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

SKRIPSI

Oleh:

TARIAS RAHAYU

08613178

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

JUNI 2012

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

SKRIPSI

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

Oleh:

TARIAS RAHAYU

08613178

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

JUNI 2012

SKRIPSI

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

Yang diajukan oleh:

TARIAS RAHAYU
08613178

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt.	drh. Retno Murwanti, M.P. PhD

ii

SKRIPSI

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

Oleh:
TARIAS RAHAYU
08613178

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

Tanggal: 9 Juni 2012

Ketua Penguji:
1. Dr. Farida Hayati M.Si, Apt. (.....)

Anggota Penguji:
1. drh. Retno Murwanti, M.P., PhD (.....)
2. Dr. Arief Nurrochmad, M.Sc., Apt. (.....)
3. Vitarani Dwi Ananda Ningrum, M.Si., Apt. (.....)

Mengetahui
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Yandi Syukri, M.Si., Apt.

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, Juni 2012

Penulis,

Tarias Rahayu

Karya skripsi ini saya persembahkan teruntuk

Allah SWT yang telah memberikan segala kasih sayang, nikmat,karunia dan cintanya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan caraMU.

Rasullah SAW berserta para sahabat yang telah memberikan kesempatan kami menikmati jaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan ini, semoga syafaat beliau dapat kita peroleh di yaumul akhir kelak

Kedua orang tua saya, Mama-Papa yang selalu memberikan kasih sayang, motivasi secara moral maupun materil dan spritual yang mengalir tiada henti disetiap tarikan nafas sehingga ananda dapat menyelesaikan karya skripsi ini

Ketiga Kakak saya; Mas Pipik, Mas Erik, dan Mas Topan yang selalu memberikan semangat perjuangan dan doa yang tulus sehingga adinda dapat menyelesaikan karya skripsi ini

Keluarga Besar di Yogyakarta dan Lampung yang telah memberikan semangat dan doa yang tulus kepada saya

"Kangkung Team" Endah, Syifa, Ginna dan Liputri yang telah memberikan motivasi, pengorbanan, persaudaraan, dan warna dalam perjalanan skripsi ini

Sahabatku Panca Assifa Nita, Dewi, Riatun, Ika yang selalu meberikan motivasi, dukungan, nasehat yang membangun sehingga karya ini dapat terselesaikan. Terimakasih telah memberi warna dalam kehidupan ini

Penghuni Pondok Assifa yang telah memberikan partisipasi dalam kelancaran skripsi ini

Kelompok belajar bermain Gokuraku yang telah memberikan makna kekeluargaan serta persudaraan yang tiada tara dan selalu ada disaat duka maupun suka saat saya menjadi seorang perantau di Jogjakarta ini

Keluarga besar Himpunan Mahasiswa Farmasi UII dan ISMAFARSI Komisariat UII, Pengurus Wilayah ISMAFARSI JOGLOSEPUR periode 2010-2012 yang telah memberikan saya warna kehidupan dalam fase pembelajaran organisasi serta kekeluargaan

Teman – teman KKN unit 26 (Pupi, Uci, Icha, Mang Ancol, Bang Riki, Kak Yoga, Zed) yang telah menjadi saudara baru dan cerita dalam hidup

Teman-teman semua di seluruh penjuru Indonesia yang saya kenal maupun yang mengenal saya dan tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas semuanya. Atas doa, motivasi dan bantuaannya

"Kesuksesan bukan berada pada orang lain tapi kesuksesan berada pada diri kita sendiri, kita adalah pemegang kendalinya, terus bangkit dan jalani kenyataan hidup dengan selalu semangat serta keikhlasan"

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb

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

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

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

1. Bapak Yandi Syukri, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
2. Bapak M. Hatta Prabowo, M.Si., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia.
3. Ibu Dra. Suparmi, Apt. selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, dan nasehat dari awal strata-1 sampai terselesaikannya skripsi ini.
4. Ibu Hj. Dr. Farida Hayati, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, saran serta motivasi dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
5. Ibu drh. Retno Murwanti, M.P. PhD selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, saran serta motivasi dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Arief Nurrochmad, M.Sc.Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan pengarahan sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan baik.

7. Ibu Vitarani Dwi Ananda Ningrum, M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan pengarahan sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan baik.
8. Kedua orangtuaku tercinta dan kakak-kakakku yang telah mendukung dan mendoakan kelancaran serta kemudahan dalam pelaksanaan skripsi ini skripsi ini.
9. Seluruh staf laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang baik selama proses penelitian skripsi ini.
10. Prof. drh. Kurniasih, MVSc., Ph.D dan Staf Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang baik selama proses penelitian skripsi ini.
11. Segenap civitas akademik Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang secara tidak langsung telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Keluarga besar ENTALPHY UII yang telah memberikan bantuan, doa dan dukungannya dari awal menempuh pendidikan strata-1 sampai skripsi ini terselesaikan.
13. Teman-teman ISMAFARSI JATENG-DIY yang telah memberikan pengertian dan dukungan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
14. Berbagai pihak yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi diri penulis sendiri, para pembaca dan bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kefarmasian.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.,

Yogyakarta, Juni 2012

Penulis

DAFTAR ISI

Hal.

HALAMAN JUDUL i
LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING ii
LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PENGUJI iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN HASIL TUGAS AKHIR iv
HALAMAN PERSEMBAHAN v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR TABEL xiii
DAFTAR LAMPIRAN xiv
INTISARI xvi
ABSTRACT xvii

BAB I. PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang Masalah 1
B. Rumusan Masalah 2
C. Tujuan Penelitian 3
D. Manfaat Penelitian 3

BAB II. STUDI PUSTAKA 4
A. Tinjauan Pustaka 4
1. Toksikologi 4
a. Tinjauan Umum 4
b. Ruang Lingkup 4
c. Uji Toksikologi 5
2. Toksikologi Akut 6
a. Prinsip Uji Toksisitas Akut 7
b. Tujuan Uji Toksisitas Akut 7
c. Tolok Ukur Uji Toksikologi 7

d. Kondisi Efek Toksik 8
e. Mekanisme Efek Toksik 8
f. Wujud Efek Toksik 8
g. Sifat Efek Toksik 8
h. Pengamatan dan Evaluasi Uji Toksisitas 9
i. Toksisitas Organ Sasaran 10
j. Faktor yang Mempengaruhi Uji Toksisitas 13
3. Obat Tradisional dan Standardisasi Ekstrak 14
a. Klasifikasi Kangkung 15
b. Kandungan Kangkung 17
c. Khasiat Kangkung 18
B. Keterangan Empirik 18

BAB II. METODOLOGI PENELITIAN 19
A. Alat dan Bahan 19
1. Alat 19
2. Bahan 19
3. Hewan Uji 19
B. Cara Penelitian 19
1. Ethical Clearance 19
2. Determinasi Tanaman 19
3. Preparasi Ekstrak 20
4. Penetapan Dosis dan Cara Pemejanan 21
5. Perhitungan Dosis dan Larutan Stok 22
6. Pengelompokan Hewan Uji 22
7. Cara Penanganan dan Pemeliharaan 23
8. Pengamatan Gejala Toksik 23
9. Pengambilan Organ 25
10. Pengamatan Spektrum Efek Toksik 25
11. Pengamatan Potensi Ketoksikan Akut (LD_{50}) 25
C. Analisis Hasil 26

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 28
1. Penyiapan Sediaan Kangkung Darat 28
a. Determinasi Tanaman..... 28
b. Preparasi dan Standardisasi Ekstrak Kangkung Darat 29
2. Penetapan Dosis dan Larutan Stok 30
3. Potensi Ketoksikan..... 31
4. Pengamatan Gejala Toksik 32
5. Kondisi Umum 34
6. Spektrum Efek Toksik 36

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN..... 51
A. KESIMPULAN..... 51
B. SARAN 51

DAFTAR PUSTAKA 52
LAMPIRAN 54

DAFTAR GAMBAR

Hal.

Gambar 1. Kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) 16
Gambar 2. Determinasi kangkung 19
Gambar 3. Kangkung yang sudah dicuci bersih 20
Gambar 4. Kangkung yang telah diiris 20
Gambar 5. Proses maserasi 21
Gambar 6. Ekstrak kental kangkung darat 21
Gambar 7. Skema penelitian 27
Gambar 8. Grafik rata-rata kenaikan berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 35
Gambar 9. Hasil pengamatan makroskopis organ (1) 36
Gambar 10. Hasil pengamatan makroskopis organ (2) 36
Gambar 11. Organ yang telah diawetkan formalin 10% 39
Gambar 12. Irisan melintang jaringan hati normal mencit betina, perbesaran 20x10 42
Gambar 13. Irisan melintang jaringan hati mencit betina yang mengalami infiltrasi glikogen, perbesaran 10x10 42
Gambar 14. Irisan melintang jaringan hati mencit betina yang mengalami degenerasi, perbesaran 40x10 43
Gambar 15. Irisan melintang jaringan hati mencit betina yang mengalami radang, perbesaran 20x10 43
Gambar 16. Irisan melintang jaringan paru normal mencit betina, perbesaran 10x10 44
Gambar 17. Irisan melintang jaringan paru mencit betina yang mengalami radang, perbesaran 20x10 44
Gambar 18. Irisan melintang jaringan ginjal normal mencit betina, perbesaran 20x10 45
Gambar 19. Irisan melintang ginjal mencit betina yang mengalami perivaskulitis/radang, degenerasi, perbesaran 40x10 45

Gambar 20. Irisan melintang jaringan lambung normal mencit betina, perbesaran 10x10 46
Gambar 21. Irisan melintang jaringan lambung mencit betina yang mengalami radang, perbesaran 20x10 46
Gambar 22. Irisan melintang jaringan jantung normal mencit betina, perbesaran 40x10 47
Gambar 23. Irisan melintang jaringan limpa normal mencit betina, perbesaran 10x10 47

DAFTAR TABEL

Hal.

Tabel I. Pemeriksaan fisik dalam uji ketoksikan 24

Tabel II. Hasil standardisasi ekstrak etanol kangkung darat 29

Tabel III. Jumlah mencit betina galur DDY yang mati pada pengamatan selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 31

Tabel IV. Jumlah mencit betina galur DDY yang mati pada pengamatan hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 32

Tabel V. Hasil pengamatan kualitatif gejala toksik pada hewan uji selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 33

Tabel VI. Hasil pengamatan kualitatif gejala toksik pada hewan uji hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji 33

Tabel VII. Rata-rata kenaikan berat badan perhari mencit betina setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 35

Tabel VIII. Persentase kenaikan berat badan perhari 36

Tabel IX. Hasil pengamatan makroskopis organ mencit betina galur DDY selama 24 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 38

Tabel X. Hasil pengamatan makroskopis organ mencit betina galur DDY hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 38

Tabel XI. Hasil pengamatan histopatologi organ mencit betina galur DDY selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 40

Tabel XII. Hasil pengamatan histopatologi organ mencit betina galur DDY hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 41

DAFTAR LAMPIRAN

Hal.

Lampiran 1. Ethical clearance 55
Lampiran 2. Surat determinasi kangkung darat..... 56
Lampiran 3. Surat keterangan membeli mencit betina galur DDY usia 2-3 bulan..... 57
Lampiran 4. Surat keterangan histopatologi organ mencit betina galur DDY 58
Lampiran 5a. Perhitungan rendemen ekstrak kental kangkung darat..... 59
Lampiran 5b. Perhitungan konversi dosis tertinggi ekstrak darat ke bobot kangkung kering..... 60
Lampiran 5c. Perhitungan konversi dosis terendah ekstrak darat ke bobot kangkung kering..... 61
Lampiran 5d. Perhitungan konversi dosis tertinggi ekstrak darat ke berat kangkung yang biasa dikonsumsi manusia..... 62
Lampiran 6a. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina galur DDY kelompok kontrol akuades 10 ml/kgBB 63
Lampiran 6b. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina galur DDY dosis 480 mg/kgBB 64
Lampiran 6c. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina galur DDY dosis 1200 mg/kgBB..... 65
Lampiran 6d. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina galur DDY dosis 3000 mg/kgBB..... 66
Lampiran 6e. Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina galur DDY dosis 7500 mg/kgBB..... 67
Lampiran 7a. Penimbangan berat badan mencit betina galur DDY setelah pemberian sediaan uji..... 68
Lampiran 7b. Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok kontrol akuades 10 ml/kgBB 70
Lampiran 7c. Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok dosis 480 mg/kgBB..... 71

Lampiran 7d. Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok dosis 1200 mg/kgBB 72
Lampiran 7e. Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok dosis 3000 mg/kgBB 73
Lampiran 7f. Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok dosis 7500 mg/kgBB 74
Lampiran 8a. Hasil uji distribusi normal dari perubahan berat badan mencit betina galur DDY hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 75
Lampiran 8b. Hasil uji test homogenity of variances dari perubahan berat badan mencit betina galur DDY hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 76
Lampiran 8c. Hasil uji analisis varians dari perubahan berat badan mencit betina galur DDY hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal 77
Lampiran 9. Larutan stok 77

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

INTISARI

Kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) sebagai terapi diabetes telah terbukti melalui pengalaman pengobatan turun menurun masyarakat dan kajian ilmiah menggunakan hewan uji. Pada penelitian sebelumnya infusa kangkung darat dosis 89,28 mg/20gBB menunjukkan aktivitas antihiperglikemia pada mencit jantan galur Swiss yang diinduksi streptozotosin. Salah satu pengujian efek keamanan dari sediaan herbal adalah uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut bertujuan untuk mengetahui tolok ukur kuantitatif berupa LD_{50} dan tolok ukur kualitatif berupa wujud efek toksik serta pengamatan makroskopis dan mikroskopis organ vital dari hewan uji. Uji toksikologi menggunakan hewan uji mencit betina galur DDY sebanyak 43 ekor terbagi dalam lima kelompok perlakuan menggunakan empat peringkat dosis dengan rancangan acak pola lengkap searah. Pengamatan dilakukan selama 24 jam, sesering mungkin pada 6 jam pertama dan dilanjutkan sampai hari ke-15 untuk mengetahui kemungkinan munculnya toksisitas tertunda. Data kuantitatif diperoleh nilai LD_{50} semu lebih besar dari 7500 mg/kgBB setara dengan 7,087 kg/70kgBB kangkung basah atau sekitar 20,48 kali dosis terapi sebagai antihiperglikemi, termasuk kategori praktis tidak toksik berdasarkan kriteria Loomis. Secara makroskopis dan mikroskopis organ tidak menunjukan efek toksisitas akut yang berarti. Hasil analisis statistik SPSS *one-way* ANOVA perubahan berat badan tidak menunjukan perubahan yang berbeda jauh antar kelompok ($p>0,05$).

Kata kunci : Kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir), toksisitas akut, LD_{50}, mencit betina galur DDY.

ACUTE TOXICITY OF STANDARIZED ETHANOLIC EXTRACT KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir) DDY FEMALE MICE ORALLY

ABSTRACT

Kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) is known useful as diabetic therapy by empirically and scientific study with animal. In a previous study of Kangkung darat infusa dose 89.28 mg/20gBB showed anti hyperglycemic activity in mice male Swiss induced Streptozotosin. Acute toxicity is one of safety test for herbal preparations. The Purpose of acute toxicity are to know a quantitative measuring rod LD_{50}, and qualitative rod in the form of toxic effect material and vital organs macroscopic and microscopic observation of tested animal. The tested animals used 43 mice female DDY divided in five treatment groups. This test used four doses rank with complete randomized design. The observation time was done for 24 hours, as often as possible in the first 6 hours time and continued 15 days to determine the possibility of delayed toxicity. Quantitative data test a pseudo LD50 were bigger than 7500 mg/kg and equivalent with 7,087 kg/70kg Kangkung or it was about 20,48 times of the therapy dosage as anti hyperglycemic. Based on Loomis criteria and from the result, it could be included into practically non toxic category. The tested showed not significant effect of macroscopically and microscopically organs. Data were analyzed by one-way ANOVA which showed significantly difference in body weight ($p>0,05$).

Key words: Kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir), acute toxicity, LD_{50}, female mice DDY

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan negara agraris sehingga banyak ditemukan berbagai macam tanaman, terutama tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat secara empiris adalah kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir). Kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai terapi Diabetes Melitus. Penelitian tentang efektivitas antihiperglikemia kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) telah dilakukan sebelumnya dengan menggunakan infusa kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) pada mencit jantan galur Swiss yang diinduksi streptozotosin (STZ) dosis 40 mg/BB. Pada penelitian yang dilakukan tersebut infusa kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) dosis 89,28 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah [(1)], sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap efek keamanan dari kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) agar dapat menjadi pilihan terapi herbal antihiperglikemi. Pengujian efek keamanan dari kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) mengunakan sampel uji ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar agar suatu saat nanti hasil dari penelitian ini dan beberapa tahap penelitian berikutnya dapat menjadi dasar terbentuknya herbal terstandar.

Pemanfaatan obat herbal (*herbal medicine*) dan berbagai penelitian terkait *herbal medicine* mulai kembali marak dilakukan. Hal ini, disebabkan masyarakat dunia dan juga Indonesia mulai mengutamakan penggunaan obat secara alami (*back to nature*). Terkait *herbal medicine* masih kurang literatur ilmiah yang bisa kita peroleh karena bukti pengobatan dengan *herbal medicine* masih secara empiris. Salah satu peningkatan bukti ilmiah terkait *herbal medicine* adalah upaya meningkatkan status obat herbal menjadi bentuk herbal terstandar yang telah memenuhi beberapa persyaratan. Standardisasi dalam kefarmasian adalah rangkaian parameter prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait mutu, paradigma mutu kefarmasian (memenuhi syarat standar

kimia, biologi, dan farmasi), dan termasuk jaminan stabilitas sebagai produk kefarmasian. Standardisasi juga menjamin bahwa produk akhir (obat, ekstrak, atau produk ekstrak) memenuhi nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) terlebih dahulu[(2)]. Ekstrak kangkung darat merupakan salah satu *herbal medicine* yang secara empiris dipercaya memiliki aktifitas sebagai antihiperglikemia. Pengujian efek keamanan dari sediaan herbal diantaranya merupakan uji toksisitas akut, maka penelitian ini berlandaskan penelitian sebelumnya akan melakukan uji toksisitas akut dari ekstrak herbal terstandar kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir).

Uji toksisitas akut merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui efek toksik suatu senyawa, uji ini biasanya dilakukan selama 24 jam kecuali pada keadaan tertentu dilakukan selama 7 sampai 14 hari. Pada uji toksisitas akut dilakukan beberapa pengamatan, diantaranya gejala-gejala klinis, jumlah hewan uji yang mati, dan histopatologi organ[(3)]. Pada penelitian ini pengujian toksisitas akut bertujuan untuk mengetahui gejala toksik yang dapat muncul, besarnya potensi ketoksikan akut, dan mekanisme yang memperantai terjadinya kematian pada mencit betina setelah pemberian ekstrak herbal terstandar kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir). Uji toksisitas akut dapat dipengaruhi oleh berbagai parameter diantaranya berdasarkan jenis kelamin hewan uji[(4)]. Pada penelitian ini digunakan mencit betina galur DDY. Idealnya penelitian uji toksisitas akut dilakukan pada jenis kelamin yang berbeda dengan hewan uji yang sama, hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah adanya perbedaan respon atau hasil uji toksisitas akut pada kedua jenis kelamin tersebut walaupun masih dalam satu hewan uji dengan galur yang sama.

B. Perumusan Masalah

1. Seberapa besar potensi ketoksikan akut dari ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar pada mencit betina galur DDY?
2. Apakah pemberian ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar akan menimbulkan gejala toksik pada mencit betina galur DDY?

C. Tujuan Penelitian

1. Menentukan potensi ketoksikan berupa dosis letal tengah (LD_{50}) dan mengetahui mekanisme serta wujud toksik dari sediaan ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar pada mencit betina galur DDY.
2. Mengetahui gejala ketoksikan yang mungkin ditimbulkan dari pemberian ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar pada mencit betina galur DDY.

D. Manfaat Penelitian

Pada penelitian ini diharapkan memperoleh kajian ilmiah tentang uji toksisitas akut ekstrak terstandar kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) sebagai antihiperglikemia, sehingga ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar dapat menjadi pilihan terapi dan sebagai tahapan awal produk herbal standar untuk diabetes melitus.

BAB II
STUDI PUSTAKA
A. Tinjauan Pustaka

1. Toksikologi

a. Tinjauan umum

Toksikologi dapat didefinisikan sebagai kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap mahluk hidup dan sistem biologik lainnya. Selain itu toksikologi juga membahas penilaian kuantitatif tentang berat dan kekerapan efek toksik yang ditimbulkan sehubungan dengan terpejannya organisme hidup tadi.

Toksikologi mencakup berbagai disiplin ilmu dalam penerapannya, diantaranya ilmu biologi, kimia, biokimia, fisiologi, imunologi, farmakologi, dan kesehatan masyarakat. Berbagai ilmu tersebut mendukung di toksikologi untuk membantu menginterpretasikan berbagai hal, contohnya ilmu farmakologi digunakan untuk mengetahui nilai minimal atau batasan keamanan suatu zat kimia dan contoh lainnya adalah lmu biokimia untuk mengetahui mekanisme toksisitas suatu zat. Uji toksikologi merupakan uji batas keamanan suatu produk. Suatu produk xenobiotik yang akan diproduksi dan akan dipasarkan seharusnya memenuhi persyaratan batas keamanan bila digunakan oleh konsumen.

Uji toksikologi terbagi menjadi dua golongan, yaitu uji toksisitas khas dan tidak khas. Uji toksikologi tak khas adalah uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek toksik sesuatu senyawa pada aneka ragam jenis hewan uji. Uji toksikologi tak khas meliputi uji ketoksikan akut, subkronis, dan kronis. Uji toksikologi khas adalah uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi secara rinci efek toksik pada aneka ragam jenis hewan uji. Uji toksikologi khas, antara lain uji potensiasi, karsinogenik, mutagenik, teratogenik, reproduksi, kulit, mata, dan perilaku[(3)].

b. Ruang Lingkup

Toksikologi terbagi menjadi tiga kategori, yaitu toksikologi kehakiman, toksikologi lingkungan, dan toksikologi ekonomi. Toksikologi kehakiman memberikan fokus pada pengaruh bahaya toksistas zat kimia dalam aspek

medis dan hukum. Toksikologi ekonomi merupakan bagian dari ilmu toksikologi yang memberikan penjelasan tentang pengaruh zat kimia yang diberikan sengaja pada jaringan biologis terutama khususnya pada jaringan biologis manusia untuk mengetahui efek khas yang terjadi seperti efek obat, zat tambahan dan pestisida. Toksikologi lingkungan menjelaskan tentang faktor paparan (*exposure*) berupa cemaran lingkungan, makanan, air yang tidak disengaja maupun karena kontak secara langsung terutama pada jaringan biologis manusia[(5)].

c. Uji Toksikologi

Uji toksisitas akut dilakukan untuk mengetahui efek toksik suatu senyawa yang terjadi pada waktu singkat setelah dilakukan pemejanan pada waktu tertentu dengan dosis tunggal senyawa uji pada hewan uji. Uji toksisitas subkronis merupakan suatu uji untuk ketoksikan suatu senyawa yang dilakukan pada hewan uji tertentu dengan dosis berulang selama kurang dari tiga bulan. Uji toksisitas kronis serupa dengan uji toksisitas subkronis, namun ada beberapa perbedaan yaitu berdasarkan lama pemejanan dan masa pengamatan uji yang dilakukan lebih dari tiga bulan atau selama masa hidup hewan uji[(3)].

Uji teratogenik merupakan suatu uji ketoksikan untuk mengetahui pengaruh senyawa tertentu terhadap janin dalam hewan uji yang bunting, hewan uji yang digunakan pada uji teratogenik ini setidaknya terdiri dari roden dan nirroden[(3)]. Uji perilaku adalah uji ketoksikan untuk mengamati dan mengevaluasi aktivitas lokomotor dari hewan terhadap suatu paparan senyawa uji yang diberikan, selain itu uji perilaku sangat penting untuk mengetahui efek toksik suatu senyawa terhadap sistem saraf pusat. Uji potensiasi dilakukan untuk mengetahui ketoksikan suatu senyawa terhadap senyawa lain yang kemungkinan dapat meningkatkan efek toksisitas senyawa tersebut. Uji mutagenik untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian suatu senyawa uji terhadap ketoksikan pada kode genetik. Uji reproduksi dilakukan untuk menentukan pengaruh senyawa uji terhadap kemampuan reproduksi hewan uji[(3)].

2. Toksikologi Akut

a. Prinsip uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut dikerjakan minimal menggunakan dua jenis hewan uji, yaitu roden dan nirroden dengan jenis kelamin jantan maupun betina[3]. Beberapa hewan uji yang biasa digunakan antara lain anjing Beagle, mencit Guinea, kelinci Himalaya, kelinci putih New Zealand, monyet Cynomolgus, monyet Rhesus, mencit galur DDY, mencit galur NMRI, tikus galur Wistar, tikus galur Sprague Dawley. Pada uji toksisitas akut kondisi hewan uji sangat penting diperhatikan dan distandardisasi dahulu agar tidak mempengaruhi hasil uji secara signifikan karena dapat memberikan hasil yang bias serta kurang valid. Beberapa kondisi yang perlu diperhatikan antara lain pola makan, minum, status puasa, keadaan lingkungan penelitian, usia, dan berat badan[6].

Pengamatan toksisitas akut dilakukan selama 24 jam, kecuali dalam keadaan tertentu penelitian dilanjutkan sampai 7-14 hari. Pengamatan 7-14 hari dilakukan untuk mengantisipasi munculnya efek toksisitas tertunda. Data kualitatif dari uji toksistas akut berupa gejala klinis, jumlah hewan uji yang mati, dan histopatologi organ. Data kuantitatif dari uji toksisitas akut adalah nilai $LD_{50.}$ Nilai LD_{50} digunakan untuk mengetahui potensi ketoksikan suatu senyawa dan digunakan untuk memperkirakan takaran dosis uji toksikologi lainnya[3]. Dosis pada penelitian uji toksisitas akut dilakukan minimal menggunakan empat peringkat dosis. Dosis terendah adalah dosis yang tidak mematikan hewan uji atau hampir tidak mematikan hewan uji. Dosis tertinggi adalah dosis yang dapat mematikan seluruh hewan uji atau hampir seluruh hewan uji[3]. Nilai LD_{50} merupakan tolok ukur data kuantitatif dalam uji toksisitas akut dan mempunyai beberapa kegunaan, antara lain klasifikasi zat kimia berdasarkan toksisitas relatifnya dan evaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja berupa perencanaan toksisitas subkronik maupun kronik, dan memberikan informasi mekanisme toksisitas[7]. Klasifikasi potensi ketoksikan akut dari nilai LD_{50} berdasarkan kriteria Loomis 1978, yaitu luar biasa toksik 1 mg/kgBB atau kurang; sangat toksik 1 – 50 mg/kgBB; cukup toksik 50 – 500 mg/kgBB; sedikit toksik 500

– 5000 mg/kgBB; praktis tidak toksik 5000 – 15000 mg/kgBB; relatif kurang berbahaya lebih dari 15000 mg/kgBB[5]. LD_{50} dapat digunakan sebagai penentuan indeks terapi obat, karena indeks terapi merupakan nilai perbandingan antara LD_{50} dan ED_{50} (dosis efektif)[4].

b. Tujuan uji toksiksitas akut

Menentukan LD_{50} pada hewan uji pada uji toksisitas akut tidak lagi menjadi hal yang utama. Tujuan dari pengujian toksisitas akut, beberapa tahun terakhir berfokus pada tingkat toleransi akut, sifat akut beracun gejala di kisaran sub-letal, dan tingkat dosis yang menyebabkan kematian pada beberapa hewan uji. Prinsip ini dapat diikuti dengan menggunakan 3-5 hewan per jenis kelamin dan kelompok dosis[6]. LD_{50} didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan coba. Pengujian ini juga dapat menunjukan organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya[7].

c. Tolok ukur uji toksikologi akut

Uji toksisitas akut dibagi menjadi tolok ukur kualitatif dan kuantitatif. Keadaan klinis dan morfologis hewan uji dapat menjadi tolok ukur kualitatif dari efek toksik yang ditimbulkan senyawa uji. Data perhitungan statistik LD_{50} (dosis letal tengah) dan TD_{50} (dosis toksik tengah) digunakan sebagai tolok ukur kuantitatif uji toksisistas akut. Dosis letal tengah adalah dosis zat kimia yang diperkirakan dapat mematikan separuh (untuk 50%) hewan uji[5].

Penentuan harga LD_{50} dapat diperoleh dengan berbagai macam metode, diantaranya adalah metode yang paling sering digunakan adalah metode grafik Lithfield dan Wilcoxon, kertas grafik probit logaritma Miller dan Tainter, dan tata cara menemukan kisaran dosis dari Weil[5]. Pada dasarnya ketiga metode ini didasarkan pada kekerabatan antara peringkat dosis dan persen hewan yang menunjukkan respon, namun tiap-tiap cara memiliki keuntungan dan kelemahan. Untuk data yang berasal dari uji ketoksikan akut yang menggunakan hewan uji roden dengan frekuensi distribusi normal, metode perhitungan berasal dari analisis probit (metode kertas grafik Miller dan Tainter). Metode ini sering digunakan untuk menghitung dosis yang dapat mempengaruhi 50% hewan uji. Metode Miller dan Tainter merupakan

prosedur yang paling praktis, representatif, dan mudah untuk menentukan harga LD_{50} dan memperkirakan kesalahan baku[5].

d. Kondisi efek toksik

Kondisi efek toksik adalah berbagai keadaan atau faktor yang dapat mempengaruhi keefektifan absorbsi, distribusi, dan eliminasi zat beracun didalam tubuh. Faktor-faktor tesebut diantaranya sifat fisika-kimia racun, kondisi pemejanan, dan kondisi mahluk hidup, sehingga akan menentukan keberadaan zat kimia utuh atau metabolitnya di tempat aksi tertentu (organ sasaran)[3].

Kondisi efek toksik tersebut terdiri dari jenis pemejanan, waktu pemejanan (akut atau kronis), jalur pemejanan (intravaskular atau ekstravaskular), lama dan kekerapan pemejanan, serta peringkat dosis pemejanan. Kondisi mahkluk hidup, meliputi keadaan fisiologi berupa berat badan, umur, suhu tubuh, kecepatan pengosongan lambung, kecepatan aliran darah, status gizi, kelamin, genetika, jenis kelamin, ritme sikardian, ritme diurnal, dan keadaan patologi seperti penyakit saluran cerna, kardiovaskular, hati, dan ginjal. Beberapa kondisi fisiologis dan patologis makhluk hidup tersebut termasuk dalam kriteria penilaian efek toksik dari suatu senyawa uji[3].

e. Mekanisme efek toksik

Mekanisme efek toksik berdasarkan sifat dan lokasi terjadinya terbagi dua yaitu luka intrasel dan luka ekstrasel. Luka intrasel adalah luka sel yang diawali oleh aksi tertentu dalam sel sasaran, sedangkan luka ekstrasel adalah luka sel yang diawali oleh aksi tertentu dari luar sel[3]. Senyawa-senyawa yang masuk keadalam tubuh melalui proses absorbsi, distribusi, serta eliminasi. Pada proses distribusi suatu senyawa atau metabolitnya dapat terdistribusi sampai ke cairan ekstra sel atau intra sel[13].

f. Wujud efek toksik

Wujud dan sifat efek toksik suatu racun merupakan hasil akhir dari proses biologi, diawali oleh aksi racun di organ sasaran kemudian ditunjukkan dengan berbagai respon sel yang diberikan akibat efek toksik tersebut sehingga menyebabkan perubahan patologi sesuai pada respon yang terjadi. Wujud efek toksik pada dasarnya berupa perubahan biokimia, fungsional, struktural dan

ketiganya saling berkaitan. Jenis efek toksik yang berdasarkan perubahan biokimia antara lain penghambatan respirasi seluler, perubahan keseimbangan cairan elektrolit dan gangguan pasok energi. Jenis efek toksik berdasarkan perubahan fungsional adalah jenis efek toksik yang berkaitan dengan antar aksi racun yang terbalikkan dengan reseptor atau tempat aktif enzim yang dapat mempengaruhi fungsi homeostatis tertentu. Gangguan homeostatis tersebut diantaranya anoksia, gangguan pernafasan, gangguan sistem saraf pusat, hiper atau hipotensi, hiper atau hipoglikemi, perubahan kontraksi atau relaksasi otot, dan hipo atau hipertemi. Kekacauan struktural, termasuk didalamnya adalah degenerasi lemak, nekrosis, karsinogenesis, mutagenesis, teratogenesis merupakan jenis efek toksik yang berkaitan dengan perubahan morfologi sel[(3)].

g. Sifat efek toksik

Sifat efek toksik terbagi menjadi dua, yaitu efek toksik terbalikkan dan tidak terbalikkan. Kedua efek toksik tersebut memiliki ciri masing-masing, yaitu ciri khas dari sifat efek toksik terbalikkan meliputi : (1) bila kadar racun yang ada dalam tempat aksi atau reseptor tertentu telah habis, maka reseptor tersebut akan kembali ke kedudukan semula, (2) efek toksik yang ditimbulkan akan cepat kembali normal, dan (3) ketoksikan racun bergantung pada takaran serta kecepatan absorbsinya, distribusi dan eliminasi racunnya, selain itu untuk ciri khas dari sifat efek toksik yang bersifat tak terbalikkan meliputi : (1) kerusakan yang terjadi sifatnya menetap, (2) pemejanan berikutnya dengan racun akan menimbulkan kerusakan yang sifatnya sama sehingga memungkinkan terjadinya penumpukan efek toksik, dan (3) pemejanan dengan takaran yang sangat kecil dalam jangka panjang akan menimbulkan efek toksik yang selektif dengan yang ditimbulkan oleh pemejanan racun dengan takaran besar dalam jangka pendek[(3)].

h. Pengamatan dan evaluasi uji toksisitas akut

Pengamatan dilakukan pada semua hewan yang digunakan saat penelitian selama 24 jam dan sampai hari ke-15 setelah mendapat perlakuan senyawa uji dengan dosis tunggal. Pola perkembangan berat badan, konsumsi makanan dan minuman harus dicatat pada interval mingguan saat perlakuan. Analisis urin, tinja, fungsi kardiovaskular, parameter hematologi, respirasi, dan fungsi

motorik maupun fungsi sensorik. Selain itu, dilakukan uji makroskopik secara histologis pada jaringan untuk menunjukan dan menganalisa perubahan yang terlihat pada jaringan serta gejala keracunan yang mungkin timbul saat setelah perlakuan[6].

i. Toksikologi Organ Sasaran

Suatu mekanisme ketoksikan tidak mempengaruhi semua organ. Ketoksikan dipengaruhi oleh penyebaran, ambilan selektif organ, biotransformasi dan mekanisme kecepatan perbaikan organ tersebut. Ketoksikan suatu organ biasanya tidak diketahui secara jelas dan pasti penyebabnya, namun beberapa mekanismenya telah diketahui seperti yang disebutkan sebelumnya. Ketoksikan suatu organ biasanya didasari pada lebih pekanya suatu organ, atau lebih tingginya kadar bahan kimia atau metabolitnya di organ sasaran[7].

1). Jantung

Jantung terdiri dari beberapa sistem pembuluh darah yaitu arteri, arteriol, kapiler, venula, dan vena. Kondisi ketoksikan dapat mempengaruhi kinerja salah satu pembuluh ini. Ketoksikan pada jantung bisa menjadi keparahan yang berarti jika organ sasaran tersebut berperan vital trehadap pasokan kinerja jantung di pembuluh darah tersebut. Beberapa contoh efek toksik pada jantung adalah gangguan pada sintesa asam nukleat, aritmia, depresi miokardium, akumulasi butiran lipid pada otot jantung,dan lain sebagainya[7].

Mekanisme ketoksikan pada jantung dipengaruhi oleh penggunaan energi dan pergerakan ion kalsium di intrasel. Jantung terdiri dari sel miokardium yang masing-masing berukuran sekitar 15 x 80 µm. Kontraksi pada sel miokardium melibatkan pembebasan energi dari metabolisme oksidatif, penimpanan energi oleh adenosine trifosfat dan kratin fosfat, serta penggunaan energi oleh protein kontraktil[7].

2). Ginjal

Mekanisme terjadinya kerusakan organ pada sistem saluran kemih karena obat terdiri dari kerusakan vaskuler, sumbatan saluran kemih, dan uremia prerenal. Gejala klinis yang telihat pada gagal ginjal karena obat berupa

oliguria sampai anuria dalam beberapa jam dan beberapa hari setelah terjadinya kegagalan sirkulasi atau masuknya obat atau nefrotoksik kedalam tubuh[8].

Ketoksikan pada ginjal sering terjadi karena ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi dalam meningkatkan konsentrasi ketoksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus, dan mengaktifkan toksikan tertentu. Ginjal adalah organ sasaran utama dari efek toksik. Efek ketoksikan pada ginjal bisa menyebabkan kekacauan fungsi ginjal, selain itu dpat mempengaruhi beberapa organ tertentu jika tidak terjadi pemulihan dengan baik. Mekanisme pembuangan senyawa toksik dapat dieksresikan dengan baik melewati urin sebagai jalur utama pembuangan senyawa toksik, namun hal ini tidak dapat di proses dengan baik apabila kondisi ginjal sudah rusak akibat ketoksikan tersebut. Kondisi ketoksikan pada ginjal perlu diperhatikan dan dipertimbangkan sebaik mungkin jika ingin melakukan penilaian terhadap efek ketoksikan ginjal karena suatu zat tertentu sebab beberapa faktor eksternal dapat mempengaruhi kondisi ginjal dan faktor internal dari ginjal sendiri, seperti fungsi ginjal yang tidak baik, volume darah atau tekanan darah, penyakit ginjal, dan beberapa penyakit ginjal akibat faktor usia. Kondisi ketoksikan ini dapat merusak semua bagian nefron yang dapat menyebabkan perubahan biokima dalam ginjal bahkan sampai kematian sel[7]. Ginjal terdiri dari berbagai bagian struktur makroskopis, yaitu bagian korteks, medula, piramid, papila (ujung piramid), pelvis, kaliks, selain itu ginjal terdiri dari banyak nefron (unit terkecil dari organ ginjal). Nefron terdiri dari berbagai komponen penyusun, antara lain glomerulus, kapsula bowman, dan tubulus. Tubulus pada ginjal terdiri dari berbagai bagian yaitu tubulus proksimal, tubulus distal, tubulus kolektivus dan lengkung henle[9].

3). Hati

Hati merupakan organ yang memiliki enzim sitokrom P-450 yang terbesar dalam tubuh. Enzim sitokrom P-450 berperan dalam metabolisme zat xenobiotik atau zat asing yang masuk kedalam tubuh, enzim ini membuat beberapa senyawa toksik menjadi kurang toksik dan mudah diekskresikan sebab senyawa tersebut menjadi mudah larut didalam air[7]. Hati berfungsi

sebagai membentuk dan sekresi empedu; metabolisme zat dan vitamin; inaktivasi toksin, steroid, hormon; sintesis protein plasma; dan imunitas[10].

Hati mempunyai banyak tempat untuk suatu senyawa berikatan sehingga hati sering menjadi organ sasaran ketoksikan. Beberapa bentuk ketoksikan pada hati, yaitu perlemakan hati, nekrosis, kolestatis, dan sirosis. Ketoksikan dalam hati terjadi disebabkan oleh sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem pencernaan (gastrointestinal) kemudian diabsorbsi selanjutnya dibawa oleh vena porta menuju hati[7].

Obat dapat menimbulkan kerusakan hati melalui berbagai cara, baik yang dapat diperkirakan atau bergantung pada peringkat dosis pemberian yang diacu sebagai hepatotoksik-instriksik prosesnya dikenal sebagai toksisitas-instrinsik dan aksinya dapat terjadi secara langsung atau tidak langsung, maupun yang tidak dapat diperkirakan dan tidak bergantung dosis terjadi bilamana kerentanan individu terhadap obat lebih penting daripada toksisitas obatnya. Keadaan ini terjadi karena adanya reaksi hipersensitivitas yang diperantarai oleh mekanisme alergi atau karena keabnormalan metabolik menuju penumpukan metabolit toksik[3]. Hati terdiri dari berbagai bagian, yaitu vena porta, vena sentralis, duktus biliaris, arteri hepatik, sinusoid, dan kanalikulus biliaris[11].

4). Lambung

Lambung secara anatomi terdiri dari dua bagian utama yaitu badan dan antrum[11]. Ketoksikan banyak masuk melalui saluran cerna bersama makanan dan minuman. Lambung merupakan tempat penyerapan yang penting, sehingga ketoksikan dapat terjadi ketika terjadi proses absorbsi di saluran cerna tersebut[7].

5). Sistem pernafasan

Beberapa ketoksikan dapat mempengaruhi sistem pernafasan pada manusia atau hewan. Ketoksikan dapat memberikan efek sistemik setelah diserap dari saluran nafas dan disebarkan ke jaringan lain; ketoksikan tersebut dapat juga menginduksi efek lokal pada saluran nafas dan mempengaruhi saluran nafas setelah pejanan lewat jalur-jalur lainnya[7]. Asinus paru-paru merupakan tempat pertukaran oksigen dan karbon dioksida dalam darah dan

diudara, serta merupakan tempat utama penyerapan toksikan yang terdapat dalam bentuk gas dan uap. Ketoksikan dapat memberikan efek sistemik setelah diserap dari saluran nafas dan disebarkan kejaringan lain, toksikan tersebut dapat juga menginduksi efek lokal pada saluran nafas[7]. Paru merupakan bagian dari sistem pernafasan secara anatomi paru terdiri dari bronkus, bronkiolus, alveolus, dan duktus alveolaris[11].

6). Limpa

Limpa sering terlibat dalam berbagai penyakit sistemik, perubahan kondisi berupa pembesaran limpa merupakan perubahan sekunder terhadap penyakit primer dibagian sistemik tubuh. Pembesaran limpa dapat menyingkirkan sejumlah besar dari satu atau lebih unsur-unsur darah yang terbentuk, yang menyebabkan anemia, leukopenia, atau trombositopenia. Kerusakan sel darah merah, leukosit dan trombosit yang meluas oleh limpa, dapat terjadi apabila penyakit primer sistemik tersebut tidak teratasi dengan baik. Limpa juga berperan dalam sistem kekebalan tubuh, selain itu limpa menyingkirkan sferosit dan eritrosit abnormal. Limpa mengandung reservoir darah yang kaya sel karena limpa berkerja dengan cara menangkap darah dan kontraksi berirama serta kapsula limpa memompakan plasma ke pembuluh limfe[12-13].

j. Faktor yang mempengaruhi hasil uji toksisitas

Beberapa keadaan penelitian dapat mempengaruhi hasil uji toksisitas sehingga beberapa hal dalam penelitian perlu diperhatikan untuk memperoleh hasil yang baik. Beberapa keadaan dari penelitian sedapat mungkin mendekati keaadaan yang sebenarnya. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil uji toksisitas, antara lain:

1) Faktor bahan uji

Bahan uji sebaiknya mempunyai ciri dan sifat yang sama dengan bahan yang dicurigai dapat menyebabkan keracunan pada manusia. Faktor bahan uji terdiri dari sifat fisikokimia, kemurniaan bahan uji, bentuk sediaan bahan uji, dan dosis bahan uji.

2) Faktor hewan uji

Faktor hewan uji dapat mempengaruhi respon tubuh terhadap toksisitas suatu senyawa. Perbedaan ini dipengaruhi karena adanya perbedaan profil

absorbsi, distribusi, distribusi, biotransformasi, dan eksresi dari suatu hewan uji. Beberapa faktornya yaitu jenis dan galur hewan uji untuk meminimalisir perbedaan variasi respon biologis, umur hewan uji meminimalisir produksi hormon maupun respon fisiologis tubuh, jenis kelamin uji meminimalisir produksi hormon maupun respon fisiologis tubuh uji meminimalisir produksi hormon maupun respon fisiologis tubuh sehingga untuk menghilangkan faktor tersebut dianjurkan menggunakan hewan uji dari dua jenis kelamin, berat badan dan status kesehatan. Berat badan dan status kesehatan mempengaruhi keadaan kondisi kesehatan hewan uji. Hewan uji dalam penelitian harus hewan uji yang sehat. Pemilihan hewan uji pada penelitian ini menggunakan mencit betina galur DDY berdasarkan ketersediaannya, selain faktor-faktor diatas faktor ketersediaan hewan uji juga perlu diperhatikan.

3) Faktor cara pelaksanaan uji toksikologi

Faktor ini dapat mempengaruhi hasil uji karena metode dan cara yang baik dari pelaksanaan hewan uji dapat meminimalisir tingkat kesalahan dan meningkatkan taraf kepercayaan suatu penelitian[(4)].

3. Obat tradisional dan Standardisasi Ekstrak

a. Obat tradisonal

Obat tradisional merupakan produk yang dibuat dari bahan alam yang jenis dan sifat kandungannya sangat beragam sehingga untuk menjamin mutu obat tradisional diperlukan cara pembuatan yang baik dengan lebih memperhatikan proses produksi dan penanganan bahan baku. Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB) meliputi seluruh aspek yang menyangkut pembuatan obat tradisional, yang bertujuan untuk menjamin agar produk yang dihasilkan senantiasa memenuhi persyaratan mutu yang telah ditentukan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Mutu produk tergantung dari bahan awal, proses produksi dan pengawasan mutu, bangunan, peralatan dan personalia yang menangani[(14)].

Penerapan CPOTB merupakan persyaratan kelayakan dasar untuk menerapkan sistem jaminan mutu yang diakui dunia internasional untuk itu sistem mutu hendaklah dibangun, dimantapkan dan diterapkan sehingga

kebijakan yang ditetapkan dan tujuan yang diinginkan dapat dicapai. Dengan demikian penerapan CPOTB merupakan nilai tambah bagi produk obat tradisional Indonesia agar dapat bersaing dengan produk sejenis dari negara lain baik di pasar dalam negeri maupun internasional[(14)].

Mengingat pentingnya penerapan CPOTB maka pemerintah secara terus menerus memfasilitasi industri obat tradisional baik skala besar maupun kecil untuk dapat menerapkan CPOTB melalui langkah-langkah dan pentahapan yang terprogram[(14)].

Dengan adanya perkembangan jenis produk obat bahan alam tidak hanya dalam bentuk Obat Tradisional (Jamu), tetapi juga dalam bentuk Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka, maka Pedoman Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik ini dapat pula diberlakukan bagi industri yang memproduksi Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka[(14)].

b. Standardisasi ekstrak

Standardisasi merupakan proses penjaminan mutu suatu produk akhir berupa obat, ekstrak, maupun produk ekstrak yang mempunyai nilai parameter tertentu yang telah ditetapkan dan bersifat konstan serta spesifik. Standardisasi simplisia mempunyai pengertian bahwa simplisia yang digunakan untuk obat sebagai bahan baku harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen Kesehatan Materia Medika Indonesia[(15)].

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesesehatan Republik Indonesia tentang parameter standar umum ekstrak, bahwa obat tradisional yang beredar di Indonesia harus memenuhi persyaratan mutu, keamanan, dan kemanfaatan. Hal ini dikarenakan eksktrak tumbuhan merupakan salah satu bahan penyusun obat tradisional yang sangat menentukan mutu, keamanan, kemanfaatan, sehingga perlu disusun standar umum parameter tumbuhan obat [(22)]. Ketentuan Umum Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka:

1. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau

campuran dari bahan tersebut, yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman.

2. Jamu adalah obat tradisional Indonesia.
3. Obat herbal terstandar adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan bahan bakunya telah distandardisasi.
4. Fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk jadinya telah di standardisasi[15].

Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional , Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka: Obat tradisional, obat herbal terstandar dan fitofarmaka dilarang mengandung bahan kimia hasil isolasi atau sintetik berkhasiat obat, narkotika atau psikotropika, hewan atau tumbuhan yang dilindungi sesuai dengan ketentuan peraturan perundangundangan yang berlaku. Selain itu, Obat tradisional, obat herbal terstandar dan fitofarmaka dalam bentuk sediaan cairan obat dalam tidak boleh mengandung etil alkohol dengan kadar lebih besar dari 1% (satu persen), kecuali dalam bentuk sediaan tingtur yang pemakaiannya dengan pengenceran[16].

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

a. Klasifikasi kangkung



Gambar 1. Gambar kangkung darat *Ipomoea reptans,* Poir

Tanaman kangkung dapat dibedakan menjadi kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) dan kangkung air (*Ipomoea aquatica,* Poir). Jenis kangkung darat lebih banyak ditemukan dibandingkan dengan kangkung air. Kangkung air biasa

tumbuh didaerah kolam, rawa, dan sawah. Kangkung air terdiri dari varietas sumenep dan varietas biru. Kangkung darat biasanya lebih sering menjadi tanaman pertanian yang sengaja ditanam untuk memenuhi kebutuhan pangan. Varietas kangkung darat terbagi menjadi varietas bangkok, biru, cinde, sukabumi, dan sutra. Tanaman ini biasanya tumbuh menjalar dengan banyak percabangan. Akar berbentuk tunggang dengan percabangan akar yang menyebar. Helaian tangkai daun berbentuk hati dan melekat pada buku-buku batang dan bentuk, bunga berbentuk seperti terompet dengan buah berbentuk bulat telur yang didalamnya berisi tiga butir biji [17].

Kingdom : Plantae (tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
Superdivisio : Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio : Magnoliophyta (berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub-kelas : Asteridae
Ordo : Solanales
Familia : Convolvulaceae (suku kangkung-kangkungan)
Genus : *Ipomoea*
Spesies : *Ipomoea reptans*, Poir. (kangkung darat)
Ipomoea aquatica, Forks (kangkung air) [17].

b. Kandungan kangkung

Kandungan dari kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) adalah flavonoid, polyphenol, vitamin C, vitamin E, riboflavin, β karoten serta memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi di dalamnya dibandingkan dengan *Centella asiatica*, *Nyctanthes arbortristis*, sawi dan selada, selain itu kangkung juga mengandung protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, kalsium, dan kalium[17,18]. Selain itu menurut Ismail *et al*, 2003, Kandungan dari kangkung air adalah β-karoten, riboflavin, vitamin C, vitamin E dan memiliki aktivitas antioksidan[19].

c. Khasiat kangkung

Pada penelitian yang dilakukan Helminawati, 2011 Infusa kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) memiliki efek antihiperglikemia pada mencit jantan galur Swiss yang diinduksi STZ dosis 40mg/KgBB[(1).].

B. Keterangan Empirik

Penelitian ini bersifat eksploratif, yaitu untuk mendapat jawaban mengenai:

1. Gejala-gejala toksik yang mungkin timbul setelah pemberian ekstrak herbal kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) secara oral pada mencit betina galur DDY terstandar.
2. Potensi ketoksikan akut LD_{50} setelah pemberian ekstrak herbal kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) tertandar.

BAB III
METODE PENELITIAN
A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat gelas (gelas beker, gelas ukur, pipet, gelas arloji, cawan porselin), mortir, stamper, timbangan mencit (*Ohaus*), seperangkat alat bedah (gunting, pinset, penjepit), magnetik strirrer.

2. Bahan

Ekstrak etanol kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar, eter, formalin 10 % yang digunakan untuk fiksasi organ, akuades teknis, jarum oral, masker, sarung tangan.

3. Hewan Uji

Mencit betina galur DDY usia 2-3 bulan berat 20-35 gram.

B. Cara Penelitian

1. ***Ethical Clearence*** penelitian diajukan pada Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.

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

Kangkung darat *(Ipomoea reptans*, Poir*)* diperoleh dari Desa Krajan Wedomartani Sleman Yogyakarta. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia.



Gambar 2. Determinasi Kangkung

Determinasi tanaman kangkung darat dilakukan dengan menggunakan bagian daun, batang, dan bunga.

3. Preparasi ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir).

Kangkung darat yang digunakan berasal dari satu tempat yang sama untuk menghindari variasi kandungan kimia. Bagian tanaman yang digunakan adalah batang dan daun. Kangkung darat disortasi secara teliti, dipilih kangkung darat yang masih segar, hijau, dan tidak layu. Kemudian kangkung darat dicuci pada air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada tanaman. Kangkung darat yang sudah dicuci kemudian dipotong kecil - kecil, dipisahkan antara batang dan daun. Kangkung darat dipotong kecil - kecil dimaksudkan untuk mempercepat dan mempermudah proses pengeringan. Pengeringan kangkung darat menggunakan lemari pengering untuk menururnkan kadar air dalam tanaman sehingga kangkung darat terhindar dari proses pembusukan oleh mikroba yang dapat menurunkan mutu simplisia tersebut.



Gambar 3. Kangkung yang sudah dicuci bersih



Gambar 4. Kangkung yang telah diiris

Kangkung yang telah kering kemudian dibuat serbuk untuk mempersiapkan proses ekstraksi selanjutnya. Ekstraksi menggunakan metode maserasi yaitu jenis ekstraksi cara dingin yang menggunakan pelarut tertentu

dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Prinsip metode ini adalah mencapai konsentrasi seimbang (penjenuhan).



Gambar 5. Proses maserasi



Gambar 6. Ekstrak kangkung darat

Maserasi dilakukan kurang lebih selama dua hari menggunakan pelarut etanol 96% pada suhu kamar 25 $^{\circ}$C dan remaserasi dilakukan dua kali selama dua hari. Remaserasi adalah proses ekstraksi dengan dilakukan pengulangan dan penambahan pelarut setelah penyaringan maserat pertama serta dilakukan pengadukan secara terus menerus. Setelah dihasilkan maserat cair, kemudian dilakukan pengentalan ekstrak dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu < 55-57 $^{\circ}$C dan 60 rpm untuk memperoleh ekstrak kental.

4. Penetapan dosis dan cara pemejanan

a. Sediaan dilakukan pemejanan secara peroral, sekali dalam masa uji sebelum perlakuan hewan uji dipuasakan dengan tetap diberi minum.

b. Peringkat dosis yang digunakan diperoleh melalui uji pendahuluan atau orientasi, yaitu dengan cara pemberian ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis yang setara dengan dosis yang biasa digunakan oleh manusia.

c. Pada peringkat dosis terendah dan tertinggi ditentukan dengan interval dosis yang tetap (faktor perkalian yang tetap), yaitu kelipatan 2,5[(20)].

d. Dosis tertinggi pada peringkat dosis adalah dosis tertinggi yang secara teknis masih dapat diberikan pada hewan uji[(20)]. Dosis tertinggi diperoleh dari larutan stok 7,5 g/10 ml.

5. Perhitungan dosis dan larutan stok

a. Stok pada dosis tertinggi : 7,5 g/ 10 ml setara dengan 750 mg/ml dengan volume pemejanan p.o pada penelitian ini sebesar 0,2 ml/20gBB. Maka dosis tertinggi sebesar 750 mg/ml x 0,2ml/20g = 150 mg/20g atau 7500 mg/kgBB.

b. Stok pada peringkat dosis pertama : 0,48 g/ 10 ml setara dengan 48 mg/ml dengan volume pemejanan p.o pada penelitian ini sebesar 0,2 ml/20gBB. Maka dosis tertinggi sebesar 48 mg/ml x 0,2 ml/20g = 9,6 mg/20g atau 480 mg/kgBB.

c. Stok pada peringkat dosis kedua : 1,2 g/ 10 ml setara dengan 120 mg/ml dengan volume pemejanan p.o pada penelitian ini sebesar 0,2 ml/20gBB. Maka dosis tertinggi sebesar 120 mg/ml x 0,2 ml/20g = 24 mg/20g atau 1200 mg/kgBB.

d. Stok pada peringkat dosis ketiga : 3 g/ 10 ml setara dengan 300 mg/ml dengan volume pemejanan p.o pada penelitian ini sebesar 0,2 ml/20gBB. Maka dosis tertinggi sebesar 300 mg/ml x 0,2ml/20g = 60 mg/20g atau 3000 mg/kgBB.

6. Pengelompokan hewan uji

Kriteria dalam pemilihan mencit sebagai hewan uji antara lain: umur, berat badan, satu galur, dan sehat. Sejumlah hewan uji terpilih selanjutnya diadaptasikan di laboratorium kurang lebih selama satu minggu. Hewan uji yang digunakan 43 ekor mencit betina galur DDY dengan umur rata-rata antara 2 sampai 3 bulan dan berat badan 20-35 gram yang diperoleh dari LPPT-UGM Bidang Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pengembangan Hewan Pecobaaan. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol terdiri dari 8 ekor; kelompok dosis I terdiri dari 8 ekor dan kelompok dosis II sampai IV terdiri dari 9 ekor . Satu kelompok menjadi kontrol dan 4 kelompok lain merupakan kelompok dengan 4 peringkat dosis berbeda. Sediaan uji diberikan kepada hewan uji secara oral dosis tunggal dengan

peringkat dosis yang tetap setiap kenaikan dosisnya. Kekerapan pemberiannya hanya sekali. Kelompok hewan uji adalah sebagai berikut :

a) Kontrol : diberikan akuades 10 ml/kgBB secara oral dosis tunggal.
b) Kelompok I : diberikan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis 480 mg/kgBB hasil optimasi secara oral dosis tunggal.
c) Kelompok II : diberikan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis 1200 mg/kgBB hasil optimasi secara oral dosis tunggal.
d) Kelompok III : diberikan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis 3000 mg/kgBB hasil optimasi secara oral dosis tunggal.
e) Kelompok IV : diberikan ekstrak kangkung darat terstandar dengan dosis 4 7500 mg/kgBB hasil optimasi secara oral dosis tunggal.

7. Cara Penanganan dan Pemeliharaan Hewan

a. Selama masa penelitian, seluruh mencit dikandangkan dalam bak plastik berukuran kurang lebih 40 x 50 x 10 cm, panjang yang ditutup kawat kasa diatasnya dan beralaskan sekam. Tiap kandang dihuni oleh 8-9 ekor mencit berdasarkan kelompok uji. Semua mencit diberi minum melalui botol yang diletakkan di bagian atas kandang plastik. Pakan mencit berupa pellet. Kandang-kandang mencit ditempatkan dalam ruangan yang sama dengan kelembaban udara yang tetap (±50%), ruangan ber-AC dengan suhu 25 $^{\circ}$C, ventilasi cukup dan dengan penerangan 12 jam sehari.
b. Empat puluh tiga mencit tersebut dibagi menjadi lima kelompok penelitian yaitu satu kelompok kontrol sebanyak 8 ekor mencit, satu kelompok perlakuan sebanyak 8 ekor mencit, dan tiga kelompok perlakuan 9 ekor mencit.
c. Kelompok perlakuan dibagi menjadi empat kelompok berdasarkan peringkat dosis berbeda dengan kelipatan yang tetap.

8. Pengamatan gejala toksik

a. Sebelum dilakukan pengamatan gejala toksik, perlu diketahui kebiasaan dan kondisi awal dari hewan uji. Hal ini dilakukan untuk mengetahui

perubahan yang terjadi setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar.

b. Pengamatan kualitatif terhadap gejala toksik dilakukan secara terus menerus selama 6 jam pertama dan sesering mungkin selama 24 jam setelah pemejanan ekstrak. Pengamatan dilanjutkan sampai hari ke 15, dilakukan setiap hari pada waktu pengamatan yang kurang lebih sama sejak hari ke 0 sampai hari ke 15, untuk mengetahui kemungkinan adanya gejala toksik yang tertunda[20].

c. Gejala toksik yang diamati meliputi perilaku, gerak (kedutan, tremor, ataksia, keterpaksaan gerak), kereaktifan terhadap aneka rangsang (keberangasan, kepasifan), sekresi, pernafasan, kardiovaskular, kulit, dan konsistensi tinja.

Tabel I. Pemeriksaan fisik dalam uji ketoksikan[21]

Sistem Organ	Pengamatan dan Pemeriksaan	Tanda-tanda Umum Ketoksikan
SSP dan Somator	Perilaku	Perubahan sikap terhadap pengamat, gelisah
	Gerakan	Kedutan, tremor, ataksia, keterpaksaan gerak.
	Kereaktifan terhadap aneka rangsang	Keberangasan, kepasifan, anestesia.
Saraf otonom	Sekresi	Saliva, lakrimasi.
Pernafasan	Sifat dan Laju nafas	Bradipnea, dispnea.
Kardiovaskular	Palpitasi di daerah karidiak	Bradikardia, takikardi
Saluran cerna	Peristiwa perut	Diare, sembelit.
	Konsistensi tinja	Tidak terbentuk, warna hitam.
Genitourinari	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak.
	Daerah perineal	Kotor.
Kulit dan Bulu	Warna, keutuhan	Kelembekan, kemerahan.
Membran mukosa	Konjungtiva mulut	Kongesti, perdarahan, sianosis.
	Kondisi umum	Perawakan abnormal, kurus, berat badan.

9. Pengambilan organ

Hewan uji dikorbankan dengan pemberian eter dan dilakukan pembedahan pada bagian perut secara melintang untuk diambil beberapa organ vital seperti : paru, jantung, hati, limpa, lambung, dan ginjal. Hewan uji yang dikorbankan sebelumnya telah ditimbang berat badan menggunakan timbangan mencit (*Ohaus*). Organ-organ tersebut dicuci dengan akuades dan difiksasi dengan larutan formalin 10%. Kemudian untuk membuat preparat histopatologi dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada. Data hasil histopatologi kemudian diinterprestasikan dengan cara membandingkan organ-organ vital kelompok kontrol dengan mikroskop.

10. Pengamatan spektrum efek toksik

a. Spektrum efek toksik dilihat dari kondisi makroskopis maupun mikroskopis terhadap organ vital pada mencit betina, meliputi jantung, paru, ginjal, hati, limpa, dan lambung.

b. Kondisi makroskopis diamati ketika pembedahan dan pengambilan organ vital berupa meliputi jantung, paru, ginjal, hati, limpa, dan lambung secara visual untuk mengetahui adanya kerusakan pada organ tersebut.

c. Kondisi mikroskopis dilakukan dengan membuat preparat organ dengan diameter satu sentimeter yang telah diawetkan dengan formalin 10% dan tersimpan dalam parrafin, organ di potong vertikal 5µm. Organ diletakkan pada slide kaca dan diwarnai dengan *Hematoxylin stain*. Perubahan patologis dilihat secara mikroskopis setelah pewarnaan.

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

Pengamatan terhadap kematian hewan uji selama 24 jam setelah dipejankan ekstrak kangkung darat terstandar dan dilakukan pengamatan terhadap jumlah hewan uji yang mati pada 15 hari berikutnya untuk mengamati kemungkinan munculnya toksisitas tertunda. Apabila tidak ada hewan uji yang mati maka dosis tertinggi merupakan LD_{50} semu.

C. Analisis Hasil

Setelah perlakuan toksisitas akut pada hewan uji mencit betina yang diberi sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara peroral dosis tunggal dengan peringkat dosis 480 mg/kgBB; 1200 mg/kgBB; 3000 mg/kgBB; 7500 mg/kgBBdan kelompok kontrol dengan pemberian akuades 10 ml/kgBB. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dengan pengamatan secara terus menerus selama 6 jam pertama dan dilanjutkan selama 15 hari untuk kemungkinan adanya efek toksik yang tertunda. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan :

1. Data jumlah hewan uji yang mati pada masing-masing kelompok digunakan untuk tolok ukur kuantitatif berupa harga LD_{50} dengan metode *Miller and Tainter* (analisis probit). Bila sampai dengan batas volume maksimum yang secara teknis dapat diberikan pada hewan uji tidak menimbulkan kematian pada hewan uji, maka dosis tertinggi dinyatakan sebagai LD_{50} semu. Harga LD_{50} selanjutnya dipakai untuk mengevaluasi potensi ketoksikan akut ekstrak kangkung darat terstandar.
2. Data gejala-gejala toksik yang terlihat pada kulit, mata, dan fungsi vital, secara kualitatif digunakan untuk mengevaluasi efek toksik yang mucul, baik ketoksikan secara lokal maupun sistemik.
3. Data hasil pemeriksaan histopatologi digunakan untuk mengevaluasi spektrum efek toksik dan digunakan untuk menegaskan adanya ketoksikan sistemik.
4. Data perubahan berat badan dianalisis secara kuantitatif dengan uji statistik parametrik, yaitu satu arah varians (*one way* ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dengan taraf kepercayaan 95%. Sebelumnya data dibuktikan terdistribusi normal dan homogen.

Skema :



Gambar 7. Skema Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ketoksikan berupa LD_{50}, gejala- gejala toksik yang ditimbulkan dan mekanisme terjadinya kematian hewan uji menggunakan ekstrak herbal kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar dosis tunggal secara oral. Kangkung darat *(Ipomoea reptans,* Poir*)* diperoleh dari Desa Krajan Wedomartani Sleman Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan hewan uji 43 ekor mencit betina galur DDY dengan umur rata-rata antara 2 sampai 3 bulan dan berat badan 20-35 gram yang diperoleh dari LPPT-UGM Bidang Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pengembangan Hewan Pecobaaan. Penelitian ini telah mendapatkan *ethical clearance* (kode etik penelitian) yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Data yang diamati dalam uji toksisitas akut ini antara lain tolok ukur kuantitatif yaitu jumlah hewan uji yang mati untuk menentukan potensi ketoksikan akut (LD_{50}) dan tolok ukur kualitatif yang berupa gejala toksik dan wujud efek toksik yang muncul selama masa uji serta interpretasi data hasil histopatologi organ-organ vital setelah 24 jam dan 15 hari setelah pemberian ekstrak herbal kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar secara oral dosis tunggal.

1. Penyiapan dan Sediaan Kangkung Darat (*Ipomoea reptans,* Poir)

a. Determinasi Tanaman

Tujuan dari determinasi tanaman ini adalah untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar jenis *Ipomoea reptans,* Poir. Dari determinasi tanaman diperoleh hasil: 1.b; 2.b; 3.b; 4.b; 6.b; 7.b; 9.b; 10.b; 11.b; 12.b;13.b; 14.a; 15.a → golongan 8.

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

Famili : Convolvulaceae

Genus : *Ipomoea*

Spesies : *Ipomoea reptans,* Poir

b. Preparasi dan standardisasi ekstrak kental kangkung darat

Kangkung darat yang telah kering dan menjadi serbuk diekstraksi dengan metode maserasi. Ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi kemudian di *rotary evaporator* agar diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kangkung darat yang telah diperoleh dari proses maserasi dan *rotary evaporator* kemudian diuji parameter spesifik dan nonspesifik. Parameter ini digunakan sebagai parameter agar diperolehnya ekstrak herbal terstandar sebagai paramater untuk diperolehnya ekstrak herbal terstandar. Parameter standardisasi ekstrak kangkung darat dapat dilihat pada tabel II.

Tabel II. Hasil standardisasi ekstrak etanol kangkung darat[22]

No.	Parameter	Hasil	Acuan
1.	Rendemen	8,21%	-
2.	Organoleptik	Bau : Khas kangkung Rasa : Asam, Pahit Warna : Hitam kehijauan Bentuk : Kental	-
3.	Kadar Air	16,45%±0,05	Ekstrak kental (5%-30%) [23]
4.	Kadar Abu • Total • Tidak larut asam	 5,97% 5,44%	Kadar abu kangkung darat ±13,74%[24]
5.	Bobot jenis	1,133 gr/mL	-
6.	Total Cemaran Mikroba	Angka Lempeng Total : Negatif Uji perkiraan Coliform : Negatif	BPOM: < 10 koloni/g[14] < 3 koloni/g[14]
7.	Total Cemaran Kapang & Khamir	Negatif	BPOM: < 10 koloni/g[14]
8.	Total Cemaran Logam Berat Pb dan Cd.	Negatif	BPOM : Pb : < 10mg/Kg[14] Cd: < 0,3mg/Kg[14]
9.	Pola kromatogram	Nilai Rf : 0,20;0,37;0,43; 0,48; 0,57;0,67; 0,92 Nilai Rf β-karoten : 0,92	
10.	Kadar β-karoten	26,799% (b/b)	380 µg[25]

Berdasarkan hasil penelitian standardisasi ekstrak kangkung darat diatas berupa analisis parameter spesifik dan non spesifik dapat disimpulkan bahwa ekstrak kangkung darat masuk kedalam kategori ekstrak terstandar. Analisis parameter spesifik berupa organoleptik, aspek profil kromatografi lapis tipis, dan aspek penetapan kadar marker tersebut tidak melampaui batas nilai acuan sehingga masuk kedalam kategori ekstrak terstandar. Analisis parameter non spesifik berupa pengukuran kadar air, pengukuran bobot jenis, pengukuran sisa pelarut etanol, penetapan kadar abu, pengukuran cemaran logam, penetapan cemaran mikroba dan kapang juga masuk ke dalam kategori ekstrak terstandar sebab tidak melampaui nilai acuan yang ada.

2. Penetepan Dosis dan Pembuatan Larutan Stok

Pada hasil orientasi didapatkan dosis tertinggi sebesar 7500 mg/kgBB ekstrak kental kangkung darat terstandar dan tidak menyebabkan kematian pada hewan uji atau sekitar 20,48 kali dosis terapi 89,28mg/20gBB infusa kangkung darat kering (perhitungan pada lampiran 5b) . Kemudian dibuat peringkat dosis dengan faktor perkalian tetap 2,5.

Pembuatan larutan stok menggunakan pelarut akuades dan surfaktan. Surfaktan yang digunakan adalah tween 80, menggunakan surfaktan karena ekstrak kental kangkung darat sulit larut pada akuades. Dosis terendah 480 mg/kgBB menggunakan larutan stok 480 mg ekstrak kental kangkung darat ditambah dengan 0,5 ml tween 80 dan dilarutkan dengan akuades sampai 10 ml. Dosis kedua 1200 mg/kgBB menggunakan larutan stok 1200mg ekstrak kental kangkung darat ditambah dengan 0,5 ml tween 80 dan dilarutkan dengan akuades sampai 10ml. Dosis ketiga 3000 mg/kgBB menggunakan larutan stok 3000 mg ekstrak kental kangkung darat ditambah 1 ml tween 80 dan dilarutkan dengan akuades sampai 10ml. Dosis keempat merupakan dosis tertinggi, yaitu dosis maksimal yang secara teknis masih dapat diterima oleh hewan uji, dosis maksimal yang didapat sebesar 7500 mg/kgBB dengan larutan stok menggunakan 7500 mg ekstrak kental kangkung darat ditambah 1,3 ml tween 80 dan dilarutkan dengan akuades sampai 10 ml.

3. Potensi Ketoksikan Akut

Hewan uji pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah pemberian ekstrak kental kangkung darat terstandar secara oral yang diamati selama 24 jam tidak mengalami kematian. Hasil dari pengamatan tersebut dapat dilihat pada tabel III.

Tabel III. Jumlah mencit betina galur DDY yang mati pada pengamatan selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

Kelompok	Perlakuan	N	Jumlah Mencit yang Mati	Respon (%)	LD_{50} Semu
I	Larutan akuades 10 ml/kgBB	8	0	0	>7500 mg/kgBB
II	Sediaan uji dosis 480 mg/kgBB	8	0	0	
III	Sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB	9	0	0	
IV	Sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB	9	0	0	
V	Sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB	9	0	0	

Selanjutnya 3 ekor hewan uji dari masing-masing kelompok dikorbankan dan pengamatan dilakukan terhadap hewan uji sisa yang masih hidup sampai hari ke-15 untuk mengamati kemungkinan ada efek toksik yang tertunda. Hasil pengamatan efek toksik tertunda sampai hari ke-15 dapat dilihat pada tabel IV.

Tabel IV. Jumlah mencit betina galur DDY yang mati pada pengamatan selama 15 hari setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

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

Hasil pengamatan selama 15 hari pada perlakuan dosis terendah sampai tertinggi juga tidak menimbulkan kematiaan pada hewan uji, sehingga LD_{50} tidak dapat dinyatakan secara pasti. LD_{50} yang diperoleh dari uji toksisitas akut ekstrak kangkung darat terstandar merupakan LD_{50} semu, yaitu hanya sebatas peringkat dosis tertinggi yang secara teknis masih dapat diberikan kepada hewan uji secara oral sebesar 7500mg/kgBB dalam larutan stok 750 mg/ml setara dengan berat kangkung basah 7,087 kg/70kgBB. Hal ini dapat diartikan bahwa kangkung sebanyak 7,087 kilogram masih aman apabila dikonsumsi oleh manusia (perhitungan pada lampiran 5d). Selain itu menurut kriteria Loomis dosis maksimal yang dipejankan sebesar 7500 mg/kgBB atau 7,5 g/kgBB mencit betina galur DDY dalam kriteria Loomis masuk kategori praktis tidak toksik (5000-15000 mg/kgBB).

4. Pengamatan Gejala Toksik

Pengamatan gejala toksik dilakukan untuk mengetahui perubahan yang terjadi setelah pemberian sediaan uji, namun sebelum melakukan

pengamatan perlu mengetahui kondisi awal dan kebiasaan hewan uji. Gejala toksik yang diamati meliputi, perubahan perilaku, gerak (kedutan, tremor, ataksia, keterpaksaan gerak), kereaktifan terhadap aneka rangsang, sekresi, kardiovaskular, pernafasan, konsistensi tinja, dan kulit (dapat dilihat pada lampiran 6a-6e).

Pengamatan gejala toksik dilakukan selama 24 jam, kecuali dalam keadaan tertentu selama 7-14 hari[6]. Pengamatan dilakukan terus menerus selama 6 jam pertama dan sesering mungkin selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji. Kemudiaan pengamatan dilanjutkan sampai 15 hari berikutnya dengan waktu yang kurang lebih sama setiap harinya untuk mengetahui kemungkinan timbulnya efek toksik yang tertunda.

Tabel V. Hasil pengamatan kualitatif gejala toksik pada hewan uji selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

Kelompok	Perlakuan	N	Gejala Toksik
I	Larutan akuades 10 ml/kgBB	8	-
II	Sediaan uji dosis 480 mg/kgBB	8	-
III	Sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB	9	-
IV	Sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB	9	-
V	Sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB	9	-

Keterangan : (-) tidak menunjukan gejala toksik

Tabel VI. Hasil pengamatan kualitatif gejala toksik pada hewan uji selama 15 hari setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

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

Keterangan : (-) tidak menunjukan gejala toksik

Hasil pengamatan kualitatif gejala toksik pada hewan uji selama 24 jam sampai 15 hari setelah pemberian sediaan uji ekstrak kental kangkung darat terstandar dosis tunggal secara oral tidak menimbulkan atau tidak menunjukan gejala toksik yang berarti sampai dengan dosis tertinggi 7500 mg/kg BB pada perlakuan. Hal ini mengartikan bahwa pemberian ekstrak kental kangkung darat terstandar pada dosis tertinggi yang secara teknis

masih dapat diterima pada hewan uji tidak mempengaruhi perubahan perilaku, gerak (kedutan, tremor, keterpaksaan gerak), kereaktifan terhadap aneka rangsang, sekresi, kardiovaskular, pernafasan, konsistensi tinja, serta kulit bahkan kematian.

5. Kondisi Umum

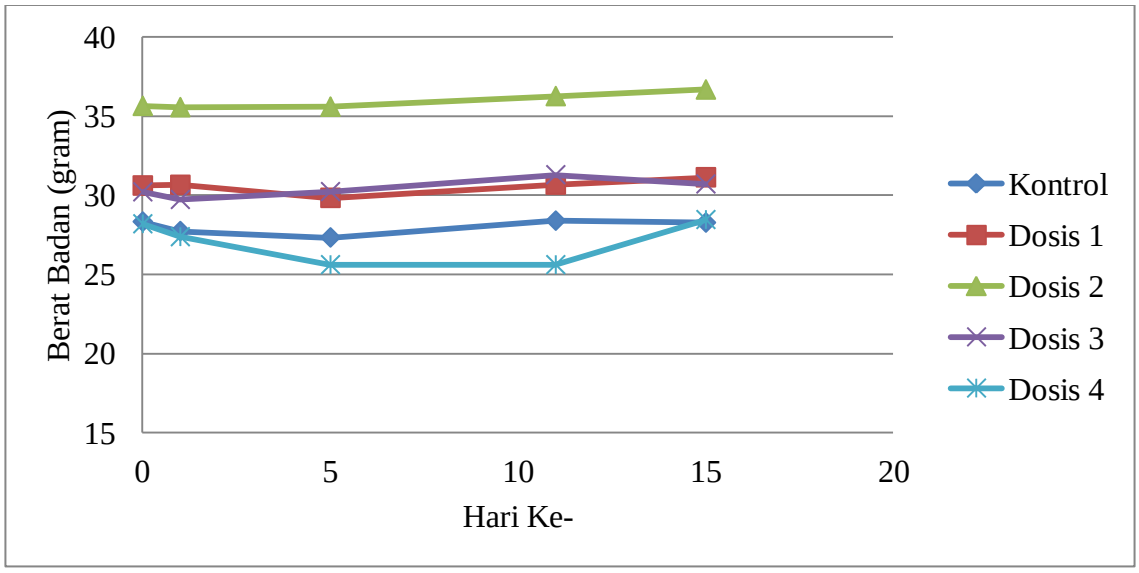
Pengamatan kondisi umum hewan uji pada toksisitas akut meliputi perubahan berat badan dan nafsu makan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui mekanisme kematian akibat suatu perlakuan pemberian sediaan uji ekstrak kental kangkung darat terstandar. Penyebab kematian dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, yaitu sediaan uji mempengaruhi fisiologis organ-organ vital sehingga dapat mempengaruhi proses biokimia dalam tubuh dan homeostatis tubuh. Beberapa hal tersebut dapat diketahui melalui pemeriksaan histopatologi organ.

Perubahan pada organ pencernaan dapat mempengaruhi asupan makan dan absorbsi makanan dalam tubuh sehingga dapat mempengaruhi perubahan berat badan hewan uji. Perubahan berat badan dapat menjadi salah satu indikator ada atau tidaknya efek toksik, namun perubahan berat badan juga dapat disebabkan oleh beberapa faktor eksternal lainnya. Data perubahan berat badan hewan uji dianalisis secara statistik dengan uji *one way* annova taraf kepercayaan 95% (terlampir pada lampiran 7-8). Adapun perubahan berat badan mencit betina perhari setelah pemberian sediaan ekstrak kental kangkung darat terstandar tidak menunjukan perubahan yang bermakna atau tidak berbeda signifikan ($p>0,05$). Berdasarkan data tersebut tidak adanya perubahan berat badan yang signifikan terhadap kelompok kontrol. Hal ini berarti pemberian dosis terendah 480 mg/kgBB sampai dengan dosis tertinggi 7500 mg/kgBB tidak mempengaruhi asupan makanan dan perubahan berat badan pada mencit betina. Perubahan berat badan mencit betina juga dapat dilihat pada grafik rata-rata kenaikan berat badan (gambar 8).

Tabel VII. Rata-rata perubahan berat badan mencit betina perhari selama 15 hari setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

Kelompok	Perlakuan	N	Rata-rata perubahan berat badan perhari(g) X ± SE	Keterangan
I	Larutan akuades 10 ml/kgBB	8	-0,240 ± 0,5316	Tb
II	Sediaan uji dosis 480 mg/kgBB	8	0,520 ± 0,3215	Tb
III	Sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB	9	1,033 ± 0,4765	Tb
IV	Sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB	9	0,500 ± 0,7611	Tb
V	Sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB	9	0,266 ± 0,8381	Tb

Keterangan: Tb: perbedaan tidak bermakna dibanding kelompok kontrol (p>0,05) dengan analisis *one way* annova taraf kepercayaan 95%



Gambar 8. Grafik rata-rata kenaikan berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15

Grafik dan tabel diatas menunjukan data perubahan berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15. Berdasarkan grafik tersebut terdapat perubahan berat badan dari hari ke 0 sampai hari ke 15 pada setiap kelompok hewan uji. Setiap kelompok uji mengalami penurunan dan kenaikan berat badan yang berbeda. Pada kelompok kontrol (akuades 10 ml/kgBB) hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami penurunan berat badan sebesar 2,165%; hari ke- 1 sampai ke-5 penurunan 1,464%; hari ke-5 sampai ke- 11 mengalami kenaikan sebesar 3,735% dan hari ke- 11 sampai ke 15 mengalami kenaikan berat badan 0,425%. Kelompok dosis I 480 mg/kgBB hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami kenaikan

berat badan sebesar 0,131%; hari ke- 1 sampai ke-5 penurunan 2,750%; hari ke-5 sampai ke- 11 mengalami kenaikan sebesar 2,740%dan hari ke- 11 sampai ke 15 mengalami kenaikan berat badan 1,478%. Kelompok dosis II 1200 mg/kgBB hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami penurunan berat badan sebesar 0,233%; hari ke- 1 sampai ke-5 kenaikan 0,093%; hari ke-5 sampai ke- 11 mengalami kenaikan sebesar 1,840% dan hari ke- 11 sampai ke 15 mengalami kenaikan berat badan 1,137%. Kelompok dosis III 3000 mg/kgBB hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami penurunan berat badan sebesar 1,625%; hari ke- 1 sampai ke-5 kenaikan 1,655%; hari ke-5 sampai ke- 11 mengalami kenaikan sebesar 3,408% dan hari ke- 11 sampai ke 15 mengalami penurunan berat badan 1,899%. Kelompok dosis IV 7500 mg/kgBB hari ke- 0 dan hari ke- 1 mengalami penurunan berat badan sebesar 2,982%; hari ke- 1 sampai ke-5 penurunan 6,902%; hari ke-5 sampai ke-11 berat badan cenderung tetap dan hari ke- 11 sampai ke 15 mengalami kenaikan berat badan 10,018%. Persentase perubahan berat badan perhari dapat dilihat pada tabel VIII.

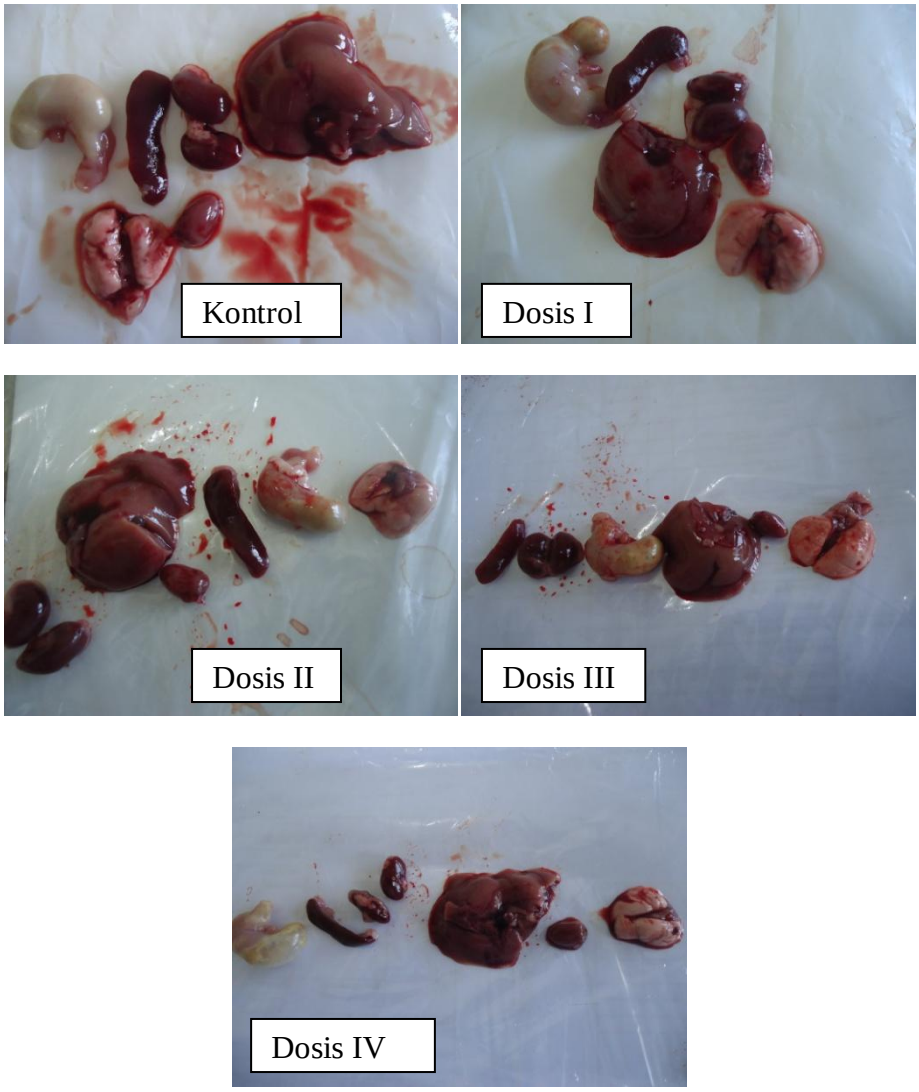
Tabel VIII. Persentase perubahan berat badan perhari

	Hari ke - 0	Hari ke - 1	Hari ke - 5	Hari ke - 11	Hari ke – 15
Kontrol	28,320	27,720	27,320	28,380	28,260
Dosis 1	30,600	30,640	29,820	30,660	31,120
Dosis 2	35,633	35,550	35,583	36,250	36.667
Dosis 3	30,200	29,717	30,217	31,283	30,700
Dosis 4	28,183	27,367	25,600	25,600	28,450
Perubahan kontrol		-2,165%	-1,464%	3,735%	-0,425%
Perubahan dosis I		0,131%	-2,750%	2,740%	1,478%
Perubahan dosis II		-0,233%	0,093%	1,840%	1,137%
Perubahan dosis III		-1,625%	1,655%	3,408%	-1,899%
Perubahan dosis IV		-2,982%	-6,902%	0,000%	10,018%

Keterangan:
- : terjadi penurunan berat badan

6. Spektrum Efek Toksik

Spektrum efek toksik pada penelitian ini dilihat dari kondisi organ jantung, paru, ginjal, hati, lambung, dan ginjal pada mencit betina. Kondisi yang diamati berupa kondisi mikroskopis dan makroskopis.



Gambar 9. Hasil Pengamatan makroskopis organ (1)



Gambar 10. Hasil Pengamatan makroskopis organ (2)

Tabel IX. Perubahan makroskopis organ mencit betina galur DDY selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

Kelompok	Mencit (Kode)	Organ					
		Hati	Lambung	Jantung	Limpa	Ginjal	Paru
I	KB11	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	KB12	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	KB 13	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
II	PB 11	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 12	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 13	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
III	PB 21	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 22	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 23	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
IV	PB 31	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 32	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 33	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
V	PB 41	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 42	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 43	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p

Tabel X. Perubahan makroskopis organ mencit betina galur DDY hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

Kelompok	Mencit (Kode)	Organ					
		Hati	Lambung	Jantung	Limpa	Ginjal	Paru
I	KB14	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	KB15	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	KB 16	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
II	PB 14	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 15	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 16	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
III	PB 24	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 25	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 26	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
IV	PB 34	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 35	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 36	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
V	PB 44	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 45	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
	PB 46	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p

Keterangan:
t.a.p : tidak ada perubahan

Kondisi makroskopis yang diamati secara visual untuk mengetahui ada atau tidaknya perubahan ukuran, perubahan warna, dan perubahan bentuk organ pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Berdasarkan data hasil

makroskopis organ hati, lambung, limpa, jantung, paru, dan ginjal mencit betina galur DDY selama 24 jam setelah perlakuan dan sampai pada hari ke-15 setelah perlakuan tidak ada perubahan di setiap kelompok perlakuan.

Kondisi mikroskopis dilakukan dengan melakukan histopatologi organ dengan membuat preparat organ yang telah diawaetkan menggunakan formalin 10% dan dipotong setebal 3-5mm serta 1x1cm kemudian organ dihistopatologi menggunakan metode *hematoxylin-eosin* . Kondisi histopatologinya diamati dibawah mikroskop.



Gambar 11. Organ yang diawetkan dalam formalin 10%

Pada hasil pemeriksaan mikroskopis organ jantung, lambung, ginjal, hati, limpa, dan paru setelah pemberian sediaan ekstrak kental kangkung darat secara oral dosis tunggal selama 24 jam terdapat perubahan kondisi mikroskopis. Perubahan kondisi tersebut diabaikan karena pada kelompok perlakuan I akuades 10 ml/kgBB tiga hewan uji pada organ hati sama-sama mengalami degenerasi dan hanya satu dari tiga hewan uji pada kelompok kontrol mengalami radang pada lambung sedangkan pada organ lain seperti jantung, limpa, ginjal, paru normal. Kelompok perlakuan I akuades 10 ml/kgBB organ hati mengalami degenerasi karena ditunjukan dari hasil histopatologi organ dua hewan uji dari tiga hewan uji sedangkan pada organ lain di kelompok perlakuan I akuades 10 ml/kgBB setiap hewan normal. Kelompok perlakuan II dosis 480 mg/kgBB pada dua hewan uji dari tiga hewan uji yang dialukan histopatologi organ hati mengalami radang dan degenerasi serta pada ginjal mengalami degenerasi, namun pada organ paru yang mengalami perivaskulitis diabaikan karena hanya ditimbulkan oleh satu hewan uji dari tiga hewan uji yang telah dihistopatologi. Kelompok perlakuan III dosis 1200

mg/kgBB tidak mengalami abnormalitas atau kerusakan pada histopatologi organ hewan uji sebab degenerasi hati dan radang pada ginjal hanya ditunjukkan pada organ satu hewan uji dari tiga hewan uji. Organ lain seperti lambung, limpa, paru, dan jantung pada kelompok perlakuan III dosis 1200 mg/ kgBB normal. Kelompok perlakuan IV 3000 mg/kgBB tidak menunjukan kerusakaan dari histopatologi organ karena hampir semua organ pada ketiga hewan uji normal, kecuali satu dari ketiga hewan uji organ hati mengalami degenerasi dan organ lambung terjangkit radang. Adapun hasil histopatologi organ hati, lambung, jantung, limpa, ginjal, paru mencit betina 24 jam setelah pemberian sediaan uji dapat dilihat pada tabel IX.

Tabel XI. Hasil Pemeriksaaan histopatologi organ mencit betina galur DDY selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

Kelompok	Mencit (Kode)	Organ					
		Hati	Lambung	Jantung	Limpa	Ginjal	Paru
I	KB11	D	-	-	-	-	-
	KB12	D	-	-	-	-	-
	KB 13	D	R	-	-	-	-
II	PB 11	D	-	-	-	-	-
	PB 12	-	-	-	-	-	-
	PB 13	D	-	-	-	-	-
III	PB 21	R	-	-	-	PV/R, D	PV
	PB 22	-	-	-	-	D	-
	PB 23	D	-	-	-	-	-
IV	PB 31	-	-	-	-	R	-
	PB 32	D	-	-	-	-	-
	PB 33	-	-	-	-	-	-
V	PB 41	-	-	-	-	-	-
	PB 42	-	-	-	-	-	-
	PB 43	D	R	-	-	-	-

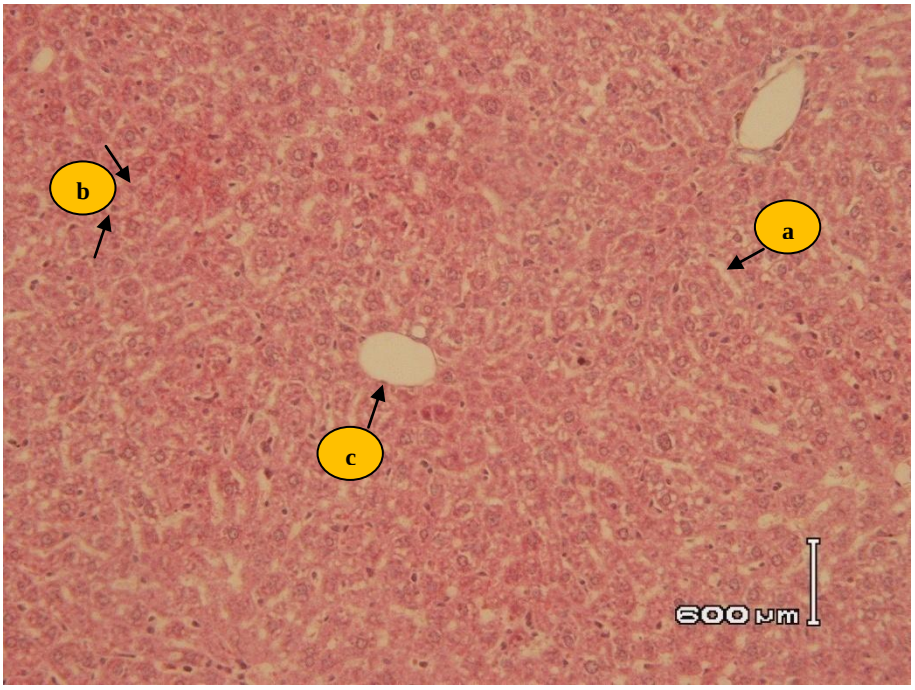
Keterangan :
Kelompok I : Perlakuan dengan larutan akuades 10 ml/kgBB
Kelompok II : Perlakuan dengan larutan sediaan uji dosis 480 mg/kgBB
Kelompok III : Perlakuan dengan larutan sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB
Kelompok IV : Perlakuan dengan larutan sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB
Kelompok V : Perlakuan dengan larutan sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB
- : Normal
D : Degenerasi
PV : Perivasculitis
R : Radang

Tabel XII. Hasil Pemeriksaaan histopatologi organ mencit betina hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal

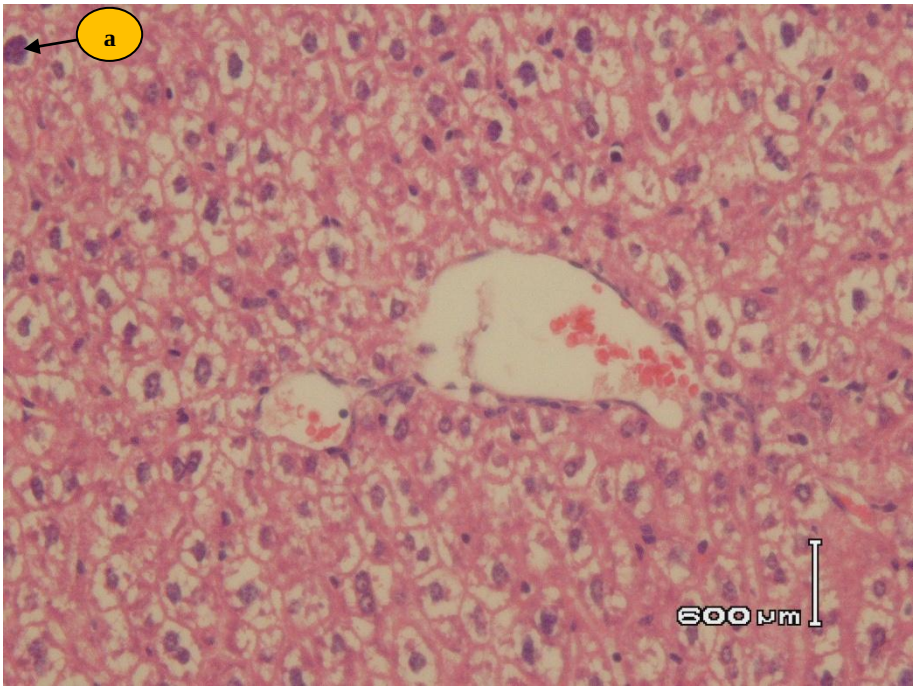
Kelompok	Mencit (Kode)	Organ					
		Hati	Lambung	Jantung	Limpa	Ginjal	Paru
I	KB14	G	-	-	-	-	-
	KB15	G	-	-	-	-	-
	KB 16	G	-	-	-	-	-
II	PB 14	G	-	-	-	-	-
	PB 15	G	-	-	-	-	-
	PB 16	G	-	-	-	-	-
III	PB 24	G	-	-	-	-	-
	PB 25	G	-	-	-	-	-
	PB 26	G	-	-	-	-	-
IV	PB 34	G	-	-	-	-	-
	PB 35	G	-	-	-	-	-
	PB 36	G	-	-	-	-	-
V	PB 44	G	-	-	-	-	-
	PB 45	G	-	-	-	-	-
	PB 46	G	-	-	-	-	-

Keterangan :
Kelompok I : Perlakuan dengan larutan akuades 10 ml/kgBB
Kelompok II : Perlakuan dengan larutan sediaan uji dosis 480 mg/kgBB
Kelompok III : Perlakuan dengan larutan sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB
Kelompok IV : Perlakuan dengan larutan sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB
Kelompok V : Perlakuan dengan larutan sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB:
- : Normal
G : Infiltrasi Glikogen

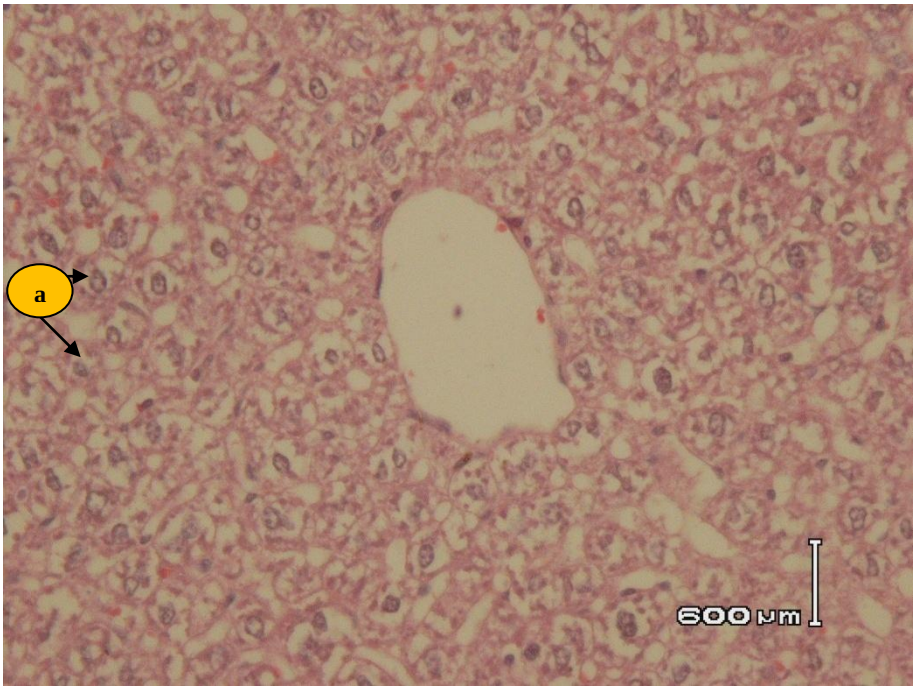
Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi organ pada mencit betina pada tabel XII yang diberi sediaan ekstrak kental kangkung darat terstandar pada hari ke- 15 tidak mengalami kerusakaan yang berarti. Histopatologi organ mencit pada hari ke- 15 menunjukan data yang normal pada semua organ hewan uji di setiap kelompok perlakuan (akuades 10 ml/kgBB; dosis 480 mg/kgBB; 1200 mg/kgBB; 3000 mg/kgBB; 7500 mg/kgBB), kecuali pada organ hati disemua kelompok perlakuan (akuades 10 ml/kgBB; dosis 480 mg/kgBB; 1200 mg/kgBB; 3000 mg/kgBB; 7500 mg/kgBB) pada hewan uji mengalami infiltrasi glikogen. Infiltrasi glikogen ini tidak merupakan adanya toksisitas pada ekstrak kental kangkung darat terstandar karena semua organ hati di setiap kelompok perlakuan mengalami hal yang sama sehingga dapat diabaikan.



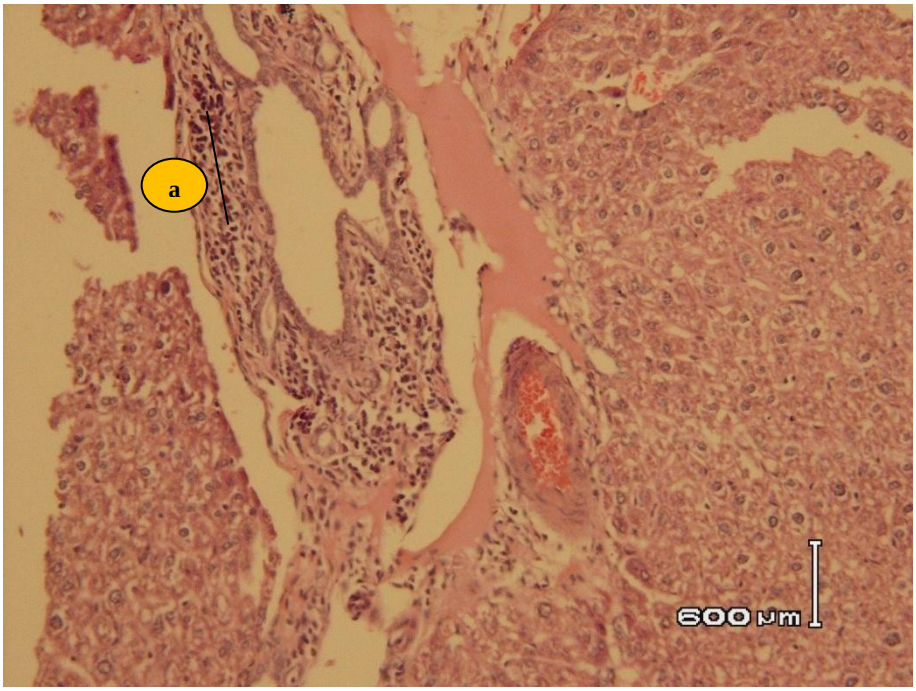
Gambar 12. Irisan melintang jaringan hati mencit betina normal, perbesaran 20x10(a: sinusoid, b: hepatosit, c: vena sentral)



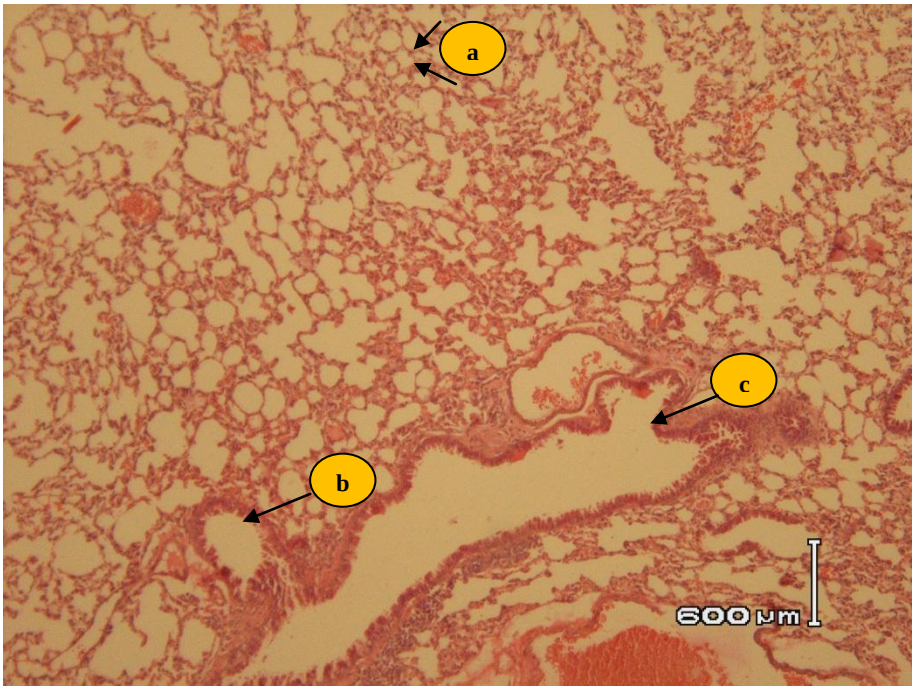
Gambar 13. Irisan melintang jaringan hati mencit betina yang mengalami infiltrasi glikogen(a) , perbesaran 10x10



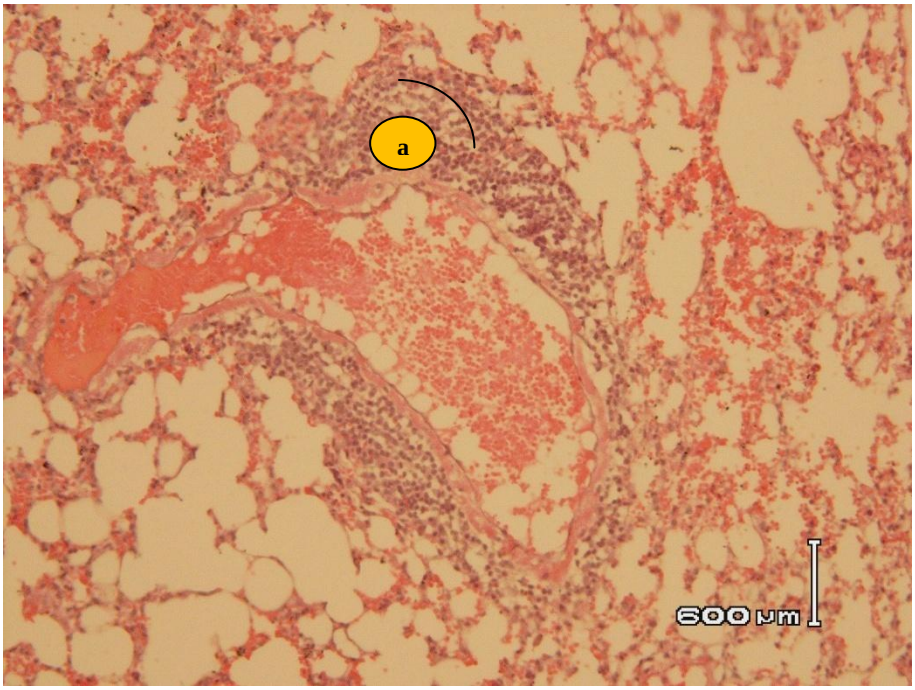
Gambar 14. Irisan melintang jaringan hati mencit betina yang mengalami degenerasi(a), perbesaran 40x10



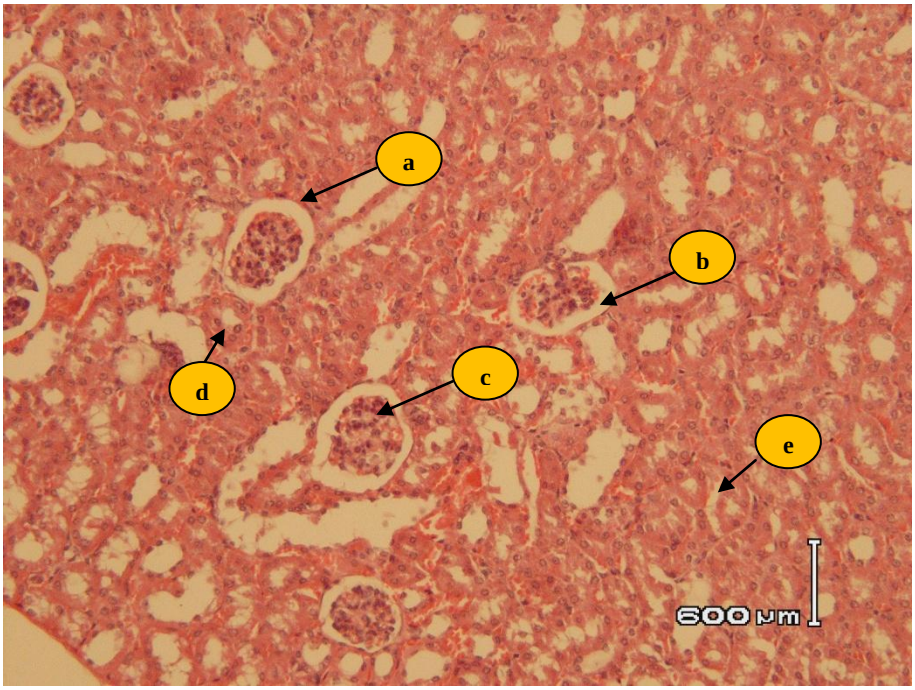
Gambar 15. Irisan melintang jaringan hati mencit betina yang mengalami radang(a), perbesaran 20x10



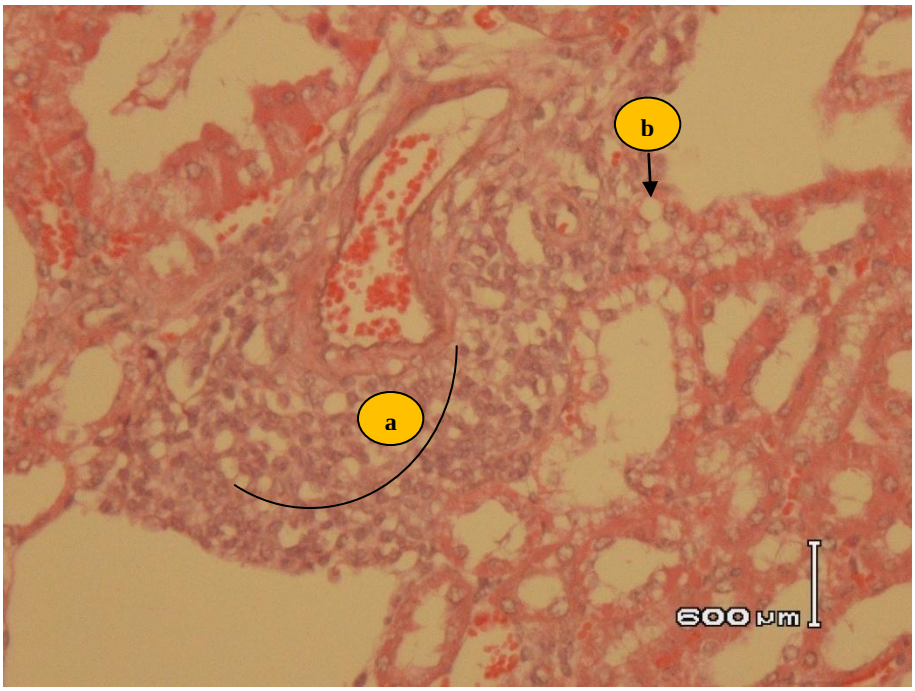
Gambar 16. Irisan melintang jaringan paru mencit betina normal, perbesaran 10x10(a: alveoli, b: bronkus, c:bronkiolus)



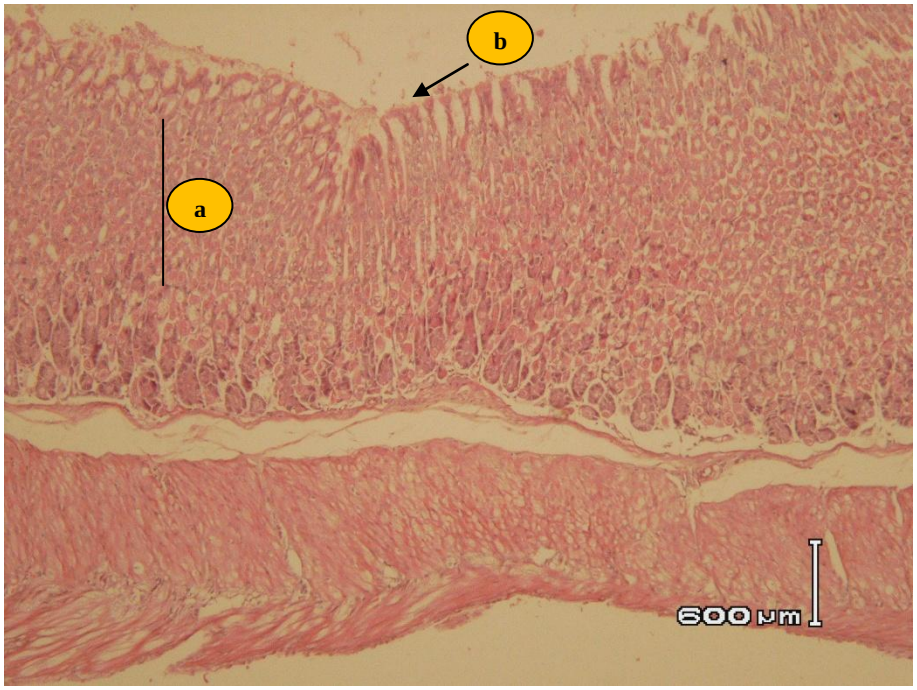
Gambar 17. Irisan melintang jaringan paru mencit betina yang mengalami radang(a), perbesaran 20x10



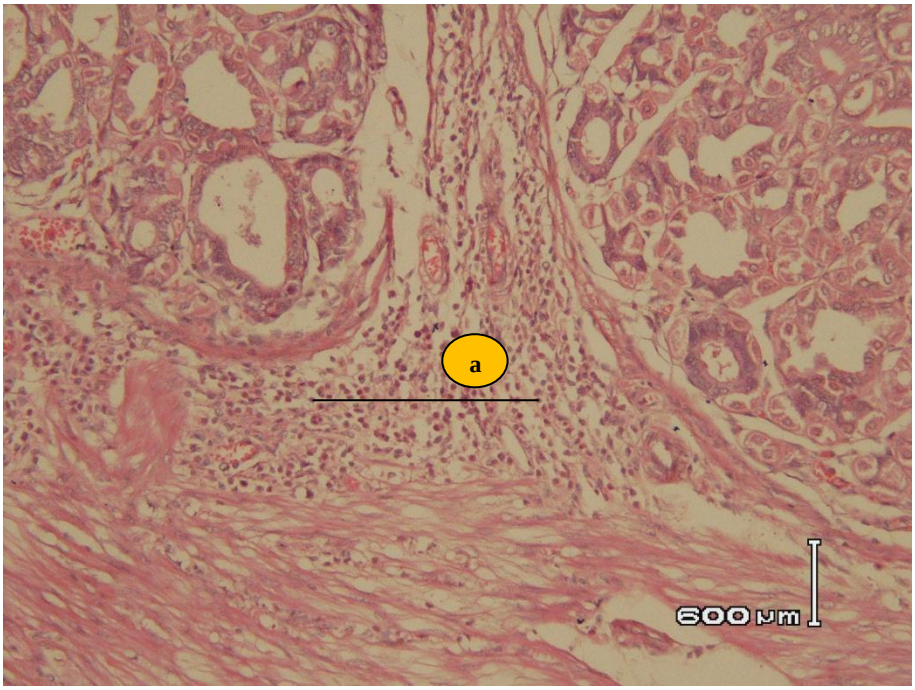
Gambar 18. Irisan melintang jaringan ginjal mencit betina normal, perbesaran 20x10(a: kapsula bowman, b: ruang bowman, c: glomerulus, d: ansa henle, e:tubulus)



Gambar 19. Irisan melintang jaringan ginjal mencit betina yang mengalami radang/perivasculitis(a);degenerasi(b), perbesaran 40x10



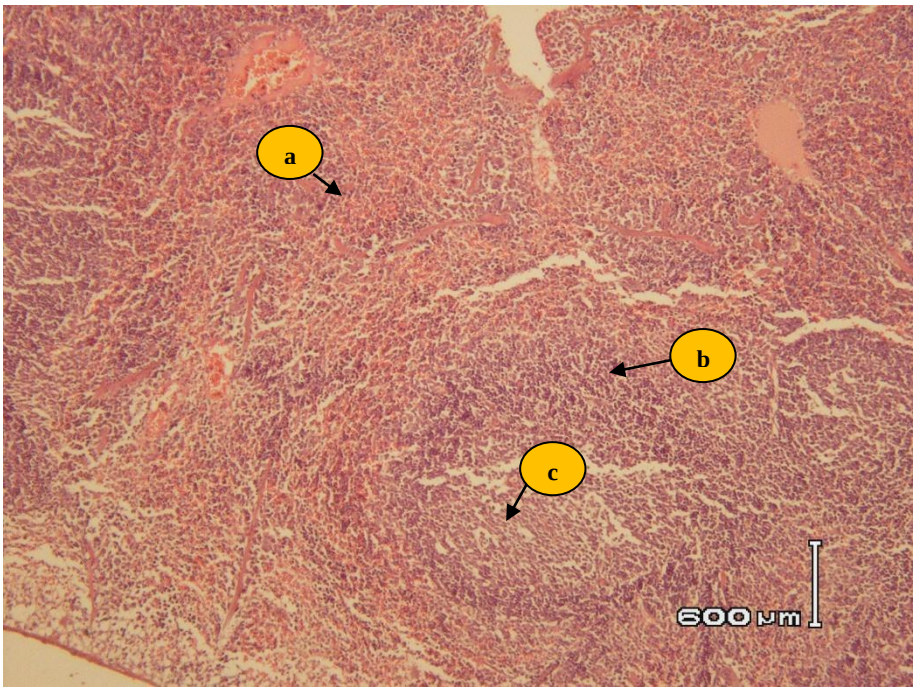
Gambar 20. Irisan melintang jaringan lambung mencit betina normal , perbesaran 10x10 (a: Tunika mukosa, b: Epitel mukosa)



Gambar 21. Irisan melintang jaringan lambung mencit betina yang mengalami radang(a), perbesaran 20x10



Gambar 22. Irisan melintang jaringan jantung mencit betina normal, perbesaran 10x10(a: serabut purkinje, b:miokardium/serabut otot jantung)



Gambar 23. Irisan melintang jaringan limpa mencit betina normal perbesaran 10x10(a: pulpa merah, b:pulpa putih, c:arteri pulpa)

Dalam ilmu patologi umumnya kelainan dapat dibagi menjadi perubahan retrogresif-progresif, perubahan akibat gangguan sirkulasi atau peredaran darah, radang, cacat bawaan atau konginetal, neoplasma (tumor) dan trauma. Berdasarkan hasil histopatologi organ didapatkan beberapa organ yang mengalami degenerasi, infiltrasi glikogen dan radang. Degenerasi dan infiltrasi glikogen masuk kedalam perubahan retrogesif atau perubahan yang mengalami proses kemunduran[(26)].

Pemeriksaan histopatologi organ setelah pemberian sediaan uji ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar selama 24 jam dosis 480 mg/kgBB, 1200 mg/kgBB, 3000 mg/kgBB, 7500 mg/kgBB mengalami perubahan kondisi mikroskopis. Kondisi tersebut berupa degenerasi hati, , degenerasi ginjal, radang hati, radang lambung, perivaskulitis atau radang pada ginjal dan paru.

Degenerasi hati terlihat pada kelompok kontrol akuades 10 ml/kgBB, kelompok II dosis 480 mg/kgBB, kelompok III dosis 1200 mg/kgBB, kelompok IV dosis 3000 mg/kgBB, dan kelompok V dosis 7500 mg/kgBB setelah pengamatan 24. Degenerasi ginjal terlihat pada kelompok III dosis 1200 mg/kgBB dan kelompok IV dosis 3000 mg/kgBB. Degenerasi yang terlihat berdasarkan poto organ merupakan degenerasi hidropik. Perubahan degenerasi ini bersifat reversible atau masih bisa pulih kembali[(26)]. Degenerasi hidropik terjadi karena adanya pembengkakan pada retikulum endoplasma dan mitokondria, bahkan terdapat air yang mengumpul pada rongga sel. Kejadiaan ini sering terjadi pada sel tubulus ginjal saat keadaan hipoglikemi dan pada sel hati akibat adanya racun. Keadaan mikroskopi degenerasi hidropik ini tampak beberapa vakuol yang jernih tersebar dalam sitoplasma ataupun terkadang vakuol kecil bersatu menjadi vakuol yang ukurannya relatif lebih besar sehingga mendesak inti sel ke daerah pinggir[(26)]. Degenerasi hidropik dapat disebabkan oleh ketidakseimbangan pompa natrium dalam sel[(3)] sehingga terjadi kenaikan iso-osmotik air di dalam sel sehingga air banyak masuk kedalam sel untuk dan terjadilah pembengkakan sel.

Hasil pemeriksaan histopatologi organ mencit betina galur DDY selama 24 setelah pemberian sediaan uji ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar mengalami perubahan kondisi radang lambung pada kelompok perlakuan I akuades 10 ml/kgBB dan kelompok perlakuan V dosis 7500

mg/kgBB. Radang pada ginjal terlihat di kondisi mikroskopis organ kelompok III dosis 1200 mg/kgBB dan kelompok IV dosis 3000 mg/kgBB, sedangkan radang pada hati terlihat di kelompok III dosis 1200 mg/kgBB. Radang adalah bentuk gangguan sirkulasi, gangguan metabolisme seperti degenerasi, kerusakan jaringan akibat nekrosis, dan gangguan patologi lainnya yang merupakan manifestasi gabungan dari gangguan seluler, dan sirkulasi aliran darah tubuh[29], sehingga radang merupakan bentuk dari adanya patologi jaringan organ.

Perubahan kondisi mikroskopis lainnya pada mencit betina galur DDY selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar adalah perivaskulitis pada ginjal dan perivaskulitis pada paru di kelompok III dosis 1200 mg/kgBB. Vaskulitis merupakan peradangan disekitar pembuluh darah. Vaskulitis merupakan reaksi kutaneus atau sistemik yang secara mikroskopis digambarkan dengan infiltrasi inflamasi bagian dinding pembuluh darah dengan derajat yang bervariasi[27]. Vaskulitis juga biasanya disebabkan oleh adanya keadaan iskemik pada organ tertentu. Pada biopsi jaringan vaskulitis menunjukan inflamasi dinding pembuluh darah yang khas, nekrosis fibrinoid, leukositoklas akibat disolusi leukosit. Jaringan yang biasa dibiopsi karena adanya vaskulitis adalah ginjal, otot, saraf, dan paru. Vaskulitis pada pembuluh darah kecil biasanya sembuh dengan sendirinya[28]. Pada hasil histologi organ mencit pada uji toksisitas akut ini yang mengalami vaskulitis adalah ginjal dan paru. Biasanya bagian organ ginjal dan paru yang mengalami vaskulitis adalah bagian pembuluh kapiler di organ tersebut. Pembuluh darah kapiler pada ginjal dan paru termasuk pembuluh darah kecil sehingga vaskulitis dapat sembuh dengan sendirinya.

Pada pemeriksaan histopatologi organ setelah pemberian sediaan uji ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans,* Poir) terstandar hari ke-15 mengalami perubahan kondisi mikroskopis berupa infiltrasi glikogen pada organ hati di semua kelompok perlakuan (akuadest 10 ml/kgBB, dosis 480 mg/kgBB, dosis 1200 mg/kgBB, dosis 3000 mg/kgBB, dosis 7500 mg/kgBB). Infiltrasi glikogen bukan merupakan gangguan fungsi sel karena kematian sel. Kematian sel tidak disertai oleh pengumpulan glikogen pada organ. Keadaan infiltrasi glikogen ini lebih disebabkan oleh ketidakseimbangan metabolik antara glikogenesis dan

glikogenolisis serta lebih dipengaruhi oleh asupan nutrisi dari hewan uji tersebut. Infiltrasi glikogen dapat terjadi karena adanya gangguan penggunaan, metabolisme, serta mobilisasi glikogen. Histopatologi organ yang mengalami infiltrasi glikogen dapat ditemukan glikogen di dalam inti sehingga inti tampak jernih dan menggelembung seperti balon[26]. Berdasarkan data histopatologi organ mencit betina galur DDY selama 24 jam dan sampai hari ke- 15 setelah pemberian sediaan uji secara oral dosis tunggal dapat disimpulkan bahwa sediaan uji ekstrak kangkung darat terstandar tidak menyebabkan efek toksik pada hewan uji.

BAB IV

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Sediaan ekstrak kangkung darat terstandar yang diberikan secara oral dosis tunggal pada mencit betina dosis tunggal mempunyai LD_{50} semu 7500 mg/kg BB ekstrak kental kangkung darat terstandar dan tidak menyebabkan kematian pada hewan uji atau sekitar 2,48 kali dosis terapi 89,28mg/20gBB kangkung darat kering. Setara dengan kangkung sebanyak 7,087 kg/70kgBB masih aman apabila dikonsumsi oleh manusia. LD_{50} menurut kriteria Loomis masuk dalam kategori hampir tidak toksik.
2. Secara kualitatif berdasarkan pengamatan toksik pemberian kangkung darat dosis 480 mg/kgBB; 1200 mg/kgBB; 3000 mg/kgBB sampai dosis tertinggi 7500 mg/kgBB tidak menimbulkan gejala efek toksik pada mencit betina. Pengamatan secara makroskopis berupa pengamatan visual pada organ tidak mengalami efek toksik . Pengamatan mikroskopis berupa histopatologi organ dari dosis 480 mg/kgBB; 1200 mg/kgBB; 3000 mg/kgBB sampai dosis tertinggi 7500 mg/kgBB tidak menimbulkan efek toksik yang berarti pada organ lambung, jantung, ginjal, hati, limpa, maupun paru pada perlakuan selama 24 dan sampai hari ke- 15.

B. Saran

1. Perlu dilakukan uji ketoksikan subkronis, karena kangkung bisa menjadi alternatif pilihan terapi antihiperglikemi.
2. Perlu dilakukan uji teratogenik, karena kangkung biasa dikonsumsi oleh wanita hamil.
3. Perlu dilakukan uji pada formulasi sediaan kangkung yang lebih praktis jika dikonsumsi pasiean dan uji fase klinis agar dapat menjadi alternatif pilihan terapi antihiperglikemi.

DAFTAR PUSTAKA

(1) Helminawati, 2011, Uji Efek Antihiperglikemia Infusa Kangkung Darat (Ipomea reptans, Poir) pada mencit Swiss Jantan Yang Diinduksi Streptozotocin, *Skripsi*, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

(2) Sundari, H., 2010, Standardisasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah *(Piper crocatum* Ruiz & Pav*), Skripsi*, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

(3) Donatus, I.A., 2005, *Toksikologi Dasar*, Edisi 2, Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta, 113, 117-159, 200-209.

(4) Ngatidjan, 2006, *Metode Laboratorium Dalam Toksikologi*, Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta, 60-64.

(5) Loomis, T.A., 1978, *Toksikologi Dasar*, Edisi III, diterjemahkan oleh Imono Argo Donatus, IKIP Press, Semarang, 1-13,20-22, 225-241.

(6) Mayer, D., 2006, *Drug Discovery and Evaluation*, Section III, elektronik book, 779-782.

(7) Lu, F.C., 1995, *Toksikologi Dasar: Asas, Organ, Sasaran, dan Penilaian Resiko*, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1-2, 85-86, 187-189, 206-208, 224-227.

(8) Suryawati, S.,1995, *Efek Samping Obat*, Edisi Kedua, Pusat Studi Farmakologi Klinik dan Kebijakan Obat UGM, PT. Karipta, Jogjakarta.

(9) Kurniawan, C., 2006, *Sinopsis Fisiologi*, PiDi Publisher, Yogyakarta, 220-222.

(10) Ganong, W.F., 2008, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 22, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, 517-519.

(11) Guyton, A.C., 1996, *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, 578-560.

(12) Ganong, W.F., 1995, *Fisiologi Kedokteran*, Edisi 14, EGC, Jakarta 463-467, 472-477.

(13) Kumar, V.,Cotran, R.S., Robbins, S.L., 1995, *Patologi II*, Edisi IV, EGC, Jakarta, 29-30, 69-127, 183.

(14) Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2005, *Kriteria Dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar, Dan Fitofarmaka*., BPOM RI, Jakarta.

(15) Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta, Departemen Kesehatan RI, 1-38.

(16) Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2005, *Pedoman Cara Pembuatan Obat Tradisional Yang Baik: Lampiran Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Nomor :HK.00.05.4.1380*, BPOM, Jakarta.

(17) Santosa, H.B., 2008, *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat*, Jakarta, Agromedia Pustaka, 44.

(18) Dasgupta, N., De.B., 2006, *Antioxidant activityof some leafy vegetables of india: a Comparative study*, Pharmacognosy Research Laboratory, Department of Botany, Calcutta University, India.

(19) Ismail, A., 2003, Determination of Vitamin C, β-caroten, and Riboflavin Contents in Five Green Vegetables Organically and Conventionally Grown, *Mal J Nur*, 9:31-39.
(20) Hutadilok-Towatana, N., Wantana, R., Pharkphoom, P., 2009, Evaluation of the toxicity of Arthrospira (Spirulina) platensis extract, *J Appl Phycol (2010)*, 22:599–605: DOI 10.1007/s10811-009-9499-5.
(21) Balazs, T., 1970, Measurement of Acute Toxicity, in paget, G.E. (Ed), *Methods in Toxicology*, Blackwell scientific publication oxford, 49-75.
(22) Djuwarno, E. N., 2012, Standarusasi Ekstrak Etanolik Kangkung Darat (Ipomoea reptans, Poir), *Skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
(23) Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H. Y., 2011, *Standardisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
(24) Johantika, E.E.B., 2002, Pemanfaatan Kangkung Darat (*Ipomeareptans* Poir) dalam Pembuatan Biskuit Tinggi Serat Makanan, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
(25) Khomsan, A. 2009, *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*, Buku Kompas, Jakarta, 146
(26) Anonim, 1973, *Patologi*, Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1-8.
(27) Fauzi, N., Jusuf, B., Willy, S., Linda, A., *Pendekatan Diagnostik Vaskulitis*, 2009, Fakultas Kedokteran UNAIR/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya available at http://isjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/211097078.pdf (diakses 25 Mei 2012).
(28) O'Callaghan, C.A., 2007, *At Glance Sistem Ginjal*, Edisi 2, Erlangga, Jakarta, 393-394.
(29) Solfaine, R., 2011, *Pengantar Patologi Veteniter 1*, Penerbit KoPi, Yogyakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1.

Ethical Clearance

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

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

Ref : KE/FK/ 344 /EC

Title of the Research Protocol	:	Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kangkung Darat Terstandar (Ipomea reptans Poir) Secara Oral pada Mencit Betina Galur DDY
Documents Approved	:	Study Protocol
Principle Investigator	:	Tarias Rahayu
Name of medically Responsible Physician(s)	:	1. Farida Hayati, M.Si., Apt 2. Dr. drh. Retno Murwanti, MP
Date of Approval	:	07 MAY 2012 (Valid for one year beginning from the date of approval)
Institution(s)/place(s) of research	:	Laboratorium Farmakologi Fakultas MIPA UII

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

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

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

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

Lampiran 2.

Surat determinasi kangkung darat (*Ipomea reptans* P)

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

SURAT KETERANGAN

Nomor:106/UII/Jur Far/det/III/2012

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

Nama	:	Tarias Rahayu
NIM	:	08613195
Pada tanggal	:	15 Maret 2012

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

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

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta,15 Maret 2012
Bagian Biologi Farmasi
Kepala,

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

Lampiran 3.

Surat keterangan membeli mencit DDY betina usia 2-3 bulan

UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU
(LPPT – UGM)
Bidang Layanan Penelitian Pra – Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan
Jl. Agro Karang Malang Kampus UGM
Telp. (0274) 7497705, FAX. (0274) 546868, e-mail: lppt_info@mail.ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN
NO : 218/LP3HP/30 - III/2012

Yang bertanda tangan di bawah ini :

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

Menerangkan bahwa ;

Nama : Tarias Rahayu
NIM : 08613178
Instansi : Fakultas MIPA Jurusan Farmasi UII YK.

Pada bulan Maret 2012 membeli mencit putih (*Mus musculus* L.) Betina Galur DDY usia 2-3 bulan sejumlah 40 (Empat puluh) ekor dari Unit Pra-klinik - LPPT Universitas Gadjah Mada

Hewan tersebut dalam keadaan masih Fertil dan tidak terinfeksi penyakit sehingga tidak menularkan penyakit.
Menurut keterangan dari yang bersangkutan, Hewan tersebut akan dibawa ke Fakultas MIPA UII Yogyakarta dan akan digunakan sebagai hewan percobaan penelitian.

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

Atas kerjasama yang baik di ucapkan terima kasih.

Yogyakarta, 30 Maret 2012
Kabid Unit Pra-Klinik,

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

Lampiran 4.

Surat keterangan histopatologi organ mencit betina DDY

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
LABORATORIUM PATOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA
Jl. Fauna, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Tlp. (0274) 9061103, 560862 Fax. 560861

No 48/PA/IX/2012
Hal : Hasil Histopatologi

Yth. Sdr. Tarias Rahayu
Fakultas Farmasi - UII
Yogyakarta

Berikut disampaikan hasil histopatologi jaringan mencit dengan perlakuan:

Perlakuan/ Kelompok	Organ						
	Hati	Lambung	Pankreas	Jantung	Limpa	Ginjal	Paru
KB11	D	-		-	-	-	-
KB12	D	-		-	-	-	-
KB13	D	R		-	-	-	-
PB11	D	-	-	-	-	-	-
PB12	-	-	-	-	-	-	-
PB13	D	-		-	-	-	-
PB21	R	-		-	-	PV/R,D	PV
PB22	-	-		-	-	D	-
PB23	D	-		-	-	-	-
PB31	-	-	-	-	-	R	-
PB32	D	-		-	-	-	-
PB33	-	-		-	-	-	-
PB41	-	-		-	-	-	-
PB42	-	-			-	-	-
PB43	D	R		-	-	-	-
PB44	G	-		-	-	-	-
PB45	G	-		-	-	-	-
PB46	G	-		-	-	-	-
PB34	G	-		-	-	-	-
PB35	G	-		-	-	-	-
PB36	G	-		-	-	-	-
PB24	G	-		-	-	-	-
PB25	G	-		-	-	-	-
PB26	G	-		-	-	-	-
PB14	G	-		-	-	-	-
PB15	G	-		-	-	-	-
PB16	G	-		-	-	-	-
KB14	G	-		-	-	-	-
KB15	G	-		-	-	-	-
KB16	G	-		-	-	-	-

KETERANGAN :
- : Normal
D : Degenerasi
G : Infiltrasi glikogen
PV : Perivasculitis
R : Radang

Demikian hasilnya, diucapkan terima kasih atas kerja samanya

Yogyakarta, 16 Mei 2012
Ketua Bagian Patologi

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

Lampiran 5a.

Rendemen ekstrak kental kangkung

Diketahui :

Berat kangkung basah yang total = 82 kg

Berat kangkung kering = 8,2 kg

Berat serbuk kangkung = 8,2 kg

Serbuk simplisia yang digunakan = 2000 g

Ekstrak yang diperoleh = 164,19 g

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{(Ekstrak yang diperoleh)}}{\text{(Simplisia awal)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{164{,}19 \text{ g}}{2000 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 8,21\%$$

Lampiran 5b.

Perhitungan konversi ekstrak kangkung darat dosis tertinggi

ke bobot kangkung kering

Diketahui :

rendemen = 8,21 %

dosis efektif infusa kangkung = 89, 28 mg/20gBB atau 4, 46 mg/kgBB

Rumus rendemen :

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

Ekstrak yang dipakai 750 mg/ml

Maka:

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

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

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

Berat serbuk = 9135,2 mg/ml

9135,2 mg/ml x 0,2ml/20gBB = 1827,04mg/20gBB

= 91352 mg/kgBB atau 91,352 g/kgBB

$$\frac{91352\ \cancel{\text{mg/kgBB}}}{4,46\ \cancel{\text{mg/kgBB}}} = 20,48$$

Maka, dosis tertinggi sebesar 20, 48 kali dosis efektif

Lampiran 5c.

Perhitungan konversi ekstrak kangkung darat dosis terendah ke bobot kangkung kering

Diketahui :

rendemen = 8,21 %

dosis efektif infusa kangkung = 89, 28 mg/20gBB atau 4, 46 mg/kgBB

Rumus rendemen :

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

Ekstrak yang dipakai 48 mg/ml

Maka:

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

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

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

Berat serbuk = 584, 65 mg/ml

584,65 mg/ml x 0,2ml/20gBB = 116,93 mg/20gBB atau 5846,5 mg/kgBB

$$\frac{5846,5\ \sout{\text{mg/kgBB}}}{4,46\ \sout{\text{mg/kgBB}}} = 1,31$$

Maka, dosis terendah sebesar 1,31 kali dosis efektif

Lampiran 5d.

Konversi dosis tertinggi ekstrak kangkung darat terstandar ke berat kangkung basah yang biasa dikonsumsi manusia

$$\frac{\text{Berat kangkung basah untuk ekstrak}}{\text{Berat kangkung basah penelitian}} = \frac{\text{Berat serbuk kangkung untuk ekstrak}}{\text{Berat serbuk kangkung penelitian}}$$

$$\frac{82000 \text{ gram}}{X} = \frac{8200 \text{ gram}}{91{,}352 \text{ g/kgBB}}$$

$$X = 913{,}52 \text{ g/kgBB}$$

X = berat kangkung basah penelitian

= 913,52 g/kgBB atau 18,2704 g/20gBB

- Konversi pada dosis manusia

  18,2704 g/20gBB x 387,9 = 7087,0882 g/ 70kgBB atau 7, 087 kg/70kgBB

Lampiran 6a.

Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina kelompok kontrol yang diberi akuades 10 ml/kgBB

Sistem Organ	**Pengamatan dan Pemeriksaan**	**Tanda-tanda Umum Ketoksikan**	**Hari ke-**														
			1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
SSP dan Somator	**Perilaku**	Perubahan sikap terhadap pengamat,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		gelisah.	-	-		-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		tremor,	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
		ataksia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		keterpaksaan gerak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap aneka rangsang	Keberangasan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kepasifan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		anestesia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Saliva *(menegeluarkan air liur)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi *(Mengeluarkan air mata)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	**Sifat dan Laju nafas**	Bradipnea,	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		dispnea.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	**Palpitasi di daerah karidiak**	Bradikardia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Takikardi.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	**Peristiwa perut**	Diare,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		sembelit,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja	Tidak terbentuk,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		warna hitam.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinari	**Vulva, kelenjar mamae**	Bengkak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	**Warna, keutuhan**	Kelembekan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kemerahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran mukosa	**Konjungtiva mulut**	Kongesti *(Edema)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		perdarahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis *(kebiruan)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Perawakan abnormal,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kurus.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Berat Badan #	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

+ : Hewan uji menunjukan gejala toksik

- : Hewan uji tidak menunjukan gejala toksik

:data berat badan ada di lampiran

Lampiran. 6b.

Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina kelompok 1 yang diberi sediaan uji dosis 480 mg/kgBB

Sistem Organ	**Pengamatan dan Pemeriksaan**	**Tanda-tanda Umum Ketoksikan**	**Hari ke-**														
			1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
-S-SP dan Somator	**Perilaku**	Perubahan sikap terhadap pengamat,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		gelisah.	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		tremor,	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
		ataksia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		keterpaksaan gerak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap aneka rangsang	Keberangasan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kepasifan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		anestesia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Saliva *(menegeluarkan air liur)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi *(Mengeluarkan air mata)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	**Sifat dan Laju nafas**	Bradipnea,	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		dispnea.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	**Palpitasi di daerah karidiak**	Bradikardia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Takikardi,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	**Peristiwa perut**	Diare,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		sembelit,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja	Tidak terbentuk,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		warna hitam.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinari	**Vulva, kelenjar mamae**	Bengkak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	**Warna, keutuhan**	Kelembekan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kemerahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran mukosa	**Konjungtiva mulut**	Kongesti *(Edema)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		perdarahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis *(kebiruan)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Perawakan abnormal,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kurus.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Berat Badan #	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

\+ : Hewan uji menunjukan gejala toksik

\- : Hewan uji tidak menunjukan gejala toksik

\# :data berat badan ada di lampiran

Lampiran 6c.

Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina kelompok 2 yang diberi sediaan uji dosis 1200 mg/kgBB

Sistem Organ	**Pengamatan dan Pemeriksaan**	**Tanda-tanda Umum Ketoksikan**	**Hari ke-**														
			1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
SSP dan Somator	**Perilaku**	Perubahan sikap terhadap pengamat,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		gelisah.	-	-		-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		tremor,	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
		ataksia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		keterpaksaan gerak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap aneka rangsang	Keberangasan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kepasifan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		anestesia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Saliva *(menegeluarkan air liur)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi *(Mengeluarkan air mata)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	**Sifat dan Laju nafas**	Bradipnea,	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		dispnea.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	**Palpitasi di daerah karidiak**	Bradikardia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Takikardi,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	**Peristiwa perut**	Diare,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		sembelit,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja	Tidak terbentuk,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		warna hitam.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinari	**Vulva, kelenjar mamae**	Bengkak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	**Warna, keutuhan**	Kelembekan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kemerahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran mukosa	**Konjungtiva mulut**	Kongesti *(Edema)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		perdarahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis *(kebiruan)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Perawakan abnormal,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kurus.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Berat Badan #	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

+ : Hewan uji menunjukan gejala toksik

- : Hewan uji tidak menunjukan gejala toksik

:data berat badan ada di lampiran

Lampiran 6d.

Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina kelompok 3 yang diberi sediaan uji dosis 3000 mg/kgBB

Sistem Organ	**Pengamatan dan Pemeriksaan**	**Tanda-tanda Umum Ketoksikan**	**Hari ke-**														
			1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
SSP dan Somator	**Perilaku**	Perubahan sikap terhadap pengamat,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		gelisah.	-	-		-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		tremor,	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
		ataksia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis*(kelumpuhan)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		keterpaksaan gerak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap aneka rangsang	Keberangasan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kepasifan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		anestesia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Saliva *(menegeluarkan air liur)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi *(Mengeluarkan air mata)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	**Sifat dan Laju nafas**	Bradipnea,	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		dispnea.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	**Palpitasi di daerah karidiak**	Bradikardia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Takikardi,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	**Peristiwa perut**	Diare,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		sembelit,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja	Tidak terbentuk,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		warna hitam.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinari	**Vulva, kelenjar mamae**	Bengkak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	**Warna, keutuhan**	Kelembekan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kemerahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran mukosa	**Konjungtiva mulut**	Kongesti *(Edema)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		perdarahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis *(kebiruan)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Perawakan abnormal,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kurus.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Berat Badan #	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

\+ : Hewan uji menunjukan gejala toksik

\- : Hewan uji tidak menunjukan gejala toksik

\# :data berat badan ada di lampiran

Lampiran 6e.

Contoh hasil pengamatan kualitatif gejala toksik mencit betina kelompok 4 yang diberi sediaan uji dosis 7500 mg/kgBB

Sistem Organ	**Pengamatan dan Pemeriksaan**	**Tanda-tanda Umum Ketoksikan**	**Hari ke-**														
			1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
SSP dan Somator	**Perilaku**	Perubahan sikap terhadap pengamat,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		gelisah.	-	-		-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		tremor,	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
		ataksia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		keterpaksaan gerak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap aneka rangsang	Keberangasan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kepasifan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		anestesia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperastesia *(kepekaan rangsang; nyeri,)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem saraf otonom	**Sekresi**	Saliva *(menegeluarkan air liur)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi *(Mengeluarkan air mata)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	**Sifat dan Laju nafas**	Bradipnea,	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		dispnea.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	**Palpitasi di daerah karidiak**	Bradikardia,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Takikardi,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran cerna	**Peristiwa perut**	Diare,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		sembelit,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja	Tidak terbentuk,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		warna hitam.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinari	**Vulva, kelenjar mamae**	Bengkak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	**Warna, keutuhan**	Kelembekan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kemerahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran mukosa	**Konjungtiva mulut**	Kongesti *(Edema)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		perdarahan,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis *(kebiruan)*,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Perawakan abnormal,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		kurus.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Berat Badan #	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

\+ : Hewan uji menunjukan gejala toksik

\- : Hewan uji tidak menunjukan gejala toksik

\# :data berat badan ada di lampiran

Lampiran 7a.

Penimbangan berat badan mencit betina setelah pemberian sediaan ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

Kelompok		Berat Badan Mencit Betina (gram) hari ke-				
		0	1	5	11	15
Kontrol Akuades 10 ml/kgBB	1	31,4	29	31,8	28,9	29,1
	2	31,2	31,2	28	32,5	32,5
	3	27,2	27	27	28	27
	4	24,9	24,9	23,8	25	25,5
	5	26,9	26,5	26	27,5	27,2
	6	30,2	31	-	-	-
	7	31,9	30,5	-	-	-
	8	27,3	28	-	-	-
Dosis I 480 mg/kgBB	1	31,9	31,9	31,9	31,7	32,5
	2	28,3	28,3	28,5	29	29,7
	3	31	30	28,2	29,5	30,5
	4	31,6	32,5	32,5	33,6	32,5
	5	30,2	30,5	28	29,5	30,4
	6	28,5	28,5	-	-	-
	7	24,7	25,5	-	-	-
	8	25,5	25,1	-	-	-
Dosis II 1200 mg/kgBB	1	37	37	35,8	36,8	37,5
	2	37,5	38	38,2	38,5	39,6
	3	37,3	37,3	37,5	38,5	38,9
	4	28	28	28	29	29
	5	41,5	41	42,5	43	43,5
	6	32,5	32	31,5	31,7	31,5
	7	34	35,5	-	-	-
	8	26,5	26	-	-	-
	9	23,4	23,8	-	-	-
Dosis III 3000 mg/kgBB	1	27,3	28	28	28,5	29
	2	27,3	27,1	27,5	29	28,5
	3	30	29,1	27,3	29,4	29,8
	4	28,8	27,2	30	31,5	29,7
	5	35,2	33,9	36	35,8	37,5
	6	32,6	33	32,5	33,5	29,7
	7	29,5	29,5	-	-	-
	8	31	31	-	-	-
	9	27	27	-	-	-

Lanjutan (lampiran 7a)

Dosis IV 7500 mg/kgBB	1	25	26,7	27,1	27,1	28,7
	2	29,1	28,5	24,5	24,5	27,5
	3	31	27,3	28	28	31,5
	4	27,5	24,5	23,5	23,5	25,5
	5	28,5	26,6	25	25	29,5
	6	28	30,6	25,5	25,5	28
	7	23,1	23,6	-	-	-
	8	26,1	25,5	-	-	-
	9	24,5	25,5	-	-	-

Lampiran 7b.

Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok kontrol

Kontrol	hari ke-0	hari ke-1	hari ke-5	hari ke-11	hari ke-15	Perubahan 15 hari	Perubahan per hari
1	31.400	29.000	31.800	28.900	29.100	-2.300	-0.153
2	31.200	31.200	28.000	32.500	32.500	1.300	0.087
3	27.200	27.000	27.000	28.000	27.000	-0.200	-0.013
4	24.900	24.900	23.800	25.000	25.500	0.600	0.040
5	26.900	26.500	26.000	27.500	27.200	0.300	0.020
Rata-rata	28.320	27.720	27.320	28.380	28.260	-0.060	-0.004

Lampiran 7c**.**

Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok dosis I

Dosis I	hari ke-0	hari ke-1	hari ke-5	hari ke-11	hari ke-15	Perubahan 15 hari	Perubahan per hari
1	31.900	31.900	31.900	31.700	32.500	0.600	0.040
2	28.300	28.300	28.500	29.000	29.700	1.400	0.093
3	31.000	30.000	28.200	29.500	30.500	-0.500	-0.033
4	31.600	32.500	32.500	33.600	32.500	0.900	0.060
5	30.200	30.500	28.000	29.500	30.400	0.200	0.013
Rata-rata	30.600	30.640	29.820	30.660	31.120	0.520	0.035

Lampiran 7d.

Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok dosis II

Dosis II	hari ke-0	hari ke-1	hari ke-5	hari ke-11	hari ke-15	Perubahan 15 hari	Perubahan per hari
1	37.000	37.000	35.800	36.800	37.500	0.500	0.033
2	37.500	38.000	38.200	38.500	39.600	2.100	0.140
3	37.300	37.300	37.500	38.500	38.900	1.600	0.107
4	28.000	28.000	28.000	29.000	29.000	1.000	0.067
5	41.500	41.000	42.500	43.000	43.500	2.000	0.133
6	32.500	32.000	31.500	31.700	31.500	-1.000	-0.067
Rata-rata	35.633	35.550	35.583	36.250	36.667	1.033	0.069

Lampiran 7e.

Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok dosis III

Dosis III	hari ke-0	hari ke-1	hari ke-5	hari ke-11	hari ke-15	Perubahan 15 hari	Perubahan per hari
1	27.300	28.000	28.000	28.500	29.000	1.700	0.113
2	27.300	27.100	27.500	29.000	28.500	1.200	0.080
3	30.000	29.100	27.300	29.400	29.800	-0.200	-0.013
4	28.800	27.200	30.000	31.500	29.700	0.900	0.060
5	35.200	33.900	36.000	35.800	37.500	2.300	0.153
6	32.600	33.000	32.500	33.500	29.700	-2.900	-0.193
Rata-rata	30.200	29.717	30.217	31.283	30.700	0.500	0.033

Lampiran 7f.

Berat badan mencit betina yang masih hidup sampai hari ke-15 kelompok dosis IV

Dosis IV	hari ke-0	hari ke-1	hari ke-5	hari ke-11	hari ke-15	Perubahan 15 hari	Perubahan per hari
1	25.000	26.700	27.100	27.100	28.700	3.700	0.247
2	29.100	28.500	24.500	24.500	27.500	-1.600	-0.107
3	31.000	27.300	28.000	28.000	31.500	0.500	0.033
4	27.500	24.500	23.500	23.500	25.500	-2.000	-0.133
5	28.500	26.600	25.000	25.000	29.500	1.000	0.067
6	28.000	30.600	25.500	25.500	28.000	0.000	0.000
Rata-rata	28.183	27.367	25.600	25.600	28.450	0.267	0.018

Lampiran 8a.

Uji distribusi normal dari perubahan berat badan mencit betina hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PerubahanBB
N		28
Normal Parameters[a]	Mean	.03121
	Std. Deviation	.097960
Most Extreme Differences	Absolute	.114
	Positive	.071
	Negative	-.114
Kolmogorov-Smirnov Z		.605
Asymp. Sig. (2-tailed)		.857

a. Test distribution is Normal

Lampiran 8b.

Hasil tes homogenity of variances dari perubahan berat badan mencit betina hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

Test of Homogeneity of Variances

PerubahanBB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.913	4	23	.473

Hipotesis:

Ho : Kelima varians populasi identik.

H_1 : Kelima varians populasi tidak identik.

Pengambilan Keputusan :

Jika probabilitas > 0,05, maka H_0 diterima.

Jika probabilitas < 0,05, maka H_1 diterima.

Keputusan:

Terlihat bahwa Levene Test hitung 0.913 dengan nilai probabilitas 0.473. Oleh karena probabilitas > 0,05, maka H_0 diterima, atau kelima varians adalah sama.

Lampiran 8c.

Hasil analisis varian satu jalan dari perubahan berat badan mencit betina hari ke-0 sampai hari ke-15 setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar secara oral dosis tunggal

ANOVA

PerubahanBB

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.016	4	.004	.373	.826
Within Groups	.243	23	.011		
Total	.259	27			

Hipotesis:

Ho : Kelima varians populasi identik.

H_1 : Kelima varians populasi tidak identik.

Pengambilan Keputusan :

Jika probabilitas > 0,05, maka H_0 diterima.

Jika probabilitas < 0,05, maka H_1 diterima.

Keputusan:

Terlihat bahwa F hitung 0.373 dengan nilai probabilitas 0.826. Oleh karena probabilitas > 0,05, maka H_0 diterima, atau rata-rata berat badan kelima kelompok uji adalah adalah sama.

Lampiran 9.

Gambar larutan stok







