EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta

Oleh :

Winarti
02613133

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
AGUSTUS 2006

SKRIPSI

EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN

Oleh :

Winarti
02613133

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

Tanggal: 18-08 2006

Ketua Penguji

Farida Hayati, M.Si., Apt.

Anggota Penguji,

dr. Dita Ria Selvyana
Tanggal 18 Agustus 2006

Anggota Penguji,

Purwantiningsih, M.Si., Apt.
Tanggal 18 Agustus 2006

Mangetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Endang Darmawan, 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 pengetahan 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, Agustus 2006
Penulis

Winarti

HALAMAN PERSEMBAHAN

بسم الله الرحمن االرحيم

االحمدلله الذى علم بالقلم علم الإ نسا ن مالم يعلم اشهد ان لااله الاالله واشهدأن محمداعبده ورسوله والصلاة والسلام على سيدنا محمدالهادى الىالصراط المستقيم. وعلى أله وأصحابه أجمعين.

Skripsi ini khusus saya persembahkan kepada Allah SWT. dan Rasulnya, nabi besar Muhammad SAW.

Serta yang tercinta :

- *Ayahanda dan Ibunda, terima kasih atas segala pengorbanan, cinta kasih, semangat, bimbingan dan doanya sehingga ananda bisa lulus S-1.*
- *Adik-adikku yang tercinta Handi Krishandani dan Kania Oktaviani Trie Amanda, teteh bangga punya adik seperti kalian.*
- *Seluruh keluarga besarku, terima kasih atas doanya.*
- *The One's, terima kasih atas cinta, semangat dan bantuannya untukku, semoga memang 'You are My One's.*
- *Sobatku Q-noy Ndut, Ndut Bayu, Ayik, Dian, Gusti, Wulan, Bejo, Yudi, mba Ayu, B-Opik, Mba Ephie, Mba Erly, Teh neneng, B-Muhaimin, Helmin, B-Dani, terima kasih atas kasih sayang, persahabatan dan segala bantuannya.*
- *Anak-anak kos Anggrek: Lilis, Atik, Ambar, Tari, Mega, Sinta, Riya, Lia, Puri, I love U All.*
- *Seluruh angkatan 2002 dan teman-teman Farmasi lainnya, terima kasih atas semuanya.*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, sebuah kata yang tiada terputus untuk dipanjatkan kekhadirat Allah SWT, adalah rasa syukur yang paling dalam atas berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul "**EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN**", dimana skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat mencapai derajat sarjana (S1) Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan segala bantuan bagi terwujudnya skripsi ini, terutama kepada:

1. Farida Hayati, M.Si., Apt., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan masukan, bimbingan dan semangat selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.
2. dr. Dita Ria Selvyana selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberi masukan dan bimbingannya selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.
3. Purwantiningsih M.Si. Apt.,selaku Dosen penguji atas bimbingan, saran dan kritik sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
4. Endang Darmawan, M.Si. Apt., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
5. Segenap Laboran laboratorium Jurusan Farmasi Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
6. Segenap *security* dan karyawan yang telah membantu dalam proses penelitian sehingga dapat terlaksana dengan lancar.
7. Seluruh mahasiswa farmasi angkatan 2002, terima kasih atas semuanya.
8. Dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

3. Bahan uji 12
a. Taurin 13
b. Inositol 13
c. Ginseng 14
d. Vitamin B2 14
e. Vitamin B3 15
f. Vitamin B6 16
g. Kafein 16
h. Royal jelly 17
i. Aspartam 18
j. Natrium Bikarbonat 18
k. Asam sitrat 18
B. Keterangan Empiris 19
BAB III METODE PENELITIAN 20
A. Bahan dan Alat 20
1. Bahan 20
2. Alat 20
B. Cara Penelitian 21
1. Pengelompokan Hewan Uji 21
2. Pembuatan Sediaan Uji 22
3. Cara Pemberian dan Penetapan Dosis 22
4. Pengamatan Hewan Uji 22
5. Pemeriksaan Histopatologi 24
C. Hasil Analisis 25
BAB IV PEMBAHASAN 26
A. Penyiapan Hewan Uji 26
B. Penyiapan Bahan Uji 26
C. Penetapan Dosis 27
D. Pengamatan Gejala Klinis 27
E. Kondisi Umum 29
F. Spektrum Efek Toksik 31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 49

A. Kesimpulan 49
B. Saran 49
DAFTAR PUSTAKA 50
LAMPIRAN 54

DAFTAR GAMBAR

Gambar1. Struktur Taurin 13
Gambar2. Struktur Inositol 13
Gambar3. Struktur Riboflavin 14
Gambar4. Struktur Vitamin B3 15
Gambar5. Struktur Vitamin B6 16
Gambar6. Struktur Kafein 16
Gambar7. Struktur Aspartam 18
Gambar8. Struktur Asam sitrat 18
Gambar9. Skematika Penelitian 21
Gambar 10. Skematika pembuatan preparat histopatologi 24
Gambar11. Grafik perkembangan berat badan hewan uji selama 45 hari perlakuan 31
Gambar12. Contoh hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji (1) setelah mengalami perlakuan selama 45 hari 34
Gambar13. contoh hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji (2) setelah mengalami perlakuan selama 45 hari 34
Gambar14. Gambar mikroskopik jantung normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE 38
Gambar15. Gambar mikroskopik ginjal normal dengan perbesaran 40X dengan pengecatan HE 38
Gambar16. Gambar mikroskopik limpa normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE 39
Gambar17. Gambar mikroskopik lambung normal dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE 40
Gambar18. Gambar mikroskopik otak besar (serebrum) normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE 40
Gambar19. Gambar mikroskopik otak kecil (serebelum) normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE 41
Gambar20. Gambar mikroskopik paru normal dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE 41

Gambar21. Gambar mikroskopik paru hewan uji kelompok DI no 7 dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE 42
Gambar22 Gambar mikroskopik hati normal dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE 43
Gambar23. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok kontrol no 2 dengan perbesaran 40 X dengan pengecatan HE 44
Gambar24. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok DII no 4 dengan perbesaran 40 X dengan pengecatan HE 44
Gambar25. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok DII no 4 dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE 45
Gambar26. Gambar mikroskopik usus halus normal dengan perbesaran 10 X dengan pengecatan HE 47
Gambar27. Gambar mikroskopik usus halus hewan uji kelompok Kontrol no 4 dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE..... 48
Gambar28. Gambar mikroskopik usus halus hewan uji kelompok Kontrol no 6 dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE..... 48

DAFTAR TABEL

Tabel I Pengamatan gejala toksik menurut Paget 23

Tabel II Hasil pengamatan gejala toksik pada hewan uji setelah perlakuan selama 45 hari 31

Tabel III Hasil uji Tukey taraf kepercayaan 95% perubahan berat badan hewan uji selama 45 hari perlakuan 30

Tabel IV Berat badan hewan uji (gram) selama 45 hari perlakuan 30

Tabel V Bobot rata-rata (gram) ± SE organ hewan uji setelah 45 hari perlakuan 33

Tabel VI Hasil uji Tukey taraf kepercayaan 95% bobot organ setelah perlakuan 33

Tabel VII Hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji setelah mengalami perlakuan selama 45 hari..... 35

Tabel VIII Hasil pemeriksaan histopatologi organ hewan uji setelah 45 hari perlakuan 37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan hewan uji 54

Lampiran 2. Perhitungan dosis pemberian dan peringkat dosis masing-masing kelompok hewan uji 55

Lampiran 3. Hasil pemeriksaan histopatologi hewan uji. 56

Lampiran 4. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok kontrol ... 58

Lampiran 5. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis I ... 63

Lampiran 6. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis II... 68

Lampiran 7. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis III... 73

Lampiran 8. Data berat badan hewan uji selama 45 hari masa uji 78

Lampiran 9. Data bobot organ tikus jantan setelah perlakuan 45 hari 81

Lampiran 10. Hasil Anava perubahan berat badan selama 45 hari setelah pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 82

Lampiran 11. Hasil Anava bobot organ otak setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 84

Lampiran 12. Hasil Anava bobot organ paru setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 86

Lampiran 13. Hasil Anava bobot organ hati setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 88

Lampiran 14. Hasil Anava bobot organ jantung setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 90

Lampiran 15. Hasil Anava bobot organ lambung setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 92

Lampiran 16. Hasil Anava bobot organ limpa setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 94

Lampiran 17. Hasil Anava bobot organ usus setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 96

Lampiran 18. Hasil Anava bobot organ ginjal setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 97

EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN

INTISARI

Konsumsi suplemen makanan berenergi saat ini telah menjadi suatu *trend* dan bahkan sudah merupakan kebutuhan mutlak bagi masyarakat. Posisi Extra Joss® sebagai suplemen makanan yang menguasai pangsa pasar minuman berenergi sekitar 55% telah memberikan peluang adanya penggunaan yang tidak tepat dan melebihi dosis. Untuk mengevaluasi keamanan produk ini, maka dilakukan penelitian guna menilai berbagai gejala toksik yang timbul dan perubahan sel secara histopatologi akibat pemberian suplemen makanan secara berulang. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak. Tiga puluh dua ekor tikus jantan, dibagi menjadi 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 8 ekor tikus jantan. Kelompok I adalah kelompok kontrol negatif dengan pemberian aquadest. Kelompok II adalah kelompok dosis terendah hasil konversi dari dosis terapi untuk manusia yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji. Kelompok III adalah kelompok pemberian dosis tertinggi berdasarkan faktor perkalian yang tetap, dan kelompok IV adalah kelompok dosis tertinggi berdasarkan volume maksimum yang masih dapat diberikan secara teknis kepada hewan uji dan volume minimum pelarut yang dapat melarutkan bahan uji. Masa pengamatan dilakukan selama 3 jam sejak pemejanan obat selama masa uji yaitu 45 hari. Hasil pengamatan menyatakan bahwa Extra Joss® tidak menimbulkan gejala toksik pada hewan uji dan tidak mempengaruhi kenaikan berat badan hewan uji tersebut secara signifikan serta pada hasil histopatologi organ, pemberian Extra Joss® tidak menyebabkan adanya perubahan secara selular semua organ.

Kata kunci : efek toksik, suplemen, histopatologi

TOXIC EFFECT OF EXTRA JOSS® EFFERVESCENT SUPPLEMENT IN DOSIS REPEATLY TO ALTERATION OF HISTOPHATOLOGY ORGAN CELLS TO MALE RATS

ABSTRACT

Consumption of supplement has become a trend and morever has become a necessity for people. Extra Joss® as a food supplement has become a market leader about 55%, its has given opportunity an unappropriate and exceed from dosis therapy. For evaluation this product, so its researched for apraise any toxic simptoms and cells alteration of histophatology that caused the supplement if used repeatly. This research was used random design. Thirty two of male rats divided become 4 group, each group there are 8 of male rats. Group I as negatif control and was fed aquadest. Group II was fed lowest dosis of Extra Joss® that resulted convertion from therapy dosis for human that no or almost no deadly all of rats. Group III was fed highest of dosis based on constant multiply factor, and group IV was fed highest dosis of Extra Joss® based on maximum of volume that can given to rats and minimum volume of solvent that can dissolved of Extra Joss®. Monitoring had been done in 3 hours even presented of supplement during 45 days experiment. Results of monitoring showed that Extra Joss® uncaused clinical symptomps and uninfluenced gain of body weight of rats significantly and result of histophatology examination showed that there were not cells alterations.

Keyword : toxic effect, supplement, histophatology

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Menurut Badan POM (Anonim, 2000), suplemen makanan adalah produk yang digunakan untuk melengkapi makanan, mengandung satu atau lebih bahan sebagai berikut: vitamin, mineral, tumbuhan atau bahan yang berasal dari tumbuhan, asam amino, bahan yang digunakan untuk meningkatkan angka kecukupan gizi (AKG) atau konsentrat, metabolit, konstituen, ekstrak atau kombinasi dari beberapa bahan di atas.

Suplemen makanan digolongkan sebagai *nutraceutical*, sedangkan obat-obatan masuk golongan *pharmaceutical* (Anonim,1998). Perkembangan makanan kesehatan atau suplemen makanan didorong oleh kebutuhan masyarakat negara maju yang cenderung mengonsumsi zat gizi tidak seimbang sehingga berisiko terkena penyakit degeneratif, seperti tekanan darah tinggi, gangguan jantung, stroke, kanker, dan diabetes. Penyakit degeneratif juga meningkat dengan bertambahnya jumlah penduduk usia lanjut (Walujani, 2003).

Saat ini, di sebagian masyarakat muncul persepsi bahwa mengonsumsi suplemen makanan merupakan keharusan karena menimbulkan rasa lebih sehat pada individu. Ini karena tingginya minat masyarakat, pesatnya perkembangan industri suplemen makanan ditambah dengan gencarnya iklan suplemen makanan (Anonim, 2003a). Selain itu, masyarakat perkotaan yang sibuk dan banyak mengalami stres ditambah lingkungan penuh polusi menimbulkan kebutuhan akan formula yang mampu menyediakan zat gizi seimbang serta sebagai penawar racun yang terbentuk dalam tubuh (antioksidan). Kebutuhan itu lantas direspons industri dengan memproduksi suplemen multivitamin, mineral dan asam amino, ditambah ekstrak tumbuhan yang dipercaya berkhasiat meningkatkan kesehatan. Mengingat sifatnya sebagai penyeimbang kebutuhan gizi, suplemen tak bisa dikonsumsi secara bebas. Selain itu, ada kemungkinan mutu produk yang beredar tak sesuai standar atau tak memiliki efektivitas sebagaimana klaimnya (Walujani, 2003).

Di Indonesia, telah banyak beredar suplemen makanan yang dijual bebas tanpa resep dokter dan telah dikenal luas oleh masyarakat, selain itu pengawasan

pemerintah terhadap suplemen makanan tidak seketat pengawasan terhadap obat. Hal ini memberikan peluang pada penggunaan yang tidak terkontrol dan konsumsi yang melebihi batas serta kesalahan persepsi pada pemakaian bahwa suplemen makanan dapat mencegah atau mengobati penyakit (Anonim, 2003a).

Minuman penyegar yang ditambah kafein, taurin, dan sebagainya yang dijual sebagai minuman berenergi, walaupun kadar sediaan farmasi di bawah kadar untuk obat, jika dikonsumsi secara teratur dalam jumlah banyak bisa bereaksi seperti obat. Karenanya *nutriceutical* harus diawasi secara ketat (Siswono, 2002). Pada minuman energi yang ada di pasaran, kandungan taurin dan kafein lebih mendominasi dibanding kandungan molekul bahan bakar sedangkan efek farmakologi kafein adalah sebagai perangsang sistem saraf pusat, jantung, dan pernapasan. Kombinasi kafein dan taurin dalam minuman mungkin akan merangsang sistem saraf untuk memacu reaksi katabolisme di otot (Anonim, 2004c).

Sebagai suatu bagian vital tubuh, susunan saraf pusat dilindungi dari toksikan dalam darah oleh suatu mekanisme protektif yang unik, yaitu sawar darah – otak dan sawar darah saraf. Meskipun demikian susunan saraf rentan terhadap berbagai jenis toksikan. Lebih besarnya kerentanan sebagian dapat dikaitkan dengan fakta bahwa neuron mempunyai suatu laju metabolisme yang tinggi, dengan sedikit kapasitas untuk metabolisme anaerobik. Panjangnya akson merupakan alasan lain mengapa susunan saraf terutama rentan terhadap efek toksik, karena badan sel harus memasok aksonnya secara srtuktural maupun secara metabolisme (Lu, 1995).

Susunan anatomik dan histologik saluran pernafasan bagian atas yang beraneka ragam mempengaruhi patologik serta klinik kelainan pada tempat tersebut (Rukmono, *et al.*, 1998). Selain fungsi utamanya sebagai pertukaran oksigen dan karbondioksida, saluran pernafasan dapat mengekskresikan toksikan yang telah diserap dari paru-paru atau lewat jalur lain dan dengan sistem enzim metabolisme-xenobiotik, membiotransformasikan banyak toksikan yang dapat menyebabkan kerusakan sel dalam paru-paru. Toksikan juga dapat mempengaruhi saluran nafas setelah pajanan lewat jalur lainnya. (Lu, 1995).

Banyak toksikan dapat masuk ke saluran cerna bersama makanan dan air minum, atau secara sendiri sebagai obat atau zat kimia lain. Lambung merupakan tempat penyerapan yang penting, terutama untuk asam-asam lemah yang akan berada dalam bentuk non ion yang larut lipid dan mudah berdifusi. Sedangkan usus halus mempunyai dua fungsi utama yaitu fungsi pencernaan dan absorpsi bahan-bahan nutrisi dan air. Proses pencernaan disempurnakan oleh sejumlah enzim dalam getah usus (Lu, 1995; Price and Wilson, 1995).

Limpa berfungsi sebagai penyaring rumit yang disisipkan dalam peredaran darah untuk membersihkan darah dari zat renik dan sel-sel darah tua. Ia juga terlibat dalam pertahanan imun terhadap antigen yang terbawa darah. Limpa memiliki jenis pembuluh darah khusus yang memungkinkan darah berkontak langsung dengan sejumlah besar makrofag. Ia juga mengandung banyak jaringan limfoid yang melaksanakan fungsi imunologiknya (Bloom and Fawcett, 2002).

Hati dan ginjal memiliki kapasitas yang lebih tinggi untuk mengikat zat-zat kimia. Sedangkan ginjal membuang toksikan dari tubuh dengan mekanisme yang serupa dengan mekanisme yang digunakan untuk membuang hasil akhir metabolisme faali, yaitu dengan filtrasi glomerolus, difusi tubuler, dan sekresi tubular. Hati juga merupakan alat tubuh yang penting untuk ekskresi toksikan terutama untuk senyawa yang polaritasnya tinggi (anion dan kation), konjugat yang terikat dengan protein plasma, dan senyawa yang BM-nya lebih besar dari 300 (Lu, 1995).

Keputusan Kepala Badan POM RI nomor HK.00.05.23.3644 tentang ketentuan pokok pengawasan suplemen makanan pada bab II pasal 2 ayat 1 poin j menyatakan bahwa pengawasan suplemen makanan dilaksanakan melalui kegiatan survelan dan monitoring efek samping. Selain itu pada pasal 9 ayat 1 menyatakan bahwa kemanfaatan suplemen makanan harus sesuai dengan jumlah dan komposisi bahan yang dikandungnya (Anonim, 2004a). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian terhadap produk-produk suplemen yang beredar terutama di Indonesia. Selain itu masyarakat harus dilindungi dari suplemen makanan yang tidak memenuhi syarat mutu, keamanan, kemanfaatan serta dari resiko penggunaan yang tidak aman, tidak tepat dan tidak rasional (Walujani, 2003).

Penyalahgunaan minuman suplemen ternyata dapat berakibat fatal, seperti yang terjadi pada 4 warga desa Mambak,kecamatan Mlonggo, Jepara. Kematian mereka tidak terjadi seketika setelah minum oplosan ginseng yang dicampur dengan ekstra joss melainkan 2 hari kemudian. Sebelum meninggal gejala klinis yang teramati yaitu berupa dada terasa sesak, perut sakit, pandangan mata kabur (terasa gelap), muntah cairan bening kekuning-kuningan, badan lemas dan akhirnya meninggal (Kar-33t, 2004).

Penelitian suplemen makanan Extra Joss® yang merupakan minuman kesehatan berbentuk serbuk dan tablet effervescent yang mengandung asam amino (taurin), vitamin B kompleks (inositol, B1, B2, B3, dan B6), ginseng, dan kafein, perlu dilakukan karena di sebagian masyarakat, makanan dan minuman berenergi sudah menjadi suatu kebutuhan mutlak, terutama untuk mengembalikan stamina setelah melakukan pekerjaan berat atau menambah tenaga jika ingin melakukan suatu aktivitas tertentu (Simanjuntak dan Siagian, 2003). Extra Joss® juga merupakan produk suplemen yang mampu menjangkau konsumen dari segala lapisan dengan bukti pangsa pasar Extra Joss® sangat dominan yaitu sekitar 55% (Palupi dan Hidayat, 2005).

Selain itu survei kecil-kecilan yang dilakukan SWA terhadap 30 responden pada Februari 2005 menyatakan dari seluruh responden pernah mengkonsumsi Extra Joss®, 30% masih rutin mengkonsumsi, 60% kadang-kadang dan 10% sisanya tidak mengkonsumsi lagi. Hasil yang lebih spesifik mengatakan 40% telah mengkonsumsi Extra Joss® lebih dari satu tahun, 36,7% selama 6-12 bulan dan 23,3% sisanya kurang dari 6 bulan (Palupi dan Hidayat, 2005).

Berdasarkan survei tersebut maka perlu dilakukan pengujian terhadap Extra Joss® yang merupakan salah satu produk suplemen makanan yang beredar di Indonesia dan digunakan secara rutin. Salah satu pengujian terhadap produk ini adalah dengan uji toksisitas pada pemberian berulang selama waktu tertentu guna mengetahui potensi toksisitasnya.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian terhadap suplemen makanan, yang mana pada penelitian ini diwakili oleh Extra Joss® yang merupakan salah satu produk suplemen yang telah beredar luas di masyarakat dan memiliki konsumen terbesar. Permasalahan yang dapat dirumuskan untuk mengevaluasi batas keamanan produk tersebut adalah:

1. Apakah ada gejala toksik yang ditimbulkan dan efek toksik yang khas yang memerantai terjadinya kematian pada hewan uji?
2. Apakah ada perubahan histopatologi sel otak, paru-paru, hati, jantung, lambung, limpa, usus, dan ginjal yang dapat diamati?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui gejala toksik berupa perubahan berat badan dan gejala klinis pada tikus jantan yang mungkin timbul akibat pemberian Extra Joss® pada dosis berulang.
2. Mengetahui adanya perubahan histopatologi organ otak, paru-paru, hati, jantung, lambung, limpa, usus, dan ginjal yang mungkin timbul akibat pemberian Extra Joss® pada dosis berulang.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk :

1. Melindungi masyarakat dari produk-produk suplemen makanan yang tidak memenuhi syarat mutu, keamanan dan kemanfaatan.
2. Melindungi masyarakat dari resiko penggunaan yang tidak aman, tidak tepat dan tidak rasional.
3. Memberikan informasi kepada masyarakat kemungkinan efek yang bisa terjadi apabila menggunakan Extra Joss® secara rutin, khususnya terhadap perubahan histopatologi organ otak, paru-paru, hati, jantung, lambung, limpa, usus, dan ginjal.

BAB II
STUDI PUSTAKA

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

A. Tinjauan Pustaka

1. Toksikologi

Toksikologi didefinisikan sebagai ilmu tentang aksi berbahaya zat kimia atas sistem biologi. Toksisitas merupakan sifat relatif dari suatu zat kimia yang mengacu pada efek berbahaya atas sistem biologi tertentu, merupakan istilah relatif yang digunakan dalam membandingkan suatu zat kimia lainnya (Loomis, 1978). Menurut Lu (1995), toksikologi merupakan kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan sistem biologik lainnya, serta membahas penilaian kuantitatif tentang berat dan kekerapan efek toksiknya.

Keberbahayaan atau keamanan suatu senyawa terutama berkaitan dengan jumlah senyawa tersebut di dalam tubuh. Hal tersebut dapat dikatakan dengan cara lain bahwa faktor yang menentukan tingkat suatu senyawa adalah dosis senyawa tersebut (Loomis, 1978).

Pada dasarnya uji toksikologi digolongkan menjadi dua, yakni uji toksisitas umum dan khusus. Uji toksisitas umum meliputi uji toksisitas akut, subkronis dan kronis. Uji toksikologi ini berguna untuk mengevaluasi keseluruhan efek toksik suatu senyawa. Uji toksisitas khusus terdiri dari uji potensiasi, uji kemutagenikan, uji kekarsinogenikan, uji keteratogenikan, uji reproduksi, uji kulit dan mata, serta uji perilaku (Loomis, 1978).

Definisi toksikologi mengandung makna bahwa di dalam tubuh, dalam kondisi tertentu, zat kimia dapat berantaraksi dengan jaringan tubuh dengan mekanisme tertentu, sehingga mengakibatkan timbulnya efek berbahaya atau toksik dengan wujud dan sifat tertentu. Uji toksikologi adalah tata cara untuk mendeteksi dan mengevaluasi kondisi, mekanisme, wujud dan sifat toksik zat kimia pada hewan uji tertentu untuk menentukan batas keamanannya (Donatus, 1990).

Kondisi efek toksik adalah berbagai keadaan atau faktor yang dapat mempengaruhi keefektifan absorpsi, distribusi, dan eliminasi zat beracun di dalam tubuh, sehingga akan menentukan keberadaan zat kimia utuh dan metabolitnya dalam sel sasaran serta toksisitasnya atau keefektifan antaraksinya dengan sel sasaran. Termasuk dalam kondisi efek toksik adalah kondisi pemejanan dan kondisi subyek atau makhluk hidup (Donatus, 1990).

Kondisi pemejanan meliputi jenis pemejanan, saat pemejanan (akut atau kronis), jalur pemejanan (intravaskular atau ekstravaskular), lama dan kekerapan pemejanan, saat pemejanan, dan takaran atau dosis pemejanan. Sedangkan kondisi subyek meliputi kondisi fisiologi misalnya berat badan, umur, suhu tubuh, kecepatan pengosongan lambung, kecepatan aliran darah, status gizi, kehamilan genetika, jenis kelamin, ritme sirkadian, ritme diurnal, dan keadaan patologi misalnya penyakit saluran cerna, kardiovaskular, hati dan ginjal.

Zat beracun masuk kedalam tubuh, suatu ketika dapat terdistribusi sampai ke cairan ekstra sel. Karena itu, berdasarkan atas sifat dan tempat kejadiannya, mekanisme aksi toksik zat kimia dibagi menjadi dua, yaitu mekanisme luka intrasel adalah luka sel yang diawali oleh aksi langsung zat beracun atau metabolitnya pada tempat aksi tertentu di dalam sel sasaran, dan mekanisme luka ekstrasel terjadi secara tidak langsung, artinya zat beracun pada awalnya beraksi di lingkungan luar sel dengan akibat terjadinya luka di dalam sel (Donatus, 1990).

Wujud efek toksik zat beracun pada dasarnya merupakan perubahan biokimia, fungsional dan struktural. Namun tidak berarti bahwa efek toksik zat sepenuhnya dapat terpisah dengan tegas kedalam tiga wujud dasar efek toksik itu. Perubahan struktural misalnya, kebanyakan merupakan wujud akhir dari perubahan fungsional dan atau biokimia (Donatus, 1990). Menurut Lu (1995), efek morfologi berkaitan dengan perubahan bentuk luar dan mikroskopi pada morfologi jaringan, efek fungsional biasanya berupa perubahan yang terbalikkan pada fungsi organ sasaran, sedangkan efek biokimiawi umumnya adalah efek toksik yang tidak menyebabkan perubahan morfologis.

Ada dua jenis sifat efek toksik zat beracun, yaitu terbalikkan dan tak terbalikkan (Casarett dan Doul, 1991). Menurut Lu (1995), efek toksik yang terbalikkan adalah jika efek itu dapat hilang dengan sendirinya. Sebaliknya, efek

toksik tak terbalikkan akan menetap atau justru bertambah parah setelah pejanan toksikan dihentikan.

Ciri khas dari wujud efek toksik terbalikan 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 tergantung pada takaran serta kecepatan absorpsi, distribusi dan eliminasi racunnya.

Ciri khas dari wujud efek toksik yang terbalikan meliputi:

1. kerusakan yang terjadinya menetap,
2. pemejanan berikutnya dengan racun akan menimbulkan kerusakan yang sifatnya sama sehingga memungkinkan terjadinya penumpukan efek toksik, dan
3. pemejanan dengan takaran sangat kecil dalam jangka panjang akan menimbulkan efek toksik yang selektif dengan yang ditimbulkan oleh pemejanan dengan takaran besar dalam jangka pendek.

Uji toksisitas subkronis adalah uji toksisitas suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu selama kurang dari tiga bulan (Loomis, 1978). Uji toksisitas subkronis merupakan uji toksisitas yang disebabkan oleh pengulangan dosis pada pemakaian periode yang diperluas, tetapi bukan pada periode pembentukan atau pertumbuhan bagian organ yang penting pada masa hidup hewan uji. Studi 90 hari yang dilakukan pada hewan uji tikus atau anjing merupakan sifat khas dari studi ini (Hodgson and Levi, 2000). Uji toksisitas subkronis menyangkut evaluasi seluruh hewan uji untuk mengetahui efek patologi kasar dan efek histologi sekurang-kurangnya pada akhir penelitian. Demikian pula, selama penelitian berlangsung bila ada hewan yang sakit dan sekarat biasanya dikorbankan dan dilakukan bedah lengkap (Donatus dan Nurlaila, 1986).

Menurut Loomis (1978), tujuan dari uji toksisitas subkronis secara umum ialah mengevaluasi dan menggolongkan segala efek senyawa apabila senyawa itu diberikan kepada hewan uji secara berulang-ulang, biasanya sekali sehari selama masa waktu 3 – 4 bulan. Selain itu untuk mengungkapkan berbagai efek berbahaya (spektrum efek samping) yang dapat terjadi bila suatu senyawa

digunakan dalam kurun waktu tertentu, dan untuk melihat kaitan berbagai efek toksik dengan peringkat dosisnya (Donatus dan Nurlaila, 1986).

Jangka waktu uji toksisitas subkronis meningkat dari pemberian dosis tunggal (uji toksisitas akut) menjadi tipe uji pemberian dosis berganda. Oleh karena itu, ditemui 2 faktor praktis yang membatasi rancangan penelitiannya dan tipe efek toksik yang digunakan yaitu :

(1) Ketersediaan jalur pemberiannya terbatas karena jalur yang akan digunakan harus sesuai, supaya pemberian senyawa berulang-ulang tidak menimbulkan efek berbahaya dalam diri hewan uji, dan

(2) Uji toksisitas yang terencana dengan baik melibatkan penggunaan spesies hewan yang cuplikan darah dan air seninya dapat diperoleh pada interval tertentu untuk pemeriksaan kimia klinik tanpa menimbulkan bahaya yang signifikan terhadap hewan ujinya (Loomis, 1978).

Tolak ukur diperlukan untuk mengetahui tingkat keparahan pengaruh toksik suatu senyawa pada tubuh. Pada dasarnya dikenal dua jenis tolok ukur, yaitu:

(1) Tolok ukur kualitatif mencakup mekanisme aksi toksik, wujud dan sifat efek toksik serta gejala-gejala klinis yang nampak pada penderita.

(2) Tolok ukur kuantitatif pada dasarnya adalah kekerabatan antara kondisi pemejanan dan wujud pengaruh efek toksik suatu senyawa (Donatus, 1990).

2. Toksikologi Organ Sasaran

a. Otak

Menurut Mutschler (1991) titik pandang sejarah perkembangan otak dalam penampang median dibedakan menjadi bagian-bagian yaitu *telensefalon* (otak besar, otak akhir), *diensefalon* (otak antara), *mesensefalon* (otak tengah), *rombensefalon* (otak belakang) dengan *cerebellum* (otak kecil), *pons* (jembatan) dan *medula oblongata* (sumsum lanjutan). Endotelium dalam otak tidak dapat ditembus oleh zat berberat molekul menengah (BM 40.000; diameter: 5-6 nm), karena susunan sel ini sangat rapat. Tetapi zat-zat yang sangat larut dalam lipid dan fraksi non ion suatu zat kimia lebih mudah melintasi *sawar* darah-otak (Lu, 1995).

b. Paru-paru

Paru-paru merupakan organ yang elastis, berbentuk kerucut, dan letaknya di dalam rongga dada atau toraks. Kedua paru-paru saling terpisah oleh mediastinum sentral yang berisi jantung dan beberapa pembuluh darah besar. Setiap paru-paru mempunyai apeks (bagian atas paru-paru) dan basis. Pembuluh darah paru-paru dan bronkial, saraf dan pembuluh limfe memasuki tiap paru-paru pada bagian hilus dan membentuk akar paru-paru (Price and Wilson, 1995).

Paru-paru merupakan alat tubuh yang sering mengalami kelainan patologik. Selain kelainan yang primer mengenai paru-paru, kelainan sistemik atau alat tubuh lain dapat pula menimbulkan perubahan pada paru-paru (Rukmono, *et al.*, 1998). Gas-gas toksik dapat diserap dari berbagai bagian saluran nafas termasuk nasofaring. Tempat utama penyerapan adalah alveoli, dan mekanisme penyerapan utamanya terutama alveoli (Lu, 1995).

c. Hati

Hati adalah kelenjar terberat dalam tubuh, konsistensinya lunak dan terletak dibawah diafragma dalam rongga abdomen atas. Hari menerima bahan yang diserap dari usus kecuali lemak, yang sebagian besar diangkut oleh sistem limfatik. Darah portal membawa berbagai bahan toksik kedalam hati yang kemudian didetoksikasi atau diekskresikan oleh hati (Leeson dkk, 1996).

Hati terus menerus menghasilkan empedu, cairan yang akhirnya diekskresikan kedalam duodenum melalui duktus *biliaris komunis*. Empedu disekresi ke dalam jalinan kanalikuli biliaris antar sel dalam lempeng-lempeng sel dan mengalir ke luar kemudian masuk ke dalam duktus biliaris di tepian darah portal. Empedu membantu pencernaan dengan mengemulsikan lemak dari makanan dan mereduksinya menjadi *micelle* yang mudah diserap oleh epitel usus (Bloom&Fawcett, 2002).

d. Jantung

Jantung adalah bagian sistem vaskular yang berotot dan berkontraksi secara ritmik untuk memberikan daya gerak bagi sirkulasi darah. Dinding jantung terdiri atas tiga lapisan, endokard, miokard, dan epikard, yang homolog dengan tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia pembuluh darah (Bloom&Fawcett, 2002). Jantung merupakan suatu organ yang vital dalam tubuh, organ ini dapat

dirusak oleh berbagai jenis zat kimia. Zat itu bekerja secara langsung pada otot jantung atau secara tak langsung melalui susuna saraf atau pembuluh darah (Lu, 1995).

e. Lambung

Lambung merupakan tempat penyerapan yang penting, terutama untuk asam-asam lemah yang akan berada dalam bentuk non ion yang larut dalam lipid dan mudah berdifusi (Lu, 1995). Fungsi motorik lambung ada tiga: (1) menyimpan makanan dalam jumlah besar sampai makanan tersebut dapat ditampung pada bagian bawah saluran pencernaan, (2) mencampur makanan tersebut dengan sekret lambung sampai ia membentuk suatu campuran setengah padat yang dinamakan *kimus*, dan (3) mengeluarkan makanan secara perlahan-lahan dari lambung masuk ke usus halus dengan kecepatan yang sesuai untuk pencernaan dan absorpsi oleh usus halus (Guyton and Hall, 1995).

f. Limpa

Limpa adalah organ yang terdapat diantara fundus lambung dan diafragma, di kuadran kiri atas rongga perut. Bentuknya agak memanjang dan tidak teratur. Ia dibungkus peritoneum dan berhubungan dengan lambung, diafragma, dan ginjal kiri oleh lipatan peritoneum yang disebut ligamen gastrolineal, frenikolineal, dan lienorenal. Limpa berfungsi sebagai penyaring rumit dalam peredaran untuk membersihkan darah dari zat renik dan sel-sel darah tua (Bloom&Fawcett, 2002). Parenkim limpa (pulpa limpa) terdiri atas 2 jenisnya:

1. *Pulpa putih* merupakan jaringan limfatik yang mengelilingi dan mengikuti arteri. Pada tempat-tempat tertentu ia menebal membentuk masa yang lonjong, yaitu *nodulus limpa* atau *korpus Malpighi*.
2. *Pulpa merah* lebih banyak dan sering membentuk lempeng-lempeng, *korda splenika* ("*pulp cord*") dan berbaur dengan eritrosit yang banyak.

Struktur limpa dan hubungan antara pulpa merah dan pulpa putih tergantung susunan dan penyebaran pembuluh darah (Leeson dkk, 1996).

g. Usus halus

Usus halus mulai dari ujung pilorus, tempat ia bersatu dengan lambung, dan berakhir pada batas ileosekal, tempat ia bersatu dengan usus besar. Ia terbagi menjadi tiga bagian: (1) Duodenum, secara relatif melekat pada dinding abdomen

bagian posterior, (2) Yeyenum, panjangnya dua per lima sisa usus halus, dan (3) Ileum, yaitu tiga perlima sisanya. Yeyenum dan ileum tergantung pada dinding abdomen bagian posterior oleh mesentrium. Usus halus berfungsi mengangkut bahan makanan (chyme) dari lambung ke usus besar, menyelesaikan pencernaan dengan sekret enzim yang berasal dari dinding dan kelenjar pelengkapnya, menyerap hasil akhir pencernaan ke dalam pembuluh darah dan limfe pada dindingnya, dan mensekresikan hormon-hormon tertentu (Leeson dkk, 1996). Dinding usus halus terdiri atas empat lapis konsentris: mukosa, submukosa, muskularis, dan serosa (Bloom&Fawcett, 2002).

h. Ginjal

Fungsi ginjal adalah membuang bahan sisa (terutama senyawa nitrogen seperti urea, asam urat dan kreatinin, yang dihasilkan dari metabolisme makanan oleh tubuh), bahan asing dan sisanya. Ginjal juga mengatur keseimbangan air dan elektrolit berupa ekskresi kelebihan air dan elektrolit juga mempertahankan keseimbangan asam basa, suatu proses osmoregulasi. Selain itu ginjal mensekresikan renin, yang turut dalam pengaturan tekanan darah dan kadar ion natrium dan eritropoetin, yang bertalian dengan produksi eritrosit oleh sumsum tulang (Leeson dkk, 1996).

3. Bahan Uji

Suplemen makanan merupakan produk yang terletak antara obat dan makanan. Setidak-tidaknya ada dua ciri suplemen makanan. Pertama, suplemen makanan bukanlah obat, sekalipun dia dikemas dalam bentuk sediaan obat seperti tablet, kapsul, dan sebagainya. Kedua, suplemen makanan mempunyai manfaat kesehatan, karena itu suplemen makanan dapat mencantumkan klaim kesehatan pada labelnya. Kedua ciri tersebut memberikan pengertian suplemen makanan menjadi sangat luas, karena itu diperlukan batasan untuk lebih memperjelas pengertian suplemen makanan (Anonim, 2003a).

Komposisi Extra Joss®

Setiap sachet Extra Joss® (4 gram) mengandung :

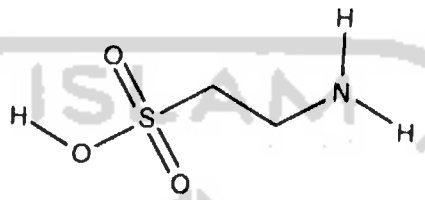
Taurine	:	1000 mg
Inositol	:	50 mg

Ginseng	:	20 mg
Vitamin B2 Sodium Phosphate	:	5,2 mg
Vitamin B3	:	20 mg
Vitamin B6	:	5 mg
1,3,7-trimethylxanthine	:	50 mg

Royal Jelly, Aspartame, Sodium bicarbonate, dan Citric acid

(Anonim, 2005a).

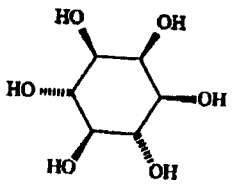
1. Taurin



Gambar 1. Struktur taurin (Anonim, 2005b)

Taurin adalah suatu asam amino semi-essential dan kurang dikenal daripada yang lain seperti glutamin. Namun, taurin memiliki peranan yang penting dan ditemukan dalam otot jantung, leukosit, sistem syaraf pusat, dan sebagian di dalam otot. Taurin berperan di dalam metabolisme, dan penting bagi bayi yang baru dilahirkan karena belum dapat membentuknya. Pada orang dewasa dapat membentuk taurin, namun pada saat kekurangan maka diperlukan suatu suplemen. Taurin dapat membangun blok dari semua asam amino yang lain, yang berfungsi di otak dan di jantung untuk membantu menstabilkan selaput sel. Kekurangan taurin dapat menyebabkan permasalahan pertumbuhan seperti keterlambatan pertumbuhan, dan kemerosotan retinal. L-Taurin digunakan untuk kondisi-kondisi seperti *seizure disorders*, penyakit jantung, epilepsi, sakit karena banyak minum, *cystic fibrosis*, dan *alzheimers* (Anonim, 2004b).

2. Inositol



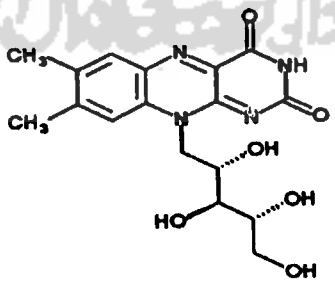
Gambar 2. Struktur inositol (Anonim, 2003c)

Inositol termasuk salah satu vitamin B-Kompleks dan erat hubungannya dengan vitamin B6, kolin, biotin, asam pantotenat, PABA, dan asam folik. Inositol merupakan komponen dari fosfolipid di dalam jaringan binatang dan asam fitik di dalam sel tumbuhan. Inositol, seperti kolin, membantu pengeluaran lemak dari hati. Inositol dikonversi ke glukosa oleh jaringan usus di dalam usus besar. Inositol merupakan komponen penting di dalam memacu produksi dari lecithin. Inositol banyak disimpan di dalam hati, *spinal cord nerves*, dan di otak serta cairan *cerebro spinal*. Efek yang Lipotropik, membantu dalam metabolisme lemak. Inositol dan kolin mempunyai suatu efek *antiatherogenic* dan *antiarteriosclerotic* Kekurangan inositol dapat menyebabkan resiko timbulnya penyakit diabetes, stress yang berat, kadar protein tinggi atau diet kalori yang rendah, eksim, sembelit, kelainan mata, rambut rontok, dan kadar kolesterol dalam darah tinggi (Anonim, 2003c).

3. Ginseng

Ginseng tersedia dalam beribu-ribu formulasi yang meliputi kebanyakan dari herbal. Banyak digunakan untuk meningkatkan energi dan vitalitas sehari-hari (Anonim, 2002b).Ginseng telah membuktikan dapat mengatur kecepatan metabolisme basal dan meningkatkan penguraian dan metabolisme dari makanan. Peningkatan metabolisme dapat meningkatkan tingkat energi dan mengeluarkan sampah dari tubuh. Sebagai tambahan, ginseng dapat mengurangi stress pada sistem tubuh secara keseluruhan dan mempunyai suatu efek positif pada jantung dan sistem saraf pusat (Anonim, 2002a).

4. Vitamin B2 natrium fosfat (Riboflavin, Laktoflavin)

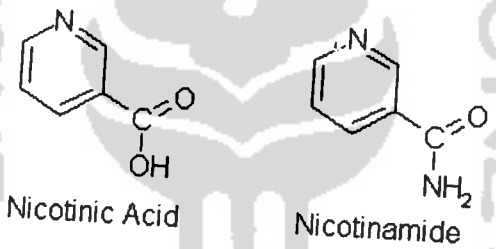


Gambar 3. Struktur riboflavin (Anonim, 2005b).

Vitamin B2 yang berwarna kuning ini hampir terdapat dalam semua sel hewan dan tanaman. Sebagian kebutuhan manusia akan vitamin B2 akan

disintesis oleh bakteri usus. Vitamin B2 setelah diabsorpsi dari usus halus akan difosforilasi menjadi 2 koenzim, pertama riboflavin-5-fosfat (Flavin Mono Nukleotida) di dalam mukosa usus, lalu dalam hati menjadi Flavin Adenin Dinukleotida (FAD). Kedua metabolit ini juga disebut flavoprotein, yang sebagai koenzim memegang peranan esensial pada sintesa dari antioksidansia faal, antara lain dari glutation. Beberapa diantaranya mengandung logam, misalnya mangan dalam xantinoksidase. Juga penting bagi pemeliharaan kesehatan kulit (bibir), mata, otot dan tulang. Bila pemasukan kalori meningkat, maka kebutuhan akan vitamin B2 juga naik. Gejala defisiensinya berupa nyeri tenggorokan dan *stomatitis*, dan pada fase lanjut timbul dermatitis muka/radang ujung bibir (*cheilosis*) dan radang lidah (*glossitis*) (Tjay dan Rahardja, 2002; Mutschler, 1991).

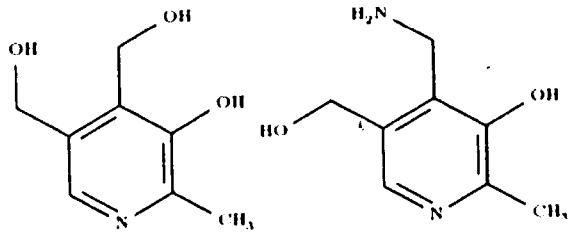
5. Vitamin B3 (Niasinamida)



Gambar 4. Struktur vitamin B3 (Anonim, 2005b).

Vitamin B3 diperlukan untuk pengubahan triptofan menjadi serotonin. Kekurangan vitamin B3 menimbulkan kelebihan triptofan di otak dengan gejala perubahan suasana jiwa dan perilaku. Vitamin B3 juga merupakan komponen (bersama logam krom) dari GTF (*Glucose Tolerance Factor*), yang esensial bagi kerja baik insulin. Gejala defisiensinya berupa gangguan kulit (*dermatitis*), dan dementia dengan kelainan perilaku (Tjay dan Rahardja, 2002). Gejala toksik dan efek samping kelebihan vitamin B3 adalah *flushing* (kemerahan sementara pada muka dan leher), *nausea* (mual), *vomiting* (muntah), sakit kepala, kadar gula dalam darah tinggi, kadar asam urat tinggi, ruam kulit, peningkatan asam lambung, insomnia, nyeri tulang, defisiensi kalsium (Anonim, 2006c).

6. Vitamin B6 (Adermin, Piridoksin)



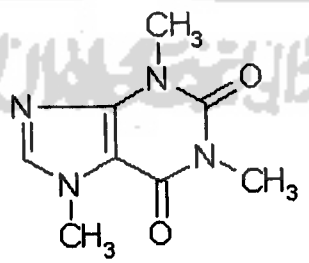
Pyridoxine *Pyridoxamine*

Gambar 5. Struktur vitamin B6 (Anonim, 2005b).

Yang dimaksud dengan vitamin B6 adalah zat piridoksol, piridoksal dan piridoksamin yang oleh tubuh akan dinilai sama. Vitamin B6 terdapat dalam seluruh sel hidup, terdapat banyak terutama dalam ragi, padi-padian, sayuran hijau, hati, ginjal, otak, kuning telur dan susu. Senyawa yang sesungguhnya berkhasiat adalah piridoksal-5-fosfat yang merupakan koenzim transaminase dan dekarboksilase asam amino yang sangat diperlukan pada metabolisme asam amino. Defisiensi vitamin B6 pada manusia jarang terjadi. Kebutuhan harian antara 1-2 mg (Mutschler, 1991).

Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan, batas maksimum penggunaan vitamin B6 setiap hari adalah 100 mg (Anonim, 2004a). Kelebihan kadar vitamin B6 dalam tubuh mengakibatkan mati rasa pada tangan dan atau kaki, depresi, insomnia, defisiensi kalsium dan migrain (Anonim, 2006c).

7. Kafein (1,3,7-trimethylxanthine)



Gambar 6. Struktur kafein (Anonim, 2005b).

Kafein merupakan bahan berkhasiat yang terdapat di dalam kopi yang telah dikenal luas oleh masyarakat karena mampu meningkatkan konsentrasi dan kewaspadaan, mengatasi kantuk, dan meningkatkan kecepatan reaksi (Anonim,

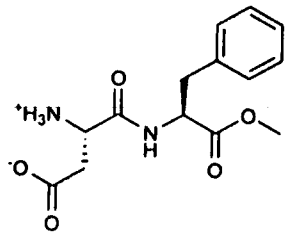
2005a). Penggunaan kafein berdasarkan Badan Pengawasan Obat dan Makanan dibatasi 150 mg setiap hari dengan dibagi minimal 3 dosis (Anonim, 2004a).

Penelitian membuktikan bahwa kafein berefek stimulasi, yang merupakan daya tarik minuman yang mengandung kafein. Orang yang minum kafein merasakan tidak mengantuk, tidak begitu lelah, dan daya pikirnya lebih cepat dan lebih jernih; tetapi kemampuannya berkurang dalam pekerjaan yang memerlukan koordinasi otot halus (kerapihan), ketepatan waktu atau ketepatan berhitung. Efek di atas timbul pada pemberian kafein 85-250 mg. Pemberian kafein sebesar 4-8 mg/kgBB pada orang sehat ataupun orang yang gemuk akan menyebabkan peningkatan kadar asam lemak bebas dalam plasma dan juga meninggikan metabolisme basal. Masih belum jelas benar apakah perubahan metabolisme ini berkaitan dengan peningkatan pelepasan ataupun efek katekolamin (Sunaryo, 1995).

8. Royal Jelly

Royal jelly berisi sejumlah protein luar biasa, lipid, *glucides*, vitamin, hormon, enzim, unsur mineral, dan faktor penting spesifik yang berlaku sebagai biokatalisis dalam proses regenerasi sel di dalam tubuh. Walaupun beberapa unsur-unsur ditemukan di dalam royal jelly adalah dalam jumlah mikrogram, mereka dapat bertindak cepat dengan koenzim sebagai katalisator atau dapat bertindak secara sinergis. Royal jelly kaya akan protein, vitamin B1, B2, B6, C, E, niasin, asam pantotenat, biotin, inositol dan asam folik. Studi menandakan adanya efektivitas dari royal jelly sebagai berikut : untuk kelelahan dan terlalu banyak bekerja, *anxiety states*, kesulitan untuk tidur, anorexia, asma bronkial, radang hati, *pancreatitis,* radang sendi, encok, *atherosclerosis,* penyakit ginjal, merangsang dan memperbaharui sistem saraf, meningkatkan kemampuan seksual, untuk mempercepat penyembuhan tulang patah (Anonim, 2005b). Royal jelly mungkin juga mempunyai aktivitas *hypolipidemic,* antibakteri, anti-inflamasi dan *antiproliferative* (Anonim, 2005c).

9. Aspartam



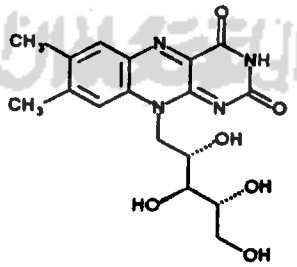
Gambar 7. Struktur aspartam (Anonim, 2005b).

Aspartam adalah dipeptida dari 2 asam amino, yaitu asam asparaginat dan ester-metil dari fenilalanin, yang kadarnya 200 kali lebih manis dari sukrosa. Tidak berasa pahit, tetapi terurai pada pemanasan di atas 180^0C. Dalam usus, zat ini dihidrolisa menjadi metanol, asam asparaginat dan fenilalanin, yang semuanya diserap ke dalam darah. Efek sampingnya pada dosis tinggi dapat berupa reaksi alergi, nyeri kepala dan serangan epilepsi. Kontra indikasi pada anak-anak dan ibu hamil dengan *fenilketonuria* karena dapat menyebabkan neurotoksisitas di otak (Tjay dan Rahardja, 2002).

10. Natrium bikarbonat

Natrium bikarbonat bersifat alkalis dengan efek antasidum. Efek sampingnya pada penggunaan berlebihan adalah terjadinya alkalosis, dengan gejala berupa sakit kepala, perasaan haus sekali, mual, dan muntah-muntah. Natrium bikarbonat dapat mengakibatkan pelonjakan produksi asam secara reflektoris sebagai *efek rebound* (Tjay dan Rahardja, 2002).

11. Asam sitrat



Gambar 8. Struktur asam sitrat (Anonim, 2005b).

Minuman yang mengandung asam sitrat, bisa menurunkan dan mencegah kekambuhan batu ginjal kalsium idiopatik. Pencegahan penyakit ini perlu, sebab jenis ini ditemukan pada sekitar 80 persen penderita batu ginjal. Namun, upaya pencegahan dan pengobatan penyakit ini dilakukan dengan cara membatasi

konsumsi garam atau makanan asin, memberi masukan kalsium yang cukup, dan mengonsumsi protein rendah fosfat (Tutut, 2003).

B. Keterangan Empiris

Keterangan empiris yang diharapkan pada penelitian ini adalah untuk mendapatkan data toksisitas suplemen makanan Extra Joss® pada tikus jantan dan pengaruhnya terhadap perubahan histopatologi sel otak, paru-paru, hati, jantung, lambung, limpa, usus, dan ginjal.

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. Bahan uji.

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan suplemen makanan Extra Joss® yang diproduksi oleh P.T. Bintang Toedjoe, Jakarta.

b. Hewan uji.

Hewan uji yang digunakan adalah 32 ekor tikus putih jantan galur Wistar umur 2 – 3 bulan, bobot badan 150 – 260 gram yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP), UGM, Jogjakarta.

c. Bahan lainnya

1) Formalin 10% untuk fiksasi organ
2) HE untuk pewarnaan preparat
3) Alkohol untuk pencucian selama proses pembuatan preparat histopatologi
4) Parafin untuk pemendaman
5) Putih telur untuk perekatan dalam proses pemotongan
6) Xilol atau toluol sebagai agen deserasi
7) Aquadest teknik untuk pelarut
8) Balsam kanada untuk merekatkan preparat dalam tahap penyelesaian

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan tikus, timbangan analitik, kertas timbang, spuit injeksi, jarum oral, seperangkat alat gelas (labu takar, gelas beker, gelas ukur, pipet), *eppendorf*, seperangkat alat bedah (gunting bedah, pinset), kertas saring, pot untuk organ, dan seperangkat alat untuk pemeriksaan histopatologi organ.

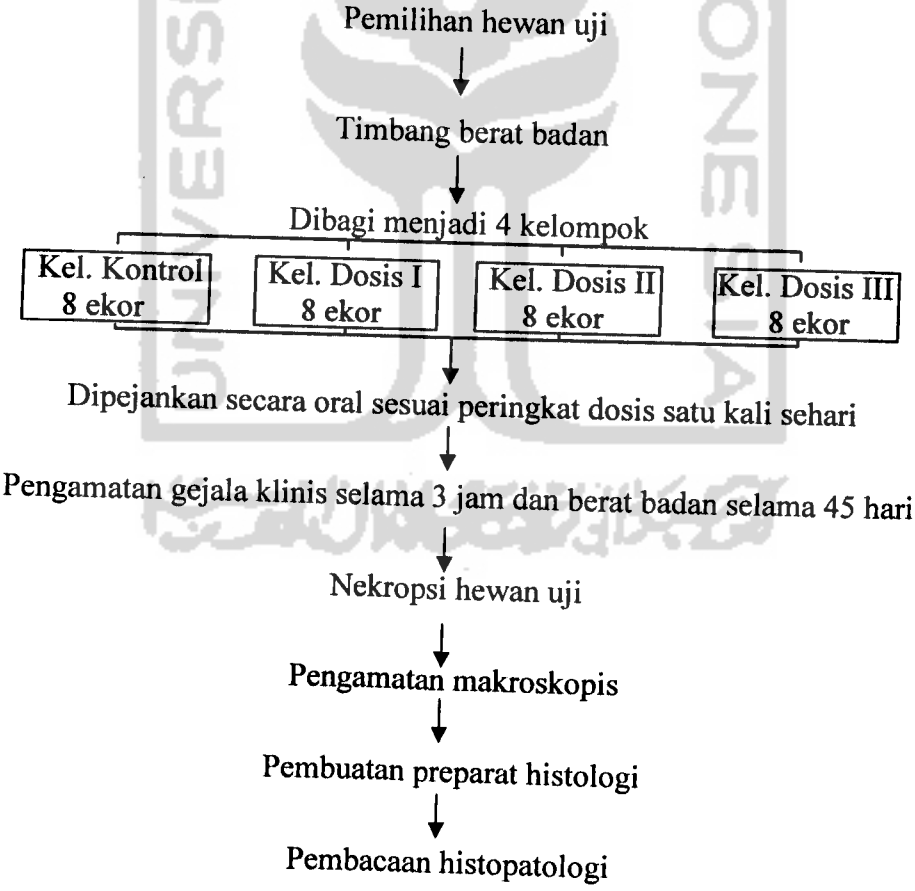
B. Cara Penelitian

1. Pengelompokkan hewan uji

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih jantan, galur wistar, umur 2-3 bulan, bobot badan 150 – 260 gram dan sehat. Tiga puluh dua tikus dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 8 ekor tikus dengan pengelompokkan sebagai berikut :

a. Kelompok I : Kelompok kontrol negatif, diberi aquadest 12,5 ml/kgBB.
b. Kelompok II : Kelompok dosis terendah, diberi larutan sediaan uji dengan dosis hasil orientasi.
c. Kelompok III : Diberi larutan sediaan uji dengan dosis hasil orientasi.
d. Kelompok IV : Kelompok dosis tertinggi, diberi larutan sediaan uji dengan dosis hasil orientasi.

Berikut adalah skematika penelitian ini:



Gambar 9. Skematika penelitian

2. Pembuatan sediaan uji

Sediaan uji dibuat dengan cara mencampurkan serbuk suplemen makanan Extra Joss® dengan aquadest teknis dengan volume tertentu dan dibiarkan melarut.

3. Cara pemejanan dan penetapan dosis

Dosis pemberian ditentukan pertama kali berdasakan orientasi, yaitu dengan pemberian dosis terendah yang merupakan hasil konversi dari dosis terapi yang biasa digunakan oleh manusia dan bila tidak ada hewan uji yang mati serta tidak timbul gejala toksik maka percobaan pendahuluan dilakukan pada dosis tertinggi yang secara teknis masih dapat diberikan dan tidak melebihi volume maksimal yang masih dapat diberikan pada hewan uji.

Sediaan uji diberikan kepada hewan uji secara oral dengan volume pemberian sesuai dengan dosis yang telah ditetapkan berdasarkan hasil orientasi dikali berat badan hewan uji saat itu dibagi stock larutan zat uji, kekerapan pemberian hanya sekali sehari selama masa uji yaitu 45 hari. Sebelum perlakuan, hewan uji dipuasakan dahulu selama 18-24 jam, dan tetap diberi minum (*ad libitum*).

4. Pengamatan hewan uji meliputi:

a. Pengamatan gejala klinik (aktivitas gerak, kejang, muntah, refleks kornea, refleks badan dan perilaku), diamati selama 3 jam setelah setiap pemberian zat uji.

b. Penimbangan berat badan tikus setiap 1 hari sekali selama masa uji dan dilakukan sebelum pemejanan zat uji.

c. Pada akhir masa uji yaitu hari ke-45, hewan uji pada masing-masing kelompok dikorbankan untuk diambil organnya dan dibuat preparat histopatologi guna pemeriksaan histopatologi.

Tabel I. Pengamatan gejala toksik (Paget, 1970).

Pengamatan		Gejala/perilaku
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap
		Vokalisasi
		Gelisah
	Gerakan	Kedutan
		Tremor
		Ataksia
		Katatonia
		Paralisis
		Konvulsi
		Keterpaksaan gerak
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan
		Kepasifan
		Anestesia
		Hiperestesia
	Refleks serebral dan spinal	Lemah
		Tidak ada
	Tonus otot	Kekakuan
		Kelembekan
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis
		Midriasis
	Sekresi	Salivasi
		Lakrimasi
Pernafasan	Sifat dan laju nafas	Bradipnea
		Dispnea
Sifat dan Laju Nafas	Palpitasi daerah kardiak	Bradikardia
		Aritmia
		Denyut kuat/lemah
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare
		Sembelit
		Flatulen
		Kontraksi
	Konsistensi tinja	Tidak berbentuk (unformed)
		Warna hitam
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak
	Penis	Prolap
	Daerah perineal	Kotor
Kulit dan Bulu	Kulit	Kelembekan
		Kemerahan
		Pelepuhan
		Piloereksi
Membran Mukosa	Membran mukosa	Kongesti
		Perdarahan
		Sianosis
Mata	Kelopak mata	Kekuningan
		Ptosis
Lain-lain	Kondisi umum	Berat badan
		Tidak makan
		Kematian

5. Pemeriksaan histopatologi

Hewan uji dikorbankan secara dislokasi, kemudian dinekropsi untuk diambil otak, paru-paru, hati, jantung, lambung, limpa, usus, dan ginjal. Dicuci dengan aquadest, ditimbang dan difiksasi dengan formalin 10%, kemudian dikirim ke Balai Penyelidikan Penyakit Hewan Wilayah IV, Wates, Jogjakarta untuk dibuat preparat histopatologi. Pemeriksaan preparat histopatologi dilakukan oleh seorang patologis (drh. Retno Murwanti, M.P.). Berikut sistematika pembuatan preparat histopatologi:

Pengambilan organ
(pengambilan organ dari hewan uji segera setelah didislokasi)

↓

Fiksasi
(menggunakan formalin 10%)

↓

Pemendaman
(Jaringan diinfiltrasi dengan zat pemendam)

↓

Pemotongan
(menggunakan mikrotom, tebal irisan 3 dan 10 μm)

↓

Pemulasan
(Irisan jaringan dicelupkan ke dalam sederetan alkohol dengan konsentrasi yang makin menurun kemudian dipulas dengan hematoksin dan eosin)

↓

Penyelesaian
(Irisan jaringan diberi balsam kanada dan sajian ditutup dengan kaca tutup dan dibiarkan mengering)

↓

Pembacaan preparat oleh histolog
(Preparat dibaca oleh histolog, dan hasilnya diinterpretasikan)

(Leeson dkk, 1996).

Gambar 10. Skematika pembuatan preparat histopatologi

C. Analisis Hasil

Analisis hasil yang dilakukan antara lain:

1. Data gejala-gejala toksik yang nampak, secara kualitatif digunakan untuk mengevaluasi wujud efek toksik yang timbul.
2. Data hasil pemeriksaan histopatologi digunakan untuk mengevaluasi spektrum efek toksik.
3. Data perkembangan berat badan dan bobot organ dianalisis secara kuantitatif dengan uji statistik, yaitu uji ANAVA satu jalan dan dilanjutkan dengan uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95%.
4. Analisis kualitatif dilakukan pada gejala klinis yang dibandingkan dengan kontrol dan histopatologi yang dibandingkan dengan organ hewan uji normal.

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji toksisitas secara umum digunakan untuk mengevaluasi dan menggolongkan segala efek senyawa apabila senyawa itu diberikan kepada hewan uji secara berulang-ulang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gejala toksik berupa perubahan berat badan dan gejala klinis pada tikus jantan yang mungkin timbul akibat pemejanan larutan Extra Joss®, dan untuk mengamati apakah ada suatu perubahan secara histopatologi pada delapan organ penting, yaitu otak, paru-paru, hati, jantung, lambung, limpa, usus, dan ginjal apabila hewan uji tersebut terpapar Extra Joss® secara berulang dalam waktu yang lama. Penelitian ini dilakukan selama 45 hari dan setiap harinya hewan uji diberi perlakuan seperti yang telah dijabarkan pada bab III (cara pemejanan dan pengamatan).

A. Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar sebanyak 8 ekor per kelompok, dan dalam penelitian ini hewan uji dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, dosis I, dosis II dan dosis III. Pembagiannya dilakukan secara acak dengan tujuan untuk menghindari subjektifitas peneliti terhadap tikus dalam pemilihan sebagai hewan uji. Dipakainya tikus sebagai hewan uji adalah karena memiliki banyak data toksikologi.

B. Penyiapan Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah suatu sediaan serbuk efervescent yang berfungsi sebagai suplemen makanan yang diproduksi oleh PT. Bintang Toedjoe dan memiliki nama dagang (*brand name*) Extra Joss®. Sediaan ini dibuat menjadi larutan uji dengan melarutkannya ke dalam *aquadest* teknis dengan volume tertentu sesuai dengan dosis yang telah ditentukan untuk masing-masing kelompok perlakuan. Sifat fisik sediaan serbuk effervescent Extra Joss® sangat higroskopis. Oleh karena itu, pada setiap pembuatan stock larutan uji, satu sachet Extra Joss® dituangkan langsung kedalam gelas bekker berisi *aquadest*

dengan volume tertentu dan langsung diaduk agar cepat larut. Pembuatan stock larutan uji dilakukan sesaat sebelum perlakuan terhadap hewan uji, hal ini dilakukan untuk menjaga kualitas larutan stock tersebut.

C. Penetapan Dosis

Salah satu tujuan uji toksisitas ini adalah suatu upaya untuk memaparkan bentuk efek toksik sekurang-kurangnya pada kelompok dosis tertinggi. Atas dasar tersebut, maka dalam penelitian ini zat uji yang diberikan pada hewan uji terbagi atas tiga peringkat dosis, yaitu dosis 1 atau dosis terendah, peringkat dosis menengah atau dosis 2, dan peringkat dosis tertinggi atau dosis 3 serta satu kelompok hewan uji diberikan *aquadest* sebagai kontrol negatif.

Dari orientasi didapat hasil batas kelarutan untuk Extra Joss® adalah 4 gram dalam 9 ml *aquadest* atau 0,444 g/ml, dan digunakan sebagai stok larutan uji. Dosis pertama yang diberikan pada hewan uji adalah sebesar 1,152 g/kgBB. Dosis ini diperoleh dari hasil konversi dosis maksimal terapi untuk manusia yaitu 12 gram per hari terhadap hewan uji tikus dengan berat badan 200 gram. Karena zat uji yang digunakan adalah suatu sediaan jadi, bukan ekstrak dari suatu tanaman, maka untuk memperoleh dosis ketiga ditemui dua faktor yang praktis membatasi rancangan eksperimen. Faktor tersebut adalah batas kelarutan Extra Joss® dan kapasitas lambung hewan uji untuk menampung volume maksimal larutan uji yang dipejankan, maka diperoleh dosis 5,556 g/kgBB sebagai dosis ketiga. Sedangkan dosis kedua merupakan nilai tengah antara dosis pertama dengan dosis ke tiga dengan interval yang sama, dan diperoleh nilai 2,897 g/kgBB. Kelompok kontrol negatif diberikan *aquadest* dengan dosis 12,5 ml/kgBB. Dosis ini didapat berdasarkan pembatasan volume maksimal pemberian larutan pada hewan uji.

D. Pengamatan Gejala Toksik

Pengamatan gejala toksik pada penelitian ini dilakukan setiap hari selama 3 jam setelah hewan uji mengalami perlakuan, dilakukan selama 3 jam karena dalam waktu tersebut diperkirakan zat uji telah mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan bahkan ekskresi. Sebagai contoh, kafein diabsorpsi

secara sempurna dalam sistem pencernaan dalam waktu 30-60 menit dan maksimum efek yang terjadi di otak muncul dalam 2 jam (Nurachman, 2004). Hasil dari pengamatan ini digunakan sebagai data kualitatif yang berfungsi untuk memperkirakan mekanisme efek toksik. Pengamatan terhadap timbulnya gejala klinis dilakukan berdasarkan perubahan yang terjadi pada hewan uji baik itu perubahan secara fisik maupun secara psikis yang bisa teramati dan sebagai pedomannya digunakan kriteria menurut Paget (1970). Hewan uji yang sekiranya memenuhi kriteria tersebut dicatat sesuai dengan kelompoknya masing-masing. Hasil pengamatan gejala toksik dapat dilihat pada tabel II :

Tabel II. Hasil pengamatan gejala toksik pada hewan uji setelah perlakuan selama 45 hari

Pengamatan		Gejala	Kelompok			
			Kontrol	Dosis I	Dosis II	Dosis III
SSP dan Somatomotor	Kereaktifan Terhadap Rangsang	Keberangasan	-	✓	✓	-
		Kepasifan	-	-	-	-
	Reflek serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-
		Sembelit	-	-	-	-
	Konsistensi tinja	Tidak berbentuk	✓	✓	✓	✓
		Warna hitam	-	-	-	-
Genitourinasi	Penis	Prolap	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Kulit	Kemerahan	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-
Membran Mukosa	Membran Mukosa	Perdarahan	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-
Lain-lain	Kondisi Umum	Tidak makan	-	-	-	-
		Kematian	-	-	-	-

Ket: - tidak mengalami gejala klinis
✓ mengalami gejala klinis

Dari tabel II dapat diketahui bahwa keberangasan terjadi pada kelompok dosis 1 dan 2, gejala ini timbul mungkin dikarenakan pengaruh dari zat yang terkandung dari Extra Joss® terutama kafein dimana efek farmakologinya sebagai perangsang sistem saraf pusat, jantung dan pernafasan. Efek lain kafein adalah

mengendurkan otot halus dan merangsang diuresis. Di otak, kafein menghalangi reseptor adenosin. Seperti diketahui bahwa adenosin jika terikat ke reseptor sel saraf berefek menurunkan aktivitas sel saraf. Akibat kemiripan molekul kafein dengan struktur adenosin, kafein dapat berikatan pada reseptor tetapi tidak memberi efek penurunan aktivitas sel saraf. Taurin juga memiliki aksi positif terhadap kontraksi otot, khususnya otot jantung, melalui pengaturan kadar ion kalsium dalam sel. Kerja taurin sangat tidak spesifik. Taurin bekerja pada protein saluran-saluran ion, seperti saluran kalsium dan natrium, dan juga pada protein transporter (Nurachman, 2004). Konsistensi tinja yang lembek / diare pada semua kelompok mungkin disebabkan oleh bakteri yang terdapat pada air minum (tidak dimasak) dan atau pakan yang tidak bersih serta sanitasi yang kurang baik.

E. Kondisi Umum

Selain gejala klinis, untuk mempelajari kemungkinan mekanisme efek toksik akibat pemberian suatu senyawa perlu dilakukan pengamatan terhadap kondisi umum hewan uji dan dalam penelitian ini yang diamati adalah berat badan. Untuk memperoleh data perubahan berat badan, hewan uji ditimbang sebelum diberi pakan dan sebelum pemejanan zat uji yang dilakukan setiap hari selama masa uji yaitu 45 hari.

Penimbangan berat badan yang dijadikan sebagai data adalah berat badan sebelum diberi pakan. Hal ini terkait dengan hasil dari penimbangan tersebut berguna untuk perhitungan volume pemberian zat uji saat itu, yang memang pemejanannya sebelum diberi pakan untuk menghindari kemungkinan adanya interaksi antara zat uji dengan pakan.

Data yang diperoleh kemudian dianalisa dengan uji Kolmogorof-Smirnof untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Apabila terdistribusi normal maka dilanjutkan ke uji Anava dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil dari uji satu jalan ini (lampiran 10) menunjukkan bahwa perubahan berat badan setiap kelompok tidak berbeda signifikan karena nilai signifikasinya lebih dari 0,05 yaitu sebesar 0,728. Ini berarti perubahan berat badan antara sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan selama 45 hari tidak begitu signifikan. Selain itu, diperkuat juga dengan hasil uji Tukey yang menyatakan tidak ada

perubahan yang signifikan, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel III yang menyajikan signifikasi perubahan berat badan antar kelompok dari hasil uji Tukey dengan taraf 95%.

Tabel III. Hasil uji Tukey taraf kepercayaan 95% perubahan berat badan hewan uji selama 45 hari perlakuan.

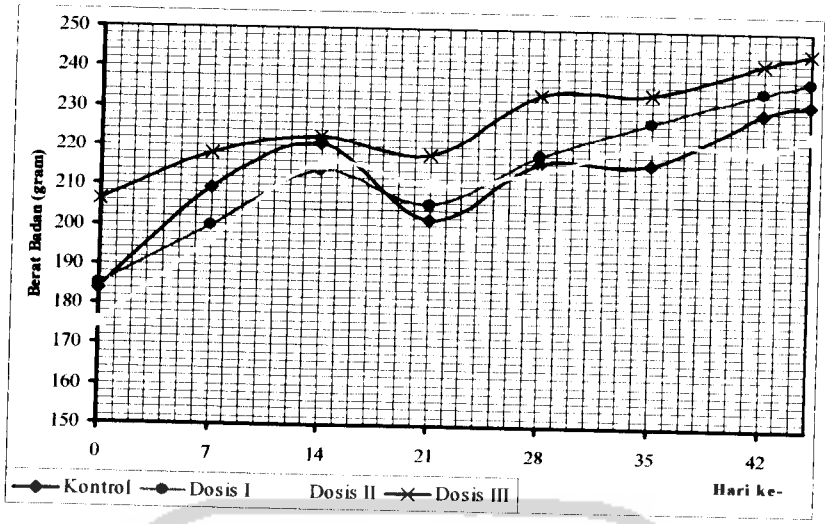
Kelompok	Dosis	Signifikasi	Keterangan
Kontrol Negatif	Dosis I	0,751	Tb
	Dosis II	1,000	Tb
	Dosis III	0,982	Tb
Dosis I	Dosis II	0,760	Tb
	Dosis III	0,922	Tb
Dosis II	Dosis III	0,984	Tb

Keterangan: Tb : Tidak bermakna
Kontrol : Aquadest 12,5 ml/kgBB
Dosis 1 : larutan uji 1,152 g/kgBB
Dosis 2 : larutan uji 2,897 g/kgBB
Dosis 3 : larutan uji 5,556 g/kgBB

Berikut adalah tabel berat badan hewan uji (gram) selama 45 hari perlakuan (tabel IV) dan grafik perkembangan berat badan hewan uji selama masa uji yaitu hari ke 0 – hari ke 45 (gambar 11):

Tabel IV. Berat badan hewan uji (gram) selama 45 hari perlakuan.

Hari ke-	n	Berat badan tikus jantan (gram) (Mean ± SE)			
		Kelompok			
		Kontrol	Dosis I	Dosis II	Dosis III
0	8	183,750 ± 6,461	185,000 ± 7,258	175,625 ± 6,369	206,250 ± 8,543
7	8	209,375 ± 6,083	200,000 ± 4,818	196,250 ± 8,438	218,125 ± 7,067
14	8	220,625 ± 6,299	213,750 ± 5,650	215,625 ± 8,152	222,500 ± 7,380
21	8	201,875 ± 3,889	205,625 ± 6,508	210,625 ± 6,299	218,250 ± 10,464
28	8	216,250 ± 4,304	218,200 ± 6,925	213,750 ± 4,701	233,525 ± 9,282
35	8	216,250 ± 6,250	226,875 ± 8,180	221,250 ± 5,650	234,088 ± 10,168
42	8	229,375 ± 5,503	234,763 ± 8,252	219,750 ± 5,747	242,150 ± 9,952
45	8	231,663 ± 6,412	237,375 ± 8,527	223,700 ± 6,339	244,563 ± 10,585



Gambar 11. Grafik perkembangan berat badan hewan uji selama 45 hari perlakuan

Untuk memudahkan interpretasinya, maka tabel IV dibuat grafik. Dari garfik diatas dapat dilihat bahwa berat badan hewan uji semua kelompok mengalami masa turun-naik dalam waktu yang hampir bersamaan. Hal ini menyiratkan bahwa dalam pemberian pakan, semua kelompok mendapat bagian yang sama. Dari hari ke 0 sampai hari ke 45 berat badan hewan uji kelompok dosis III memang lebih besar dari pada kelompok yang lainnya. Kenyataan ini menjadi suatu "*warning*" bagi peneliti agar dalam interpretasi antara berat organ dan hasil histologi, fakta diatas menjadi sesuatu yang dipertimbangkan sehingga interpretasinya akurat. Selain pemberian pakan, kemungkinan lain yang menyebabkan kenaikan berat badan hewan uji adalah karena Extra Joss® mengandung aspartam, yang mana menurut penelitian, aspartam dapat meningkatkan kebutuhan tubuh akan karbohidrat (Harder, 2002). Selain itu, hewan uji masih berada pada tahap pertumbuhan sehingga belum mempunyai bobot badan stabil atau masih mengalami kenaikan berat badan.

F. Spektrum Efek Toksik

Pemeriksaan histopatologi merupakan pengamatan secara kualitatif terhadap organ-organ dalam hewan uji untuk melihat apakah terjadi kerusakan tingkat seluler ataukah tidak terjadi kerusakan setelah mengalami perlakuan. Pemeriksaan ini berguna untuk memperkirakan spektrum efek toksik sediaan Extra Joss®.

Setelah 45 hari perlakuan, semua hewan uji yang telah didislokasi leher dibedah dan diambil organ yang merupakan organ vital yaitu otak, paru-paru, hati, jantung, lambung, limpa, usus, dan ginjal untuk dibuat preparat histopatologi. Organ-organ tersebut kemudian dicuci dengan aquades agar semua pengotor termasuk darah hilang, sehingga tidak mempengaruhi berat organ pada waktu penimbangan, setelah itu dikeringkan dengan memakai tissue dan ditimbang.

Setiap organ difikasasi dengan formalin 10% di dalam pot yang telah diberi label sesuai dengan nomor tikus dan kelompoknya. Tujuan utama fiksasi adalah untuk mengawetkan protoplasma agar terpelihara keadaannya mirip dengan keadaan semasa hidup. Cairan fiksasi berperan sebagai pengawet, mencegah autolisis dan perkembangan bakteri. Biasanya cairan fiksasi menggumpalkan protoplasma, menjadikannya tidak larut, dan mengeraskan jaringan sehingga mempermudah proses pengirisan organ untuk dijadikan preparat.

Penimbangan organ penting dilakukan sebab data perbandingan berat organ antar kelompok dapat dijadikan sebagai data pendukung terhadap hasil histopatologi. Sebagai contoh, apabila hasil histopatologi organ ternyata mengalami udem dan pada data berat organnya juga lebih besar, maka dapat disimpulkan bahwa lebih besarnya berat organ tersebut memang dikarenakan mengalami udem bukan semata-mata karena perbedaan individual. Selain itu, bisa juga dijadikan sebagai tolak ukur apakah perbedaan berat organ setiap kelompok sesuai dengan peringkat dosis ataukah tidak sesuai.

Data berat semua organ setiap kelompok kemudian dianalisa menggunakan uji kolmogorof-Smirnof. Apabila terbukti datanya terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji Anava satu jalan. Selain uji Anava dilakukan pula uji Tukey yang berguna untuk melihat perbandingan signifikasi antar kelompok. Perbedaan yang signifikan ditandai dengan tanda bintang Berikut ini adalah tabel V yang menyajikan rata-rata bobot organ hewan uji setelah mengalami perlakuan selama 45 hari dan signifikasi bobot organ semua kelompok dipaparkan pada tabel VI.

Tabel V. Bobot rata-rata (gram) ± SE organ hewan uji setelah 45 hari perlakuan.

No	Organ	Kontrol Negatif	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	Otak	1,767 ± 0,045	1,867 ± 0,082	1,841 ± 0,042	1,938 ± 0,022
2	Paru-paru	1,534 ± 0,068	1,630 ± 0,116	1,572 ± 0,115	2,097 ± 0,196
3	Hati	6,619 ± 0,245	7,499 ± 0,392	7,113 ± 0,255	8,595 ± 0,416
4	Jantung	0,744 ± 0,024	0,788 ± 0,018	0,742 ± 0,027	0,825 ± 0,032
5	Lambung	1,133 ± 0,055	1,232 ± 0,071	1,264 ± 0,059	1,609 ± 0,096
6	Limpa	0,519 ± 0,034	0,659 ± 0,022	0,533 ± 0,042	0,588 ± 0,037
7	Usus	0,203 ± 0,012	0,239 ± 0,022	0,229 ± 0,009	0,207 ± 0,017
8	Ginjal	1,501 ± 0,059	1,620 ± 0,110	1,609 ± 0,073	2,024 ± 0,089

Keterangan : Kontrol : Aquadest 12,5 ml/kgBB
Dosis 1 : larutan uji 1,152 g/kgBB
Dosis 2 : larutan uji 2,897 g/kgBB
Dosis 3 : larutan uji 5,556 g/kgBB

Dari tabel V dapat dilihat bahwa bobot rata-rata organ dosis III, kecuali limpa dan usus, semuanya lebih besar dari pada kelompok yang lainnya. Perbedaan yang mencolok terjadi pada organ paru-paru, hati, lambung dan ginjal. Namun, nampaknya perbedaan bobot organ tidak menunjukan adanya keterkaitan dengan peringkat dosis, itu bisa dilihat bahwa bobot rata-rata organ dosis I, kecuali lambung, lebih besar dari pada bobot rata-rata organ dosis II. Ada beberapa perkiraan yang menjadi penyebab fakta di atas, diantaranya yaitu: pertama karena hewan uji dosis III bobotnya lebih besar diantara semua kelompok dan bobot hewan uji dosis I lebih besar dari hewan uji dosis II, kedua karena adanya variasi bobot organ pada setiap individu.

Tabel VI. Hasil uji Tukey taraf kepercayaan 95% bobot organ hewan uji setelah perlakuan.

Kelompok	Dosis	Organ							
		Otak	Paru	Hati	Jantung	Lambung	Limpa	Usus	Ginjal
Kontrol	Dosis I	0,546	0,955	0,272	0,632	0,766	0,038*	0,385	0,755
	Dosis II	0,753	0,997	0,728	1,000	0,577	0,993	0,673	0,806
	Dosis III	0,120	0,027*	0,001*	0,145	0,000*	0,500	0,997	0,001*
Dosis I	Dosis II	0,986	0,989	0,849	0,596	0,989	0,069	0,961	1,000
	Dosis III	0,768	0,083	0,121	0,745	0,005*	0,485	0,498	0,011*
Dosis II	Dosis III	0,563	0,042*	0,021*	0,130	0,011*	0,668	0,787	0,009*

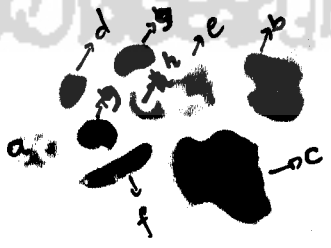
Keterangan : kontrol : Aquadest 12,5 ml/kgBB
Dosis 1 : larutan uji 1,152 g/kgBB
Dosis 2 : larutan uji 2,897 g/kgBB
Dosis 3 : larutan uji 5,556 g/kgBB
(*) : Terjadi perubahan bermakna

Tabel VI memperkuat keterangan data dari tabel V, dapat dilihat bahwa memang benar organ paru, hati, lambung, ginjal kelompok dosis III berbeda signifikan dengan kelompok lainnya karena nilai signifikasi dari bobot organ-organ tersebut kurang dari 0,05.

Pengamatan makroskopik dilakukan sebelum pengamatan mikroskopik (secara histopatologi). Hal ini bertujuan untuk melihat apakah terjadi perubahan pada organ yang dapat diamati secara kasat mata sebelum dibuat preparat. Hasil pengamatan berguna sebagai data pendukung hasil histopatologi. Berikut adalah contoh hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji pada gambar 12 dan 13 serta tabel VII yang menyajikan data hasil pengamatan makroskopik:



Gambar 12. Contoh hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji (1) setelah mengalami perlakuan selama 45 hari
a. Hati b. Jantung c. Lambung d. Limpa e. Usus



Gambar 13. Contoh hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji (2) setelah mengalami perlakuan selama 45 hari
a. Otak b. Paru-paru c. Hati d. Jantung e. Lambung f. Limpa g. Ginjal h. Usus

Tabel VII. Hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji setelah mengalami perlakuan selama 45 hari.

No	Kelompok	Organ							
		Otak	Paru	Hati	Jantung	Lambung	Limpa	Usus	Ginjal
1	K1	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
2	K2	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
3	K3	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
4	K4	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
5	K5	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
6	K6	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
7	K7	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
8	K8	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
9	DI-1	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
10	DI-2	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
11	DI-3	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
12	DI-4	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
13	DI-5	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
14	DI-6	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
15	DI-7	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
16	DI-8	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
17	DII-1	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
18	DII-2	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
19	DII-3	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
20	DII-4	Normal	Normal	**Lembek**	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
21	DII-5	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
22	DII-6	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
23	DII-7	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
24	DII-8	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
25	DIII-1	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
26	DIII-2	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
27	DIII-3	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
28	DIII-4	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
29	DIII-5	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
30	DIII-6	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
31	DIII-7	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
32	DIII-8	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

Keterangan : kontrol : Aquadest 12,5 ml/kgBB
Dosis 1 : larutan uji 1,152 g/kgBB
Dosis 2 : larutan uji 2,897 g/kgBB
Dosis 3 : larutan uji 5,556 g/kgBB

Dari tabel VII dapat dilihat bahwa organ hewan uji yang secara makroskopik mengalami kelainan adalah organ hati pada dosis II no 4 berupa organ lebih lembek dari pada yang lainnya dan secara histopatologi organ ini mengalami degenerasi melemak.

Untuk sampai pada suatu bentuk preparat, organ-organ yang akan diamati secara seluler harus mengalami beberapa tahap diantaranya yaitu: (1) pengambilan bahan, (2) fiksasi, dalam penelitian ini digunakan formalin, (3) pemendaman, bertujuan untuk membuat jaringan menjadi kejur sehingga dapat dipotong menjadi irisan-irisan tipis, (4) pemotongan, jaringan yang telah dipendam dalam parafin dapat diiris sangat tipis menggunakan mikrotom, tebal irisan antara 3 dan 10 μm, (5) pemulasan, tujuannya untuk meningkatkan kontras alami dan untuk lebih memperjelas berbagai unsur sel dan jaringan dan bahan eksentris, (6) penyelesaian, kelebihan zat warna dihilangkan menggunakan air atau alkohol, kemudian dipindahkan pada kaca preparat yang telah diberi balsam kanada dan dibiarkan mengering. Hasil histopatologi organ dapat dilihat pada tabel VIII.

Pada umumnya pewarna yang dipakai adalah bahan kimia organik yang memiliki manfaat berbeda berkenaan dengan unsur jaringan dan sel. Pewarna yang biasanya dipakai bersifat asam atau basa. Pewarna atau zat pemulas yang digunakan adalah hematoksilin (H) yang bersifat basa dan eosin (E) yang bersifat asam. Hematoksilin merupakan pewarna inti yang paling umum, dimana sifat memulasnya tergantung pada adanya hasil oksidasinya dalam larutan, yaitu hematein. Bila dipulas dengan hematoksilin inti-inti tampak biru. Kombinasi hematoksin dan eosin merupakan kombinasi yang paling umum, yang memulas setiap struktur inti menjadi ungu tua atau biru dan hampir semua struktur sitoplasma dan substansi interseluler menjadi merah muda (Leeson dkk, 1996).

Tabel VIII. Hasil pemeriksaan histopatologi organ hewan uji setelah 45 hari perlakuan.

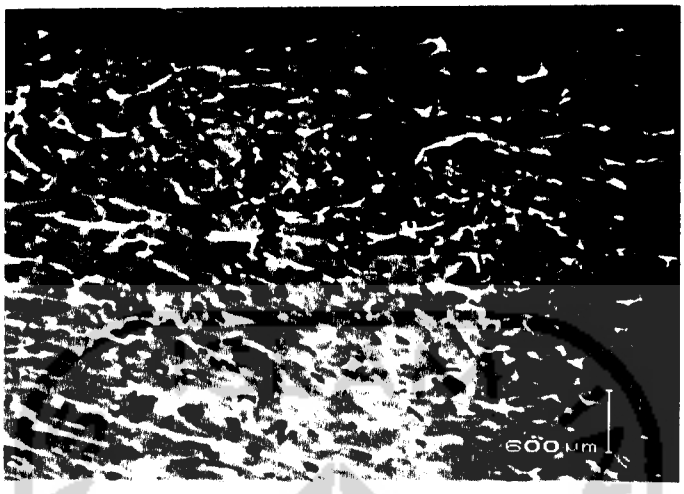
No	Kode	Organ							
		Paru	Jantung	Hati	Ginjal	Lien	Lambung	Usus	Otak
1.	K1	t.a.p	t.a.p	K,H	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
2.	K2	t.a.p	t.a.p	K,R	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
3.	K3	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
4.	K4	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	N	t.a.p
5.	K5	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	E	t.a.p
6.	K6	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	E,R	t.a.p
7.	K7	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	E	t.a.p
8.	K8	t.a.p	t.a.p	K,Jl,C	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
9.	DI-1	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
10.	DI-2	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
11.	DI-3	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
12.	DI-4	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
13.	DI-5	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
14.	DI-6	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
15.	DI-7	S,K,Em	t.a.p	K,H,N	t.a.p	t.a.p	t.a.p	N	t.a.p
16.	DI-8	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
17.	DII-1	t.a.p	t.a.p	K,H	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
18.	DII-2	t.a.p	t.a.p	K,R	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
19.	DII-3	t.a.p	t.a.p	K,H	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
20.	DII-4	t.a.p	t.a.p	K,DM	t.a.p	t.a.p	t.a.p	N	t.a.p
21.	DII-5	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	N	t.a.p
22.	DII-6	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
23.	DII-7	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
24.	DII-8	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
25.	D III-1	t.a.p	t.a.p	K,R	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
26.	D III-2	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
27.	D III-3	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
28.	D III-4	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
29.	D III-5	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
30.	D III-6	t.a.p	t.a.p	K	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
31.	D III-7	t.a.p	t.a.p	K,R	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p
32.	D III-8	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	t.a.p	E	t.a.p

Keterangan:

C = Cacing
DM = Degenerasi melemak
E = Erosi epitel
Em = Emfisema
H = Hemoragi
JL = Proliferasi jaringan ikat
K = Kongesti
N = Nekrosis
R = Radang
S = Septa interalveolaris menebal
t.a.p = Tidak ada perubahan

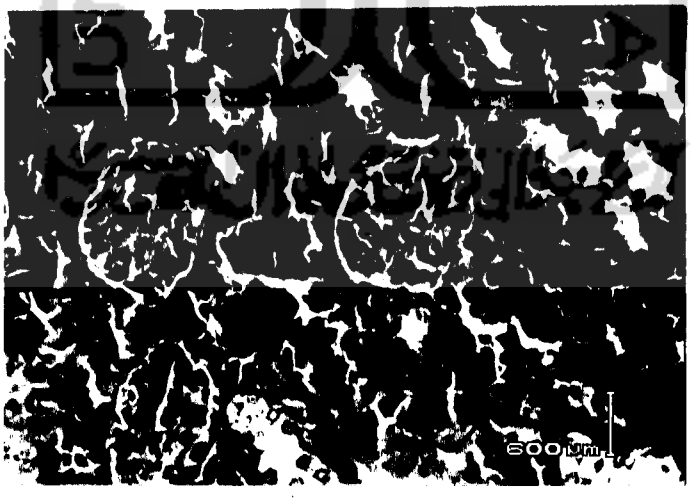
Hasil pemeriksaan histopatologi jantung (gambar 14), ginjal (gambar 15), limpa (gambar 16), lambung (gambar 17) serebrum (gambar 18) dan serebelum (gambar19) tidak ada yang mengalami perubahan tingkat seluler. Ini berarti setelah perlakuan selama 45 hari, zat uji tidak menyebabkan toksisitas pada organ

tersebut. Berikut ini gambar mikroskopik organ-organ yang tidak mengalami perubahan:



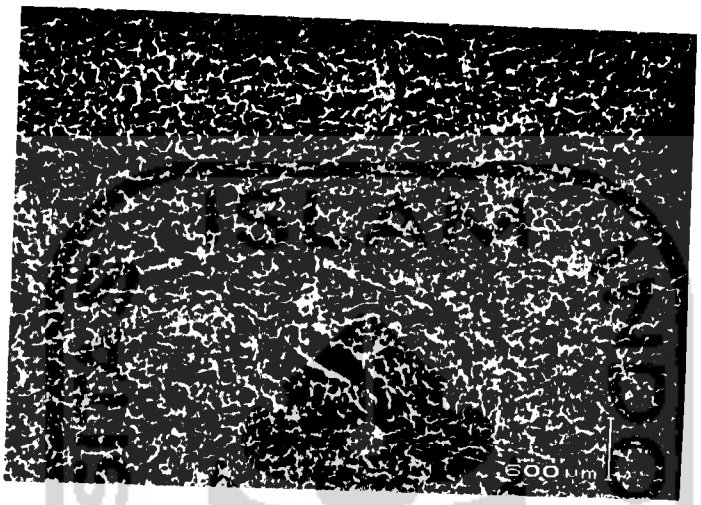
Gambar 14. Gambar mikroskopik jantung normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE.
a. Inti sel b. Serabut otot

Otot jantung memiliki pola bergaris-melintang serupa dengan otot rangka namun serat-seratnya bercabang dan saling berhubungan dengan serat di dekatnya. Sifat unik otot jantung adalah adanya diskus interkalaris yang tersusun melintang pada interval teratur sepanjang serat (Bloom&Fawcett, 2002).



Gambar 15. Gambar mikroskopik ginjal normal dengan perbesaran 40X dengan pengecatan HE.
a. Glomerolus b. Tubulus c. Kapsula Bowman

Kapsula Bowman terletak pada ujung proksimal setiap nefron yang berupa pelebaran berdinding tipis yang melekuk ke dalam membentuk struktur berongga berbentuk mangkuk. Glomerolus terletak di bagian cekung ujung buntu nefron yang merupakan berkas-berkas globular kapiler yang sangat berkelok. Sedangkan tubulus adalah saluran kecil pada ginjal (Bloom&Fawcett, 2002).



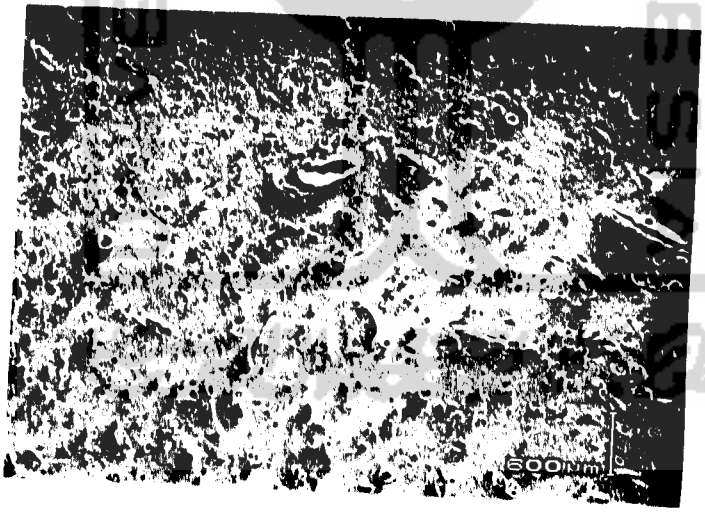
Gambar 16. Gambar mikroskopik limpa normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE.
a. Trabekulae b. Pulpa putih c. Pulpa merah

Parenkim limpa (pulpa limpa) terdiri atas dua jenis yaitu (1) pulpa merah terdiri atas pembuluh darah berbentuk tidak teratur berkaliber besar, yaitu *sinus venosus* dan ruang berisikan sel diantara sinus-sinus yang menyusun *korda limpa* (*korda Billroth*), (2) pulpa putih yang membentuk selubung limfoid periarterial sekitar artei yang keluar dari trabekel dan memasuki parenkim. Pulpa putih lebih terang dari pada pulpa merah. Sedangkan trabekulae adalah simpai berkolagen dengan juluran-juluran kebagian dalam parenkim. Simpai menyatu dengan kerangka retikular halus yang memenuhi bagian dalam organ. Simpai itu menebal pada hilus organ, tempat untuk melekat pada lipatan peritoneum (ligamen) dan masuknya arteri dan saraf, dan keluarnya vena dan pembuluh limfe dari limpa (Bloom&Fawcett, 2002).



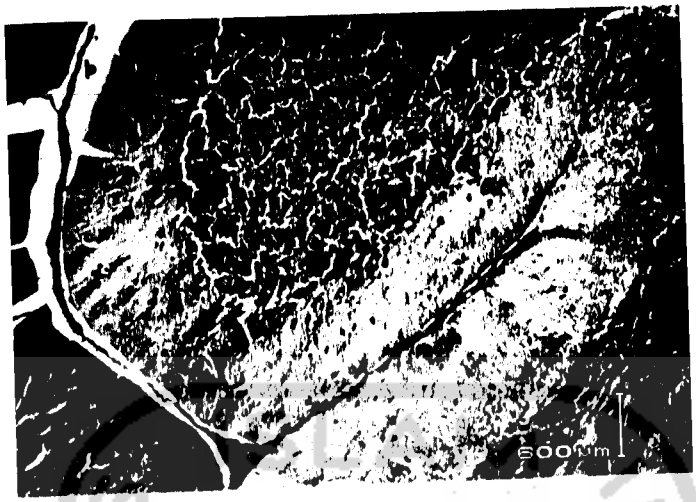
Gambar 17. Gambar mikroskopik lambung normal dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE.
a. Tunika Muskularis sirkular
b. Tunika Submukosa
c. Tunika Mukosa
d. Lumen

Tunika mukosa terdiri atas suatu membran epitel permukaan yang dilapisi mukus, dibawahnya terdapat lapisan penyokong dan suatu lapisan tipis otot polos yaitu muskularis mukosa. Tunika submukosa terdapat diantara jaringan mukosa dan muskularis. Sedangkan lumen adalah rongga atau saluran di dalam organ.



Gambar 18. Gambar mikroskopik otak besar (serebrum) normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE.
a. neuron

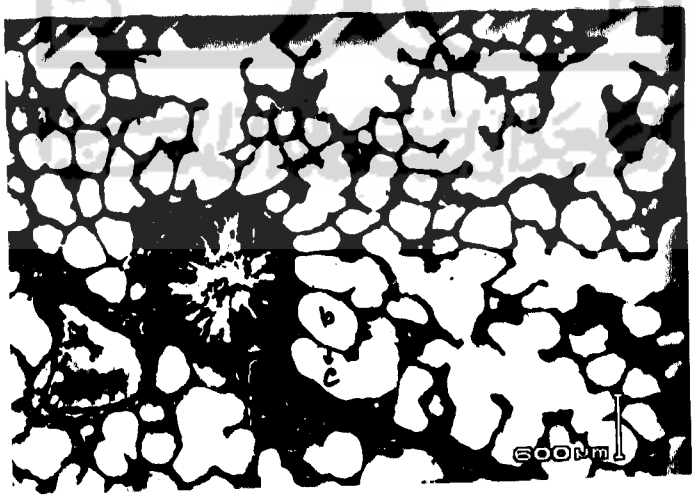
Neuron atau sel-sel saraf umumnya memiliki beberapa cabang sel yang bersama-sama mengandung bagian terbesar sitoplasmanya. Pada hampir semua neuron terdapat dua jenis cabang yaitu dendrit dan akson (Bloom&Fawcett, 2002).



Gambar 19. Gambar mikroskopik otak kecil (serebelum) normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE.
a. Sel purkinye b. Sulcus calcarinus

Sulkus adalah suatu alur, parit, atau galur yang ada di permukaan otak yang memisahkan *gyrus* (lipatan otak). Sedangkan sel purkinye adalah sel yang berfungsi mengoreksi kesalahan motorik (Guyton and Hall, 1997).

Apabila dibandingkan dengan paru normal (gambar 20), organ paru pada kelompok D I no 7 (gambar 21) mengalami perubahan tingkat seluler diantaranya adalah septa interalveolaris menebal, kongesti dan emfisema.



Gambar 20. Gambar mikroskopik paru normal dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE.
a. Bronkiolus b. Alveoli c. Septa interalveolaris d. Pembuluh darah



Gambar 21. Gambar mikroskopik paru hewan uji kelompok DI no 7 dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE.
a. Septa interalveolaris menebal b. Kongesti c. Emfisemaa

Pada irisan melintang organ paru hewan uji kelompok DI no 7 mengalami penebalan septa interalveolaris yang mempengaruhi pernafasan hewan tersebut karena berkurangnya elastisitas septa interalveolaris sehingga difusi udara terganggu. Septa interalveolaris adalah sekat tipis yang memisahkan alveoli paru. Emfisema merupakan penyakit kronis paru-paru yang biasanya disebabkan oleh terpaparnya bahan kimia beracun atau karena terpapar asap rokok atau bisa juga karena hewan uji tidak memiliki kadar antitripsin-α darah normal (Anonim, 2006a). Antitripsin-α adalah suatu enzim regulator yang dibuat di hati dan dilepaskan ke dalam plasma yang bekerja untuk menghambat elastase. Emfisema mempunyai beberapa karakteristik, yaitu elastisitas jaringan paru berkurang, rupture septum, destruksi kapiler, dan collaps selama ekspirasi. Destruktif dalam dinding alveoli berakibat pembesaran ruang-ruang udara distal terhadap bronkiolus terminal, dan tidak efisiennya pertukaran udara (Nazari, 2002). Elastisitas jaringan paru berkurang akibat destruksi serat-serat elastin dan kolagen yang terdapat di seluruh paru. Akibat hilangnya elastisitas jaringan paru dan kolapsnya alveolus, maka ventilasi berkurang. Saluran udara kolaps terutama pada ekspirasi normal terjadi akibat pengempisan (*recoil*) paru secara pasif, maka udara akan terperangkap di dalam paru dan saluran udara kolaps.

Sedangkan kongesti pada jaringan paru merupakan akibat dari pengisian darah pada pembuluh-pembuluh pulmoner sampai titik kongesti (vasodilatasi pembuluh darah) yang disertai transudasi cairan ke dalam ruang alveolar dan interstitial. Biasanya terjadi pada infeksi dan perlukaan tertentu. Luka tersebut kemungkinan besar akibat dari emphysema yang sudah mengalami destruksi kapiler (Nazari, 2002).

Namun kelainan yang terjadi pada hewan uji kelompok DI no 7 diduga bukan karena paparan zat uji, melainkan karena memang hewan tersebut telah sakit sebelumnya atau karena kelainan individual berupa kadar antitripsin-α darahnya tidak normal. Kesimpulan ini diambil karena yang mengalami kelainan hanya satu ekor hewan uji saja sedangkan hewan uji lainnya dalam satu kelompok tidak mengalami kelainan.

Hati mempunyai banyak fungsi yaitu membentuk empedu dari darah, memproses glukosa, hemoglobin, transformasi protein dan lemak, vitamin dan memproduksi enzim, meregulasi kadar zat besi dan temperatur tubuh, kadar kolesterol dan metabolisme lipid, detoksifikasi dan memproduksi substansi yang mencegah infeksi. Gambaran mikroskopik hati dapat dilihat pada gambar 22, 23, 24 dan 25.

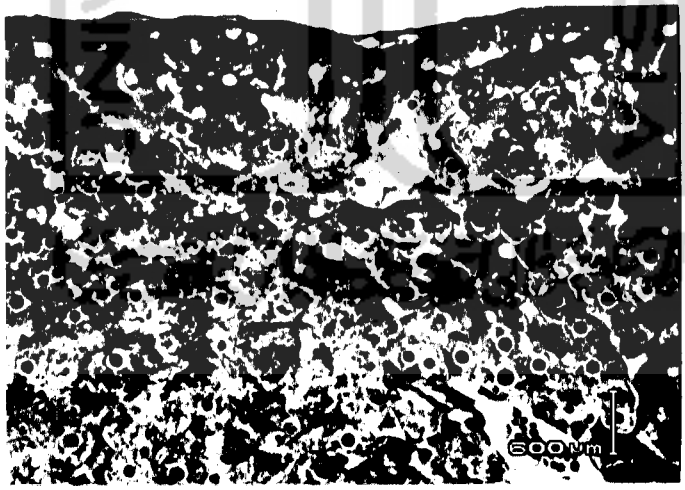


Gambar 22. Gambar mikroskopik hati normal dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE.
a. Sinusoid **b. Vena sentralis**

Sinusoid adalah bentuk saluran darah terminal yang mengandung pembuluh anastomosis besar yang tidak teratur yang dilapisi oleh retikuloendotelial. Aliran darah dari tepi melalui sinusoid di antara lempeng sel hati menuju ke vena sentralis (Leeson dkk, 1996).



Gambar 23. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok kontrol no 2 dengan perbesaran 40 X dengan pengecatan HE.
a. Kongesti b. Inflamasi c. Sinusoid



Gambar 24. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok DII no 4 dengan perbesaran 40 X dengan pengecatan HE.
a. Degenerasi melemak



Gambar 25. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok DII no 4 dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE.
a. Kongesti

Hasil histopatologi hewan uji kelompok DII no 4 menunjukan bahwa hati mengalami degenerasi melemak. Lemak yang terakumulasi dalam hati dapat disebabkan kelebihan mengkonsumsi makanan berlemak atau bisa juga karena transformasi lemak mengalami kegagalan. Degenerasi melemak ditandai dengan tergesernya inti sel hati oleh vakuola lemak.

Kandungan Extra Joss® yang dicurigai menyebabkan hati mengalami degenerasi melemak adalah aspartam melalui mekanisme sebagai berikut: Aspartam diabsorpsi dari usus halus kemudian masuk ke hati melalui *vena porta*, setelah di dalam hati aspartam dimetabolisme menjadi komponen penyusunnya yaitu fenilalanin, asam aspartat dan metanol. Proses ini membutuhkan banyak energi, yang mana berarti energi di dalam sel-sel hati hanya tinggal sedikit sehingga proses metabolisme dan pembakaran lemak dalam tubuh menjadi terhambat (Cabot, 1998). Mekanisme yang paling umum yang menyebabkan penimbunan lipid dalam hati adalah rusaknya pelepasan trigliserid hati ke plasma. Karena trigliserid hati hanya disekresi bila dalam keadaan tergabung dengan lipoprotein, penimbunan lipid hati dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu (1) penghambatan sintesis satuan protein dari lipoprotein, (2) penekanan konjugasi trigliserid dengan lipoprotein, (3) hilangnya kalium dari hepatosit yang mengakibatkan gangguan transfer lipoprotein berdensitas sangat rendah melalui

membran sel, (4) rusaknya oksidasi lipid oleh mitokondria, (5) penghambatan sintesis fosfolipid.

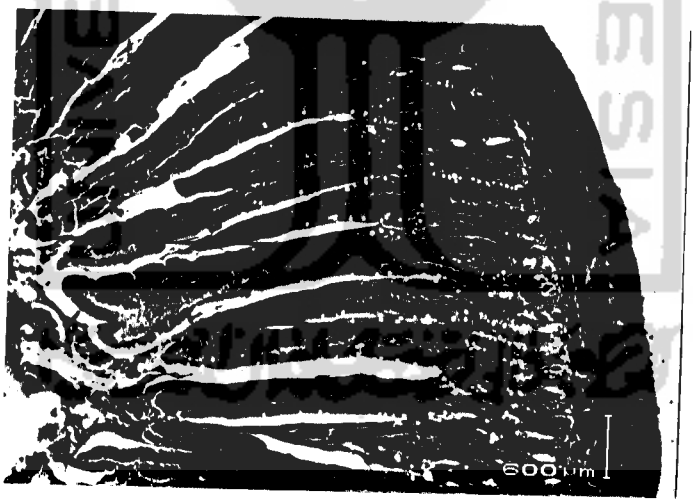
Dalam setiap kelompok, hampir semua hewan uji mangalami kongesti. Kongesti adalah akumulasi darah yang abormal pada suatu bagian, dan apabila terjadi di hati maka terkumpul dalam sinusoid. Kongesti menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah, apabila pembuluh darah tersebut pecah maka akan terjadi perdarahan yang disebut hemoragi. Kongesti bersifat *reversible* (terbalikkan) dan hemoragi bersifat *irreversible* (tak terbalikkan). Kondisi alergi yang parah dapat menyebabkan kongesti liver. Gejala dan tanda yang mengindikasikan *liver* mengalami kongesti adalah insomnia, lemah (*weakness*), lelah (*tiredness*) dan *sluggishness* (Anonim, 2006b).

Dalam hati (*liver*), seperti dalam setiap jaringan kapiler, sel mati (*nekrosis*) menyebabkan reaksi inflamasi yang secara morfologi dimanifestasi oleh penampakan sel inflamasi bersamaan dengan edema dan kongesti di sekeliling sel parenkim yang dalam kasus hati, adalah kerusakan hepatosit atau kerusakan *bile duct* atau kerusakan kapiler darah. Inflamasi ditandai oleh tumor (bengkak), rubor (merah), dolor (nyeri), kalor (panas), tapi klasifikasi secara mikroskopik ditunjukan oleh eksudat inflamasi dengan dapat didokumentasi sitologikal dan perubahan jaringan. Inflamasi dan perbaikkan sering terjadi bersama-sama, dan dalam kondisi tertentu, misalnya luka yang menetap, inflamasi akut dan kronis (Anonim, 2006b).

Dari hasil pemeriksaan histopatologi organ hati dapat disimpulkan bahwa Extra Joss® tidak menyebabkan semua kerusakan yang terjadi pada organ hati. Walaupun ada satu zat dari komposisi Extra Joss® yaitu aspartam yang dicurigai menyebabkan degenerasi melemak, namun hanya satu hewan uji yang mengalami degenerasi melemak, dan apabila dilihat dari segi statistik maka belum bisa dijadikan bukti signifikan bahwa Extra Joss® menyebabkan organ hati mengalami degenerasi melemak.

Pencernaan makanan yang dimulai dalam lambung, dilanjutkan dalam usus halus oleh enzim-enzim yang dihasilkan mukosanya dan dibantu agen pengemulsi dan enzim yang disekresi ke dalam lumennya oleh hati dan pankreas. Efisiensi fungsi penyerapan usus halus ditingkatkan oleh sejumlah perubahan

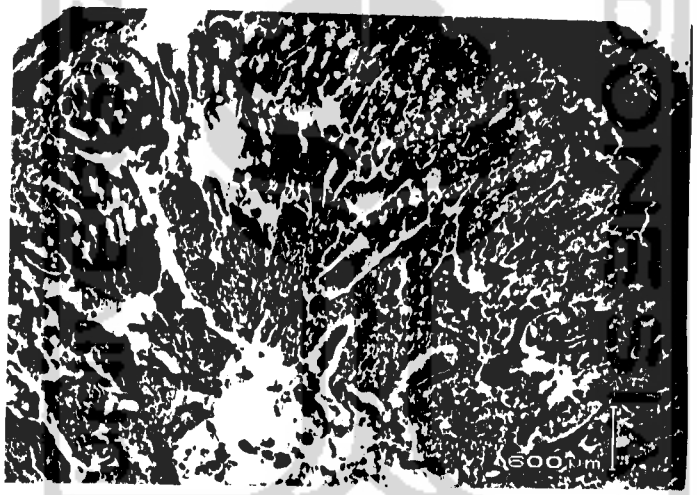
yang meningkatkan permukaan total mukosa. Yang paling mencolok diantaranya adalah *plika sirkularis* (*valvula Kerckring*) yang nampak sebagai lipatan-lipatan setengah lingkaran sampai dua pertiga bagian lingkaran lumen. Yang kedua adalah banyaknya *vili intestinalies* dan yang ketiga adalah melalui invaginasi mukosa diantara basis vili, disebut *kripti Lieberkuhn* atau kelenjar intestinal. Dinding usus halus terdiri atas empat lapis konsentris yaitu mukosa, submukosa, muskularis dan serosa. Permukaan mukosa dilapisi epitel selapis kolumnar dengan tiga jenis sel yaitu sel absortif, sel goblet dan sel enteroendokrin. (Bloom&Fawcett, 2002). Sel-sel silindris pada sel absortif mengabsorpsi gula dan asam amino dari lumen usus. Sel goblet atau yang disebut juga sel mukus tersebar diantara sel-sel silindris dan berfungsi sebagai penghasil mukus (lendir). Sedangkan sel enteroendokrin yang letaknya pada dasar epitel mencurahkan sekret ke dalam lamina propia dan tidak ke dalam lumen usus. Hasil histopatologi menunjukan bahwa usus halus mengalami nekrosis, erosi epitel dan inflamasi. Berikut adalah gambar irisan melintang organ usus:



Gambar 26. Gambar mikroskopik usus halus normal dengan perbesaran 10 X dengan pengecatan HE.
a. Epitel vili b Tunika mukosa c. Vili d. Tunika submukosa
e. Tunika muskularis sirkular f. Tunika Muskularis longitudinal
g. serosa



Gambar 27. Gambar mikroskopik usus halus hewan uji kelompok Kontrol no 4 dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE.
a. Nekrosis

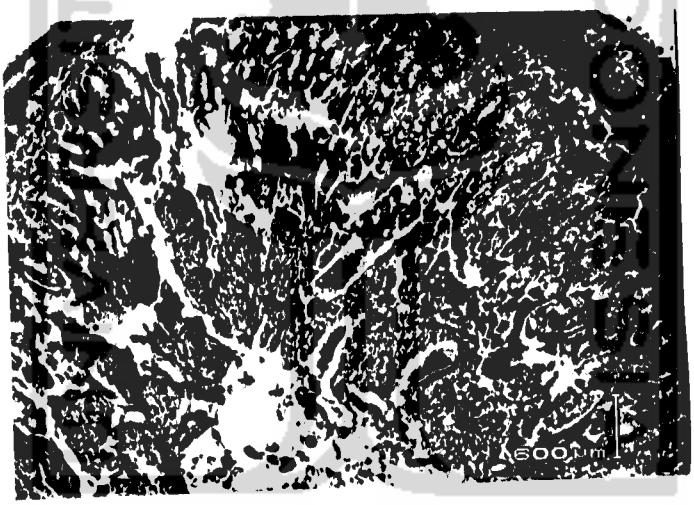


r 28. Gambar mikroskopik usus halus hewan uji kelompok Kontrol no 6 dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE.
a. Erosi epitel b. Radang

da tabel VIII dapat dilihat bahwa kerusakan usus justru banyak terjadi
ıpok kontrol. Sedangkan pada kelompok lainnya yang mendapat
ɔaran zat uji masing-masing hanya satu atau dua hewan uji saja yang
an usus, diantaranya yaitu kelompok DI no 7, DII no 4 dan 5, DII
disimpulkan bahwa nekrosis, erosi epitel dan radang yang terjadi
uji bukan akibat dari paparan zat uji, melainkan karena sebab
ı adalah infeksi dan terpapar zat toksik selain zat uji.



Gambar 27. Gambar mikroskopik usus halus hewan uji kelompok Kontrol no 4 dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE.
a. Nekrosis



Gambar 28. Gambar mikroskopik usus halus hewan uji kelompok Kontrol no 6 dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE.
a. Erosi epitel b. Radang

Pada tabel VIII dapat dilihat bahwa kerusakan usus justru banyak terjadi pada kelompok kontrol. Sedangkan pada kelompok lainnya yang mendapat perlakuan paparan zat uji masing-masing hanya satu atau dua hewan uji saja yang terjadi kerusakan usus, diantaranya yaitu kelompok DI no 7, DII no 4 dan 5, DII no 8. Jadi dapat disimpulkan bahwa nekrosis, erosi epitel dan radang yang terjadi pada usus hewan uji bukan akibat dari paparan zat uji, melainkan karena sebab lainnya diantaranya adalah infeksi dan terpapar zat toksik selain zat uji.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

A. Kesimpulan

1. Pada pemberian berulang sediaan uji suplemen makanan effervescent Extra Joss® dengan dosis 1,152 g/kgBB; 2,898 g/kgBB dan 5,556 g/kgBB yang dipejankan secara oral pada hewan uji selama masa uji 45 hari tidak menimbulkan gejala toksik hewan uji tersebut.
2. Pada pemberian berulang sediaan uji suplemen makanan effervescent Extra Joss® dengan dosis 1,152 g/kgBB; 2,898 g/kgBB dan 5,556 g/kgBB yang dipejankan secara oral pada hewan uji selama masa uji 45 hari tidak mempengaruhi kenaikan berat badan hewan uji tersebut secara signifikan.
3. Pada pemeriksaan secara kualitatif (histopatologi) pemberian berulang sediaan uji suplemen makanan effervescent Extra Joss® dengan dosis 1,152 g/kgBB; 2,898 g/kgBB dan 5,556 g/kgBB yang dipejankan secara oral pada hewan uji tidak terbukti menyebabkan perubahan tingkat seluler pada organ otak, paru-paru, hati, jantung, lambung, limpa, usus, dan ginjal hewan uji tersebut.

B. Saran

1. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut uji toksisitas kronis pada sediaan uji suplemen makanan effervescent Extra Joss®.
2. Penelitian lanjutan berupa uji ketoksikan kronis pada hewan nirroden perlu dilakukan untuk mengetahui kemungkinan efek toksik yang timbul akibat pemberian sediaan suplemen makanan effervescent Extra Joss®.
3. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut berupa survei dan monitoring efek samping suplemen makanan effervescent Extra Joss® dengan manusia sebagai objek ujinya.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan hewan uji

PENGEMBANGAN HEWAN PERCOBAAN MANDIRI (PHPM)
KENTINGAN RT.04 RW.09 SINDUMARTANI NGEMPLAK
SLEMAN JOGJAKARTA
Telp.: 081 578 043 110

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : **Sumarna**

selaku koordinator Pengembangan Hewan Percobaan Mandiri (PHPM) menerangkan bahwa yang digunakan pada penelitian :

Judul : EFEK TOKSIK EKSTRAK JOSS TERHADAP GAMBARAN HEMATOLOGI PADA TIKUS JANTAN

Peneliti : Prasetya Anang Baja, dkk (4 orang)

Institusi : Jurusan Farmasi Fakultas MIPA UII

NIM : 02613011

merupakan hewan uji dengan spesifikasi :

Tikus Galur : Wistar

Umur : 2 - 3 bulan

Keterangan : Sehat

Jenis kelamin : Jantan

Jumlah : 40 ekor

Asal usul hewan : Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Jogjakarta

Yang pengelolaannya telah disesuaikan dengan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebaik baiknya.

Jogjakarta, 21 April 2005
PHPM Koordinator

(**Sumarna**)

Lampiran 2. Perhitungan dosis pemberian dan peringkat dosis masing-masing kelompok hewan uji

Kontrol

Kelompok kontrol diberi aquadest berdasarkan pembatasan volume maksimal pemberian larutan pada hewan uji yaitu sebesar 12,5 ml/kgBB

Dosis I

Dosis I adalah hasil konversi dosis maksimal terapi untuk manusia yaitu 12 gram per hari terhadap hewan uji tikus dengan berat badan 200 gram. Dosis berikutnya merupakan kelipatan tetap dari dosis tersebut.

Perhitungan:

Dosis sampel untuk manusia 50 kg = 12 gram (dosis 1 hari)

Dosis sampel untuk manusia 70 kg = $\frac{70}{50}$ x 12 gram = 16.8 gram

Dosis terapi untuk tikus dengan berat badan rata-rata 200 gram

Yaitu : 0.018 x 16.8 = 0.0324 gram/200 gram

Jadi dosis terapi untuk tikus adalah = 1.512 gram/kgBB (Dosis I)

Dosis III

Dosis III diperoleh berdasarkan kelarutan sediaan *effervescent* Extra Joss®.

Perhitungan:

Stok berdasarkan kelarutan = $\frac{4 \text{ gram}}{9 \text{ ml}}$ = 0.444gram/ml

Dosis III = 0.444 gram/ml x 2.5 ml = 1.111 gram/ml

= 5.556 gram/kgBB

Dosis II

Dosis II diperoleh dari akar Dosis III di bagi Dosis I

Perhitungan:

$$\text{Dosis II} = \sqrt{\frac{\text{DIII}}{\text{DI}}} = \sqrt{\frac{5.556 \text{ gram/kgBB}}{1.512 \text{ gram/kgBB}}} = 2{,}897 \text{ gram/kgBB}$$

Volume Pemberian

$$\text{Volume Pemberian} = \frac{\text{dosis x berat badan}}{\text{stok}}$$

Lampiran 3. Hasil pemeriksaan histopatologi organ hewan uji.

Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik
Fakultas Farmasi
Universitas Gadjah Mada
Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telp. (0274) 902660 Fax (0274) 543120

Nomor :
Lamp : Laporan Hasil Pemeriksaan Histopatologi

Kepada
Yth. Wimarti NIM 026133
Fakultas MIPA jur. Farmasi UII
Yogyakarta

Bersama ini kami sampaikan hasil pemeriksaan histopatologi organ tikus hasil pemeriksaan penelitian dengan judul "Uji Ketoksikan Subkronik Suplemen Effervescent Pada Tikus Jantan".
Hasil pemeriksaan terlampir.

Jogjakarta, 14 Februari 2006

Drh. Retno Murwanti, M.P
NIP. 132 232 744

Lampiran 3. (lanjutan)

Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik
Fakultas Farmasi
Universitas Gadjah Mada
Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telp. (0274) 902660 Fax (0274) 543120

Hasil Pemeriksaan Histopatologi

No	Kode	Organ							
		paru	jantung	hati	ginjal	lien	lambung	usus	otak
1	K1	tap	tap	K,H	tap	tap	tap	tap	tap
2	K2	tap	tap	K,R	tap	tap	tap	tap	tap
3	K3	tap	tap	K	tap	tap	tap	tap	tap
4	K4	tap	tap	K	tap	tap	tap	N	tap
5	K5	tap	tap	K	tap	tap	tap	L	tap
6	K6	tap	tap	K	tap	tap	tap	E,R	tap
7	K7	tap	tap	K	tap	tap	tap	L	tap
8	K8	tap	tap	K,H,C	tap	tap	tap	tap	tap
9	D1-1	tap	tap	K	tap	tap	tap	tap	tap
10	D1-2	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap
11	D1-3	tap	tap	K	tap	tap	tap	tap	tap
12	D1-4	tap	tap	K	tap	tap	tap	tap	tap
13	D1-5	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap
14	D1-6	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap
15	D1-7	S,K,Em	tap	K,H,N	tap	tap	tap	N	tap
16	D1-8	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap
17	D1-7B	S,K,M	tap	K,H,N	tap	tap	tap	R	tap
18	D2-1	tap	tap	K,H	tap	tap	tap	tap	tap
19	D2-2	tap	tap	K,R	tap	tap	tap	tap	tap
20	D2-3	tap	tap	K,H	tap	tap	tap	tap	tap
21	D2-4	tap	tap	K,DM	tap	tap	tap	S	tap
22	D2-5	tap	tap	K	tap	tap	tap	N	tap
23	D2-6	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap
24	D2-7	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap
25	D2-8	tap	tap	K	tap	tap	tap	tap	tap
26	D3-1	tap	tap	K,R	tap	tap	tap	tap	tap
27	D3-2	tap	tap	K	tap	tap	tap	tap	tap
28	D3-3	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap
29	D3-4	tap	tap	K	tap	tap	tap	tap	tap
30	D3-5	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap	tap
31	D3-6	tap	tap	K	tap	tap	tap	tap	tap
32	D3-7	tap	tap	K,R	tap	tap	tap	tap	tap
33	D3-8	tap	tap	tap	tap	tap	tap	E	tap

Keterangan:
K = Kongesti, H = Hemoragi, JI = proliferasi jaringan ikat, R = radang, C = caeing, DM = Degenerasi melemak, S = septa interalveolaris menebal, E = erosi epitel, Em = emfisema, N = nekrosis.

Lampiran 4. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok kontrol

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 4. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 4. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 4. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 4. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)				
			41	42	43	44	45
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	+	-	+
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 5. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis I

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
− = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 5. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 5. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 5. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 5. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)				
			41	42	43	44	45
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 6. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis II

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 6. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 6. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 6. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 6. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)				
			41	42	43	44	45
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	+	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	+
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 7. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis III

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 7. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 7. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 7. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)									
			31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 7. (lanjutan)

Pengamatan		Gejala/perilaku	Hari ke- (+ / -)				
			41	42	43	44	45
SSP dan Somatomotor	Perilaku	Perubahan sikap	-	-	-	-	-
		Vokalisasi	-	-	-	-	-
		Gelisah	-	-	-	-	-
		Sedasi	-	-	-	-	-
	Gerakan	Kedutan	-	-	-	-	-
		Tremor	-	-	-	-	-
		Ataksia	-	-	-	-	-
		Katatonia	-	-	-	-	-
		Paralisis	-	-	-	-	-
		Konvulsi	-	-	-	-	-
		Keterpaksaan gerak	-	-	-	-	-
	Kereaktifan terhadap rangsang	Keberangasan	-	-	-	-	-
		Kepasifan	-	-	-	-	-
		Anestesia	-	-	-	-	-
		Hiperestesia	-	-	-	-	-
	Refleks serebral dan spinal	Lemah	-	-	-	-	-
		Tidak ada	-	-	-	-	-
	Tonus otot	Kekakuan, kelembekan	-	-	-	-	-
Sistem Syaraf Otonom	Ukuran pupil	Miosis, midriasis	-	-	-	-	-
	Sekresi	Salivasi	-	-	-	-	-
		Lakrimasi	-	-	-	-	-
Pernafasan	Lubang hidung	Mengeluarkan kotoran	-	-	-	-	-
	Sifat dan laju nafas	Bradipnea	-	-	-	-	-
		Dispnea	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Cheyne-Stokes*	-	-	-	-	-
		Pernafasan *Kussmaul*	-	-	-	-	-
Kardiovaskular	Palpitasi daerah kardiak	Getaran	-	-	-	-	-
		Bradikardia	-	-	-	-	-
		Aritmia	-	-	-	-	-
		Denyut kuat/lemah	-	-	-	-	-
Saluran Cerna	Peristiwa perut	Diare	-	-	-	-	-
		Konstipasi	-	-	-	-	-
	Bentuk abdomen	Flatulen, kontraksi	-	-	-	-	-
	Konsistensi tinja dan warna	Tidak berbentuk	+	+	-	+	-
		Hitam atau coklat	-	-	-	-	-
Genitourinasi	Vulva, kelenjar mamae	Bengkak	-	-	-	-	-
	Penis	Prolap	-	-	-	-	-
	Daerah perineal	Kotor	-	-	-	-	-
Kulit dan Bulu	Warna, tekanan, keutuhan	Kemerahan	-	-	-	-	-
		Kelembekan	-	-	-	-	-
		Pelepuhan	-	-	-	-	-
		Piloereksi	-	-	-	-	-
Membran Mukosa	Konjungtiva, mulut	Mengeluarkan mukus	-	-	-	-	-
		Kongesti	-	-	-	-	-
		Perdarahan	-	-	-	-	-
		Sianosis	-	-	-	-	-
		Kekuningan	-	-	-	-	-
Mata	Kelopak mata	Ptosis	-	-	-	-	-
	Bola mata	Eksoftalmus, nistagmus	-	-	-	-	-
	Transparansi	Buram	-	-	-	-	-
Lain-lain	Suhu rektum	Subnormal, meningkat	-	-	-	-	-
	Tempat penyuntikan	Bengkak	-	-	-	-	-
	Kondisi umum	Sikap abnormal, kurus	-	-	-	-	-

Keterangan : + = menunjukkan gejala klinis
– = tidak menunjukkan gejala klinis

Lampiran 8. Data berat badan hewan uji selama 45 hari masa uji.

Kelompok	No	Berat Badan Hari Ke-														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Kontrol Aquadest 12,5 ml/kgBB	1	165	165	175	185	190	190	190	195	195	200	190	190	190	195	190
	2	190	185	190	210	200	200	205	205	210	215	210	220	220	230	225
	3	190	190	200	210	215	210	220	225	225	230	225	230	235	235	230
	4	170	170	185	185	190	200	200	210	205	210	200	205	210	210	210
	5	205	220	225	230	230	230	235	235	235	240	225	230	240	235	230
	6	210	210	215	230	230	230	230	225	230	235	225	230	240	245	235
	7	160	165	175	185	190	185	190	195	200	200	200	200	205	205	205
	8	180	185	190	200	200	205	205	205	200	205	200	205	215	210	200
Dosis I Larutan Extra Joss® 1,512 g/kgBB	1	185	190	190	205	200	200	205	210	210	210	210	220	225	220	220
	2	165	165	180	190	180	180	190	195	185	190	195	200	210	205	200
	3	170	170	175	185	180	170	175	175	170	175	175	175	180	185	175
	4	180	175	190	200	190	195	195	195	195	195	200	200	200	205	205
	5	190	195	200	200	200	200	210	210	205	210	215	220	225	230	235
	6	190	195	195	200	200	210	205	210	205	210	210	220	220	220	215
	7	230	230	230	220	220	225	220	225	225	230	225	225	230	235	230
	8	170	165	180	190	185	185	200	200	195	195	200	200	210	210	200
Dosis II Larutan Extra Joss® 2,898 g/kgBB	1	170	175	175	185	190	195	200	200	195	200	200	200	210	220	215
	2	185	190	190	200	200	200	200	205	205	210	210	215	220	230	230
	3	180	180	175	180	175	170	170	175	175	170	175	180	185	200	190
	4	150	150	165	175	185	170	175	180	180	180	175	180	185	195	190
	5	180	195	195	205	210	205	210	205	205	210	210	215	220	230	230
	6	150	160	160	165	170	160	165	165	165	165	155	165	175	175	175
	7	200	205	205	220	220	220	225	225	225	225	225	230	235	235	240
	8	190	195	205	215	220	220	225	225	230	230	230	230	235	240	235
Dosis III Larutan Extra Joss® 5,556 g/kgBB	1	205	210	210	225	210	215	210	210	225	225	225	220	230	215	205
	2	195	190	195	200	190	190	200	195	200	210	225	200	215	205	215
	3	185	195	210	220	220	220	220	225	225	235	230	235	240	235	240
	4	195	190	200	210	200	200	200	200	205	210	200	200	205	200	200
	5	220	215	215	215	215	215	220	215	200	210	200	215	210	205	210
	6	200	200	215	220	225	225	230	225	230	235	230	235	235	240	230
	7	190	200	200	205	200	200	205	205	205	215	205	210	220	220	225
	8	260	255	255	260	255	250	260	265	265	265	255	270	270	260	270

Lampiran 8. (lanjutan)

Kelompok	No	Berat Badan Hari Ke-														
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Kontrol Aquadest 12,5 ml/kgBB	1	180	170	175	185	185	185	185	190	195	225	195	195	195	200	200
	2	220	215	215	225	215	220	220	220	220	200	220	220	225	230	225
	3	210	205	205	210	205	200	200	205	210	175	215	220	220	220	225
	4	200	205	210	210	200	205	200	205	210	205	210	205	210	210	210
	5	220	220	210	215	210	205	210	215	215	230	220	225	230	225	225
	6	230	225	225	215	215	210	220	215	220	180	230	225	230	235	240
	7	200	200	200	205	205	200	200	205	205	195	215	200	210	215	215
	8	195	190	185	190	190	190	190	195	195	195	200	205	210	215	215
Dosis I Larutan Extra Joss® 1,512 g/kgBB	1	215	215	215	225	215	220	225	225	220	225	225	225	235	235	230
	2	200	195	195	200	190	185	200	200	200	210	205	205	200	215	205
	3	170	170	165	180	170	195	175	180	180	250	185	180	190	190	190
	4	195	200	200	200	190	195	200	205	205	195	205	210	215	220	215
	5	225	215	215	215	220	215	220	230	220	215	225	230	230	230	240
	6	215	210	200	210	200	205	210	210	215	225	215	215	215	225	220
	7	235	225	226,9	230	237	240	237,5	243	243,7	241	247,2	244	250,6	251,5	253,6
	8	195	185	185	190	180	190	200	200	190	200	205	205	210	220	215
Dosis II Larutan Extra Joss® 2,898 g/kgBB	1	210	210	210	210	200	205	210	220	210	210	205	215	210	220	215
	2	230	225	225	215	215	205	210	215	205	210	215	220	220	220	220
	3	180	185	185	185	185	195	200	205	200	200	195	200	205	200	205
	4	190	200	200	185	185	220	200	200	195	200	200	205	210	210	210
	5	220	220	220	215	215	220	220	210	205	205	215	220	220	220	220
	6	180	180	180	165	175	180	180	185	175	175	180	185	190	185	195
	7	240	240	235	230	230	235	230	230	230	230	235	240	235	235	235
	8	225	225	225	225	220	225	215	210	205	215	215	220	220	230	225
Dosis III Larutan Extra Joss® 5,556 g/kgBB	1	200	205	205	215	210	200	205	210	215	225	215	220	225	230	225
	2	210	215	200	205	205	235	210	205	205	210	210	215	220	225	215
	3	230	235	235	240	240	235	240	250	250	250	245	245	255	260	250
	4	195	200	190	180	170	170	175	180	180	195	185	200	200	205	200
	5	215	210	198,5	204,5	210	211	211,5	213,7	211,6	209,8	218	220,7	221,6	220,2	222,1
	6	220	225	210	215	200	205	200	210	220	225	220	220	230	235	235
	7	210	210	205	220	215	220	215	220	220	225	220	230	230	230	230
	8	270	265	251	259,7	268	270	267,5	274,4	274,8	273	284,1	284,2	286,6	287,7	292,8

Lampiran 8. (lanjutan)

Kelompok	No	Berat Badan Hari Ke-														
		31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Kontrol Aquadest 12,5 ml/kgBB	1	195	195	200	200	195	195	185	195	184,5	182,3	193	198	193,8	195	197
	2	230	225	235	230	230	230	225	225	218,5	214,5	228	231	231,8	234	234,2
	3	220	230	235	235	230	230	240	240	231	233,5	246	248	246,2	249	252,2
	4	215	210	220	215	215	215	220	220	209,7	208,7	223	226	223,6	225	224,6
	5	230	230	235	235	235	235	235	235	226,7	226,5	239	243	240,2	244	248
	6	230	230	235	240	185	235	240	230	229	224	238	240	243	247	247,8
	7	215	220	225	225	220	225	220	220	213	206,5	218	223	221	226	225
	8	210	215	220	215	220	215	220	220	213	215	221	226	222,1	221	224,5
Dosis I Larutan Extra Joss® 1,512 g/kgBB	1	230	220	225	235	230	235	230	225	227	235,5	236	236	232,6	234	235,1
	2	210	205	210	210	205	210	205	200	208	206,8	211	214	209,6	216	217,9
	3	195	190	195	200	200	200	200	200	197	201	204	206	203	206	203,3
	4	215	220	215	225	225	225	230	220	222,5	228	231	224	226,2	231	229
	5	245	250	250	260	255	265	265	250	262	264	271	272	269,6	271	273
	6	220	215	215	225	225	230	225	230	230,7	232,7	233	240	238,8	244	242,9
	7	255,6	256,5	258,6	254,6	265	268	266	262,4	266,5	268,3	263,5	264,1	260,8	263,2	270
	8	200	195	200	205	210	205	215	200	213,3	212,5	218	222	222,2	244	227,8
Dosis II Larutan Extra Joss® 2,898 g/kgBB	1	215	220	225	225	225	225	230	215	225	225	227	230	238	234,8	234,3
	2	225	225	230	225	230	225	225	225	227,1	223	225	220	236	233,4	231,4
	3	200	205	210	210	210	210	205	200	208,5	205	200	205	205,3	208,7	206
	4	205	210	215	215	215	210	210	210	210	205,5	235	209	211,7	211,7	211
	5	215	215	230	225	225	220	220	220	218,5	221,5	222	225	228,4	230,4	229,4
	6	180	185	190	185	190	190	190	185	186,6	186,5	189	193	188,4	192,3	193,7
	7	235	235	240	235	240	240	240	235	234,1	232,2	237	237	238,5	235,6	239,8
	8	230	225	235	235	235	235	230	230	238	233,5	236	239	240,5	260,8	244
Dosis III Larutan Extra Joss® 5,556 g/kgBB	1	220	220	235	225	220	225	230	220	211,7	218,5	225	223	224,3	227,5	228,1
	2	215	210	220	215	205	215	215	220	208,8	211,5	216	218	216,4	219	220,5
	3	240	240	250	245	250	245	250	240	241,7	240,5	245	253	249,5	253,6	253
	4	205	205	210	210	205	215	215	220	214,6	215	217	221	221	226,3	222,5
	5	220,5	223	223,5	221,2	228,5	231,5	235	232,8	237,6	233,6	239	236,2	233	237,1	238,5
	6	235	230	245	230	235	235	235	230	218,6	216,5	231	236	231,5	240,5	235,8
	7	230	225	235	235	235	235	185	235	218,5	229,8	234	245	237,4	241,9	244,6
	8	295,5	296,2	291	287,8	294,2	299,5	306,6	300,5	310,5	311,4	306	305	300,4	302,8	313,5

Lampiran 9. Data bobot organ tikus jantan setelah perlakuan selama 45 hari

Kelompok	Perlakuan	No	Bobot organ tikus jantan (g)							
			Otak	Paru	Hati	Jantung	Lambung	Limpa	Usus	Ginjal
Kontrol	Aquadest 12,5 ml/kgBB	1	1.501	1.345	5.371	0.633	0.799	0.374	0.205	1.164
		2	1.867	1.598	6.567	0.777	1.208	0.429	0.165	1.562
		3	1.922	1.887	6.862	0.785	1.295	0.435	0.164	1.442
		4	1.746	1.232	5.833	0.663	1.105	0.519	0.264	1.504
		5	1.78	1.565	6.863	0.828	1.153	0.636	0.213	1.664
		6	1.853	1.565	7.3	0.728	1.284	0.547	0.177	1.648
		7	1.765	1.54	7.39	0.742	1.158	0.593	0.211	1.624
		8	1.704	1.544	6.766	0.799	1.063	0.62	0.227	1.398
Dosis 1	Dosis 1,152 g/kgBB	1	1.795	1.831	7.921	0.769	0.985	0.739	0.284	1.653
		2	1.852	2.014	6.482	0.726	1.103	0.582	0.328	1.555
		3	1.668	1.086	5.994	0.762	1.115	0.671	0.196	1.214
		4	1.82	1.94	6.283	0.753	1.21	0.617	0.225	1.433
		5	1.787	1.693	8.647	0.885	1.42	0.737	0.164	1.672
		6	1.969	1.385	7.624	0.775	1.307	0.699	0.234	1.708
		7	2.384	1.771	8.8543	0.8349	1.5986	0.6401	0.3111	2.2777
		8	1.66	1.324	8.187	0.8	1.119	0.59	0.177	1.448
Dosis 2	Dosis 2,897 g/kgBB	1	1.876	1.391	8.338	0.677	1.466	0.737	0.206	1.931
		2	1.948	1.631	7.544	0.824	1.338	0.521	0.214	1.602
		3	1.896	1.315	7.899	0.764	1.088	0.505	0.218	1.557
		4	1.648	1.506	6.846	0.704	1.284	0.521	0.264	1.698
		5	1.87	2.215	6.619	0.667	1.202	0.509	0.215	1.649
		6	1.725	1.325	6.398	0.694	1.039	0.631	0.276	1.359
		7	1.764	1.308	6.478	0.724	1.194	0.319	0.236	1.304
		8	2.003	1.889	6.784	0.884	1.505	0.518	0.202	1.77
Dosis 3	Dosis 5,556 g/kgBB	1	1.854	1.798	8.193	0.763	1.605	0.588	0.163	2.305
		2	1.994	1.697	9.453	0.816	1.962	0.815	0.258	1.864
		3	1.976	2.152	8.745	0.826	1.838	0.47	0.169	1.955
		4	2.02	3.169	8.124	0.76	1.536	0.601	0.276	1.944
		5	1.9267	2.1527	8.7568	0.7952	1.6743	0.5488	0.1654	2.04
		6	1.892	1.917	7.177	0.859	1.285	0.538	0.265	1.775
		7	1.86	1.366	7.442	0.751	1.177	0.513	0.17	1.811
		8	1.9883	2.5252	10.873	1.0291	1.8003	0.635	0.1956	2.5016

Lampiran 10. Hasil Anava perubahan berat badan selama 45 hari setelah pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Progress	32	1.1378	.40892	.51	2.41
Kelompok	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Progress	Kelompok
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	1.1378	2.5000
	Std. Deviation	.40892	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.114	.170
	Positive	.114	.170
	Negative	-.063	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.646	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.798	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

ONEWAY Descriptives

PROGRESS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Negatif	8	1.0647	.25832	.09133	.8488	1.2807	.71	1.44
D1	8	1.2750	.36721	.12983	.9680	1.5820	.74	1.84
D2	8	1.0683	.27150	.09599	.8414	1.2953	.58	1.43
D3	8	1.1431	.65734	.23240	.5935	1.6926	.51	2.41
Total	32	1.1378	.40892	.07229	.9903	1.2852	.51	2.41

Test of Homogeneity of Variances

Progress

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.334	3	28	.034

Lampiran 10 (lanjutan)

ANOVA

Progress

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.232	3	.077	.438	.728
Within Groups	4.952	28	.177		
Total	5.184	31			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: PROGRESS

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Negatif	D1	-.2103	.21026	.751	-.7844	.3638
	D2	-.0036	.21026	1.000	-.5777	.5705
	D3	-.0783	.21026	.982	-.6524	.4958
D1	Negatif	.2103	.21026	.751	-.3638	.7844
	D2	.2067	.21026	.760	-.3674	.7808
	D3	.1319	.21026	.922	-.4421	.7060
D2	Negatif	.0036	.21026	1.000	-.5705	.5777
	D1	-.2067	.21026	.760	-.7808	.3674
	D3	-.0747	.21026	.984	-.6488	.4994
D3	Negatif	.0783	.21026	.982	-.4958	.6524
	D1	-.1319	.21026	.922	-.7060	.4421
	D2	.0747	.21026	.984	-.4994	.6488

Homogeneous Subsets

PROGRESS

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05
		1
Negatif	8	1.0647
D2	8	1.0683
D3	8	1.1431
D1	8	1.2750
Significance		.751

Means are displayed ...

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000

Lampiran 11. Hasil Anava bobot organ otak setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BOBOT	32	1.8536	.15450	1.50	2.38
KELOMPOK	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOBOT	KELOMPOK
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	1.8536	2.5000
	Std. Deviation	.15450	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.109	.170
	Positive	.109	.170
	Negative	-.090	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.619	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.838	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

BOBOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.435	3	28	.254

ANOVA

BOBOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.120	3	.040	1.815	.167
Within Groups	.620	28	.022		
Total	.740	31			

Lampiran 11 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BOBOT
Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	D1	-.09963	.07438	.546	-.3027	.1034
	D2	-.07400	.07438	.753	-.2771	.1291
	D3	-.17162	.07438	.120	-.3747	.0314
D1	NEGATIF	.09963	.07438	.546	-.1034	.3027
	D2	.02563	.07438	.986	-.1774	.2287
	D3	-.07200	.07438	.768	-.2751	.1311
D2	NEGATIF	.07400	.07438	.753	-.1291	.2771
	D1	-.02563	.07438	.986	-.2287	.1774
	D3	-.09763	.07438	.563	-.3007	.1054
D3	NEGATIF	.17162	.07438	.120	-.0314	.3747
	D1	.07200	.07438	.768	-.1311	.2751
	D2	.09763	.07438	.563	-.1054	.3007

Homogeneous Subsets

BOBOT

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05
		1
NEGATIF	8	1.7673
D2	8	1.8413
D1	8	1.8669
D3	8	1.9389
Sig.		.120

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 12. Hasil Anava bobot organ paru setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BOBOT	32	1.7087	.42382	1.09	3.17
KELOMPOK	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOBOT	KELOMPOK
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	1.7087	2.5000
	Std. Deviation	.42382	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.110	.170
	Positive	.105	.170
	Negative	-.110	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.621	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.836	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

BOBOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.119	3	28	.120

ANOVA

BOBOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.647	3	.549	3.920	.019
Within Groups	3.921	28	.140		
Total	5.568	31			

Lampiran 12 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BOBOT
Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	D1	-.09600	.18711	.955	-.6069	.4149
	D2	-.03800	.18711	.997	-.5489	.4729
	D3	-.56261*	.18711	.027	-1.0735	-.0517
D1	NEGATIF	.09600	.18711	.955	-.4149	.6069
	D2	.05800	.18711	.989	-.4529	.5689
	D3	-.46661	.18711	.083	-.9775	.0443
D2	NEGATIF	.03800	.18711	.997	-.4729	.5489
	D1	-.05800	.18711	.989	-.5689	.4529
	D3	-.52461*	.18711	.042	-1.0355	-.0137
D3	NEGATIF	.56261*	.18711	.027	.0517	1.0735
	D1	.46661	.18711	.083	-.0443	.9775
	D2	.52461*	.18711	.042	.0137	1.0355

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

Homogeneous Subsets

BOBOT

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
NEGATIF	8	1.5345	
D2	8	1.5725	
D1	8	1.6305	1.6305
D3	8		2.0971
Sig.		.955	.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 13. Hasil Anava bobot organ hati setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BOBOT	32	7.4567	1.16761	5.37	10.87
KELOMPOK	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOBOT	KELOMPOK
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	7.4567	2.5000
	Std. Deviation	1.16761	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.132	.170
	Positive	.132	.170
	Negative	-.064	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.746	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.633	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

BOBOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.206	3	28	.326

ANOVA

BOBOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.946	3	5.649	6.248	.002
Within Groups	25.316	28	.904		
Total	42.262	31			

Lampiran 13 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BOBOT

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	D1	-.88004	.47543	.272	-2.1781	.4180
	D2	-.49425	.47543	.728	-1.7923	.8038
	D3	-1.97648*	.47543	.001	-3.2746	-.6784
D1	NEGATIF	.88004	.47543	.272	-.4180	2.1781
	D2	.38579	.47543	.849	-.9123	1.6839
	D3	-1.09644	.47543	.121	-2.3945	.2016
D2	NEGATIF	.49425	.47543	.728	-.8038	1.7923
	D1	-.38579	.47543	.849	-1.6839	.9123
	D3	-1.48223*	.47543	.021	-2.7803	-.1841
D3	NEGATIF	1.97648*	.47543	.001	.6784	3.2746
	D1	1.09644	.47543	.121	-.2016	2.3945
	D2	1.48223*	.47543	.021	.1841	2.7803

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

Homogeneous Subsets

BOBOT

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
NEGATIF	8	6.6190	
D2	8	7.1132	
D1	8	7.4990	7.4990
D3	8		8.5955
Sig.		.272	.121

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 14. Hasil Anava bobot organ jantung setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BOBOT	32	.7749	.07747	.63	1.03
KELOMPOK	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOBOT	KELOMPOK
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	.7749	2.5000
	Std. Deviation	.07747	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.094	.170
	Positive	.094	.170
	Negative	-.068	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.534	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.938	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

BOBOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.424	3	28	.737

ANOVA

BOBOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.037	3	.012	2.348	.094
Within Groups	.149	28	.005		
Total	.186	31			

Lampiran 14 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BOBOT

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	D1	-.04374	.03643	.632	-.1432	.0557
	D2	.00213	.03643	1.000	-.0973	.1016
	D3	-.08054	.03643	.145	-.1800	.0189
D1	NEGATIF	.04374	.03643	.632	-.0557	.1432
	D2	.04586	.03643	.596	-.0536	.1453
	D3	-.03680	.03643	.745	-.1363	.0627
D2	NEGATIF	-.00213	.03643	1.000	-.1016	.0973
	D1	-.04586	.03643	.596	-.1453	.0536
	D3	-.08266	.03643	.130	-.1821	.0168
D3	NEGATIF	.08054	.03643	.145	-.0189	.1800
	D1	.03680	.03643	.745	-.0627	.1363
	D2	.08266	.03643	.130	-.0168	.1821

Homogeneous Subsets

BOBOT

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05
		1
D2	8	.7423
NEGATIF	8	.7444
D1	8	.7881
D3	8	.8249
Sig.		.130

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 15. Hasil Anava bobot organ lambung setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BOBOT	32	1.3099	.26620	.80	1.96
KELOMPOK	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOBOT	KELOMPOK
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	1.3099	2.5000
	Std. Deviation	.26620	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.161	.170
	Positive	.161	.170
	Negative	-.092	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.908	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.381	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

BOBOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.089	3	28	.370

ANOVA

BOBOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.034	3	.345	8.298	.000
Within Groups	1.163	28	.042		
Total	2.197	31			

Lampiran 15 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BOBOT
Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	D1	-.09907	.10189	.766	-.3773	.1791
	D2	-.13137	.10189	.577	-.4096	.1468
	D3	-.47658*	.10189	.000	-.7548	-.1984
D1	NEGATIF	.09907	.10189	.766	-.1791	.3773
	D2	-.03230	.10189	.989	-.3105	.2459
	D3	-.37750*	.10189	.005	-.6557	-.0993
D2	NEGATIF	.13137	.10189	.577	-.1468	.4096
	D1	.03230	.10189	.989	-.2459	.3105
	D3	-.34520*	.10189	.011	-.6234	-.0670
D3	NEGATIF	.47658*	.10189	.000	.1984	.7548
	D1	.37750*	.10189	.005	.0993	.6557
	D2	.34520*	.10189	.011	.0670	.6234

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

Homogeneous Subsets

BOBOT

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
NEGATIF	8	1.1331	
D1	8	1.2322	
D2	8	1.2645	
D3	8		1.6097
Sig.		.577	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 16. Hasil Anava bobot organ limpa setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BOBOT	32	.5749	.10889	.32	.82
KELOMPOK	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOBOT	KELOMPOK
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	.5749	2.5000
	Std. Deviation	.10889	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.104	.170
	Positive	.087	.170
	Negative	-.104	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.589	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.879	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

BOBOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.305	3	28	.822

ANOVA

BOBOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.098	3	.033	3.384	.032
Within Groups	.270	28	.010		
Total	.368	31			

Lampiran 16 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BOBOT
Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	D1	-.14026*	.04908	.038	-.2743	-.0063
	D2	-.01350	.04908	.993	-.1475	.1205
	D3	-.06947	.04908	.500	-.2035	.0645
D1	NEGATIF	.14026*	.04908	.038	.0063	.2743
	D2	.12676	.04908	.069	-.0072	.2608
	D3	.07079	.04908	.485	-.0632	.2048
D2	NEGATIF	.01350	.04908	.993	-.1205	.1475
	D1	-.12676	.04908	.069	-.2608	.0072
	D3	-.05598	.04908	.668	-.1900	.0780
D3	NEGATIF	.06947	.04908	.500	-.0645	.2035
	D1	-.07079	.04908	.485	-.2048	.0632
	D2	.05598	.04908	.668	-.0780	.1900

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

Homogeneous Subsets

BOBOT

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
NEGATIF	8	.5191	
D2	8	.5326	.5326
D3	8	.5886	.5886
D1	8		.6594
Sig.		.500	.069

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Lampiran 17. Hasil Anava bobot organ usus setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BOBOT	32	.2199	.04566	.16	.33
KELOMPOK	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOBOT	KELOMPOK
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	.2199	2.5000
	Std. Deviation	.04566	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.111	.170
	Positive	.111	.170
	Negative	-.106	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.626	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.828	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

BOBOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.590	3	28	.026

ANOVA

BOBOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.007	3	.002	1.177	.336
Within Groups	.057	28	.002		
Total	.065	31			

Lampiran 18. Hasil Anava bobot organ ginjal setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BOBOT	32	1.6885	.30557	1.16	2.50
KELOMPOK	32	2.5000	1.13592	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOBOT	KELOMPOK
N		32	32
Normal Parameters[a,b]	Mean	1.6885	2.5000
	Std. Deviation	.30557	1.13592
Most Extreme Differences	Absolute	.131	.170
	Positive	.131	.170
	Negative	-.067	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.740	.962
Asymp. Sig. (2-tailed)		.644	.313

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

BOBOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.483	3	28	.697

ANOVA

BOBOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.273	3	.424	7.330	.001
Within Groups	1.621	28	.058		
Total	2.894	31			

Lampiran 18 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BOBOT
Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NEGATIP	D1	-.11934	.12031	.755	-.4478	.2092
	D2	-.10800	.12031	.806	-.4365	.2205
	D3	-.52370*	.12031	.001	-.8522	-.1952
D1	NEGATIP	.11934	.12031	.755	-.2092	.4478
	D2	.01134	.12031	1.000	-.3172	.3398
	D3	-.40436*	.12031	.011	-.7329	-.0759
D2	NEGATIP	.10800	.12031	.806	-.2205	.4365
	D1	-.01134	.12031	1.000	-.3398	.3172
	D3	-.41570*	.12031	.009	-.7442	-.0872
D3	NEGATIP	.52370*	.12031	.001	.1952	.8522
	D1	.40436*	.12031	.011	.0759	.7329
	D2	.41570*	.12031	.009	.0872	.7442

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

Homogeneous Subsets

BOBOT

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
NEGATIP	8	1.5008	
D2	8	1.6088	
D1	8	1.6201	
D3	8		2.0245
Sig.		.755	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta

Oleh :

Winarti
02613133

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
AGUSTUS 2006

SKRIPSI

EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN

Yang diajukan oleh :

Wiwiarti
02613133

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Farida Hayati, M.Si., Apt.	dr. Dita Ria Selvyana
Tanggal 18 Agustus 2006	Tanggal 18 Agustus 2006

SKRIPSI

EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN

Oleh :

Winarti

02613133

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

Tanggal: 18-08 2006

Ketua Penguji,

Farida Hayati, M.Si., Apt.

Anggota Penguji,

dr. Dita Ria Selvyana

Tanggal 18 Agustus 2006

Anggota Penguji,

Purwantiningsih, M.Si., Apt.

Tanggal 18 Agustus 2006

Mangetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Endang Darmawan, 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 pengetahan 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, Agustus 2006
Penulis

Winarti

HALAMAN PERSEMBAHAN

بسم الله الرحمن االرحيم

االحمدلله الذى علم بالقلم علم الإ نسا ن مالم يعلم اشهد ان لااله الاالله واشهدأن محمداعبده ورسوله والصلاة والسلام على سيدنا محمدالهادى الىالصراط المستقيم. وعلى أله وأصحابه أجمعين.

Skripsi ini khusus saya persembahkan kepada Allah SWT. dan Rasulnya, nabi besar Muhammad SAW.

Serta yang tercinta :

- *Ayahanda dan Ibunda, terima kasih atas segala pengorbanan, cinta kasih, semangat, bimbingan dan doanya sehingga ananda bisa lulus S-1.*
- *Adik-adikku yang tercinta Handi Krishandani dan Kania Oktaviani Trie Amanda, teteh bangga punya adik seperti kalian.*
- *Seluruh keluarga besarku, terima kasih atas doanya.*
- *The One's, terima kasih atas cinta, semangat dan bantuannya untukku, semoga memang 'You are My One's.*
- *Sobatku Q-noy Ndut, Ndut Bayu, Ayik, Dian, Gusti, Wulan, Bejo, Yudi, mba Ayu, B-Opik, Mba Ephie, Mba Erly, Teh neneng, B-Muhaimin, Helmin, B-Dani, terima kasih atas kasih sayang, persahabatan dan segala bantuannya.*
- *Anak-anak kos Anggrek: Lilis, Atik, Ambar, Tari, Mega, Sinta, Riya, Lia, Puri, I love U All.*
- *Seluruh angkatan 2002 dan teman-teman Farmasi lainnya, terima kasih atas semuanya.*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, sebuah kata yang tiada terputus untuk dipanjatkan kekhadirat Allah SWT, adalah rasa syukur yang paling dalam atas berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul "**EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN**", dimana skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat mencapai derajat sarjana (S1) Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan segala bantuan bagi terwujudnya skripsi ini, terutama kepada:

1. Farida Hayati, M.Si., Apt., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan masukan, bimbingan dan semangat selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.
2. dr. Dita Ria Selvyana selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberi masukan dan bimbingannya selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.
3. Purwantiningsih M.Si. Apt.,selaku Dosen penguji atas bimbingan, saran dan kritik sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
4. Endang Darmawan, M.Si. Apt., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
5. Segenap Laboran laboratorium Jurusan Farmasi Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
6. Segenap *security* dan karyawan yang telah membantu dalam proses penelitian sehingga dapat terlaksana dengan lancar.
7. Seluruh mahasiswa farmasi angkatan 2002, terima kasih atas semuanya.
8. Dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, hal ini disebabkan keterbatasan kemampuan penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun guna mencapai hasil yang baik. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL. i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING..... iii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI..... iv
HALAMAN PERNYATAAN v
HALAMAN PERSEMBAHAN vi
KATA PENGANTAR vii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR GAMBAR xii
DAFTAR TABEL xiv
DAFTAR LAMPIRAN xv
INTISARI xvi
ABSTRAK xvii

BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang 1
B. Perumusan Masalah 5
C. Tujuan Penelitian 5
D. Manfaat Penelitian 5
BAB II STUDI PUSTAKA 6
A. Tinjauan Pustaka 6
1. Toksikologi 6
2. Toksikologi Organ Sasaran 9
a. Otak 9
b. Paru 10
c. Hati 10
d. Jantung 10
e. Lambung 11
f. Limpa 11
g. Usus 11
h. Ginjal 12

3. Bahan uji 12
a. Taurin 13
b. Inositol 13
c. Ginseng 14
d. Vitamin B2 14
e. Vitamin B3 15
f. Vitamin B6 16
g. Kafein 16
h. Royal jelly 17
i. Aspartam 18
j. Natrium Bikarbonat 18
k. Asam sitrat 18
B. Keterangan Empiris 19
BAB III METODE PENELITIAN 20
A. Bahan dan Alat 20
1. Bahan 20
2. Alat 20
B. Cara Penelitian 21
1. Pengelompokan Hewan Uji 21
2. Pembuatan Sediaan Uji 22
3. Cara Pemberian dan Penetapan Dosis 22
4. Pengamatan Hewan Uji 22
5. Pemeriksaan Histopatologi 24
C. Hasil Analisis 25
BAB IV PEMBAHASAN 26
A. Penyiapan Hewan Uji 26
B. Penyiapan Bahan Uji 26
C. Penetapan Dosis 27
D. Pengamatan Gejala Klinis 27
E. Kondisi Umum 29
F. Spektrum Efek Toksik 31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 49

A. Kesimpulan 49
B. Saran 49
DAFTAR PUSTAKA 50
LAMPIRAN 54

DAFTAR GAMBAR

Gambar1.	Struktur Taurin	13
Gambar2.	Struktur Inositol	13
Gambar3.	Struktur Riboflavin	14
Gambar4.	Struktur Vitamin B3	15
Gambar5.	Struktur Vitamin B6	16
Gambar6.	Struktur Kafein	16
Gambar7.	Struktur Aspartam	18
Gambar8.	Struktur Asam sitrat	18
Gambar9.	Skematika Penelitian	21
Gambar 10.	Skematika pembuatan preparat histopatologi	24
Gambar11.	Grafik perkembangan berat badan hewan uji selama 45 hari perlakuan	31
Gambar12.	Contoh hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji (1) setelah mengalami perlakuan selama 45 hari	34
Gambar13.	contoh hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji (2) setelah mengalami perlakuan selama 45 hari	34
Gambar14.	Gambar mikroskopik jantung normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE	38
Gambar15.	Gambar mikroskopik ginjal normal dengan perbesaran 40X dengan pengecatan HE	38
Gambar16.	Gambar mikroskopik limpa normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE	39
Gambar17.	Gambar mikroskopik lambung normal dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE	40
Gambar18.	Gambar mikroskopik otak besar (serebrum) normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE	40
Gambar19.	Gambar mikroskopik otak kecil (serebelum) normal dengan perbesaran 20X dengan pengecatan HE	41
Gambar20.	Gambar mikroskopik paru normal dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE	41

Gambar21. Gambar mikroskopik paru hewan uji kelompok DI no 7 dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE 42
Gambar22 Gambar mikroskopik hati normal dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE 43
Gambar23. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok kontrol no 2 dengan perbesaran 40 X dengan pengecatan HE 44
Gambar24. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok DII no 4 dengan perbesaran 40 X dengan pengecatan HE 44
Gambar25. Gambar mikroskopik hati hewan uji kelompok DII no 4 dengan perbesaran 20 X dengan pengecatan HE 45
Gambar26. Gambar mikroskopik usus halus normal dengan perbesaran 10 X dengan pengecatan HE 47
Gambar27. Gambar mikroskopik usus halus hewan uji kelompok Kontrol no 4 dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE..... 48
Gambar28. Gambar mikroskopik usus halus hewan uji kelompok Kontrol no 6 dengan perbesaran 10X dengan pengecatan HE..... 48

DAFTAR TABEL

Tabel I Pengamatan gejala toksik menurut Paget 23

Tabel II Hasil pengamatan gejala toksik pada hewan uji setelah perlakuan selama 45 hari 31

Tabel III Hasil uji Tukey taraf kepercayaan 95% perubahan berat badan hewan uji selama 45 hari perlakuan 30

Tabel IV Berat badan hewan uji (gram) selama 45 hari perlakuan 30

Tabel V Bobot rata-rata (gram) ± SE organ hewan uji setelah 45 hari perlakuan 33

Tabel VI Hasil uji Tukey taraf kepercayaan 95% bobot organ setelah perlakuan 33

Tabel VII Hasil pengamatan makroskopik organ hewan uji setelah mengalami perlakuan selama 45 hari..... 35

Tabel VIII Hasil pemeriksaan histopatologi organ hewan uji setelah 45 hari perlakuan 37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan hewan uji 54

Lampiran 2. Perhitungan dosis pemberian dan peringkat dosis masing-masing kelompok hewan uji 55

Lampiran 3. Hasil pemeriksaan histopatologi hewan uji. 56

Lampiran 4. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok kontrol ... 58

Lampiran 5. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis I ... 63

Lampiran 6. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis II... 68

Lampiran 7. Hasil pengamatan gejala klinis tikus jantan kelompok dosis III... 73

Lampiran 8. Data berat badan hewan uji selama 45 hari masa uji 78

Lampiran 9. Data bobot organ tikus jantan setelah perlakuan 45 hari 81

Lampiran 10. Hasil Anava perubahan berat badan selama 45 hari setelah pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 82

Lampiran 11. Hasil Anava bobot organ otak setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 84

Lampiran 12. Hasil Anava bobot organ paru setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®. 86

Lampiran 13. Hasil Anava bobot organ hati setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 88

Lampiran 14. Hasil Anava bobot organ jantung setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 90

Lampiran 15. Hasil Anava bobot organ lambung setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 92

Lampiran 16. Hasil Anava bobot organ limpa setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 94

Lampiran 17. Hasil Anava bobot organ usus setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 96

Lampiran 18. Hasil Anava bobot organ ginjal setelah 45 hari pemberian larutan uji suplemen *effervescent* Extra Joss®..... 97

EFEK TOKSIK SUPLEMEN EFFERVESCENT EXTRA JOSS® PADA PEMBERIAN DOSIS BERULANG TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI SEL ORGAN PADA TIKUS JANTAN

INTISARI

Konsumsi suplemen makanan berenergi saat ini telah menjadi suatu *trend* dan bahkan sudah merupakan kebutuhan mutlak bagi masyarakat. Posisi Extra Joss® sebagai suplemen makanan yang menguasai pangsa pasar minuman berenergi sekitar 55% telah memberikan peluang adanya penggunaan yang tidak tepat dan melebihi dosis. Untuk mengevaluasi keamanan produk ini, maka dilakukan penelitian guna menilai berbagai gejala toksik yang timbul dan perubahan sel secara histopatologi akibat pemberian suplemen makanan secara berulang. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak. Tiga puluh dua ekor tikus jantan, dibagi menjadi 4 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 8 ekor tikus jantan. Kelompok I adalah kelompok kontrol negatif dengan pemberian aquadest. Kelompok II adalah kelompok dosis terendah hasil konversi dari dosis terapi untuk manusia yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji. Kelompok III adalah kelompok pemberian dosis tertinggi berdasarkan faktor perkalian yang tetap, dan kelompok IV adalah kelompok dosis tertinggi berdasarkan volume maksimum yang masih dapat diberikan secara teknis kepada hewan uji dan volume minimum pelarut yang dapat melarutkan bahan uji. Masa pengamatan dilakukan selama 3 jam sejak pemejanan obat selama masa uji yaitu 45 hari. Hasil pengamatan menyatakan bahwa Extra Joss® tidak menimbulkan gejala toksik pada hewan uji dan tidak mempengaruhi kenaikan berat badan hewan uji tersebut secara signifikan serta pada hasil histopatologi organ, pemberian Extra Joss® tidak menyebabkan adanya perubahan secara selular semua organ.

Kata kunci : efek toksik, suplemen, histopatologi

TOXIC EFFECT OF EXTRA JOSS® EFFERVESCENT SUPPLEMENT IN DOSIS REPEATLY TO ALTERATION OF HISTOPHATOLOGY ORGAN CELLS TO MALE RATS

ABSTRACT

Consumption of supplement has become a trend and morever has become a necessity for people. Extra Joss® as a food supplement has become a market leader about 55%, its has given opportunity an unappropriate and exceed from dosis therapy. For evaluation this product, so its researched for apraise any toxic simptoms and cells alteration of histophatology that caused the supplement if used repeatly. This research was used random design. Thirty two of male rats divided become 4 group, each group there are 8 of male rats. Group I as negatif control and was fed aquadest. Group II was fed lowest dosis of Extra Joss® that resulted convertion from therapy dosis for human that no or almost no deadly all of rats. Group III was fed highest of dosis based on constant multiply factor, and group IV was fed highest dosis of Extra Joss® based on maximum of volume that can given to rats and minimum volume of solvent that can dissolved of Extra Joss®. Monitoring had been done in 3 hours even presented of supplement during 45 days experiment. Results of monitoring showed that Extra Joss® uncaused clinical symptomps and uninfluenced gain of body weight of rats significantly and result of histophatology examination showed that there were not cells alterations.

Keyword : toxic effect, supplement, histophatology

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA