun karamunting tidak mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid.

6.2.1 Flavonoid

Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa golongan flavonoid. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah atau jingga pada pereaksi bubuk magnesium dan asam klorida. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (29) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung flavonoid. Reaksi yang terjadi akan menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid sehingga menimbulkan reaksi larutan berwarna merah. Berdasarkan penelitian (30) telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri senyawa flavonoid yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat menggumpalkan protein dan bersifat lipofilik, sehingga dapat merusak lapisan lipid pada membran sel bakteri.

6.2.2 Steroid

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa steroid. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (31) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting positif mengandung steroid. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan senyawa steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam sehingga menghasilkan reaksi warna. Berdasarkan penelitian (30) menyatakan bahwa senyawa steroid merupakan senyawa antibakteri dengan mekanisme kerja merusak membrane sel bakteri.

6.2.3 Tanin

Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa golongan tanin. Berdasarkan penelitian (29) menyatakan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung senyawa tanin. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Menurut (32) terbentuknya warna hijau pada sampel setelah dilakukan penambahan FeCl_3 dikarenakan senyawa tanin akan membentuk kompleks ion Fe^{3+} . Senyawa tanin dalam bidang farmasi dimanfaatkan sebagai obat antidiare dan antiseptik. Senyawa tanin sebagai antibakteri memiliki mekanisme kerja

dengan menginaktifkan adhesi sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (33). Tanin juga mempengaruhi polipeptida dinding sel sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis dan mati (34).

6.2.4 Fenolik

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa fenolik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Hasil ini sesuai dengan penelitian (35) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung fenolik. Fenol bersifat asam, karea sifat gugus -OH yang mudah untuk melepaskan diri. Fenol juga dapat membentuk senyawa khelat dengan logam, mudah teroksidasi dan membentuk polimer yang berwarna gelap. Fenol berperan sebagai senyawa antibakteri karena fenol dapat melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak yang terdapat pada membran sel sehingga menyebabkan turunnya tegangan permukaan membran sel (36). Selanjutnya mendenaturasi protein dan mengganggu fungsi membran sel sebagai lapisan yang selektif, sehingga sel menjadi lisis (37).

6.2.5 Saponin

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa saponin. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa setelah ditambahkan aquadest dan dikocok kuat-kuat. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (29) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting positif mengandung saponin. Pada uji saponin, busa yang ditimbulkan menunjukkan adanya glikosida yang dapat membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa. Senyawa saponin bersifat antibakteri dengan merusak membran sel. Apabila membrane sel rusak maka akan menyebabkan kematian sel (30).

4.3 Karakterisasi Fraksi Etil Asetat Daun Karamunting

Hasil karakterisasi fraksi etilasetat dari daun karamunting dengan metode materia medika, diperoleh hasil seperti pada Tabel 4.3 berikut ini :

Tabel 4.3 Karakterisasi fraksi etil asetat daun karamunting

| Parameter | Hasil (Rata-rata±SD) | Persyaratan Depkes RI (2008) |
|---------------------------------|--|------------------------------|
| Parameter spesifik : | | |
| ▪ Organoleptis | Bentuk : kental Warna : hijau kehitaman Aroma :khas ekstrak Rasa : khelat | - |
| ▪ Kadar sari larut air (%) | 53,33 ± 11,5470 | >31% |
| ▪ Kadar sari larut etanol (%) | 73,33 ± 14,4388 | >70,5% |
| Parameter non spesifik : | | |
| ▪ Kadar air (%) | 9,2 ± 0,0153 | ≤10% |
| ▪ Susut pengeringan (%) | 8,7 ± 0,0115 | <11% |
| ▪ Kadar abu total (%) | 1 ± 0 | ≤16,6% |
| ▪ Kadar abu tak larut asam (%) | 0,62 ± 0,03 | ≤ 0,7% |
| ▪ Uji cemaran mikroba | 0 | 1×10 ⁴ cfu/g |
| ▪ Uji cemaran logam (mg/Kg) | Logam Cd: 0,1658 Logam Pb : 10,8130 | ≤ 0,3 mg/Kg ≤ 10 mg/Kg |

4.3.1 Hasil Organoleptik

Telah dilakukan pemeriksaan organoleptik pada fraksi etil asetat daun karamunting yang meliputi warna, bau, dan rasa pada sampel. Uji organoleptis ditentukan dengan melakukan pengamatan bentuk fisik dari fraksi etil asetat daun karamunting yang bertujuan sebagai pengenalan awal secara sederhana melalui panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa. Pemeriksaan organoleptik juga bertujuan untuk memberikan informasi terhadap spesifikasi fraksi etil asetat daun karamunting. Apabila suatu fraksi bahan baku obat telah dilakukan karakterisasi, hal ini akan mencegah terjadinya pemalsuan bahan baku obat dikarenakan karakterisasi terkait dengan kemurnian bahan baku obat tradisional. Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting memiliki bentuk ekstrak kental, warna hijau kehitaman, bau khas ekstrak, dan rasa khelat.

4.3.2 Kadar Air

Pemeriksaan kadar air merupakan parameter yang bertujuan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung pada sampel yang akan digunakan sebagai bahan baku obat. Pengujian kadar air penting dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat menjamin kualitas sampel. Metode yang digunakan dalam pemeriksaan kadar air yakni dengan menggunakan metode gravimetri. Metode gravimetri menggunakan prinsip penguapan air pada sampel dengan pemanasan suhu 105°C hingga berat konstan.

Berdasarkan hasil uji, diketahui kadar air fraksi etil asetat daun karamunting adalah 9,2%. Kadar air yang diperoleh memenuhi syarat kadar air yang baik untuk penyimpanan jangka panjang yaitu kurang dari 10% (21). Presentase kadar air

yang tinggi akan mempengaruhi pertumbuhan jamur, kapang/khamir, dan mikroorganisme lainnya yang dapat berpengaruh pada mutu dari sampel.

4.3.3 Susut Pengerinan

Menurut (23) susut pengerinan ditetapkan untuk menjaga kualitas simplisia karena berkaitan dengan kemungkinan pertumbuhan kapang atau jamur serta zat yang mudah menguap pada simplisia. Pemeriksaan susut pengerinan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal jumlah senyawa yang hilang pada saat proses pengerinan dengan suhu 105°C selama 30 menit hingga bobot konstan (21). Senyawa-senyawa yang hilang selama proses pengerinan akibat pemanasan antara lain, molekul air dan minyak atsiri.

Maka hasil uji susut pengerinan dari sampel menunjukkan persen kadar pelarut dan air dalam sampel yang menguap setelah dipanaskan pada suhu 105°C. Berdasarkan pemeriksaan susut pengerinan pada fraksi etil asetat daun karamunting yang telah dilakukan, maka dapat diketahui bahwa persentase hasilnya yakni 8,7%. Nilai tersebut memenuhi persyaratan uji susut pengerinan yaitu kurang dari 11% (21).

4.3.4 Kadar Abu Total Dan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Pemeriksaan kadar abu pada suatu bahan baku obat tradisional memiliki peranan yang sangat penting yakni pada tingkat keamanannya sebagai bahan baku obat tradisional. Tujuan dilakukannya pengujian kadar abu yaitu untuk memberikan gambaran mengenai kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak (21). Menurut (23) kadar abu merupakan uji kemurnian suatu sampel untuk menetapkan tingkat pengotoran oleh logam-logam dan silikat.

Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam merupakan salah satu evaluasi bahan baku obat sebelum dilakukan tahap berikutnya. Apabila telah diketahui hasil dari pengujian kadar abu total pada suatu bahan baku obat, maka dapat diketahui persentase kandungan senyawa anorganik. Senyawa anorganik tersebut berasal dari tanah dan air yang diserap oleh akar tumbuhan dan dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan atau organ tubuh (38).

Berdasarkan pemeriksaan yang telah dilakukan maka dapat diketahui bahwa kadar abu total pada fraksi etil asetat daun karamunting diperoleh sebesar 1%. Berdasarkan hasil uji tersebut menunjukkan bahwa kadar abu total fraksi etil asetat daun karamunting memenuhi persyaratan yaitu maksimal 16,6% (21). Hasil uji kadar abu tidak larut asam fraksi etil asetat daun karamunting sebesar 0,62% dan hasil tersebut sesuai dengan persyaratan kadar abu tidak larut asam <0,7% (Depkes RI, 2008). Faktor yang mempengaruhi hasil kadar abu yang tinggi yakni kurang bersih pada saat tahapan sortasi bahan simplisia. Oleh sebab itu tingginya kadar abu tak larut asam menunjukkan adanya kandungan silikat yang berasal dari tanah atau pasir, unsur logam perak, timbal dan merkuri.

4.3.5 Kadar Sari Larut Air Dan Kadar Sari Larut Etanol

Pengujian kadar sari dilakukan untuk mengetahui jumlah terendah bahan kimia kandungan simplisia yang terekstraksi pada pelarut tertentu. Oleh sebab itu penetapan kadar sari pada fraksi etil asetat daun karamunting sangat penting dilakukan guna mengetahui banyaknya kandungan senyawa aktif yang bersifat polar (larut dalam air) dan non polar (larut dalam etanol). Kadar sari merupakan salah satu bagian standarisasi sederhana senyawa bahan alam melalui proses ekstraksi. Pada bahan baku obat tradisional pelarut yang lazim digunakan untuk ekstraksi adalah air dan etanol (23).

Pengujian kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol dilakukan dengan memaserasi fraksi kental dengan pelarut air-kloroform serta pelarut etanol selama 24 jam. Dilakukan penambahan kloroform pada uji kadar senyawa larut dalam air bertujuan sebagai pengawet, dikarenakan air merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Berdasarkan hasil pengujian, kadar senyawa larut dalam air diperoleh sebesar 53,33% dan kadar senyawa larut dalam etanol sebesar 73,33%. Hasil uji tersebut memenuhi persyaratan yakni lebih dari 31% dan lebih dari 70,5% (21). Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa senyawa dari daun karamunting lebih banyak terlarut dalam etanol dibandingkan dalam air. Hal ini menunjukkan senyawa non polar yang terkandung dalam daun angka lebih banyak dibandingkan dengan senyawa polar.

4.3.6 Uji Cemar Mikroba

Pengujian cemaran mikroba bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba non patogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh pada stabilitas ekstrak dan berbahaya bagi kesehatan (21). Terdapat peraturan BPOM tentang persyaratan mutu obat tradisional yakni batas maksimum cemaran mikroba sebesar 1×10^4 cfu/g dan untuk cemaran kapang/khamir 1×10^3 cfu/g. Berdasarkan hasil pengujian menunjukkan tidak adanya cemaran mikroba pada fraksi etil asetat daun karamunting. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting tidak mengandung mikroba patogen dan non patogen, sehingga fraksi tersebut dapat digunakan sebagai bahan baku obat tradisional.

4.3.7 Uji Cemaran Logam

Pengujian cemaran logam berat bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, Cd, dan logam berat yang lainnya) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya bagi kesehatan (21). Oleh sebab itu pengujian cemaran logam pada standarisasi bahan baku obat tradisional sangat penting untuk dilakukan.

Pengujian kandungan logam pada fraksi etil asetat daun karamunting menggunakan alat spektroskopi serapan atom dengan menganalisa kandungan logam Pb dan Cd.

Berdasarkan hasil pengujian diperoleh cemaran logam Pb sebesar 10,8130 mg/Kg dan logam Cd sebesar 0,1658 mg/Kg. Berdasarkan hasil uji tersebut, fraksi etil asetat daun karamunting memenuhi persyaratan batas maksimum logam Cd yakni $\leq 0,3$ mg/Kg (21). Sedangkan untuk batas maksimum logam Pb, fraksi etil asetat daun karamunting tidak memenuhi syarat yakni ≤ 10 mg/Kg (21). Faktor-faktor yang mempengaruhi tingginya kadar logam berat yang terkandung dalam suatu bahan baku obat tradisional dapat disebabkan oleh adanya pencemar yang terdapat disekitar ekstrak, jenis tanaman lain yang memiliki kandungan logam berat, dan faktor lingkungan seperti suhu, udara, kelembapan udara, intensitas cahaya, serta kecepatan angin.

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan pada tahun pelaksanaan penelitian. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian luaran

Pada tahun ketiga luaran utama berupa produk bahan baku obat diare infeksi berupa fraksi n-heksan dan fraksi etilasetat dari ekstrak daun karamunting, bahan bahan obat diare telah dilakukan pengujian secara toksisitas akut dan sub kronis serta skrining fitokimianya, hasil pengujian sudah dilaporkan diatas. Telah dilakukan Uji coba produksi kapsul ekstrak daun karamunting untuk mengobati penyakit diare oleh PT MDS (MITRA DULUR SEJAHTERA).Bukti erlampir.

Luaran tambahan berupa seminar nasional.

Luaran tambahan pada tahun ketiga mengikuti seminar SICBAS di FMIPA unsri pada tanggal 2 November 2021

E. PERAN MITRA: Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (jika ada). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian mitra

Mitra kerjasama dalam penelitian ini adalah PT MDS (Mitra Dulur Sejahtera), PT MDS bergerak dalam memproduksi obat herbal yang ada di Sumatera selatan. Hasil penelitian ini telah di uji coba produksi di PT MDS. Proses produksi terlampir.

PT MDS (MITRA DULUR SEJAHTERA)

Alamat: PT MDS, Jalan Sukarno Hatta, 5 Ilir, Palembang 30115, Sumatra Selatan, Indonesia.

F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Tidak ada kendala dalam penelitian ini

G. RENCANA TINDAK LANJUT PENELITIAN: Tuliskan dan uraikan rencana tindak lanjut penelitian selanjutnya dengan melihat hasil penelitian yang telah diperoleh. Jika ada target yang belum diselesaikan pada akhir tahun pelaksanaan penelitian, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai tersebut.

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan akhir yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Organization for Economic Cooperation and Development. 2001., *OECD guideline for testing of chemicals. Test No. 420: Acute oral toxicity – fixed dose procedure*, OECD, Paris
2. Badan Pengawasan Obat dan Makanan R.I. 2014, *Lampiran Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor: 7 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vitro*, Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
3. Widyastuti, Santoso, L. M. & Riyanto, 2017. Pengaruh ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap penurunan kadar asam urat mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang diinduksi kalium bromat dan sumbangannya pada pembelajaran biologi SMA, *Jurnal Pembelajaran Biologi*, **4(1)**.
4. Hall, R. L., 1992. *Clinical pathology of laboratory animals*, In: J. M. Andress, *Animal Models in Toxicology*, Marcell Dekker Inc, New York.
5. Nagmoti, D.M., Yeshwante, S.B., Wankhede, S.S., dan Juvekar, A.R., 2010, Hepatoprotective Effect of Averrhoa Bilimbi Linn. Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatic Damage in Rats., *Pharmacologyonline*, **3:1-6**.
6. MFDU, 2006. *Pengaruh Ekstrak Daun Apium Graviolens Terhadap Perubahan SGOT dan SGPT Wistar*. UNDIP, Semarang, Indonesia.
7. Malole, M. B. M. & Pramono, C. S. U., 1989. *Pengantar hewan percobaan di laboratorium*, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor, Indonesia.
8. Levine, S. & Saltzman, A., 1999. Effect of coprophagy on serum urea and the weight of the gastrointestinal tract of fed or fasted rats. *J.Laboratory Animals*, **1(268):265-268**.
9. Kuncarli, I. & Djurnako, I., 2014. Uji toksisitas subkronis infusa daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada tikus: studi terhadap gambaran mikroskopis jantung dan kadar SGOT darah, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, **11(2):86-95**.
10. Solihah, I. 20018, 'Uji aktivitas hepatoprotektor ekstrak etanol biji petai (*Parkia speciosa* Hassk) pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi CCl₄', Skripsi, S.Farm, Farmasin, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia.
11. Mitruka, B. M. & Rawnsly, H. M., 1981. *Clinical, Biochemical, and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans*, 2nd edition, Year Book Medical Publisher, Inc. Chicago, USA.
12. Herawati, F., Fatimah, U., Helsy, P. & Andrajati, R., 2011. *Pedoman Interpretasi Data Klinik*, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia.
13. Bo, L. B. *et al.*, 2011. Safety evaluation of tea (*Camellia sinesis* (L.) O. Kuntze) flower extract: Assesment of mutagenicity, and acute and subchronic toxicity in rats. *Jurnal of Ethnopharmacology*, **1(133): 90-583**.
14. Kee, J. L., 2007. *Pedoman pemeriksaan laboratorium & diagnostik*, edisi 6, EGC Jakarta, Indonesia.
15. Robins & Kumar.2002, *Buku patofisiologi*, edisi II, EGC, Jakarta, Indonesia.
16. Linder, M., 1992. *Biokimia nutrisi dan metabolisme: dengan pemakaian secara klinis*, UI Press, Jakarta, Indonesia.
17. Mandrasari, S. M. W., Lisdiana & Setiati, N., 2014. Pemberian ekstrak benalu mangga terhadap perubahan hitologis hepar tikus yang diinduksi kodein. *Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education*, **6(4):104-110**.
18. Mulyono, A., Ristiyanto & Soesanti, N., 2009. Karakteristik histopatologi hepar tikus got *Rattus norvegicus* infeksi *Leptospira* sp.. *Jurnal Vektora*, **1(2):84-92**.
19. Nelly, Kusharyanti, I. & Mardhia, 2013. Efek nefroprotektif fraksi etil asetat daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diinduksi Cisplatin, *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, **3(1):1-24**.
20. Boron, W. F. & Boulpep, E. L., 2003. *Medical physiology*, Saunders, Philadelphia.
21. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000, *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, Indonesia.
22. Sapna, Soni., K. Avinash, T. Mukul, & Pathak A.K. 2008, Pharmacognostic and phytochemical investigation of stevia rebaudiana, *Pharmacognosy magazine*, **4**.
23. Soetarno, S. & Soediro I. S. 1997, *Standarisasi mutu simplisia dan ekstrak bahan obat tradisional*. Jurusan Farmasi FMIPA ITB, Bandung, Indonesia.
24. Husna, N.E. 2014, Leubiem fish (*canthidermis maculatus*) jerky with variation of production methods, type of sugas and drying methods, *Jurnal Teknologi dan industry pertanian Indonesia*, Universitas Syahkuala, Aceh, Indonesia.
25. Ridawati & Alsuhendra. 2013, *Bahan toksik dan makanan*, PT Remaja Rosdakarya offset, Bandung, Indonesia
26. Sinulingga, S. E., Hasibuan, P. A. Z., & Suryanto, D. 2018, Antibacterial activity of karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*

- (aiton) hassk) leaf extract and fractions. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **11(3)**: 163–165.
27. Marlina, S. D., & Saleh C. 2011, Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kasar etanol, fraksi n-heksana, etil asetat, dan metanol dari buah labu air (*Lagenaria Siceraria (Morlana)*), *J Kimia Mulawarman*, **8(2)**: 39-63.
 28. Latifah. 2015, Identifikasi golongan senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil), *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang, Indonesia.
 29. Sinulingga, S. E., Poppy, A. Z. H., Dwi, S. 2018, *Antibacterial Activity Of Karamunting (Rhodomyrtus Tomentosa (Aiton) Hassk) Leaf Extract And Fractions*, *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 11(3), 163-165.
 30. Monalisa, D., Handayani, T., & Sukmawati., D. 2011, *Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (Elephantopus scaber L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi*. *Jurnal BIOMA*, 9(2), 13-20.
 31. Ayu, A. P., Kiki. M., dan Esti, R. S. 2015, *Pengaruh Perbedaan Pelarut Ekstraksi terhadap Kadar Senyawa yang Berpotensi Memiliki Aktivitas dari Ekstrak Daun dan Buah Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) Hassk.)*, Universitas Islam Bandung, Bandung, Jawa Barat, Indonesia.
 32. Harborne, J.B. 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Moderen Menganalisa Tumbuhan*, ITB, Bandung, Indonesia.
 33. Cowan, M. 1998, *Plants Products as Antimicrobial Agents*, *Clinical Mikrobiology*, 4(12), 564-582.
 34. Sari, P. P., Rita, W. S., & Puspawati, N. M. 2011, *Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak daun Trembesi (Samanea saman (jacq.) Merr) sebagai Antibakteri Escherichia coli*, 27-34.
 35. Krisyanella., Dachriyanus., Marlina. 2011, *Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Serta Isolasi Senyawa Aktif Antibakteri dari Daun Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa (Ait.) Hassk)*, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat, Indonesia.
 36. Rahayu, P. W. 2000, *Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak*, Vol 11(2), *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*.
 37. Jawetz, E, Melnick, L.L, Adelburg, E. A. 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
 38. Sutomo., Arnida., Febri, H. M., Yuwono. 2010, *Kajian Farmakognostik Simplisia Daun Karamunting (Rhodomyrtus Tomentosa) Asal Pelayari Kalimantan Selatan*, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.

**PT. MITRA DULUR SEJAHTERA
PABRIK OBAT TRADISIONAL (HERBAL)**

JL. Soekarno Hatta No. 84 Kel. Bukit Baru Kec. Ilir Barat I Palembang 30131

Telp : 0711-443124

Mobile: 0815 40 000 250

Email : mds.herbal.id@gmail.com



PENINGKAPSULAN EKSTRAK DAUN KARAMUNTING

1. Prosedur Proses

1.1. Proses Ekstraksi

1. Menyiapkan peralatan ekstraksi dan memanaskan 40 L air.
2. Menimbang 4 kg bahan baku berupa daun karamunting kering.
3. Memasukkan bahan baku kedalam air yang sudah mendidih. Proses ekstraksi dilakukan selama 1 jam.
4. Ekstraksi selesai, output yang dihasilkan berupa produk ekstrak liquid. Selanjutnya dilakukan proses evaporasi

1.2. Proses Evaporasi

1. Menyiapkan peralatan evaporator vacuum.
2. Memasukkan ekstrak cair kedalam chamber, evaporasi dilakukan selama 7 jam.
3. Evaporasi selesai, output yang dihasilkan berupa produk padatan tidak seragam. Produk di keluarkan dari chamber untuk selanjutnya dihaluskan dan dilakukan grinding sebelum dikemas menggunakan kapsul.

1.3. Analisa Sampel

1.3.1. Pengujian Fitokimia

1.3.1.1. Identifikasi Alkaloid

500 mg sampel + 1 ml HCl 2N + 9 ml H₂O dipanaskan sampai larut kemudian dinginkan. Filtrate kemudian di tetesi pereaksi dragondrof. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga, sampel positif mengandung alkaloid.

1.3.1.2. Identifikasi Flavonoid

5 ml larutan sampel + 2 ml ethanol 95% + 500 mg Zinc + 2 ml HCl 2N. Tambahkan 10 tetes HCl pekat dan diamkan 5 menit. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga, sampel positif mengandung flavonoid.

1.3.1.3. Identifikasi Saponin

1 gr sampel dipanaskan dengan 10 ml air kemudian di gojok sampai terdapat buih. Tambah 1 ml HCl 2N, Jika buih tidak hilang maka sampel positif mengandung saponin.

1.3.1.4. Identifikasi Tanin

5 ml sampel di tetesi dengan pereaksi besi (III) klorida, jika terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman maka sampel positif mengandung tanin.

1.3.2. Identifikasi Saponin Metode TLC

1. Menimbang 0.25 gr sampel dan memasukkannya kedalam labu ukur 25 ml.
2. Menambahkan aquades sampai sepertiga volume labu ukur, kocok sampai larut.
3. Menyaring suspense yang dihasilkan.
4. Menotolkan filtrate ke lempeng TLC sebanyak 5 μ l.
5. Mengelusi lempeng tersebut dengan eluen $\text{CHCl}_3 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} : \text{C}_4\text{H}_8\text{O}$.
6. Menghitung nilai Rf yang dihasilkan.

Nilai Rf dapat ditentukan dari persamaan berikut :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

1.3.3. Pengujian Angka Lempeng Total

1. Timbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi berikut:
Ekstrak daging 3 gr
Peptone 5 gr
Agar 15 gr
Aquades 1000 ml
2. Larutkan agar dengan mengaduk secara konstan diatas hot plate stirrer (jangan sampai overheat, karena akan terbentuk busa dan memuai sehingga tumpah)
3. Larutkan peptone dan ekstrak daging, cukup dengan pengadukan sampai homogen.
4. Ukur pH media. Jika pH tidak netral maka dapat ditambahkan HCl/NaOH.
5. Tuang media steril ke cawan petri steril.
6. Aplikasikan sampel ke media dengan cara tanam sebar.

Nilai angka lempeng total dapat diperoleh dari persamaan berikut :

$$\text{CFU/ml} = \frac{\sum C}{n} \times d$$

Dimana :

- $\sum C$ jumlah koloni yang dihitung pada cawan
 n jumlah cawan yang digunakan pada pengenceran
 d jumlah sampel yang diinokulasi
CFU/ml satuan total mikroba yang tumbuh

1.3.4. Pengujian Kadar Air

1. Menimbang cawan porselen kosong sebagai a gr.
2. Memasukkan 2 gr sampel ke dalam cawan porselen, kemudian timbang sebagai b gr.
3. Masukkan kedalam oven 105°C selama 1 jam, dinginkan dalam desikator kemudian timbang sebagai c gr.
4. Selanjutnya dilakukan perhitungan total kadar air dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100 \%$$

2. Data Pengamatan

2.1. Batch I

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------------|----------|
| 246,9 | 219,38 | 11,17 | 0,53 | 7×10^{-4} | 0,98 |

2.2. Batch II

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 382,21 | 315,43 | 17,47 | - | - | - |

2.3. Batch III

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 263,18 | 205,05 | 22 | - | - | - |

2.4. Batch IV

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 256,22 | 217,29 | 15,19 | - | - | - |

3. Hasil Perhitungan

3.1. Total penyusutan

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{\text{berat sebelum dihaluskan} - \text{berat setelah dihaluskan}}{\text{berat sebelum dihaluskan}} \times 100 \%$$

3.1.1. Bahan Baku

Bahan baku yang diterima = 15 kg (keadaan lembab)

Setelah pengeringan = 13,5 kg

Total penyusutan = 15 kg – 13,5 kg

= 2,5 kg

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(15 - 13,5) \text{ kg}}{15 \text{ kg}} \times 100 \%$$

= 16,6 %

3.1.2. Batch I

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(246,98 - 219,38) \text{ gr}}{246,98 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 11,17 %

3.1.3. Batch II

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(382,21 - 315,43) \text{ gr}}{382,21 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 17,47 %

3.1.4. Batch III

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(263,18 - 205,05) \text{ gr}}{263,18 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 22 %

3.1.5. Batch IV

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(256,22 - 217,29) \text{ gr}}{256,22 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 15,19 %

3.2. Identifikasi Saponin

3.2.1. Penentuan Rf larutan baku sampel 100 ppm

$$R_f = \frac{4,8 \text{ cm}}{5 \text{ cm}}$$

= 0,96

3.2.2. Penentuan Rf larutan sampel

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{4,9 \text{ cm}}{5 \text{ cm}} \\ &= 0,98 \end{aligned}$$

3.3. Angka Lempeng Total

$$\begin{aligned} \text{CFU/ml} &= \frac{7+5+9}{3} \times 10^{-4} \\ &= 7 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

3.4. Kadar Air

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar Air} &= \frac{45,20-44,13}{(45,20 - 43,20) \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 0,53 \% \end{aligned}$$

Nilai persentase kadar air ini sangat berpengaruh terhadap ketahanan kapsul. Semakin tinggi kadar air maka keadaan serbuk dalam kapsul akan semakin lembab dan dapat menyebabkan kerusakan, penurunan kualitas, memicu adanya pertumbuhan jamur yang dapat merusak fungsi dari serbuk tersebut. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, kadar air dari sediaan serbuk dalam kapsul tersebut hanya 0,53 %.

Produksi



Didik Agustami

Palembang, 05 November 2021

Dibuat Oleh,
Quality Control



Tria Nur Jannah, A.Md.T.

Mengetahui,
Direktur Utama



Wiratama Endika SID



FOTO-FOTO PROSES PRODUKSI KAPSUL EKSTRAK KARAMUNTING



Simplisia daun karamunting



Proses penimbangan simplisia



Input ke ekstraktor



Ouput dari ekstraktor



Filtrasi ekstrak



Input ke evaporator



Ouput evaporator



Ekstrak bath 1



Ektrak bath 2



Ekstrak bath 3



Uji kadar air



Grinding



pengkapsulan



Uji fitokimia



Produk kapsul ekstrak karamunting



Kapsul ekstrak karamunting



Dokumen pendukung luaran Wajib #1

Luaran dijanjikan: Dokumentasi hasil uji coba produk

Target: Ada

Dicapai: Tersedia

Dokumen wajib diunggah:

1. Dokumentasi (foto) Pengujian Produk
2. Dokumen Deskripsi dan Spesifikasi Produk
3. Dokumen Hasil Uji Coba Produk

Dokumen sudah diunggah:

1. Dokumen Deskripsi dan Spesifikasi Produk
2. Dokumen Hasil Uji Coba Produk
3. Dokumentasi (foto) Pengujian Produk

Dokumen belum diunggah:

- Sudah lengkap

Nama Produk: Ekstrak karamunting

Tgl. Pengujian: 1 November 2021

Link Dokumentasi: <https://drive.google.com/file/d/1c-T10PMDO83sCSWFQ2VER80ezQISM0Rp/view?usp=sharing>

DESKRIPSI DAN SPESIFIKASI

Produk yang dihasilkan dari penelitian adalah bahan baku obat diare infeksi dari daun karamunting, khususnya untuk penyakit salmonellosis yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* dan disentri yang disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*, Pada tahun pertama diperoleh produk bahan bioaktif berupa ekstrak n-heksan dan etilasetat dari daun karamunting yang aktif terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhi* secara in vitro. Dari ekstrak n-heksana telah diisolasi senyawa antibakteri N1 berupa essential oil, N2 senyawa antibiotika baru dan N3 senyawa Rhodomyrtoson D. Dari ekstrak etilasetat diisolasi senyawa E1 berupa essential oil, E2 senyawa rhodomyrtone dan E3. Hasil penelitian pada tahun kedua diperoleh bahan bioaktif berupa ekstrak n-heksan dan etilasetat dapat menyembuhkan infeksi diare pada tikus percobaan yang disebabkan bakteri *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhi* secara in vivo. Hasil penelitian ini telah terbit di jurnal internasional Malaysia Journal of Fundamental and Applied Science. Vol. 15, No. 5 (2019) 671-674. Dengan judul "Evaluation on antibacterial activity of Karamunting leaf extract (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait) Hassk) with various solvents to *Shigella dysenteriae* and *Salmonella typhi*"

Luaran utama penelitian tahun kedua adalah dokumen feasibility produk (pendaftaran paten sudah dilaksanakan) sedangkan luaran tambahan adalah artikel ilmiah pada jurnal internasional dimuat pada jurnal molekul 3(15): 160-167 dengan judul Antibacterial activity of essential oil from Rosemyrtle leaves (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait) Hassk). Pada tahun ketiga luaran utama berupa produk dan luaran tambahan seminar nasional diganti dengan artikel ilmiah di jurnal internasional sudah submitted di Journal of Applied Biology & Biotechnology (Q4). Luaran utama tahun ke tiga berupa uji coba produksi dengan mitra. PT. MITRA DULUR SEJAHTERA, PABRIK OBAT TRADISIONAL (HERBAL), JL. Soekarno Hatta No. 84 Kel. Bukit Baru Kec. Ilir Barat I Palembang

Deskripsi dan spesifikasi produk

KAPSUL

EKSTRAK KARAMUNTING

Terapi diare infeksi, demam tipoid, disentri dan meningkatkan imunitas serta mencegah penyakit degeneratif
Isi 30 kapsul 500 mg
POM TR XXX XXX XXXX

Kasiat :

Ekstrak daun karamunting mengandung senyawa Flavonoid, polifenol, terpenoid dan tanin, Berkasiat untuk diare infeksi, demam tipoid, disentri dan meningkatkan imunitas serta mencegah penyakit degeneratif

Komposisi :

Ekstrak daun Karamunting 500 mg
(*Rhodomyrtus tomentosa*)

Dosis :

Dewasa : 1-2 kapsul / hari

Hasil penelitian Dr. Salni, M.Si



Khasiat :
 Ekstrak daun Karamunting mengandung senyawa Flavonoid, Polifenol, Terpenoid dan Tanin Berkasiat untuk Diare Infeksi, Tipoid, disentri, Meningkatkan Imunitas, dan Mencegah Penyakit Degeneratif

Hasil penelitian Dr. Salmi, M.Si

KAPSUL EKSTRAK KARAMUNTING

Terapi diare infeksi, demam tipoid
disentri dan meningkatkan imunitas

Isi 30 Kapsul @500mg
POM TR XXX XXX XXXX

Komposisi:
 Ekstrak daun Karamunting 500 mg
 (Rhodomyrtus tomentosa)

Dosis :
 Dewasa : 1-2 kapsul / hari

Produksi
 PT. Mds Herbal
 Palembang - Indonesia

No. Batch : _____

Expired : _____



PT. MITRA DULUR SEJAHTERA
PABRIK OBAT TRADISIONAL (HERBAL)

JL. Soekarno Hatta No. 84 Kel. Bukit Baru Kec. Ilir Barat I Palembang 30131

Telp : 0711-443124

Mobile: 0815 40 000 250

Email : mds.herbal.id@gmail.com



PENINGKAPSULAN EKSTRAK DAUN KARAMUNTING

1. Prosedur Proses

1.1. Proses Ekstraksi

1. Menyiapkan peralatan ekstraksi dan memanaskan 40 L air.
2. Menimbang 4 kg bahan baku berupa daun karamunting kering.
3. Memasukkan bahan baku kedalam air yang sudah mendidih. Proses ekstraksi dilakukan selama 1 jam.
4. Ekstraksi selesai, output yang dihasilkan berupa produk ekstrak liquid. Selanjutnya dilakukan proses evaporasi

1.2. Proses Evaporasi

1. Menyiapkan peralatan evaporator vacuum.
2. Memasukkan ekstrak cair kedalam chamber, evaporasi dilakukan selama 7 jam.
3. Evaporasi selesai, output yang dihasilkan berupa produk padatan tidak seragam. Produk di keluarkan dari chamber untuk selanjutnya dihaluskan dan dilakukan grinding sebelum dikemas menggunakan kapsul.

1.3. Analisa Sampel

1.3.1. Pengujian Fitokimia

1.3.1.1. Identifikasi Alkaloid

500 mg sampel + 1 ml HCl 2N + 9 ml H₂O dipanaskan sampai larut kemudian dinginkan. Filtrate kemudian di tetesi pereaksi dragondrof. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga, sampel positif mengandung alkaloid.

1.3.1.2. Identifikasi Flavonoid

5 ml larutan sampel + 2 ml ethanol 95% + 500 mg Zinc + 2 ml HCl 2N. Tambahkan 10 tetes HCl pekat dan diamkan 5 menit. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga, sampel positif mengandung flavonoid.

1.3.1.3. Identifikasi Saponin

1 gr sampel dipanaskan dengan 10 ml air kemudian di gojok sampai terdapat buih. Tambah 1 ml HCl 2N, Jika buih tidak hilang maka sampel positif mengandung saponin.

1.3.1.4. Identifikasi Tanin

5 ml sampel di tetesi dengan pereaksi besi (III) klorida, jika terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman maka sampel positif mengandung tanin.

1.3.2. Identifikasi Saponin Metode TLC

1. Menimbang 0.25 gr sampel dan memasukkannya kedalam labu ukur 25 ml.
2. Menambahkan aquades sampai sepertiga volume labu ukur, kocok sampai larut.
3. Menyaring suspense yang dihasilkan.
4. Menotolkan filtrate ke lempeng TLC sebanyak 5 μ l.
5. Mengelusi lempeng tersebut dengan eluen $\text{CHCl}_3 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} : \text{C}_4\text{H}_8\text{O}$.
6. Menghitung nilai Rf yang dihasilkan.

Nilai Rf dapat ditentukan dari persamaan berikut :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

1.3.3. Pengujian Angka Lempeng Total

1. Timbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi berikut:
Ekstrak daging 3 gr
Peptone 5 gr
Agar 15 gr
Aquades 1000 ml
2. Larutkan agar dengan mengaduk secara konstan diatas hot plate stirrer (jangan sampai overheat, karena akan terbentuk busa dan memuai sehingga tumpah)
3. Larutkan peptone dan ekstrak daging, cukup dengan pengadukan sampai homogen.
4. Ukur pH media. Jika pH tidak netral maka dapat ditambahkan HCl/NaOH.
5. Tuang media steril ke cawan petri steril.
6. Aplikasikan sampel ke media dengan cara tanam sebar.

Nilai angka lempeng total dapat diperoleh dari persamaan berikut :

$$\text{CFU/ml} = \frac{\sum C}{n} \times d$$

Dimana :

$\sum C$ jumlah koloni yang dihitung pada cawan

n jumlah cawan yang digunakan pada pengenceran

d jumlah sampel yang diinokulasi

CFU/ml satuan total mikroba yang tumbuh

1.3.4. Pengujian Kadar Air

1. Menimbang cawan porselen kosong sebagai a gr.
2. Memasukkan 2 gr sampel ke dalam cawan porselen, kemudian timbang sebagai b gr.
3. Masukkan kedalam oven 105°C selama 1 jam, dinginkan dalam desikator kemudian timbang sebagai c gr.
4. Selanjutnya dilakukan perhitungan total kadar air dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100 \%$$

2. Data Pengamatan

2.1. Batch I

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------------|----------|
| 246,9 | 219,38 | 11,17 | 0,53 | 7×10^{-4} | 0,98 |

2.2. Batch II

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 382,21 | 315,43 | 17,47 | - | - | - |

2.3. Batch III

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 263,18 | 205,05 | 22 | - | - | - |

2.4. Batch IV

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 256,22 | 217,29 | 15,19 | - | - | - |

3. Hasil Perhitungan

3.1. Total penyusutan

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{\text{berat sebelum dihaluskan} - \text{berat setelah dihaluskan}}{\text{berat sebelum dihaluskan}} \times 100 \%$$

3.1.1. Bahan Baku

Bahan baku yang diterima = 15 kg (keadaan lembab)

Setelah pengeringan = 13,5 kg

Total penyusutan = 15 kg – 13,5 kg

= 2,5 kg

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(15 - 13,5) \text{ kg}}{15 \text{ kg}} \times 100 \%$$

= 16,6 %

3.1.2. Batch I

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(246,98 - 219,38) \text{ gr}}{246,98 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 11,17 %

3.1.3. Batch II

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(382,21 - 315,43) \text{ gr}}{382,21 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 17,47 %

3.1.4. Batch III

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(263,18 - 205,05) \text{ gr}}{263,18 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 22 %

3.1.5. Batch IV

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(256,22 - 217,29) \text{ gr}}{256,22 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 15,19 %

3.2. Identifikasi Saponin

3.2.1. Penentuan Rf larutan baku sampel 100 ppm

$$R_f = \frac{4,8 \text{ cm}}{5 \text{ cm}}$$

= 0,96

3.2.2. Penentuan Rf larutan sampel

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{4,9 \text{ cm}}{5 \text{ cm}} \\ &= 0,98 \end{aligned}$$

3.3. Angka Lempeng Total

$$\begin{aligned} \text{CFU/ml} &= \frac{7+5+9}{3} \times 10^{-4} \\ &= 7 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

3.4. Kadar Air

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar Air} &= \frac{45,20-44,13}{(45,20 - 43,20) \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 0,53 \% \end{aligned}$$

Nilai persentase kadar air ini sangat berpengaruh terhadap ketahanan kapsul. Semakin tinggi kadar air maka keadaan serbuk dalam kapsul akan semakin lembab dan dapat menyebabkan kerusakan, penurunan kualitas, memicu adanya pertumbuhan jamur yang dapat merusak fungsi dari serbuk tersebut. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, kadar air dari sediaan serbuk dalam kapsul tersebut hanya 0,53 %.

Produksi



Didik Agustami

Palembang, 05 November 2021

Dibuat Oleh,
Quality Control



Tria Nur Jannah, A.Md.T.

Mengetahui,
Direktur Utama



Wiratama Endika SID

HASIL UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUB KRONIK BAHAN BAKU PRODUK

I. HASIL UJI TOKSISITAS AKUT MENGGUNAKAN METODE *FIXED DOSE*

PROSEDUR PENGUJIAN UJI TOKSISITAS AKUT

Sebelum dilakukan prosedur pengujian, hewan uji harus diaklimatisasi selama 7 hari. Selama masa aklimatisasi hewan uji diberi minum dan pakan standar. Sebelum diberi perlakuan hewan uji dipuasakan dahulu selama 14-18 jam, namun air minum boleh diberikan.

1. Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan, jumlah hewan uji yang digunakan masing-masing 1 ekor untuk tiap tingkatan dosis. Dosis yang digunakan dapat dipilih dari tingkatan *fixed dose*: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB. Pengujian kali ini dosis awal yang digunakan adalah 5 mg/kgBB (1). Pada uji pendahuluan digunakan 2 ekor tikus, 1 ekor tikus sebagai kontrol normal yang diberi akuades dan tikus lainnya diberi sediaan uji dosis tunggal 5 mg/kgBB menggunakan oral sonde. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 5 mg/kgBB. Namun jika tidak terjadi kematian ataupun kemunculan gejala toksik pada hewan uji, maka uji pendahuluan dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 50 mg/kgBB. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 50 mg/kgBB. Namun jika pada dosis 50 mg/kgBB tidak menghasilkan kematian dan gejala toksik pada hewan uji maka dosis awal dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 300 mg/kgBB. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 300 mg/kgBB. Namun jika pada dosis 300 mg/kgBB tidak menghasilkan kematian dan gejala toksik pada hewan uji maka dosis awal dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 2000 mg/kgBB. Pengamatan secara rutin dilakukan pada 4 jam pertama setelah pemberian dosis selama 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap ada tidaknya kematian ataupun gejala toksik yang muncul dari hewan uji. Interval waktu pengamatan minimal 24 jam pada setiap dosis.

2. Uji Utama

Sebelum diberi perlakuan hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari. Hewan uji dipuasakan selama 14-18 jam, namun air minum boleh diberikan. Setelah dipuasakan, hewan ditimbang dan diberikan sediaan uji dalam dosis tunggal secara oral menggunakan sonde. Setelah diberikan perlakuan, pakan boleh diberikan kembali setelah 3-4 jam (2). Dosis awal yang dipilih untuk uji utama ditentukan dari hasil yang diperoleh pada uji pendahuluan. Pada uji utama ini hewan uji dilebihkan 1 ekor pada tiap kelompok untuk mencegah kekurangan sampel jika terjadi kematian atau hilangnya hewan uji pada saat penelitian. Sehingga hewan uji yang digunakan pada uji utama sebanyak 5 ekor setiap kelompok. Kelima ekor hewan uji tersebut terdiri dari 1 ekor hewan dari uji pendahuluan dan 4 ekor hewan tambahan. (2). Jika pada uji pendahuluan tidak ada kematian pada tingkat dosis 2000 mg/kgBB maka tidak perlu diberikan dosis melampaui 2000 mg/kgBB. Pengamatan secara rutin dilakukan pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji dan secara periodik setiap 4 jam selama 24 jam pertama kemudian sehari sekali selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan meliputi ada tidaknya kematian ataupun gejala toksik yang ditunjukkan oleh hewan uji (2).

Tabell. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus)

| Dosis (mg/kgBB) | Kematian | Kategori |
|--------------------|--|-------------------------|
| 5 | ≥2 dari 5 ekor mati | 1 |
| 5 | ≥1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 2 |
| 50 | ≥2 dari 5 ekor mati | |
| 50 | ≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 3 |
| 300 | ≥2 dari 5 ekor mati | |
| 300 | ≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau < 1 mati | 4 |
| 2000 | ≥2 dari 5 ekor mati | |
| 2000 | ≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 5 |
| | Tidak ada gejala toksisitas | 5 / <i>unclassified</i> |

(Keterangan: 1. Sangat toksik; 2. Toksik; 3. Toksik sedang; 4 Toksik ringan; 5. Praktis tidak toksik) (sumber: OECD, 2001)

3. Pengamatan

Hal-hal yang harus diamati dalam periode observasi yaitu jumlah hewan yang mengalami gejala toksik, seperti perubahan tingkah laku hewan (jalan mundur, jalan menggunakan perut, tremor, diare, dan salivasi.), serta jumlah hewan yang mati selama uji. Berat badan masing-masing hewan uji harus dicatat pada saat sebelum diberikan sediaan uji dan 2 minggu setelahnya. Pada akhir penelitian, hewan yang masih bertahan hidup ditimbang dan kemudian dikorbankan. Seluruh hewan (termasuk yang mati selama penelitian maupun yang dikorbankan) harus dinekropsi. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap makroskopik organ berupa perubahan bentuk, warna, dan bobot organ (khususnya organ hati, ginjal, dan jantung). Selain itu dilakukan juga pengukuran kadar parameter biokimia berupa SGOT, SGPT, kreatinin dan ureum pada darah hewan uji.

4. Penetapan Kadar biokimia

Pemeriksaan kadar biokimia dilakukan dengan menggunakan alat Biosystem A15 di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang. Pengambilan sampel darah hewan uji dilakukan dengan metode plexus retro-orbital dari vena bagian mata. Darah ditampung ke dalam tabung *vacutainer* non-EDTA. Darah disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 5000 rpm. Serum yang terpisah dimasukkan ke dalam kuvet yang telah disiapkan menggunakan mikropipet. Tiap kadar parameter biokimia (SGOT, SGPT, Kreatinin, Ureum) dihitung menggunakan A15 Analyzer. Pengoperasian A15 Analyzer menggunakan komputer.

Tabel 2. Reagen Penetapan Kadar SGOT, SGPT, Ureum, dan Kreatinin

| Kadar | Reagen 1 (R ₁) | Reagen 2 (R ₂) |
|-----------------|---|--|
| SGOT (4:1) | Tris 121 mmol/L, L-aspartate 362 mmol/L, Malate dehydrogenase >460 U/L, Lactate dehydrogenase >660 U/L, pH 7,8 | NADH 1,9 mmol/L, 2-Oxoglutarate 75 mmol/L, Sodium hydroxide 148 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| SGPT (4:1) | Tris 150 mmol/L, L-alanin 750 mmol/L, Lactate dehydrogenase >1350 U/L, pH 7,3 | NADH 1,9 mmol/L, 2-Oxoglutarate 75 mmol/L, Sodium hydroxide 148 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| Urea (4:1) | Tris 100 mmol/L, 2-Oxoglutarate 5,6 mmol/L, Urease >140 U/mL, Glutamate dehydrogenase >140 U/mL, Etileneglicol 220 g/L, Sodium azide 0,95, pH 7,3 | NADH 1,5 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| Kreatinin (1:1) | NaOH 0,4 mol/L, Detergent | Picric acid 25 mmol/L |

Prosedur pengoperasian dimulai dengan membuka aplikasi A15 Analyzer. Sampel dibedakan dengan menggunakan "kode sampel". Klik indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang akan dihitung. Klik posisi untuk menentukan posisi kuvet pada rak A15 Analyzer. Masukkan kuvet yang berisi serum ke dalam rak A15 Analyzer. Kemudian klik *accept* dan *continue*. A15 Analyzer secara otomatis mengambil sampel serum di dalam kuvet dan reagen dari indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang akan dihitung. Kemudian secara otomatis alat akan menghitung konsentrasi dari indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang dihitung. Hasil pengukuran akan tampil dilayar monitor (3).

5. Analisis Data

Analisis data penelitian diproses dengan aplikasi pengolah data SPSS. Hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas (*Normality Test*). Untuk mengetahui adanya perbedaan berat badan, kadar SGOT, SGPT, kreatinin, dan kadar ureum hewan uji pada saat sebelum dan sesudah perlakuan, data berat badan hewan uji yang diperoleh dianalisis dengan uji T berpasangan (*Paired T-test*). Untuk data bobot organ dan juga kadar SGOT, SGPT, kreatinin, serta kadar ureum dilakukan uji T independen (*Independent T-test*), analisis ini dilakukan untuk membandingkan 2 kelompok perlakuan yang berbeda.

HASIL UJI TOKSISITAS AKUT

1. Berat Badan Tikus Tabel 3. Bobot tikus

| Kelompok | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| kontrol | 246,75 | 246,01 | 246,15 | 245,53 | 245,76 | 245,92 | 245,04 | 245,45 | 245,73 | 244,97 | 245,06 | 245,22 | 245,51 | 245,67 | 245,72 |
| | 208,22 | 208,63 | 208,81 | 208,93 | 209,32 | 209,96 | 210 | 210,22 | 210,54 | 210,99 | 211,26 | 211,74 | 212,05 | 212,22 | 212,56 |
| | 219,63 | 220,06 | 220,25 | 221,68 | 221,9 | 222,49 | 223,09 | 223,63 | 224,14 | 224,83 | 225,08 | 225,19 | 225,22 | 225,32 | 225,62 |
| | 234,7 | 234,98 | 234,21 | 234,38 | 233,45 | 233,81 | 233,77 | 232,92 | 232,13 | 232,37 | 232,58 | 232,7 | 232,92 | 233,17 | 233,25 |
| | 230,07 | 230,73 | 231,24 | 231,6 | 231,74 | 232,4 | 233,36 | 234,82 | 235,13 | 235,94 | 236,4 | 237,02 | 237,79 | 238,91 | 239,52 |
| Rata-rata±sd | 227,87 ±14,68 | 228,08 ±14,31 | 228,13 ±14,20 | 228,42 ±13,82 | 228,43 ±13,64 | 228,92 ±13,47 | 229,05 ±13,18 | 229,41 ±13,23 | 229,53 ±13,14 | 229,82 ±12,78 | 230,08 ±12,75 | 230,37 ±12,69 | 230,70 ±12,77 | 231,06 ±12,92 | 231,33 ±12,87 |
| | 209,65 | 208,06 | 207,98 | 207,17 | 207,76 | 207,98 | 208,04 | 208,87 | 207,23 | 207,72 | 207,58 | 207,75 | 207,09 | 207,9 | 208,1 |
| | 230,29 | 231,63 | 232,02 | 232,22 | 233,38 | 234,28 | 235,25 | 236,57 | 237,71 | 238,14 | 238,96 | 239,42 | 239,95 | 240,35 | 240,69 |
| | 240,79 | 241,12 | 241,19 | 241,48 | 241,96 | 242,67 | 242,47 | 242,62 | 242,43 | 243,24 | 243,51 | 243,78 | 243,96 | 244,01 | 244,27 |
| | 210,7 | 211,34 | 211,91 | 212,34 | 213 | 213,75 | 214,03 | 214,76 | 215,46 | 215,8 | 216,54 | 216,83 | 216,98 | 217,17 | 217,38 |
| | 202,38 | 202,88 | 203,45 | 204,16 | 205,01 | 205,79 | 207,44 | 207,82 | 208,03 | 208,15 | 208,21 | 208,51 | 208,97 | 209,04 | 209,37 |
| Rata-rata±sd | 218,76 ±16,08 | 219,01 ±16,49 | 219,31 ±16,39 | 219,47 ±16,46 | 220,22 ±16,47 | 220,89 ±16,58 | 221,45 ±16,31 | 222,13 ±16,30 | 222,17 ±16,73 | 222,61 ±16,91 | 222,96 ±17,13 | 223,26 ±17,19 | 223,39 ±17,41 | 223,69 ±17,30 | 223,96 ±17,32 |

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| BB sebelum | Kontrol | .159 | 5 | .200* | .992 | 5 | .987 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .292 | 5 | .190 | .900 | 5 | .409 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| BB sesudah | Kontrol | .159 | 5 | .200* | .973 | 5 | .894 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .248 | 5 | .200* | .832 | 5 | .144 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Paired Samples Test

| | Paired Differences | | | | | | | |
|--|--------------------|----------------|-----------------|---|---------|-------|----|-----------------|
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | t | df | Sig. (2-tailed) |
| | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 kontrol BB sebelum - kontrol BB sesudah | -3.46000 | 4.67235 | 2.08954 | -9.26149 | 2.34149 | 1.656 | 4 | .173 |
| Pair 2 Dosis BB sebelum - Dosis BB sesudah | -5.20000 | 4.49876 | 2.01191 | -10.78595 | .38595 | 2.585 | 4 | .061 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan bobot tikus.

2. Gejala Klinis dan Kematian Hewan Uji

a. uji pendahuluan

Tabel 4. Gejala klinis dan kematian hewan uji

| Kelompok | Jumlah Tikus | Gejala Klinis | | | | | Kematian hewan uji |
|---------------------|--------------|---------------|---|---|---|---|--------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Kontrol | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 5 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 50 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 300 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 2000 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |

b uji utama

Tabel 5. Gejala klinis dan kematian hewan uji selama 14 hari pengamatan

| Kelompok | Tikus | Gejala Klinis | | | | | Kematian hewan uji |
|---------------------|-------|---------------|---|---|---|---|--------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Kontrol | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 2000 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |

Keterangan : 1. Salivasi; 2. Diare; 3. Jalan menggunakan perut; 4. Jalan mundur; dan 5. Tremor (-) tidak menunjukkan gejala atau kematian hewan uji

3. Kadar Biokimia Tikus

3.1 SGOT

a. Data kadar SGOT

Tabel 6. Kadar SGOT tikus

| Tikus | SGOT Kontrol | | SGOT Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|--------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 197.0 | 165.0 | 209.0 | 249.0 |
| 2 | 191.0 | 219.0 | 186.0 | 163.0 |
| 3 | 221.0 | 168.0 | 179.0 | 166.0 |
| 4 | 233.0 | 173.0 | 227.0 | 202.0 |
| 5 | 215.0 | 244.0 | 185.0 | 148.0 |
| Rata-rata±sd | 211.40±17.29 | 193,80±35.65 | 197.20±20.20 | 185,60±40.61 |

Kesimpulan : berdasarkan tabel, kadar masih dalam batas normal. Kadar normal SGOT tikus jantan menurut (4) adalah 60-300 U/L.

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGOT sebelum Kontrol | .198 | 5 | .200* | .951 | 5 | .742 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .242 | 4 | . | .937 | 4 | .635 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGOT sebelum | Equal variances assumed | | .312 | .592 | 1.194 | 8 | .267 | 14.20000 | 11.89117 |
| | Equal variances not assumed | | | | 1.194 | 7.813 | .267 | 14.20000 | 11.89117 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sebelum perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

| Tests of Normality | | | | | | | |
|--------------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | Kelompok | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGOT sesudah | Kontrol | .320 | 5 | .103 | .827 | 5 | .131 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .285 | 5 | .200* | .888 | 5 | .347 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGOT sesudah | Equal variances assumed | | .030 | .866 | .339 | 8 | .743 | 8.20000 | 24.16609 |
| | Equal variances not assumed | | | | .339 | 7.868 | .743 | 8.20000 | 24.16609 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar SGOT.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | t | Df | Sig. (2-tailed) |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|----------|------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | | | |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Kontrol SGOT sebelum - Kontrol SGOT sesudah | 1.76000E1 | 43.32782 | 19.37679 | -36.19859 | 71.39859 | .908 | 4 | .415 |
| Pair 2 | Dosis SGOT sebelum - Dosis SGOT sesudah | 1.16000E1 | 30.07989 | 13.45214 | -25.74912 | 48.94912 | .862 | 4 | .437 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar SGOT.

3.2 SGPT

a. Data kadar SGPT

Tabel 7. Kadar SGPT tikus

| Tikus | SGPT Kontrol | | SGPT Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|--------------|-------------|-------------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 83.0 | 86.0 | 71.0 | 113.0 |
| 2 | 71.0 | 76.0 | 82.0 | 77.0 |
| 3 | 72.0 | 80.0 | 68.0 | 79.0 |
| 4 | 80.0 | 77.0 | 73.0 | 72.0 |
| 5 | 69.0 | 101.0 | 67.0 | 84.0 |
| Rata-rata±sd | 75.00±6.12 | 84.00±10.27 | 72.20±5.97 | 85.00±16.23 |

Menurut Nagmoti *et al.* (5) batas kadar normal SGPT untuk tikus putih yaitu 65,12–111,50 U/L. kadar SGPT dari tikus ke 1 setelah pemberian sediaan uji berada diatas batas normal kadar SGPT tikus, namun peningkatan kadar tidak sampai 2 kali lipat dari sebelumnya. Kenaikan kadar SGOT maupun SGPT hingga 2-4 kali dari nilai normal baru menunjukkan terjadinya kerusakan ringan (6).

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| SGPT sebelum Kontrol | .288 | 5 | .200* | .878 | 5 | .301 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .247 | 5 | .200* | .875 | 5 | .286 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGPT sebelum | Equal variances assumed | | .272 | .616 | .732 | 8 | .485 | 2.80000 | 3.82623 |
| | Equal variances not assumed | | | | .732 | 7.995 | .485 | 2.80000 | 3.82623 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Kelompok | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGPT sesudah | Kontrol | .252 | 5 | .200* | .836 | 5 | .155 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .325 | 5 | .092 | .795 | 5 | .073 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGPT sesudah | Equal variances assumed | | .463 | .515 | -.116 | 8 | .910 | -1.00000 | 8.59069 |
| | Equal variances not assumed | | | | -.116 | 6.761 | .911 | -1.00000 | 8.59069 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar SGPT.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|----------|--------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | | | |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Kontrol SGPT sebelum - Kontrol SGPT sesudah | -9.00000 | 13.47219 | 6.02495 | -25.72794 | 7.72794 | -1.494 | 4 | .210 |
| Pair 2 | Dosis SGPT sebelum - Dosis SGPT sesudah | -1.28000E1 | 18.57956 | 8.30903 | -35.86957 | 10.26957 | -1.540 | 4 | .198 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar SGPT.

3.3 Kreatinin

a. Data kadar kreatinin

Tabel 8. Kadar Kreatinin tikus

| Tikus | Kreatinin Kontrol | | Kreatinin Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|-------------------|-----------|------------------------------|-----------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 0.47 | 0.31 | 0.4 | 0.49 |
| 2 | 0.45 | 0.49 | 0.44 | 0.52 |
| 3 | 0.58 | 0.35 | 0.33 | 0.44 |
| 4 | 0.69 | 0.34 | 0.54 | 0.41 |
| 5 | 0.26 | 0.49 | 0.27 | 0.28 |
| Rata-rata±sd | 0.49±0.16 | 0.40±0.09 | 0.40±0.10 | 0.43±0.09 |

Kesimpulan : berdasarkan tabel, kadar masih dalam batas normal. Rentang normal kreatinin pada tikus wistar yaitu 0,2-0,8 mg/dL (7).

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| | Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Kreatinin sebelum | Kontrol | .202 | 5 | .200* | .977 | 5 | .916 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .138 | 5 | .200* | .989 | 5 | .975 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|-------------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | Df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| kreatinin sebelum | Equal variances assumed | | .625 | .452 | 1.100 | 8 | .303 | .09400 | .08542 |
| | Equal variances not assumed | | | | 1.100 | 6.840 | .308 | .09400 | .08542 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| Kelompok | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Kreatinin sesudah | Kontrol | .301 | 5 | .156 | .801 | 5 | .083 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .223 | 5 | .200* | .922 | 5 | .543 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|-------------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | Df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| kreatinin sesudah | Equal variances assumed | | .106 | .754 | -.561 | 8 | .590 | -.03200 | .05701 |
| | Equal variances not assumed | | | | -.561 | 7.964 | .590 | -.03200 | .05701 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar Kreatinin.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | | | |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|--------|-------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | t | df | Sig. (2-tailed) |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Kontrol kreatinin sebelum - Kontrol kreatinin sesudah | .09400 | .22985 | .10279 | -.19139 | .37939 | .914 | 4 | .412 |
| Pair 2 | Dosis kreatinin sebelum - Dosis kreatinin sesudah | -.03200 | .09808 | .04386 | -.15378 | .08978 | -.730 | 4 | .506 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar kreatinin.

3.4 Ureum

a. Data kadar ureum

Tabel 9. Kadar ureum tikus

| Tikus | Ureum Kontrol | | Ureum Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|---------------|------------|--------------------------|------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 36.29 | 37.78 | 29.34 | 36.47 |
| 2 | 36.35 | 41.08 | 24.97 | 35.69 |
| 3 | 46.59 | 45.33 | 28.74 | 34.07 |
| 4 | 36.77 | 38.56 | 32.93 | 38.02 |
| 5 | 26.95 | 59.7 | 29.34 | 38.02 |
| Rata-rata±sd | 36.59±6.95 | 44.49±9.00 | 29.06±2.83 | 36.45±1.67 |

Batas normal kadar ureum tikus wistar yaitu 12-42 mg/dL (8). Berdasarkan tabel kadar ureum pada kelompok tikus berada dalam batas normal kadar ureum tikus, baik sebelum maupun sesudah pemberian kombinasi fraksi daun karamunting.

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| kelompok | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------|---|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| ureum sebelum | 1 | .290 | 5 | .198 | .898 | 5 | .399 |
| | 2 | .219 | 4 | . | .974 | 4 | .864 |

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|------------------|--------------------------------|--|------|------------------------------|-------|--------------------|--------------------|--------------------------|
| | | F | Sig. | T | Df | Sig.(2- tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| ureum sebelum | Equal variances assumed | .840 | .386 | 2.243 | 8 | .055 | 7.52600 | 3.35465 |
| | Equal variances not assumed | | | 2.243 | 5.289 | .072 | 7.52600 | 3.35465 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------|---|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| Kelompok | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| ureum sesudah | 1 | .263 | 5 | .200* | .811 | 5 | .099 |
| | 2 | .226 | 5 | .200* | .910 | 5 | .465 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|------------------|--------------------------------|--|------|------------------------------|-------|---------------------|--------------------|--------------------------|
| | | F | Sig. | T | df | Sig. (2- tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| ureum sesudah | Equal variances assumed | 4.401 | .069 | 1.963 | 8 | .085 | 8.03600 | 4.09291 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.963 | 4.276 | .117 | 8.03600 | 4.09291 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar ureum.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | | | |
|--------|---|--------------------|-------------------|--------------------|---|----------|--------|----|---------------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | T | df | Sig. (2- tailed) |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | kontrol ureum sebelum - kontrol ureum sesudah | -7.90000 | 14.05255 | 6.28449 | -25.34855 | 9.54855 | -1.257 | 4 | .277 |
| Pair 2 | dosis ureum sebelum - dosis ureum sesudah | -7.39000 | 2.36401 | 1.05722 | -10.32531 | -4.45469 | -6.990 | 4 | .002 |

Kesimpulan : nilai signifikan kelompok dosis menunjukkan $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok dosis, namun masih dalam rentang normal kadar ureum tikus. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar **SGPT**.

4.1 Bobot Relatif Organ tikus

Tabel 10. Bobot organ relatif tikus

| Kelompok | Tikus | Hati | Ginjal | Jantung |
|--------------------|-------|--------|--------|---------|
| Kontrol | 1 | 4,26 % | 0,64 % | 0,68 % |
| | 2 | 3,50 % | 0,70 % | 0,75 % |
| | 3 | 3,70 % | 0,59 % | 0,71 % |
| | 4 | 3,43 % | 0,57 % | 0,72 % |
| | 5 | 4,19 % | 0,67 % | 0,71 % |
| Dosis 2000 mg/KgBB | 1 | 4,47 % | 0,77 % | 0,77 % |
| | 2 | 3,69 % | 0,74 % | 0,71 % |
| | 3 | 3,91 % | 0,56 % | 0,71 % |
| | 4 | 3,39 % | 0,79 % | 0,75 % |
| | 5 | 4,06 % | 0,82 % | 0,78 % |

a. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ hati)
Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| organ hati Kontrol | .233 | 5 | .200* | .861 | 5 | .231 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .150 | 5 | .200* | .995 | 5 | .994 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| organ hati | Equal variances assumed | | .000 | .987 | -.175 | 7 | .866 | -.04900 | .28047 |
| | Equal variances not assumed | | | | -.171 | 5.967 | .870 | -.04900 | .28634 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ hati

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ ginjal)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|--------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| organ ginjal | Kontrol | .192 | 5 | .200* | .953 | 5 | .762 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .316 | 5 | .114 | .816 | 5 | .109 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

>> Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|-----------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| organ ginjal | Equal variances assumed | variances | .750 | .412 | -1.966 | 8 | .085 | -.10200 | .05188 |
| | Equal variances not assumed | variances not assumed | | | -1.966 | 6.066 | .096 | -.10200 | .05188 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ ginjal.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ jantung)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|---------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| organ jantung | Kontrol | .237 | 5 | .200* | .950 | 5 | .740 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .250 | 5 | .200* | .862 | 5 | .234 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|---------------|-----------------------------|-----------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| organ jantung | Equal variances assumed | variances | 1.251 | .296 | -1.622 | 8 | .143 | -.03000 | .01849 |
| | Equal variances not assumed | variances not assumed | | | -1.622 | 7.482 | .146 | -.03000 | .01849 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ jantung.

2. HASI Uji TOKSISITAS SUB KRONIS

4.1 Preparasi Fraksi Daun Karamunting

Tanaman karamunting yang digunakan telah dilakukan identifikasi ditempat Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Padang, Sumatera Barat. Persen rendemen fraksi daun karamunting yang menggunakan pelarut *n*-heksana diperoleh sebesar 3,78% dan fraksi dengan pelarut etil asetat diperoleh sebesar 10,15%. Fraksi *n*-heksana daun karamunting diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu steroid, tanin, dan fenol (tahun ke 2). Berdasarkan penelitian tahun ke 2 yang menggunakan sampel daun karamunting dari daerah yang sama, diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun karamunting yaitu senyawa flavonoid, tanin, steroid, fenol, dan saponin.

4.2 Berat Badan Tikus

Berat badan tikus adalah salah satu data pendukung guna melihat pengaruh toksisitas. Penimbangan berat badan dilakukan dua kali dalam seminggu. Data penimbangan berat badan disajikan dalam bentuk gambar grafik sebagai berikut: Berdasarkan gambar 6 dan 7, menunjukkan terjadinya peningkatan bobot setiap minggunya. Perubahan berat badan dapat terjadi karena proses pertumbuhan yang dialami oleh tikus (9). Secara statistik, kelompok tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa pada uji *One Way ANOVA* tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p > 0,05$). Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak berpengaruh terhadap berat badan tikus. Pada uji *t*-berpasangan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$) untuk kelompok tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi peningkatan berat badan tikus.

Berdasarkan analisis statistik berat badan tikus kelompok satelit, menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol. Sedangkan uji *t*-berpasangan menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara sebelum dengan sesudah perlakuan pada semua kelompok. Artinya terdapat peningkatan berat badan yang signifikan pada kelompok satelit. Hal ini dapat terjadi karena untuk kelompok satelit dilakukan pengamatan lanjut selama 14 hari setelah pemberian sediaan uji, sehingga proses pertumbuhan dapat lebih meningkat.

4.3 Gejala Klinis dan Kematian Hewan Uji

Pengamatan terhadap gejala toksisitas diantaranya dengan melihat gejala klinis yang dialami selama penelitian serta kematian hewan uji. parameter kualitatif gejala klinis yang diamati yaitu salivasi, diare, jalan menggunakan perut, jalan mundur, dan tremor. Hasil pengamatan gejala toksisitas hewan uji dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4. Gejala toksisitas hewan uji selama 0-28 hari

| Parameter | Tikus | Na-CMC 0.5% | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|----------------------------|-------|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Salivasi | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Diare | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Jalan menggunakan perut | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Jalan mundur | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Tremor | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Kematian hewan uji | | - | - | - | 1 |

Keterangan : (-) tidak ada gejala
(1) Hari ke-14

Tabel 5. Gejala toksisitas kelompok satelit selama 0-42 hari

| Parameter | Tikus | Na-CMC 0.5% | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|-----------|-------|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Salivasi | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |

| | | | | | |
|-------------------------|---|---|---|---|---|
| Diare | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Jalan menggunakan perut | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Jalan mundur | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Tremor | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Kematian hewan uji | | - | - | - | - |

Berdasarkan tabel 4, menunjukkan tidak adanya gejala klinis, namun terdapat 1 ekor hewan uji kelompok dosis 800 mg/KgBB yang mati pada hari ke-14. Hewan uji yang mati ditemukan dalam keadaan kaku sehingga tidak dapat dilakukan otopsi. Kematian kemungkinan dapat disebabkan oleh faktor eksternal seperti stress hewan uji atau sifat kanibal yang dimiliki oleh tikus. Sedangkan pada tabel 5, menunjukkan tidak adanya gejala toksisitas pada hewan uji kelompok satelit.

4.4 Kadar Hematologi Tikus

Pengambilan darah tikus dilakukan dengan metode *plexus retro-orbital* dari vena mata. Organ mata tikus dapat beregenerasi dengan cepat, sehingga darah bisa diambil kembali pada organ yang sama untuk pengukuran selanjutnya dan juga kemungkinan mendapatkan darah yang lisis itu kecil serta mudah dilakukan (10). Pemeriksaan hematologi penelitian ini terdiri dari kadar hemoglobin, jumlah eritrosit, dan jumlah leukosit. Data hasil pemeriksaan kadar hematologi dapat dilihat pada lampiran 8. Rata-rata pemeriksaan hematologi dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 6. Rata-rata Hemoglobin sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Kadar Hemoglobin (g/dL) | |
|-------------------|-------------------------|------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 11.40±0.10 | 15.20±0.10 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 9.90±0.44 | 14.10±1.08 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 10.17±0.68 | 14.30±2.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 10.60±2.10 | 12.63±5.31 |

Berdasarkan tabel 6, pada kelompok tikus sebelum pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa adanya kadar Hb yang berada dibawah rentang normal. Rentang normal kadar Hb tikus menurut Mitruka dan Rawnsly (11) yaitu 11,1-18 g/dL. Penurunan kadar Hb dapat terjadi pada anemia, sirosis, hipertiroidisme, perdarahan, dan peningkatan asupan cairan (12). Setelah 28 hari pemberian sediaan uji menunjukkan terjadinya peningkatan kadar Hb, namun masih dalam batas normal.

Tabel 7. Rata-rata Eritrosit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) | |
|-------------------|---|-----------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 6.07±0.21 | 8.58±0.24 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 5.30±0.36 | 7.53±0.78 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 5.23±0.15 | 7.76±0.58 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 5.77±1.12 | 6.34±2.66 |

Rentang normal kadar eritrosit yaitu $7,2-9,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Berdasarkan tabel 7, kadar eritrosit terjadi peningkatan namun masih dalam rentang normal. Sedangkan untuk kelompok sebelum pemberian sediaan uji menunjukkan kadar eritrosit dibawah batas normal. Jumlah sel darah dapat menurun pada anemia, penurunan fungsi ginjal, dan hemolisis (12). Sel darah merah juga dapat menurun karena perdarahan dan malnutrisi.

Berdasarkan uji ANOVA, kadar eritrosit sebelum dan sesudah menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Sedangkan dari uji t-berpasangan menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p<0,05$) pada kelompok kontrol dan kelompok dosis, kecuali kelompok dosis 800 mg/KgBB. Artinya terdapat peningkatan yang signifikan pada kelompok tersebut, namun rata-rata kadar eritrosit pada kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/KgBB, dan kelompok dosis 400 mg/KgBB masih dalam batas normal eritrosit tikus. Peningkatan signifikan yang terjadi bukan berarti dipengaruhi oleh pemberian kombinasi fraksi daun karmunting, karena pada dosis 800 mg/KgBB tidak menunjukkan adanya peningkatan signifikan terhadap kadar eritrosit

Tabel 8. Rata-rata Leukosit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Jumlah Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$) | |
|-------------------|--|------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 15.13±1.90 | 14.03±2.78 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 13.90±4.33 | 15.87±2.44 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 11.27±0.59 | 11.43±1.88 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 12.50±1.30 | 11.93±0.67 |

Rentang normal kadar leukosit tikus yaitu $3-14,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Kadar leukosit pada tabel 8 menunjukkan bahwa terdapat penurunan dan peningkatan kadar setelah pemberian sediaan uji. Penurunan leukosit tikus masih dalam rentang normal. Terjadinya peningkatan jumlah leukosit diatas normal kemungkinan dapat disebabkan oleh adanya perdarahan, trauma, nekrosis, toksin, leukemia, makanan, ataupun stres (12).

Data kadar leukosit tikus baik sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji, dari hasil analisis ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna ($p>0,05$) antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Begitu juga dengan uji t-berpasangan yang menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) untuk tiap kelompok tikus antarwaktu sebelum dengan sesudah pemberian sediaan uji. Artinya bahwa pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi kadar leukosit tikus.

Tabel 9. Rata-rata kadar hematologi kelompok satelit

| Kelompok | Hb (g/dL) | Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) | Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$) |
|-------------------|------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Na-CMC 0.5% | 14.50±0.85 | 7.05±0.07 | 9.45±4.60 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 14.25±1.63 | 7.95±0.07 | 11.95±3.61 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 14.80±0.00 | 7.75±0.35 | 12.95±2.19 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 13.45±1.63 | 7.30±1.27 | 14.10±1.13 |

Kadar hematologi pada kelompok satelit (tabel 9), menunjukkan bahwa baik kadar Hb maupun kadar eritrosit dan leukosit masih dalam rentang normal. Hasil analisis statistik ketiga kadar tersebut, menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Artinya kombinasi fraksi daun karamunting juga tidak mempengaruhi kadar hematologi untuk kelompok satelit.

Kadar hematologi dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis dan memantau toksisitas yang terjadi pada hewan uji (11). Parameter hematologi darah tidak memiliki pola yang konsisten antara peningkatan dosis dengan perubahan parameter hematologi dan terhadap waktu pengukuran. Pola yang tidak tetap ini diduga karena adanya faktor variasi sedikit dari hewan coba dalam satu kelompok (13).

4.5 Kadar Biokimia Tikus

Darah tikus diambil dengan metode *plexus retro-orbital* dari vena mata. Darah kemudian disentrifugasi untuk memisahkan plasma dengan serum, sehingga serum dapat digunakan untuk pemeriksaan kadar biokimia. Penentuan kadar biokimia dilakukan terhadap parameter SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum. Data hasil pemeriksaan kadar hematologi dapat dilihat pada lampiran 11. Berikut tabel rata-rata dari hasil pemeriksaan kadar biokimia:

Tabel 10. Rata-rata kadar pemeriksaan SGOT sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar SGOT (U/L) | |
|-------------------|------------------|----------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 171.54±2.40 | 257.63±13.62 a |
| Dosis 200 mg/KgBB | 186.54±58.82 | 224.80±16.89 a |
| Dosis 400 mg/KgBB | 154.15±22.91 | 251.19±14.05 a |
| Dosis 800 mg/KgBB | 247.72±34.24 | 306.92±30.86 b |

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda, berbeda nyata pada uji lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test) pada $\alpha=0,05$

SGOT merupakan enzim yang sebagian besar ditemukan dalam otot jantung dan hati, sementara dalam konsentrasi sedang dapat ditemukan pada otot rangka, ginjal, dan pankreas (14). Oleh karena itu, SGOT kurang spesifik terhadap kerusakan hati. Kadar normal SGOT tikus jantan menurut Hall (4) adalah 60-300 U/L. Berdasarkan tabel 10, menunjukkan bahwa terdapat kadar SGOT yang berada diatas batas normal kadar SGOT tikus serta menunjukkan terjadinya peningkatan kadar setiap kelompok. Peningkatan kadar SGOT dapat terjadi pada MI, penyakit hati, pankreatitis akut, trauma, serta anemia hemolitik akut (12). Kenaikan kadar SGOT maupun

SGPT hingga 2-4 kali dari nilai normal baru menunjukkan terjadinya kerusakan ringan (4). Sedangkan pada tabel tidak menunjukkan peningkatan kadar SGOT yang melebihi 2-4 kali dari nilai sebelum perlakuan.

Hasil uji statistik kadar SGOT dapat dilihat pada Lampiran 12A. Berdasarkan uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok sesudah pemberian sediaan uji. Dilihat dari uji lanjut *Post Hoc DMRT* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok dosis 800 mg/KgBB dengan kelompok kontrol serta dengan kelompok dosis 200 mg/KgBB dan juga dengan kelompok dosis 400 mg/KgBB. Dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB tidak menunjukkan perbedaan ($p > 0,05$) dengan kontrol. Hasil uji t-berpasangan kadar SGOT menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok kontrol, kelompok dosis 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB. Peningkatan yang signifikan pada kelompok kontrol dengan kelompok dosis 400 mg/KgBB masih dalam batas normal kadar SGOT tikus jantan. Sedangkan kelompok dosis 800 mg/KgBB, hal ini dapat dikaitkan dengan hasil pemeriksaan histologi, karena peningkatan kadar SGOT yang signifikan dapat disebabkan oleh banyak faktor, diantaranya yaitu trauma atau cedera otot.

Tabel 11. Rata-rata kadar pemeriksaan SGPT sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar SGPT (U/L) | |
|-------------------|------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 64.18±4.91 | 82.23±6.65 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 51.78±9.41 | 69.62±2.95 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 52.38±10.53 | 70.86±5.41 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 84.37±32.22 | 65.56±18.55 |

SGPT lebih banyak terdapat dalam hati dibandingkan jaringan otot jantung dan lebih spesifik menunjukkan fungsi hati daripada SGOT. Menurut Nagmoti *et al.* (2010) batas kadar normal SGPT untuk tikus putih yaitu 65,12–111,50 U/L. Berdasarkan tabel 11, menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar setelah pemberian sediaan uji. Nilai peningkatan kadar SGPT yang signifikan adalah dua kali lipat dari nilai normal (12). Peningkatan kadar SGPT tidak sampai 2 kali lipat dari kadar sebelum perlakuan dan kadar SGPT masih dalam batas normal.

Kadar SGPT berdasarkan hasil analisis statistiknya diperoleh hasil bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antar kelompok kontrol dengan kelompok dosis, baik untuk kadar sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi kadar SGPT. Begitu juga hasil dari uji t-berpasangan yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antarwaktu sebelum dan sesudah pemberian pemberian kombinasi fraksi daun karamunting. Namun, pada kelompok kontrol menunjukkan terjadinya peningkatan kadar SGPT secara signifikan ($p < 0,05$). Hal tersebut kemungkinan dapat disebabkan karena faktor yang tidak dapat dikontrol dalam penelitian, seperti faktor stress hewan uji.

Tabel 12. Rata-rata kadar pemeriksaan Kreatinin sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar Kreatinin (mg/dL) | |
|-------------------|-------------------------|-----------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 0.42±0.04 | 0.35±0.05 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 0.39±0.06 | 0.32±0.20 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 0.33±0.04 | 0.37±0.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 0.43±0.07 | 0.35±0.11 |

Berdasarkan rata-rata kadar kreatinin pada tabel 12, menunjukkan bahwa terdapat peningkatan dan penurunan kadar kreatinin. Konsentrasi kreatinin serum dapat meningkat pada gangguan fungsi ginjal baik yang disebabkan oleh nefritis, penyumbatan saluran urin, penyakit otot atau dehidrasi akut dan dapat menurun akibat distrofi otot, atrofi, malnutrisi atau penurunan masa otot akibat penuaan (12). Peningkatan dan penurunan kadar kreatinin yang terjadi masih dalam rentang normal kreatinin pada tikus wistar yaitu 0,2-0,8 mg/dL (7).

Kadar kreatinin berdasarkan hasil analisis statistik (Lampiran 12C) menunjukkan bahwa antara kelompok normal dengan kelompok dosis tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar kreatinin. Pada uji t-berpasangan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol, namun peningkatan kreatinin secara signifikan masih dalam rentang normal kadar kreatinin tikus. Peningkatan yang signifikan pada kelompok kontrol dapat dipengaruhi oleh hal yang tidak dapat dikendalikan dalam penelitian, seperti faktor stress hewan uji.

Tabel 13. Rata-rata kadar pemeriksaan Ureum sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar Ureum (mg/dL) | |
|-------------------|---------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 39.12±6.57 | 33.53±6.05 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 37.19±0.22 | 30.16±3.75 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 32.53±5.31 | 26.65±2.75 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 36.62±5.08 | 43.29±13.09 |

Berdasarkan kadar ureum pada tabel 13, menunjukkan bahwa kadar masih berada dalam batas normal kadar ureum tikus wistar yaitu 12-42 mg/dL (10). Kadar ureum sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji, berdasarkan hasil analisis ANOVA (Lampiran 12D) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok dosis. Artinya setelah pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi kadar ureum. Berdasarkan uji t-berpasangan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$). Hal tersebut berarti tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar ureum antarwaktu sebelum dengan sesudah pemberian sediaan uji.

Tabel 14. Rata-rata kadar pemeriksaan biokimia kelompok satelit

| Kelompok | SGOT (U/L) | SGPT (U/L) | Kreatinin (mg/dL) | Ureum (mg/dL) |
|-------------------|--------------|-------------|-------------------|---------------|
| Na-CMC 0.5% | 251,92±76,35 | 58,18±11,03 | 0,65±0,14 | 43,11±0,85 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 314,90±63,62 | 83,98±16,96 | 0,65±0,09 | 45,81±6,35 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 275,91±8,49 | 80,98±12,72 | 0,58±0,11 | 42,52±8,46 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 287,91±50,89 | 69,28±29,27 | 0,65±0,01 | 37,73±5,93 |

Hasil analisis statistik ANOVA (Lampiran 13) untuk kadar SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum, diperoleh data yang terdistribusi normal ($p>0,05$). Berdasarkan analisis ANOVA, dapat diketahui bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antar kelompok. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting hingga hari ke-42 (kelompok satelit) dari setiap kelompok menunjukkan tidak berpengaruh terhadap setiap parameter biokimia tersebut.

4.6 Makroskopis Organ

Makroskopis organ dilakukan terhadap hati, ginjal, dan jantung. Berikut ini gambar hasil makroskopis organ kelompok kontrol:

Berdasarkan gambar 8, organ hati yang normal berwarna merah tua, organ ginjal berwarna merah kecoklatan, dan jantung berwarna merah. Hasil gambar makroskopis organ lainnya dapat dilihat pada lampiran 14. Pada lampiran 14A, menunjukkan adanya kerusakan organ hati pada satu atau dua ekor tikus dalam tiap kelompok setelah pemberian sediaan uji selama 28 hari. Sedangkan dalam lampiran 14B, secara makroskopis menunjukkan organ hati, ginjal, dan jantung yang normal dan tidak terdapat tanda-tanda kerusakan pada setiap organ tersebut. Hasil gambar makroskopis yang menunjukkan kerusakan organ hati diantaranya dapat dilihat sebagai berikut:

Berdasarkan gambar 9, menunjukkan adanya kerusakan organ hati yang ditandai dengan terbentuknya suatu massa dan bintik-bintik organ hati tikus. Menurut Robins dan Kumar (15), hati yang normal memiliki permukaan yang rata dan halus serta berwarna merah tua, sedangkan hati yang abnormal memiliki permukaan yang berbintik-bintik, terdapat kista dan mengalami perubahan warna misalnya berwarna kuning atau hitam. Namun, kerusakan yang terlihat pada organ hati bisa disebabkan karena hewan uji yang digunakan sudah terpapar penyakit atau terinfeksi sebelumnya, hal ini karena tidak semua tikus dari setiap kelompok menunjukkan tanda kerusakan secara makroskopis.

4.7 Bobot Organ Hati, Ginjal, dan Jantung

Pengamatan bobot organ bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ. Data bobot organ dapat digunakan sebagai penunjang untuk melihat lebih detail ada tidaknya kerusakan pada suatu organ. Data bobot organ relatif dapat dilihat pada lampiran 15. Berikut diperoleh rata-rata dari bobot organ relatif:

Tabel 15. Rata-rata bobot organ relatif sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Bobot Organ (%) | | |
|-------------------|-----------------|-----------|-----------|
| | Hati | Ginjal | Jantung |
| Na-CMC 0.5% | 3.25±0.46 | 0.72±0.05 | 0.51±0.03 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 3.81±0.51 | 0.77±0.08 | 0.52±0.01 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 3.67±0.27 | 0.74±0.08 | 0.54±0.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 4.03±0.70 | 0.78±0.07 | 0.56±0.02 |

Tabel 16. Rata-rata bobot organ relatif kelompok satelit

| Kelompok | Bobot Organ (%) | | |
|-------------------|-----------------|-----------|-----------|
| | Hati | Ginjal | Jantung |
| Na-CMC 0.5% | 4.36±0.37 | 0.77±0.03 | 0.48±0.01 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 4.09±0.19 | 0.75±0.03 | 0.50±0.11 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 4.13±0.33 | 0.74±0.05 | 0.56±0.02 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 3.66±0.35 | 0.78±0.02 | 0.55±0.01 |

Menurut Linder (16) menyatakan bahwa bobot relatif hati tikus yaitu 2,3-3,10% bobot badan dan bobot relatif ginjal tikus percobaan yaitu berkisar antara 0,4-0,9% bobot badan tikus. Sedangkan bobot relatif organ jantung tikus putih sebesar 0,26-0,58 (Schoeffner *et al.*, 1999). Berdasarkan tabel 15 dan 16 menunjukkan bahwa organ ginjal dan jantung masih dalam batas normal, sedangkan organ hati berada diatas batas normal untuk semua kelompok termasuk kelompok kontrol yang hanya diberi Na CMC 0,5%. Berdasarkan hasil statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) antara kelompok perlakuan dengan kelompok normal. Artinya bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ hati, ginjal, dan jantung tikus.

4.7 Mikroskopis organ

Mikroskopis organ dilakukan pada hati dan ginjal tikus setelah 28 hari. Sampel organ menggunakan 1 ekor tikus setiap kelompoknya. Tikus yang digunakan sebagai sampel histologi yaitu tikus 1 pada semua kelompok uji. Berikut hasil skoring dan gambar kerusakan pada jaringan hati:

Tabel 17. Hasil skoring kerusakan organ hati

| Kelompok | Degenerasi hidropik | Degenerasi lemak | Nekrosis |
|-------------------|---------------------|------------------|----------|
| Kontrol | 0 | 0 | 0 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 1 (20%) | 1 (40%) | 1 (30%) |
| Dosis 400 mg/KgBB | 2 (30%) | 2 (60%) | 2 (40%) |
| Dosis 800 mg/KgBB | 2 (60%) | 2 (70%) | 3 (80%) |

Berdasarkan tabel 17, histologi hati pada kelompok kontrol dalam kondisi normal, dimana jaringan hati menunjukkan tidak adanya degenerasi dan nekrosis. Sedangkan pada kelompok dosis secara histologi menunjukkan bahwa semakin tinggi pemberian dosis kombinasi fraksi daun karamunting maka kerusakan semakin besar. Kelompok dosis mengalami kerusakan sel hati yang ditandai dengan adanya degenerasi hidropik, degenerasi lemak, dan nekrosis.

Degenerasi ditandai dengan perubahan sitoplasma sel karena cairan sel bertambah dan membengkak, tetapi inti sel dapat mempertahankan integritas selama sel tidak mengalami cedera yang parah. Degenerasi hidropik ditandai dengan sitoplasma mengalami vakuolisasi dan vakuola-vakuola Nampak jernih. degenerasi hidropik merupakan kondisi dimana sel menerima cairan lebih banyak dari normalnya dan terakumulasi dalam sitoplasma sel sehingga sitoplasma sel membengkak. Degenerasi meleak pada hati meunjukkan ketidakseimbangan proses metabolisme, sehingga terjadi perubahan morfologi dan penurunan fungsi hepar akibat akumulasi lemak dalam sitoplasma (17). Degenerasi lemak ditandai dengan terbentuknya vakuola jernih yang berbentuk bulat pada sel hepar. Vakuola tersebut berisi lemak dan mendesak inti sel hepar ke tepi (18).

Pengamatan secara mikroskopis juga dilakukan terhadap ginjal. Pengamatan dilakukan untuk melihat kerusakan pada jaringan ginjal setelah pemberian kombinasi fraksi daun karamunting secara berulang selama 28 hari. Berikut data hasil skoring kerusakan dan gambar histologi ginjal perbesaran 100x dan 400x:

Tabel 18. Hasil skoring kerusakan organ ginjal

| Parameter | Kontrol | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|-------------------------|---------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Dilatasi sel tubulus | 0 | 2 (60%) | 1 (10%) | 2 (60%) |
| Hilangnya brush border | 0 | 2 (60%) | 1 (10%) | 2 (60%) |
| Protein cast (silinder) | 0 | 1 (10%) | 0 | 1 (30%) |
| Vakuolisasi sel | 0 | 2 (60%) | 1 (5%) | 2 (60%) |
| Nekrosis | 0 | 1 (20%) | 1 (10%) | 1 (10%) |

Hasil mikroskopis ginjal menunjukkan kerusakan ginjal pada kelompok dosis yang ditandai dengan hilangnya brush border, dilatasi sel tubulus, terbentuknya protein cast, vakuolisasi sel, dan nekrosis, hal tersebut menunjukkan tanda-tanda terjadinya nekrosis tubular akut. Nekrosis merupakan kematian sel akibat jejas saat individu masih hidup. Secara mikroskopik terjadi perubahan inti yaitu hilangnya kromatin, robek (karioreksis), inti pucat tidak nyata (kariolisis). Vakuolisasi sel (ciri terjadinya degenerasi melemak) adalah proses terbentuknya rongga-rongga pada sel dinding kapiler tubulus sehingga inti sel menjadi tergeser ke tepi. Dilatasi atau pelebaran lumen tubulus ginjal dapat disebabkan oleh hilangnya brush border. Selain itu, kumpulan protein yang membentuk cast berakibat penyaluran melalui tubulus ginjal terhambat juga merangsang terjadi pelebaran atau dilatasi tubulus (19).

Berdasarkan tabel 18, kerusakan paling rendah terjadi pada kelompok dosis 400 mg/KgBB. Kelompok dosis 200 mg/KgBB lebih besar mengalami kerusakan dibandingkan dosis 400 mg/KgBB. Berdasarkan kadar biokimia, kadar ureum berada di atas batas normal, sedangkan kadar kreatinin masih dalam rentang normal. Kadar kreatinin lebih spesifik dari ureum dalam melihat kerusakan pada ginjal. Berdasarkan analisis statistik kadar biokimia (ureum dan kreatinin) menunjukkan tidak adanya pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting. Kerusakan ginjal diduga dapat disebabkan oleh faktor lain yang tidak dapat dikontrol, seperti kondisi stres hewan uji. Kondisi stres menyebabkan penurunan aliran darah ke ginjal (20). Akibatnya ginjal kekurangan suplai oksigen, sehingga dapat menyebabkan terjadinya hipoksia. Sel tubulus ginjal yang mengalami hipoksia lebih mudah mengalami gangguan fungsi

5.1 Karakterisasi Fraksi *n*-heksan Daun Karamunting

Karakterisasi ekstrak merupakan suatu parameter pengukuran untuk dapat mengetahui mutu ekstrak berdasarkan syarat standar yang telah ditentukan. Karakterisasi fraksi terbagi menjadi parameter spesifik dan parameter non spesifik. Karakterisasi spesifik pada fraksi *n*-heksana daun karamunting meliputi organoleptik, pengujian kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Sedangkan, karakterisasi non spesifik fraksi meliputi pengujian kadar air, susut pengeringan, kadar abu tidak larut asam dan kadar abu total (21). Hasil karakterisasi fraksi *n*-heksana daun karamunting disajikan pada Tabel 3.

Table 3. Karakterisasi Fraksi *n*-heksana

| No. | Karakterisasi Ekstrak | Hasil (Rata-rata ± simpangan baku) | Persyaratan (Depkes, 2008) |
|---------------------------------|-------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Parameter Spesifik : | | | |
| 1. | Organoleptik | | |
| | Bentuk | Kental seperti karamel | |
| | Warna | Hijau kehitaman | - |
| | Bau | Khas ekstrak | |
| | Rasa | Pahit | |
| 2. | Kadar sari larut air | 3,34±8,89 | ≥11,5% |
| 3. | Kadar sari larut etanol | 31,67±5,77 | ≥11,4% |
| Parameter non spesifik : | | | |
| 1. | Kadar air | 6,67 ± 1,53% | ≤10% |
| 2. | Susut pengeringan | 7,16 ± 1,75% | ≤11% |
| 3. | Kadar abu total | 0,95 ± 0,09% | ≤ 16,6% |

| | | | |
|----|----------------------------|--------------|--------------------------|
| 4. | Kadar abu tidak larut asam | 0,61 ± 0,09% | ≤0,7% |
| 5. | Uji cemaran mikroba | 0 cfu/g | ≤1×10 ⁴ cfu/g |
| 6. | Uji cemaran logam Pb | 1,4606 mg/Kg | ≤10 mg/Kg |
| 7. | Uji cemaran logam Cd | 0,2189 mg/Kg | ≤0,3 mg/Kg |

5.2. Hasil Organoleptik

Parameter organoleptik dilakukan terhadap ekstrak untuk memberikan petunjuk atau pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan tekstur. Data yang didapat digunakan sebagai dasar untuk menguji ekstrak secara fisis selama penyimpanan yang dapat mempengaruhi khasiatnya. Pemeriksaan organoleptik berperan penting karena terkait dengan kemurnian dan mencegah pemalsuan bahan baku pada obat tradisional. Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana daun karamunting memiliki bentuk ekstrak kental seperti karamel dengan warna hijau kehitaman dan bau khas ekstrak serta rasa yang pahit. Warna hitam kehijauan ekstrak disebabkan oleh perubahan warna yang terjadi ketika dilakukan proses pengeringan dan warna tersebut sesuai dengan warna simplisia saat direndam dalam cairan penyari.

5.3. Kadar Air

Pengujian kadar air pada fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung dalam fraksi yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antidiare. Pengujian kadar air menggunakan metode gravimetri dengan menggunakan prinsip penguapan air pada bahan dengan pemansan suhu 105°C hingga berat konstan (21). Kadar air yang tinggi dapat mempermudah kapang, jamur dan mikroorganisme lainnya sehingga dapat menurunkan mutu dari ekstrak. Hasil rata-rata persentase kadar air fraksi *n*-heksana daun karamunting adalah 6,67% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih besar dari 10%, maka ekstrak dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama dan tidak mudah ditumbuhi mikroba sehingga tidak membutuhkan pengawet selama masa simpan.

5.4. Susut Pengeringan

Penentuan susut pengeringan bertujuan memberikan pada batasan maksimal jumlah senyawa yang hilang pada proses pengeringan dengan suhu 105°C selama 30 menit hingga bobot konstan (21). Hasil susut pengeringan fraksi *n*-heksana menunjukkan persen kadar pelarut dan air yang terdapat dalam fraksi yang menguap setelah dipanaskan pada suhu 105°C. Pada suhu 105°C, air akan menguap dan senyawa-senyawa yang memiliki titik didih yang lebih rendah dari air akan ikut menguap. Hasil rata-rata persentase susut pengeringan pada fraksi *n*-heksana daun karamunting sebesar 7,16% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu tidak boleh lebih besar dari 11%.

5.4.1. Kadar Abu Total Dan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Penetapan kadar abu berhubungan dengan tingkat keamanan pada bahan baku obat tradisional. Hasil pengujian kadar abu total dapat diketahui persentase kandungan senyawa anorganik yang apabila masuk kedalam tubuh dapat beresiko untuk merusak organ (22). Kadar abu tidak larut asam dapat diketahui tingkat pengotor pada ekstrak oleh logam-logam silikat. Baik logam maupun silikat yang berasal dari tanah dan air yang dihisap oleh jaringan tumbuhan (24). Prinsip pengujian kadar abu dimana ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap hingga hanya unsur mineral dan organik saja menggunakan tanur suhu ±600°C selama 3 jam.

Kadar abu total pada fraksi *n*-heksana daun karamunting yang diperoleh sebesar 0,95% dan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,61%. Hasil ini sesuai dengan persyaratan kadar abu total yaitu tidak lebih besar dari 16,6% dan kadar abu tidak larut asam tidak lebih besar dari 0,7%. Kadar abu yang terlalu tinggi dapat disebabkan karena pengolahan yang kurang bersih pada tahap pencucian daun segar. Kadar abu tidak larut asam berkaitan dengan jumlah kandungan mineral dalam ekstrak, kemurnian dan kontaminan (24).

5.4.2. Kadar Sari Larut Air Dan Kadar Sari Larut Etanol

Penetapan kadar sari fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk menunjukkan bahan-bahan yang dapat disari oleh air maupun etanol. Bahan-bahan yang larut dalam air terdiri dari karbohidrat, garam-garam dan sebagian vitamin-vitamin serta sebagian bahan-bahan organik. Penetapan kadar sari pada fraksi *n*-heksana daun karamunting sangat penting karena erat kaitannya dengan jumlah bahan-bahan terlarut dalam pelarut air dan pelarut etanol.

Hasil pengujian menunjukkan kadar sari larut air yaitu 3,34% (Tabel 3) tidak memenuhi persyaratan yaitu tidak kurang dari 11,5%. Hal ini diduga karena pelarut yang digunakan bersifat non polar (*n*-heksana) sehingga senyawa yang larut dalam air sangat sedikit. Hasil kadar sari larut etanol yaitu sebesar 31,67% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan kadar sari larut etanol yaitu tidak kurang dari 11,4%. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam fraksi *n*-heksana daun karamunting yang bersifat polar (larut air) lebih sedikit dibandingkan senyawa aktif yang bersifat semi polar-non polar (larut etanol).

5.4.3. Uji Cemar Mikroba

Pengujian cemaran mikroba bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba nonpatogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh dan berbahaya (toksik) bagi kesehatan (21)... Hasil pengujian menunjukkan nilai cemaran mikroba fraksi *n*-heksana daun karamunting sebesar 0 cfu/g. Hasil ini sesuai dengan persyaratan mutu obat tradisional dimana batas maksimum cemaran mikroba tidak boleh lebih dari 1×10^4 cfu/g.

5.4.4. Uji Cemaran Logam

Pengujian cemaran logam pada standarisasi ekstrak sangat penting untuk dilakukan, karena kandungan logam berat yang tinggi dalam bahan baku obat tradisional dapat memahayakan kesehatan dan bersifat toksik bagi tubuh (21). Efek toksik dari logam berat yang sering terjadi adalah karsinogenik, gangguan sistem imun, gangguan susunan saraf, gangguan dan kerusakan ginjal, efek terhadap pernafasan (25). Oleh karena itu, pengujian cemaran logam berat ini sangat penting dilakukan pada ekstrak.

Identifikasi kandungan logam pada fraksi *n*-heksana daun karamunting menggunakan alat spektroskopi serapan atom dengan menganalisa kandungan logam Pb dan Cd. Hasil pengujian diperoleh cemaran logam Pb sebesar 1,4606 mg/Kg dan logam Cd sebesar 0,2189 mg/Kg. Hasil ini sesuai dengan persyaratan yaitu cemaran logam Pb yaitu tidak lebih dari 10 mg/Kg (10 ppm) dan logam Cd tidak lebih dari 0,3 mg/Kg (0,3 ppm). Tingginya kandungan logam berat dalam ekstrak dapat disebabkan oleh adanya pencemar yang berdekatan dengan ekstrak.

6.1 Skrining Fitokimia Fraksi *n*-heksana Daun Karamunting

Skrining fitokimia pada fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi. Skrining fitokimia penting dilakukan karena berhubungan dengan upaya untuk menggali potensi dari suatu tumbuhan obat. Pengujian skrining fitokimia dilakukan terhadap beberapa golongan senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, fenolik, tannin, steroid, dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia fraksi *n*-heksan daun karamunting ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Skrining fitokimia ekstrak etanol buah karamunting

| Golongan Senyawa | Hasil |
|------------------|-------|
| Flavonoid | + |
| Alkaloid | |
| - Mayer | - |
| - Wagner | - |
| - Dragendorf | - |
| Steroid | + |
| Triterpenoid | - |
| Tanin | + |
| Fenolik | + |
| Saponin | - |

Keterangan: + (terdapat senyawa metabolit sekunder)

- (tidak terdapat senyawa metabolit sekunder)

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi *n*-heksana daun karamunting adalah steroid, fenolik, tanin dan tidak mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan saponin. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sinulingga (26) dimana pada skrining fitokimia fraksi *n*-heksana daun karamunting tidak terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, saponin. Skrining fitokimia fraksi *n*-heksana daun karamunting dapat dilihat pada Lampiran 9.

Uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann bouchard (asam asetat anhidrat- H_2SO_4). Reaksi positif triterpenoid dengan pereaksi Liebermann (asam asetat anhidrat- H_2SO_4) menghasilkan warna merah-ungu sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (27). Hasil yang diperoleh negative triterpenoid dan positif steroid pada fraksi *n*-heksana daun karamunting yang terbukti dengan terbentuknya warna hijau pada larutan uji steroid yang dapat dilihat pada Lampiran 9. Gambar 6 adalah mekanisme pembentukan senyawa kompleks antara pereaksi Liebermann dengan senyawa steroid.

Reagen $FeCl_3$ ditambahkan pada sampel untuk mengidentifikasi senyawa fenol dan tanin. $FeCl_3$ yang ditambahkan berguna untuk melihat ada tidaknya gugus fenol dalam sampel. Ion Fe^{3+} akan bereaksi dengan tanin atau senyawa fenolik membentuk senyawa kompleks berwarna biru kehitaman. Warna biru kehitaman yang terbentuk merupakan tanda positif dari identifikasi senyawa golongan fenolik dan tanin (28). Hal ini sesuai dengan hasil yang didapat bahwa fraksi *n*-heksana daun karamunting positif mengandung senyawa tanin dan fenolik yang dibuktikan dengan terbentuknya 2 lapisan larutan yaitu warna hijau kehitaman pada lapisan atas dan kuning bening pada lapisan bawah yang dapat dilihat pada Lampiran 9. Gambar 7 adalah mekanisme pembentukan senyawa kompleks antara $FeCl_3$ dengan senyawa fenolik.

6.3 Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Karamunting

Skrining fitokimia dilakukan pada fraksi etil asetat daun karamunting bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi tersebut. Skrining fitokimia perlu dilakukan pada tumbuhan yang menjadi kandidat bahan obat karena diperlukan untuk mengetahui kandungan dan pemanfaatan dari suatu tumbuhan obat. Fraksi etil asetat daun karamunting dilakukan pengujian skrining fitokimia terhadap beberapa golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, tanin, steroid, dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting ditunjukkan pada tabel sebagai berikut.

Tabel 4.2 Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting

| Golongan Senyawa | Hasil |
|------------------|-------|
| Flavonoid | + |
| Alkaloid | |
| - Mayer | - |
| - Wagner | - |
| - Dragendorf | - |
| Steroid | + |
| Triterpenoid | - |
| Tanin | + |
| Fenolik | + |
| Saponin | + |

Keterangan : Positif (+) dan negatif (-)

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung didalam ekstrak etil asetat daun karamunting antara lain flavonoid, steroid, tanin, fenolik, dan saponin. Fraksi etil asetat daun karamunting tidak mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid.

6.2.1 Flavonoid

Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa golongan flavonoid. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah atau jingga pada pereaksi bubuk magnesium dan asam klorida. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (29) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung flavonoid. Reaksi yang terjadi akan menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid sehingga menimbulkan reaksi larutan berwarna merah. Berdasarkan penelitian (30) telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri senyawa flavonoid yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat menggumpalkan protein dan bersifat lipofilik, sehingga dapat merusak lapisan lipid pada membran sel bakteri.

6.2.2 Steroid

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa steroid. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (31) bahwa fraksi etil asetat daun

karamunting positif mengandung steroid. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan senyawa steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam sehingga menghasilkan reaksi warna. Berdasarkan penelitian (30) menyatakan bahwa senyawa steroid merupakan senyawa antibakteri dengan mekanisme kerja merusak membran sel bakteri.

6.2.3 Tanin

Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa golongan tanin. Berdasarkan penelitian (29) menyatakan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung senyawa tanin. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Menurut (32) terbentuknya warna hijau pada sampel setelah dilakukan penambahan FeCl_3 dikarenakan senyawa tanin akan membentuk kompleks ion Fe^{3+} . Senyawa tanin dalam bidang farmasi dimanfaatkan sebagai obat antidiare dan antiseptik. Senyawa tanin sebagai antibakteri memiliki mekanisme kerja dengan menginaktivkan adhesi sel mikroba, menginaktivkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (33). Tanin juga mempengaruhi polipeptida dinding sel sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis dan mati (34).

6.2.4 Fenolik

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa fenolik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Hasil ini sesuai dengan penelitian (35) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung fenolik. Fenol bersifat asam, karena sifat gugus $-\text{OH}$ yang mudah untuk melepaskan diri. Fenol juga dapat membentuk senyawa khelat dengan logam, mudah teroksidasi dan membentuk polimer yang berwarna gelap. Fenol berperan sebagai senyawa antibakteri karena fenol dapat melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak yang terdapat pada membran sel sehingga menyebabkan turunnya tegangan permukaan membran sel (36). Selanjutnya mendenaturasi protein dan mengganggu fungsi membran sel sebagai lapisan yang selektif, sehingga sel menjadi lisis (37).

6.2.5 Saponin

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa saponin. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa setelah ditambahkan aquadest dan dikocok kuat-kuat. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (29) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting positif mengandung saponin. Pada uji saponin, busa yang ditimbulkan menunjukkan adanya glikosida yang dapat membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa. Senyawa saponin bersifat antibakteri dengan merusak membran sel. Apabila membran sel rusak maka akan menyebabkan kematian sel (30).

4.3 Karakterisasi Fraksi Etil Asetat Daun Karamunting

Hasil karakterisasi fraksi etilasetat dari daun karamunting dengan metode materia medika, diperoleh hasil seperti pada Tabel 4.3 berikut ini :

Tabel 4.3 Karakterisasi fraksi etil asetat daun karamunting

| Parameter | Hasil (Rata-rata \pm SD) | Persyaratan Depkes RI (2008) |
|---------------------------------------|---|-------------------------------------|
| Parameter spesifik : | | |
| ▪ Organoleptis | Bentuk : kental Warna : hijau kehitaman Aroma : khas ekstrak Rasa : khelat | - |
| ▪ Kadar sari larut air (%) | 53,33 \pm 11,5470 | >31% |
| ▪ Kadar sari larut etanol (%) | 73,33 \pm 14,4388 | >70,5% |
| Parameter non spesifik : | | |
| ▪ Kadar air (%) | 9,2 \pm 0,0153 | \leq 10% |
| ▪ Susut pengeringan (%) | 8,7 \pm 0,0115 | <11% |
| ▪ Kadar abu total (%) | 1 \pm 0 | \leq 16,6% |
| ▪ Kadar abu tak larut asam (%) | 0,62 \pm 0,03 | \leq 0,7% |
| ▪ Uji cemaran mikroba | 0 | 1 \times 10 ⁴ cfu/g |
| ▪ Uji cemaran logam (mg/Kg) | Logam Cd: 0,1658 Logam Pb : 10,8130 | \leq 0,3 mg/Kg \leq 10 mg/Kg |

4.3.1 Hasil Organoleptik

Telah dilakukan pemeriksaan organoleptik pada fraksi etil asetat daun karamunting yang meliputi warna, bau, dan rasa pada sampel. Uji organoleptis ditentukan dengan melakukan pengamatan bentuk fisik dari fraksi etil asetat daun karamunting yang bertujuan sebagai pengenalan awal secara sederhana melalui panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa. Pemeriksaan organoleptik juga bertujuan untuk memberikan

informasi terhadap spesifikasi fraksi etil asetat daun karamunting. Apabila suatu fraksi bahan baku obat telah dilakukan karakterisasi, hal ini akan mencegah terjadinya pemalsuan bahan baku obat dikarenakan karakterisasi terkait dengan kemurnian bahan baku obat tradisional. Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting memiliki bentuk ekstrak kental, warna hijau kehitaman, bau khas ekstrak, dan rasa khelat.

4.3.2 Kadar Air

Pemeriksaan kadar air merupakan parameter yang bertujuan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung pada sampel yang akan digunakan sebagai bahan baku obat. Pengujian kadar air penting dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat menjamin kualitas sampel. Metode yang digunakan dalam pemeriksaan kadar air yakni dengan menggunakan metode gravimetri. Metode gravimetri menggunakan prinsip penguapan air pada sampel dengan pemanasan suhu 105°C hingga berat konstan.

Berdasarkan hasil uji, diketahui kadar air fraksi etil asetat daun karamunting adalah 9,2%. Kadar air yang diperoleh memenuhi syarat kadar air yang baik untuk penyimpanan jangka panjang yaitu kurang dari 10% (21). Presentase kadar air yang tinggi akan mempengaruhi pertumbuhan jamur, kapang/khamir, dan mikroorganisme lainnya yang dapat berpengaruh pada mutu dari sampel.

4.3.3 Susut Pengeringan

Menurut (23) susut pengeringan ditetapkan untuk menjaga kualitas simplisia karena berkaitan dengan kemungkinan pertumbuhan kapang atau jamur serta zat yang mudah menguap pada simplisia. Pemeriksaan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal jumlah senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan dengan suhu 105°C selama 30 menit hingga bobot konstan (21). Senyawa-senyawa yang hilang selama proses pengeringan akibat pemanasan antara lain, molekul air dan minyak atsiri.

Maka hasil uji susut pengeringan dari sampel menunjukkan persen kadar pelarut dan air dalam sampel yang menguap setelah dipanaskan pada suhu 105°C. Berdasarkan pemeriksaan susut pengeringan pada fraksi etil asetat daun karamunting yang telah dilakukan, maka dapat diketahui bahwa persentase hasilnya yakni 8,7%. Nilai tersebut memenuhi persyaratan uji susut pengeringan yaitu kurang dari 11% (21).

4.3.4 Kadar Abu Total Dan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Pemeriksaan kadar abu pada suatu bahan baku obat tradisional memiliki peranan yang sangat penting yakni pada tingkat keamanannya sebagai bahan baku obat tradisional. Tujuan dilakukannya pengujian kadar abu yaitu untuk memberikan gambaran mengenai kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak (21). Menurut (23) kadar abu merupakan uji kemurnian suatu sampel untuk menetapkan tingkat pengotoran oleh logam-logam dan silikat.

Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam merupakan salah satu evaluasi bahan baku obat sebelum dilakukan tahap berikutnya. Apabila telah diketahui hasil dari pengujian kadar abu total pada suatu bahan baku obat, maka dapat diketahui persentase kandungan senyawa anorganik. Senyawa anorganik tersebut berasal dari tanah dan air yang diserap oleh akar tumbuhan dan dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan atau organ tubuh (38).

Berdasarkan pemeriksaan yang telah dilakukan maka dapat diketahui bahwa kadar abu total pada fraksi etil asetat daun karamunting diperoleh sebesar 1%. Berdasarkan hasil uji tersebut menunjukkan bahwa kadar abu total fraksi etil asetat daun karamunting memenuhi persyaratan yaitu maksimal 16,6% (21). Hasil uji kadar abu tidak larut asam fraksi etil asetat daun karamunting sebesar 0,62% dan hasil tersebut sesuai dengan persyaratan kadar abu tidak larut asam <0,7% (Depkes RI, 2008). Faktor yang mempengaruhi hasil kadar abu yang tinggi yakni kurang bersih pada saat tahapan sortasi bahan simplisia. Oleh sebab itu tingginya kadar abu tak larut asam menunjukkan adanya kandungan silikat yang berasal dari tanah atau pasir, unsur logam perak, timbal dan merkuri.

4.3.5 Kadar Sari Larut Air Dan Kadar Sari Larut Etanol

Pengujian kadar sari dilakukan untuk mengetahui jumlah terendah bahan kimia kandungan simplisia yang terekstraksi pada pelarut tertentu. Oleh sebab itu penetapan kadar sari pada fraksi etil asetat daun karamunting sangat penting dilakukan guna mengetahui banyaknya kandungan senyawa aktif yang bersifat polar (larut dalam air) dan non polar (larut dalam etanol). Kadar sari merupakan salah satu bagian standarisasi sederhana senyawa bahan alam melalui proses ekstraksi. Pada bahan baku obat tradisional pelarut yang lazim digunakan untuk ekstraksi adalah air dan etanol (23).

Pengujian kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol dilakukan dengan memamerasi fraksi kental dengan pelarut air-kloroform serta pelarut etanol selama 24 jam. Dilakukan penambahan kloroform pada uji kadar senyawa larut dalam air bertujuan sebagai pengawet, dikarenakan air merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Berdasarkan hasil pengujian, kadar senyawa larut dalam air diperoleh sebesar 53,33% dan kadar senyawa larut dalam etanol sebesar 73,33%. Hasil uji tersebut memenuhi persyaratan yakni lebih dari 31% dan lebih dari 70,5% (21). Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa senyawa dari daun karamunting lebih

banyak terlarut dalam etanol dibandingkan dalam air. Hal ini menunjukkan senyawa non polar yang terkandung dalam daun nangka lebih banyak dibandingkan dengan senyawa polar.

4.3.6 Uji Cemarana Mikroba

Pengujian cemaran mikroba bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba non patogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh pada stabilitas ekstrak dan berbahaya bagi kesehatan (21). Terdapat peraturan BPOM tentang persyaratan mutu obat tradisional yakni batas maksimum cemaran mikroba sebesar 1×10^4 cfu/g dan untuk cemaran kapang/khamir 1×10^3 cfu/g. Berdasarkan hasil pengujian menunjukkan tidak adanya cemaran mikroba pada fraksi etil asetat daun karamunting. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting tidak mengandung mikroba patogen dan non patogen, sehingga fraksi tersebut dapat digunakan sebagai bahan baku obat tradisional.

4.3.7 Uji Cemaran Logam

Pengujian cemaran logam berat bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, Cd, dan logam berat yang lainnya) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya bagi kesehatan (21). Oleh sebab itu pengujian cemaran logam pada standarisasi bahan baku obat tradisional sangat penting untuk dilakukan. Pengujian kandungan logam pada fraksi etil asetat daun karamunting menggunakan alat spektroskopi serapan atom dengan menganalisa kandungan logam Pb dan Cd.

Berdasarkan hasil pengujian diperoleh cemaran logam Pb sebesar 10,8130 mg/Kg dan logam Cd sebesar 0,1658 mg/Kg. Berdasarkan hasil uji tersebut, fraksi etil asetat daun karamunting memenuhi persyaratan batas maksimum logam Cd yakni $\leq 0,3$ mg/Kg (21). Sedangkan untuk batas maksimum logam Pb, fraksi etil asetat daun karamunting tidak memenuhi syarat yakni ≤ 10 mg/Kg (21). Faktor-faktor yang mempengaruhi tingginya kadar logam berat yang terkandung dalam suatu bahan baku obat tradisional dapat disebabkan oleh adanya pencemar yang terdapat disekitar ekstrak, jenis tanaman lain yang memiliki kandungan logam berat, dan faktor lingkungan seperti suhu, udara, kelembapan udara, intensitas cahaya, serta kecepatan angin.

**PT. MITRA DULUR SEJAHTERA
PABRIK OBAT TRADISIONAL (HERBAL)**

JL. Soekarno Hatta No. 84 Kel. Bukit Baru Kec. Ilir Barat I Palembang 30131

Telp : 0711-443124

Mobile: 0815 40 000 250

Email : mds.herbal.id@gmail.com



PENINGKAPSULAN EKSTRAK DAUN KARAMUNTING

1. Prosedur Proses

1.1. Proses Ekstraksi

1. Menyiapkan peralatan ekstraksi dan memanaskan 40 L air.
2. Menimbang 4 kg bahan baku berupa daun karamunting kering.
3. Memasukkan bahan baku kedalam air yang sudah mendidih. Proses ekstraksi dilakukan selama 1 jam.
4. Ekstraksi selesai, output yang dihasilkan berupa produk ekstrak liquid. Selanjutnya dilakukan proses evaporasi

1.2. Proses Evaporasi

1. Menyiapkan peralatan evaporator vacuum.
2. Memasukkan ekstrak cair kedalam chamber, evaporasi dilakukan selama 7 jam.
3. Evaporasi selesai, output yang dihasilkan berupa produk padatan tidak seragam. Produk di keluarkan dari chamber untuk selanjutnya dihaluskan dan dilakukan grinding sebelum dikemas menggunakan kapsul.

1.3. Analisa Sampel

1.3.1. Pengujian Fitokimia

1.3.1.1. Identifikasi Alkaloid

500 mg sampel + 1 ml HCl 2N + 9 ml H₂O dipanaskan sampai larut kemudian dinginkan. Filtrate kemudian di tetesi pereaksi dragondrof. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga, sampel positif mengandung alkaloid.

1.3.1.2. Identifikasi Flavonoid

5 ml larutan sampel + 2 ml ethanol 95% + 500 mg Zinc + 2 ml HCl 2N. Tambahkan 10 tetes HCl pekat dan diamkan 5 menit. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga, sampel positif mengandung flavonoid.

1.3.1.3. Identifikasi Saponin

1 gr sampel dipanaskan dengan 10 ml air kemudian di gojok sampai terdapat buih. Tambah 1 ml HCl 2N, Jika buih tidak hilang maka sampel positif mengandung saponin.

1.3.1.4. Identifikasi Tanin

5 ml sampel di tetesi dengan pereaksi besi (III) klorida, jika terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman maka sampel positif mengandung tanin.

1.3.2. Identifikasi Saponin Metode TLC

1. Menimbang 0.25 gr sampel dan memasukkannya kedalam labu ukur 25 ml.
2. Menambahkan aquades sampai sepertiga volume labu ukur, kocok sampai larut.
3. Menyaring suspensi yang dihasilkan.
4. Menotolkan filtrate ke lempeng TLC sebanyak 5 μ l.
5. Mengelusi lempeng tersebut dengan eluen $\text{CHCl}_3 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} : \text{C}_4\text{H}_8\text{O}$.
6. Menghitung nilai Rf yang dihasilkan.

Nilai Rf dapat ditentukan dari persamaan berikut :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

1.3.3. Pengujian Angka Lempeng Total

1. Timbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi berikut:
Ekstrak daging 3 gr
Peptone 5 gr
Agar 15 gr
Aquades 1000 ml
2. Larutkan agar dengan mengaduk secara konstan diatas hot plate stirrer (jangan sampai overheat, karena akan terbentuk busa dan memuai sehingga tumpah)
3. Larutkan peptone dan ekstrak daging, cukup dengan pengadukan sampai homogen.
4. Ukur pH media. Jika pH tidak netral maka dapat ditambahkan HCl/NaOH.
5. Tuang media steril ke cawan petri steril.
6. Aplikasikan sampel ke media dengan cara tanam sebar.

Nilai angka lempeng total dapat diperoleh dari persamaan berikut :

$$\text{CFU/ml} = \frac{\sum C}{n} \times d$$

Dimana :

$\sum C$ jumlah koloni yang dihitung pada cawan

n jumlah cawan yang digunakan pada pengenceran

d jumlah sampel yang diinokulasi

CFU/ml satuan total mikroba yang tumbuh

1.3.4. Pengujian Kadar Air

1. Menimbang cawan porselen kosong sebagai a gr.
2. Memasukkan 2 gr sampel ke dalam cawan porselen, kemudian timbang sebagai b gr.
3. Masukkan kedalam oven 105°C selama 1 jam, dinginkan dalam desikator kemudian timbang sebagai c gr.
4. Selanjutnya dilakukan perhitungan total kadar air dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100 \%$$

2. Data Pengamatan

2.1. Batch I

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------------|----------|
| 246,9 | 219,38 | 11,17 | 0,53 | 7×10^{-4} | 0,98 |

2.2. Batch II

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 382,21 | 315,43 | 17,47 | - | - | - |

2.3. Batch III

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 263,18 | 205,05 | 22 | - | - | - |

2.4. Batch IV

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 256,22 | 217,29 | 15,19 | - | - | - |

3. Hasil Perhitungan

3.1. Total penyusutan

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{\text{berat sebelum dihaluskan} - \text{berat setelah dihaluskan}}{\text{berat sebelum dihaluskan}} \times 100 \%$$

3.1.1. Bahan Baku

Bahan baku yang diterima = 15 kg (keadaan lembab)

Setelah pengeringan = 13,5 kg

Total penyusutan = 15 kg – 13,5 kg

= 2,5 kg

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(15 - 13,5) \text{ kg}}{15 \text{ kg}} \times 100 \%$$

= 16,6 %

3.1.2. Batch I

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(246,98 - 219,38) \text{ gr}}{246,98 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 11,17 %

3.1.3. Batch II

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(382,21 - 315,43) \text{ gr}}{382,21 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 17,47 %

3.1.4. Batch III

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(263,18 - 205,05) \text{ gr}}{263,18 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 22 %

3.1.5. Batch IV

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(256,22 - 217,29) \text{ gr}}{256,22 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 15,19 %

3.2. Identifikasi Saponin

3.2.1. Penentuan Rf larutan baku sampel 100 ppm

$$R_f = \frac{4,8 \text{ cm}}{5 \text{ cm}}$$

= 0,96

3.2.2. Penentuan Rf larutan sampel

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{4,9 \text{ cm}}{5 \text{ cm}} \\ &= 0,98 \end{aligned}$$

3.3. Angka Lempeng Total

$$\begin{aligned} \text{CFU/ml} &= \frac{7+5+9}{3} \times 10^{-4} \\ &= 7 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

3.4. Kadar Air

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar Air} &= \frac{45,20-44,13}{(45,20 - 43,20) \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 0,53 \% \end{aligned}$$

Nilai persentase kadar air ini sangat berpengaruh terhadap ketahanan kapsul. Semakin tinggi kadar air maka keadaan serbuk dalam kapsul akan semakin lembab dan dapat menyebabkan kerusakan, penurunan kualitas, memicu adanya pertumbuhan jamur yang dapat merusak fungsi dari serbuk tersebut. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, kadar air dari sediaan serbuk dalam kapsul tersebut hanya 0,53 %.

Produksi



Didik Agustami

Palembang, 05 November 2021

Dibuat Oleh,
Quality Control



Tria Nur Jannah, A.Md.T.

Mengetahui,
Direktur Utama



Wiratama Endika SID

HASIL UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUB KRONIK BAHAN BAKU PRODUK

I. HASIL UJI TOKSISITAS AKUT MENGGUNAKAN METODE *FIXED DOSE*

PROSEDUR PENGUJIAN UJI TOKSISITAS AKUT

Sebelum dilakukan prosedur pengujian, hewan uji harus diaklimatisasi selama 7 hari. Selama masa aklimatisasi hewan uji diberi minum dan pakan standar. Sebelum diberi perlakuan hewan uji dipuasakan dahulu selama 14-18 jam, namun air minum boleh diberikan.

1. Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan, jumlah hewan uji yang digunakan masing-masing 1 ekor untuk tiap tingkatan dosis. Dosis yang digunakan dapat dipilih dari tingkatan *fixed dose*: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB. Pengujian kali ini dosis awal yang digunakan adalah 5 mg/kgBB (1). Pada uji pendahuluan digunakan 2 ekor tikus, 1 ekor tikus sebagai kontrol normal yang diberi akuades dan tikus lainnya diberi sediaan uji dosis tunggal 5 mg/kgBB menggunakan oral sonde. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 5 mg/kgBB. Namun jika tidak terjadi kematian ataupun kemunculan gejala toksik pada hewan uji, maka uji pendahuluan dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 50 mg/kgBB. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 50 mg/kgBB. Namun jika pada dosis 50 mg/kgBB tidak menghasilkan kematian dan gejala toksik pada hewan uji maka dosis awal dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 300 mg/kgBB. Jika hanya terjadi efek toksik saja maka dosis awal untuk uji utama ditetapkan 300 mg/kgBB. Namun jika pada dosis 300 mg/kgBB tidak menghasilkan kematian dan gejala toksik pada hewan uji maka dosis awal dilanjutkan dengan menaikkan dosis menjadi 2000 mg/kgBB. Pengamatan secara rutin dilakukan pada 4 jam pertama setelah pemberian dosis selama 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap ada tidaknya kematian ataupun gejala toksik yang muncul dari hewan uji. Interval waktu pengamatan minimal 24 jam pada setiap dosis.

2. Uji Utama

Sebelum diberi perlakuan hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari. Hewan uji dipuasakan selama 14-18 jam, namun air minum boleh diberikan. Setelah dipuasakan, hewan ditimbang dan diberikan sediaan uji dalam dosis tunggal secara oral menggunakan sonde. Setelah diberikan perlakuan, pakan boleh diberikan kembali setelah 3-4 jam (2). Dosis awal yang dipilih untuk uji utama ditentukan dari hasil yang diperoleh pada uji pendahuluan. Pada uji utama ini hewan uji dilebihkan 1 ekor pada tiap kelompok untuk mencegah kekurangan sampel jika terjadi kematian atau hilangnya hewan uji pada saat penelitian. Sehingga hewan uji yang digunakan pada uji utama sebanyak 5 ekor setiap kelompok. Kelima ekor hewan uji tersebut terdiri dari 1 ekor hewan dari uji pendahuluan dan 4 ekor hewan tambahan. (2). Jika pada uji pendahuluan tidak ada kematian pada tingkat dosis 2000 mg/kgBB maka tidak perlu diberikan dosis melampaui 2000 mg/kgBB. Pengamatan secara rutin dilakukan pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji dan secara periodik setiap 4 jam selama 24 jam pertama kemudian sehari sekali selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan meliputi ada tidaknya kematian ataupun gejala toksik yang ditunjukkan oleh hewan uji (2).

Tabell. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus)

| Dosis (mg/kgBB) | Kematian | Kategori |
|--------------------|--|-------------------------|
| 5 | ≥ 2 dari 5 ekor mati | 1 |
| 5 | ≥ 1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 2 |
| 50 | ≥ 2 dari 5 ekor mati | |
| 50 | ≥ 1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 3 |
| 300 | ≥ 2 dari 5 ekor mati | |
| 300 | ≥ 1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau < 1 mati | 4 |
| 2000 | ≥ 2 dari 5 ekor mati | |
| 2000 | ≥ 1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian | 5 |
| | Tidak ada gejala toksisitas | 5 / <i>unclassified</i> |

(Keterangan: 1. Sangat toksik; 2. Toksik; 3. Toksik sedang; 4 Toksik ringan; 5. Praktis tidak toksik) (sumber: OECD, 2001)

3. Pengamatan

Hal-hal yang harus diamati dalam periode observasi yaitu jumlah hewan yang mengalami gejala toksik, seperti perubahan tingkah laku hewan (jalan mundur, jalan menggunakan perut, tremor, diare, dan salivasi.), serta jumlah hewan yang mati selama uji. Berat badan masing-masing hewan uji harus dicatat pada saat sebelum diberikan sediaan uji dan 2 minggu setelahnya. Pada akhir penelitian, hewan yang masih bertahan hidup ditimbang dan kemudian dikorbankan. Seluruh hewan (termasuk yang mati selama penelitian maupun yang dikorbankan) harus dinekropsi. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap makroskopik organ berupa perubahan bentuk, warna, dan bobot organ (khususnya organ hati, ginjal, dan jantung). Selain itu dilakukan juga pengukuran kadar parameter biokimia berupa SGOT, SGPT, kreatinin dan ureum pada darah hewan uji.

4. Penetapan Kadar biokimia

Pemeriksaan kadar biokimia dilakukan dengan menggunakan alat Biosystem A15 di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang. Pengambilan sampel darah hewan uji dilakukan dengan metode plexus retro-orbital dari vena bagian mata. Darah ditampung ke dalam tabung *vacutainer* non-EDTA. Darah disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 5000 rpm. Serum yang terpisah dimasukkan ke dalam kuvet yang telah disiapkan menggunakan mikropipet. Tiap kadar parameter biokimia (SGOT, SGPT, Kreatinin, Ureum) dihitung menggunakan A15 Analyzer. Pengoperasian A15 Analyzer menggunakan komputer.

Tabel 2. Reagen Penetapan Kadar SGOT, SGPT, Ureum, dan Kreatinin

| Kadar | Reagen 1 (R ₁) | Reagen 2 (R ₂) |
|-----------------|---|--|
| SGOT (4:1) | Tris 121 mmol/L, L-aspartate 362 mmol/L, Malate dehydrogenase >460 U/L, Lactate dehydrogenase >660 U/L, pH 7,8 | NADH 1,9 mmol/L, 2-Oxoglutarate 75 mmol/L, Sodium hydroxide 148 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| SGPT (4:1) | Tris 150 mmol/L, L-alanin 750 mmol/L, Lactate dehydrogenase >1350 U/L, pH 7,3 | NADH 1,9 mmol/L, 2-Oxoglutarate 75 mmol/L, Sodium hydroxide 148 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| Urea (4:1) | Tris 100 mmol/L, 2-Oxoglutarate 5,6 mmol/L, Urease >140 U/mL, Glutamate dehydrogenase >140 U/mL, Etileneglicol 220 g/L, Sodium azide 0,95, pH 7,3 | NADH 1,5 mmol/L, Sodium azide 9,5 g/L |
| Kreatinin (1:1) | NaOH 0,4 mol/L, Detergent | Picric acid 25 mmol/L |

Prosedur pengoperasian dimulai dengan membuka aplikasi A15 Analyzer. Sampel dibedakan dengan menggunakan "kode sampel". Klik indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang akan dihitung. Klik posisi untuk menentukan posisi kuvet pada rak A15 Analyzer. Masukkan kuvet yang berisi serum ke dalam rak A15 Analyzer. Kemudian klik *accept* dan *continue*. A15 Analyzer secara otomatis mengambil sampel serum di dalam kuvet dan reagen dari indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang akan dihitung. Kemudian secara otomatis alat akan menghitung konsentrasi dari indikator (SGOT, SGPT, Kreatinin, atau Ureum) yang dihitung. Hasil pengukuran akan tampil dilayar monitor (3).

5. Analisis Data

Analisis data penelitian diproses dengan aplikasi pengolah data SPSS. Hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas (*Normality Test*). Untuk mengetahui adanya perbedaan berat badan, kadar SGOT, SGPT, kreatinin, dan kadar ureum hewan uji pada saat sebelum dan sesudah perlakuan, data berat badan hewan uji yang diperoleh dianalisis dengan uji T berpasangan (*Paired T-test*). Untuk data bobot organ dan juga kadar SGOT, SGPT, kreatinin, serta kadar ureum dilakukan uji T independen (*Independent T-test*), analisis ini dilakukan untuk membandingkan 2 kelompok perlakuan yang berbeda.

HASIL UJI TOKSISITAS AKUT

1. Berat Badan Tikus Tabel 3. Bobot tikus

| Kelompok | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| kontrol | 246,75 | 246,01 | 246,15 | 245,53 | 245,76 | 245,92 | 245,04 | 245,45 | 245,73 | 244,97 | 245,06 | 245,22 | 245,51 | 245,67 | 245,72 |
| | 208,22 | 208,63 | 208,81 | 208,93 | 209,32 | 209,96 | 210 | 210,22 | 210,54 | 210,99 | 211,26 | 211,74 | 212,05 | 212,22 | 212,56 |
| | 219,63 | 220,06 | 220,25 | 221,68 | 221,9 | 222,49 | 223,09 | 223,63 | 224,14 | 224,83 | 225,08 | 225,19 | 225,22 | 225,32 | 225,62 |
| | 234,7 | 234,98 | 234,21 | 234,38 | 233,45 | 233,81 | 233,77 | 232,92 | 232,13 | 232,37 | 232,58 | 232,7 | 232,92 | 233,17 | 233,25 |
| | 230,07 | 230,73 | 231,24 | 231,6 | 231,74 | 232,4 | 233,36 | 234,82 | 235,13 | 235,94 | 236,4 | 237,02 | 237,79 | 238,91 | 239,52 |
| Rata-rata±sd | 227,87 ±14,68 | 228,08 ±14,31 | 228,13 ±14,20 | 228,42 ±13,82 | 228,43 ±13,64 | 228,92 ±13,47 | 229,05 ±13,18 | 229,41 ±13,23 | 229,53 ±13,14 | 229,82 ±12,78 | 230,08 ±12,75 | 230,37 ±12,69 | 230,70 ±12,77 | 231,06 ±12,92 | 231,33 ±12,87 |
| | 209,65 | 208,06 | 207,98 | 207,17 | 207,76 | 207,98 | 208,04 | 208,87 | 207,23 | 207,72 | 207,58 | 207,75 | 207,09 | 207,9 | 208,1 |
| | 230,29 | 231,63 | 232,02 | 232,22 | 233,38 | 234,28 | 235,25 | 236,57 | 237,71 | 238,14 | 238,96 | 239,42 | 239,95 | 240,35 | 240,69 |
| | 240,79 | 241,12 | 241,19 | 241,48 | 241,96 | 242,67 | 242,47 | 242,62 | 242,43 | 243,24 | 243,51 | 243,78 | 243,96 | 244,01 | 244,27 |
| | 210,7 | 211,34 | 211,91 | 212,34 | 213 | 213,75 | 214,03 | 214,76 | 215,46 | 215,8 | 216,54 | 216,83 | 216,98 | 217,17 | 217,38 |
| | 202,38 | 202,88 | 203,45 | 204,16 | 205,01 | 205,79 | 207,44 | 207,82 | 208,03 | 208,15 | 208,21 | 208,51 | 208,97 | 209,04 | 209,37 |
| Rata-rata±sd | 218,76 ±16,08 | 219,01 ±16,49 | 219,31 ±16,39 | 219,47 ±16,46 | 220,22 ±16,47 | 220,89 ±16,58 | 221,45 ±16,31 | 222,13 ±16,30 | 222,17 ±16,73 | 222,61 ±16,91 | 222,96 ±17,13 | 223,26 ±17,19 | 223,39 ±17,41 | 223,69 ±17,30 | 223,96 ±17,32 |

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| BB sebelum | Kontrol | .159 | 5 | .200* | .992 | 5 | .987 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .292 | 5 | .190 | .900 | 5 | .409 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| BB sesudah | Kontrol | .159 | 5 | .200* | .973 | 5 | .894 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .248 | 5 | .200* | .832 | 5 | .144 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Paired Samples Test

| | Paired Differences | | | | | | | |
|--|--------------------|----------------|-----------------|---|---------|-------|----|-----------------|
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | t | df | Sig. (2-tailed) |
| | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 kontrol BB sebelum - kontrol BB sesudah | -3.46000 | 4.67235 | 2.08954 | -9.26149 | 2.34149 | 1.656 | 4 | .173 |
| Pair 2 Dosis BB sebelum - Dosis BB sesudah | -5.20000 | 4.49876 | 2.01191 | -10.78595 | .38595 | 2.585 | 4 | .061 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan bobot tikus.

2. Gejala Klinis dan Kematian Hewan Uji

a. uji pendahuluan

Tabel 4. Gejala klinis dan kematian hewan uji

| Kelompok | Jumlah Tikus | Gejala Klinis | | | | | Kematian hewan uji |
|---------------------|--------------|---------------|---|---|---|---|--------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Kontrol | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 5 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 50 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 300 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 2000 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |

b uji utama

Tabel 5. Gejala klinis dan kematian hewan uji selama 14 hari pengamatan

| Kelompok | Tikus | Gejala Klinis | | | | | Kematian hewan uji |
|---------------------|-------|---------------|---|---|---|---|--------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Kontrol | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |
| Dosis 2000 mg/Kg BB | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - | - |

Keterangan : 1. Salivasi; 2. Diare; 3. Jalan menggunakan perut; 4. Jalan mundur; dan 5. Tremor (-) tidak menunjukkan gejala atau kematian hewan uji

3. Kadar Biokimia Tikus

3.1 SGOT

a. Data kadar SGOT

Tabel 6. Kadar SGOT tikus

| Tikus | SGOT Kontrol | | SGOT Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|--------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 197.0 | 165.0 | 209.0 | 249.0 |
| 2 | 191.0 | 219.0 | 186.0 | 163.0 |
| 3 | 221.0 | 168.0 | 179.0 | 166.0 |
| 4 | 233.0 | 173.0 | 227.0 | 202.0 |
| 5 | 215.0 | 244.0 | 185.0 | 148.0 |
| Rata-rata±sd | 211.40±17.29 | 193,80±35.65 | 197.20±20.20 | 185,60±40.61 |

Kesimpulan : berdasarkan tabel, kadar masih dalam batas normal. Kadar normal SGOT tikus jantan menurut (4) adalah 60-300 U/L.

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGOT sebelum Kontrol | .198 | 5 | .200* | .951 | 5 | .742 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .242 | 4 | . | .937 | 4 | .635 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGOT sebelum | Equal variances assumed | | .312 | .592 | 1.194 | 8 | .267 | 14.20000 | 11.89117 |
| | Equal variances not assumed | | | | 1.194 | 7.813 | .267 | 14.20000 | 11.89117 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sebelum perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

| Tests of Normality | | | | | | | |
|--------------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | Kelompok | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGOT sesudah | Kontrol | .320 | 5 | .103 | .827 | 5 | .131 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .285 | 5 | .200* | .888 | 5 | .347 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGOT sesudah | Equal variances assumed | | .030 | .866 | .339 | 8 | .743 | 8.20000 | 24.16609 |
| | Equal variances not assumed | | | | .339 | 7.868 | .743 | 8.20000 | 24.16609 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar SGOT.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | t | Df | Sig. (2-tailed) |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|----------|------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | | | |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Kontrol SGOT sebelum - Kontrol SGOT sesudah | 1.76000E1 | 43.32782 | 19.37679 | -36.19859 | 71.39859 | .908 | 4 | .415 |
| Pair 2 | Dosis SGOT sebelum - Dosis SGOT sesudah | 1.16000E1 | 30.07989 | 13.45214 | -25.74912 | 48.94912 | .862 | 4 | .437 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar SGOT.

3.2 SGPT

a. Data kadar SGPT

Tabel 7. Kadar SGPT tikus

| Tikus | SGPT Kontrol | | SGPT Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|--------------|-------------|-------------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 83.0 | 86.0 | 71.0 | 113.0 |
| 2 | 71.0 | 76.0 | 82.0 | 77.0 |
| 3 | 72.0 | 80.0 | 68.0 | 79.0 |
| 4 | 80.0 | 77.0 | 73.0 | 72.0 |
| 5 | 69.0 | 101.0 | 67.0 | 84.0 |
| Rata-rata±sd | 75.00±6.12 | 84.00±10.27 | 72.20±5.97 | 85.00±16.23 |

Menurut Nagmoti *et al.* (5) batas kadar normal SGPT untuk tikus putih yaitu 65,12–111,50 U/L. kadar SGPT dari tikus ke 1 setelah pemberian sediaan uji berada diatas batas normal kadar SGPT tikus, namun peningkatan kadar tidak sampai 2 kali lipat dari sebelumnya. Kenaikan kadar SGOT maupun SGPT hingga 2-4 kali dari nilai normal baru menunjukkan terjadinya kerusakan ringan (6).

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| SGPT sebelum Kontrol | .288 | 5 | .200* | .878 | 5 | .301 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .247 | 5 | .200* | .875 | 5 | .286 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGPT sebelum | Equal variances assumed | | .272 | .616 | .732 | 8 | .485 | 2.80000 | 3.82623 |
| | Equal variances not assumed | | | | .732 | 7.995 | .485 | 2.80000 | 3.82623 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Kelompok | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| SGPT sesudah | Kontrol | .252 | 5 | .200* | .836 | 5 | .155 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .325 | 5 | .092 | .795 | 5 | .073 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| SGPT sesudah | Equal variances assumed | | .463 | .515 | -.116 | 8 | .910 | -1.00000 | 8.59069 |
| | Equal variances not assumed | | | | -.116 | 6.761 | .911 | -1.00000 | 8.59069 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar SGPT.

**d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan
Paired Samples Test**

| | | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|----------|--------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | | | |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Kontrol SGPT sebelum - Kontrol SGPT sesudah | -9.00000 | 13.47219 | 6.02495 | -25.72794 | 7.72794 | -1.494 | 4 | .210 |
| Pair 2 | Dosis SGPT sebelum - Dosis SGPT sesudah | -1.28000E1 | 18.57956 | 8.30903 | -35.86957 | 10.26957 | -1.540 | 4 | .198 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar SGPT.

3.3 Kreatinin

a. Data kadar kreatinin

Tabel 8. Kadar Kreatinin tikus

| Tikus | Kreatinin Kontrol | | Kreatinin Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|-------------------|-----------|------------------------------|-----------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 0.47 | 0.31 | 0.4 | 0.49 |
| 2 | 0.45 | 0.49 | 0.44 | 0.52 |
| 3 | 0.58 | 0.35 | 0.33 | 0.44 |
| 4 | 0.69 | 0.34 | 0.54 | 0.41 |
| 5 | 0.26 | 0.49 | 0.27 | 0.28 |
| Rata-rata±sd | 0.49±0.16 | 0.40±0.09 | 0.40±0.10 | 0.43±0.09 |

Kesimpulan : berdasarkan tabel, kadar masih dalam batas normal. Rentang normal kreatinin pada tikus wistar yaitu 0,2-0,8 mg/dL (7).

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| | Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Kreatinin sebelum | Kontrol | .202 | 5 | .200* | .977 | 5 | .916 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .138 | 5 | .200* | .989 | 5 | .975 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|-------------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | Df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| kreatinin sebelum | Equal variances assumed | | .625 | .452 | 1.100 | 8 | .303 | .09400 | .08542 |
| | Equal variances not assumed | | | | 1.100 | 6.840 | .308 | .09400 | .08542 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------------|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| Kelompok | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Kreatinin sesudah | Kontrol | .301 | 5 | .156 | .801 | 5 | .083 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .223 | 5 | .200* | .922 | 5 | .543 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|-------------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | Df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| kreatinin sesudah | Equal variances assumed | | .106 | .754 | -.561 | 8 | .590 | -.03200 | .05701 |
| | Equal variances not assumed | | | | -.561 | 7.964 | .590 | -.03200 | .05701 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar Kreatinin.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | | | |
|--------|---|--------------------|----------------|-----------------|---|--------|-------|----|-----------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | t | df | Sig. (2-tailed) |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | Kontrol kreatinin sebelum - Kontrol kreatinin sesudah | .09400 | .22985 | .10279 | -.19139 | .37939 | .914 | 4 | .412 |
| Pair 2 | Dosis kreatinin sebelum - Dosis kreatinin sesudah | -.03200 | .09808 | .04386 | -.15378 | .08978 | -.730 | 4 | .506 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar kreatinin.

3.4 Ureum

a. Data kadar ureum

Tabel 9. Kadar ureum tikus

| Tikus | Ureum Kontrol | | Ureum Dosis 2000 mg/KgBB | |
|--------------|---------------|------------|--------------------------|------------|
| | Sebelum | Sesudah | Sebelum | Sesudah |
| 1 | 36.29 | 37.78 | 29.34 | 36.47 |
| 2 | 36.35 | 41.08 | 24.97 | 35.69 |
| 3 | 46.59 | 45.33 | 28.74 | 34.07 |
| 4 | 36.77 | 38.56 | 32.93 | 38.02 |
| 5 | 26.95 | 59.7 | 29.34 | 38.02 |
| Rata-rata±sd | 36.59±6.95 | 44.49±9.00 | 29.06±2.83 | 36.45±1.67 |

Batas normal kadar ureum tikus wistar yaitu 12-42 mg/dL (8). Berdasarkan tabel kadar ureum pada kelompok tikus berada dalam batas normal kadar ureum tikus, baik sebelum maupun sesudah pemberian kombinasi fraksi daun karamunting.

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sebelum perlakuan)

Tests of Normality

| kelompok | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------|---|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| ureum sebelum | 1 | .290 | 5 | .198 | .898 | 5 | .399 |
| | 2 | .219 | 4 | . | .974 | 4 | .864 |

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|------------------|--------------------------------|--|------|------------------------------|-------|--------------------|--------------------|--------------------------|
| | | F | Sig. | T | Df | Sig.(2- tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| ureum sebelum | Equal variances assumed | .840 | .386 | 2.243 | 8 | .055 | 7.52600 | 3.35465 |
| | Equal variances not assumed | | | 2.243 | 5.289 | .072 | 7.52600 | 3.35465 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (sesudah perlakuan)

Tests of Normality

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------|---|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| Kelompok | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| ureum sesudah | 1 | .263 | 5 | .200* | .811 | 5 | .099 |
| | 2 | .226 | 5 | .200* | .910 | 5 | .465 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|------------------|--------------------------------|--|------|------------------------------|-------|---------------------|--------------------|--------------------------|
| | | F | Sig. | T | df | Sig. (2- tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| ureum sesudah | Equal variances assumed | 4.401 | .069 | 1.963 | 8 | .085 | 8.03600 | 4.09291 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.963 | 4.276 | .117 | 8.03600 | 4.09291 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar ureum.

d. Uji t-berpasangan kelompok sebelum dengan sesudah perlakuan

Paired Samples Test

| | | Paired Differences | | | | | | | |
|--------|---|--------------------|-------------------|--------------------|---|----------|--------|----|---------------------|
| | | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | T | df | Sig. (2- tailed) |
| | | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 | kontrol ureum sebelum - kontrol ureum sesudah | -7.90000 | 14.05255 | 6.28449 | -25.34855 | 9.54855 | -1.257 | 4 | .277 |
| Pair 2 | dosis ureum sebelum - dosis ureum sesudah | -7.39000 | 2.36401 | 1.05722 | -10.32531 | -4.45469 | -6.990 | 4 | .002 |

Kesimpulan : nilai signifikan kelompok dosis menunjukkan $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan antarwaktu sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok dosis, namun masih dalam rentang normal kadar ureum tikus. Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap peningkatan kadar **SGPT**.

4.1 Bobot Relatif Organ tikus

Tabel 10. Bobot organ relatif tikus

| Kelompok | Tikus | Hati | Ginjal | Jantung |
|--------------------|-------|--------|--------|---------|
| Kontrol | 1 | 4,26 % | 0,64 % | 0,68 % |
| | 2 | 3,50 % | 0,70 % | 0,75 % |
| | 3 | 3,70 % | 0,59 % | 0,71 % |
| | 4 | 3,43 % | 0,57 % | 0,72 % |
| | 5 | 4,19 % | 0,67 % | 0,71 % |
| Dosis 2000 mg/KgBB | 1 | 4,47 % | 0,77 % | 0,77 % |
| | 2 | 3,69 % | 0,74 % | 0,71 % |
| | 3 | 3,91 % | 0,56 % | 0,71 % |
| | 4 | 3,39 % | 0,79 % | 0,75 % |
| | 5 | 4,06 % | 0,82 % | 0,78 % |

a. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ hati)
Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| organ hati Kontrol | .233 | 5 | .200* | .861 | 5 | .231 |
| dosis 2000 mg/KgBB | .150 | 5 | .200* | .995 | 5 | .994 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|------------|-----------------------------|--|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| organ hati | Equal variances assumed | | .000 | .987 | -.175 | 7 | .866 | -.04900 | .28047 |
| | Equal variances not assumed | | | | -.171 | 5.967 | .870 | -.04900 | .28634 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ hati

b. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ ginjal)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|--------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| organ ginjal | Kontrol | .192 | 5 | .200* | .953 | 5 | .762 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .316 | 5 | .114 | .816 | 5 | .109 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

>> Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|--------------|-----------------------------|-----------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | T | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| organ ginjal | Equal variances assumed | variances | .750 | .412 | -1.966 | 8 | .085 | -.10200 | .05188 |
| | Equal variances not assumed | variances not assumed | | | -1.966 | 6.066 | .096 | -.10200 | .05188 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ ginjal.

c. Uji normalitas dan uji t-independent antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/KgBB (organ jantung)

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|---------------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|------|
| | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| organ jantung | Kontrol | .237 | 5 | .200* | .950 | 5 | .740 |
| | dosis 2000 mg/KgBB | .250 | 5 | .200* | .862 | 5 | .234 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan uji normalitas : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal.

Independent Samples Test

| | | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | |
|---------------|-----------------------------|-----------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference |
| organ jantung | Equal variances assumed | variances | 1.251 | .296 | -1.622 | 8 | .143 | -.03000 | .01849 |
| | Equal variances not assumed | variances not assumed | | | -1.622 | 7.482 | .146 | -.03000 | .01849 |

Kesimpulan : nilai signifikan menunjukkan $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol sesudah perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ jantung.

2. HASI UJI TOKSISITAS SUB KRONIS

4.1 Preparasi Fraksi Daun Karamunting

Tanaman karamunting yang digunakan telah dilakukan identifikasi ditempat Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Padang, Sumatera Barat. Persen rendemen fraksi daun karamunting yang menggunakan pelarut *n*-heksana diperoleh sebesar 3,78% dan fraksi dengan pelarut etil asetat diperoleh sebesar 10,15%. Fraksi *n*-heksana daun karamunting diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu steroid, tanin, dan fenol (tahun ke 2). Berdasarkan penelitian tahun ke 2 yang menggunakan sampel daun karamunting dari daerah yang sama, diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun karamunting yaitu senyawa flavonoid, tanin, steroid, fenol, dan saponin.

4.2 Berat Badan Tikus

Berat badan tikus adalah salah satu data pendukung guna melihat pengaruh toksisitas. Penimbangan berat badan dilakukan dua kali dalam seminggu. Data penimbangan berat badan disajikan dalam bentuk gambar grafik sebagai berikut: Berdasarkan gambar 6 dan 7, menunjukkan terjadinya peningkatan bobot setiap minggunya. Perubahan berat badan dapat terjadi karena proses pertumbuhan yang dialami oleh tikus (9). Secara statistik, kelompok tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa pada uji *One Way ANOVA* tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p > 0,05$). Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak berpengaruh terhadap berat badan tikus. Pada uji *t*-berpasangan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$) untuk kelompok tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi peningkatan berat badan tikus.

Berdasarkan analisis statistik berat badan tikus kelompok satelit, menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok dosis dengan kelompok kontrol. Sedangkan uji *t*-berpasangan menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara sebelum dengan sesudah perlakuan pada semua kelompok. Artinya terdapat peningkatan berat badan yang signifikan pada kelompok satelit. Hal ini dapat terjadi karena untuk kelompok satelit dilakukan pengamatan lanjut selama 14 hari setelah pemberian sediaan uji, sehingga proses pertumbuhan dapat lebih meningkat.

4.3 Gejala Klinis dan Kematian Hewan Uji

Pengamatan terhadap gejala toksisitas diantaranya dengan melihat gejala klinis yang dialami selama penelitian serta kematian hewan uji. parameter kualitatif gejala klinis yang diamati yaitu salivasi, diare, jalan menggunakan perut, jalan mundur, dan tremor. Hasil pengamatan gejala toksisitas hewan uji dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4. Gejala toksisitas hewan uji selama 0-28 hari

| Parameter | Tikus | Na-CMC 0.5% | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|----------------------------|-------|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Salivasi | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Diare | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Jalan menggunakan perut | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Jalan mundur | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Tremor | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - |
| Kematian hewan uji | | - | - | - | 1 |

Keterangan : (-) tidak ada gejala
(1) Hari ke-14

Tabel 5. Gejala toksisitas kelompok satelit selama 0-42 hari

| Parameter | Tikus | Na-CMC 0.5% | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|-----------|-------|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Salivasi | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |

| | | | | | |
|-------------------------|---|---|---|---|---|
| Diare | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Jalan menggunakan perut | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Jalan mundur | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Tremor | 1 | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - |
| Kematian hewan uji | | - | - | - | - |

Berdasarkan tabel 4, menunjukkan tidak adanya gejala klinis, namun terdapat 1 ekor hewan uji kelompok dosis 800 mg/KgBB yang mati pada hari ke-14. Hewan uji yang mati ditemukan dalam keadaan kaku sehingga tidak dapat dilakukan otopsi. Kematian kemungkinan dapat disebabkan oleh faktor eksternal seperti stress hewan uji atau sifat kanibal yang dimiliki oleh tikus. Sedangkan pada tabel 5, menunjukkan tidak adanya gejala toksisitas pada hewan uji kelompok satelit.

4.4 Kadar Hematologi Tikus

Pengambilan darah tikus dilakukan dengan metode *plexus retro-orbital* dari vena mata. Organ mata tikus dapat beregenerasi dengan cepat, sehingga darah bisa diambil kembali pada organ yang sama untuk pengukuran selanjutnya dan juga kemungkinan mendapatkan darah yang lisis itu kecil serta mudah dilakukan (10). Pemeriksaan hematologi penelitian ini terdiri dari kadar hemoglobin, jumlah eritrosit, dan jumlah leukosit. Data hasil pemeriksaan kadar hematologi dapat dilihat pada lampiran 8. Rata-rata pemeriksaan hematologi dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 6. Rata-rata Hemoglobin sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Kadar Hemoglobin (g/dL) | |
|-------------------|-------------------------|------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 11.40±0.10 | 15.20±0.10 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 9.90±0.44 | 14.10±1.08 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 10.17±0.68 | 14.30±2.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 10.60±2.10 | 12.63±5.31 |

Berdasarkan tabel 6, pada kelompok tikus sebelum pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa adanya kadar Hb yang berada dibawah rentang normal. Rentang normal kadar Hb tikus menurut Mitruka dan Rawnsly (11) yaitu 11,1-18 g/dL. Penurunan kadar Hb dapat terjadi pada anemia, sirosis, hipertiroidisme, perdarahan, dan peningkatan asupan cairan (12). Setelah 28 hari pemberian sediaan uji menunjukkan terjadinya peningkatan kadar Hb, namun masih dalam batas normal.

Tabel 7. Rata-rata Eritrosit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) | |
|-------------------|---|-----------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 6.07±0.21 | 8.58±0.24 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 5.30±0.36 | 7.53±0.78 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 5.23±0.15 | 7.76±0.58 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 5.77±1.12 | 6.34±2.66 |

Rentang normal kadar eritrosit yaitu $7,2-9,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Berdasarkan tabel 7, kadar eritrosit terjadi peningkatan namun masih dalam rentang normal. Sedangkan untuk kelompok sebelum pemberian sediaan uji menunjukkan kadar eritrosit dibawah batas normal. Jumlah sel darah dapat menurun pada anemia, penurunan fungsi ginjal, dan hemolisis (12). Sel darah merah juga dapat menurun karena perdarahan dan malnutrisi.

Berdasarkan uji ANOVA, kadar eritrosit sebelum dan sesudah menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Sedangkan dari uji t-berpasangan menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p<0,05$) pada kelompok kontrol dan kelompok dosis, kecuali kelompok dosis 800 mg/KgBB. Artinya terdapat peningkatan yang signifikan pada kelompok tersebut, namun rata-rata kadar eritrosit pada kelompok kontrol, kelompok dosis 200 mg/KgBB, dan kelompok dosis 400 mg/KgBB masih dalam batas normal eritrosit tikus. Peningkatan signifikan yang terjadi bukan berarti dipengaruhi oleh pemberian kombinasi fraksi daun karmunting, karena pada dosis 800 mg/KgBB tidak menunjukkan adanya peningkatan signifikan terhadap kadar eritrosit

Tabel 8. Rata-rata Leukosit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Jumlah Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$) | |
|-------------------|--|------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 15.13±1.90 | 14.03±2.78 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 13.90±4.33 | 15.87±2.44 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 11.27±0.59 | 11.43±1.88 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 12.50±1.30 | 11.93±0.67 |

Rentang normal kadar leukosit tikus yaitu $3-14,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Kadar leukosit pada tabel 8 menunjukkan bahwa terdapat penurunan dan peningkatan kadar setelah pemberian sediaan uji. Penurunan leukosit tikus masih dalam rentang normal. Terjadinya peningkatan jumlah leukosit diatas normal kemungkinan dapat disebabkan oleh adanya perdarahan, trauma, nekrosis, toksin, leukemia, makanan, ataupun stres (12).

Data kadar leukosit tikus baik sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji, dari hasil analisis ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna ($p>0,05$) antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Begitu juga dengan uji t-berpasangan yang menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) untuk tiap kelompok tikus antarwaktu sebelum dengan sesudah pemberian sediaan uji. Artinya bahwa pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi kadar leukosit tikus.

Tabel 9. Rata-rata kadar hematologi kelompok satelit

| Kelompok | Hb (g/dL) | Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) | Leukosit ($10^3/\text{mm}^3$) |
|-------------------|------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Na-CMC 0.5% | 14.50±0.85 | 7.05±0.07 | 9.45±4.60 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 14.25±1.63 | 7.95±0.07 | 11.95±3.61 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 14.80±0.00 | 7.75±0.35 | 12.95±2.19 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 13.45±1.63 | 7.30±1.27 | 14.10±1.13 |

Kadar hematologi pada kelompok satelit (tabel 9), menunjukkan bahwa baik kadar Hb maupun kadar eritrosit dan leukosit masih dalam rentang normal. Hasil analisis statistik ketiga kadar tersebut, menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Artinya kombinasi fraksi daun karamunting juga tidak mempengaruhi kadar hematologi untuk kelompok satelit.

Kadar hematologi dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis dan memantau toksisitas yang terjadi pada hewan uji (11). Parameter hematologi darah tidak memiliki pola yang konsisten antara peningkatan dosis dengan perubahan parameter hematologi dan terhadap waktu pengukuran. Pola yang tidak tetap ini diduga karena adanya faktor variasi sedikit dari hewan coba dalam satu kelompok (13).

4.5 Kadar Biokimia Tikus

Darah tikus diambil dengan metode *plexus retro-orbital* dari vena mata. Darah kemudian disentrifugasi untuk memisahkan plasma dengan serum, sehingga serum dapat digunakan untuk pemeriksaan kadar biokimia. Penentuan kadar biokimia dilakukan terhadap parameter SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum. Data hasil pemeriksaan kadar hematologi dapat dilihat pada lampiran 11. Berikut tabel rata-rata dari hasil pemeriksaan kadar biokimia:

Tabel 10. Rata-rata kadar pemeriksaan SGOT sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar SGOT (U/L) | |
|-------------------|------------------|----------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 171.54±2.40 | 257.63±13.62 a |
| Dosis 200 mg/KgBB | 186.54±58.82 | 224.80±16.89 a |
| Dosis 400 mg/KgBB | 154.15±22.91 | 251.19±14.05 a |
| Dosis 800 mg/KgBB | 247.72±34.24 | 306.92±30.86 b |

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda, berbeda nyata pada uji lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test) pada $\alpha=0,05$

SGOT merupakan enzim yang sebagian besar ditemukan dalam otot jantung dan hati, sementara dalam konsentrasi sedang dapat ditemukan pada otot rangka, ginjal, dan pankreas (14). Oleh karena itu, SGOT kurang spesifik terhadap kerusakan hati. Kadar normal SGOT tikus jantan menurut Hall (4) adalah 60-300 U/L. Berdasarkan tabel 10, menunjukkan bahwa terdapat kadar SGOT yang berada diatas batas normal kadar SGOT tikus serta menunjukkan terjadinya peningkatan kadar setiap kelompok. Peningkatan kadar SGOT dapat terjadi pada MI, penyakit hati, pankreatitis akut, trauma, serta anemia hemolitik akut (12). Kenaikan kadar SGOT maupun

SGPT hingga 2-4 kali dari nilai normal baru menunjukkan terjadinya kerusakan ringan (4). Sedangkan pada tabel tidak menunjukkan peningkatan kadar SGOT yang melebihi 2-4 kali dari nilai sebelum perlakuan.

Hasil uji statistik kadar SGOT dapat dilihat pada Lampiran 12A. Berdasarkan uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok sesudah pemberian sediaan uji. Dilihat dari uji lanjut *Post Hoc DMRT* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok dosis 800 mg/KgBB dengan kelompok kontrol serta dengan kelompok dosis 200 mg/KgBB dan juga dengan kelompok dosis 400 mg/KgBB. Dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB tidak menunjukkan perbedaan ($p > 0,05$) dengan kontrol. Hasil uji t-berpasangan kadar SGOT menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok kontrol, kelompok dosis 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB. Peningkatan yang signifikan pada kelompok kontrol dengan kelompok dosis 400 mg/KgBB masih dalam batas normal kadar SGOT tikus jantan. Sedangkan kelompok dosis 800 mg/KgBB, hal ini dapat dikaitkan dengan hasil pemeriksaan histologi, karena peningkatan kadar SGOT yang signifikan dapat disebabkan oleh banyak faktor, diantaranya yaitu trauma atau cedera otot.

Tabel 11. Rata-rata kadar pemeriksaan SGPT sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar SGPT (U/L) | |
|-------------------|------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 64.18±4.91 | 82.23±6.65 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 51.78±9.41 | 69.62±2.95 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 52.38±10.53 | 70.86±5.41 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 84.37±32.22 | 65.56±18.55 |

SGPT lebih banyak terdapat dalam hati dibandingkan jaringan otot jantung dan lebih spesifik menunjukkan fungsi hati daripada SGOT. Menurut Nagmoti *et al.* (2010) batas kadar normal SGPT untuk tikus putih yaitu 65,12–111,50 U/L. Berdasarkan tabel 11, menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar setelah pemberian sediaan uji. Nilai peningkatan kadar SGPT yang signifikan adalah dua kali lipat dari nilai normal (12). Peningkatan kadar SGPT tidak sampai 2 kali lipat dari kadar sebelum perlakuan dan kadar SGPT masih dalam batas normal.

Kadar SGPT berdasarkan hasil analisis statistiknya diperoleh hasil bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antar kelompok kontrol dengan kelompok dosis, baik untuk kadar sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi kadar SGPT. Begitu juga hasil dari uji t-berpasangan yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antarwaktu sebelum dan sesudah pemberian pemberian kombinasi fraksi daun karamunting. Namun, pada kelompok kontrol menunjukkan terjadinya peningkatan kadar SGPT secara signifikan ($p < 0,05$). Hal tersebut kemungkinan dapat disebabkan karena faktor yang tidak dapat dikontrol dalam penelitian, seperti faktor stress hewan uji.

Tabel 12. Rata-rata kadar pemeriksaan Kreatinin sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar Kreatinin (mg/dL) | |
|-------------------|-------------------------|-----------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 0.42±0.04 | 0.35±0.05 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 0.39±0.06 | 0.32±0.20 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 0.33±0.04 | 0.37±0.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 0.43±0.07 | 0.35±0.11 |

Berdasarkan rata-rata kadar kreatinin pada tabel 12, menunjukkan bahwa terdapat peningkatan dan penurunan kadar kreatinin. Konsentrasi kreatinin serum dapat meningkat pada gangguan fungsi ginjal baik yang disebabkan oleh nefritis, penyumbatan saluran urin, penyakit otot atau dehidrasi akut dan dapat menurun akibat distripi otot, atrofi, malnutrisi atau penurunan masa otot akibat penuaan (12). Peningkatan dan penurunan kadar kreatinin yang terjadi masih dalam rentang normal kreatinin pada tikus wistar yaitu 0,2-0,8 mg/dL (7).

Kadar kreatinin berdasarkan hasil analisis statistik (Lampiran 12C) menunjukkan bahwa antara kelompok normal dengan kelompok dosis tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Artinya tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar kreatinin. Pada uji t-berpasangan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol, namun peningkatan kreatinin secara signifikan masih dalam rentang normal kadar kreatinin tikus. Peningkatan yang signifikan pada kelompok kontrol dapat dipengaruhi oleh hal yang tidak dapat dikendalikan dalam penelitian, seperti faktor stres hewan uji.

Tabel 13. Rata-rata kadar pemeriksaan Ureum sebelum dan sesudah induksi

| Kelompok | Kadar Ureum (mg/dL) | |
|-------------------|---------------------|-------------|
| | Sebelum | Sesudah |
| Na-CMC 0.5% | 39.12±6.57 | 33.53±6.05 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 37.19±0.22 | 30.16±3.75 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 32.53±5.31 | 26.65±2.75 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 36.62±5.08 | 43.29±13.09 |

Berdasarkan kadar ureum pada tabel 13, menunjukkan bahwa kadar masih berada dalam batas normal kadar ureum tikus wistar yaitu 12-42 mg/dL (10). Kadar ureum sebelum maupun sesudah pemberian sediaan uji, berdasarkan hasil analisis ANOVA (Lampiran 12D) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok dosis. Artinya setelah pemberian sediaan uji menunjukkan bahwa pemberian kombinasi fraksi daun karamunting tidak mempengaruhi kadar ureum. Berdasarkan uji t-berpasangan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$). Hal tersebut berarti tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap kadar ureum antarwaktu sebelum dengan sesudah pemberian sediaan uji.

Tabel 14. Rata-rata kadar pemeriksaan biokimia kelompok satelit

| Kelompok | SGOT (U/L) | SGPT (U/L) | Kreatinin (mg/dL) | Ureum (mg/dL) |
|-------------------|--------------|-------------|-------------------|---------------|
| Na-CMC 0.5% | 251,92±76,35 | 58,18±11,03 | 0,65±0,14 | 43,11±0,85 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 314,90±63,62 | 83,98±16,96 | 0,65±0,09 | 45,81±6,35 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 275,91±8,49 | 80,98±12,72 | 0,58±0,11 | 42,52±8,46 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 287,91±50,89 | 69,28±29,27 | 0,65±0,01 | 37,73±5,93 |

Hasil analisis statistik ANOVA (Lampiran 13) untuk kadar SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum, diperoleh data yang terdistribusi normal ($p>0,05$). Berdasarkan analisis ANOVA, dapat diketahui bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) antar kelompok. Artinya pemberian kombinasi fraksi daun karamunting hingga hari ke-42 (kelompok satelit) dari setiap kelompok menunjukkan tidak berpengaruh terhadap setiap parameter biokimia tersebut.

4.6 Makroskopis Organ

Makroskopis organ dilakukan terhadap hati, ginjal, dan jantung. Berikut ini gambar hasil makroskopis organ kelompok kontrol:

Berdasarkan gambar 8, organ hati yang normal berwarna merah tua, organ ginjal berwarna merah kecoklatan, dan jantung berwarna merah. Hasil gambar makroskopis organ lainnya dapat dilihat pada lampiran 14. Pada lampiran 14A, menunjukkan adanya kerusakan organ hati pada satu atau dua ekor tikus dalam tiap kelompok setelah pemberian sediaan uji selama 28 hari. Sedangkan dalam lampiran 14B, secara makroskopis menunjukkan organ hati, ginjal, dan jantung yang normal dan tidak terdapat tanda-tanda kerusakan pada setiap organ tersebut. Hasil gambar makroskopis yang menunjukkan kerusakan organ hati diantaranya dapat dilihat sebagai berikut:

Berdasarkan gambar 9, menunjukkan adanya kerusakan organ hati yang ditandai dengan terbentuknya suatu massa dan bintik-bintik organ hati tikus. Menurut Robins dan Kumar (15), hati yang normal memiliki permukaan yang rata dan halus serta berwarna merah tua, sedangkan hati yang abnormal memiliki permukaan yang berbintik-bintik, terdapat kista dan mengalami perubahan warna misalnya berwarna kuning atau hitam. Namun, kerusakan yang terlihat pada organ hati bisa disebabkan karena hewan uji yang digunakan sudah terpapar penyakit atau terinfeksi sebelumnya, hal ini karena tidak semua tikus dari setiap kelompok menunjukkan tanda kerusakan secara makroskopis.

4.7 Bobot Organ Hati, Ginjal, dan Jantung

Pengamatan bobot organ bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ. Data bobot organ dapat digunakan sebagai penunjang untuk melihat lebih detail ada tidaknya kerusakan pada suatu organ. Data bobot organ relatif dapat dilihat pada lampiran 15. Berikut diperoleh rata-rata dari bobot organ relatif:

Tabel 15. Rata-rata bobot organ relatif sesudah pemberian sediaan uji

| Kelompok | Bobot Organ (%) | | |
|-------------------|-----------------|-----------|-----------|
| | Hati | Ginjal | Jantung |
| Na-CMC 0.5% | 3.25±0.46 | 0.72±0.05 | 0.51±0.03 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 3.81±0.51 | 0.77±0.08 | 0.52±0.01 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 3.67±0.27 | 0.74±0.08 | 0.54±0.03 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 4.03±0.70 | 0.78±0.07 | 0.56±0.02 |

Tabel 16. Rata-rata bobot organ relatif kelompok satelit

| Kelompok | Bobot Organ (%) | | |
|-------------------|-----------------|-----------|-----------|
| | Hati | Ginjal | Jantung |
| Na-CMC 0.5% | 4.36±0.37 | 0.77±0.03 | 0.48±0.01 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 4.09±0.19 | 0.75±0.03 | 0.50±0.11 |
| Dosis 400 mg/KgBB | 4.13±0.33 | 0.74±0.05 | 0.56±0.02 |
| Dosis 800 mg/KgBB | 3.66±0.35 | 0.78±0.02 | 0.55±0.01 |

Menurut Linder (16) menyatakan bahwa bobot relatif hati tikus yaitu 2,3-3,10% bobot badan dan bobot relatif ginjal tikus percobaan yaitu berkisar antara 0,4-0,9% bobot badan tikus. Sedangkan bobot relatif organ jantung tikus putih sebesar 0,26-0,58 (Schoeffner *et al.*, 1999). Berdasarkan tabel 15 dan 16 menunjukkan bahwa organ ginjal dan jantung masih dalam batas normal, sedangkan organ hati berada diatas batas normal untuk semua kelompok termasuk kelompok kontrol yang hanya diberi Na CMC 0,5%. Berdasarkan hasil statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) antara kelompok perlakuan dengan kelompok normal. Artinya bahwa tidak ada pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting terhadap organ hati, ginjal, dan jantung tikus.

4.7 Mikroskopis organ

Mikroskopis organ dilakukan pada hati dan ginjal tikus setelah 28 hari. Sampel organ menggunakan 1 ekor tikus setiap kelompoknya. Tikus yang digunakan sebagai sampel histologi yaitu tikus 1 pada semua kelompok uji. Berikut hasil skoring dan gambar kerusakan pada jaringan hati:

Tabel 17. Hasil skoring kerusakan organ hati

| Kelompok | Degenerasi hidropik | Degenerasi lemak | Nekrosis |
|-------------------|---------------------|------------------|----------|
| Kontrol | 0 | 0 | 0 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 1 (20%) | 1 (40%) | 1 (30%) |
| Dosis 400 mg/KgBB | 2 (30%) | 2 (60%) | 2 (40%) |
| Dosis 800 mg/KgBB | 2 (60%) | 2 (70%) | 3 (80%) |

Berdasarkan tabel 17, histologi hati pada kelompok kontrol dalam kondisi normal, dimana jaringan hati menunjukkan tidak adanya degenerasi dan nekrosis. Sedangkan pada kelompok dosis secara histologi menunjukkan bahwa semakin tinggi pemberian dosis kombinasi fraksi daun karamunting maka kerusakan semakin besar. Kelompok dosis mengalami kerusakan sel hati yang ditandai dengan adanya degenerasi hidropik, degenerasi lemak, dan nekrosis.

Degenerasi ditandai dengan perubahan sitoplasma sel karena cairan sel bertambah dan membengkak, tetapi inti sel dapat mempertahankan integritas selama sel tidak mengalami cedera yang parah. Degenerasi hidropik ditandai dengan sitoplasma mengalami vakuolisasi dan vakuola-vakuola Nampak jernih. Degenerasi hidropik merupakan kondisi dimana sel menerima cairan lebih banyak dari normalnya dan terakumulasi dalam sitoplasma sel sehingga sitoplasma sel membengkak. Degenerasi meleak pada hati menunjukkan ketidakseimbangan proses metabolisme, sehingga terjadi perubahan morfologi dan penurunan fungsi hepar akibat akumulasi lemak dalam sitoplasma (17). Degenerasi lemak ditandai dengan terbentuknya vakuola jernih yang berbentuk bulat pada sel hepar. Vakuola tersebut berisi lemak dan mendesak inti sel hepar ke tepi (18).

Pengamatan secara mikroskopis juga dilakukan terhadap ginjal. Pengamatan dilakukan untuk melihat kerusakan pada jaringan ginjal setelah pemberian kombinasi fraksi daun karamunting secara berulang selama 28 hari. Berikut data hasil skoring kerusakan dan gambar histologi ginjal perbesaran 100x dan 400x:

Tabel 18. Hasil skoring kerusakan organ ginjal

| Parameter | Kontrol | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|-------------------------|---------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dilatasi sel tubulus | 0 | 2 (60%) | 1 (10%) | 2 (60%) |
| Hilangnya brush border | 0 | 2 (60%) | 1 (10%) | 2 (60%) |
| Protein cast (silinder) | 0 | 1 (10%) | 0 | 1 (30%) |
| Vakuolisasi sel | 0 | 2 (60%) | 1 (5%) | 2 (60%) |
| Nekrosis | 0 | 1 (20%) | 1 (10%) | 1 (10%) |

Hasil mikroskopis ginjal menunjukkan kerusakan ginjal pada kelompok dosis yang ditandai dengan hilangnya brush border, dilatasi sel tubulus, terbentuknya protein cast, vakuolisasi sel, dan nekrosis, hal tersebut menunjukkan tanda-tanda terjadinya nekrosis tubular akut. Nekrosis merupakan kematian sel akibat jejas saat individu masih hidup. Secara mikroskopik terjadi perubahan inti yaitu hilangnya kromatin, robek (karioreksis), inti pucat tidak nyata (kariolisis). Vakuolisasi sel (ciri terjadinya degenerasi melemak) adalah proses terbentuknya rongga-rongga pada sel dinding kapiler tubulus sehingga inti sel menjadi tergeser ke tepi. Dilatasi atau pelebaran lumen tubulus ginjal dapat disebabkan oleh hilangnya brush border. Selain itu, kumpulan protein yang membentuk cast berakibat penyaluran melalui tubulus ginjal terhambat juga merangsang terjadi pelebaran atau dilatasi tubulus (19).

Berdasarkan tabel 18, kerusakan paling rendah terjadi pada kelompok dosis 400 mg/KgBB. Kelompok dosis 200 mg/KgBB lebih besar mengalami kerusakan dibandingkan dosis 400 mg/KgBB. Berdasarkan kadar biokimia, kadar ureum berada di atas batas normal, sedangkan kadar kreatinin masih dalam rentang normal. Kadar kreatinin lebih spesifik dari ureum dalam melihat kerusakan pada ginjal. Berdasarkan analisis statistik kadar biokimia (ureum dan kreatinin) menunjukkan tidak adanya pengaruh pemberian kombinasi fraksi daun karamunting. Kerusakan ginjal diduga dapat disebabkan oleh faktor lain yang tidak dapat dikontrol, seperti kondisi stres hewan uji. Kondisi stres menyebabkan penurunan aliran darah ke ginjal (20). Akibatnya ginjal kekurangan suplai oksigen, sehingga dapat menyebabkan terjadinya hipoksia. Sel tubulus ginjal yang mengalami hipoksia lebih mudah mengalami gangguan fungsi

5.1 Karakterisasi Fraksi *n*-heksan Daun Karamunting

Karakterisasi ekstrak merupakan suatu parameter pengukuran untuk dapat mengetahui mutu ekstrak berdasarkan syarat standar yang telah ditentukan. Karakterisasi fraksi terbagi menjadi parameter spesifik dan parameter non spesifik. Karakterisasi spesifik pada fraksi *n*-heksana daun karamunting meliputi organoleptik, pengujian kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Sedangkan, karakterisasi non spesifik fraksi meliputi pengujian kadar air, susut pengeringan, kadar abu tidak larut asam dan kadar abu total (21). Hasil karakterisasi fraksi *n*-heksana daun karamunting disajikan pada Tabel 3.

Table 3. Karakterisasi Fraksi *n*-heksana

| No. | Karakterisasi Ekstrak | Hasil (Rata-rata ± simpangan baku) | Persyaratan (Depkes, 2008) |
|---------------------------------|-------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Parameter Spesifik : | | | |
| 1. | Organoleptik | | |
| | Bentuk | Kental seperti karamel | |
| | Warna | Hijau kehitaman | - |
| | Bau | Khas ekstrak | |
| | Rasa | Pahit | |
| 2. | Kadar sari larut air | 3,34±8,89 | ≥11,5% |
| 3. | Kadar sari larut etanol | 31,67±5,77 | ≥11,4% |
| Parameter non spesifik : | | | |
| 1. | Kadar air | 6,67 ± 1,53% | ≤10% |
| 2. | Susut pengeringan | 7,16 ± 1,75% | ≤11% |
| 3. | Kadar abu total | 0,95 ± 0,09% | ≤ 16,6% |

| | | | |
|----|----------------------------|--------------|--------------------------|
| 4. | Kadar abu tidak larut asam | 0,61 ± 0,09% | ≤0,7% |
| 5. | Uji cemaran mikroba | 0 cfu/g | ≤1×10 ⁴ cfu/g |
| 6. | Uji cemaran logam Pb | 1,4606 mg/Kg | ≤10 mg/Kg |
| 7. | Uji cemaran logam Cd | 0,2189 mg/Kg | ≤0,3 mg/Kg |

5.2. Hasil Organoleptik

Parameter organoleptik dilakukan terhadap ekstrak untuk memberikan petunjuk atau pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan tekstur. Data yang didapat digunakan sebagai dasar untuk menguji ekstrak secara fisis selama penyimpanan yang dapat mempengaruhi khasiatnya. Pemeriksaan organoleptik berperan penting karena terkait dengan kemurnian dan mencegah pemalsuan bahan baku pada obat tradisional. Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana daun karamunting memiliki bentuk ekstrak kental seperti karamel dengan warna hijau kehitaman dan bau khas ekstrak serta rasa yang pahit. Warna hitam kehijauan ekstrak disebabkan oleh perubahan warna yang terjadi ketika dilakukan proses pengeringan dan warna tersebut sesuai dengan warna simplisia saat direndam dalam cairan penyari.

5.3. Kadar Air

Pengujian kadar air pada fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung dalam fraksi yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antidiare. Pengujian kadar air menggunakan metode gravimetri dengan menggunakan prinsip penguapan air pada bahan dengan pemansan suhu 105°C hingga berat konstan (21). Kadar air yang tinggi dapat mempermudah kapang, jamur dan mikroorganisme lainnya sehingga dapat menurunkan mutu dari ekstrak. Hasil rata-rata persentase kadar air fraksi *n*-heksana daun karamunting adalah 6,67% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih besar dari 10%, maka ekstrak dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama dan tidak mudah ditumbuhi mikroba sehingga tidak membutuhkan pengawet selama masa simpan.

5.4. Susut Pengeringan

Penentuan susut pengeringan bertujuan memberikan pada batasan maksimal jumlah senyawa yang hilang pada proses pengeringan dengan suhu 105°C selama 30 menit hingga bobot konstan (21). Hasil susut pengeringan fraksi *n*-heksana menunjukkan persen kadar pelarut dan air yang terdapat dalam fraksi yang menguap setelah dipanaskan pada suhu 105°C. Pada suhu 105°C, air akan menguap dan senyawa-senyawa yang memiliki titik didih yang lebih rendah dari air akan ikut menguap. Hasil rata-rata persentase susut pengeringan pada fraksi *n*-heksana daun karamunting sebesar 7,16% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu tidak boleh lebih besar dari 11%.

5.4.1. Kadar Abu Total Dan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Penetapan kadar abu berhubungan dengan tingkat keamanan pada bahan baku obat tradisional. Hasil pengujian kadar abu total dapat diketahui persentase kandungan senyawa anorganik yang apabila masuk kedalam tubuh dapat beresiko untuk merusak organ (22). Kadar abu tidak larut asam dapat diketahui tingkat pengotor pada ekstrak oleh logam-logam silikat. Baik logam maupun silikat yang berasal dari tanah dan air yang dihisap oleh jaringan tumbuhan (24). Prinsip pengujian kadar abu dimana ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap hingga hanya unsur mineral dan organik saja menggunakan tanur suhu ±600°C selama 3 jam.

Kadar abu total pada fraksi *n*-heksana daun karamunting yang diperoleh sebesar 0,95% dan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,61%. Hasil ini sesuai dengan persyaratan kadar abu total yaitu tidak lebih besar dari 16,6% dan kadar abu tidak larut asam tidak lebih besar dari 0,7%. Kadar abu yang terlalu tinggi dapat disebabkan karena pengolahan yang kurang bersih pada tahap pencucian daun segar. Kadar abu tidak larut asam berkaitan dengan jumlah kandungan mineral dalam ekstrak, kemurnian dan kontaminan (24).

5.4.2. Kadar Sari Larut Air Dan Kadar Sari Larut Etanol

Penetapan kadar sari fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk menunjukkan bahan-bahan yang dapat disari oleh air maupun etanol. Bahan-bahan yang larut dalam air terdiri dari karbohidrat, garam-garam dan sebagian vitamin-vitamin serta sebagian bahan-bahan organik. Penetapan kadar sari pada fraksi *n*-heksana daun karamunting sangat penting karena erat kaitannya dengan jumlah bahan-bahan terlarut dalam pelarut air dan pelarut etanol.

Hasil pengujian menunjukkan kadar sari larut air yaitu 3,34% (Tabel 3) tidak memenuhi persyaratan yaitu tidak kurang dari 11,5%. Hal ini diduga karena pelarut yang digunakan bersifat non polar (*n*-heksana) sehingga senyawa yang larut dalam air sangat sedikit. Hasil kadar sari larut etanol yaitu sebesar 31,67% (Tabel 3). Hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan kadar sari larut etanol yaitu tidak kurang dari 11,4%. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam fraksi *n*-heksana daun karamunting yang bersifat polar (larut air) lebih sedikit dibandingkan senyawa aktif yang bersifat semi polar-non polar (larut etanol).

5.4.3. Uji Cemar Mikroba

Pengujian cemaran mikroba bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba nonpatogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh dan berbahaya (toksik) bagi kesehatan (21)... Hasil pengujian menunjukkan nilai cemaran mikroba fraksi *n*-heksana daun karamunting sebesar 0 cfu/g. Hasil ini sesuai dengan persyaratan mutu obat tradisional dimana batas maksimum cemaran mikroba tidak boleh lebih dari 1×10^4 cfu/g.

5.4.4. Uji Cemaran Logam

Pengujian cemaran logam pada standarisasi ekstrak sangat penting untuk dilakukan, karena kandungan logam berat yang tinggi dalam bahan baku obat tradisional dapat memahayakan kesehatan dan bersifat toksik bagi tubuh (21). Efek toksik dari logam berat yang sering terjadi adalah karsinogenik, gangguan sistem imun, gangguan susunan saraf, gangguan dan kerusakan ginjal, efek terhadap pernafasan (25). Oleh karena itu, pengujian cemaran logam berat ini sangat penting dilakukan pada ekstrak.

Identifikasi kandungan logam pada fraksi *n*-heksana daun karamunting menggunakan alat spektroskopi serapan atom dengan menganalisa kandungan logam Pb dan Cd. Hasil pengujian diperoleh cemaran logam Pb sebesar 1,4606 mg/Kg dan logam Cd sebesar 0,2189 mg/Kg. Hasil ini sesuai dengan persyaratan yaitu cemaran logam Pb yaitu tidak lebih dari 10 mg/Kg (10 ppm) dan logam Cd tidak lebih dari 0,3 mg/Kg (0,3 ppm). Tingginya kandungan logam berat dalam ekstrak dapat disebabkan oleh adanya pencemar yang berdekatan dengan ekstrak.

6.1 Skrining Fitokimia Fraksi *n*-heksana Daun Karamunting

Skrining fitokimia pada fraksi *n*-heksana daun karamunting bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi. Skrining fitokimia penting dilakukan karena berhubungan dengan upaya untuk menggali potensi dari suatu tumbuhan obat. Pengujian skrining fitokimia dilakukan terhadap beberapa golongan senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, fenolik, tannin, steroid, dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia fraksi *n*-heksan daun karamunting ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Skrining fitokimia ekstrak etanol buah karamunting

| Golongan Senyawa | Hasil |
|------------------|-------|
| Flavonoid | + |
| Alkaloid | |
| - Mayer | - |
| - Wagner | - |
| - Dragendorf | - |
| Steroid | + |
| Triterpenoid | - |
| Tanin | + |
| Fenolik | + |
| Saponin | - |

Keterangan: + (terdapat senyawa metabolit sekunder)

- (tidak terdapat senyawa metabolit sekunder)

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi *n*-heksana daun karamunting adalah steroid, fenolik, tanin dan tidak mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan saponin. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sinulingga (26) dimana pada skrining fitokimia fraksi *n*-heksana daun karamunting tidak terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, saponin. Skrining fitokimia fraksi *n*-heksana daun karamunting dapat dilihat pada Lampiran 9.

Uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann bouchard (asam asetat anhidrat- H_2SO_4). Reaksi positif triterpenoid dengan pereaksi Liebermann (asam asetat anhidrat- H_2SO_4) menghasilkan warna merah-ungu sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (27). Hasil yang diperoleh negative triterpenoid dan positif steroid pada fraksi *n*-heksana daun karamunting yang terbukti dengan terbentuknya warna hijau pada larutan uji steroid yang dapat dilihat pada Lampiran 9. Gambar 6 adalah mekanisme pembentukan senyawa kompleks antara pereaksi Liebermann dengan senyawa steroid.

Reagen $FeCl_3$ ditambahkan pada sampel untuk mengidentifikasi senyawa fenol dan tanin. $FeCl_3$ yang ditambahkan berguna untuk melihat ada tidaknya gugus fenol dalam sampel. Ion Fe^{3+} akan bereaksi dengan tanin atau senyawa fenolik membentuk senyawa kompleks berwarna biru kehitaman. Warna biru kehitaman yang terbentuk merupakan tanda positif dari identifikasi senyawa golongan fenolik dan tanin (28). Hal ini sesuai dengan hasil yang didapat bahwa fraksi *n*-heksana daun karamunting positif mengandung senyawa tanin dan fenolik yang dibuktikan dengan terbentuknya 2 lapisan larutan yaitu warna hijau kehitaman pada lapisan atas dan kuning bening pada lapisan bawah yang dapat dilihat pada Lampiran 9. Gambar 7 adalah mekanisme pembentukan senyawa kompleks antara $FeCl_3$ dengan senyawa fenolik.

6.3 Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Karamunting

Skrining fitokimia dilakukan pada fraksi etil asetat daun karamunting bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi tersebut. Skrining fitokimia perlu dilakukan pada tumbuhan yang menjadi kandidat bahan obat karena diperlukan untuk mengetahui kandungan dan pemanfaatan dari suatu tumbuhan obat. Fraksi etil asetat daun karamunting dilakukan pengujian skrining fitokimia terhadap beberapa golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, tanin, steroid, dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting ditunjukkan pada tabel sebagai berikut.

Tabel 4.2 Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting

| Golongan Senyawa | Hasil |
|------------------|-------|
| Flavonoid | + |
| Alkaloid | |
| - Mayer | - |
| - Wagner | - |
| - Dragendorf | - |
| Steroid | + |
| Triterpenoid | - |
| Tanin | + |
| Fenolik | + |
| Saponin | + |

Keterangan : Positif (+) dan negatif (-)

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung didalam ekstrak etil asetat daun karamunting antara lain flavonoid, steroid, tanin, fenolik, dan saponin. Fraksi etil asetat daun karamunting tidak mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid.

6.2.1 Flavonoid

Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa golongan flavonoid. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah atau jingga pada pereaksi bubuk magnesium dan asam klorida. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (29) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung flavonoid. Reaksi yang terjadi akan menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid sehingga menimbulkan reaksi larutan berwarna merah. Berdasarkan penelitian (30) telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri senyawa flavonoid yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat menggumpalkan protein dan bersifat lipofilik, sehingga dapat merusak lapisan lipid pada membran sel bakteri.

6.2.2 Steroid

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa steroid. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (31) bahwa fraksi etil asetat daun

karamunting positif mengandung steroid. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan senyawa steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam sehingga menghasilkan reaksi warna. Berdasarkan penelitian (30) menyatakan bahwa senyawa steroid merupakan senyawa antibakteri dengan mekanisme kerja merusak membran sel bakteri.

6.2.3 Tanin

Skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa golongan tanin. Berdasarkan penelitian (29) menyatakan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung senyawa tanin. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Menurut (32) terbentuknya warna hijau pada sampel setelah dilakukan penambahan FeCl_3 dikarenakan senyawa tanin akan membentuk kompleks ion Fe^{3+} . Senyawa tanin dalam bidang farmasi dimanfaatkan sebagai obat antidiare dan antiseptik. Senyawa tanin sebagai antibakteri memiliki mekanisme kerja dengan menginaktivkan adhesi sel mikroba, menginaktivkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (33). Tanin juga mempengaruhi polipeptida dinding sel sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis dan mati (34).

6.2.4 Fenolik

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa fenolik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Hasil ini sesuai dengan penelitian (35) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting mengandung fenolik. Fenol bersifat asam, karena sifat gugus $-\text{OH}$ yang mudah untuk melepaskan diri. Fenol juga dapat membentuk senyawa khelat dengan logam, mudah teroksidasi dan membentuk polimer yang berwarna gelap. Fenol berperan sebagai senyawa antibakteri karena fenol dapat melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak yang terdapat pada membran sel sehingga menyebabkan turunnya tegangan permukaan membran sel (36). Selanjutnya mendenaturasi protein dan mengganggu fungsi membran sel sebagai lapisan yang selektif, sehingga sel menjadi lisis (37).

6.2.5 Saponin

Pengujian skrining fitokimia fraksi etil asetat daun karamunting menunjukkan hasil positif terhadap senyawa saponin. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa setelah ditambahkan aquadest dan dikocok kuat-kuat. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (29) bahwa fraksi etil asetat daun karamunting positif mengandung saponin. Pada uji saponin, busa yang ditimbulkan menunjukkan adanya glikosida yang dapat membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa. Senyawa saponin bersifat antibakteri dengan merusak membran sel. Apabila membran sel rusak maka akan menyebabkan kematian sel (30).

4.3 Karakterisasi Fraksi Etil Asetat Daun Karamunting

Hasil karakterisasi fraksi etilasetat dari daun karamunting dengan metode materia medika, diperoleh hasil seperti pada Tabel 4.3 berikut ini :

Tabel 4.3 Karakterisasi fraksi etil asetat daun karamunting

| Parameter | Hasil (Rata-rata \pm SD) | Persyaratan Depkes RI (2008) |
|---------------------------------------|---|-------------------------------------|
| Parameter spesifik : | | |
| ▪ Organoleptis | Bentuk : kental Warna : hijau kehitaman Aroma : khas ekstrak Rasa : khelat | - |
| ▪ Kadar sari larut air (%) | 53,33 \pm 11,5470 | >31% |
| ▪ Kadar sari larut etanol (%) | 73,33 \pm 14,4388 | >70,5% |
| Parameter non spesifik : | | |
| ▪ Kadar air (%) | 9,2 \pm 0,0153 | \leq 10% |
| ▪ Susut pengeringan (%) | 8,7 \pm 0,0115 | <11% |
| ▪ Kadar abu total (%) | 1 \pm 0 | \leq 16,6% |
| ▪ Kadar abu tak larut asam (%) | 0,62 \pm 0,03 | \leq 0,7% |
| ▪ Uji cemaran mikroba | 0 | 1 \times 10 ⁴ cfu/g |
| ▪ Uji cemaran logam (mg/Kg) | Logam Cd: 0,1658 Logam Pb : 10,8130 | \leq 0,3 mg/Kg \leq 10 mg/Kg |

4.3.1 Hasil Organoleptik

Telah dilakukan pemeriksaan organoleptik pada fraksi etil asetat daun karamunting yang meliputi warna, bau, dan rasa pada sampel. Uji organoleptis ditentukan dengan melakukan pengamatan bentuk fisik dari fraksi etil asetat daun karamunting yang bertujuan sebagai pengenalan awal secara sederhana melalui panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa. Pemeriksaan organoleptik juga bertujuan untuk memberikan

informasi terhadap spesifikasi fraksi etil asetat daun karamunting. Apabila suatu fraksi bahan baku obat telah dilakukan karakterisasi, hal ini akan mencegah terjadinya pemalsuan bahan baku obat dikarenakan karakterisasi terkait dengan kemurnian bahan baku obat tradisional. Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting memiliki bentuk ekstrak kental, warna hijau kehitaman, bau khas ekstrak, dan rasa khelat.

4.3.2 Kadar Air

Pemeriksaan kadar air merupakan parameter yang bertujuan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung pada sampel yang akan digunakan sebagai bahan baku obat. Pengujian kadar air penting dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat menjamin kualitas sampel. Metode yang digunakan dalam pemeriksaan kadar air yakni dengan menggunakan metode gravimetri. Metode gravimetri menggunakan prinsip penguapan air pada sampel dengan pemanasan suhu 105°C hingga berat konstan.

Berdasarkan hasil uji, diketahui kadar air fraksi etil asetat daun karamunting adalah 9,2%. Kadar air yang diperoleh memenuhi syarat kadar air yang baik untuk penyimpanan jangka panjang yaitu kurang dari 10% (21). Presentase kadar air yang tinggi akan mempengaruhi pertumbuhan jamur, kapang/khamir, dan mikroorganisme lainnya yang dapat berpengaruh pada mutu dari sampel.

4.3.3 Susut Pengeringan

Menurut (23) susut pengeringan ditetapkan untuk menjaga kualitas simplisia karena berkaitan dengan kemungkinan pertumbuhan kapang atau jamur serta zat yang mudah menguap pada simplisia. Pemeriksaan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal jumlah senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan dengan suhu 105°C selama 30 menit hingga bobot konstan (21). Senyawa-senyawa yang hilang selama proses pengeringan akibat pemanasan antara lain, molekul air dan minyak atsiri.

Maka hasil uji susut pengeringan dari sampel menunjukkan persen kadar pelarut dan air dalam sampel yang menguap setelah dipanaskan pada suhu 105°C. Berdasarkan pemeriksaan susut pengeringan pada fraksi etil asetat daun karamunting yang telah dilakukan, maka dapat diketahui bahwa persentase hasilnya yakni 8,7%. Nilai tersebut memenuhi persyaratan uji susut pengeringan yaitu kurang dari 11% (21).

4.3.4 Kadar Abu Total Dan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Pemeriksaan kadar abu pada suatu bahan baku obat tradisional memiliki peranan yang sangat penting yakni pada tingkat keamanannya sebagai bahan baku obat tradisional. Tujuan dilakukannya pengujian kadar abu yaitu untuk memberikan gambaran mengenai kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak (21). Menurut (23) kadar abu merupakan uji kemurnian suatu sampel untuk menetapkan tingkat pengotoran oleh logam-logam dan silikat.

Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam merupakan salah satu evaluasi bahan baku obat sebelum dilakukan tahap berikutnya. Apabila telah diketahui hasil dari pengujian kadar abu total pada suatu bahan baku obat, maka dapat diketahui persentase kandungan senyawa anorganik. Senyawa anorganik tersebut berasal dari tanah dan air yang diserap oleh akar tumbuhan dan dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan atau organ tubuh (38).

Berdasarkan pemeriksaan yang telah dilakukan maka dapat diketahui bahwa kadar abu total pada fraksi etil asetat daun karamunting diperoleh sebesar 1%. Berdasarkan hasil uji tersebut menunjukkan bahwa kadar abu total fraksi etil asetat daun karamunting memenuhi persyaratan yaitu maksimal 16,6% (21). Hasil uji kadar abu tidak larut asam fraksi etil asetat daun karamunting sebesar 0,62% dan hasil tersebut sesuai dengan persyaratan kadar abu tidak larut asam <0,7% (Depkes RI, 2008). Faktor yang mempengaruhi hasil kadar abu yang tinggi yakni kurang bersih pada saat tahapan sortasi bahan simplisia. Oleh sebab itu tingginya kadar abu tak larut asam menunjukkan adanya kandungan silikat yang berasal dari tanah atau pasir, unsur logam perak, timbal dan merkuri.

4.3.5 Kadar Sari Larut Air Dan Kadar Sari Larut Etanol

Pengujian kadar sari dilakukan untuk mengetahui jumlah terendah bahan kimia kandungan simplisia yang terekstraksi pada pelarut tertentu. Oleh sebab itu penetapan kadar sari pada fraksi etil asetat daun karamunting sangat penting dilakukan guna mengetahui banyaknya kandungan senyawa aktif yang bersifat polar (larut dalam air) dan non polar (larut dalam etanol). Kadar sari merupakan salah satu bagian standarisasi sederhana senyawa bahan alam melalui proses ekstraksi. Pada bahan baku obat tradisional pelarut yang lazim digunakan untuk ekstraksi adalah air dan etanol (23).

Pengujian kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol dilakukan dengan memaserasi fraksi kental dengan pelarut air-kloroform serta pelarut etanol selama 24 jam. Dilakukan penambahan kloroform pada uji kadar senyawa larut dalam air bertujuan sebagai pengawet, dikarenakan air merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Berdasarkan hasil pengujian, kadar senyawa larut dalam air diperoleh sebesar 53,33% dan kadar senyawa larut dalam etanol sebesar 73,33%. Hasil uji tersebut memenuhi persyaratan yakni lebih dari 31% dan lebih dari 70,5% (21). Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa senyawa dari daun karamunting lebih

banyak terlarut dalam etanol dibandingkan dalam air. Hal ini menunjukkan senyawa non polar yang terkandung dalam daun nangka lebih banyak dibandingkan dengan senyawa polar.

4.3.6 Uji Cemar Mikroba

Pengujian cemaran mikroba bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba non patogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh pada stabilitas ekstrak dan berbahaya bagi kesehatan (21). Terdapat peraturan BPOM tentang persyaratan mutu obat tradisional yakni batas maksimum cemaran mikroba sebesar 1×10^4 cfu/g dan untuk cemaran kapang/khamir 1×10^3 cfu/g. Berdasarkan hasil pengujian menunjukkan tidak adanya cemaran mikroba pada fraksi etil asetat daun karamunting. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun karamunting tidak mengandung mikroba patogen dan non patogen, sehingga fraksi tersebut dapat digunakan sebagai bahan baku obat tradisional.

4.3.7 Uji Cemar Logam

Pengujian cemaran logam berat bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, Cd, dan logam berat yang lainnya) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya bagi kesehatan (21). Oleh sebab itu pengujian cemaran logam pada standarisasi bahan baku obat tradisional sangat penting untuk dilakukan. Pengujian kandungan logam pada fraksi etil asetat daun karamunting menggunakan alat spektroskopi serapan atom dengan menganalisa kandungan logam Pb dan Cd.

Berdasarkan hasil pengujian diperoleh cemaran logam Pb sebesar 10,8130 mg/Kg dan logam Cd sebesar 0,1658 mg/Kg. Berdasarkan hasil uji tersebut, fraksi etil asetat daun karamunting memenuhi persyaratan batas maksimum logam Cd yakni $\leq 0,3$ mg/Kg (21). Sedangkan untuk batas maksimum logam Pb, fraksi etil asetat daun karamunting tidak memenuhi syarat yakni ≤ 10 mg/Kg (21). Faktor-faktor yang mempengaruhi tingginya kadar logam berat yang terkandung dalam suatu bahan baku obat tradisional dapat disebabkan oleh adanya pencemar yang terdapat disekitar ekstrak, jenis tanaman lain yang memiliki kandungan logam berat, dan faktor lingkungan seperti suhu, udara, kelembapan udara, intensitas cahaya, serta kecepatan angin.

FOTO-FOTO PROSES PRODUKSI KAPSUL EKSTRAK KARAMUNTING



Simplisia daun karamunting



Proses penimbangan simplisia



Input ke ekstraktor



Ouput dari ekstraktor



Filtrasi ekstrak



Input ke evaporator



Ouput evaporator



Ekstrak bath 1



Ekstrak bath 2



Ekstrak bath 3



Uji kadar air



Grinding



pengapsulan



Uji fitokimia



Produk kapsul ekstrak karamunting









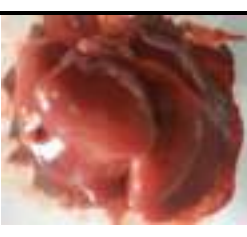



Kapsul ekstrak karamunting







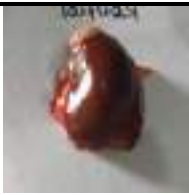





**FOTO PENELITIAN UJI TOKSISITAS AKUT
MENGUNAKAN METODE *FIXED DOSE***

1. Makroskopis Organ











a. organ hati

| Tikus | Kontrol | Dosis 2000 mg/KgBB |
|--------------|---|---|
| 1 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| 4 |  |  |
| 5 |  |  |

b. organ ginjal

| Tikus | Kontrol | Dosis 2000 mg/KgBB |
|-------|---|---|
| 1 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| 4 |  |  |
| 5 |  |  |

c. organ jantung

| Tikus | Kontrol | Dosis 2000 mg/KgBB |
|-------|---|---|
| 1 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| 4 |  |  |
| 5 |  |  |

Dokumentasi penelitian toksisitas akut



Penimbangan tiap fraksi (n-heksana dan etil asetat) daun karamunting



Sediaan uji kombinasi fraksi daun karamunting



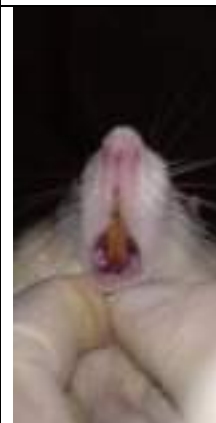
Tikus uji pendahuluan dan uji utama



Pemberian oral sediaan uji



Pengamatan gejala toksisitas



Pengamatan salivasi tikus uji



Pengamatan diare pada tikus uji



Pengambilan darah tikus



Darah tikus disentrifugasi



Pengecekan kadar biokimia dengan alat biosystem A15



Pembedahan tikus uji



Penimbangan organ hati



Penimbangan jantung













organ


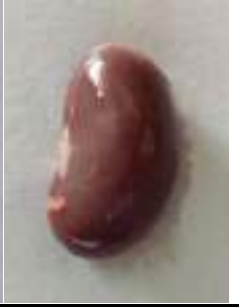
























Penimbangan organ ginjal

1. MAKROSKOPIS ORGAN









A. Organ hati, ginjal, dan jantung setelah pemberian sediaan uji (28 hari pengamatan)









| Kelompok | Organ Hati | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Tikus 1 | Tikus 2 | Tikus 3 |
| Na-CMC 0.5% |  |  |  |
| Dosis 200 mg/Kg BB |  |  |  |
| Dosis 400 mg/Kg BB |  |  |  |
| Dosis 800 mg/Kg BB |  |  |  |









| Kelompok | Organ Ginjal | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Tikus 1 | Tikus 2 | Tikus 3 |
| Na-CMC 0.5% |  |  |  |
| Dosis 200 mg/Kg BB |  |  |  |
| Dosis 400 mg/Kg BB |  |  |  |
| Dosis 800 mg/Kg BB |  |  |  |

| Kelompok | Organ Jantung | | |
|-----------------------|---|--|---|
| | Tikus 1 | Tikus 2 | Tikus 3 |
| Na-CMC 0.5% |  |  |  |
| Dosis 200 mg/Kg BB |  |  |  |
| Dosis 400 mg/Kg BB |  |  |  |
| Dosis 800 mg/Kg BB |  |  |  |

B. Organ hati kelompok satelit

| Kelompok | Organ Hati | |
|-----------------------|---|--|
| | Tikus 1 | Tikus 2 |
| Na-CMC 0.5% |  |  |
| Dosis 200 mg/Kg BB |  |  |
| Dosis 400 mg/Kg BB |  |  |
| Dosis 800 mg/Kg BB |  |  |

| Kelompok | Organ Ginjal | |
|--------------------|---|--|
| | Tikus 1 | Tikus 2 |
| Na-CMC 0.5% |  |  |
| Dosis 200 mg/Kg BB |  |  |
| Dosis 400 mg/Kg BB |  |  |
| Dosis 800 mg/Kg BB |  |  |

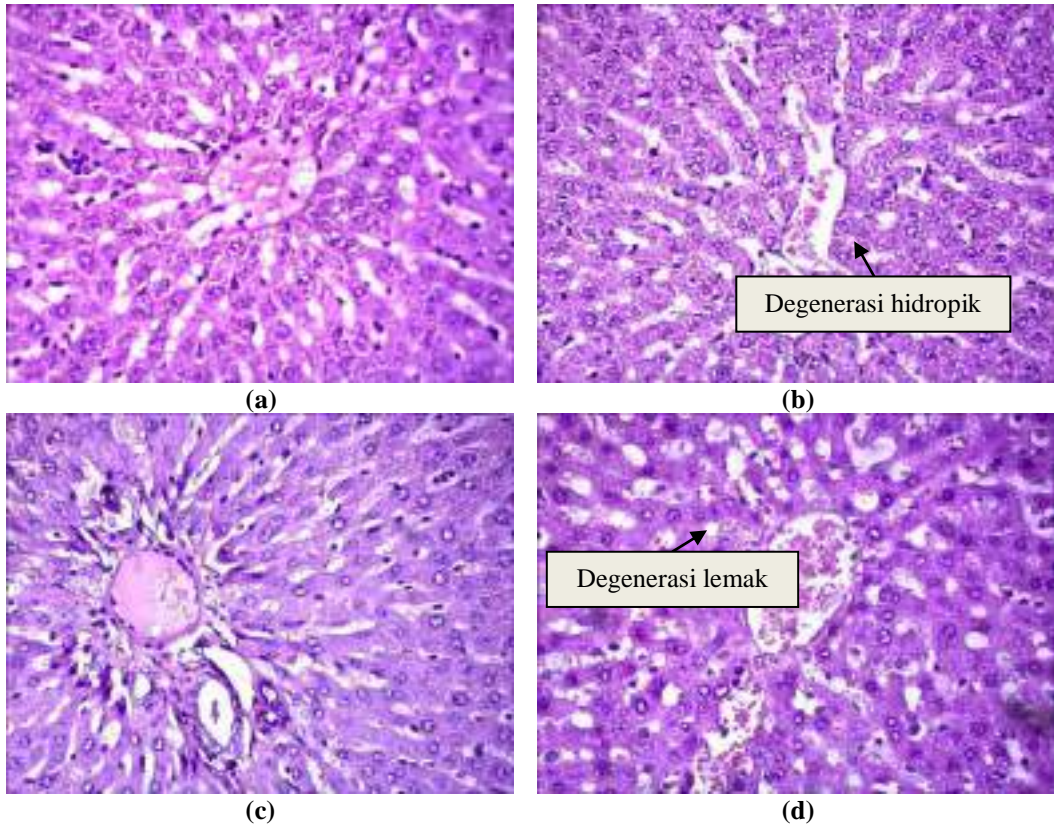
| Kelompok | Organ Jantung | |
|--------------------|---|--|
| | Tikus 1 | Tikus 2 |
| Na-CMC 0.5% |  |  |
| Dosis 200 mg/Kg BB |  |  |
| Dosis 400 mg/Kg BB |  |  |
| Dosis 800 mg/Kg BB |  |  |

2. MIKROSKOPIS ORGAN

A. Hati

Tabel 1. Hasil skoring kerusakan organ hati

| Kelompok | Degenerasi hidropik | Degenerasi lemak | Nekrosis |
|-------------------|---------------------|------------------|----------|
| Kontrol | 0 | 0 | 0 |
| Dosis 200 mg/KgBB | 1 (20%) | 1 (40%) | 1 (30%) |
| Dosis 400 mg/KgBB | 2 (30%) | 2 (60%) | 2 (40%) |
| Dosis 800 mg/KgBB | 2 (60%) | 2 (70%) | 3 (80%) |

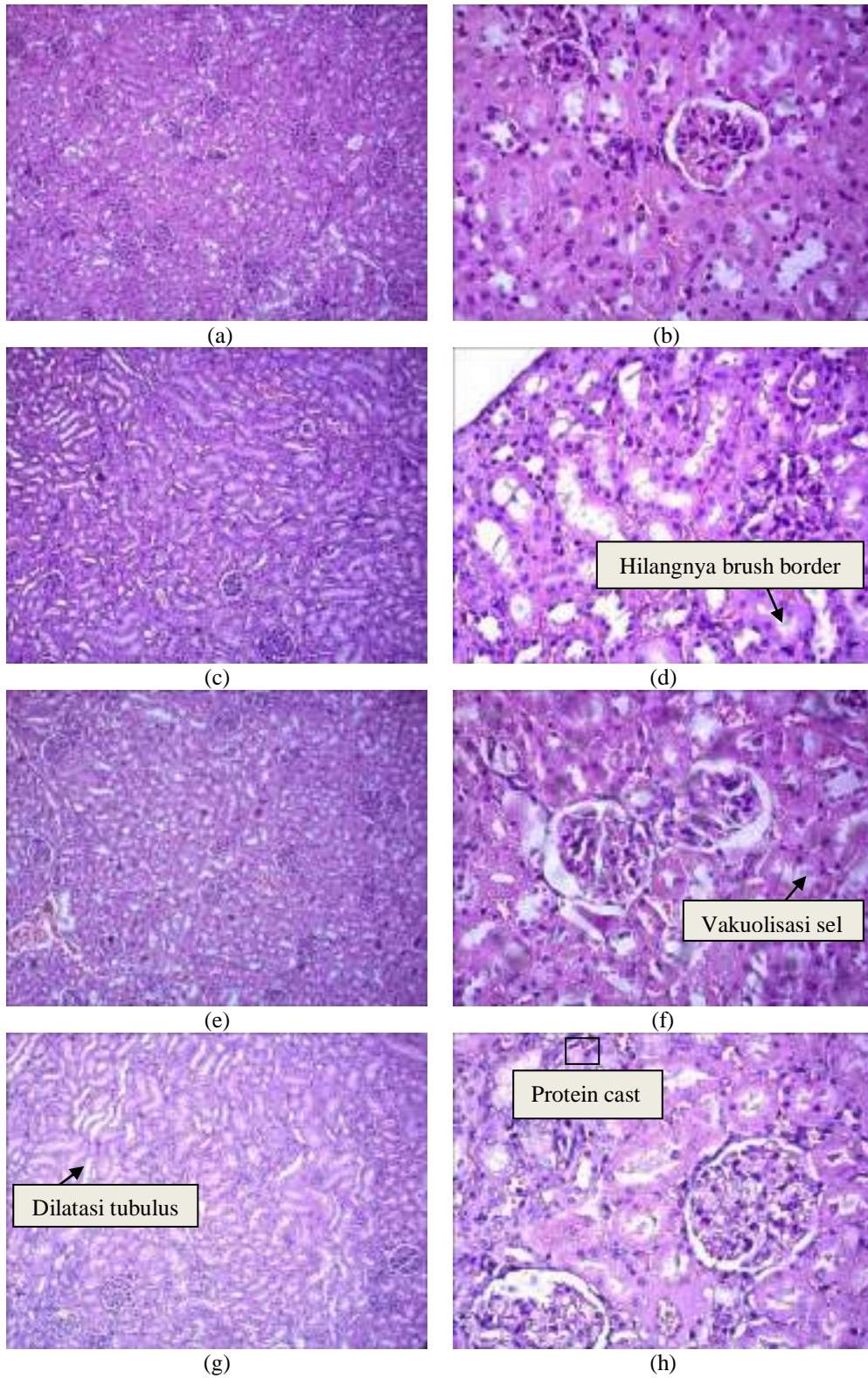


Gambar Histologi hati (a) kontrol, (b) dosis 200 mg/KgBB, (c) dosis 400 mg/KgBB, (d) dosis 800 mg/KgBB

B. Ginjal

Tabel 2. Hasil skoring kerusakan organ ginjal

| Parameter | Kontrol | Dosis 200 mg/KgBB | Dosis 400 mg/KgBB | Dosis 800 mg/KgBB |
|-------------------------|---------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dilatasi sel tubulus | 0 | 2 (60%) | 1 (10%) | 2 (60%) |
| Hilangnya brush border | 0 | 2 (60%) | 1 (10%) | 2 (60%) |
| Protein cast (silinder) | 0 | 1 (10%) | 0 | 1 (30%) |
| Vakuolisasi sel | 0 | 2 (60%) | 1 (5%) | 2 (60%) |
| Nekrosis | 0 | 1 (20%) | 1 (10%) | 1 (10%) |







Gambar Histologi ginjal (a) kontrol (100x); (b) kontrol (400x); (c) dosis 200 mg/KgBB (100x); (d) dosis 200 mg/KgBB (400x); (e) dosis 400 mg/KgBB (100x); (f) dosis 400 mg/KgBB (400x); (g) dosis 800 mg/KgBB (100x); dan (h) dosis 800 mg/KgBB (400x)

3. Dokumentasi penelitian

| | | |
|---|---|--|
|  |  |  |
| Sediaan uji | Kandang hewan | Pemberian sediaan uji |
|  |  |  |
| Pengamatan gejala toksisitas | Pengamatan salivasi | Pengamatan diare |
|  |  |  |
| Pengambilan darah | Alat <i>hematology analyzer</i> | Alat sentrifugasi |
|  |  |  |
| A15 Analyzer | Pembedahan tikus | Penimbangan organ hati |

| | | |
|---|--|---|
|  <p>penimbangan bobot ginjal</p> |  <p>penimbangan bobot jantung</p> |  <p>Organ dalam formalin 10 %</p> |
|  <p>hasil skor kerusakan dari mikroskois ha dan ginjal</p> | | |

Foto Skrining Fitokimia fraksi n-heksan

| Golongan Senyawa | Gambar Hasil Uji | Keterangan |
|---------------------|---|-------------------------|
| Flavonoid |  | Negatif (hijau bening) |
| Alkaloid -Wagner |  | Negatif (jingga bening) |
| -Dragendorf |  | Negatif (kuning bening) |
| -Mayer |  | Negatif (Putih bening) |

Fenolik dan Tanin



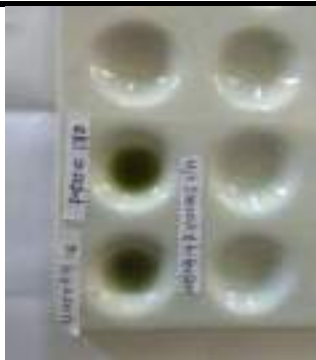
Positif (2 lapisan :lapisan atas hijau kehitaman, lapisan bawah kuning bening)

Saponin



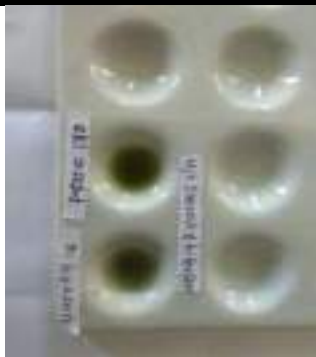
Negatif (2 lapisan tidak berbusa)

Steroid












Positif (hijau)

Steroid dan Triterpenoid



Negatif (hijau)

Foto Skrining Fitokimia fraksi etilasetat

| Golongan senyawa | Fraksi etil asetat daun karamunting | | |
|--------------------------|---|---|---|
| Flavonoid |  |  | |
| Hasil | Positif | Positif | |
| Alkaloid |  |  |  |
| Hasil | Negatif | Negatif | Negatif |
| Fenolik dan Tanin |  |  | |
| Hasil | Positif | Positif | |
| Saponin |  | | |
| Hasil | Positif | | |
| Steroid dan Triterpenoid |  | | |
| Hasil | Positif | | |

Dokumen pendukung luaran Tambahan #1

Luaran dijanjikan: Prosiding dalam pertemuan ilmiah Nasional

Target: sudah terbit/sudah dilaksanakan

Dicapai: Submitted

Dokumen wajib diunggah:

1. Naskah artikel
2. Bukti submit

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel
2. Bukti submit

Dokumen belum diunggah:

-

Peran penulis: first author

Nama Konferensi/Seminar: Sriwijaya International Conference on Basic and Applied Sciences 2021

Lembaga penyelenggara: Fakultas fmipa universitas sriwijaya

Tempat penyelenggara: Fakultas fmipa universitas sriwijaya

Tgl penyelenggaraan mulai: 2 November 2021 | Tgl selesai: 2 November 2021

Lembaga pengindeks: Scopus

URL website: <https://confbrite.net/2021/sicbas/kfz/>

Judul artikel: Antidiarrheal Activity of N-Hexane and Ethyl Acetate Extrac of Rosemytle Leaves (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) to Male White Rats Wistar Strain Induced by *Shigella dysenteriae* Bacteria

Antidiarrheal Activity of N-Hexane and Ethyl Acetate Extrac of Rosemytle Leaves (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) to Male White Rats Wistar Strain Induced by *Shigella dysenteriae* Bacteria

Salni¹, Herlina², and Atik Puput Mukhlifah²

¹Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Palembang-Prabumulih Km 32, Indralaya, Ogan Ilir, South Sumatera, Indonesia

²Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Palembang-Prabumulih Km 32, Indralaya, Ogan Ilir, South Sumatera, Indonesia filiations

Author Emails

Salnibasir@unsri.ac.id

Abstract. Rosemytle (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) has traditionally been used to treat several types of diseases caused by bacterial infections, such as diarrhea-dysentery. Diarrhea-dysentery is still common in developing countries. This disease is caused by a bacterium called *Shigella dysenteriae*. This study aims to evaluate the combination of n-hexane and ethyl acetate fractions from rosemytle leaves as antibacterial. This research was conducted by in vivo method using white male rat (*Rattus norvegicus*) Wistar Strain induced by *Shigella dysenteriae*. The treatment group was divided into five groups: a negative control group, a positive control group, and three test groups with doses concentration of 25, 50, and 100 mg / kg BW. Antibacterial activity test was carried out for 12 days by inoculating rat feces that has been diluted into SSA media. Negative controls using Na-CMC and ciprofloxacin were used as positive controls. The extraction was carried out using a soxhlet gradually, starting with n-hexane then ethyl acetate. The results showed that a dose of 50 mg/kg BW was able to reduce the number of bacterial colonies on the 10th day with total of colonies 19.6×10^5 (cfu g⁻¹) and a dose of 100 mg/kg BW on the 8th day with total of colonies $11,4 \times 10^5$ (cfu g⁻¹). The combination of n-hexane and ethyl acetate fractions with a dose of 100 mg/kg BW can reduce the population of *Shigella dysenteriae* to be zero after 12 days of treatment. The ability to reduce the number of bacterial colonies from the combination of n-hexane and ethyl acetate fractions at a dose of 100 mg / kg BW is the same as the positive control ability of ciprofloxacin. Statistical analysis was conducted by using One Way ANOVA followed by Duncan's post hoc test (α 0.05). Based on Duncan's statistical test results it is known that the treatment of a dose of 100 mg/kg BW and ciprofloxacin as a positive control showed an equally low bacterial population. The fractions of n-hexane and ethyl acetate contain tannin compounds, alkaloids, steroids, phenolics, and flavonoids. Rosemytle leaves have the potential to be developed into a dysentery medicine.

Keywords: rosemytle, the combination of n-hexane and ethyl acetate fractions, antibacterial activity test, *S. dysenteriae*

ITRODUCTION

Shigellosis or dysentery diarrhea is one type of acute diarrheal disease which is characterized by liquid stools mixed with blood and mucus because the bacteria that cause shigellosis have penetrated the colon wall so that the stool that passes through the large intestine will run very quickly without being followed by the process of water absorption (Adnyana et al., 2004).). Shigellosis is accompanied by symptoms of fever and bloating (meteorism). Spread of *Shigella* sp. It occurs feco-oral mainly from person to person through hands contaminated with feces. This bacterium is very infectious so that a person can become sick if infected by 10-100 germs (Sya'roni A, 2009).

Epidemiological reports show that 600,000 of the 140 million shigellosis patients die every year worldwide. Data in Indonesia shows that 29% of diarrheal deaths occur at the age of 1 to 4 years due to bacillary dysentery (Nafianti, 2005). Diarrhea is one of the main causes of death, especially in children. In Indonesia, one type of dysentery is shigellosis caused by *Shigella* sp. (Ministry of Health of the Republic of Indonesia, 2014).

The bacterium that causes shigellosis is *Shigella dysenteriae* with clinical symptoms of abdominal pain and fever. *Shigella dysenteriae* produces exotoxins that can affect the gastrointestinal tract and the central nervous system. Exotoxin is an antigenic protein that can stimulate the production of antitoxin so that it can kill the patient. This toxic activity causes initial watery diarrhea, which then results in further dysentery with stools accompanied by blood and pus (Jawetz et al., 1996). *Shigella dysenteriae* is a gram-negative bacterium (Jawetz et al., 2008).

In 2004, WHO determined ciprofloxacin as the first-line treatment for shigellosis (Dewi, 2013). However, the use of synthetic drugs will generally provide higher side effects for users. So it is necessary to use alternative antibacterials such as from medicinal plants. Indonesia itself is rich in sources of natural and traditional medicinal ingredients which have been used for generations as traditional medicinal ingredients. Various research and development of traditional medicines are carried out as an effort to improve the quality and safety of products so that traditional medicines can be developed to standardized herbal medicines and phyto-pharmaceuticals

One of the potential medicinal plants for infection is rosemytle leaf (*Rhodomyrtus tomentosa*) which is a plant from the Myrtaceae family. Research shows that the active components in medicinal plants have antimicrobial effects that differ in their mechanism of action from antibiotics that have been around so far. Based on the literature search and research that has been done, information is obtained that the rosemytle plant (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) is traditionally used by the community as part of the fruit and leaves as antidiarrheal drugs. The results of research from Salni (2003) showed that from the leaves of this rosemytle found phloroglucinol derivative compounds that are active against *Eschericia coli* and *Staphylococcus aureus* are rhodomyrtone. Rhodomyrtone is a phloroglucinol derivative with the name 4,9 dihydro -6.8 dihydroxy -2.2 4.4 tetramethyl 9 (2 methylprofil)-7-(3-methyl-1-oxobutyl)-1-4- xanthene -1.3 (2n) dione (Deachriyanus et al., 2002; Salni et al., 2003).

Rhodomyrtone has strong activity against Gram positive and Gram negative bacteria including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. The activity of rhodomyrtone is comparable to that of the antibiotics vancomycin and daptomycin (Leejae, 2013). Based on Salni's research (2019), it was stated that the n-hexane extract of *R.tomentosa* leaves had antibacterial activity against *Shigella dysenteriae* and *Salmonella thypi* with the active compound group in the form of phenol and ethyl acetate extract with the active compound group in the form

of secondary flavonoid metabolites. In this study, researchers tested the activity of n-hexane and ethyl acetate extracts of rosemyrtle (*Rhodomyrtus tomentosa*) leaves in curing diarrhea caused by *Shigella dysenteriae* bacteria in male white rats.

METHODOLOGY

Tools and Materials

The tools used in this study were a set of glassware, blender, rotary evaporator, analytical balance, autoclave, hot plate, oral sonde, injection syringe, incubator, magnetic stirrer, dropper pipette, stirring rod, bunsen burner, a set of soxhlet tools, vials, a set of test tubes and test tube racks, petri dishes, spatulas, drip plates, porcelain dishes, erlenmeyer, vortex mixer, spatel, needle loop, electric oven, data analysis software and a set of test animal rearing tools.

The materials used in this study were simplicia leaves of rosemyrtle (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk), male white rat wistar strain (*Rattus norvegicus*), *Shigella dysenteriae* bacteria, Mayer reagent, Wagner reagent, Liebermann-Bourcard reagent, Dragendorf reagent, Metal Magnesium, Aluminum chloride, Iron (III) chloride, Concentrated sulfuric acid, 2N sulfuric acid, Hydrochloric acid, Anhydrous acetic acid, 5% ammonia solution in chloroform, Salmonella & Shigella Agar (SSA) media, Nutrient Broth (NB) media, aluminum foil, whatmen filter paper, aquadest, standard rat food, n-hexane, and ethyl acetate.

Test Animals

The test animals used in this study were 25 male Wistar rats. The rats used weigh between 200-250 grams and are between 2-3 months old. The test rats used were healthy, not disabled, and had normal behavior.

Research methods

Material Collection

The plant used in this study was rosemyrtle leaf (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) taken at the Medicinal Plant Garden of Andalas University, Padang, West Sumatra. Plants were identified at the Andalas University Herbarium (ANDA), Padang, West Sumatra.

Simplicity Making

Green rosemyrtle leaves are separated from the branches. Rosemyrtle leaves are cleaned of dirt by washing thoroughly with running water, then drained. The clean rosemyrtle leaves were then weighed as a whole as wet weight. 5 kg of rosemyrtle leaf samples were dried under conditions protected from direct sunlight and placed in a greenhouse. Samples were left for a week. The dried rosemyrtle leaves were mashed using a blender and the net weight was weighed.

Making n-hexane and Ethyl Acetate Extract of Rosemyrtle Leaves

Preparation of extracts of n-hexane and ethyl acetate of rosemyrtle leaves was carried out by soxhlet extraction method using n-hexane as solvent and then continued with ethyl acetate as solvent. A total of 400 grams of simplicia rosemyrtle leaf powder were wrapped in filter paper and put in the sleeve of the Soxhlet apparatus, plus 1 liter of the volume of each solvent. The length of the extraction process for each solvent was 6 hours for 5 days. Filtration is carried out

until the cycle drops are colorless. The liquid extract obtained was then concentrated with a rotary evaporator at a temperature of 70°C until a thick extract was obtained.

Preparation of 1% Na CMC Suspension (w/v)

The 1% Na CMC suspension was made by weighing 10 grams of Na CMC then sprinkled into a mortar containing 20 ml of hot distilled water, covered and left for 30 minutes until a transparent mass was obtained, crushed to form a gel and diluted with a little distilled water, then was poured into a 100 mL volumetric flask, plus distilled water up to the mark.

Preparation of Suspension Preparations Combination of n-hexane Extract and Ethyl Acetate

The combination of n-hexane extract suspension and ethyl acetate in a ratio of 1:1 was carried out by making the mother liquor with the highest dose, ie 100 mg/kgBW. The mother liquor was made by dissolving 1 g of n-hexane extract and 1 g of ethyl acetate dissolved in 1% Na CMC solution, then adding aquadest up to 200 mL in a 200 mL volumetric flask. Doses of 50 and 25 mg/kgBW were made by diluting the mother liquor. A dosage of 50 mg/KgBW is made by taking 50 mL of the mother liquor, then adding 100 mL of distilled water. A dosage of 25 mg/KgBW was made by taking 25 mL of the mother liquor and adding aquadest up to 100 mL.

Preparation of Ciprofloxacin Suspension Preparations

Ciprofloxacin at a dose of 9.8796 mg/200gBW rats was made by dissolving 493.98 mg of ciprofloxacin into 1% Na CMC suspension little by little while grinding homogeneously and then adding 1% Na CMC suspension to a 100 mL volumetric flask.

Manufacturing of Shigella dysenteriae Bacterial Suspension

Culture preparation was carried out by taking 1-2 oses of pure Shigella dysenteriae culture from slanted NA media and then transferred to 10 ml NB media, then vortexed and statically incubated at 37°C for 24 hours. After being incubated for 24 hours, around 10⁸ CFU/ml of Shigella dysenteriae will be obtained. After that the test culture is ready for use.

Test Animal Setup

The test animals used were healthy white Wistar rats aged 2-3 months with a weight of 200-250 grams. The test animals were acclimatized for 7 days in order to adapt to the laboratory environment. The test animals that will be used in this study were 5 rats in each group. The group of test animals used can be seen in Table 1.

Table 1 Treatment groups for antidiarrheal activity in male white rats induced by *Shigella dysenteriae*

| No. | Kelompok | Perlakuan |
|-----|-----------------|---|
| 1. | Negatif control | Bacterial suspension + 1% Na CMC suspension |
| 2. | Group I | Bacterial suspension + Suspension combination of n-hexane extract and rosemytle leaf ethyl acetate 25 mg/kg BW |
| 3. | Group II | Bacterial suspension + Suspension combination of n-hexane extract and rosemytle leaf ethyl acetate 50 mg/kg BW |
| 4. | Group III | Bacterial suspension + Suspension combination of n-hexane extract and rosemytle leaf ethyl acetate 100 mg/kg BW |
| 5. | Positif control | Bacterial suspension + Ciprofloxacin suspension 500 mg/kg BW |

Antidiarrheal Trial Design

The test animals were weighed and divided into 5 groups, namely a negative control group, a positive control group, and a combination group of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaf as shown in table 1. Prior to bacterial infection, the rats' feces were first taken for culture testing. bacteria with SSA (*Salmonella Shigella Agar*) media to ensure that the feces are free of contaminants. Test animals were induced by the bacterium *Shigella dysenteriae* with a concentration of 108 CFU/ml orally in a single dose of 0.1 ml, after induction, the incubation period was 3-4 days. Observation of the bacterial culture in the feces of the test animals was carried out.

Mice that were already positively infected were then given treatment. Group I (negative control) was given 1% Na-CMC suspension for 12 days. Group II was given a suspension of a combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves at a dose of 25 mg/kg BW for 12 days. Group III was given a suspension of a combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves at a dose of 50 mg/kg BW for 12 days. Group IV was given a suspension of a combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves at a dose of 100 mg/kg BW for 12 days. Group V (positive control) was given ciprofloxacin 500 mg/kg BW for 12 days. All treatments were given orally.

During the study, the parameters observed were measurements of body weight and consistency (morphology) of feces, and the number of *Shigella dysenteriae* bacterial colonies based on rat feces culture. This parameter was observed every day for 12 days of observation. During the experiment, the test animals were given food and water as needed. Every day the general condition and symptoms of abnormalities that arise in the test animals are observed (Jang Gi et al, 2011).

Testing of feces on SSA media (*Salmonella & Shigella Agar*) was carried out on the last day of acclimatization as a preliminary test to determine that the rats were in healthy or normal condition. 1 g of feces taken was then diluted with 10 ml of sterile distilled water. 10 ml of feces solution, then diluted 6 times starting from 10⁻¹ to 10⁻⁶ into 9 ml of distilled water. 1 ml was taken from the 10⁻⁵ and 10⁻⁶ dilutions and then tested on AAS media and incubated for 24 hours at 37°C. This test was carried out on all test animals. The number of *Shigella dysenteriae* bacteria

was calculated in the feces. All data obtained were tabulated and the results of each group were averaged (Sharma et al., 2015).

Data analysis

Statistical analysis with one-way ANOVA (Analysis of Variance) with 95% confidence level. If the data obtained proves that there is a significant difference, it will be continued with Duncan's post hoc test. The program used for data processing is SPSS software.

RESULTS AND DISCUSSION

Number of Bacterial Colonies of *Shigella dysenteriae* in Rat Feces

The number of colonies of *Shigella dysenteriae* bacteria in rat feces after being treated with a combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemyrtle leaves with various doses compared to negative and positive controls for 12 days of observation can be seen in Figure 1 below:

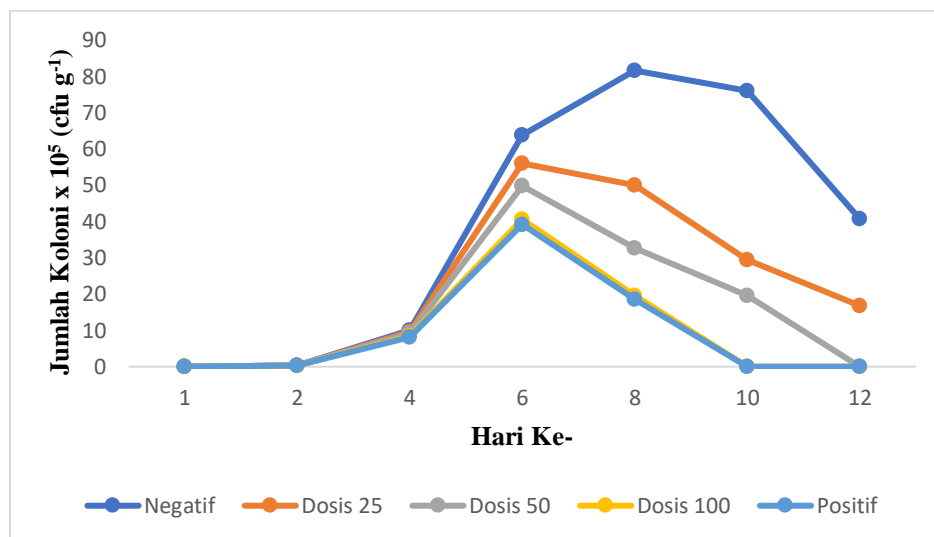


Figure 1 Graph of the relationship between the average number of bacterial colonies in each group after the induction of *Shigella dysenteriae*

Based on the research that has been done, the results of observations of bacterial colonies grown on SSA (*Salmonella Shigella Agar*) media were obtained, namely the colonies were white and some of the media turned yellow after incubation. White bacterial colonies indicate that the bacteria are from the genus *Shigella.sp*. On AAS media, the colonies that grew were black and white colonies. The white colonies mostly came from bacterial colonies of the genus *Shigella.sp* (Aini, 2018).

Testing the antidiarrheal activity of the combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemyrtle leaves caused by the bacterium *Shigella dysenteriae* was carried out using the in vivo method. The test animals used in the in vivo method were male white rats of the wistar strain, aged 2-3 months in healthy condition and without defects. Using the wistar strain male white rats because the wistar strain male white rats have a strong immune system, good appetite, can

quickly adapt to the environment, optimal growth rate, and can give a good response when given experimental treatment (Malole and Pramono, 1989) .

Test animals were induced with a suspension of *Shigella dysenteriae* bacteria because these bacteria are pathogenic bacteria that can cause shigellosis diarrhea in test animals. *Shigella dysenteriae* bacteria can cause infection after a susceptible individual ingested 10 *Shigella dysenteriae* organisms or the infective dose of 10³ organisms. The short incubation period that can cause shigellosis diarrhea is 1-3 days (Brooks et al., 2007). The mechanism of infection with *Shigella dysenteriae* is by the entry of bacteria into the digestive tract. This bacterial invasion results in the infiltration of polymorphonuclear cells and causes the death of the epithelial cells, resulting in small ulcers in the area of invasion that cause red blood cells and plasma proteins to leave the cells and enter the intestinal lumen and eventually exit together. feces (Brooks et al., 2007).

Observations in the test group that were treated with a combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves showed a decrease in the number of bacterial colonies. The test group at a dose of 25 mg/kgBW and a dose of 50 mg/kgBW did not show a significant decrease in the number of bacterial colonies. Meanwhile, the test group at a dose of 100 mg/kg BW showed a significant decrease in the number of colonies. This means that the combination of n-hexane extract and ethyl acetate at a dose of 100 mg/kgBW is effective as an antibacterial.

It is known that the combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves contains antibacterial and antidiarrheal compounds so that it is effective in reducing infections caused by *Shigella dysenteriae* bacteria. Secondary metabolites contained in the combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves are tannins, flavonoids, steroids, phenolics, and saponins. Medicinal plants containing substances such as tannins, tanalbumin, are antidiarrheal compounds that work as an astringent, while medicinal plants containing papaverine, glycosides, flavonoids, and essential oils have antidiarrheal properties that work to suppress intestinal peristalsis (Oswald et al., 1982).

The group of compounds thought to have antidiarrheal effects are tannins and flavonoids. Where tannins are astringents that shrink the intestinal mucous membrane so that it is obstipant, and flavonoids stop diarrhea by inhibiting intestinal motility thereby reducing fluid and electrolyte secretion. While the class of compounds suspected of having an antibacterial effect are tannins, phenolics, saponins, steroids and flavonoids. Flavonoids have an antibacterial mechanism of action, presumably due to their ability to form complexes with extracellular proteins so that they can damage bacterial cell membranes followed by the release of intracellular compounds (Ika et al., 2017). Phenolics as antibacterial can denature proteins and interfere with the function of cell membranes as a selective layer, so that cells become lysed (Jawetz et al., 1996).

The results of observations on the number of *Shigella dysenteriae* bacterial colonies during treatment showed that the test group at a dose of 100 mg/kgBW and the positive control treatment group were effective in reducing the number of bacterial colonies. The positive control group experienced a significant decrease in the number of colonies because ciprofloxacin itself has an antibacterial mechanism of action by inhibiting bacterial topoisomerase II (DNA gyrase) and topoisomerase IV. Thus, DNA gyrase inhibition occurs which can prevent bacterial transcription and replication (Katzung et al., 2010). Meanwhile, the combination of n-hexane extract and ethyl acetate on phytochemical screening showed the presence of flavonoids and tannins. Flavonoid compounds and tannins are good antimicrobials, especially as antibacterial.

According to research (Sinulingga et al., 2018) rosemytle leaves are effective against Gram-positive bacterial strains and Gram-negative bacterial strains.

Based on research (Dacharianus et al., 2002; Salni et al., 2003) from rosemytle leaves obtained a new antibacterial compound Rhodomyrtone. Rhodomyrtone is very potential because of its strong activity against gram-positive and gram-negative bacteria, including MRSA-resistant bacteria. Therefore, the number of bacterial colonies in a dose of 100 mg/kgBW after 12 days was zero, there were similarities with the number of bacterial colonies in the ciprofloxacin treatment as a positive control. The antibacterial activity of the combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves was effective in reducing the number of bacterial colonies. This is due to the increasing number of antibacterial compounds contained in bioactive substances. The activity of an extract is related to the content of active compounds in the extract (Salni et al., 2016).

Number of Bacterial Colonies of *Shigella dysenteriae* on day 6, 10 and 12

Statistical tests were carried out on observations on days 6, 10 and 12. The results of the normality test obtained data that were normally distributed. Based on the results of the homogeneity analysis, obtained a significance value (Sig) > 0.05. it can be concluded that the data is homogeneous. Based on the results of the analysis of variance (ANOVA), it can be seen that the significance values are 0.003 and 0.000. The results of the analysis showed that the significance value obtained was <0.05, so it could be concluded that the average number of bacteria was significantly different between the treatment groups. To find out the differences in each treatment group, continued with Duncan's further test, the results obtained as shown in table 2

Table 2 Average number of bacterial colonies on day 6, day 10, day 12 and

| Group mg/kgbb | Hari ke-6 average | Hari ke-10 average | Hari ke-12 Average |
|------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Kontrol negative | 63.80 ^c | 76.00 ^d | 40.80 ^c |
| Dosis 25 | 56.00 ^{bc} | 29.40 ^c | 16.80 ^b |
| Dosis 50 | 49.80 ^a | 19.60 ^b | .00 ^a |
| Dosis 100 | 40.60 ^a | .00 ^a | .00 ^a |
| Kontrol positif | 39.20 ^a | .00 ^a | .00 ^a |

Explanation: numbers followed by different lowercase letters, differ in Duncan continued at the 5% level.

Based on Duncan's test on the data on the number of colonies on the 6th day, it showed that the treatment with a dose of 100 mg/kg BW and ciprofloxacin as a positive control showed the same bacterial population. This means that the combination of n-hexane extract and ethyl acetate from rosemytle leaves has the same working power as ciprofloxacin as an antibacterial drug. At the treatment dose of 25 mg/kg BW and 50 mg/kg BW also showed the same bacterial population. However, at a dose of 25 mg/kg BW and a dose of 50 mg/kg BW, its performance is not as good as at a dose of 100 mg/kg BW. While the negative control showed a significant difference compared to the positive control group and the treatment group at a dose of 100 mg/kg BW.

Based on Duncan's test on the data on the number of colonies on the 10th day, it showed that the treatment with a dose of 100 mg/kg BW and ciprofloxacin as a positive control showed

the same bacterial population. At the treatment dose of 25 mg/kg BW and 50 mg/kg BW also showed the same bacterial population. However, at a dose of 25 mg/kg BW and a dose of 50 mg/kg BW, its effectiveness on the 10th day has not been as effective as at a dose of 100 mg/kg BW. While the negative control showed a significant difference compared to the positive control group and the treatment group at a dose of 100 mg/kg BW.

The results of Duncan's test on the data on the number of colonies on the 12th day, it was known that the treatment doses of 50 mg/kg BW, 100 mg/kg BW and ciprofloxacin as a positive control showed the same low bacterial population. This means that a dose of 50 mg/kg BW and a dose of 100 mg/kg BW has the same effectiveness as standard antibiotic treatment in inhibiting the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria in rat feces. The results of the analysis obtained are in line with research that has been carried out by (Elfita et al., 2013) which is characterized by the interaction between dose and length of day recommending that the use of a combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves has the same effectiveness as positive control until the second day. the 12th.

Meanwhile, the treatment group at a dose of 25 mg/kg BW and negative control showed that the number of bacterial colonies did not decrease significantly until the 12th day. This is because the negative control was only given Na-CMC and the antibacterial compound content at a dose of 25 mg/kg BW was less effective as an antibacterial compared to a dose of 50 mg/kg BW and a dose of 100 mg/kg BW a combination of n-hexane extract and leaf ethyl acetate. caramunting. Based on Figure 1, it is known that a dose of 100 mg/kg BW has the same effectiveness as ciprofloxacin as a positive control. It can be concluded that the results of ANOVA data analysis with a 95% confidence level and Duncan's follow-up test showed that the interaction between the treatment dose and the length of time of treatment had an effect on the population of *Shigella dysenteriae* bacteria.

Faeces morphology

Diarrhea is a condition characterized by repeated discharge of liquid feces (more than 3 times a day) with an increase in the consistency of watery stools caused by increased intestinal motility due to bacterial infection. According to (Ika et al., 2017) stool morphology needs to be seen to determine the ability of the test material to reduce stool consistency by reducing body fluid expenditure. The stool morphology of the test animals describes the shape and amount of feces excreted. Observation of the morphology of feces to see the ability of the test substance in reducing bacterial infection.

Table 3. Morphology of rat feces

| Group test | Morfologi of rat Feses - | | | | | | | |
|------------|--------------------------|----|----|----|----|----|----|----|
| | Tikus | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| Negatif | 1 | BL | BL | BL | BL | BL | BL | L |
| | 2 | BL | BL | L | L | BL | BL | L |
| | 3 | L | BL | BL | L | L | L | N |
| | 4 | BL | BL | BL | L | L | L | N |
| | 5 | L | BL | L | BL | L | L | L |

| | | | | | | | | |
|---------|---|----|----|----|----|----|----|---|
| Dosis 1 | 1 | BL | BL | L | L | BL | L | L |
| | 2 | L | BL | L | L | L | N | N |
| | 3 | BL | BL | BL | L | L | L | L |
| | 4 | BL | L | BL | L | L | BL | L |
| | 5 | L | L | L | BL | L | N | N |
| Dosis 2 | 1 | BL | BL | BL | L | L | L | N |
| | 2 | BL | L | L | BL | L | L | L |
| | 3 | BL | BL | BL | L | L | N | N |
| | 4 | L | L | L | BL | L | L | N |
| | 5 | BL | L | BL | L | L | N | N |
| Dosis 3 | 1 | BL | BL | L | N | N | N | N |
| | 2 | BL | BL | L | L | L | N | N |
| | 3 | L | L | L | L | N | N | N |
| | 4 | L | L | L | L | N | N | N |
| | 5 | BL | BL | BL | N | N | N | N |
| Positif | 1 | L | BL | L | L | N | N | N |
| | 2 | L | L | L | L | N | N | N |
| | 3 | BL | L | L | N | N | N | N |
| | 4 | BL | L | L | N | N | N | N |
| | 5 | BL | L | L | L | N | N | N |

Description : BL : Slimy / runny
L : Soft
N : Normal

Based on the observational data that has been carried out, it is known that diarrhea caused by *Shigella dysenteriae* causes the rat feces to be soft or liquid and contain mucus, often the mucus coats the outside of the feces. According to (Kamgang et al., 2005) infection by the bacteria *Shigella dysenteriae* also often causes rat feces to appear shiny dark brown because they contain blood and mucus. In humans, shigellosis diarrhea occurs in two phases, namely the first phase where the diarrhea phase is watery and the second phase is with feces containing mucus or blood accompanied by abdominal pain/cramps and fever. While the infected mice showed watery feces with blood appearing in the anus or mixed with feces.

Shigella dysenteriae bacteria secrete shiga toxin that can stimulate intestinal secretions so that it will affect the absorption process in the gastrointestinal tract. The results of observations that have been carried out show that the feces of the negative control group rats have a slimy/watery morphology until the 10th day. This was because the negative control group was only given Na-CMC without diarrhea-inhibiting drugs, so the rats were infected for a longer time. In the treatment group, the test dose showed that the morphology of the rat feces looked slimy or watery and then gradually returned to normal.

Based on the observations of the treatment group at a dose of 25 mg/kg BW and a dose of 50 mg/kg BW, the rat's feces looked slimy or watery in a longer time span than the treatment group at a dose of 100 mg/kg BW. This is because increasing the dose affects the effectiveness of the compounds contained in the combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves. The combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemytle leaves contains tannins and flavonoids which have antimotility, antisecretory and antibacterial activities (Otshudi, et al., 2000). Tannins and flavonoids can reduce the intensity of diarrhea by shrinking the intestinal mucous membrane and shrinking the pores so that it will inhibit the secretion of

fluids and electrolytes (Tjay and Rahardja, 2002). Therefore, slimy or watery stools will gradually return to normal.

The treatment group at a dose of 100 mg/kg BW showed results that were close to the results of the positive control group, namely the stool returned to normal on the 8th day. It can be stated that a dose of 100 mg/kg BW combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemyrtle leaves is effective as an antidiarrheal. The results obtained are in line with research that has been carried out by (Uthia et al., 2019) marked by increasing the dose which will affect the effectiveness of the compounds contained in the test material so that the treatment group at a dose of 100 mg/kg BW has an effectiveness close to ciprofloxacin as a control. positive.

CONCLUSION

Based on the results of the research on the antidiarrheal activity of the combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemyrtle (*Rhodomyrtus tomentosa*) leaves on male white rats of wistar strain induced by *Shigella dysenteriae* bacteria, it can be concluded that:

1. The number of bacterial colonies on day 10 showed that the combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemyrtle leaves at a dose of 100 mg/kg BW had the same effectiveness and there was no significant difference compared to ciprofloxacin ($p > 0.05$).
2. Stool morphology after administration of a combination of n-hexane extract and ethyl acetate of rosemyrtle leaves showed a change in consistency from what was initially slimy/watery, gradually improved and returned to normal on the 10th day of treatment.

REFERENCES

- Adnyana, I. K., Yulina, E., Sigit, J.I., Fisher, N.K., dan Insanu, M. 2004, *Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji Daging Buah Merah Sebagai Antidiare*, Acta Pharmaceutica Indonesia, XXIX (1) : 2-9.
- Aini, F. 2018, *Isolasi dan Identifikasi Shigella Sp. Penyebab Diare pada Balita*, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia.
- Brooks, J. S. B., Stephen, A. M. 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Salemba Medika, Jakarta, Indonesia.
- Brooks, J. S. B., Stephen, A. M. 2007, *Jawetz, Melnick, & Adelburg's medical microbiology, 23th ed*, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Dachriyanus., Salni., Skelton, D. B. W., Soediro, C. I. 2002, *Cytotoxic Compounds from Rosemyrtle (Rhodomyrtus tomentosa)*, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 1995, *Materia Medika*, Jilid.VI, Diktorat Jendral POM–Depkes RI, Jakarta, Indonesia.

- Departemen Kesehatan RI. 2010, *Pedoman Pemberantasan Penyakit Diare*, Ditjen PPM dan PI, Jakarta, Indonesia.
- Devi, A. S., Rajkumar, J., Modilal, M.R.D., & Ilayaraja, R. 2012, *Antimicrobial activities of Avicennia marina, Caesalpinia pulcherrima and Melastoma malabathricum against clinical pathogens isolated from UTI*, International Journal of Pharmacy and Biology Sciences, 3(3), pp.698-705.
- Dewi, I.K., Joharman, Lia, Y.B. 2013, *Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Etanol Dengan Sediaan Sirup Herbal Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Terhadap Pertumbuhan Shigella dysenteriae In Vitro*, Jurnal Berkala Kedokteran Vol. 9, no 2: 191-198.
- Elfita., Munawar., Muharni., Jeni, S. 2013, *Efektivitas Ekstrak Metanol Jamur Endofitik Aspergillus Sp. Dari Tumbuhan Brotowali (Tinaspora crispera) dalam Menghambat Pertumbuhan Salmonella thypi dan Shigella dysenteriae pada Feses Mencit*, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Sumatera Selatan.
- Ika, K. S., Elin, Y. S., & Neng, F. K. 2017, *Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Suji (Dracaena Angustifolia Roxb)*, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Jawa Barat, Indonesia.
- Jawetz, E, Melnick, L.L, Adelburg, E. A. 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Jawetz, E, Melnick, L.L, Adelburg, E. A. 2008, *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Kamgang, R., Pouokam, K. E. V., Fonkoua, M. C., Penlap, N. B. V., and Biwole, S. M. 2005, *Shigella dysenteriae Type 1-Induced Diarrhea in Rats*, University of Yaounde and Laboratory of Bacteriology, Centre Pasteur of Cameroon, Yaounde, Cameroon.
- Katzung, B. G., 2010, *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 10*, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Leejae, S., Hasap, L., Voravuthikunchai, S. P. 2013, Inhibition of staphiloxanthin biosynthesis in *Staphylococcus aureus* by rhodomyrtone, a novel antibiotic candidate. *J Med microbiol*, **62(3)**:421-8.
- Malole, M. B. M. dan C. S. U. Pramono. 1989, *Pengantar Hewan Percobaan di Laboratorium*, Pusat antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor, Indonesia.
- Nafianti, S., Atan S. 2005, *Resisten Trimetoprim – Sulfametoksazol Terhadap Shigellosis*, Sari Pediatri Vol. 1, no 1: 39 – 44.
- Noubissi, P. A., Michel, A. F. T., Gaëtan, O. F., Joseph, N. M., Henri, W., and Rene, K. 2019, *Effects of Crinum jagus Water/Ethanol Extract on Shigella flexneri-Induced Diarrhea in Rats*, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume, Article ID 9537603, 10 pages
- Nuryoto. 2008, *Studi Kinerja Katalisator Lewatit Monoplus s-100 pada Reaksi Esterifikasi antara Etanol dan Asam Asetat*, <http://journal.ugm.ac.id/jrekpros/article/download/551/369>., diakses tanggal 3 Juli 2019.
- Oswald, T.T., Nurendah, P.S., Dzulkarnain, B. 1982, *Komponen Tumbuhan Yang Aktif Sebagai Antidiare*, Prosiding Kongres Nasional XI ISFI, Jakarta, Indonesia.

- Otshudi, L. A., Vercruyse, A., and Foriers, A. 2000, *Contribution to the Ethnobotanical, Phytochemical and Pharmacological Studies of Traditionally Used Medicinal Plant in the Treatment of Dysentery and Diarrhoea in Lomela Area, Democratic Republik of Congo (DRC)*, Journal of Ethnopharmacol, 71(3) : 411-23.
- Pazhani, G. P., Bhaswati, S., Thandavarayan, R., Sujit, K.B., Yoshifumi, T., Swapan, K. N. 2004, *Clonal Multidrug Resistant Shigella dysenteriae Type 1 Strains Associated with Epidemic and Sporadic Dysenteries in Eastern India*, Journal of Medical Microbiology Volume 48, no 2 : 681-684.
- Rahayu, P. W. 2000, *Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak*, Vol 11(2), Buletin Teknologi dan Industri Pangan.
- Salni. 2003. *Karakterisasi dan uji aktivitas topikal senyawa antibakteri dari daun rosemytle (Rhodomyrtus tomentosa (Ait.) Hassk)*. Disertasi. ITB. Bandung, Indonesia.
- Salni., Hanifa, M., Harmida. 2016, *Activity Tests Of Bioactive Material Of Salung Leaf (Psychotria Viridiflora Reinw. Ex. Blume) Against Salmonella Typhi Bacteria In Vitro And In Vivo*, Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol. 14, No. 1 Hlm. 13-18.
- Salni and Hanifa, M. 2019, *Evaluation On Antibacterial Activity Of Rosemytle Leaf Extract (Rhodomyrtus Tomentosa (Ait) Hassk) With Various Solvents To Shigella Dysenteriae And Salmonella Typhi*, Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences Vol. 15, No. 5 (2019) 671-674.
- Sinulingga, S. E., Poppy, A. Z. H., Dwi, S. 2018, *Antibacterial Activity Of Rosemytle (Rhodomyrtus Tomentosa (Aiton) Hassk) Leaf Extract And Fractions*, Asian J. Pharm. Clin. Res. 11(3), 163-165.
- Sya'roni, A. 2009, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam: Disentri Basiler*, Edisi V. Interna Publishing, Jakarta, Indonesia.
- Tjay dan Rahardja. 2002, *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya*, Edisi V, PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta, Indonesia.
- Uthia, R., S., Fitriana, S., Oktavia., dan Abdillah., R. 2018, *Studi Pendahuluan Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (Gynura Procumbens (Lour) Merr.) terhadap Kadar Glukosa Darah Pada Mencit Putih yang Diinduksi Aloksan*, Jurnal Farmasi Higea 10(2): 143-146.



SICBAS 2021 Conference

Certificate of Appreciation

This Certificate is awarded to:

Dr. Salni, M.Si.

For presenting His/Her outstanding research work (Abstract ID: ABS-25) at
SICBAS 2021 conference, held on 2 November 2021 in Palembang

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Muhammad Said', written in a cursive style.

Dr. Muhammad Said, M.T.
SICBAS 2021 Chairperson



Dokumen Realisasi Mitra

**PT. MITRA DULUR SEJAHTERA
PABRIK OBAT TRADISIONAL (HERBAL)**

JL. Soekarno Hatta No. 84 Kel. Bukit Baru Kec. Ilir Barat I Palembang 30131

Telp : 0711-443124

Mobile: 0815 40 000 250

Email : mds.herbal.id@gmail.com



PENINGKAPSULAN EKSTRAK DAUN KARAMUNTING

1. Prosedur Proses

1.1. Proses Ekstraksi

1. Menyiapkan peralatan ekstraksi dan memanaskan 40 L air.
2. Menimbang 4 kg bahan baku berupa daun karamunting kering.
3. Memasukkan bahan baku kedalam air yang sudah mendidih. Proses ekstraksi dilakukan selama 1 jam.
4. Ekstraksi selesai, output yang dihasilkan berupa produk ekstrak liquid. Selanjutnya dilakukan proses evaporasi

1.2. Proses Evaporasi

1. Menyiapkan peralatan evaporator vacuum.
2. Memasukkan ekstrak cair kedalam chamber, evaporasi dilakukan selama 7 jam.
3. Evaporasi selesai, output yang dihasilkan berupa produk padatan tidak seragam. Produk di keluarkan dari chamber untuk selanjutnya dihaluskan dan dilakukan grinding sebelum dikemas menggunakan kapsul.

1.3. Analisa Sampel

1.3.1. Pengujian Fitokimia

1.3.1.1. Identifikasi Alkaloid

500 mg sampel + 1 ml HCl 2N + 9 ml H₂O dipanaskan sampai larut kemudian dinginkan. Filtrate kemudian di tetesi pereaksi dragondrof. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga, sampel positif mengandung alkaloid.

1.3.1.2. Identifikasi Flavonoid

5 ml larutan sampel + 2 ml ethanol 95% + 500 mg Zinc + 2 ml HCl 2N. Tambahkan 10 tetes HCl pekat dan diamkan 5 menit. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga, sampel positif mengandung flavonoid.

1.3.1.3. Identifikasi Saponin

1 gr sampel dipanaskan dengan 10 ml air kemudian di gojok sampai terdapat buih. Tambah 1 ml HCl 2N, Jika buih tidak hilang maka sampel positif mengandung saponin.

1.3.1.4. Identifikasi Tanin

5 ml sampel di tetesi dengan pereaksi besi (III) klorida, jika terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman maka sampel positif mengandung tanin.

1.3.2. Identifikasi Saponin Metode TLC

1. Menimbang 0.25 gr sampel dan memasukkannya kedalam labu ukur 25 ml.
2. Menambahkan aquades sampai sepertiga volume labu ukur, kocok sampai larut.
3. Menyaring suspense yang dihasilkan.
4. Menotolkan filtrate ke lempeng TLC sebanyak 5 μ l.
5. Mengelusi lempeng tersebut dengan eluen $\text{CHCl}_3 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} : \text{C}_4\text{H}_8\text{O}$.
6. Menghitung nilai Rf yang dihasilkan.

Nilai Rf dapat ditentukan dari persamaan berikut :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

1.3.3. Pengujian Angka Lempeng Total

1. Timbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi berikut:
Ekstrak daging 3 gr
Peptone 5 gr
Agar 15 gr
Aquades 1000 ml
2. Larutkan agar dengan mengaduk secara konstan diatas hot plate stirrer (jangan sampai overheat, karena akan terbentuk busa dan memuai sehingga tumpah)
3. Larutkan peptone dan ekstrak daging, cukup dengan pengadukan sampai homogen.
4. Ukur pH media. Jika pH tidak netral maka dapat ditambahkan HCl/NaOH.
5. Tuang media steril ke cawan petri steril.
6. Aplikasikan sampel ke media dengan cara tanam sebar.

Nilai angka lempeng total dapat diperoleh dari persamaan berikut :

$$\text{CFU/ml} = \frac{\sum C}{n} \times d$$

Dimana :

- $\sum C$ jumlah koloni yang dihitung pada cawan
n jumlah cawan yang digunakan pada pengenceran
d jumlah sampel yang diinokulasi
CFU/ml satuan total mikroba yang tumbuh

1.3.4. Pengujian Kadar Air

1. Menimbang cawan porselen kosong sebagai a gr.
2. Memasukkan 2 gr sampel ke dalam cawan porselen, kemudian timbang sebagai b gr.
3. Masukkan kedalam oven 105°C selama 1 jam, dinginkan dalam desikator kemudian timbang sebagai c gr.
4. Selanjutnya dilakukan perhitungan total kadar air dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100 \%$$

2. Data Pengamatan

2.1. Batch I

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------------|----------|
| 246,9 | 219,38 | 11,17 | 0,53 | 7×10^{-4} | 0,98 |

2.2. Batch II

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 382,21 | 315,43 | 17,47 | - | - | - |

2.3. Batch III

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 263,18 | 205,05 | 22 | - | - | - |

2.4. Batch IV

| Berat Produk Awal (gr) | Berat Produk Setelah Halus (gr) | Penyusutan (%) | Kadar Air (%) | TPC (CFU/ml) | Nilai Rf |
|------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------|----------|
| 256,22 | 217,29 | 15,19 | - | - | - |

3. Hasil Perhitungan

3.1. Total penyusutan

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{\text{berat sebelum dihaluskan} - \text{berat setelah dihaluskan}}{\text{berat sebelum dihaluskan}} \times 100 \%$$

3.1.1. Bahan Baku

Bahan baku yang diterima = 15 kg (keadaan lembab)

Setelah pengeringan = 13,5 kg

Total penyusutan = 15 kg – 13,5 kg

= 2,5 kg

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(15 - 13,5) \text{ kg}}{15 \text{ kg}} \times 100 \%$$

= 16,6 %

3.1.2. Batch I

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(246,98 - 219,38) \text{ gr}}{246,98 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 11,17 %

3.1.3. Batch II

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(382,21 - 315,43) \text{ gr}}{382,21 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 17,47 %

3.1.4. Batch III

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(263,18 - 205,05) \text{ gr}}{263,18 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 22 %

3.1.5. Batch IV

$$\% \text{ penyusutan} = \frac{(256,22 - 217,29) \text{ gr}}{256,22 \text{ gr}} \times 100 \%$$

= 15,19 %

3.2. Identifikasi Saponin

3.2.1. Penentuan Rf larutan baku sampel 100 ppm

$$R_f = \frac{4,8 \text{ cm}}{5 \text{ cm}}$$

= 0,96

3.2.2. Penentuan Rf larutan sampel

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{4,9 \text{ cm}}{5 \text{ cm}} \\ &= 0,98 \end{aligned}$$

3.3. Angka Lempeng Total

$$\begin{aligned} \text{CFU/ml} &= \frac{7+5+9}{3} \times 10^{-4} \\ &= 7 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

3.4. Kadar Air

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar Air} &= \frac{45,20-44,13}{(45,20 - 43,20) \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 0,53 \% \end{aligned}$$

Nilai persentase kadar air ini sangat berpengaruh terhadap ketahanan kapsul. Semakin tinggi kadar air maka keadaan serbuk dalam kapsul akan semakin lembab dan dapat menyebabkan kerusakan, penurunan kualitas, memicu adanya pertumbuhan jamur yang dapat merusak fungsi dari serbuk tersebut. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, kadar air dari sediaan serbuk dalam kapsul tersebut hanya 0,53 %.

Produksi



Didik Agustami

Palembang, 05 November 2021

Dibuat Oleh,
Quality Control



Tria Nur Jannah, A.Md.T.

Mengetahui,
Direktur Utama



Wiratama Endika SID

FOTO-FOTO PROSES PRODUKSI KAPSUL EKSTRAK KARAMUNTING



Simplisia daun karamunting



Proses penimbangan simplisia



Input ke ekstraktor



Ouput dari ekstraktor



Filtrasi ekstrak



Input ke evaporator



Ouput evaporator



Ekstrak bath 1



Ektrak bath 2



Ekstrak bath 3



Uji kadar air



Grinding



pengkapsulan



Uji fitokimia



Produk kapsul ekstrak karamunting



Kapsul ekstrak karamunting

