

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKAI
(*Peronema canescens* Jack) TERHADAP FUNGSI GINJAL MENCIT
PUTIH BETINA (*Mus musculus* Linn.)**

SKRIPSI



disusun oleh :

Eva Melisa

F1F117012

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS JAMBI**

2021

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKAI
(*Peronema canescens* Jack) TERHADAP FUNGSI GINJAL MENCIT
PUTIH BETINA (*Mus musculus* Linn.)**

S K R I P S I

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana Farmasi
pada Program Studi Farmasi FKIK Universitas Jambi



disusun oleh :

Eva Melisa

F1F117012

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS JAMBI**

2021

PERSETUJUAN SKRIPSI

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SUNGKAI
(*Peronema cenescens* Jack) TERHADAP FUNGSI GINJAL MENCIT
PUTIH BETINA (*Mus musculus* Linn.)**

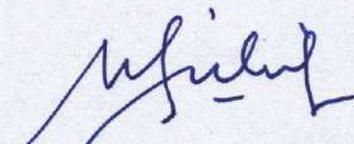
disusun oleh :

EVA MELISA

F1F117012

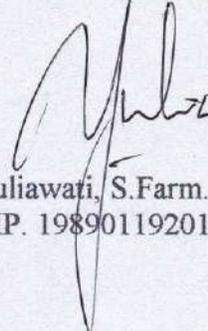
Telah disetujui Dosen Pembimbing Skripsi
Pada tanggal 01 Oktober 2021

Pembimbing I (Kesatu)



Prof. Dr. rer.nat. Muhaimin, S.Pd., M.Si
NIP. 197303222000031001

Pembimbing II (Kedua)



Yuliawati, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 198901192019032012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan Judul **UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKAI (*Peronema cenescens* Jack) TERHADAP FUNGSI GINJAL MENCIT PUTIH BETINA (*Mus musculus* Linn.)** yang disusun oleh EVA MELISA, NIM: F1F117012 telah dipertahankan didepan tim penguji pada tanggal 01 Oktober 2021 dan dinyatakan lulus.

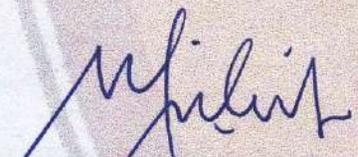
Susunan Tim Penguji:

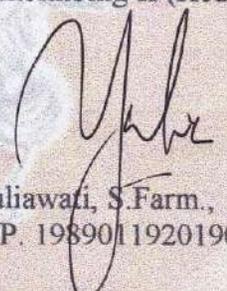
Ketua : Prof. Dr. rer.nat. Muhaimin, S.Pd., M.Si
Sekretaris : Yuliawati, S.Farm., M.Farm., Apt
Anggota : 1. Havizur Rahman, S.Farm., M.Farm., Apt
2. Fathnur Sani K, S.Farm., M.Farm., Apt
3. Diah Tri Utami, S.Si., M.Sc

Disetujui:

Pembimbing I (kesatu)

Pembimbing II (Kedua)


Prof. Dr. rer.nat. Muhaimin, S.Pd., M.Si
NIP. 197303222000031001

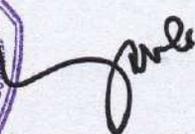

Yuliawati, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 198901192019032012

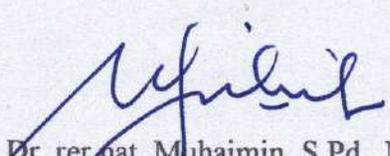
Diketahui:

Dekan
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Jambi

Ketua Jurusan Farmasi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Jambi




Dr. H. Hurnaryanto, Sp.OT. M.Kes
NIP. 197302092005011001


Prof. Dr. rer.nat. Muhaimin, S Pd., M.Si
NIP. 197303222000031001

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang telah lazim.

Tanda tangan yang tertera dalam halaman pengesahan adalah asli. Jika tidak asli, saya siap menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Jambi, 01 Oktober 2021

Yang menyatakan



EVA MELISA

F1F117012

KATA PENGANTAR

Bismillah, Alhamdulillah Rabbil 'alamiin, segala puji hanya bagi Allah Yang Maha Kuasa. Sholawat dan Salam bagi Nabi Muhammad SAW, Atas segala limpahan nikmat serta karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian skripsi dengan judul “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Terhadap Fungsi Ginjal Mencit Putih Betina (*Mus musculus* Linn.)”. Skripsi dimaksudkan untuk memenuhi sebagian syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Jurusan Farmasi Universitas Jambi.

Dalam penyelesaian skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dan dukungan dari semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Dalam hal ini penulis mengucapkan terimakasih yang terdalam kepada :

1. Dr. dr. Humaryanto, Sp. OT, M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan;
2. Prof. Dr. rer. nat. Muhaimin, S.Pd., M.Si selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan;
3. Pembimbing Utama saya, Prof. Dr. rer.nat Muhaimin, S. Pd., M.Si yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran serta tenaga untuk terus memberikan bimbingan kepada saya;
4. Pembimbing Pendamping saya, Ibu Yuliawati, S.Farm., M.Farm., Apt yang juga telah bersedia meluangkan waktu, pikiran serta tenaga untuk terus memberikan bimbingan kepada saya;
5. Bapak/Ibu Dosen Jurusan Farmasi Universitas Jambi yang selalu memberikan ilmu yang bermanfaat tanpa batas dan juga tidak kenal lelah;
6. Segenap staf laboratorium dan staf Tata Usaha Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi yang telah banyak membantu kelancaran penelitian dan administrasi dalam perkuliahaan dan skripsi penulis;
7. Teristimewa untuk kedua orang tua ku tercinta Ahmadi (Ayah) dan Nirwanti (Ibu), dan adik kandungku satu-satunya Rezil Aditya Fazrin yang senantiasa memberikan dukungan dan do'a tiada henti, cinta dan kasih sayang tak terhingga dan tak ternilai harganya serta memberikan semangat dan pengorbanan baik secara moril maupun materil yang diberikan selama ini dan

juga terima kasih kepada keluarga besar Mat Isa yang selalu memotivasi penulis selama ini sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini;

8. Teruntuk Sahabat Seperjuanganku semasa kuliah: BBB Squad (Eka aghnia Syarif, S.Pd., Wildayati, S.Sos., dan Lewi Ana, S.H), Sohib penelitian (Amalia Sakinah, Rofifah dhia Safira, Riska Sela Noviana, Nurul Miftahul, dan Anis Cahyani) dan Sahabat-sahabatku lainnya yang senantiasa selalu memberikan semangat dan bantuan selama penyelesaian tugas akhir ini, baik dikala susah dan senang;
9. Seluruh teman-teman Farmasi Luminial 2017 yang sudah memberikan banyak sekali cerita baik suka maupun duka selama menempuh perkuliahan di Universitas Jambi;
10. Untuk seseorang yang telah menemani hari-hari penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini semoga namamu yang tertulis di *lauh mahfuz* untukku, yang selalu melangitkan namaku, yang selalu mendorong dan memotivasiku agar lebih baik lagi. Semoga Allah SWT senantiasa menjaga hati kita dan menyatukan kita dalam ikatan suci nantinya, *aamiin*;
11. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam proses penyelesaian tugas akhir ini;
12. *Last but not least, I wanna thank me, for believing in me, for doing all this hard work, for having no days off, for never quitting, and for just being me at all times.*

Penulis telah menyusun skripsi ini dengan sebaik-baiknya. Akan tetapi, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan serta jauh dari kesempurnaan, namun penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak.

Jambi, 01 Oktober 2021



Eva Melisa
F1F117012

DAFTAR ISI

PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
RIWAYAT HIDUP.....	xiii
ABSTRAK	xiv
SUMMARY	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack.).....	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Nama Lokal dan Penyebaran.....	4
2.2 Senyawa Metabolit Sekunder.....	5
2.2.1 Flavonoid	5
2.2.2 Alkaloid.....	6
2.2.3 Tanin	6
2.2.4 Steroid.....	7
2.2.5 Terpenoid	7
2.3 Ekstraksi	8
2.3.1 Ekstraksi.....	8
2.3.2 Metode Ekstraksi	8
2.4 Toksisitas	9

2.4.1 Pengertian Toksisitas	9
2.4.2 Macam Toksisitas	10
2.4.3 Ukuran – Ukuran Dalam Toksisitas.....	10
2.4.5 Uji Toksisitas.....	11
2.4.6 Macam Uji Toksisitas	11
2.4.7 Mekanisme Efek Toksik	14
2.5 Ginjal	16
2.5.1 Anatomi Ginjal	16
2.5.2 Fungsi Ginjal	16
2.5.3 Histologi Ginjal	17
2.5.4 Kreatinin.....	17
2.6 Hewan Uji.....	18
III. METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.2.1 Alat	20
3.2.2 Bahan	20
3.2.3 Hewan Uji	20
3.2.4 Rancangan Penelitian.....	21
3.3 Metode Penelitian.....	21
3.3.1 Pengambilan Dan Penyiapan Sampel	21
3.3.2 pembuatan Simplisia	21
3.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (<i>Peronema cenescens</i> Jack).....	22
3.3.4 Karakterisasi Ekstrak	22
3.3.5 Uji toksisitas akut ekstrak daun sungkai	24
3.4 Analisa Data.....	30
3.4.1 Penentuan LD50 (Metode Thomson dan Weil).....	30
3.4.2 Data Kualitatif Toksisitas Tertunda dan Histologi Ginjal.....	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Determinasi Daun Sungkai (<i>Peronema cenescens</i> Jack)	31
4.2 Simplisia Daun Sungkai (<i>Peronema cenescens</i> Jack)	31

4.3 Ekstrak Daun Sungkai (<i>Peronema cenescens</i> Jack)	31
4.3.1 Karakter Spesifik Ekstrak Daun Sungkai	32
4.3.2 Karakter Non Spesifik Ekstrak Daun Sungkai	33
4.4 Kandungan Kualitatif Fitokimia Ekstrak Daun Sungkai	34
4.5 Pengujian Toksisitas Akut Ekstrak Daun Sungkai	35
4.5.1 Aklimatisasi Mencit	36
4.5.2 Penentuan Nilai LD ₅₀	37
4.5.3 Pengamatan Efek Toksik	39
4.6 Nilai Kreatinin	42
4.7 Berat Organ	44
4.8 Pengamatan Histologi Ginjal	45
V. KESIMPULAN DAN SARAN	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Toksisitas menurut kategori LD50	10
Tabel 2. Data Biologi Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	19
Tabel 3. Kriteria penilaian derajat kerusakan tubulus ginjal	27
Tabel 4. Identitas dan Organoleptis Ekstrak Daun Sungkai	33
Tabel 5. Identitas dan Organoleptis Ekstrak Daun Sungkai	33
Tabel 6. Kandungan Kualitatif Ekstrak Daun Sungkai	34
Tabel 7. Rata-rata berat badan mencit selama aklimatisasi	36
Tabel 8. Hasil Persentase Kematian Hewan	38
Tabel 9. Hasil pengamatan agresifitas.....	39
Tabel 10. Hasil pengamatan tidur	39
Tabel 11. Hasil pengamatan diare.....	40
Tabel 12. Hasil Pengamatan penurunan aktivitas gerak.....	41
Tabel 13. Hasil Pengamatan perubahan pernapasan	42
Tabel 14. Rata-rata kadar kreatinin serum mencit	43
Tabel 15. Rata-rata berat organ ginjal	44
Tabel 16. Skor tingkat kerusakan ginjal mencit.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bagian-Bagian dari Tanaman Sungkai.....	5
Gambar 2. Struktur Flavonoid	5
Gambar 3. Struktur Alkaloid	6
Gambar 4. Struktur Tanin.....	7
Gambar 5. Struktur Steroid.....	7
Gambar 6. Struktur Terpenoid.....	8
Gambar 7. Anatomi Ginjal	16
Gambar 8. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	19
Gambar 9. Gambaran mikroskopis kelompok K(-).....	28
Gambar 10. Gambaran mikroskopis kelompok (P1).....	28
Gambar 11. Gambaran mikroskopis kelompok (P2).....	29
Gambar 12. Gambaran mikroskopis kelompok (P3).....	29
Gambar 13. Gambaran mikroskopis kelompok (P4).....	29
Gambar 14. Gambar histologi mencit kontrol (Na-CMC).....	47
Gambar 15. Gambar histologi mencit P1 (dosis 175mg/kgBB).	47
Gambar 16. Gambar histologi mencit P2 (dosis 550mg/kgBB)	48
Gambar 17. Gambar histologi mencit P3 (dosis 1750mg/kgBB).....	48
Gambar 18. Gambar histologi mencit P4 (dosis 5000mg/kgBB).....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Alur Penelitian.....	58
Lampiran 2. Pembuatan simplisia dan pembuatan ekstrak daun sungkai	59
Lampiran 3. Pembuatan suspensi Na CMC 0,5%.....	60
Lampiran 4. Pembuatan Simplisia Daun Sungkai.....	61
Lampiran 5. Pengamatan Uji Toksisitas.....	62
Lampiran 6. Pembuatan Preparat Histologi Ginjal	63
Lampiran 7. Uji ANOVA Terhadap Kadar Kreatinin Serum	64
Lampiran 8. Data Skoring Histologi Ginjal Mencit.....	66
Lampiran 9. Uji ANOVA Terhadap Skoring Kerusakan Ginjal Mencit	67
Lampiran 10. Surat Determinasi Daun Sungkai	69
Lampiran 11. Surat Ethical Clirens	70

RIWAYAT HIDUP



Eva Melisa lahir di Koto Salak, pada tanggal 03 September 1999. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Ahmadi dan Ibu Nirwanti. Penulis memulai pendidikan pada tahun 2005 di Sekolah Dasar Negeri 137/III Koto Salak Kab. Kerinci dan lulus pada tahun 2011. Kemudian pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan Madrasah Tsanawiyah Negeri Selemang Kab. Kerinci selama tiga tahun. Pada tahun 2014, penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Kerinci selama 3 tahun, dan lulus pada tahun 2017. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswi Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan melalui Jalur SNM-PTN. Penulis telah menyelesaikan tugas akhir dan menyusun skripsi dengan judul **“UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) TERHADAP FUNGSI GINJAL MENCIT PUTIH BETINA (*Mus musculus* Linn.)”** dibawah bimbingan Bapak Prof. Dr. rer.nat Muhaimin, S.Pd., M.Si dan Ibu apt. Yuliawati S.Farm, M.Farm.

ABSTRAK

Toksisitas akut adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji secara oral dalam dosis tunggal atau berulang dalam waktu 24 jam. Salah satu bahan alam yang belum dilakukan uji toksisitas akut adalah tanaman sungkai dengan bagian utamanya daun sungkai. Pengolahan daun sungkai sebagai bahan uji dalam penelitian ini dilakukan dengan membuat ekstrak etanol dari daun sungkai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas yang dikandung dari daun sungkai.

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan post test kontrol grup desain dengan 5 kelompok perlakuan yaitu K- sebagai kontrol negatif, P1 dengan dosis 175mg/kgBB, P2 dengan Dosis 550mg/kgBB, P3 dengan dosis 1750mg/kgBB dan P4 dengan dosis 5000mg/kgBB. Setiap perlakuan terdiri dari 7 ekor mencit. Adapun parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu nilai LD50, kadar kreatinin dan pemeriksaan histologi organ ginjal mencit dengan uji One Way ANOVA dengan uji lanjut yaitu uji Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sungkai hingga dosis 5000mg/kgBB menyebabkan kerusakan organ ginjal yang dilihat dari nilai kreatinin dan histologi. Namun, tidak menyebabkan kematian pada hewan uji, sehingga nilai semu yang di peroleh termasuk dalam rentang toksisitas ringan/praktis tidak toksik. Pemberian ekstrak daun sungkai dosis 175-5000mg/kgBB pada hewan uji menyebabkan penurunan aktivitas gerak/motorik sehingga hewan uji lebih banyak tidur. Pemberian ekstrak daun sungkai pada dosis 175-5000mg/kgBB dapat meningkatkan nilai kreatinin serum hewan uji dua kali lipat diatas normal. Pemberian ekstrak etanol daun sungkai dengan variasi dosis 175-5000mg/kgBB berpengaruh secara nyata terhadap gambaran kerusakan histologi ginjal hewan uji.

SUMMARY

Acute toxicity is a test to detect toxic effects that appear within a short time after administration of the test preparation orally in single or repeated doses within 24 hours. One of the natural ingredients that has not been tested for acute toxicity is the sungkai plant with the main part being sungkai leaves. The processing of sungkai leaves as a test material in this study was carried out by making ethanol extract from sungkai leaves. This study aims to determine the level of toxicity contained in sungkai leaves.

This study used a completely randomized design (CRD) and post test control group design method with 5 treatment groups, namely K- as a negative control, P1 with a dose of 175mg/kgBW, P2 with a dose of 550mg/kgBW, P3 with a dose of 1750mg/kgBW and P4 with a dose of 5000mg/kgBW. Each treatment consisted of 7 mice. The parameters observed in this study were the LD50 value and the histological examination of the mice's kidneys using the One Way ANOVA test with a further test, namely the Duncan test.

The results showed that the administration of sungkai leaf extract up to a dose of 5000mg/kgBW caused damage to the kidneys as seen from the creatinine and histology values. However, it did not cause death in test animals, so the apparent value obtained was included in the range of mild/practically non-toxic toxicity. Administration of sungkai leaf extract at a dose of 175-5000mg/kgBW in test animals caused a decrease in motor activity so that the test animals slept more. The administration of sungkai leaf extract at a dose of 175-5000mg/kgBW can increase the serum creatine value of the test animals to above normal. The administration of ethanol extract of sungkai leaves with a dose variation of 175-5000mg/kgBW had asignificant effect on the histology picture of the test animals' kidney damage.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) merupakan tanaman hutan yang tergolong dalam family Verbenaceae¹. Tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack.) memiliki nama daerah yang disebut sekai, sungkai, sungkih (Sumatera), longkai, lurus, sungkai (Kalimantan), jati sabrang, sungke (Jawa). Tempat tumbuh utama tanaman sungkai adalah di hutan sekunder dan pada kondisi yang berair namun terkadang ada juga yang terdapat pada hutan sekunder kering, akan tetapi tanaman jenis ini tidak dijumpai di hutan primer serta daerah yang secara periodic tergenang air. Daerah penyebarannya terdapat di Sumatera Selatan (Palembang), Jambi, Bengkulu, Lampung, Jawa Barat, Kalimantan Barat, Sulawesi Tengah, Sulawesi Selatan, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah, Kalimantan Barat dan Kalimantan Timur². Secara empiris, daun sungkai dimanfaatkan oleh sebagian masyarakat untuk sakit gigi dan penurun demam selain itu, daun sungkai juga dimanfaatkan untuk mengobati malaria³.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ibrahim dan Kuncoro (2012) ekstrak methanol daun sungkai memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri atau sebagai antibakteri⁴. Penelitian Andriani *et al* (2017) diketahui bahwa fraksi n-heksana daun sungkai yang diberikan secara oral pada hewan uji memiliki aktivitas sebagai antiplasmodium⁵. Berdasarkan hasil penelitian Fransisca *et al* (2020) tanaman sungkai memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan saponin⁶. Penelitian tentang daun sungkai dilakukan oleh Fatwa (2020) tentang ekstrak etanol daun sungkai dengan dosis 175-700 mg/kgBB dapat menurunkan kadar gula darah pada mencit yang diabetes⁷. Penelitian terakhir mengenai daun sungkai dilakukan oleh Latief *et al* (2021) tentang ekstrak etanol daun sungkai memiliki aktivitas antihiperurisemia dengan menurunkan kadar asam urat darah mencit dengan dosis 500 mg/kgBB yang memberikan aktivitas paling baik⁸.

Penelitian pada tanaman yang memiliki jenis family yang sama dengan tanaman sugkai yaitu Verbenaceae dilakukan oleh Nasution (2019) pada ekstrak

n-heksan daun pagoda yang diketahui semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin banyak larva *Artemia salina leach* yang mati dan nilai LC_{50} yang diperoleh dengan analisa probit sebesar 41,919 ppm sudah termasuk dalam kategori sangat toksik bahkan berpotensi untuk dikembangkan sebagai senyawa anti kanker⁹. Ginjal memiliki peran utama sebagai eliminasi obat-obatan, oksigen dan racun, ditandai dengan volume suplai darah yang tinggi (20-25% dari output jantung) menyebabkan peningkatan aliran toksikan selama periode waktu tertentu, sehingga ginjal rentan terjadinya kerusakan¹⁰. Oleh karena itu dalam rangka pengembangan dan penggunaan daun sungkai sebagai obat herbal yang terstandar, tidak cukup hanya dengan uji khasiat saja, akan tetapi juga perlu dilakukan uji toksisitas agar khasiat dari daun sungkai lebih aman digunakan dalam pengembangannya sebagai tanaman obat.

Uji toksisitas dibagi menjadi uji toksisitas umum dan uji toksisitas khusus. Uji toksisitas umum biasanya terdiri dari uji toksisitas akut yang dilakukan selama 24 jam, uji toksisitas subkronis yang dilakukan selama 26 minggu, dan uji toksisitas kronik yang dilakukan selama 1 tahun. Uji toksisitas khusus terdiri dari uji teratogenik atau kelainan pada janin, uji mutagenik atau uji yang dilakukan dengan mengubah informasi DNA dan uji karsinogenik¹¹.

Uji toksisitas akut adalah uji pra klinik yang dilakukan untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa dalam jangka waktu tertentu setelah diberikan dosis tunggal¹², salah satu uji toksisitas yang dapat dilakukan untuk mengetahui nilai LD_{50} adalah uji toksisitas akut oral. Menurut BPOM RI (2014), uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal atau berulang dalam waktu 24 jam. Tujuan uji toksisitas akut oral adalah untuk mendeteksi toksisitas *intrinsik* suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD_{50} suatu bahan atau sediaan, serta penentuan penggolongan bahan atau sediaan dan pelabelan¹³.

Dari pemaparan yang telah disampaikan diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji toksisitas akut ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema cenescens* Jack) terhadap fungsi ginjal mencit putih betina (*Mus musculus* Linn).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema cenescens* Jack) pada dosis tertentu menunjukkan efek toksik pada mencit putih betina?
2. Bagaimana pengaruh toksik ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema cenescens* Jack) terhadap fungsi ginjal pada mencit putih betina?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui apakah ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema cenescens* Jack) pada dosis tertentu menunjukkan efek toksik pada mencit putih betina.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema cenescens* Jack) terhadap fungsi ginjal mencit putih betina.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah untuk mengetahui gejala toksik yang terjadi pada hewan percobaan, sehingga dapat digunakan untuk memperkirakan derajat kerusakan yang terjadi akibat ekstrak etanol daun sungkai tersebut, baik pada material biologik maupun non biologik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi tentang daun sungkai sebagai obat alami yang bisa digunakan untuk pengembangan ilmu pengetahuan pada bidang kesehatan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sungkai (*Peronema canescens* Jack.)

Tanaman Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) merupakan salah satu dari sekian banyak tanaman obat yang digunakan di Indonesia. Tanaman Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) ini juga sering disebut sebagai jati sabrang, ki sabrang, kurus, sungkai¹.

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi sungkai (*Peronema canescens* Jack.) yaitu sebagai berikut¹⁴:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Verbenaceae
Genus	: Peronema
Spesies	: <i>Peronema canescens</i> Jack.

2.1.2 Nama Lokal dan Penyebaran

Sungkai (*Peronema canescens* Jack) termasuk kedalam family Verbenaceae. Tanaman ini memiliki nama daerah yang sering disebut jati sebrang, ki sebrang, songke (Lampung), Kurus (Kalimantan), dan jati jando (Jawa). Untuk daerah penyebarannya di Indonesia yaitu di Sumatera Barat, Jambi, Bengkulu, Lampung, Sumatera Selatan, Jawa Barat dan seluruh bagian Kalimantan¹⁵.



Gambar 1. Bagian-Bagian dari Tanaman Sungkai (a) Batang, (b) Buah dan (c) Daun yang Masih Muda¹⁶

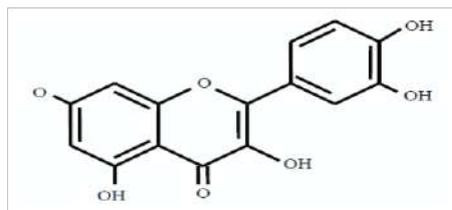
2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Sungkai memiliki tinggi pohon mencapai 10-30 m dan panjang batang bebas cabang 5-10 m dimana diameter mencapai 50 cm. Batang lurus dan sedikit berlekuk dangkal, tidak memiliki banir dan ranting penuh dengan bulu halus. Kulit luar berwarna kelabu atau sawo muda, beralur dangkal serta mengelupas kecil-kecil tipis¹. Daunnya bersirip ganjil dan majemuk yang terletak berpasangan atau berselang serta pada ujung daunnya lancip. Letak bunganya berpasangan dengan kedudukan malai dan buahnya kecil-kecil. Perakarannya menyebar dangkal dan tidak tahan terhadap kekurangan zat asam lebih dari sepuluh hari⁶.

2.2 Senyawa Metaboit Sekunder

2.2.1 Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini adalah zat warna merah, ungu, biru, dan kuning yang ditemukan didalam tumbuhan. Pada tumbuhan flavonoid terikat dengan gula sebagai glikosida dan aglikon flavonid yang mungkin terdapat dalam satu tumbuhan dalam bentuk kombinasi glikosida¹⁷.

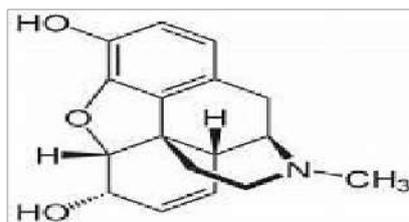


Gambar 2. Struktur Flavonoid¹⁷

Flavonoid (Gambar 2) merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan. Selain itu, juga merupakan senyawa fenil propanoid dengan kerangka karbon C6-C3-C6. Artinya pada kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C6 disambung dengan rantai alifatik tiga karbon. Sebagian besar senyawa flavonoid ini ditemukan di alam dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula¹⁸.

2.2.2 Alkaloid

Alkaloid (Gambar 3.) merupakan suatu golongan senyawa organik terbanyak yang ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan¹⁷. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini bagian dari cincin heterosiklik. Hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis. Alkaloid disebut juga senyawa nitrogen aromatik. Alkaloid umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit, yang berasal dari jaringan tumbuhan¹⁹. Sekitar 5500 alkaloid telah diketahui, merupakan zat tumbuhan sekunder yang terbesar.

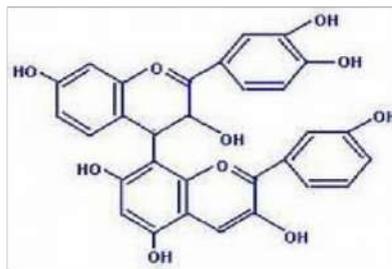


Gambar 3. Struktur Alkaloid¹⁷

Alkaloid sebenarnya bersifat racun bagi manusia namun, karena banyak mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga dipergunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Uji organoleptik juga sering dilakukan untuk menguji adanya kandungan alkaloid dalam daun atau buah segar yang dideteksi dengan adanya rasa pahit¹⁷.

2.2.3 Tanin

Tanin terdapat sangat luas dalam tanaman berpembuluh. Senyawa tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Dalam industri, tanin merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mampu mengubah kulit hewan yang mentah menjadi kulit hewan yang siap pakai karena kemampuannya menyambung silang protein¹⁷

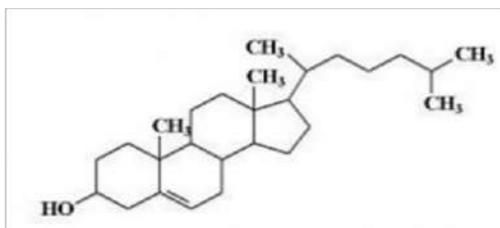


Gambar 4. Struktur Tanin¹⁷

Tanin pada tumbuhan diklasifikasikan menjadi tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis merupakan jenis tanin yang mempunyai struktur poliester yang mudah dihidrolisis oleh asam atau enzim, dan sebagai hasil hidrolisisnya adalah suatu asam polifenolat dan gula sederhana. Sedangkan tanin terkondensasi, yang sering disebut proantosianidin, merupakan polimer dari katekin dan epikatekin²⁰.

2.2.4 Steroid

Steroid merupakan terpenoid lipid yang dikenal dengan empat cincin kerangka dasar karbon yang menyatu. Struktur senyawanya pun cukup beragam. Perbedaan tersebut disebabkan karena adanya gugus fungsi teroksidasi yang terikat pada cincin dan terjadinya oksidasi cincin karbonnya. Steroid berperan penting bagi tubuh dalam menjaga keseimbangan garam, mengendalikan metabolisme dan meningkatkan fungsi organ seksual serta perbedaan fungsi biologis lainnya antara jenis kelamin²¹.

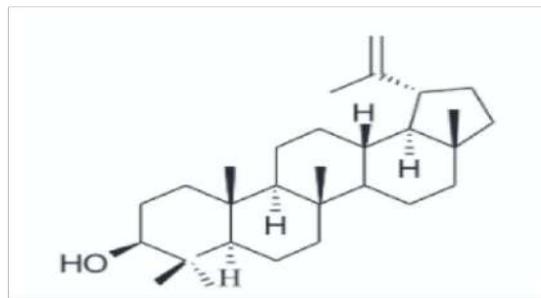


Gambar 5. Struktur Steroid²²

2.2.5 Terpenoid

Terpenoid merupakan suatu senyawa kimia yang tersusun oleh molekul isoprene yang kerangka karbonnya dibangun dengan penyambungan dua atau lebih satuan unit C₅ (atom karbonnya berjumlah 5). Senyawa terpenoid terdiri

atas beberapa macam senyawa monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang kurang menguap, dan yang tidak menguap triterpen dan sterol. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene yang secara biosintesis diturunkan dan hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa terpenoid ini merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk Kristal sering kali mempunyai titik leleh yang tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tidak ada kereaktifan kimianya¹⁷.



Gambar 6. Struktur Terpenoid²³

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar dari pengaruh sinar matahari langsung. Pembuatan ekstrak biasanya diawali dengan proses penyarian. Penyarian simplisia dilakukan dengan cara meserasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Namun, penyarian dengan campuran etanol dan air dapat dilakukan dengan cara meserasi atau perkolasi. Ekstraksi adalah proses yang dilakukan untuk memperoleh kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan²⁴.

2.3.2 Metode Ekstraksi

Menurut Depkes RI (2000), metode ekstraksi yaitu cara panas dan cara dingin²⁵.

Cara dingin

1. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan dengan temperatur ruangan

(kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus). Remaserasi adalah dilakukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

2. Perkolasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang berulang-ulang sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan.

Cara Panas

1. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
2. Soklet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang berulang-ulang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
3. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur 40-50°C.
4. Infudasi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).
5. Dekoktasi adalah infus pada waktu yang lebih lama (30 menit) dan temperatur sampai titik didih air.

2.4 Toksisitas

2.4.1 Pengertian Toksisitas

Toksisitas merupakan suatu keadaan yang menandakan adanya efek toksik atau racun yang terdapat dalam suatu bahan sebagai sediaan dosis tunggal atau campuran²⁶. Uji toksisitas terdiri dari dua jenis, yaitu uji toksisitas umum (akut, subakut, kronis) dan uji toksisitas khusus. Uji toksisitas umum dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu obat pada hewan uji. Uji toksisitas khusus dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas khusus, seperti uji teratogenik, uji mutagenic dan uji karsinogenik²⁷.

2.4.2 Macam Toksisitas

Menurut Rahayu dan Solihat (2018)²⁸, toksisitas dapat dinyatakan berdasarkan waktu hingga timbulnya gejala keracunan (onset), yaitu:

- a. Toksisitas akut, jika efek timbul segera atau paparan durasi pendek dalam hitungan jam sampai hari setelah terpapar bahan toksik. Efek akut dapat *reversibel* atau tidak dapat dipulihkan.
- b. Toksisitas sub akut, jika gejala keracunan timbul dalam jangka waktu sedang (minggu sampai bulan) setelah terpapar bahan toksik dalam dosis tunggal.
- c. Toksisitas kronis, jika akibat keracunan baru timbul setelah terpapar bahan toksik secara berulang-ulang dalam jangka waktu yang panjang (dalam hitungan tahun) atau bahkan dekade. Efek kronis terjadi setelah terpapar dalam waktu lama (bulan, tahun, dekade) dan bertahan setelah paparan telah berhenti.

2.4.3 Ukuran – Ukuran Dalam Toksisitas

Menurut Rahayu dan Solihat (2018)²⁸, toksisitas dapat dinyatakan dengan ukuran sebagai berikut:

- a. LD50 yaitu jumlah (dosis) efektif senyawa kimia yang mampu menyebabkan kematian 50% populasi hewan coba yang terpapar dengan berbagai cara, dinyatakan dengan satuan mg/kg berat badan. Semakin tinggi LD50, semakin rendah adalah toksisitas.

Tabel 1. Toksisitas menurut kategori LD50

Kategori	LD ₅₀ (mg/kgBB)
Supertoksik	<5
Amat sangat toksik	5-50
Sangat toksik	50-500
Toksik sedang	500-5000
Toksik ringan	5000-15.000
Praktis tidak toksik	>15.000

LD50 yaitu konsentrasi senyawa kimia dalam lingkungan (air dan udara) yang menyebabkan kematian 50% populasi hewan coba dalam jangka waktu tertentu. Dinyatakan dengan satuan mg/L (*part per million = ppm*).

- b. ED50 (dosis efektif) adalah dosis yang menyebabkan efek spesifik selain mematikan pada 50% hewan.
- c. Ambang dosis adalah tingkat dosis rendah ini dimana tidak ada efek yang dapat diamati. Ambang batas diperkirakan ada untuk efek tertentu, seperti efek toksik akut; tapi tidak untuk yang lain, seperti efek karsinogenik.

2.4.5 Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis, respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia²⁹.

2.4.6 Macam Uji Toksisitas

1. Uji toksisitas akut oral

Uji toksitas akut oral merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis yang diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok, kemudian dilakukan pengamatan adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama masa percobaan dan yang hidup sampai akhir diotopsi untuk evaluasi adanya gejala-gejala toksisitas²⁹.

Tujuan uji toksistas akut oral adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat dipergunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD₅₀ suatu sediaan dan penentuan penggolongan sediaan serta pelabelan¹³.

2. Uji toksisitas subkronik oral

Uji toksisitas subkronik oral merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Prinsip dari uji ini adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok selama 28 atau 90 hari, jika diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat efek tertunda atau efek yang bersifat *reversible*. Tujuannya untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam waktu tertentu, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level/ NOAEL*) dan mempelajari efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut¹³.

3. Uji toksisitas kronis oral

Uji toksisitas kronis oral merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sampai seluruh umur hewan. Tujuannya untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang selama waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang menimbulkan efek toksik (*NOAEL*). Uji toksisitas kronis harus dirancang sedemikian rupa sehingga dapat diperoleh informasi toksisitas secara umum meliputi efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis, dan hispatologi¹³.

4. Uji Teratogenik

Uji teratogenik merupakan suatu pengujian untuk memperoleh informasi adanya abnormalitas fetus yang terjadi karena pemberian sediaan uji selama masa pembentukan organ fetus (masa organogenis) informasi tersebut meliputi abnormalitas bagian luar fetus (morfologi), jaringan lunak serta kerangka fetus¹³.

5. Uji Sensitisasi Kulit

Uji sensitisasi kulit merupakan suatu pengujian untuk mengidentifikasi suatu zat yang berpotensi menyebabkan sensitisasi kulit. Prinsipnya hewan uji diinduksi dengan dan tanpa *Freund's Complete Adjuvant (FCA)* secara injeksi intra dermal dan topikal untuk membentuk respon imun, kemudian dilakukan uji tantangan (*challenge test*). Tingkat dan derajat reaksi kulit dinilai berdasarkan skala *Magnussin* dan *Kligman*¹³.

6. Uji Iritasi Mata

Uji iritasi mata merupakan suatu pengujian pada hewan uji (kelinci albino) untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemaparan sediaan uji pada mata. Prinsip uji iritasi mata adalah sediaan uji dalam dosis tunggal dipaparkan kedalam salah satu mata pada beberapa hewan uji dan mata yang tidak diberikan perlakuan digunakan sebagai kontrol. Derajat iritasi/korosi dievaluasi dengan pemberian scroll terhadap cedera pada konjungtiva, kornea dan iris pada interval tertentu. Tujuan uji iritasi mata adalah untuk memperoleh informasi adanya kemungkinan bahaya yang timbul pada saat sediaan uji terpapar pada mata dan membran mukosa mata¹³

7. Uji Iritasi Akut Dermal

Uji iritasi akut dermal merupakan suatu pengujian pada hewan uji (kelinci albino) untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemaparan sediaan uji pada dermal selama 3 menit sampai 4 jam. Tujuan pengujian ini adalah untuk menentukan adanya efek iritasi pada kulit serta untuk menilai dan mengevaluasi karakteristik suatu zat apabila terpapar pada kulit¹³.

8. Uji Iritasi Mukosa Vagina

Uji iritasi mukosa vagina merupakan suatu pengujian yang digunakan untuk menguji sediaan uji yang kontak langsung dengan jaringan vagina dan tidak dapat diuji dengan cara lain. Tujuan uji iritasi mukosa vagina adalah untuk mengevaluasi keamanan dari alat-alat kesehatan yang kontak dengan mukosa vagina¹³.

9. Uji Toksisitas Akut Dermal

Uji toksisitas akut dermal merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemaparan suatu sediaan uji dalam sekali pemberian dalam rute dermal. Tujuan uji toksisitas akut dermal adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis untuk merancang uji toksisitas selanjutnya serta untuk menetapkan nilai LD₅₀ suatu zat, penentuan penggolongan zat, menetapkan informasi pada label dan informasi absorpsi pada kulit¹³.

10. Uji Toksisitas Subkronis Dermal

Uji toksisitas subkronik dermal merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan melalui rute dermal pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak boleh lebih dari 10% seluruh umur hidup hewan. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makroskopik pada setiap organ maupun jaringan, serta dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis, dan histopatologi. Tujuan pada pengujian ini adalah untuk mendeteksi efek toksik zat yang belum terdeteksi pada uji toksisitas akut dermal, mendeteksi efek toksik setelah pemaparan sediaan uji melalui kulit secara berulang dalam jangka waktu tertentu, mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu¹³.

2.4.7 Mekanisme Efek Toksik

Suatu kerja toksik pada umumnya adalah hasil dari sejumlah besar proses, sebagiannya sangat kompleks. Mekanisme kerjanya dapat dibedakan atas dua jenis yaitu, kerja toksik yang dilandasi oleh interaksi kimia antara suatu zat atau metabolitnya dengan substrat biologi atau suatu perubahan kimia dari substrat biologi sebagai akibat dari suatu perubahan kimia zat dan efek toksik karena terjadinya interaksi yang reversibel antara zat asing dengan substrat biologi³⁰.

Suatu kerja toksik pada umumnya hasil dari proses fisika, biokimia dan biologi yang rumit dan kompleks. Menurut Berniyanti (2018)³⁰ proses tersebut biasanya dikelompokkan menjadi tiga fase yaitu:

1. Fase Eksposisi (Farmasetika)

Pada fase ini toksikan dapat diubah melalui reaksi kimia menjadi senyawa yang lebih toksik atau kurang toksik dari senyawa awal. Apabila objek biologi mengalami kontak dengan suatu zat kimia, maka efek biologi atau efek toksiknya hanya akan terjadi setelah zat tersebut terabsorpsi.

2. Fase Toksikokinetika

Pada fase ini terdapat dua proses yang berperan penting antara lain:

a. Invasi/transport (absorpsi, distribusi, dan ekskresi) dan evasi (biotransformasi dan ekskresi) yang sangat menentukan daya kerja zat.

b. Perubahan metabolic atau biotransformasi

Jalur utama ekskresi racun dan metabolik yaitu melalui ginjal. Ginjal memetabolisme racun sama dengan cara yang sama pada saat memetabolisme larutan serum, yaitu melalui filtrasi pasif glomerulus, difusi tubular, dan sekresi aktif tubular. Molekul yang lebih kecil dapat mencapai tubulus melalui filtrasi pasif glomerulus, hal ini dikarenakan pori-pori kapiler glomerulus dapat memungkinkan molekul dengan ukuran sampai sekitar 70.000 Dalton untuk melewatinya. Namun, molekul tersebut haruslah molekul yang berikatan dengan protein serum besar harus melalui sekresi aktif pada tubular untuk dapat dikeluarkan.

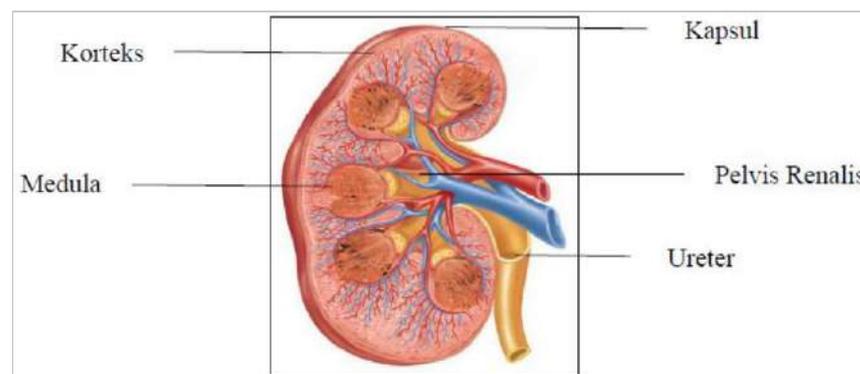
3. Fase Toksikodinamika

Fase toksikodinamika atau farmakodinamika meliputi interaksi antara molekul zat kimia toksik dengan tempat kerja spesifik yaitu reseptor, yang merupakan komponen sel atau organisme yang berinteraksi dengan toksin dan yang mengawali mata rantai peristiwa biokimia menuju terjadinya suatu efek dari toksin yang diamati.

2.5 Ginjal

2.5.1 Anatomi Ginjal

Ginjal berupa organ yang berwarna merah tua dengan bentuk kacang merah terletak pada retroperitoneal atau posterior peritoneum rongga abdomen. Setiap ginjal dikelilingi tiga lapisan jaringan yaitu, fascia ginjal adalah lapisan superfisial berupa lapisan tipis jaringan ikat yang mengikat ginjal ke dinding abdomen dan jaringan sekitarnya, jaringan adipose yang mengelilingi ginjal dan berfungsi melindungi ginjal dari trauma, dan kapsul ginjal merupakan lapisan dalam dan terdiri dari lapisan jaringan ikat yang tersambung dengan lapisan ureter. Kapsul ginjal berfungsi sebagai penghalang terhadap trauma dan membantu menjaga bentuk ginjal³¹.



Gambar 7. Anatomi Ginjal³²

2.5.2 Fungsi Ginjal

Ginjal berfungsi dalam mempertahankan komposisi cairan ekstraseluler yang menunjang fungsi semua sel dalam tubuh. Kemampuan ginjal untuk mengatur komposisi cairan ekstraseluler merupakan fungsi per satuan waktu yang di atur oleh epitel tubulus. Untuk zat yang tidak diekskresi oleh epitel tubulus, pengaturan volumenya berhubungan dengan laju filtrasi glomerulus (LFG). Seluruh zat yang larut dalam filtrasi glomerulus dapat direabsorpsi atau disekresi oleh tubulus³³.

Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang sangat penting untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang tidak sengaja masuk ke dalam tubuh akibatnya ginjal menjadi salah satu organ sasaran

utama dari efek toksik. Urin sebagai jalur utama ekskresi, dapat mengakibatkan ginjal memiliki volume yang tinggi, megkonsentrasikan toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus dan mengaktifkan toksikan tertentu³⁴.

2.5.3 Histologi Ginjal

Satuan fungsi ginjal terdiri atas nefron dan duktus koligentes yang menampung curahan nefron, dibagian korteks setiap ginjal terdapat jutaan nefron. Nefron ini terdiri atas dua komponen, yaitu korpuskulum renal dan tubuli distal (tubulus kontortus proksimal, ansa henle, tubulus kontortus distal dan tubulus koligentes). Glomerulus dan tubulus adalah bagian dari ginjal yang mudah mengalami kelainan sehingga akan berdampak secara morfologis dan fungsional jika terjadi kerusakan. Kerusakan yang terjadi berupa edema pada glomerulus, penyempitan glomerulus, degenerasi lemak, kerusakan inti piktonik, kongesti, dan infiltrasi sel radang³⁵.

2.5.4 Kreatinin

Kreatinin adalah produk biokimia metabolisme otot dan dieliminasi dari tubuh melalui ginjal. Jumlah kreatinin di dalam darah digunakan untuk menentukan bersihan kreatinin (CrCl), yaitu pengaturan fungsi ginjal dan perkiraan laju filtrasi glomerulus yang sebenarnya³⁶. Konsentrasi kreatinin dalam urin dapat menentukan kerusakan pada ginjal, diabethic nephropathy dan laju filtrasi glomerulus. Kreatinin dibentuk oleh tubuh dari pemecahan senyawa kreatin dan fosfokreatin dengan jumlah kreatinin sekitar 2% dari total kreatin³⁷.

Kreatinin memiliki berat molekul 113 Da (Dalton). Kreatinin di filtrasi di glomerulus dan direabsorpsi di tubular. Kreatinin plasma disintesi di otot skelet sehingga kadarnya tergantung pada massa otot dan berat badan. Nilai normal kadar kreatinin dalam serum pada pria 0,7-1,3 mg/dL sedangkan pada wanita 0,6-1,1 mg/dL. Proses awal biosintesis kreatinin berlangsung di ginjal yang melibatkan asam ami arginine dan glisin. Menurut beberapa penelitian setiap harinya 1,1% kreatin diubah menjadi kreatinin. Dalam pembentukan kreatinin tidak dikenal *reuptake* oleh tubuh sehingga sebagian besar kreatinin dieksresikan lewat ginjal. Kemampuan ginjal dalam memfiltrasi kreatinin akan berkurang jika terjadi kerusakan ginjal dan kreatinin dalam serum juga akan meningkat.

Peningkatan kadar kreatinin dua kali lipat mengindikasikan adanya kerusakan ginjal sebesar 50%³⁸.

Klirens suatu zat adalah volume plasma yang dibersihkan dari zat tersebut dalam waktu tertentu. Klirens kreatinin dilaporkan dalam mL/menit dan dapat dikoreksi dengan luas permukaan tubuh. Klirens kreatinin merupakan pengukuran *Glomerular filtration rate* (GFR) yang tidak absolut karena sebagian kecil kreatinin direabsorpsi oleh tubulus ginjal dan sekitar 10% kreatinin urin disekresikan oleh tubulus. Namun, pengukuran klirens kreatinin memberikan informasi mengenai perkiraan nilai GFR. Pengukuran klirens kreatinin dengan menggunakan perhitungan telah menjadi standar untuk menentukan GFR. Perhitungannya tergantung pada kadar kreatinin urin yang di eksresikan dalam 24 jam³⁹.

2.6 Hewan Uji

Mencit merupakan hewan yang sering digunakan pada penelitian laboratorium sebagai hewan uji yaitu sekitar 40-80%. Karena mencit memiliki banyak keunggulan yaitu siklus hidup yang pendek jumlah anak kelahiran banyak variasi sifat tinggi dan mudah dalam penanganannya⁴⁰.

Menurut Priyambodo (2003)⁴¹ mencit (Gambar 3) memiliki taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Classis	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus</i> L.



Gambar 8. Mencit (*Mus musculus*)⁴¹

Tabel 2. Data Biologi Mencit (*Mus musculus*)⁴²

Kriteria	Keterangan
Berat Badan	
- Jantan	20-40 gram
- Betina	18-35 gram
Lama hidup	1-3 Tahun
Temperatur tubuh	36,5 ⁰ C
Kebutuhan air	Ad libitum
Kebutuhan makan	4-5 gram/hari
Pubertas	28-29 hari
Lama kebuntingan	17-21 hari

Mencit termasuk hewan pengerat yang cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, dan variasi genetiknya cukup besar. Mencit merupakan hewan percobaan yang efisien karena mudah dipelihara, tidak memerlukan tempat yang luas, waktu kebuntingan yang singkat, dan banyak memiliki anak. Mencit dan tikus putih memiliki banyak data toksikologi, sehingga mempermudah membandingkan toksisitas zat-zat kimia⁴³.

Kondisi biologis dan fisiologis mencit mempunyai lama hidup 1-2 tahun, lama produksi ekonomis 9 bulan, lama bunting 19-21 hari. Umur dewasa mencit 35 hari dan umur dikawinkan 8 minggu. Berat dewasa mencit rata-rata 18-35 g dan berat lahir 0,5-1.0gram. Suhu rektal mencit 0,50⁰C, pernapasan 140-180 kali/menit, dan denyut jantung 600-650 kali⁴⁴.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik dan Laboratorium Animal Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Laboratorium Dasar Universitas Jambi, dan Laboratorium Fakultas Peternakan di Universitas Jambi. Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan April–Juni 2021.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas beker (Pyrex®), gelas erlenmeyer (Pyrex®), alat bedah (*Wells spencer*®), kertas saring, grinder, cawan porselin, mortir dan stamper, neraca hewan (*Presica Geinweigher GW-1500*®), rotary evaporator (*Heidolph VV-300*®), sonde oral ukuran 1 ml (*Terumo*®), timbangan analitik (Kern®), corong, *hot plate*, kandang mencit, kawat, tempat pakan dan minuman hewan.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu daun sungkai (*Peronema ceneszens Jack*) yang telah di determinasi di Herbarium Universitas Andalas, etanol 70%, HCl, Pereaksi Dragendroff, Pereaksi Mayer, FeCl₃, reagen kreatinin, NaCl 0,9%, larutan NBF (Neutral Buffered formaline) 10%, alcohol (70%,80%,90%,95% dan 100%), xylol, Haemotoksin Eosin (HE), NA-CMC, parafin dan Aquadest. Sampel daun sungkai diperoleh dari kampus Universitas Jambi, Mendalo Darat, Kecamatan Jambi Luar Kota, Kab. Muaro Jambi, Provinsi Jambi.

3.2.3 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina yang berbadan sehat sebanyak 35 ekor dengan bobot badan 20-30 gram. Mencit dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan secara acak dengan masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor mencit putih betina. Mencit di aklimatisasi selama 7 hari dengan pakan standar dan minum yang cukup. Selama waktu aklimatisasi berat badan naik tidak

lebih dari 10% serta menunjukkan tingkahlaku normal. Jika terjadi penurunan berat badan, mencit tidak dimasukkan dalam kategori hewan uji.

3.2.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan *post test control group design* dengan 5 kelompok perlakuan (K-, P1, P2, P3, dan P4) untuk setiap kelompok perlakuan diberi nama K- (K-1, K-2, K-3, K-4, K-5, K-6, K-7); P1 (P11, P12, P13, P14, P15, P16, P17); P2 (P21, P22, P23, P24, P25, P26, P27); P3 (P31, P32, P33, P34, P35, P36, P37); dan P4 (P41, P42, P43, P44, P45, P46, P47).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam beberapa tahap yaitu pengambilan dan penyiapan sampel, pembuatan simplisia daun sungkai, pembuatan ekstrak etanol daun sungkai, karakterisasi ekstrak dan uji toksisitas akut ekstrak etanol daun sungkai.

3.3.1 Pengambilan Dan Penyiapan Sampel

Sampel daun sungkai diambil di daerah kampus Universitas Jambi, Mendalo Darat, Kecamatan Jambi Luar Kota, Kab. Muaro Jambi, Provinsi Jambi. Pengambilan sampel dilakukan dipagi hari, sampel diambil sebanyak 2 kg dengan cara memotong bagian yang masih segar (hijau) dari tanaman daun sungkai menggunakan pisau atau alat pemotong lainnya. Cara pemanenan daun berdasarkan pedoman umum panen dan pascapanen tanaman obat ialah daun dipanen dari tanaman dewasa, untuk tanaman berupa pohon dihindari memanen keseluruhan daun yang ada pada tanaman sehingga proses fisiologi tidak terganggu⁴⁵.

3.3.2 pembuatan Simplisia

Pemilihan tanaman dan bagian yang akan digunakan dalam penelitian adalah daun sungkai yang masih berwarna hijau tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Daun sungkai yang telah dikumpulkan disortasi basah guna untuk memisahkan daun dan tangkai daun, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada daun, selanjutnya daun sungkai dirajang kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Daun

sungkai dikeringkan dengan cara dikering anginkan didalam ruangan tanpa sinar matahari langsung selama \pm 14 hari. Kemudian sampel kering ditimbang hingga berat konstan. Lalu diserbuk menggunakan alat penyerbuk (grinder), selanjutnya diayak hingga diperoleh serbuk simplisia⁴⁶. Bobot simplisia dihitung hasil rendemennya dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen Simplisia (\%)} = \frac{\text{Berat simplisia yang diperoleh ((g)}}{\text{Berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

3.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema cenescens* Jack)

Ekstraksi daun sungkai dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Serbuk daun sungkai 750 gram dilarutkan dalam etanol 70% sehingga semua serbuk terendam dan dilakukan maserasi dengan syarat dilakukan pengadukan setiap hari. Pembuatan ekstrak mengacu pada farmakope herbal yaitu dimana ekstrak terbuat dari serbuk kering simplisia dengan cara maserasi. Dengan cara memasukkan satu bagian serbuk kering simplisia (750 gram) ke dalam maserator, lalu ditambahkan 10 bagian (7,5 liter) pelarut lalu direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, lalu diamkan selama 18 jam. Maserat yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan corong. Proses penyaringan dilakukan secara berulang-ulang dua kali dengan jumlah pelarut setengah dari jumlah pelarut awal. Peneliti melakukan penyarian sebanyak dua kali kemudian, maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang didapat kemudian disimpan di dalam lemari pendingin dibagian *refrigerator*²⁴. Ekstrak etanol yang diperoleh dihitung hasil rendemennya dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Berat serbuk yang dieksrak (g)}} \times 100\%$$

3.3.4 Karakterisasi Ekstrak

Karakterisasi sampel yang dilakukan diantaranya pemeriksaan parameter spesifik dan non-spesifik serta skrining fitokimia²⁵.

3.3.4.1 Parameter Spesifik

Identitas. Identifikasi tata nama meliputi nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama Indonesia tumbuhan²⁵.

Organoleptis. Identifikasi organoleptis menggunakan panca indera dengan mendeskripsikan bau, bentuk, rasa, dan warna²⁵.

3.3.4.2 Parameter Non Spesifik

Kadar Air. Masukkan lebih kurang 1 gram ekstrak dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Lanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25 %²⁵.

Kadar Abu Total. Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram kedalam krus yang telah ditara, kemudian dipijarkan perlahan-lahan dengan dinaikkan suhu secara bertahap hingga mencapai suhu 600°C hingga ekstrak telah bebas dari karbon. Kemudian, sisa abu didinginkan lalu ditimbang dalam persen terhadap berat sampel awal²⁵.

$$\% \text{ Kadar Abu Total} = \frac{(\text{Berat cawan+abu}) - (\text{Berat cawan kosong})}{(\text{Berat cawan+ekstrak}) - (\text{Berat cawan kosong})} \times 100\%$$

3.3.4.3 Skrining Fitokimia

Untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sungkai, dilakukan uji skrining fitokimia dengan analisis yang meliputi:

Uji Flavonoid

Sampel uji ditambahkan air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, kedalam filtrat ditambahkan serbuk magnesium dan asam klorida pekat dan amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol⁴⁷.

Uji Alkaloid

Uji skrining fitokimia senyawa golongan alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode Culvenor dan Fitzgerald. Sampel segar di ekstraksi dengan kloroform beramonia lalu disaring. Selanjutnya ke dalam filtrat ditambahkan asam sulfat 2N dan dikocok sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam (atas) dipipet dan dimasukkan ke dalam 3 buah tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer. Tabung reaksi kedua ditambahkan dua tetes pereaksi dragendorf dan tabung reaksi ketiga sebagai kontrol. Adanya senyawa alkaloid

ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi pertama dan timbulnya endapan coklat kemerahan pada tabung reaksi kedua⁴⁷.

Uji Fenol/Tanin

Sampel dididihkan selama 3 menit dalam air suling lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%, jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin⁴⁸.

Uji steroid dan Terpenoid (Tes Lieberman-Buchard)

Sampel uji dimaserasi selama 2 jam dengan 20 mL n-heksan, lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa ditambahkan beberapa tetes pereaksi Liebermann-Burchard. Timbulnya warna biru atau biru hijau menunjukkan adanya steroid, sedangkan warna merah, merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid⁴⁷.

3.3.5 Uji toksisitas akut ekstrak daun sungkai

Pengujian dilakukan dengan berapata tahapan:

3.3.5.1 Penentuan Dosis Ekstrak Daun Sungkai

Dosis ekstrak etanol daun sungkai yang digunakan untuk uji toksistas akut mengacu pada BPOM (2014)¹³ yaitu 175, 550, 1.750 dan 5000 mg/kgBB dengan 5 kelompok mencit yang masing-masing terdiri dari 7 ekor mencit diberikan larutan secara oral.

3.3.5.2 Pengelompokan Hewan Percobaan

Mencit sebanyak 35 ekor dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan secara acak dengan masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor mencit putih betina.

Perlakuan yang akan diberikan adalah:

- K- : Na-CMC 0,5%
- P1 : 175mg/kgBB ekstrak etanol daun sungkai
- P2 : 550mg/kgBB ekstrak etanol daun sungkai
- P3 : 1.750mg/kgBB ekstrak etanol daun sungkai
- P4 : 5000mg/kgBB ekstrak etanol daun sungkai

3.3.5.3 Pembuatan Suspensi Na CMC 0,5%

Na CMC ditimbang sejumlah 0,5 gr lalu dikembangkan dalam aquades yang dipanaskan pada suhu 60°C sebanyak 10 mL (20 kali berat Na CMC) selama kurang lebih 30 menit kemudian dihomogenkan dan larutan dicukupkan hingga 100 mL.

3.3.5.4 Pembuatan Suspensi Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun Sungkai

Ekstrak daun sungkai ditimbang dengan dosis 175mg/KgBB, 550mg/KgBB, 1750mg/KgBB, dan 5000mg/KgBB masing-masing dimasukkan ke dalam lumpang dan ditambahkan Na-CMC 0,5% sedikit demi sedikit sebanyak 10mL pada masing-masing dosis ekstrak dan digerus hingga homogen.

3.3.5.5 Pengujian Toksisitas Akut

Perlakuan pengujian ini mengacu pada BPOM (2014) yaitu mencit dipuasakan sebelum diberikan perlakuan namun air minum boleh diberikan. Setelah dipuasakan, mencit ditimbang dan diberikan sediaan uji dalam dosis tunggal dengan menggunakan sonde. Setelah diberikan perlakuan, pakan diberikan kembali setelah 1-2 jam. Diamati gejala toksisitas pada mencit secara periodic selama 4 jam pertama dan sehari sekali selama 14 hari. Setelah 14 hari, dihitung jumlah mencit yang mati dan yang hidup untuk dihitung nilai LD₅₀ nya¹³.

3.3.5.6 Pengamatan Gejala Toksisitas

Setelah pemberian larutan uji pada mencit, diamati gejala toksisitas yang muncul pada mencit seperti mencit mengalami penurunan aktivitas gerak, agresivitas, gerakan pernafasan, tidur, diare, dan kematian.

3.3.5.7 Pengukuran Nilai LD₅₀

Setelah 14 hari pengamatan gejala toksisitas pada mencit, selanjutnya dihitung jumlah mencit yang mati dan yang masih hidup untuk dihitung nilai LD₅₀ nya menggunakan perhitungan *Thompson well*.

3.3.5.5 Pengukuran Nilai LD₅₀ dan Pengamatan Toksisitan Tertunda

Pada pengujian ini mencit dibagi menjadi lima kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari tujuh ekor mencit. Ekstrak etanol daun sungkai yang sudah disuspensikan dengan Na-CMC dan dibuat dengan berbagai dosis diberikan secara oral kepada hewan uji dengan menggunakan sonde oral. Pengamatan gejala

toksik dibuat dan dicatat secara sistematis selama 4 jam pada menit ke 5, 30, 60, 120, 240, 24 jam, dan 14 hari setelah pemberian ekstrak. Jumlah mencit yang selamat dicatat setelah 24 jam dan kemudian dipelihara selama 14 hari untuk pengamatan harian yang lebih lanjut. Pengamatan visual ini termasuk mencit mengalami penurunan aktivitas gerak, agresivitas, gerak pernapasan, tidur, diare dan kematian. Efek toksik dari ekstrak dinilai berdasarkan mortalitas, yang dinyatakan sebagai LD₅₀. Selama percobaan, hewan-hewan ditimbang 48 jam sekali, asupan makanan dan air tetap dipantau. Pada akhir percobaan, semua hewan yang selamat dipuasakan semalaman dan dikorbankan. Kemudian dilakukan pembedahan pada hewan untuk diambil organ ginjal dan dilakukan pemeriksaan histologi pada organ tersebut.

3.3.5.6 Pemeriksaan Kadar Kreatinin

Penetapan kadar kreatinin dilakukan dengan metode kinetic test without deproreinisasi Jaffe. Darah mencit ditampung dengan tabung reaksi sebanyak 2mL, kemudian diamkan selama 15 menit, lalu disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga didapatkan serum (bagian yang jernih) dari darah. Serum darah diambil sebanyak 50 µL ditambahkan 1000 µL reagen kreatinin (4 bagian reagen 1 natrium hidroksida dan 1 bagian reagen 2 asam pikrat) dalam tabung reaksi, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Pengukuran dilakukan menggunakan alat spektrofotometer pada suhu 37⁰C pada panjang gelombang 492 nm, sehingga didapatkan kadar kreatinin serum¹³.

3.3.5.7 Pemeriksaan Rasio Berat Organ Ginjal

Organ ginjal yang ditimbang dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan berat absolut. Kemudian dihitung berat organ relative dengan rumus:

$$\text{Rasio Berat Organ} = \frac{\text{Berat Organ (gr)}}{\text{Berat Badan Mencit (gr)}}$$

3.3.5.8 Pemeriksaan Histologi Organ Ginjal Mencit

Pemeriksaan ini mengacu pada Widodo (2018), organ ginjal hewan uji diambil dan dibersihkan dengan NaCl 0,9%. Kemudian, dibuat preparat histologi ginjal dengan beberapa tahapan *fixation, dehydration, clearing, infiltrasi, embedding, sectioning, staining, dan mounting*⁴⁹.

Pertama, sampel organ ginjal di fiksasi dalam larutan NBF selama minimal 2 hari. Selanjutnya sampel organ di dehidrasi didalam alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut). Kemudian, dijernihkan dalam *xytol* (*cleaning*), selanjutnya di infiltasi dengan parafin I, parafin II, dan Parafin III. Selanjutnya dilakukan embedding atau pembuatan blok parafin. Kemudian dilakukan sectioning yaitu pemotongan ginjal menggunakan mikrotom dengan ukuran 3-4 μ m dan dipindahkan dalam incubator (*water bath*) dengan suhu 30-40⁰C hingga mengembang lalu diletakkan pada gelas objek dan disimpan dalam incubator (*hot plate*) dengan suhu 40-45⁰C hingga jaringan melekat sempurna.

Hasil sayatan diwarnai dengan pewarnaan baku *Hematoksin Eosin* (HE). Pewarnaan HE digunakan untuk melihat struktur jaringan yang diduga mengalami perubahan patologis. Proses pewarnaan diawali dengan *deparaffinisasi* jaringan dengan *xytol* dan rehidrasi dengan alkohol bertingkat, kemudian diletakkan kembali di dalam *xytol* selama 24 jam untuk penjernihan. Selanjutnya jaringan diambil dan diberi enthelan sebelum ditutup dengan *cover glass* (*mounting*). Terakhir dianalisis menggunakan mikroskop dengan kamera digital Leica ICC50⁴⁹.

3.3.5.9 Pengamatan Histologi Ginjal Mencit Secara Mikroskopik

Preparat diamati pada 5 lapang pandang yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 40 x 10. Selanjutnya pada setiap preparat dihitung nilai rata-rata degenerasi dengan cara menjumlahkan persentase sel yang mengalami kerusakan lalu dibagi 5 yang mengacu pada (Tabel 3). Data yang diperoleh dibandingkan antara kelompok kontrol dan keempat kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sungkai:

Tabel 3. Kriteria penilaian derajat kerusakan tubulus ginjal menggunakan metode skoring Vanien⁴⁹.

Tingkat Perubahan	Nilai
Tidak ada sel yang nekrotik	0
<50% sel yang mengalami nekrotik	1
51-70% sel yang mengalami nekrotik	2
71-100% sel yang mengalami nekrotik	3

Keterangan:

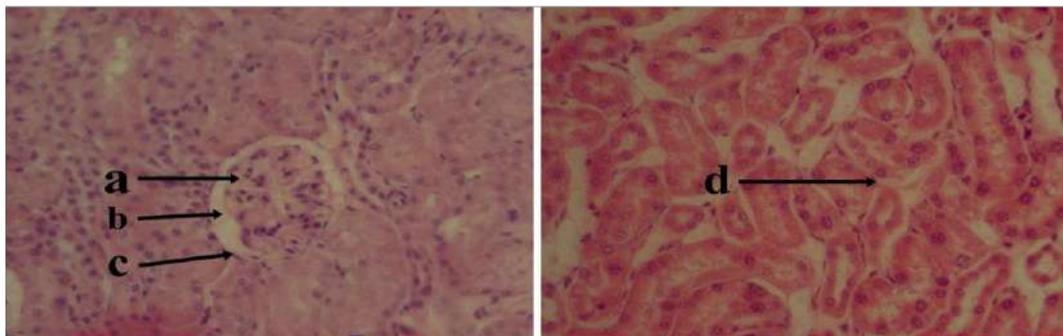
0 = Normal

1 = Kerusakan rendah

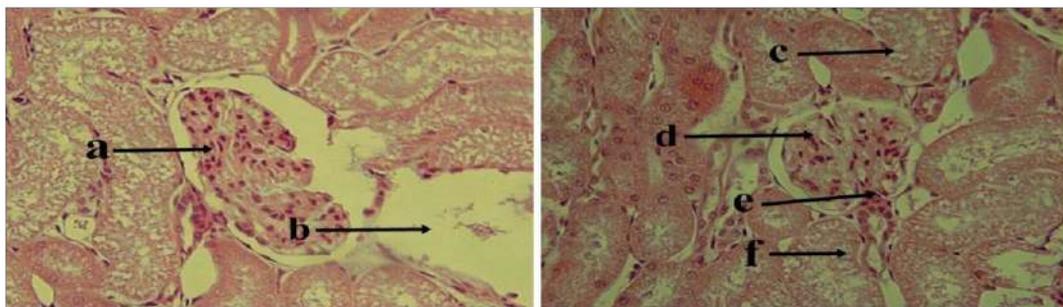
2 = Kerusakan sedang

3 = Kerusakan tinggi

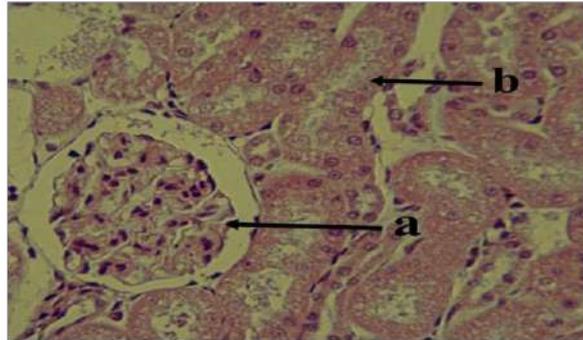
Sel yang tergenerasi dan derajat kerusakan tubulus histologi ginjal menurut Nurdiniyah *et al* (2015)⁵⁰.



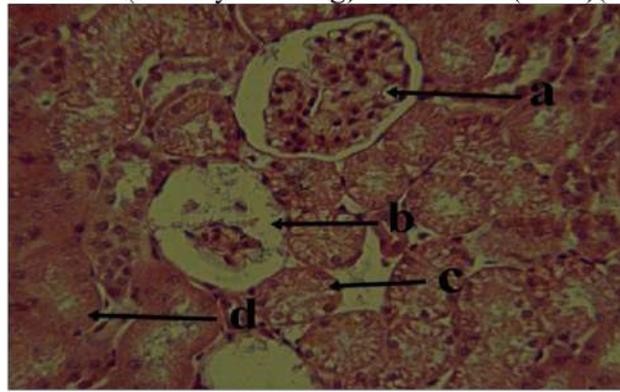
Gambar 9. Gambaran mikroskopis kelompok K0. A= Glomerulus, b= Ruang Bowman, c= Kapsula Bowman, d= Sel-sel tubulus (400x) (Pewarnaan HE)



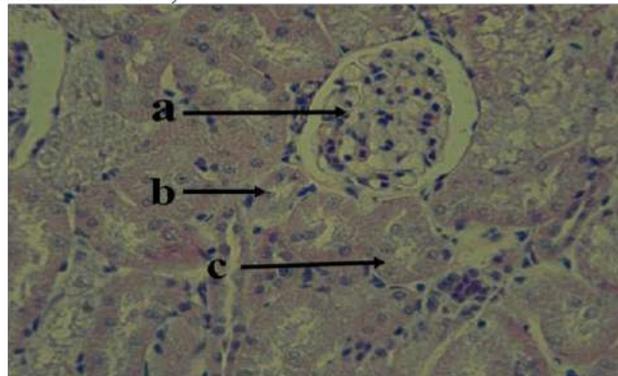
Gambar 10. Gambaran mikroskopis kelompok (P1). a= Glomerulus melisut, b= Glomerulus membentuk siste, c= Degenerasi lemak sel tubulus, d= Glomerulus membesar, e= Adhesi glomerulus dengan kapsula Bowman, f= Nekrosis sel-sel tubulus (400x) (Pewarnaan HE)



Gambar 11. Gambaran mikroskopis kelompok (P2). a=Glomerulus, b= Degenerasi bengkak keruh (cloudy swelling) sel tubulus (400x)(Pewarnaan HE)



Gambar 12. Gambaran mikroskopis kelompok (P3). a=Glomerulus normal, b= Sel-sel tubulus normal, c= Degenerasi bengkak keruh (cloudy swelling) sel tubulus (400x) (Pewarnaan HE)



Gambar 13. Gambaran mikroskopis kelompok (P4). a= Glomerulus membengkak, b= Glomerulus melisut, c= Nekrosis sel-sel tubulus, d= Degenerasi bengkak keruh (cloudy swelling) sel tubulus (400x) (Pewarnaan HE).

3.3.5.10 Variabel Penelitian

1. Variasi dosis yang digunakan
2. Gambaran histologi ginjal mencit
3. Efek toksik ekstrak etanol daun sungkai terhadap organ ginjal
4. Nilai kreatinin

5. Berat organ
6. Nilai LD₅₀ ekstrak etanol daun sungkai

3.4 Analisa Data

3.4.1 Penentuan LD50 (Metode Thomson dan Weil)

Metode ini merupakan metode yang cukup banyak digunakan karena tidak memerlukan hewan percobaan yang terlalu banyak dan mempunyai tingkat kepercayaan atau “*confiden level*” yang cukup tinggi. Nilai LD₅₀ dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{Log LD}_{50} = \text{Log D} + d (f+1)$$

Keterangan:

m = harga LD50

D = dosis terkecil yang digunakan

d = log r (kelipatan dosis)

f = factor

Rentang Rentang LD50 dapat ditentukan dengan:

Batasan atas LD50 = antilog (log m + 2 δ log m)

Batasan bawah LD50 = antiog (log m – 2 δ log m)

δ log m = d x δ f

δ f = factor dalam table biomedik.

3.4.2 Data Kualitatif Toksisitas Tertunda dan Histologi Ginjal

Data kualitatif Toksisitas tertunda dan histologi dianalisis secara deskriptif. Pengamatan visual pada toksisitas tertunda ini mengamati perubahan diare, perubahan pernafasan, agresivitas, tidur dan perubahan aktivitas gerak. Gambaran histologi ginjal dianalisis secara deskriptif dengan mengacu pada Nurdiniyah *et al*, (2015) gambaran histologi ginjal normal dan tidak normal⁵⁰. Sedangkan untuk data kreatinin dan persentase kerusakan ginjal dianalisa dengan One Way ANOVA menggunakan SPSS, kemudian dilakukan uji lanjut dengan uji duncan.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Daun Sungkai (*Peronema cenescens* Jack)

Sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sungkai yang diambil di daerah kampus Universitas Jambi, Mendalo Darat, Kecamatan Jambi Luar Kota, Kab. Muaro Jambi, Provinsi Jambi. Dilakukan determinasi untuk mengetahui kebenaran dari tanaman tersebut, determinasi merupakan proses untuk menentukan nama, family dan jenis tumbuhan secara spesifik. Determinasi dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Padang (No. 226/K-ID/ANDA/IV/2020) membuktikan bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman sungkai (*Peronema cenescens* Jack) golongan family limiaceae (lampiran 10).

4.2 Simplisia Daun Sungkai (*Peronema cenescens* Jack)

Daun sungkai segar diambil sebanyak 2kg menghasilkan simplisia 750gram, yang sebelumnya telah melalui proses sortasi, pembersihan dari pengotor, dicuci dengan air mengalir, dirajang dan kemudian dikeringkan. Proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung selama (± 14 hari) dengan hasil rendemennya 37,5% termasuk kecil karena $< 50\%$ ini bisa terjadi disebabkan oleh beberapa faktor pada saat waktu pengeringan. Menurut Depkes RI (2000), salah satu faktor yang dapat mempengaruhi rendemen simplisia adalah jenis tanaman yang digunakan jika tanaman yang digunakan lebih banyak mengandung air atau senyawa yang mudah menguap maka nilai rendemen yang diperoleh juga kecil⁵¹.

4.3 Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema cenescens* Jack)

Serbuk daun sungkai sebanyak 750 gram diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih selain karena caranya sederhana juga karena memiliki beberapa keuntungan yaitu dapat mengekstraksi tumbuhan yang tidak tahan panas, peralatan yang sederhana dan mudah dilakukan. Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi simplisia daun sungkai adalah etanol 70%. Etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa dari yang kurang polar hingga polar, salah satu senyawa yang dapat dilarutkan oleh etanol ialah senyawa fenolik.

Etanol dapat melarutkan senyawa fenolik karena mampu mendegradasi dinding sel sehingga senyawa bioaktif lebih mudah keluar dari sel tanaman⁵²

Maserasi dilakukan dengan merendam 750 gram simplisia daun sungkai ke dalam etanol 70%. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel, maka larutan terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut terus berulang sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi⁵³. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dengan tujuan waktu tersebut pelarut akan dapat menarik senyawa metabolik sekunder yang terkandung didalam sampel secara maksimal. Maserat yang didapatkan dipisahkan dengan penyaringan dan kemudian dilakukan remaserasi selama 2x24 jam, setelah remaserasi dilakukan, maserat disaring.

Hasil maserat yang diperoleh sebanyak 4,5 liter kemudian maserat yang didapatkan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 138,5 gram dengan nilai rendemen sebesar 18,47%. Hal ini bisa disebabkan oleh senyawa yang bersifat polar yang terkandung dalam daun sungkai mampu ditarik oleh etanol hanya sedikit, peristiwa ini erat kaitannya dengan lamanya waktu maserasi dan suhu karena semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu maserasi maka semakin tinggi rendemen yang diperoleh⁵⁴.

4.3.1 Karakter Spesifik Ekstrak Daun Sungkai

Karakteristik spesifik pada penelitian ini meliputi identitas simplisia dan sifat organoleptis ekstrak. Hasil dari determinasi membuktikan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah tanam sungkai dengan nama latin *Peronema cenescens* Jack. Sedangkan penetapan sifat organoleptis bertujuan untuk memberi identitas objektif seperti nama, bentuk, warna, rasa dan bau⁵¹. Selanjutnya tujuan dari penetapan parameter ini adalah untuk sebagai pengenalan awal ekstrak yang diperoleh. Penetapan identitas dan organoleptis dari ekstrak daun sungkai disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Identitas dan Organoleptis Ekstrak Daun Sungkai

Parameter	Hasil
Identitas Ekstrak	
Nama Ekstrak	<i>Peronema canescens</i> Jack. <i>Extractum</i>
Nama Latin Tanaman	<i>Peronema canescens</i> Jack
Bagian Tanaman yang Digunakan	<i>Peronema canescens</i> folia
Nama Indonesia Tanaman	Sungkai
Organoleptis Ekstrak	
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Hijau kehitaman
Rasa	Pahit (sepet)
Bau	Bau Khas

4.3.2 Karakter Non Spesifik Ekstrak Daun Sungkai

Karakter non spesifik ekstrak kental daun sungkai yang ditentukan dalam penelitian ini meliputi rendemen ekstrak, kadar air, dan kadar abu. Menurut Handayani *et al.* (2019) karakterisasi simplisia dilakukan bertujuan untuk mengetahui kualitas mutu dari suatu simplisia⁵⁵. Hasil parameter non spesifik ekstrak daun sungkai disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Identitas dan Organoleptis Ekstrak Daun Sungkai

Parameter	Hasil (%)
Rendemen	18,47%
Kadar Air	0,53 %
Kadar Abu	5,3 %

Rendemen ekstrak merupakan persentase berat suatu ekstrak dari berat kering daun. Tujuan perhitungan rendemen untuk mengetahui berapa persentase serbuk yang dihasilkan akibat berbagai proses pengolahan⁵⁶. Hasil analisis rendemen ekstrak pada penelitian ini didapatkan hasil sebesar 18,47%. Hasil kadar air ekstrak etanol daun sungkai yang diperoleh adalah 0,53% penentuan kadar air ini bertujuan untuk memberi batasan maksimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam ekstrak. kadar air yang tinggi didalam ekstrak

(>30%) akan memudahkan ekstrak ditumbuhi jamur, kapang dan bakteri sehingga dapat menurunkan aktivitas biologi ekstrak dalam masa penyimpanan. Kandungan kadar air yang dipersyaratkan adalah kurang dari 10%⁵¹. sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar air ekstrak etanol daun sungkai 0,53% memenuhi standar mutu.

Kadar abu total yang diperoleh sebesar 5,3%. Penentuan kadar abu juga dapat digunakan sebagai landasan untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal dan kandungan anorganik yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak yang tersisa setelah pemijaran. Tingginya kadar abu ekstrak mengindikasikan tingginya mineral yang terkandung didalam daun sungkai. Selain itu bila kadar abu yang terkandung didalam ekstrak cukup tinggi juga dapat mengindikasikan adanya pengotor seperti tanah, pasir atau kotoran lain yang juga dapat mempengaruhi kualitas dari ekstrak yang didapat⁵¹.

4.4 Kandungan Kualitatif Fitokimia Ekstrak Daun Sungkai

Skrining fitokimia merupakan suatu metode pendekatan yang bisa digunakan untuk memberikan informasi kandungan senyawa metabolit sekunder dari tumbuh-tumbuhan⁵¹. Hasil skrining kualitatif ekstrak etanol daun sungkai di sajikan dalam Table 6.

Tabel 6. Kandungan Kualitatif Ekstrak Daun Sungkai

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Serbuk Zn + HCl pekat	+	Terbentuk warna jingga
	Serbuk Mg + HCl pekat	+	Terbentuk warna jingga
Fenol/Tanin	FeCl ₃	+	Terbentuknya warna hitam kehijauan
Alkaloid	Mayer	-	Warna hijau kehitaman
	Dragendorf	+	Endapan berwarna merah kecoklatan

	Bouchartdat	+	Endapan coklat kehitaman
Steroid	Lieberman – Bouchart	+	Berwarna merah kecoklatan
Terpenoid		-	Endapan hijau kehitaman
Saponin	HCl	+	Berbusa, ditambah HCl 2N, busa hilang

Berdasarkan hasil Tabel 6, ekstrak etanol daun sungkai mengandung fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan saponin. Hasil analisis fitokimia yang dilakukan sesuai dengan Fransisca *et al.* (2020) bahwa terdapat kandungan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas farmakologis pada tumbuhan sungkai diantaranya flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan saponin. Namun, kandungan senyawa aktif pada tanaman yang sama dapat berbeda jenis dan proporsi dari senyawa aktif didalam tumbuhan tersebut, hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan lingkungan, dan tempat tumbuhnya tanaman. Senyawa aktif didalam tanaman dihasilkan oleh interaksi antara tanaman dan lingkungan dalam proses evolusi yang lama dan perubahan jumlah kandungan senyawa kimia yang ada di dalam tumbuhan berkorelasi dan berasosiasi dengan faktor lingkungan⁵⁷

4.5 Pengujian Toksisitas Akut Ekstrak Daun Sungkai

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi toksisitas suatu efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji, hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan pada manusia, namun dapat

memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia¹³.

Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Pada pengujian toksisitas akut hewan yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) galur Swiss Webster karena memiliki beberapa keuntungan yaitu, lebih ekonomis, ukuran kecil, dan dasar fisiologisnya mendekati manusia yaitu sama-sama mamalia. Mencit yang digunakan adalah mencit betina dengan umur 2-3 bulan dan berat 20-30 gram. Mencit yang digunakan adalah mencit yang sehat, naif, agresif dengan perilaku normal selama waktu aklimatisasi.

4.5.1 Aklimatisasi Mencit

Hewan uji yang akan digunakan di aklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari, hal ini dilakukan agar hewan uji yang digunakan dapat terbiasa dengan lingkungan dan selama aklimatisasi mencit diberi makan standar. Berikut merupakan hasil pengukuran berat badan mencit pada awal (sebelum aklimatisasi) dan pada hari ke 7 (setelah aklimatisasi). Rata-rata berat badan disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata berat badan mencit selama aklimatisasi

kelompok	Rata-rata berat badan mencit (g)		Persentase perubahan berat badan%
	Sebelum aklimatisasi	Sesudah aklimatisasi	
K-	23,57	25,52	8,26%
P1	23,96	25,85	7,91%
P2	23,02	24,74	7,45%
P3	25,4	27,08	6,61%
P4	23,94	25,59	6,91%

Pada saat Proses aklimatisasi, sebelum dan sesudah aklimatisasi dilakukan penimbangan berat badan hewan uji untuk mengetahui apakah hewan uji mengalami stress atau tidak. Pada tabel 7 terlihat bahwa berat badan rata-rata hewan uji mengalami kenaikan berat badan tidak lebih dari 10% dan dari

pengamatan yang dilakukan tidak terdapat kenaikan berat badan yang signifikan selama proses aklimatisasi tersebut. Hewan uji yang digunakan tidak menunjukkan tingkah laku yang aneh atau hewan uji bertingkah laku normal dan tidak mengalami stress karena hewan uji tidak mengalami penurunan berat badan dan layak digunakan.

4.5.2 Penentuan Nilai LD₅₀

Metode pengujian toksisitas akut yang digunakan adalah berdasarkan pedoman uji toksisitas nonklinis secara *in vivo* (BPOM, 2014) yang merupakan pedoman uji toksisitas nonklinis dalam pengembangan obat, obat tradisional, kosmetik dan produk komplemen serta pangan dan bahan berbahaya. Pada penelitian uji toksisitas akut ini menggunakan metode up and down procedure (UDP). Metode ini merupakan metode alternatif dalam pengujian toksisitas akut. Pada saat dibandingkan dengan metode penentuan LD₅₀ konvensional, metode up and down procedure ini menggunakan lebih sedikit hewan uji, bahkan sepertiga dari jumlah hewan uji yang digunakan dalam metode konvensional. Kemudian dalam analisis perbandingan dengan metode konvensional, UDP merupakan metode yang paling sederhana untuk digunakan dan menghasilkan nilai LD₅₀ yang sangat bagus dibandingkan dengan nilai LD₅₀ dari metode konvensional. Pengujian toksisitas akut dilakukan untuk mendapatkan informasi data tentang toksisitas suatu bahan (kimia) pada hewan uji.

Uji toksisitas akut pada daun sungkai dilakukan karena daun dari tanaman sungkai ini digunakan oleh sebagian masyarakat untuk menyembuhkan beberapa penyakit seperti sakit gigi, demam dan penyakit malaria dan juga diketahui pada daun sungkai mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin dan steroid³. Flavonoid dan fenol dapat berfungsi sebagai antivirus, antibakteri, antihipertensi dan memiliki pengobatan terhadap hiperurisemia. Penelitian terakhir tentang daun sungkai dilakukan oleh Latief *et al* (2021) ekstrak etanol daun sungkai memiliki aktivitas antihiperurisemia dengan menurunkan kadar asam urat darah mencit pada dosis 500mg/KgBB yang memberikan aktivitas paling baik dalam menurunkan kadar asam urat darah mencit hiperurisemia⁸

Pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun sungkai dilakukan dengan empat variasi dosis yaitu 175, 550, 1750 dan 5000 mg/kgBB, dari keempat dosis yang di uji tidak menimbulkan kematian pada hewan percobaan. Hasil persentase kematian hewan uji setelah pemberian ekstrak etanol daun sungkai dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Persentase Kematian Hewan

kelompok	Jumlah hewan	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah hewan mati	% kematian
Kontrol	7	0	0	0
P1	7	175	0	0
P2	7	550	0	0
P3	7	1750	0	0
P4	7	5000	0	0

Tabel 8 menunjukkan persentase kematian hewan uji ekstrak etanol daun sungkai pada tiap kelompok uji. Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa dengan pemberian sediaan tunggal secara peroral pada mencit hingga dosis maksimal yang dapat diberikan secara teknis pada hewan uji yaitu 5000 mg/kgBB mencit ternyata tidak menimbulkan kematian, menyebabkan nilai LD₅₀ tidak perlu ditentukan. Hal ini sesuai dengan kriteria uji toksisitas akut yang dilakukan untuk menilai LD₅₀ bahwa berdasarkan kesepakatan para ahli, jika dosis maksimal tidak menimbulkan kematian hewan uji, maka LD₅₀ dinyatakan dengan nilai semu atau bukan nilai sesungguhnya⁵⁸. Oleh karena itu, hasil penelitian terhadap ekstrak etanol daun sungkai ini pada dosis 175, 550, 1750, 5000mg/kgBB mempunyai makna toksisitas bahwa potensi ketoksikan akut sediaan uji ekstrak etanol daun sungkai termasuk dalam rentan kategori toksisitas sedang/toksik ringan.

4.5.3 Pengamatan Efek Toksik

Tabel 9. Hasil pengamatan agresifitas pada kelompok perlakuan

kelompok	Perlakuan	Jumlah mencit yang mengalami agresivitas									
		Menit ke-									
		5	10	15	30	60	120	240	24 jam	48 jam	14 hari
K-	Na-CMC 0,5%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P1	175 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P2	550 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P3	1750 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P4	5000 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Peningkatan agresifitas yang dilihat pada parameter ini yaitu dari sikap hewan uji yang memanjat-manjati sisi kandang hingga berkelahi dengan hewan uji lainnya. perilaku agresif biasanya disebabkan oleh stimulasi sistem saraf pusat atau saraf simpatik dan bila terjadi penurunan adanya depresi, bila perilaku terlihat agresif hal ini menunjukkan adanya stimulasi sentral (SSP) atau stimulasi simpatik⁵⁹. Berdasarkan penelitian terdahulu senyawa alkaloid dapat mempengaruhi stimulasi sistem saraf pusat. Namun, pada tabel 9 tidak terjadinya perilaku yang agresif, hal ini menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun sungkai tidak mempengaruhi sistem saraf pusat.

Tabel 10. Hasil pengamatan tidur pada kelompok perlakuan

kelompok	Perlakuan	Jumlah mencit yang mengalami Tidur									
		Menit ke-									
		5	10	15	30	60	120	240	24 jam	48 jam	14 hari
K-	Na-CMC 0,5%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P1	175 mg/kgBB	0	0	0	0	2	3	0	0	4	0
P2	550 mg/kgBB	0	1	1	0	3	1	1	0	6	0
P3	1750 mg/kgBB	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
P4	5000 mg/kgBB	3	2	0	0	0	0	0	3	3	0

Pengamatan tidur yang dilihat pada parameter ini yaitu hewan uji terlihat diam dan memejamkan matanya dalam jangka waktu yang cukup lama. Pada tabel

10 terlihat pada perlakuan P1 hewan uji mengalami gejala tidur pada menit ke 60 sebanyak 2 ekor, menit ke 120 sebanyak 3 dan 48 jam sebanyak 4 ekor. Pada perlakuan P2 hewan uji mengalami tidur mulai dari menit ke 10, 15, 60, 120, 240, dan 48 jam, pada menit 10, 15, 120 dan 240 jumlah hewan yang tidur 1 ekor. Pada menit ke 60 sebanyak 3 ekor dan 48 jam sebanyak 6 ekor. Kelompok P3 jumlah hewan uji yang tidur hanya 2 ekor yaitu pada menit ke 30. Kemudian pada kelompok P4 hewan uji yang mengalami tidur mulai dari menit ke 5,10, 24 jam dan 48 jam, pada menit ke 10 jumlah hewan uji yang tidur sebanyak 2 ekor dan yang lain (menit ke 5, 24jam dan 48jam) berjumlah 3 ekor. Gejala yang muncul pada parameter ini terbilang normal karena pada dasarnya mencit dan tikus merupakan hewan nokturnal atau hewan yang aktif pada malam hari⁶⁰.

Tabel 11. Hasil pengamatan diare pada kelompok perlakuan

kelompok	Perlakuan	Jumlah mencit yang mengalami diare									
		Menit ke-									
		5	10	15	30	60	120	240	24 jam	48 jam	14 hari
K-	Na-CMC 0,5%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P1	175 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P2	550 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P3	1750 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P4	5000 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Pada Tabel 11 menunjukkan bahwa tidak terjadinya diare pada tiap kelompok, hal ini dikarenakan ekstrak etanol daun sungkai memiliki kandungan senyawa kimia salah satunya adalah flavonoid. Beberapa hasil penelitian terdahulu melaporkan bahwa kandungan senyawa kimia golongan tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan triterpen bertanggung jawab atas khasiat antidiare⁶¹. Mekanisme fenol dalam menghentikan diare dengan menghambat gerakan peristaltik. Studi lain menunjukkan bahwa tanin dan asam tannic juga mendenaturasi protein yang membentuk tannate yang mengurangi permeabilitas mukosa usus⁶².

Tabel 12. Hasil Pengamatan penurunan aktivitas gerak pada kelompok perlakuan
Jumlah mencit yang mengalami Penurunan aktivitas gerak

kelompok	Perlakuan	Menit ke-									
		5	10	15	30	60	120	240	24 jam	48 jam	14 hari
K-	Na-CMC 0,5%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P1	175 mg/kgBB	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
P2	550 mg/kgBB	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0
P3	1750 mg/kgBB	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
P4	5000 mg/kgBB	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0

Pada parameter ini pengamatan yang dilihat adalah mencit yang terlihat lemas, mencit diam dan tidak banyak melakukan aktivitas apapun disuatu tempat. Pada Tabel 12 penurunan aktivitas gerak terjadi pada pemberian dosis 175 mg/kgBB (P1) terjadi pada menit ke 240 dan 24 jam sebanyak 1 ekor, sedangkan pada pemberian dosis 550 mg/kgBB (P2) gejala toksik teramati pada menit ke 30 dan 60 sebanyak 2 ekor, dan pada pemberian dosis 1750 mg/kgBB (P3) gejala toksik terlihat dari menit ke 60 sebanyak 2 ekor dan 120 sebanyak 1 ekor, kemudian pada pemberian dosis 5000 mg/kgBB (P4) gejala toksik terlihat pada menit ke 15 sebanyak 1 ekor dan menit ke 30 sebanyak 3 ekor.

Gejala tersebut dapat merupakan manifestasi adanya aktifitas penenang, depresan saraf pusat, relaksan otot, paralisis atau anastesi⁶³. Selain memberikan efek farmakologi ekstrak etanol daun sungkai juga dapat memberikan efek toksik terhadap hewan uji salah satunya dari senyawa golongan steroid yaitu *cardiac* glikosida. Aktivitas senyawa *cardiac* glikosida diketahui mempengaruhi sistem kardiovaskuler, sistem saraf, dan gangguan gastrointestinal. Beberapa efek yang dapat ditimbulkan oleh *cardiac* glikosida ialah delirium, depresi, halusinasi maupun blok jantung. Salah satu efek toksik yang dapat dilihat pada hewan percobaan adalah penurunan aktivitas gerak, hal ini menandakan adanya efek delirium dan depresi pada hewan percobaan akibat pemberian ekstrak etanol daun sungkai.

Tabel 13. Hasil Pengamatan perubahan pernapasan

		Jumlah mencit yang mengalami perubahan pernapasan									
kelompok	Perlakuan	Menit ke-									
		5	10	15	30	60	120	240	24 jam	48 jam	14 hari
K-	Na-CMC 0,5%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P1	175 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P2	550 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P3	1750 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P4	5000 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Menurut Cahyono *et al* (2009), frekuensi pernafasan dikendalikan oleh batang otak, walaupun transeksi batang otak diatas tingkat midpontin tetap tidak mengganggu pengaturan tekanan dasar dari arteri⁵⁹. Salah satu senyawa kimia yang dapat mempengaruhi pernapasan ialah flavonoid karena flavonoid merupakan senyawa kimia yang memiliki sifat insektisida. Flavonoid menyerang beberapa organ saraf sehingga timbul suatu pelemahan saraf. Flavonoid bekerja sebagai inhibitor pernapasan dan flavonoid juga mengganggu mekanisme energi didalam mitokondria dengan menghambat sistem pengangkutan elektron⁶⁴. Pada tabel 13 diatas tidak terjadinya perubahan pernafasan pada hewan uji yang diberikan ekstrak etanol daun sungkai, hal ini terjadi karena kemungkinan ekstrak daun sungkai tidak mempengaruhi fungsi dari batang otak sehingga tidak terjadinya perubahan pernafasan.

4.6 Nilai Kreatinin

Ginjal merupakan organ eksresi utama dalam tubuh yang mengeluarkan zat-zat sisa metabolisme yang tidak digunakan lagi dan racun. Fungsi ginjal dapat diketahui dari kadar kreatinin. Kreatinin adalah hasil pemecahan keratin fosfat otot yang di produksi oleh tubuh secara konstan tergantung masa otot dan masa normal dan akan dikeluarkan dari dalam pembuluh darah melalui ginjal. Kreatinin serum yang mengalami peningkatan kadar kreatinin dapat menunjukkan kegagalan fungsi ginjal⁶⁵. Kreatinin difiltrasi diglomerulus dan direabsorpsi ditubular. Beberapa penyebab peningkatan kadar kreatinin didalam darah, yaitu dehidrasi, kelelahan yang berlebihan, penggunaan obat yang bersifat toksik pada

ginjal, disfungsi ginjal disertai infeksi, hipertensi yang tidak terkontrol dan penyakit ginjal³⁸.

Berdasarkan hasil pengamatan fisiologi eksresi ginjal mencit putih betina menunjukkan kadar kreatinin plasma setelah diberikan ekstrak etanol daun sungkai dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Rata-rata kadar kreatinin serum mencit

ulangan	Kadar kreatinin serum (mg/dL)				
	Kontrol	P1	P2	P3	P4
1	1,2	1,6	1,9	2,3	2,6
2	1,4	1,8	2,1	2,1	2,8
3	0,9	1,7	2	2	2,8
4	1,1	1,6	2,2	2,4	2,6
5	1,4	1,7	2	2,3	2,7
Rata-rata±SEM	1,2 ^a ±0,09	1,68 ^b ±0,03	2,04 ^c ±0,05	2,22 ^c ±0,07	2,7 ^d ±0,04

Keterangan :

KK : Kelompok Kontrol (diberikan Na-CMC dan pakan serta minum standar)

P1 : Perlakuan Dosis 175mg/kgBB

P2 : Perlakuan Dosis 550mg/kgBB

P3 : Perlakuan Dosis 1750mg/kgBB

P4 : perlakuan Dosis 5000mg/kgBB

Pada tabel 14 menunjukkan hasil kadar kreatinin serum setelah diberikan ekstrak etanol daun sungkai mengalami perubahan dari kelompok kontrol. Kelompok perlakuan pemberian ekstrak dengan variasi dosis mengalami peningkatan yang signifikan. Pada kelompok kontrol rata-rata kadar kreatinin serum adalah 1,2 mg/dL, kelompok P1 memiliki nilai kreatinin serum 1,68 mg/dL, kelompok P2 dengan nilai kreatinin serum 2,04 mg/dL, kelompok P3 nilai kreatinin serumnya 2,22 mg/dL dan kelompok P4 memiliki nilai kreatinin serum 2,7 mg/dL. Kadar kreatinin tersebut sudah melewati batas normal dimana menurut Arifin *et al* (2018) kadar normal kreatinin serum mencit adalah 0,2-0,9 mg/dL⁶⁶.

Berdasarkan hasil analisa statistik kadar kreatinin serum mencit menggunakan One Way ANOVA, diperoleh hasil uji ANOVA P (< 0,05) maka menunjukkan bahwa kadar kreatinin serum mencit berbeda nyata, yang berarti terdapat pengaruh dalam pemberian ekstrak etanol daun sungkai terhadap kadar kreatinin mencit.

Dari data hasil pemeriksaan kadar kreatinin mencit pada masing-masing kelompok berada pada tingkat melebihi nilai normal. Hal tersebut menandakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sungkai kepada mencit memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar kreatinin yang melebihi batas normal, hal tersebut dapat terjadi karena ginjal mencit mengalami gangguan fungsi dalam memfiltrasi kreatinin yang ada didalam tubuh secara normal yang akan dikeluarkan melalui urin. Kadar kreatinin serum meningkat apabila laju filtrasi glomerulus (LFG) telah menurun 70% dari normal, apabila kadar kreatinin mengalami peningkatan dua kali lipat dari kadar normal menunjukkan bahwa ginjal mengalami penurunan fungsi sebesar 50%. Demikian juga peningkatan kadar kreatinin serum sebesar tiga kali lipat menunjukkan kerusakan ginjal 75%⁶⁶. Pada tabel hasil terlihat rata-rata nilai kreatinin serum meningkat dua kali lipat dari nilai normalnya, artinya ginjal hewan uji yang diberikan ekstrak etanol daun sungkai mengalami penurunan fungsi sebesar 50%.

4.7 Berat Organ

Pada parameter ini yang diamati peneliti adalah perubahan berat organ ginjal hewan uji, karena ginjal berperan penting dalam eliminasi produk buangan yang berasal dari metabolisme endogen maupun metabolisme xenobiotika. Hasil rata-rata berat organ ginjal setelah diberikan ekstrak etanol daun sungkai dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Rata-rata berat organ ginjal setelah diberikan ekstrak etanol daun sungkai

No.	Perlakuan	Rata-rata berat badan mencit (gr) ± SD	Rata-rata berat organ ginjal (gr) ± SD	Persentase bobot ginjal dari berat badan (%)
1	Kontrol	25,52 ± 1,56	0,18 ± 0,01	0,71 ± 0,00
2	P1	24,87 ± 1,40	0,16 ± 0,02	0,68 ± 0,00
3	P2	24,31 ± 2,51	0,20 ± 0,05	0,86 ± 0,00
4	P3	27,03 ± 1,85	0,16 ± 0,02	0,60 ± 0,00
5	P4	26,23 ± 1,89	0,20 ± 0,04	0,80 ± 0,00

Keterangan:

KK : Kelompok Kontrol (diberikan Na-CMC dan pakan serta minum standar)

P1 : Perlakuan Dosis 175mg/kgBB

- P2 : Perlakuan Dosis 550mg/kgBB
 P3 : Perlakuan Dosis 1750mg/kgBB
 P4 : perlakuan Dosis 5000mg/kgBB

Berdasarkan hasil pada tabel diatas rata-rata berat organ ginjal pada hewan uji mengalami perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok P1, P2,P3 dan P4, dimana berat organ ginjal kelompok P1, dan P3 lebih kecil dari pada kelompok kontrol, P2 dan P4, sedangkan untuk kelompok P2 dan P4 rata-rata bobot organ ginjalnya lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Berubahnya berat organ merupakan salah satu adanya perubahan pada sel-sel organ akibat paparan bahan kimia atau zat toksik⁶⁷.

Menurut Nallakrishna *et al* (2019) berat normal organ ginjal mencit berkisar antara 0,16 – 0,22 gram⁶⁷. Pada tabel 15 terlihat hasil rata-rata berat organ ginjal berada pada rentang normal artinya pemberian ekstrak etanol daun sungkai pada hewan uji yang diamati secara makroskopis tidak memberikan dampak toksik yang berlebihan pada berat organ ginjal hewan uji.

4.8 Pengamatan Histologi Ginjal

Ginjal merupakan organ eksresi utama yang sangat penting dalam mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat toksik yang tidak sengaja masuk kedalam tubuh. Pemberian senyawa-senyawa yang bersifat toksik atau pun senyawa yang bersifat iritatif dapat menimbulkan perubahan-perubahan degeneratif seperti degenerasi melemak sampai nekrosis⁶⁸. Berdasar hasil pengamatan histologi organ ginjal yang telah diberikan ekstrak etanol daun sungkai dan dihitung tingkat kerusakan dengan menggunakan metode vanien⁴⁹ hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 16. Skor tingkat kerusakan ginjal mencit

Ulangan	Persentase Derajat Kerusakan Ginjal Mencit				
	Kontrol	P1	P2	P3	P4
1	55	53,4	58,6	52,2	82,4
2	42,8	45,4	52,8	65,2	107,8
3	37,6	49,4	54,8	78,6	101,6
Rata-Rata±SEM	45,1 ^a ±5,13	49,4 ^{a,b} ±2,30	55,4 ^{a,b} ±1,70	65,33 ^c ±7,62	97,26 ^d ±7,64
Skor	1	1	2	2	3

Ket:

Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan yang sangat nyata $P(<0,05)$

K= Kontrol

P1= Perlakuan dosis 175mg/kgBB

P2= Perlakuan dosis 550mg/kgBB

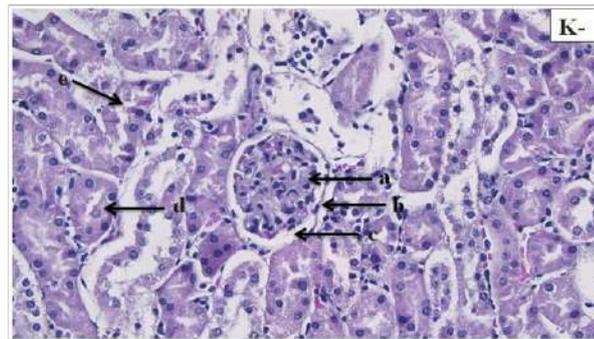
P3= Perlakuan dosis 1750mg/kgBB

P4= Perlakuan dosis 5000mg/kgBB

Data pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan rata-rata derajat kerusakan sel tubulus ginjal mencit berdasarkan perhitungan mean dan standar deviasi. Pada kelompok kontrol dan P1 persentase kerusakan belum mencapai 50% atau masih dibawah 50% sehingga memperoleh skor 1 yang menunjukkan kerusakan sel tubulus yang terjadi masih terbilang rendah. Sedangkan, kelompok perlakuan P2 dan P3 kerusakan yang terjadi dibawah 70% mendapatkan skor 2 termasuk dalam kategori kerusakan sedang dan untuk P4 kerusakan yang terjadi mendapat skor 3 dengan persentase hampir 100% sehingga pada perlakuan P4 dengan dosis 5000mg/kgBB mengalami kerusakan sel tubulus yang tinggi.

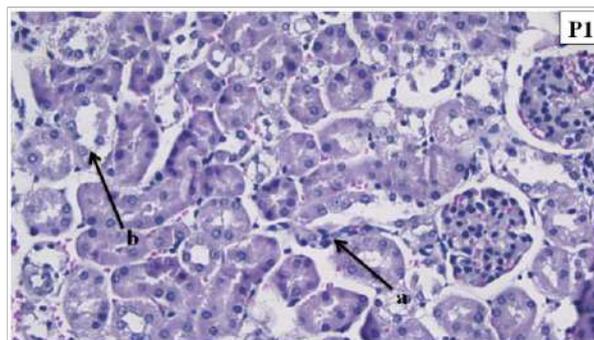
Analisis data dilakukan dengan metode One Way ANOVA yang sebelumnya telah dilakukan uji normalitas dan homogenitas dengan hasil uji menunjukkan nilai sig $P(>0,05)$ yang berarti data homogen dan terdistribusi normal. Berdasarkan hasil One Way ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan kepada mencit mengalami perbedaan secara nyata terhadap skoring kerusakan ginjal mencit, perubahan histologi yang terjadi yaitu nekrosis (piknotik, karioreksis, kariolisis) sel tubulus ginjal mencit.

Hasil pemeriksaan mikroskopik organ ginjal mencit ditunjukkan pada gambar dibawah ini:



Gambar 14. Gambar histologi mencit kontrol normal a. Glomerulus, b. Kapsul bowman, c. Ruang bawman, d. Tubulus proksimal, e. Tubulus distal (HE, 40x10).

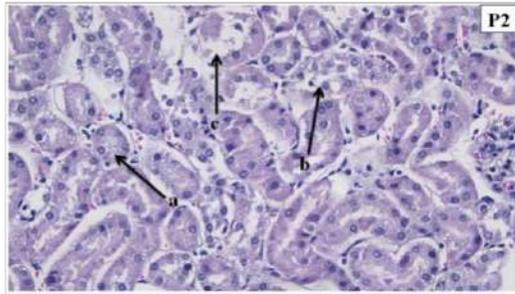
Pemeriksaan histologi organ ginjal mencit yang dilakukan pada hari ke 19 setelah dilakukan pengamatan toksistas tertunda dan pembuatan preparat histologi. Hasil pengamatan pada preparat histologi ginjal mencit untuk kelompok kontrol ditunjukkan pada gambar 15, terlihat glomerulus dalam keadaan normal yang tertutup secara keseluruhan oleh kapsul bowman dan sel tubulus masih tersusun rapi dan padat.



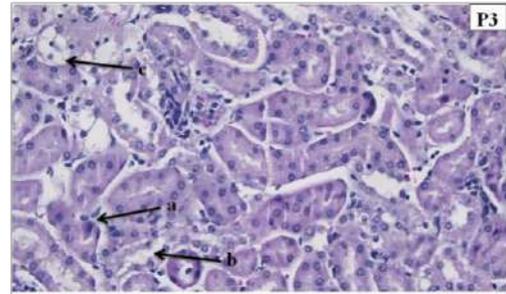
Gambar 15. Gambar histologi mencit P1 diberikan ekstrak etanol daun sungkai dosis 175mg/kgBB a. Sel tubulus yang mengalami piknotik, b. Sel tubulus yang mengalami karioreksis (HE, 40x10).

Pada P1 histologi ginjal terlihat sel tubulus mengalami piknotik dan karioreksis namun pada perlakuan ini hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol berdasarkan tabel kriteria termasuk dalam kerusakan ringan dengan nilai skor 1. Kerusakan yang terjadi pada ginjal terutama bentuk kerusakan pada tubulus, selain diakibatkan oleh iskemia ginjal juga disebabkan oleh zat-zat yang bersifat toksik. Jaringan yang nekrosis secara mikroskopik akan mengalami berbagai perubahan berupa piknosis, karioreksis ataupun kariolisis. Menurut Aliah (2017) piknotik merupakan sel yang ditandai dengan melisutnya

inti sel dan peningkatan basophil kemudian DNA berkondensasi menjadi massa yang melisut padat. Sedangkan karioreksis, fregmen dari inti sel yang piknotik tadi yang selanjutnya dalam 1-2 hari inti dalam sel yang mati benar-benar menghilang. Tahapan nekrosis yang terakhir ialah kariolisis atau basofilia kromatin memudar⁶⁹.



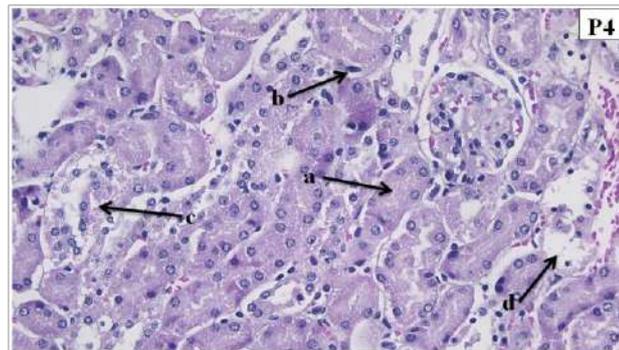
Gambar 16. a. Sel tubulus yang mengalami degenerasi melemak, b. Sel tubulus karioreksis c. Sel tubulus kariolisis (dosis 550mg/kgBB, HE, 40x10)



Gambar 17. a. Sel tubulus yang mengalami piknotik, b. Sel tubulus yang mengalami karioreksis c. Sel tubulus yang mengalami kariolisis (dosis 1750mg/kgBB, HE, 40x10).

Pada P2 dan P3 (Gambar 16 dan 17) terlihat histologi ginjal mengalami nekrosis dan degenerasi melemak pada sel tubulus dengan tingkat kerusakan sedang dan berdasarkan kategori mendapatkan nilai skor 2. Menurut Manullang *et al* (2018) degenerasi melemak merupakan akumulasi droplet lemak berbutir (vakuola) yang terjadi didalam sitoplasma sel. Degenerasi melemak pada ginjal dapat ditemukan di daerah korteks, terutama pada tubulus ginjal. Keadaan tersebut menandakan terjadinya keracunan tubular yang disebabkan oleh zat toksik seperti logam berat dan racun tumbuhan⁶⁸.

Nekrosis tubulus proksimal dapat ditandai dengan adanya penyempitan pada lumen tubulus proksimal. Penyempitan sel-sel tubulus ginjal diakibatkan oleh sel-sel epitel tubulus proksimal membengkak dengan sitoplasma granuler. Hal ini terjadi karena adanya pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Terjadinya pergeseran cairan ini disebabkan oleh zat toksin yang mengakibatkan perubahan muatan listrik permukaan sel epitel tubulus, transpor aktif ion dan asam organik, serta kemampuan mengkonsentrasikan dari ginjal yang akhirnya mengakibatkan tubulus rusak⁷⁰.



Gambar 18. a. Sel tubulus yang mengalami degenerasi melemak, b. Sel tubulus yang mengalami piknotik, c. Sel tubulus yang mengalami karioreksis, d. Sel tubulus yang mengalami kariolisis (dosis 5000mg/kgBB, HE, 40x10).

Sedangkan pada kelompok perlakuan P4 merupakan kelompok yang paling banyak mengalami nekrosis sel tubulus dan degenerasi melemak dengan skor yang diperoleh 3 berdasarkan tabel kategori termasuk dalam kerusakan tinggi. Menurut manullang *et al*, (2018) tanda utama terjadinya keracunan tubular berupa degenerasi melemak dan nekrosis pada sel tubulus. Degenerasi melemak disebabkan oleh substansi zat toksik, defisiensi nutrisi, defisiensi substansi lipotrofik dan diet lemak tinggi. Sedangkan nekrosis atau kematian sel yang merupakan kerusakan lanjutan dari degenerasi parenkimatosa yang bersifat irreversibel. Proses kematian sel berlangsung lebih cepat dari pada proses regenerasi, sehingga sel-sel yang mati terakumulasi pada jaringan. Sel yang mati akan dikenali tubuh sebagai benda asing sehingga sel yang mati tersebut selalu dikelilingi oleh sel-sel yang radang⁶⁸.

Pemberian ekstrak etanol daun sungkai dengan dosis variasi terhadap mencit menunjukkan gambaran degenerasi melemak dan nekrosis pada sel ginjal mencit dengan tingkat degenerasi yang tergolong cukup berat, sehingga dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dari organ ginjal mencit yang ditandai dengan kadar kreatinin serum diatas normal. Selain disebabkan oleh kandungan senyawa alami yang terkandung pada daun sungkai kerusakan sel yang terjadi juga dimungkinkan diakibatkan oleh kondisi lingkungan mencit baik kandang, makanan yang diberikan kurang variatif, hewan uji yang mengalami tingkatan stress, peningkatan H₂O₂ dan faktor internal lainnya yang diduga menjadi faktor terjadinya kerusakan pada sel ginjal mencit.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak etanol daun sungkai hingga dosis 5000mg/kgBB menyebabkan kerusakan organ ginjal yang dilihat dari nilai kreatinin dan histologi. Namun, tidak menyebabkan kematian pada hewan uji, sehingga nilai semu LD₅₀ yang di peroleh termasuk dalam rentang toksisitas sedang/toksik ringan.
2. Pemberian ekstrak etanol daun sungkai dosis 175-5000mg/kgBB pada hewan uji menyebabkan penurunan aktivitas gerak/motorik sehingga hewan uji lebih banyak tidur.
3. Pemberian ekstrak etanol daun sungkai pada dosis 175-5000mg/kgBB dapat meningkatkan nilai kreatinin serum hewan uji dua kali lipat diatas normal.
4. Pemberian ekstrak etanol daun sungkai dengan variasi dosis 175-5000mg/kgBB berpengaruh secara nyata terhadap gambaran kerusakan histologi ginjal hewan uji.

5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sungkai agar meneliti dengan parameter lain seperti toksisitas sub-kronik atau kronik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Panjaitan S, Nureini Y. **Prospek dan Teknik Budidaya (Penorema *canescens* Jack) Di Kalimantan Selatan.** *galam.* 2014;VII(1):25-29.
2. Martawijaya A, Kartasujana I, Kadir K, Prawira AS. **Atlas Kayu Indonesia Jilid I.** Depertemen Kehutanan Badan Penelitian dan Pengembang Kehutanan Bogor; 2005.
3. Ahmad I, Ibrahim A. **Bioaktivitas Ekstrak Metanol dan Fraksi n-heksana Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* leach).** *J Sains dan Kesehat.* 2015;1(3):114-119.
4. Ibrahim A, Kuncoro H. **Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen.** *J Trop Pharm Chem.* 2012;2(1):8-18. doi:10.25026/jtpc.v2i1.43
5. Andriani F, Sundaryono A, Nurhamidah. **Uji Aktivitas Antiplasmodium Fraksi n-heksana Daun *Peronema canescens* Terhadap *Mus musculus*.** *Alotrop.* 2017;1(1):33-38.
6. Fransisca D, Kahanjak DN, Frethernety A. **Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer.** *Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal Environ Sustain Manag.* 2020;4(1):460-470. doi:10.36813/jplb.4.1.460-470
7. Fatwa LT. **Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan.** In: *Skripsi.* Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi; 2020.
8. Latief M, Tarigan IL, Sari PM, et al. **Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan.** *jurnal Farmasi Indonesia.*2021;18(1):23-37.

9. Nasution RM. **Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak n-heksan Daun Pagoda (*Clerodendrum paniculatum* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)**. In: *Skripsi*. Institut Kesehatan Helvia; 2019.
10. Septiva EB, Sistawi AJ, Isdadiyanto S. **Struktur Mikroanatomi Ginjal Mencit (*Mus musculus* L.) Betina Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss)**. *Pro-Life*. 2019;6(2):180-190.
11. Ngatidjan. **Metode Laboratorium Dalam Toksikologi**. Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas UGM; 2006.
12. Syamsul ES, Sari DN, Supomo. **Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa Longifolia* Lam) Terhadap Mencit Putih**. *Ilm Manutung*. 2015;1(2):127-132.
13. BPOM RI. **Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo**. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia; 2014.
14. Plantamor. **Informasi spesies (Tanaman Sungkai)**. Published 2012. Accessed November 10, 2019. <http://plantamor.com>
15. Soerinaga, Lemmens RHM. **Porsea Timber Trees: Major Commercial Timbers**. Pudoc Scientific; 1993.
16. Badiaraja PH. **Uji Potensi Antiseptik Daun Muda Sungkai (*Peronema cenescens* Jack) pada Mencit (*Mus musculus*) serta Implementasinya dalam Pembelajaran Sistem Imun di SMA**. In: *Skripsi*. ; 2014.
17. Harborne J. **Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Diterjemahkan Oleh Koesasi Padmawinato & Iwang Sudiro)**. ITB, Bandung; 1987.
18. Hopkins GW. **Introduction To Plant Physiology**. Jhon Willey And Sont. Inc; 1995.
19. Lenny S. **Senyawa Flavonoida, Fenil Propanooida, Alkaloida**. Repository USU. Published 2006. Accessed March 10, 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/phenil/flavonoida/hl=21docsum>

20. Maldonado RAP. **The Chemical Nature and Biological Activity of tannin in Forages Legumes fed to Sheep and Goat.** Published online 1994.
21. Nasrudin, Wahyono, Mustofa, Susidarti R. A. **Isolasi Senyawa Steroid dari Kulit Akar Senggugu (*Clerodendrum serratum* L.Moon).** *J Ilm Farm.* 2017;6(3).
22. Harborne J. **Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Meganalisis Tumbuhan.** (Kokaasih P, Soediro I, eds.). ITB, Bandung; 2006.
23. Maharini L. **Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* Pers. Var. *rubra*) Terhadap Geliatan Mencit Balb/c yang diinjeksi Asam Asetat 0,1%.** *Artik Ilm.* Published online 2010.
24. Depkes RI. **Farmakope Herbal Indonesia.** Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2008.
25. Depkes RI. **Informasi Obat Nasional Indonesia.** Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000.
26. Hodgson E. **A Textbook of Modern Toxicology.** fourth edit. (A Jhon Wiley & Sons. Inc, ed.). Publication; 2010.
27. Lu C. **Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran, Dan Penilaian Resiko.** UI Press; 1995.
28. Rahayu M, Solihat M. **Toksikologi Klinik.** Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2018.
29. Depkes RI. **Farmakope Indonesia. Edisi IV.** Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
30. Berniyanti T. **Biomarker Toksisitas: Paparan Logam Tingkat Moekuler.** Airlangga University Press; 2018.
31. Sumiyati, Anggraini DD, Kartika L, et al. **Anatomi Fisiologi.** yayasan kita menulis; 2021.
32. Seeley R., Stephens T., Tate P. **Anatomy And Physiology.** Eighth Edi. Mc-Graw Hill Companies; 2008.
33. Guyton A., Hall J. **Fisiologi Kedokteran.** EGC; 2006.

34. Yaswir M., Maiyesi A. **Pemeriksaan laboratorium Cystatin C Untuk Uji Fungsi Ginjal.** *Kesehat Andalas.* 2012;1(1):10-15.
35. Assiam N, Setyawati I, Sudirga S. **Pengaruh Dosis dan Lama Perlakuan Ekstrak daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) Terhadap Struktur Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus* L.).** *Simbiosis.* 2014;2(2):236-246.
36. Ansel HC, Prince SS. **Kalkulasi Farmasetik: Panduan Untuk Apoteker.** Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2004.
37. Sabarudin A, Wulandari ERN, Sulistyarti H. **Sequential Injection-Flow Reversal Mixing (SI-FRM) Untuk Penentuan Kreatinin Dalam Urin.** *J MIPA.* 2012;35(2):157-164.
38. Alfonso AA, Mongan AE, Memah MF. **Gambaran Kadar Kreatinin Serum Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik Stadium 5 Non-Dialisis.** *J eBiomedik.* 2016;4(1):178-183.
39. Mayers G. **Markers of Renal Function Cardiovascular Disease Risk.** *Cardiovasc.* Saunders Elsevier; 2012.
40. Moriwaki K, Shirishi T, Yonekawa H. **Genetic in Wild Mic. Its Aplikasi to Biomedical Research.** Japan Scientific Societies Press; 1994.
41. Priyambodo. **Pengendalian Hama Tikus Terpadu.** Penebar Swadaya; 2003.
42. Kusumawati D. **Bersahabat Dengan Hewan Coba.** Gadjah Mada University Press; 2004.
43. Donatus I. **Toksikologi Dasar, Laboratorium Toksikologi Dan Farmakologi Fakultas Farmasi.** UGM; 2005.
44. Priyanto. **Toksikologi. Edisi 2.** Leskonfi Lembaga Studi dan Konsultasi; 2010.
45. Kemenkes RI, Litbang KB, **Obat T balai besar penelitian dan pengembangan tanaman obat dan. Pedoman Umum Panen Dan Pascapanen Tanaman Obat.** bakti husada; 2011.
46. Depkes RI. **Cara Pembuatan Simplisia.** Departemen Kesehatan

Republik Indonesia; 1990.

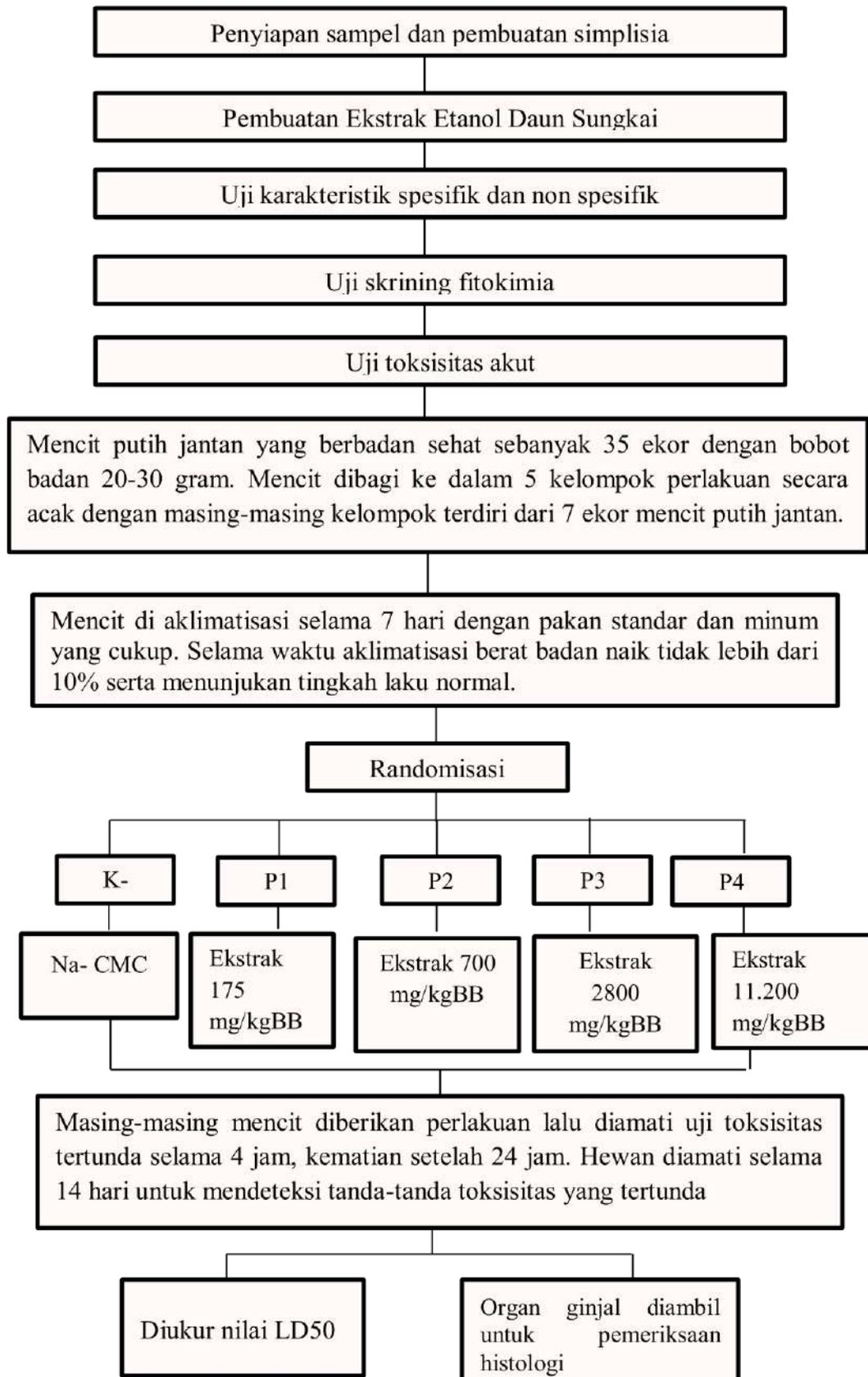
47. Hasibuan A. **Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.)**. *Farmasimed*. 2020;2(2):45-49.
48. Supomo, Supriningrum R, Junaid R. **Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Daun Kerahau (*Callicarpa longifolia* Lamk.)**. *Kim mulawarman*. 2016;13(2):91-92.
49. Widodo IP. **Pengaruh Pemberian High Temperature Roasted Kopi Liberika (*Coffea liberica*) Terhadap Fisiologi dan Histologi Ginjal Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L.)**. In: *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi; 2018.
50. Nurdiniyah, Nazaruddin, Sugito, Salim MN, Fahrimal Y, Aisyah S. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloh Terhadap Gambaran Mikroskopid Ginjal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang Diinfeksi Trypanosoma evansi**. *Med Vet*. 2015;9(2):88-92.
51. Depkes RI. **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat**. Dirjen. POM; 2000.
52. Suhendra CP, Widarta IWR, Wiadnyani AAIS. **Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik**. *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2019;8(1):27. doi:10.24843/itepa.2019.v08.i01.p04
53. Depkes RI. **Sediaan Galenik**. Dirjen. POM, Jakarta; 1986.
54. Chairunnisa S, Wartini NM, Suhendra L, **Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin**. 2019;7(4):551-560.
55. Handayani F, Apriliana A, Natalia H. **Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Simplisia Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macracarpa* Jack)**. *Ilm Ibnu Sina*. 2019;4(1):49-58.
56. Nurdyansyah F, Ayu Widyastuti D, Ayu Mandasari A. **Karakteristik simplisia dan ekstrak etanol kulit petai (*Parkia speciosa*)**

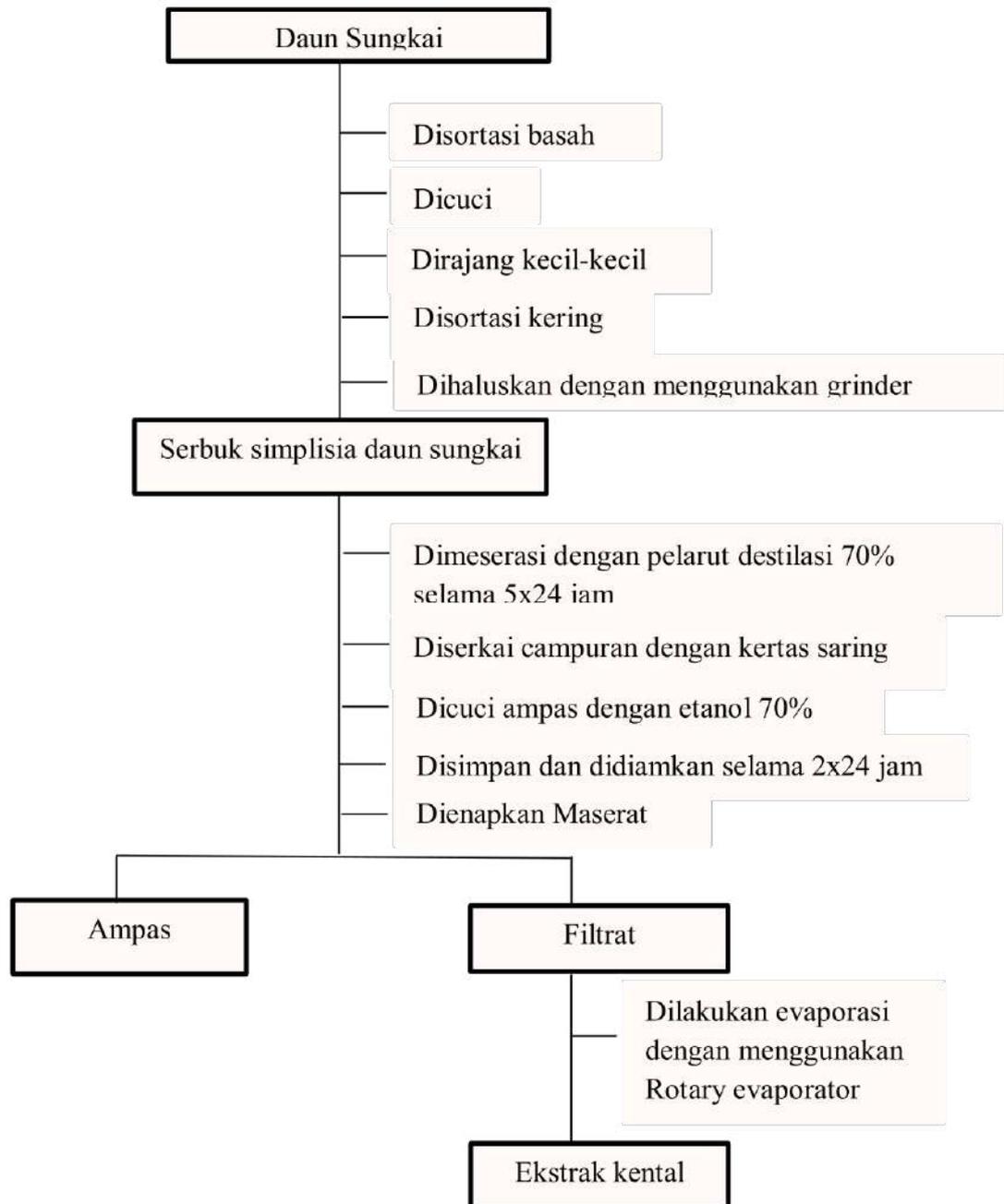
- dengan metode maserasi. *Pros Semin Nas Sians dan Entrep.* Published online 2019. <http://conference.upgris.ac.id/index.php/snse/article/view/191>
57. Penuelas J, Llusia J. **Effects of Carbon Dioxide, Water Supply, and Seasonally on Terpene Content and Emission by *Rosmarinus officinalis*.** *Chemistry (Easton)*. 1997;Ecol(23):979-993.
 58. Efriyendi R, Rinidar, Armansyah TT. **Uji Toksisitas Akut Konsentrasi Ekstrak Air Daun Sernai (*Wedelia biflora*) yang diberikan Peroral Pada Mencit (*Mus musculus*).** *Jimvet*. 2017;01(3):540-546. file:///C:/Users/ASUS/Downloads/3934-7953-1-PB.pdf
 59. Cahyono ID, Sasongko H, Primatika AD. **Neurotransmitter Dalam Fisiologi Saraf Otonom.** 2009;l:42-55.
 60. Ridho P. **Perbedaan Panjang Serta Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (*Ratuss novegicus*) Galur Sprague-Dawley Terhadap Pemberian Asam Folat Pada Periode Kehamilan Yang Berbeda.** In: *Skripsi*. ; 2017.
 61. Longanga OA, Vercruysse A, Foiriers A. **Contribution to The Ethnobotanical, Phitochemical and Pharmacologycal Studies of Traditionally Used Medicinal Plants in The Treatment of Dysentery and Diarrhoea in Lomela Area, Democratic Republic of Congo.** *Ethnopharmacol*. 2000;71(3):411-423.
 62. Mentari IA, Hairunisa I, Ibrahim A, et al. **Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Potensi Antidiare Ekstrak Daun Cincau (*Stephania capitata (Blume) Spreng*).** *J Ilm Manuntung*. 2019;5(1):42-50.
 63. Andreanus A, Soemardji, Kumolosasi E, Aisyah C. **Toksisitas Akut Penentuan Nilai Oral Ekstrak Air Daun Gandarusa (*Justica gendarussa Burm. F.*) pada Mencit Swiss Webster.** *Mat dan Sains*. 2002;7(2):57-62.

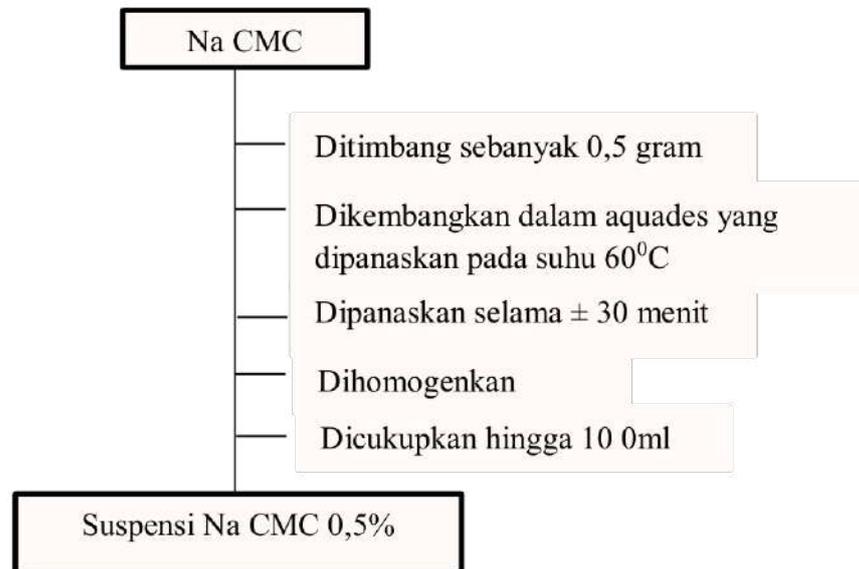
64. Muta R, Indah K. **Pengaruh Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Spodoptera litura* F** . *J Sains dan Seni ITS*. 2015;4(2):2-5.
65. Ardiansyah D, Farizal J, Irnameria D. **Gambaran Kadar Kreatinin Darah Pada Pasien Penyakit Jantung Koroner Di Ruang Iccu Rsud Dr. M.Yunus Provinsi Bengkulu**. *Nurs Public Heal*. 2018;6(2):14-18.
66. Arifin H, Alwi TI, Aisyahharma O, Juwita DA. **Kajian Efek Analgetik dan Toksisitas Subakut Dari Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) Pada Mencit Putih Jantan**. *Sains Farm dan Klin*. 2018;5(2):112-118.
67. Nallakrishna IPA, Purwani STD, Arianti NP, Kardena IM, Sudiarta IW. **Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Spondias Pinnata* Terhadap Berat Organ Ginjal Mencit Betina**. *Farm Udaya*. 2015;4(2):33-36.
68. Manullang DH, Sudira W, Berata K, Merdana M. **Ekstrak Etanol Sarang Semut Menyebabkan Kerusakan Struktur Histologi Ginjal Mencit**. *Bul Vet Udayana*. 2018;10(2):183-189. doi:10.24843/bulvet.2018.v10.i02.p12
69. Aliah FN. **Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Dengan Pemberian Bisphenol – A (Bpa) Dosis Bertingkat Akut Secara Peroral**. In: *Skripsi*. Universitas Hasanudin; 2017:1-88.
70. Ramadhani N. **Potensi Ekstrak Black Garlic (*Allium sativum*, *varietas Lumbu Kuning*) Terhadap Kerusakan Histologi Ginjal Dan Lambung Mencit Betina Yang Diinduksi Aspirin**. In: *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel; 2021.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Alur Penelitian



Lampiran 2. Pembuatan simplisia dan pembuatan ekstrak daun sungkai

Lampiran 3. Pembuatan suspensi Na CMC 0,5%

Lampiran 4. Pembuatan Simplisia Daun Sungkai



Gambar a



Gambar b



Gambar c



Gambar d



Gambar e



Gambar f



Gambar g



Gambar h



Gambar i

Keterangan:

- a. Daun sungkai
- b. Proses perajangan
- c. Simplisia daun sungkai
- d. Serbuk simplisia daun sungkai
- e. Proses maserasi dan penyaringan
- f. Proses evaporator
- g. Ekstrak kentak daun sungkai
- h. Uji kadar abu
- i. Uji kadar air

Lampiran 5. Pengamatan Uji Toksisitas



Gambar a



Gambar b



Gambar c

Keterangan:

- a. Pembagian hewan uji sesuai kelompok
- b. pengamatan toksistas tertunda
- c. pengamatan toksisitas tertunda

Lampiran 6. Pembuatan Preparat Histologi Ginjal



Gambar a



Gambar b



Gambar c



Gambar d



Gambar e



Gambar f



Gambar g



Gambar h



Gambar i

Keterangan:

- a. Pemotongan organ ginjal yg telah direndam formalin
- b. Organ ginjal dimasukkan kedalam kaset
- c. Prosesing jaringan/ perendaman dengan etanol
- d. Pemblokkan jaringan dalam parafin
- e. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom
- f. Jaringan yang sudah dipotong
- g. Proses pewarnaan jaringan
- h. Jaringan yang sudah diberi pewarnaan
- i. Pemeriksaan mikroskopik jaringan organ ginjal

Lampiran 7. Uji ANOVA Terhadap Kadar Kreatinin Serum

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	0E-7
	Std. Deviation	,16517713
Most Extreme Differences	Absolute	,135
	Positive	,090
	Negative	-,135
Kolmogorov-Smirnov Z		,676
Asymp. Sig. (2-tailed)		,750

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

kadar kreatinin serum

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,117	4	20	,376

ANOVA

kadar kreatinin serum

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6,261	4	1,565	58,698	,000
Within Groups	,533	20	,027		
Total	6,794	24			

kadar kreatinin serum

	kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	Kontrol	5	1,2000			
	P1	5		1,6800		
	P2	5			2,0400	
	P3	4			2,2000	
	P4	6				2,6333
	Sig.			1,000	1,000	,140

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,918.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: kadar kreatinin serum							
	(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Kontrol	P1	-,48000*	,10328	,000	-,6954	-,2646
		P2	-,84000*	,10328	,000	-1,0554	-,6246
		P3	1,00000*	,10954	,000	-1,2285	-,7715
		P4	1,43333*	,09888	,000	-1,6396	-1,2271
	P1	Kontrol	,48000*	,10328	,000	,2646	,6954
		P2	-,36000*	,10328	,002	-,5754	-,1446
		P3	-,52000*	,10954	,000	-,7485	-,2915
		P4	-,95333*	,09888	,000	-1,1596	-,7471
	P2	Kontrol	,84000*	,10328	,000	,6246	1,0554
		P1	,36000*	,10328	,002	,1446	,5754
		P3	-,16000	,10954	,160	-,3885	,0685
		P4	-,59333*	,09888	,000	-,7996	-,3871
	P3	Kontrol	1,00000*	,10954	,000	,7715	1,2285
		P1	,52000*	,10954	,000	,2915	,7485
		P2	,16000	,10954	,160	-,0685	,3885
		P4	-,43333*	,10541	,001	-,6532	-,2135
P4	Kontrol	1,43333*	,09888	,000	1,2271	1,6396	
	P1	,95333*	,09888	,000	,7471	1,1596	
	P2	,59333*	,09888	,000	,3871	,7996	
	P3	,43333*	,10541	,001	,2135	,6532	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 8. Data Skoring Histologi Ginjal Mencit

Kelompok	Ulangan	Normal		Piknotik		Karioreksis		Kariolisis		Total Skor
		N	Skor	N	Skor	N	Skor	N	Skor	
Kontrol	1	32,8	0	8,6	8,6	9,4	18,8	9,2	27,6	55
	2	15	0	5,2	5,2	6,2	12,4	8,4	25,2	42,8
	3	16,6	0	2,6	2,6	5,8	11,6	7,8	23,4	37,6
P1	1	26,8	0	3,4	3,4	5,2	10,4	13,2	39,6	53,4
	2	26,6	0	2,8	2,8	3	6	12,2	36,6	45,4
	3	29,4	0	1,8	1,8	4	8	13,2	39,6	49,4
P2	1	25,8	0	3,6	3,6	6,2	12,4	14,2	42,6	58,6
	2	20,2	0	1	1	3,4	6,8	15	45	52,8
	3	21	0	2,4	2,4	3,4	6,8	15,2	45,6	54,8
P3	1	54,4	0	3,8	3,8	2,6	5,2	14,4	43,2	52,2
	2	31	0	3	3	11,6	23,2	13	39	65,2
	3	34,8	0	4,2	4,2	6,6	13,2	20,4	61,2	78,6
P4	1	37,8	0	4,4	4,4	7,8	15,6	20,8	62,4	82,4
	2	34,4	0	7	7	2,4	4,8	32	96	107,8
	3	30,4	0	1,8	1,8	4,6	9,2	30,2	90,6	101,6

Lampiran 9. Uji ANOVA Terhadap Skoring Kerusakan Ginjal Mencit

Tests of Normality							
	Kelompok Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Skoring Histologi	Kontrol	,270	3	.	,949	3	,564
	P1 dosis 175mg/kgBB	,175	3	.	1,000	3	1,000
	P2 dosis 550mg/kgBB	,247	3	.	,969	3	,661
	P3 dosis 1750mg/kgBB	,176	3	.	1,000	3	,983
	P4 dosis 5000mg/kgBB	,295	3	.	,920	3	,451

a. Lilliefors Significance Correction

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	0E-7
	Std. Deviation	11,32272473
	Absolute	,151
Most Extreme Differences	Positive	,151
	Negative	-,129
Kolmogorov-Smirnov Z		,585
Asymp. Sig. (2-tailed)		,884

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances			
Skoring Histologi			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,745	4	10	,217

ANOVA					
Skoring Histologi					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5221,109	4	1305,277	14,373	,000
Within Groups	908,160	10	90,816		
Total	6129,269	14			

Skoring Histologi						
	Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	
Duncan ^a	Kontrol	3	45,1333			
	P1 dosis 175mg/kgBB	3	49,4000	49,4000		
	P2 dosis 550mg/kgBB	3	55,4000	55,4000		
	P3 dosis 1750mg/kgBB	3		65,3333		
	P4 dosis 5000mg/kgBB	3			97,2667	
	Sig.			,236	,079	1,000
	Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
	a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.					

Lampiran 10. Surat Determinasi Daun Sungkai



HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com;
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 226/K-ID/ANDA/IV/2020
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Eva Melisa
Di
Tempat

Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

Nama : Eva Melisa
No. BP : F1F117012
Instansi : Farmasi, Fak. Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
Universitas Jambi.

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1.	Lamiaceae	<i>Peronema canescens</i> Jack

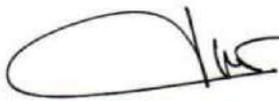
Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 4 Mei 2021
Kepala,

Dr. Nurainas
NIP. 196908141995122001



Lampiran 11. Surat Ethical Clirens

	<p>KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ANDALAS FAKULTAS KEDOKTERAN KOMISI ETIK PENELITIAN</p> <p>Alamat : Kampus Universitas Andalas, Limau Manis Padang Kode Pos 25163 Telepon : 0751-31746, Faksimile : 0751-32838, Dekan : 0751-39844 Laman : http://fk.unand.ac.id e-mail : dekanat@fk.unand.ac.id</p>
<p><u>KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK</u> <i>DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL</i></p>	
<p>No : <i>U/</i>UN.16.2/KEP-FK/2021</p>	
<p>Tim Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, dalam upaya melindungi Hak Azazi dan Kesejahteraan Subjek Penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul :</p> <p><i>The Research Ethics Committee of Medical Faculty Andalas University, in order to protect human rights and welfare of medical health research subject, has carefully reviewed the research protocol entitled :</i></p>	
<p>Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sungkai (<i>Peronema cenescens</i> Jack) Terhadap Fungsi Ginjal Mencit Putih Betina (<i>Mus musculus</i> Linn.)</p>	
<p>Nama Peneliti Utama <i>Principal Researcher</i></p>	<p>: Eva Melisa</p>
<p>Nama Institusi <i>Institution</i></p>	<p>: Universitas Jambi</p>
<p>Protokol Penelitian tersebut dapat disetujui pelaksanaannya. <i>and approved the research protocol.</i></p>	
<p>Padang, 23 Juli 2021</p>	
<p>Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas <i>Dean of Medical Faculty Andalas University</i></p>	<p>Ketua <i>Chairman</i></p>
	
<p>Dr. dr. Afriwardi, SH, Sp.KO, MA NIP 196704211997021001</p>	<p>Dr. dr. Yuliarni Syafrita, SpS (K) NIP 196407081991032001</p>
	
<p>Keterangan/notes: Keterangan lolos kaji etik ini berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan. <i>This ethical approval is effective for one year from the due date.</i> Jika ada kejadian serius yang tidak diinginkan (KTD) harus segera dilaporkan ke Komisi Etik Penelitian. <i>If there are Serious Adverse Events (SAE) should be immediately reported to the Research Ethics Committee.</i></p>	