

PS1

20b

Jakarta

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

**UJI KEAMANAN RAMUAN UNTUK MENURUNKAN KADAR GULA
DARAH, ASAM URAT, KOLESTEROL, DAN TEKanan DARAH TINGGI
DALAM UPAYA SAINTIFIKASI JAMU**



Nama Penyusun Laporan :

M.Wien Winarno
Lucie Widowati
Yun Astuti Nugroho

**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
KEMENTERIAN KESEHATAN
2011**

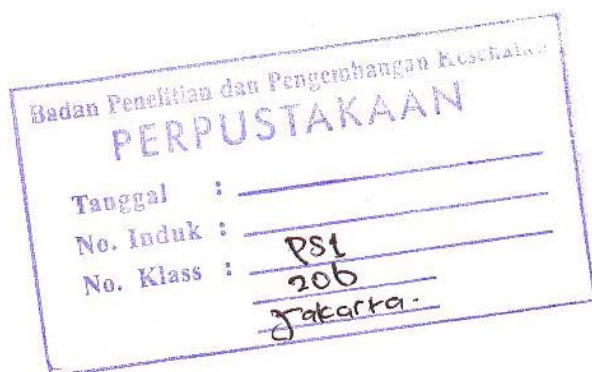
**Surat Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan:
HK.03.05/2/1586/2011 tentang Pembentukan Tim Pelaksana Penelitian tahun 2011**

KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat dan hidayah-Nya, karena telah terselesaikannya penyusunan laporan penelitian Uji Keamanan Ramuan untuk Menurunkan kadar Gula Darah, Asam Urat, Kolesterol dan Tekanan Darah Tinggi dalam Upaya Sainifikasi Jamu.

Hasil penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan evidence base yang akan bermanfaat bagi program Sainifikasi Jamu, sehingga dapat digunakan dalam pelayanan kesehatan formal.

Melalui kesempatan ini, kami menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan ucapan terima kasih kepada semua pihak terutama tim peneliti dan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, atas sumber pembiayaan yang telah disediakan, sehingga penelitian berjalan sebagaimana mestinya tepat waktu dan laporan penelitian dapat diselesaikan. Tak lupa kami ucapkan terimakasih kepada DR. drh. Yulvian Sani, MS. Peneliti Balai Penelitian Veteriner Bogor atas pembacaan hasil dan pemotretan preparat histopatologi.



Jakarta, 20 Januari 2012

Ketua Pelaksana Penelitian

Drh. M. Wien Winarno
NIP. 195903181990031001

ABSTRAK

Untuk mendapatkan *evidence base* dalam upaya saintifikasi jamu telah dilakukan Uji Keamanan Ramuan untuk Menurunkan kadar Gula Darah, Asam Urat, Kolesterol dan Tekanan Darah Tinggi.

Penelitian yang dilakukan meliputi uji Toksisitas akut dan Toksisitas Subkronik dengan jenis penelitian eksperimental laboratorium. Hewan coba yang dipakai tikus putih galur Wistar, jenis kelamin jantan dan betina umur 3 bulan, bobot badan rata-rata 160-180 gram. Penelitian dilakukan Laboratorium Hewan Coba, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

Hasil penelitian menunjukkan a. LD₅₀ oral, ramuan untuk menurunkan kadar gula darah menunjukkan pada dosis setara dengan 32 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga didapatkan LD₅₀ semu lebih besar dari 32 x dosis manusia. b. LD₅₀ oral, ramuan untuk menurunkan kadar asam urat menunjukkan pada dosis setara dengan 32 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga LD₅₀ lebih besar dari 32 x dosis manusia. c. LD₅₀ oral, ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol menunjukkan pada dosis setara dengan 27 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga dapat dikatakan LD₅₀ semu lebih besar 27 x dosis manusia d. LD₅₀ oral, ramuan untuk menurunkan tekanan darah tinggi menunjukkan pada dosis setara dengan 27 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga dapat dikatakan LD₅₀ semu lebih besar 27 x dosis manusia

Pada penelitian subkronis a. ramuan untuk menurunkan kadar gula darah sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung.

b. Ramuan untuk menurunkan kadar asam urat sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung. c. ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung. d. ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung.

Disimpulkan pemberian 9 x dosis manusia yang diberikan selama 90 hari berturut-turut pada tikus putih, ramuan untuk menurunkan kadar gula darah, asam urat, kolesterol dan tekanan darah tinggi masih dalam batas aman.

RINGKASAN EKSEKUTIF

Judul Penelitian: ***Uji Keamanan Ramuan untuk Menurunkan kadar Gula Darah, Asam Urat, Kolesterol dan Tekanan Darah Tinggi dalam Upaya Sainifikasi Jamu.***

Penyusun : M. Wien Winarno, Lucie Widowati, dan Yun Astuti Nugroho

Penggunaan obat tradisional di Indonesia merupakan bagian dari budaya bangsa dan banyak dimanfaatkan masyarakat sejak berabad-abad yang lalu, namun demikian umumnya efektivitas dan keamanannya belum sepenuhnya didukung oleh penelitian yang memadai. Mengingat hal tersebut dan menyadari bahwa Indonesia sebagai mega-senter tanaman obat di dunia, maka perlu disusun suatu kebijakan obat tradisional nasional yang dapat menjadi acuan semua pihak yang terkait didalamnya.

Dalam rangka saintifikasi jamu, akan dilakukan uji keamanan (preklinik) untuk 4 ramuan terpilih yang ditetapkan oleh Komnas Sainifikasi Jamu. Empat ramuan tersebut yaitu : Ramuan untuk menurunkan kadar gula darah, kadar asam urat, kadar kolesterol dan tekanan darah tinggi.

Penelitian uji Toksisitas akut dan Toksisitas Subkronik merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Hewan coba yang dipakai tikus putih galur Wistar, jenis kelamin jantan dan betina umur 3 bulan, bobot badan rata-rata 160-180 gram. Penelitian dilakukan Laboratorium Hewan Coba, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Litbangkes.

Penelitian bertujuan untuk menentukan nilai toksisitas akut (LD_{50}) dan subkronis untuk melihat kelainan-kelainan yang terjadi terhadap fungsi organ hati, ginjal, usus, paru dan jantung lewat pemeriksaan darah rutin, kimia darah, dan histopatologi.

Hasil penelitian menunjukkan a. LD_{50} oral, ramuan untuk menurunkan kadar gula darah menunjukkan pada dosis setara dengan 32 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga didapatkan LD_{50} semu lebih besar dari 32 x dosis manusia. b. LD_{50} oral, ramuan untuk menurunkan kadar asam urat menunjukkan pada dosis setara dengan 32 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga LD_{50} lebih besar dari 32 x dosis manusia. c. LD_{50} oral, ramuan untuk menurunkan kadar kadar kolesterol menunjukkan pada dosis setara dengan 27 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga dapat dikatakan LD_{50} semu lebih besar 27 x dosis manusia d. LD_{50} oral, ramuan untuk menurunkan tekanan darah tinggi menunjukkan pada dosis setara dengan 27 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga dapat dikatakan LD_{50} lebih besar 27 x dosis manusia

Pada penelitian subkronis a. ramuan untuk menurunkan kadar gula darah sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung.

b. Ramuan untuk menurunkan kadar asam urat sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung. c. ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau

kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung. d. ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung.

Disimpulkan hari pemberian 9 x dosis manusia yang diberikan selama 90 hari berturut-turut pada tikus putih, ramuan untuk menurunkan kadar gula darah, asam urat, kolesterol dan tekanan darah tinggi masih dalam batas aman.

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	ii
RINGKASAN EKSEKUTIF	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	1
II. TUJUAN	2
III. METODE PENELITIAN.....	3
IV. ANALISIS DATA	13
V. LUARAN	13
VI. PERTIMBANGAN ETIK	13
VII. HASIL PENELITIAN	14
VIII. PEMBAHASAN	34
IX. KESIMPULAN	39
X. DAFTAR PUSTAKA	41
XI. SUSUNAN TIM PENELITIAN.....	43
XII. JADUAL KEGIATAN	45
XIII. RANCANGAN ANGGARAN BELANJA	46
XIV. REKAPITULASI BIAYA.....	48
XV. BIODATA KETUA PELAKSANA	49
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rata-rata penambahan obot badan	16
Tabel 2. Rata hasil pengukuran darah dan kimia darah 45 hari pemberian ramuan penurun gula darah.....	17
Tabel 3. Rata hasil pengukuran darah dan kimia darah 90 hari dan recovery pemberian ramuan penurun gula darah.....	18
Tabel 4. Rata hasil pengukuran darah dan kimia darah 45 hari pemberian ramuan penurun asam urat.....	19
Tabel 5. Rata hasil pengukuran darah dan kimia darah 90 hari dan recovery pemberian ramuan penurun asam urat	20
Tabel 6. Rata hasil pengukuran darah dan kimia darah 45 hari pemberian ramuan penurun kolesterol.....	21
Tabel 7. Rata hasil pengukuran darah dan kimia darah 90 hari dan recovery pemberian ramuan penurun kolesterol.....	22
Tabel 8. Rata hasil pengukuran darah dan kimia darah 45 hari pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi.....	23
Tabel 9. Rata hasil pengukuran darah dan kimia darah 90 hari dan recovery pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi.....	24
Tabel 10. Hasil histopstologi pemberian ramuan gula darah 40 hari	25
Tabel 11. Hasil histopstologi pemberian ramuan gula darah 90 hari	26
Tabel 12. Hasil histopstologi pemberian ramuan gula darah recovery	27
Tabel 13. Hasil histopstologi pemberian ramuan kolesterol 40 hari	27
Tabel 14. Hasil histopstologi pemberian ramuan kolesterol 90 hari	28
Tabel 15. Hasil histopstologi pemberian ramuan kolesterol recovery	29
Tabel 16. Hasil histopstologi pemberian ramuan asam urat 40 hari	30
Tabel 17. Hasil histopstologi pemberian ramuan asam urat 90 hari	30
Tabel 18. Hasil histopstologi pemberian ramuan asam urat recovery	31
Tabel 19. Hasil histopstologi pemberian ramuan tekanan darah tinggi 40 hari	32
Tabel 20. Hasil histopstologi pemberian ramuan tekanan darah tinggi 90 hari	33
Tabel 21. Hasil histopstologi pemberian ramuan tekanan darah tinggi recover	34

DAFTAR GAMBAR

halaman

Gambar 1.	Histopatologi ginjal dan hati pemberian ramuan penurun Gula darah 45 hari	25
Gambar 2.	Histopatologi ginjal dan hati pemberian ramuan penurun Gula darah 90 hari	26
Gambar 3.	Histopatologi usus dan jantung pemberian ramuan penurun Gula darah recovery	27
Gambar 4.	Histopatologi hati dan ginjal pemberian ramuan penurun Kolesterol 45 hari	28
Gambar 5.	Histopatologi ginjal dan hati pemberian ramuan penurun Kolesterol 90 hari	29
Gambar 6.	Histopatologi hati dan jantung pemberian ramuan penurun Kolesterol recovery	29
Gambar 7.	Histopatologi ginjal dan hati pemberian ramuan penurun Asam urat 45 hari	31
Gambar 8.	Histopatologi hati dan ginjal pemberian ramuan penurun Asam urat 90 hari	32
Gambar 9.	Histopatologi usus dan jantung pemberian ramuan penurun. tekanan darah tinggi 45 hari	32
Gambar 10.	Histopatologi ginjal dan hati pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi 45 hari	33
Gambar 11.	Ramuan penurun gula darah, kolesterol	51
Gambar 12.	Ramuan penurun asam urat dan tekanan darah tinggi	52
Gambar 13.	Skema metode Toksisitas akut	53
Gambar 14.	Skema metode Toksisitas subkronis	54

I. LATAR BELAKANG

Obat tradisional telah diterima secara luas di negara-negara yang tergolong berpenghasilan rendah sampai sedang. Bahkan di beberapa negara berkembang obat tradisional telah dimanfaatkan dalam pelayanan kesehatan terutama dalam pelayanan kesehatan strata pertama. Sementara itu di banyak negara maju penggunaan obat tradisional makin populer.

Penggunaan obat tradisional di Indonesia merupakan bagian dari budaya bangsa dan banyak dimanfaatkan masyarakat sejak berabad-abad yang lalu, namun demikian umumnya efektivitas dan keamanannya belum sepenuhnya didukung oleh penelitian yang memadai. Mengingat hal tersebut dan menyadari bahwa Indonesia sebagai mega-senter tanaman obat di dunia, maka perlu disusun suatu kebijakan obat tradisional nasional yang dapat menjadi acuan semua pihak yang terkait didalamnya.

Dalam rangka saintifikasi jamu, akan dilakukan uji keamanan (preklinik) untuk 4 ramuan terpilih yang ditetapkan oleh Komnas Saintifikasi Jamu. Empat ramuan tersebut yaitu : Ramuan untuk menurunkan kadar gula darah, kadar asam urat, kadar kolesterol dan tekanan darah tinggi.

Beberapa penelitian memberikan hasil sebagai berikut : ekstrak etanol meniran dosis 10 mg, 20 mg dan 40 mg/kg bb yang diberikan pada tikus putih yang diinfeksi *S. epidermitis* dapat meningkatkan aktifitas makrofag, hal tersebut menunjukkan bahwa herba meniran mempunyai sifat dapat meningkatkan imunitas. (1,2)

Rebusan daun sambiloto dosis 80 mg/kg bb. dan ekstrak etanol 2 g/kg bb. diberikan pada tikus putih yang diinduksi aloxan dapat menurunkan kadar glukosa darah 46,21 dan 45,13%.

Ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus Burahol (Bl) Hook. F&TH*) dosis 50 – 400 mg/kg bb. mempunyai efek antihiperuremic yang potensial dan efeknya sama

dengan allupurinol. Diduga kandungan flavonoidnya bersifat antiheperuremic dan antioksidan. (3,4)

Temulawak pada dosis 6ml - 10ml/kg bb dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada kelinci, disamping itu kurkuminoid temulawak pada dosis 10 - 20mg/kg bb pada kelinci, pengaruh yang terlihat terutama pada dosis 20mg berupa peningkatan HDL kolesterol darah. Dilain pihak kurkumin temulawak mampu menghambat agregasi trombosit pada dosis 100-300 mg/kg. Efek penurunan darah secara tidak langsung dari fraksi asam dari sledri dapat menurunkan tekanan darah pada konsentrasi (20 - 40) % yang diberikan 8ml/ekor. (5)

Uji toksisitas akut(LD50) dalam bentuk tunggal dari seluruh komponen tanaman yang digunakan dalam ramuan jamu yang diperiksa termasuk dalam golongan Bahan "Praktically Non Toksik" kecuali kepel belum ada data toksisitas akut.(6)

Uji prelinik yang akan dilakukan meliputi uji toksistas akut dan subkronik dengan menggunakan metoda.(7,8,9)

II. TUJUAN

Tujuan umum

Memberikan landasan ilmiah toksisitas akut dan toksisitas subkronis 4 yai tu; ramuan menurunkan kadar gula darah, asam urat, kolesterol, dan menurunkan tekanan darah tinggi.

Tujuan khusus :

Toksistas akut :

1. Menentukan nilai toksistas akut (LD₅₀) ramuan menurunkan kadar gula darah, asam urat, kolesterol, dan menurunkan tekanan darah tinggi. Hal tersebut dapat memberikan gambaran besarnya daya racun suatu zat; makin kecil LD₅₀, maka makin besar daya racun suatu zat,

Toksisitas subkronis :

1. Melihat gambaran kimia darah dengan mengukur jumlah sel darah merah, sel darah putih, kadar Hb, Hematokrit, SGOT, SGPT, Ureum, Kreatinin 4 ramuan tersebut diatas.
2. Melihat gambaran histopatologi organ-organ hati, ginjal, lambung, jantung, limpa, paru, dan otak antara kelompok tikus putih yang diberi ramuan-ramuan tersebut diatas.
- 3.

III. METODE PENELITIAN

1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Pusat Biomedis dan Teknologi Kesehatan Dasar.
Dilaksanakan pada bulan Pebruari – November 2011

2. Jenis Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium toksisitas akut oral dan subkronis.

3. Desain Penelitian

Disain penelitian Rancangan Acak Lengkap

4. Jenis dan Asal Hewan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini tikus putih galus *Wistar*, jantan dan betina umur 3 bulan, bobot badan 160 – 180 gram.

Asal hewan dari Laboratorium Hewan Coba, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

5. Pemeliharaan Hewan

Hewan percobaan ditempatkan pada kandang ukuran 425 x 260 x 185 mm, yang terbuat dari poly carbonat. Hewan ditempatkan pada rak kandang didalam ruangan dengan pencahayaan dan sirkulasi udara yang baik. Suhu ruangan sesuai dengan suhu kamar, dengan kelembabkan udara sekitar 26 – 27 % (10).

6. Estimasi Besar Sampel

Toksitas akut oral untuk setiap ramuan memerlukan tikus putih sebanyak 25 ekor jantan dan 25 ekor betina .

Toksitas subkronis untuk setiap ramuan memerlukan tikus putih sebanyak 50 ekor jantan dan 50 ekor betina. Pengelompokan Hewan Percobaan dilakukan secara random berdasarkan kelompok umur dan bobot badannya.

7. Variabel

Variabel bebas

- a. Perlakuan (Tingkatan Dosis dari ramuan)
- b. Waktu

Variabel terikat

- a. Toksitas akut oral : kematian, dan bobot badan
- b. Toksitas subkronis : Bobot badan, parameter kimia darah, SGPT,SGOT, Ureum, Kreatinin, kelainan histopatologinya

8. Pengumpulan Data dan Alat yang digunakan

Cara pengumpulan data dengan melakukan pengukuran terhadap variabel-variabel terikat menggunakan alat timbangan berat badan khusus hewan, mikroskop, Spektrofotometer.

Bahan Dan Cara Kerja

1. Bahan

a). Bahan Uji

- Ramuan menurunkan kadar gula darah dengan komposisi : herba sambiloto 5 gr, herba brotowali 5 gr, rimpang temulawak 3 gr, rimpang kunyit 3 gr, dan herba meniran 3 gr. Cara penguasaan; ramuan dicuci, direbus dengan 4 gelas air

sampai mendidih dan dibiarkan air rebusan tinggal 2 gelas, didinginkan disaring dan diminum 2 kali sehari pagi dan sore.

- Ramuan menurunkan kadar asam urat dengan komposisi : daun tempuyung 2 gr, kayu secang 5 gr, daun kepel 3 gr, rimpang temulawak 3 gr, rimpang kunyit 3 gr, herba meniran 3 gr. Cara pengguaan; ramuan dicuci, direbus dengan 4 gelas air sampai mendidih dan dibiarkan air rebusan tinggal 2 gelas, didinginkan disaring dan diminum 2 kali sehari pagi dan sore.
- Ramuan menurunkan kadar kolesterol dengan komposisi : rimpang temulawak 5 gr, daun jati belanda 5 gr, daun kemuning 5 gr, rimpang kunyit 3 gr, herba meniran 3 gr, dan klembak 5 gr. Cara pengguaan; ramuan dicuci, direbus dengan 4 gelas air sampai mendidih dan dibiarkan air rebusan tinggal 2 gelas, didinginkan disaring dan diminum 2 kali sehari pagi dan sore.
- Ramuan tekanan darah tinggi dengan komposisi : herba seledri 5 gr, herba pegagan 3 gr, kumis kucing 5 gr, rimpang temulawak 3 gr, rimpang kunyit 3 gr, herba meniran 3 gram. Cara pengguaan; ramuan dicuci, direbus dengan 4 gelas air sampai mendidih dan dibiarkan air rebusan tinggal 2 gelas, didinginkan disaring dan diminum 2 kali sehari pagi dan sore.

b) Hewan Coba

Toksitas akut menggunakan tikus putih, galur *Wistar*, jenis kelamin jantan, dan betina umur \pm 3 bulan, bobot badan rata-rata 160 gram.

c) Makanan Hewan Percobaan

Makanan dalam bentuk pelet dengan komposisi makanan standar untuk tikus: Selulosa 4%; Protein 20-23%; Lemak 3,5% dan mineral-mineral 7%. Untuk satu hari tikus diberi makanan 20 gram/hari/ekor. Makanan berasal dari Lab. Hewan Percobaan Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. Air minum menggunakan air kran (PAM) dan minum yang diperlukan untuk setiap hewan 1-

3. Cara Kerja

a) Pembuatan Bahan Uji

Bahan ditimbang sesuai yang dibutuhkan, ditambahkan air 100 mL kemudian direbus pada suhu 100° C selama 15 menit. Bahan disaring dan ditambahkan air sampai volume 100 mL dan diuapkan memakai penangan pada suhu 60° C sampai didapatkan volume konsentrasi yang diinginkan.

b) Toksisitas Akut Oral

Prinsip

Pemberian dosis tunggal suatu bahan uji secara oral yang dapat menyebabkan kematian 50% dari hewan yang dicoba dalam jangka waktu tertentu.

Hewan Percobaan

Untuk toksisitas akut oral menggunakan hewan percobaan tikus putih, galur *Wistar* jenis kelamin jantan dan betina, umur \pm 3 bulan dengan bobot badan \pm 160 -180 gram.

Jumlah hewan

Pada lima (5) kelompok dosis, jumlah hewan untuk setiap kelompok 5 ekor jantan dan 5 ekor betina.

Dosis

Pemberian dosis berdasarkan pemakaian empiris pada manusia. Dosis terbesar didasarkan pada jumlah maksimal bahan uji yang secara teknis dapat diterima oleh hewan percobaan. Kemudian dosis diturunkan dengan menggunakan kelipatan dosis. Misalnya Dosis I pemberian 1 x dosis manusia; Dosis II pemberian 4 x dosis manusia; Dosis III pemberian 8 x dosis manusia; Dosis IV pemberian 16 x dosis manusia; Dosis V pemberian 32 x dosis manusia.

Cara pemberian

Bahan uji diberikan secara oral dan sekali sehari, menggunakan alat sonde lambung yang dipasangkan pada syringe 5 mL.

Tikus dibagi secara acak kedalam 5 kelompok dosis, masing-masing tikus diberi bahan uji dengan cara ujung sonde dimasukkan ke dalam mulut, kemudian perlahan-lahan dimasukkan melalui tepi langit-langit ke belakang sampai esofagus.

Observasi

Selama 6 jam setelah pemberian bahan uji, hewan diamati secara seksama terhadap adanya gejala toksik dan kematian.

Pengamatan meliputi : tingkah laku (aktivitas spontan, peka sentuhan, rasa nyeri); eksitasi sistem syaraf pusat (gejala strarub, melompat, tremor, konvulsi); sistem syaraf otonom (mata midriasis); Refleks (refleks kornea, pinna)

Pengamatan dilanjutkan sampai 24 jam dan dicatat jumlah kematian dalam kelompok, apabila terdapat kematian, maka semua hewan dikorbankan untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi. Apabila tidak ada kematian, pengamatan dilanjutkan sampai 14 hari, dilakukan penimbangan berat badan setiap hari, dicatat terjadinya gejala klinik /toksik yang terjadi, dicatat jumlah kematian, dan dilakukan pengukuran suhu badan.

Pada akhir penelitian, hewan percobaan yang masih hidup dikorbankan dengan melakukan anestasi menggunakan eter 3 mL/ 5 ekor tikus, dilakukan otopsi, dilakukan pengamatan secara makroskopis, dan apabila ada kelainan organ-organ dilakukan pemeriksaan histopatologi.

b). Toksisitas Subkronis

Prinsip

Pemberian bahan uji menggunakan 3 tingkatan dosis yang berbeda, dan satu kelompok diberi pelarut dari bahan uji. Ketiga dosis bahan uji yaitu satu dosis yang tidak menimbulkan efek, satu dosis yang memberikan efek farmakologi, dan satu atau lebih dosis yang diperkirakan memperlihatkan efek dosis

Tujuan

Untuk melihat efek toksik bahan uji yang diberikan secara berulang setiap hari selama 3 bulan, dengan melihat adanya perubahan karena akumulasi bahan obat, toleransi, metabolisme, dan kelainan yang spesifik pada organ tertentu. Parameter yang diukur adalah gambaran darah normal, biokimia darah dan patologi anatomi organ penting.

Hewan Percobaan

Menggunakan hewan percobaan tikus putih, galur *Wistar*, menggunakan dua jenis kelamin, jantan dan betina ; umur \pm 3 bulan dengan bobot badan \pm 160 gram.

Jumlah hewan

Setiap kelompok dosis terdiri dari 5 jantan dan 5 betina. Untuk pemulihan (*Recovery*) ditambah 10 ekor jantan dan 10 ekor betina.

Lama pemberian

Lama pemberian bahan uji adalah 3 bulan, dan dihentikan pemberian bahan ujinya selama 2 minggu.

Dosis Pemberian

Pemberian bahan uji menggunakan Dosis I diberikan 1 x dosis manusia; Dosis II pemberian 3 x dosis manusia; Dosis III pemberian 9 x dosis manusia dan Dosis IV pemberian akuades (sebagai dosis kontrol).

Cara pemberian

Pemberian bahan uji secara oral menggunakan sonde lambung yang setiap hari selama tiga bulan dan untuk kelompok *Recovery* pemberian bahan uji dihentikan (tidak diberi apa-apa) diamati sampai 2 minggu. Pemberian tersebut diharapkan

akan terlihat perubahan-perubahan karena akumulasi bahan uji seperti, toleransi bahan uji, metabolisme atau kelainan spesifik pada organ tertentu.

Observasi dan Pengujian

Selama penelitian diamati kesehatan hewan antara lain gejala-gejala umum atau kelainan yang dijumpai, misal diare, tremor, suhu badan, berat badan, makanan dan minuman secara periodik dilakukan pencatatan.

Setelah pemberian bahan uji yang ditetapkan yaitu selama 45 hari, 90 hari dan masa *recovery* dari masing-masing kelompok dosis (jantan, betina) dilakukan pengambilan darah. Untuk pengambilan darah hewan dipuasakan selama 16-18 jam. Hewan dianestesi secara inhalasi menggunakan eter dosis 3 ml/ 5 ekor. Hewan difiksasi telentang pada papan bedah dengan keempat kakinya direntangkan sejauh mungkin kemudian sekrup dikencangkan dengan maksud supaya tikus tidak bergerak. Darah diambil sebanyak 5 cc dengan hati-hati dari vena jugularis menggunakan jarum suntik ukuran 5 cc. Darah ditampung di tabung sentrifuga yang bersih, kering menjadi 2 tabung. Satu tabung diberi antikoagulan heparin dan tabung kedua tanpa heparin. Tabung dtanpa heparin disentrifus 10 menit dengan kecepatan 10.000 RPM, sehingga didapatkan serum untuk pengukuran biokimia darah. Sedang tabung tanpa heparin untuk pemeriksaan darah rutin.

Parameter yang diukur gambaran darah normal dan biokimia darah meliputi : jumlah sel darah merah, sel darah putih, haemoglobin, hematokrit, kadar SGOT, SGPT, ureum, dan kreatinin.

Setelah pengambilan darah hewan dikorbankan, dilakukan otopsi dan diamati secara makroskopis dari organ-organ hati, ginjal, paru, limpa, lambung, dan usus. Organ-organ tersebut diambil dimasukkan dalam bufer formalin untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi.

Pembuatan preparat histologi:

1. Fiksasi

Organ hati yang telah direndam dan dicuci dalam larutan NaCl 0,9%, kemudian dipotong melintang sebesar 1 cm untuk difiksasi

2. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan dengan cara merendam dalam alkohol seri dengan konsentrasi naik, yaitu berturut-turut dalam alkohol 96% selama 1 jam sebanyak 2 kali dan alkohol 100% selama 1 jam sebanyak 2 kali. Organ selanjutnya dimasukkan ke dalam benzil benzoat maksimal selama 24 jam atau sampai organ terlihat bening (transparan), kemudian direndam dalam larutan benzol selama 15 menit sebanyak 2 kali.

3. Infiltrasi

Proses infiltrasi dilakukan dengan terlebih dahulu mencairkan paraffin padat dalam oven (titik leleh 58° - 60°C), kemudian jaringan direndam dalam paraffin cair selama 1 jam sebanyak 2 kali. Proses infiltrasi dilakukan di dalam incubator dengan suhu 60°C.

4. Penanaman

Penanaman (*embedding*) dilakukan dengan cara memasukkan organ ke dalam kotak-kotak cetakan yang berisi paraffin cair hingga terendam dan diberi label. Apabila terdapat gelembung udara di dalam paraffin, dapat dihilangkan dengan menggunakan sodden panas. Paraffin didinginkan dalam suhu kamar selama 24 jam, hingga mengeras.

5. Pemotongan

Penyayatan (*sectioning*) dilakukan setelah mengeluarkan paraffin yang berisi jaringan dari cetakan, selanjutnya direkatkan pada holder dengan

menggunakan mikrotom dilakukan penyayatan dengan ketebalan 3-4 mikrometer.

6. Penempelan

Penempelan (*mounting*) dilakukan pada gelas objek yang telah diusap dengan albumin mayer dan ditetesi aquades. Sayatan diletakkan pada gelas objek, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* (30°-40°C) sampai jaringan mengembang. Kelebihan aquades dihisap dengan *tissue paper* dan dibiarkan hingga mengering.

7. Deparafinisasi

Parafin pada sediaan dilarutkan dengan cara sebanyak 2 kali masing-masing selama 15 menit.

8. Hidrasi direndam dalam xilol

Proses hidrasi dan penghilangan xilol dilakukan dengan cara merendam sediaan dalam alkohol seri dengan konsentrasi turun (100%, 96%, 70%) masing-masing selama 3 menit.

9. Pewarnaan

Pewarnaan (*staining*) yang digunakan adalah *Hematoksin-Eosin*. Sediaan direndam dalam larutan *Hematoksin* selama 4 menit, kemudian dicuci dengan aquades atau air mengalir. Apabila pewarnaan terlalu ungu maka dilarutkan dengan cara dicelupkan ke dalam larutan HCl 1 % selama beberapa detik dan selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan *Eosin* 1 % selama 4 menit.

10. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan dengan merendam sediaan dalam alkohol seri konsentrasi (70%, 96%, clean 100%) masing-masing selama 1-3 menit. Kemudian dalam campuran alkohol - xilol dengan perbandingan volume 1 : 1 selama 3 menit.

11. Penjemihan

Sediaan yang telah didehidrasi dijemihkan ke dalam xilol sebanyak 3 kali masing-masing direndam selama 3 menit.

12. Penutupan

Xilol dan kotoran yang ada disekitar jaringan pada sediaan terlebih dahulu dibersihkan dengan *tissue paper*, kemudian ditetesi 1 tetes tepat pada jaringan dan selanjutnya ditutup dengan kaca penutup. Apabila ada gelembung udara, kaca penutup ditekan-tekan dengan menggunakan sonde dan dibiarkan mengering pada suhu kamar. Setelah selesai pembuatan preparat dilakukan pengamatan dibawah mikroskop untuk melihat ada tidaknya kelainan organ-organ tikus yang diambil setelah pemberian bahan selama 45 hari dan 90 hari dan masa *recovery*, kemudian dilakukan dokumentasi dengan membuat foto.

Recovery from toxicity.

Kelompok *Recovery*, adalah kelompok setelah masa observasi berakhir, dimana ada sebagian hewan percobaan yang dibiarkan hidup selama 2 minggu. Tujuan untuk mengetahui, apakah sifat toksik bahan uji yang dipakai bersifat reversibel. Hewan uji yang dibiarkan hidup tersebut adalah yang diberi dosis terbesar dan kontrol.

IV. ANALISA DATA

Analisa data yang digunakan untuk toksisitas akut menggunakan analisa Probit, sedangkan untuk toksisitas subkronis gambaran kimia darah menggunakan Anova dan pemeriksaan histopatologi dar organ-organ tubuh secara diskriptif.

V. LUARAN

Diperolehnya 4 ramuan Sainifikasi Jamu yang aman berdasarkan uji toksisitas akut oral dan uji toksisitas subkronis.

VI. PERTIMBANGAN ETIK

Penelitian ini menggunakan subyek hewan tikus putih, karena itu wajib dimintakan persetujuan etik dari Komisi Etik Hewan. Untuk itu Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan telah menerbitkan surat Persetujuan Etik (*Ethical Approval*) nomor : KE.01.05/EC/299/2011, tertanggal 6 Mei 2011.

VII. HASIL PENELITIAN

A. Tosisitas akut (LD_{50}) oral

- a. Hasil penelitian LD_{50} oral, ramuan untuk menurunkan kadar gula darah menunjukkan pada dosis setara dengan 32 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga LD_{50} semu ramuan untuk menurunkan kadar gula darah adalah lebih besar dari 32 x dosis manusia.
- b. Hasil penelitian LD_{50} oral, ramuan untuk menurunkan kadar asam urat menunjukkan pada dosis setara dengan 32 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga LD_{50} semu ramuan untuk menurunkan kadar asam urat adalah lebih besar dari 32 x dosis manusia.
- c. Hasil penelitian LD_{50} oral, ramuan untuk menurunkan kadar kadar kolesterol menunjukkan pada dosis setara dengan 27 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga dapat dikatakan LD_{50} semu ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol lebih besar dari 27 x dosis manusia.
- d. Hasil penelitian LD_{50} oral, ramuan untuk menurunkan tekanan darah tinggi menunjukkan pada dosis setara dengan 27 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sehingga dapat dikatakan LD_{50} semu ramuan untuk menurunkan tekanan darah tinggi lebih besar dari 27 x dosis manusia.

Pengamatan selama 6 jam setelah pemberian bahan obat terhadap tingkah laku tingkah laku meliputi : tingkah laku (aktivitas spontan, peka sentuhan, rasa nyeri) dan eksitasi sistem syaraf pusat (gejala strarub, melompat, tremor, konvulsi) pemberian dosis besar pada semua ramuan hewan dalam keadaan normal yaitu peka terhadap sentuhan dan rasa nyeri. Tidak terjadi straub, melompat, tremor dan konvulsi pada hewan coba.

B. Pengukuran bobot badan

Pengaruh pemberian bahan uji *single dose* (dosis sekali pemberian) terhadap bobot badan tikus jantan betina, dilakukan menimbang hewan setiap hari, selama 14 hari pengamatan. Hasil penimbangan bobot badan pada semua ramuan rata-rata menunjukkan penurunan berat badan pada hari ke 2 sampai hari ke 5, pada hari ke 7, bobot badan terlihat kenaikan sampai akhir pengamatan. (Tabel 1)

Tabel 1. Rata-rata pertambahan bobot badan

Ramuan A	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5	Hari ke-6	Hari ke-7	Hari ke-14
1 x dosis manusia	168,3	186,4	178,3	180,7	185,5	186,7	188,5	191,0
4 x dosis manusia	176,3	178,9	163,2	176,1	181,3	183,5	185,4	186,3
16 x dosis manusia	195,5	196,0	191,9	193,8	197,3	199,3	201,4	205,7
32 x dosis manusia	187,3	192,3	186,5	189,1	192,0	193,5	195,9	200,4
Ramua B								
1 x dosis manusia	176,5	174,7	172,9	172,7	176,0	178,0	180,6	183,7
4 x dosis manusia	175,2	173,3	171,1	171,2	174,8	177,8	179,5	183,8
16 x dosis manusia	185,6	188,6	183,2	178,7	183,9	184,7	187,2	190,9
32 x dosis manusia	187,5	190,7	188,5	181,5	181,7	182,4	184,4	188,4
Ramuan C								
1 x dosis manusia	191,9	190,3	198,2	189,1	189,6	191,8	193,3	194,1
3 x dosis manusia	184,4	183,8	175,2	179,2	181,8	183,6	184,7	187,4
9 x dosis manusia	173,2	166,5	158,0	168,3	172,5	174,5	176,3	178,2
27 x dosis manusia	180,7	179,4	179,4	179,8	185,7	185,8	186,9	188,1
Ramuan D								
1 x dosis manusia	169,5	169,5	168,9	167,7	168,9	171,7	173,5	173,7
3 x dosis manusia	166,7	166,5	166	168,3	170,3	171,9	172,7	169,3
9 x dosis manusia	167,1	166,9	163	161,2	164,2	165,8	167,2	169,3
27 x dosis manusia	176,8	170	165	163,7	166,7	168,4	169,2	172,6

Keterangan : A = Ramuan menurunkan kadar gula darah; B = Ramuan menurunkan kadar asam urat; C = Ramuan menurunkan kadar Kolesterol; D = Ramuan menurunkan tekanan darah tinggi.

A. Toksisitas subkronik

Pada pemeriksaan darah yang meliputi kadar eritrosit, leukosit, haemoglobin, sGOT, sGPT ureum, dan kreatinin, dari empat ramuan tersebut.

a. Ramuan menurunkan kadar gula darah

Tabel 2. Rata-rata hasil pengukuran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 45 hari pemberian ramuan penurun kadar gula darah

Kelompok Pengukuran	1 x Dosis manusia	3 x dosis manusia	9 x dosis manusia	Akuades
Eritrosit ($\times 10^6$ /dl)	7,29 \pm 0,80 A	7,81 \pm 0,67 a	8,57 \pm 0,72 a	8,11 \pm 0,68 a
Leukosit ($\times 10^3$ /dl)	8,18 \pm 1,5 A	8,99 \pm 1,6 a	9,92 \pm 3,36 a	10,72 \pm 0,68 a
Haemoglobin (mg/dl)	13,27 \pm 1,54 A	14,56 \pm 1,35 a	15,07 \pm 0,94 a	15,32 \pm 2,14 a
Hematokrit (%)	40,37 \pm 5,68	41,18 \pm 3,16	15,07 \pm 0,95	42,75 \pm 3,24
Ureum (mg/dl)	36,84 \pm 1,40 A	37,88 \pm 2,49 a	35,97 \pm 1,33 a	38,85 \pm 1,05 a
Kreatinin (mg/dl)	0,85 \pm 0,07 A	0,83 \pm 0,05 a	0,84 \pm 0,04 a	0,83 \pm 0,05 a
sGOT (mg/dl)	176,95 \pm 7,64 A	180,15 \pm 6,93 ab	186,45 \pm 8,80 b	185,46 \pm 9,48 b
sGPT (mg/dl)	58,35 \pm 4,12 A	66,46 \pm 2,19 b	64,44 \pm 2,49 b	61,54 \pm 1,36 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambaran ureum dan kreatinin pada dosis uji tidak berbeda dibanding dengan akuades, tetapi sGOT dan sGPT pada 3 x dosis manusia terlihat lebih tinggi dibanding normal, tetapi pada uji statistik berbeda nyata.

b. Ramuan menurunkan kadar gula darah

Tabel 3. Rata-rata hasil pengukuran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 90 hari pemberian ramuan penurun gula darah dan recovery

Kelompok Pengukuran	1 x Dosis manusia	3 x dosis manusia	9 x dosis manusia	Akuades	Recovery
Eritrosit ($\times 10^6$ /dl)	7,30 \pm 0,91 a	7,95 \pm 0,87 ab	7,90 \pm 0,81 a	7,00 \pm 1,16 a	8,02 \pm 0,50 B
Leukosit ($\times 10^3$ /dl)	8,97 \pm 2,23 a	9,76 \pm 2,51 a	10,95 \pm 3,5 a	9,46 \pm 2,51 a	8,70 \pm 4,13 A
Haemoglobin (mg/dl)	14,00 \pm 0,90 a	15,32 \pm 1,65 a	14,73 \pm 1,12 a	13,28 \pm 1,90 b	14,80 \pm 0,50 A
Hematokrit (%)	40,71 \pm 2,30 a	44,11 \pm 4,61 a	43,28 \pm 2,73 a	37,98 \pm 7,80 a.	44,26 \pm 1,52 A
Ureum (mg/dl)	48,63 \pm 6,60 a	41,78 \pm 5,94 b	42,72 \pm 4,48 bc	37,85 \pm 5,49 bde	33,91 \pm 4,67 E
Kreatinin (mg/dl)	0,83 \pm 0,12 a	0,80 \pm 0,07 a	0,87 \pm 0,04 a	0,84 \pm 0,10 a	0,85 \pm 0,03 A
sGOT (mg/dl)	181,27 \pm 5,96 a	165,05 \pm 9,41 b	177,58 \pm 4,25 b	167,72 \pm 8,60 bc	159,26 \pm 7,25 D
sGPT (mg/dl)	37,20 \pm 12,11 ab	59,67 \pm 10,68 b	43,35 \pm 2,73 c	55,40 \pm 10,38 d	62,11 \pm 7,28 Bde

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin dan hematokrit hampir tidak ada perbedaan antara kelompok perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol. Kadar ureum pada

pemberian 1 x, 3 x, dan 9 x dosis manusia terlihat lebih tinggi dibandingkan normal dan *recovery*. Untuk sGOT pada dosis 9 x dosis manusia terlihat lebih tinggi dibandingkan kontrol dan *recovery*, tetapi secara statistik tidak berbeda nyata. sGPT kelompok akuades dan *recovery* sedikit lebih tinggi dibanding pemberian 9 x dosis manusia.

c. Ramuan menurunkan kadar asam urat

Tabel 4. Rata-rata hasil pengukuran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 45 hari pemberian ramuan penurun asam urat

Kelompok Pengukuran	1 x Dosis manusia	3 x dosis manusia	9 x dosis manusia	Akuades
Eritrosit ($\times 10^6/\text{dl}$)	8,54 \pm 1,16 A	8,78 \pm 0,66 a	8,50 \pm 0,73 a	8,82 \pm 0,92 A
Leukosit ($\times 10^3/\text{dl}$)	8,50 \pm 2,29 A	8,78 \pm 2,50 a	9,92 \pm 2,73 a	11,52 \pm 3,72 A
Hematokrit (%)	42,11 \pm 4,97 A	43,83 \pm 1,95 a	42,33 \pm 1,57 a	42,23 \pm 1,57 A
Haemoglobin (mg/dl)	15,10 \pm 1,43 A	14,93 \pm 0,81 a	14,57 \pm 0,29 a	15,83 \pm 0,89 A
Ureum (mg/dl)	44,07 \pm 3,76 A	38,07 \pm 3,47 a	31,54 \pm 6,0 a	33,31 \pm 4,42 A
Kreatinin (mg/dl)	0,85 \pm 0,10 A	0,82 \pm 0,06 a	0,77 \pm 0,07 b	0,79 \pm 0,04 A
sGOT (mg/dl)	178,58 \pm 13,42 Ab	180,27 \pm 14,25 a	186,61 \pm 14,38 a	165,53 \pm 12,26 a
sGPT (mg/dl)	58,78 \pm 6,35 A	63,49 \pm 5,63 a	65,86 \pm 7,15 b	58,05 \pm 7,64 A

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambaran leukosit, haemoglobin pada kelompok akuades lebih tinggi dari dosis yang lain. Demikian juga gambaran kreatinin pada 1 dan 3 x dosis manusia terlihat lebih

tinggi dibanding akuades, tetapi secara statistik tidak berbeda nyata. Demikian juga sGOT dan sGPT 3 x dosis manusia dan 9 x dosis manusia terlihat kenaikan dibanding dengan pemberian akuades.

d. Ramuan menurunkan kadar asam urat

Tabel 5. Rata-rata hasil pengukuran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 90 hari pemberian penurun asam urat dan recovery

Kelompok Pengukuran	1 x Dosis manusia	3 x dosis manusia	9 x dosis manusia	Akuades	Recovery
Eritrosit ($\times 10^6$ /dl)	8,05 \pm 0,62 a	7,72 \pm 0,52 a	8,09 \pm 0,66 a	7,70 \pm 0,5 a	7,85 \pm 0,61 a
Leukosit ($\times 10^3$ /dl)	10,61 \pm 2,66 a	5,83 \pm 3,12 a	8,43 \pm 2,81 a	9,22 \pm 3,64 a	9,00 \pm 2,7 a
Hematokrit (%)	14,98 \pm 0,67 a	14,22 \pm 0,63 a	14,76 \pm 0,69 a	13,96 \pm 1,66 a	14,26 \pm 0,87 a
Haemoglobin (mg/dl)	43,75 \pm 1,42 a	41,18 \pm 0,87 a	43,65 \pm 2,25 a	41,03 \pm 6,23 a	42,45 \pm 2,52 a
Ureum (mg/dl)	36,71 \pm 6,47 a	39,46 \pm 7,59 a	46,32 \pm 5,08 a	37,85 \pm 5,81 a	39,77 \pm 9,76 a
Kreatinin (mg/dl)	0,97 \pm 0,12 ab	0,97 \pm 0,06 a	0,88 \pm 0,09 ab	0,86 \pm 0,07 ab	0,87 \pm 0,10 b
sGOT (mg/dl)	181,27 \pm 5,96 abc	165,05 \pm 10,41 ab	177,58 \pm 4,25 abc	167,72 \pm 8,60 abc	159,26 \pm 7,25 c
sGPT (mg/dl)	56,84 \pm 14,54 a	61,58 \pm 16,87 a	41,35 \pm 28,55 a	63,72 \pm 10,30 A	58,99 \pm 8,05 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambaran eritrosit, leukosit, hematokrit dan haemoglobin tidak ada perbedaan antara kelompok perlakuan dengan akuades. Demikian juga kadar ureum dan sGPT tidak ada

perbedaan. Untuk kadar kreatinin terutama pemberian dosis 9 x terjadi peningkatan dibanding kontrol, tetapi secara statistik tidak berbeda nyata.

e. Ramuan menurunkan kadar kolesterol

Tabel 6. Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 45 hari pemberian ramuan penurun kolesterol

Kelompok Pengukuran	1 x Dosis manusia	3 x dosis manusia	9 x dosis manusia	Akuades
Eritrosit ($\times 10^6/\text{dl}$)	7,88 \pm 0,86 A	7,88 \pm 1,01 a	7,99 \pm 0,69 a	7,09 \pm 0,98 a
Leukosit ($\times 10^3/\text{dl}$)	9,57 \pm 2,48 A	9,36 \pm 1,14 a	9,17 \pm 2,61 a	7,09 \pm 0,98 a
Haemoglobin (mg/dl)	14,32 \pm 2,08 A	14,88 \pm 1,10 a	14,28 \pm 0,42 a	13,61 \pm 1,90 a
Hematokrit (%)	42,40 \pm 4,03 A	42,76 \pm 2,92 a	43,50 \pm 1,39 a	38,06 \pm 5,65 a
Ureum (mg/dl)	26,89 \pm 4,57 A	26,08 \pm 6,10 a	24,24 \pm 3,80 a	25,46 \pm 4,98 a
Kreatinin (mg/dl)	0,85 \pm 0,10 A	0,83 \pm 0,11 a	0,87 \pm 0,03 a	0,85 \pm 0,11 a
sGOT (mg/dl)	171,44 \pm 12,07 a	192,16 \pm 14,96 a	185,41 \pm 13,00 a	171,00 \pm 17,65 a
sGPT (mg/dl)	54,90 \pm 2,00 A	52,22 \pm 4,20 a	63,94 \pm 5,88 b	53,31 \pm 5,22 ab

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin dan hematokrit tidak berbeda nyata antar kelompok perlakuan dengan akuades. Demikian juga kadar ureum kreatinin dan sGOT tidak terjadi perbedaan dosis perlakuan dibanding dengan akuades, tetapi sGPT pada 9 x dosis manusia terlihat lebih tinggi dibanding akuades.

f. Ramuan menurunkan kadar kolesterol

Tabel 7. Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 90 hari pemberian ramuan penurun kolesterol dan *recovery*

Kelompok Pengukuran	1 x Dosis manusia	3 x dosis manusia	9 x dosis manusia	Akuades	Recovery
Eritrosit ($\times 10^6/\text{dl}$)	7,52 \pm 0,51 a	7,96 \pm 0,47 a	7,93 \pm 0,59 a	8,04 \pm 0,37 a	7,78 \pm 0,53 a
Leukosit ($\times 10^3/\text{dl}$)	3,90 \pm 1,62 a	5,34 \pm 1,68 a	6,63 \pm 2,87 a	7,98 \pm 2,54 a	6,46 \pm 1,33 a
Haemoglobin (mg/dl)	14,07 \pm 0,69 a	14,70 \pm 0,46 a	14,96 \pm 0,64 a	14,44 \pm 0,58 a	12,75 \pm 2,31 b
Hematokrit (%)	37,93 \pm 8,09 a	43,31 \pm 1,21 a	43,90 \pm 1,03 a	42,46 \pm 1,58 a	38,28 \pm 4,48 a
Ureum (mg/dl)	34,45 \pm 3,44 ab	40,60 \pm 6,74 a	36,78 \pm 6,99 ab	35,63 \pm 8,20 ab	33,04 \pm 4,76 b
Kreatinin (mg/dl)	0,82 \pm 0,12 a	0,92 \pm 0,11 a	0,98 \pm 0,16 a	0,85 \pm 0,11 a	0,94 \pm 0,16 a
sGOT (mg/dl)	134,95 \pm 20,28 ac	171,85 \pm 25,72 b	181,68 \pm 22,03 b	174,02 \pm 20,74 b	135,00 \pm 14,34 c
sGPT (mg/dl)	69,86 \pm 10,58 a	57,98 \pm 10,78 a	60,97 \pm 9,70 a	64,53 \pm 9,18 a	55,43 \pm 6,64 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambaran eritrosit, leukosit, hematokrit dan haemoglobin tidak ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan dengan akuades. Demikian juga kadar kreatinin dan sGPT tidak ada perbedaan pada semua kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok akuades. Kadar ureum pemberian 3 x dosis manusia terlihat lebih tinggi dibanding akuades tetapi secara statistik tidak berbeda nyata. Kadar sGOT pemberian 3 x dosis

manusia terlihat lebih tinggi dibanding akuades tetapi secara statistik tidak berbeda nyata.

g. Ramuan menurunkan tekanan darah tinggi

Tabel 8. Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan kimia darah pada tikus Jantan dan betina selama 45 hari pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi

Kelompok Pengukuran	1 x Dosis manusia	3 x dosis manusia	9 x dosis manusia	Akuades
Eritrosit ($\times 10^6/\text{dl}$)	7,62 \pm 0,83 a	7,82 \pm 1,15 a	7,72 \pm 1,04 a	7,61 \pm 0,84 a
Leukosit ($\times 10^3/\text{dl}$)	8,01 \pm 2,12 a	6,31 \pm 0,82 a	6,43 \pm 0,86 a	7,73 \pm 0,98 a
Haemoglobin (mg/dl)	14,03 \pm 0,71 a	14,40 \pm 21,10 a	14,18 \pm 1,03 a	13,58 \pm 2,23 a
Hematokrit (%)	41,92 \pm 1,86 a	44,56 \pm 7,16 a	41,88 \pm 3,15 a	40,68 \pm 7,61 a
Ureum (mg/dl)	37,76 \pm 9,68 a	40,19 \pm 6,51 a	33,10 \pm 3,37 a	35,57 \pm 5,70 a
Kreatinin (mg/dl)	0,82 \pm 0,04 a	0,85 \pm 0,06 a	0,78 \pm 0,05 a	0,79 \pm 0,05 a
sGOT (mg/dl)	169,81 \pm 9,51 a	179,82 \pm 7,04 a	180,72 \pm 9,30 a	166,21 \pm 8,63 a
sGPT (mg/dl)	50,55 \pm 3,43 a	54,59 \pm 4,67 a	55,75 \pm 2,12 a	50,41 \pm 4,00 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambaran eritrosis, leukosit, hematokrit dan haemoglobin tidak ada perbedaan antara dosis perlakuan dengan akuades. Gambaran ureum dan kreatinin pada 3 x dosis manusia terlihat lebih tinggi dibanding normal, tetapi secara statistik. Demikian juga gambaran sGOT dan sGPT tidak terjadi perbedaan antar kelompok perlakuan.

h. Ramuan menurunkan tekanan darah tinggi

Tabel 9. Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan kimia darah pada tikus Jantan dan betina selama 90 hari pemberian ramuan penurun teknan darah tinggi

Kelompok Pengukuran	1 x Dosis manusia	3 x dosis manusia	9 x dosis manusia	Akuades	Recovery
Eritrosit ($\times 10^6$ /dl)	7,88 \pm 0,27 a	8,00 \pm 0,50 a	7,66 \pm 0,96 a	7,00 \pm 1,28 a	7,66 \pm 0,87 a
Leukosit ($\times 10^3$ /dl)	6,05 \pm 2,75 a	4,68 \pm 0,61 a	5,90 \pm 2,26 a	8,92 \pm 1,32 a	5,46 \pm 2,47 a
Haemoglobin (mg/dl)	14,41 \pm 0,30 ab	14,68 \pm 0,64 a	13,80 \pm 1,44 ab	13,33 \pm 1,85 b	14,13 \pm 2,47 ab
Hematokrit (%)	43,61 \pm 0,80 a	44,83 \pm 1,70 a	41,68 \pm 3,57 ab	40,15 \pm 5,59 b	42,76 \pm 3,04 ab
Ureum (mg/dl)	35,09 \pm 3,45 a	40,32 \pm 7,57 a	30,76 \pm 5,62 a	24,14 \pm 7,43 b	28,23 \pm 5,18 b
Kreatinin (mg/dl)	0,88 \pm 0,04 a	0,84 \pm 0,06 a	0,82 \pm 0,07 a	0,82 \pm 0,07 a	0,88 \pm 0,1 a
sGOT (mg/dl)	143,83 \pm 19,03 a	158,61 \pm 23,27 a	151,73 \pm 23,20 a	158,17 \pm 22,23 a	135,86 \pm 20,07 a
sGPT (mg/dl)	58,37 \pm 4,08 a	51,83 \pm 7,16 a	46,83 \pm 6,90 a	51,31 \pm 7,30 a	44,74 \pm 9,39 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambaran eritrosi, leukosit tidak ada perbedaan antara dosis perlakuan dengan akuades. Demikian juga kadar haemoglobin dan hematokrit terlihat peningkatan tetapi secara statistik tidak berbeda dibandingkan dengan kontrol. Untuk kadar ureum, kreatinin, sGOT, dan sGPT tidak terjadi perbedaan yang nyata pada antar kelompok perlakuan.

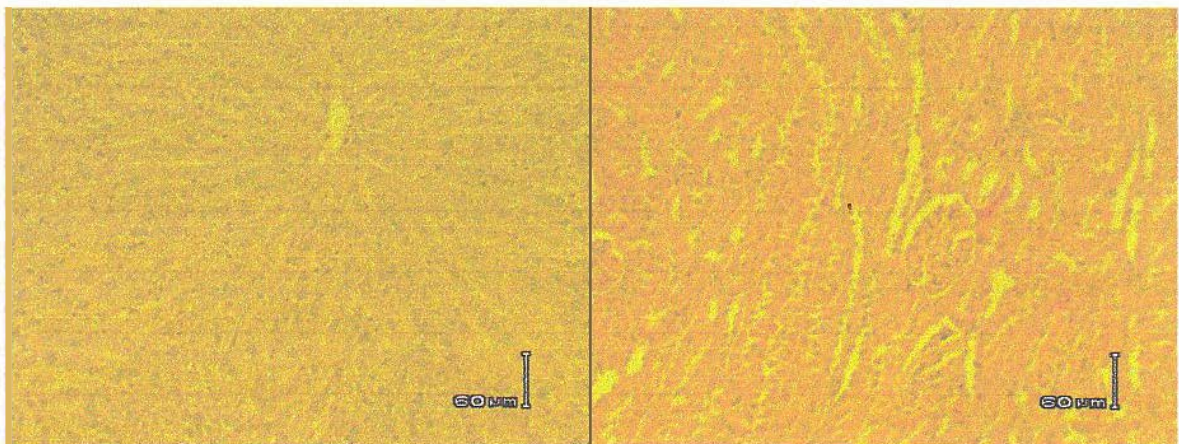
c. Gambaran histopatologi

1. Ramuan menurunkan kadar gula darah

Tabel 10. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian ramuan penurun kadar gula darah 45 hari.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	1 X Dosis Manusia	TSK	TSK
2.	3 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
3.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
4.	Akuades	TSK	TSK	TSK	TSK

Keterangan : TSK Tidak terjadi kelainan spesifik

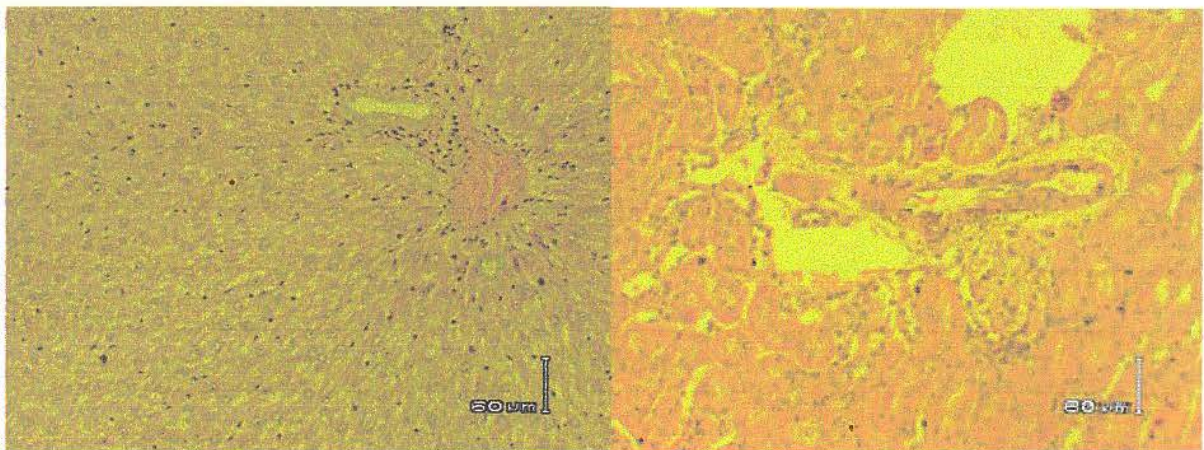


Gambar 1. histopatologi ginjal dan hati normal pemberian ramuan penurun gula darah 45 hari

Tabel 11. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian ramuan penurun gula darah 90 hari.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	1 X Dosis Manusia	TSK	TSK
2.	3 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
3.	9 X Dosis Manusia	TSK	Fokal nekrosis t. proksimalis	Degenerasi sel hati ringan	TSK
4.	Akuades	TSK	TSK	TSK	TSK

Keterangan : TSK Tidak terjadi kelainan spesifik

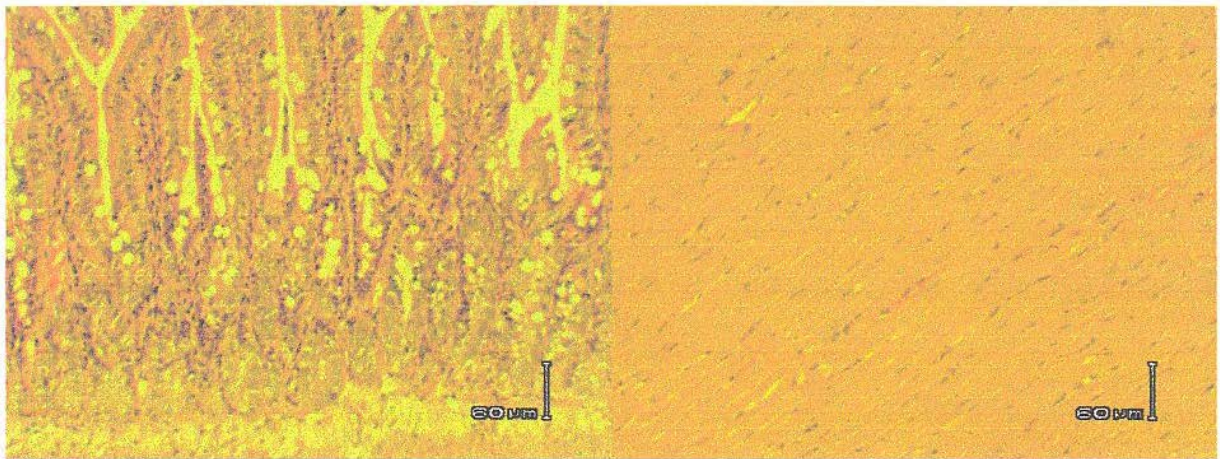


Gambar 2. Histopatologi hati dan ginjal pemberian ramuan penurun gula darah 90 hari

Tabel 12. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah *recovery* pemberian ramuan penurun gula darah

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK

Keterangan :TSK Tidak terjadi kelainan spesifik



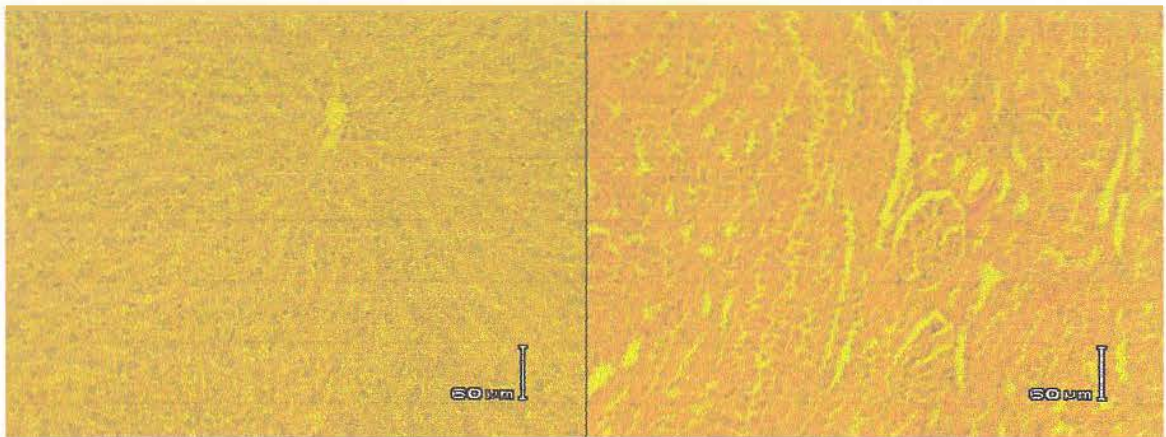
Gambar 3. Histopatologi usus dan jantung masa *recovery* ramuan penurun gula darah

2. Ramuan menurunkan kadar kolesterol

Tabel 13. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian Ramuan penurun kolesterol 45 hari.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	1 X Dosis Manusia	TSK	TSK
2.	3 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
3.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
4.	Akuades	TSK	TSK	TSK	TSK

Keterangan :TSK Tidak terjadi kelainan spesifik

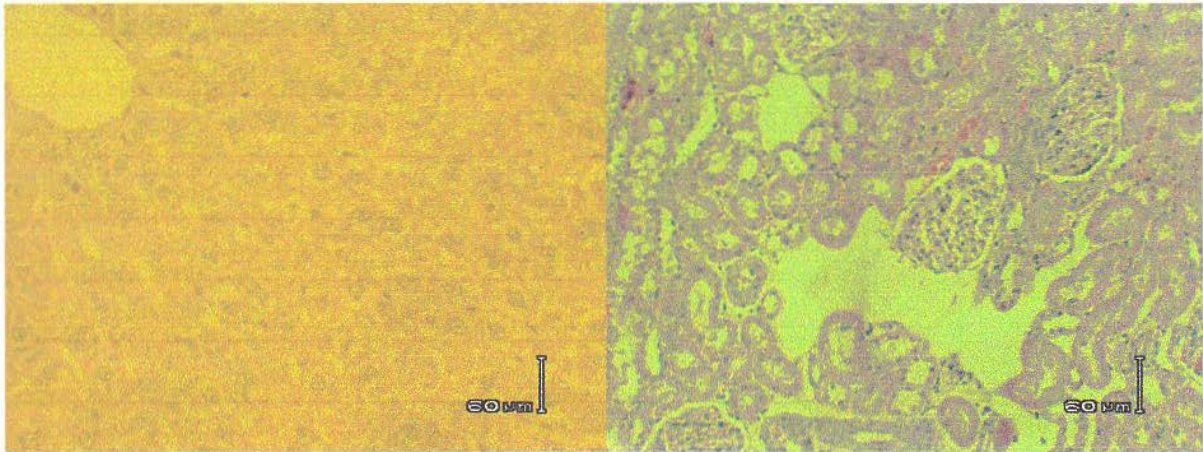


Gambar 4. Histopatologi hati dan ginjal normal pemberian ramuan penurun kolesterol 45 hari

Tabel 14. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian ramuan penurun kolesterol 90 hari.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	1 X Dosis Manusia	TSK	TSK
2.	3 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
3.	9 X Dosis Manusia	TSK	dilatasi tubulus	Degenerasi ringan	TSK
4.	Akuades	TSK	TSK	TSK	TSK

Keterangan : TSK Tidak terjadi kelainan spesifik

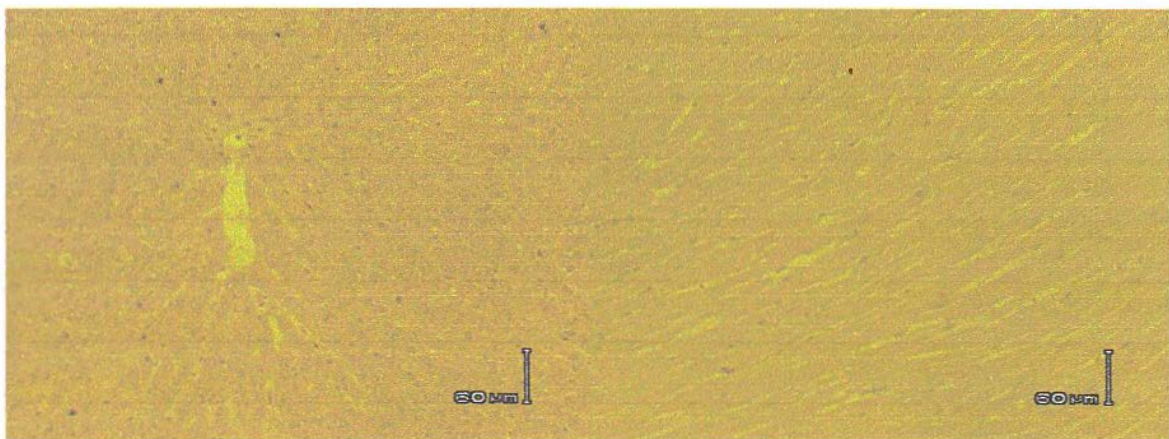


Gambar 5. Histopatologi hati dan ginjal pemberian ramuan penurun kolesterol 90 hari

Tabel 15. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah *recovery* pemberian ramuan penurun kolesterol.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK

Keterangan : TSK Tidak terjadi kelainan spesifik



Gambar 6. Histopatologi hati dan jantung normal masa *recovery* pemberian ramuan penurun kolesterol

3. Ramuan menurunkan kadar asam urat

Tabel 16. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian ramuan penurun asam urat 45 hari.

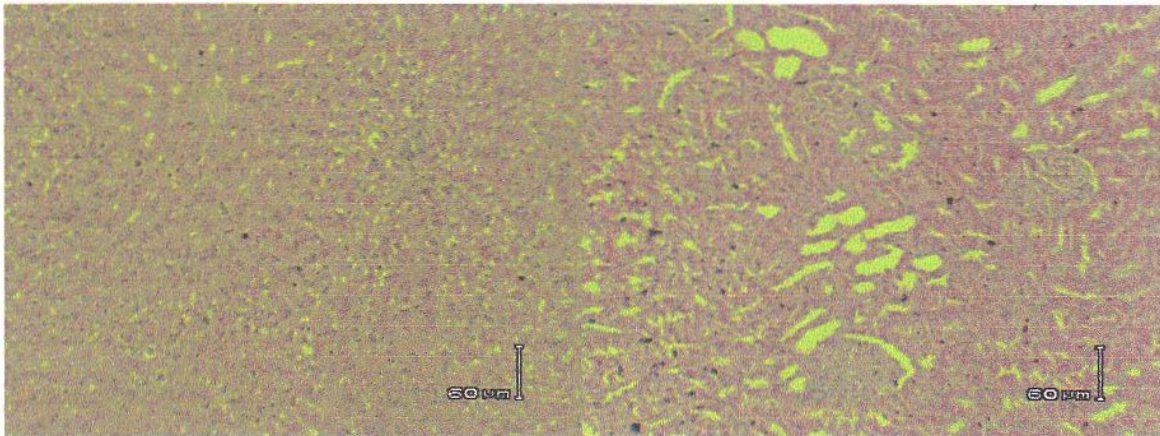
NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	1 X Dosis Manusia	TSK	TSK
2.	3 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
3.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
4.	Akuades	TSK	TSK	TSK	TSK

Keterangan :TSK Tidak terjadi kelainan spesifik

Tabel 17. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian ramuan penurun asam urat 90 hari.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	1 X Dosis Manusia	TSK	TSK
2.	3 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
3.	9 X Dosis Manusia	TSK	Dilatasi tubulus proksimalis	Degenerasi parenkim	TSK
4.	Akuades	TSK	TSK	TSK	TSK

Keterangan :TSK Tidak terjadi kelainan spesifik

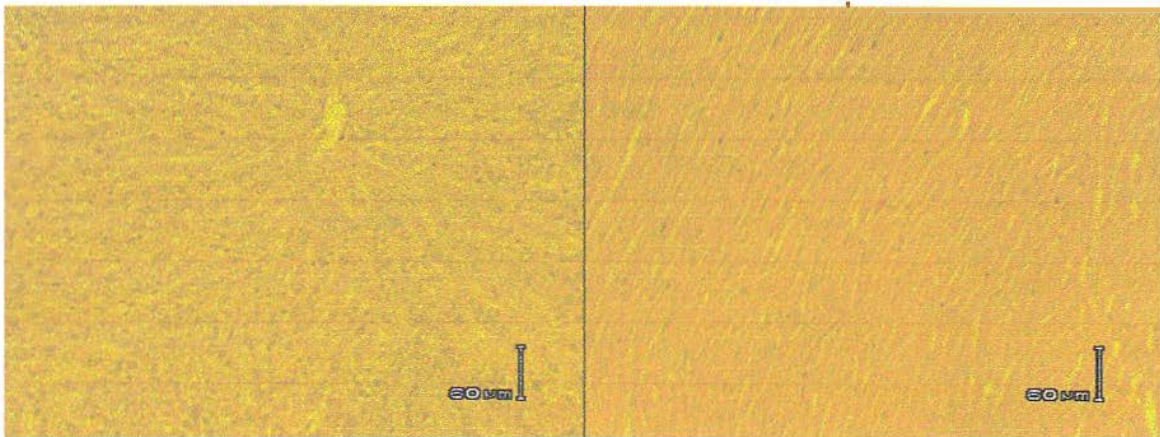


Gambar 8. Histopatologi hati dan ginjal normal pemberian ramuan penurun asam urat 90 hari

Tabel 18. Hasil pemeriksaan histopatologitikus jantan dan betina setelah *recovery* pemberian ramuan penurun asam urat.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK

Keterangan : TSK Tidak terjadi kelainan spesifik



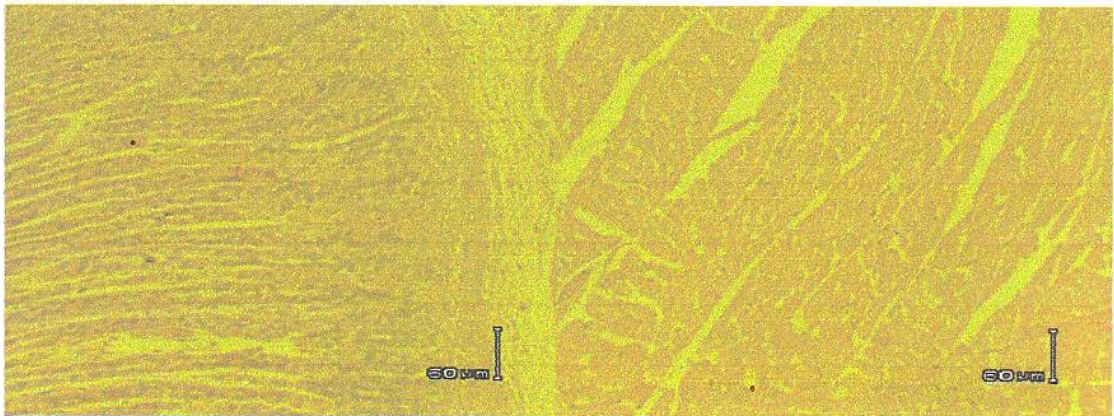
Gambar 8. Histopatologi hati dan jantung normal setelah *recovery* pemberian ramuan penurun asam urat

4. Ramuan menurunkan tekanan darah tinggi

Tabel 19. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi 45 hari.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	1 X Dosis Manusia	TSK	TSK
2.	3 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
3.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
4.	Akuades	TSK	TSK	TSK	TSK

Keterangan :TSK Tidak terjadi kelainan spesifik

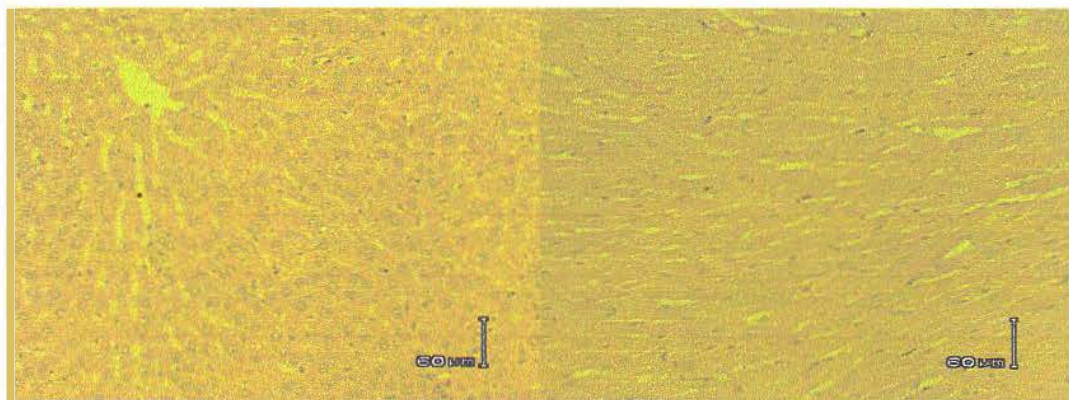


Gambar 9. Histopatologi usus dan jantung normal pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi 45 hari

Tabel 20. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian Ramuan penurun tekanan darah tinggi 90 hari.

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	1 X Dosis Manusia	TSK	TSK
2.	3 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
3.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK	TSK	TSK
4.	Akuades	TSK	TSK	TSK	TSK

Keterangan : TSK Tidak terjadi kelainan spesifik



Gambar 10. Histopatologi hati dan jantung normal pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi 90 hari

Tabel 21. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah *recovery* pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi

NO	Kelompok	Jantung	Ginjal	Hati	Usus
		1.	9 X Dosis Manusia	TSK	TSK

Keterangan : TSK Tidak terjadi kelainan spesifik

VIII. PEMBAHASAN

1. Toksisitas Akut

Ramuan untuk menurunkan kadar gula darah dan ramuan menurunkan asam urat pada dosis setara dengan 32 x dosis manusia tidak terjadi kematian pada hewan coba. Sedangkan Ramuan menurunkan kolesterol dan tekanan darah tinggi pada dosis 27 x dosis manusia juga tidak terjadi kematian pada hewan coba. Data bobot badan, asupan makanan dan minuman serta gejala-gejala klinis digunakan untuk mengevaluasi status kesehatan dan perkembangan patologi hewan percobaan akibat sediaan bahan uji.

Hasil penimbangan bobot badan pada semua ramuan rata-rata menunjukkan penurunan berat badan pada hari ke 2 sampai hari ke 5. Pada hari ke 7, bobot badan terlihat kenaikan bobot badan sampai akhir percobaan. Sampai akhir pengamatan pemberian dosis besar pada semua ramuan hewan dalam keadaan normal tidak terjadi gejala klinis straub, melompat, tremor dan konvulsi pada hewan coba. Hal tersebut menunjukkan indikasi bahan obat tidak menyebabkan kelainan pada sistem saraf pusat, saraf motorik, maupun kelainan fisik, sehingga metabolisme tubuh tidak banyak mengalami gangguan

2. Toksisitas sub kronis pada pemberian bahan uji 45 hari dan 90 hari

Secara keseluruhan pemberian 4 ramuan obat selama 45 hari dan 90 hari pada semua kelompok ramuan menurunkan kadar gula darah, kadar asam urat, kolesterol, dan menurunkan tekanan darah, menunjukkan penurunan bobot badan terutama pada hari ke 4 perlakuan. Kemudian mengalami kenaikan baik pada tikus jantan maupun betina, walaupun terlihat adanya fluktuasi kenaikan tersebut. Pada semua kelompok tidak terjadi kematian. Hal tersebut menunjukkan keempat ramuan yang diuji tidak berpengaruh terhadap kesehatan hewan atau dapat dikatakan tidak

mempengaruhi organ-organ tubuh hewan, sehingga tidak mengganggu metabolisme tubuh.

Pemberian ramuan penurun kadar gula darah terhadap gambaran darah pada pemberian 45 hari. Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin dan hematokrit pada semua kelompok perlakuan tidak terlihat perbedaan dibanding dengan kelompok akuades. Hal tersebut menunjukkan pemberian bahan uji sampai 9 x dosis manusia yang diberikan terus menerus selama 45 hari tidak mempengaruhi fungsi darah.

Terhadap kadar ureum dan kreatinin yang dapat menggambarkan adanya kerusakan pada organ ginjal terlihat pemberian 9 x dosis manusia terjadi sedikit kenaikan sGOT 186,45 mg/dL dibanding akuades 185,91 mg/dL, demikian juga kadar sGPT terjadi kenaikan pada pemberian 3 x dan 9 x dosis manusia yaitu, 66,40 mg/dL dan 64 mg/dL dibanding akuades 61,54 mg/dL. Secara statistik ketiga nilai kenaikan tersebut tidak berbeda nyata dibandingkan kelompok akuades. Dapat dikatakan pemberian ramuan penurun kadar gula darah sampai pemberian 9 x dosis manusia belum mempengaruhi fungsi hati dan ginjal. Hal tersebut dapat dikonfirmasi dengan gambaran pada organ hati dan ginjal gambaran histopatologi tidak terjadi kelainan yang spesifik.

Pemberian ramuan penurun kadar gula darah terhadap gambaran darah pada pemberian 90 hari. Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin dan hematokrit pada semua kelompok perlakuan tidak terlihat perbedaan dibanding dengan kelompok akuades. Gambaran ureum terjadi peningkatan pada pemberian 3 x dan 9 x dosis manusia yaitu 41,70 mg/dL dan 42,72 mg/dL dibanding dengan akuades 37,85 mg/dL dan recovery 33,91 mg/dL, tetapi secara statistik tidak berbeda nyata. Pada gambaran histopatologi pemberian dosis besar terlihat kejadian adanya fokal nekrosis tubulus proksimalis pada satu tikus pemberian dosis besar, hal tersebut bukan karena pemberian bahan uji tetapi bisa karena adanya kejadian infeksi bisa terjadi dari makanan atau bedung alas hewan yang kurang bersih karena jamur. Gambaran histopatologis kelompok *recovery* ginjal dalam keadaan normal. Gambaran organ hati pemberian 9 x dosis manusia terjadi degenerasi parenkim ringan. Gambaran

histopatologi hati masa recovery dalam keadaan normal. Dapat dikatakan pemberian bahan ramuan 9 x dosis manusia yang diberikan selama 90 hari belum mempengaruhi fungsi hati.

Pemberian ramuan penurun kadar asam urat terhadap gambaran darah pada pemberian 45 hari. Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin, hematokrit, ureum, kreatinin, sGOT dan sGPT pada semua kelompok perlakuan tidak terlihat perbedaan dibanding dengan kelompok akuades. Hal tersebut menunjukkan pemberian ramuan penurun kadar asam urat 9 x dosis manusia selama 45 hari tidak mempengaruhi darah, fungsi hati dan fungsi ginjal. Hal tersebut dapat dilihat dari gambaran histopatologi terutama organ hati, ginjal, dan usus tidak terjadi kelaian yang spesifik.

Pemberian ramuan penurun kadar asam urat terhadap gambaran darah pada pemberian 90 hari. Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin, dan hematokrit terutama pemberian sampai 9 x dosis manusia tidak berbeda dengan kelompok kontrol, sehingga dapat dikatakan.pemberian bahan uji sampai 9 x dosis manusia yang diberikan selama 90 hari terus menerus tidak mempengaruhi keadaan darah. Gambaran kadar ureum pemberian 9 x dosis manusia sedikit lebih tinggi dibanding pemberian akuades yaitu 46,32 mg/dL dan 37,85 mg/dL dan pada kelompok recovery sedikit naik 39,77 mg/dL, tetapi secara statistik tidak berbeda. Kadar kreatinin pemberian 3 x dosis manusia sedikit meningkat 0,96 mg/dL dibanding kelompok kontrol 0,85 mg/dL, dan kelompok *recovery* 0,94 mg/dL, tetapi secara statistik tidak berbeda. Keadaan tersebut menunjukkan tidak ada kelainan fungsi ginjal yang berarti, meskipun pada gambaran histopatologi ginjal 2 ekor tikus menunjukkan adanya dilatasi tubulus proksimalis.

Kadar sGOT dan sGPT yang menunjukkan ada tidaknya kelainan fungsi hati terlihat sGOT 9 x dosis manusia 177,58 mg/dL dibanding dibanding dengan akuades 167,72 mg/dL dan kelompok *recovery* 159,26 mg/dL, tetapi secara statistik tidak berbeda. Menunjukkan pemberian sampai dengan 9 x dosis manusia dengan lama pemberian 90 hari tidak menunjukkan kelainan fungsi hati, meskipun organ hati terlihat adanya degenerasi parenkim ringan.

Pemberian ramuan penurun kadar kolesterol terhadap gambaran darah pada pemberian 45 hari. Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin, hematokrit, ureum, kreatinin, sGOT dan sGPT pada semua kelompok perlakuan tidak terlihat perbedaan dibanding dengan kelompok akuades. Hal tersebut menunjukkan pemberian ramuan penurun kadar kolesterol 9 x dosis manusia selama 45 hari tidak mempengaruhi darah, fungsi hati dan fungsi ginjal. Hal tersebut dapat dilihat dari gambaran histopatologi terutama organ hai, ginjal, dan usus tidak terjadi kelaian yang spesifik.

Pemberian ramuan penurun kadar kolesterol terhadap gambaran darah pada pemberian 90 hari. Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin, dan hematokrit terutama pemberian sampai 9 x dosis manusia tidak berbeda dengan kelompok kontrol, sehingga dapat dikatakan pemberian bahan uji sampai 9 x dosis manusia yang diberikan selama 90 hari terus menerus tidak mempengaruhi keadaan fungsi darah. Terhadap fungsi ginjal pemberian bahan uji sampai dengan 9 x dosis manusia dengan lama pemberian 90 hari tidak menunjukkan kelainan fungsi ginjal, hanya pada gambaran histopatologinya ada 2 hewan yang mengalami dilatasi tubulus proksialis. Tetapi pada kelompok *recovery* tidak terjadi kelainan yang spesifik pada organ ginjal. Secara keseluruhan ramuan tersebut tidak mempengaruhi fungsi ginjal. Terhadap fungsi hati pemberian uji sampai 9 x dosis manusia selama 90 hari terlihat kadar sGOT sedikit meningkat 181,68 mg/dL dibanding akuades 174,02 mg/dL, tetapi secara statistik tidak berbeda. Kadar sGPT justru pemberian akuades 64,53 mg/dL lebih tinggi dibanding pemberian 9 x dosis manusia 60,97 mg/dL dan 3 x dosis manusia 57,98 mg/dL, demikian juga pada kelompok *recovery* 55,43 mg/dL, tetapi secara statistik tidak berbeda. Dari gambaran histopatologinya, beberapa 2 ekor tikus terlihat degenerasi parenkim ringan. Dapat dikatakan pemberian ramuan tidak berpengaruh banyak terhadap fungsi hati.

Pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi terhadap gambaran darah pada pemberian 45 hari. Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin, hematokrit, ureum,

kreatinin, sGOT dan sGPT pada semua kelompok perlakuan tidak terlihat perbedaan nyata dibanding dengan kelompok akuades. Hal tersebut menunjukkan pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi 9 x dosis manusia selama 45 hari tidak mempengaruhi darah, fungsi hati dan fungsi ginjal. Hal tersebut dapat dilihat dari gambaran histopatologi terutama organ hati, ginjal, dan usus tidak terjadi kelainan yang spesifik.

Pemberian ramuan penurun tekanan darah tinggi terhadap gambaran darah pada pemberian 90 hari. Gambaran eritrosit, leukosit, haemoglobin, dan hematokrit terutama pemberian sampai 9 x dosis manusia tidak berbeda dengan kelompok kontrol, sehingga dapat dikatakan pemberian bahan uji sampai 9 x dosis manusia yang diberikan selama 90 hari terus menerus tidak mempengaruhi keadaan fungsi darah. Terhadap fungsi ginjal terlihat kenaikan kadar ureum pada pemberian 3x dan 9 x dosis manusia 40,32 mg/dL, 40,32 mg/dL dibanding akuades 24,14 mg/dL dan kelompok *recovery* 28,23 mg/dL, tetapi secara statistik tidak berbeda nyata. Untuk kadar kreatininnya tidak terjadi perbedaan yang nyata antar kelompok. Pada gambaran histopatologinya pemberian 9 x dosis manusia terlihat tidak terlihat kelainan yang spesifik. Sehingga dapat dikatakan pemberian bahan ramuan 9x dosis manusia tidak mempengaruhi fungsi ginjal. Terhadap fungsi hati kadar sGOT dan sGPT pada semua kelompok tidak berbeda nyata, terhadap gambaran histopatologinya juga tidak terjadi kelainan yang spesifik pada organ hati. Dapat dikatakan ramuan tidak memberikan pengaruh terhadap organ hati.

IX. KESIMPULAN

- A. Tosisitas akut (LD50) oral
- a. LD50 semu ramuan untuk menurunkan kadar guladarah lebih besar dari 32 x dosis manusia.
 - b. LD50 semu ramuan untuk menurunkan kadar asam urat lebih besar dari 32 x dosis manusia.
 - c. LD50 semul ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol lebih besar dari 27 x dosis manusia.
 - d. LD50 semu ramuan untuk menurunkan tekanan darah tinggi lebih besar dari 27 x dosis manusia.
- B. Toksisitas sub kronik
- a. Ramuan untuk menurunkan kadar gula darah sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung.
 - b. Ramuan untuk menurunkan kadar asam urat sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung
 - c. Ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung.
 - d. Ramuan untuk menurunkan kadar kolesterol sampai dengan pemakaian 9 x dosis manusia selama 45 hari dan 90 hari secara terus menerus tidak menunjukkan kelainan atau kerusakan pada darah organ ginjal, hati, usus dan jantung.

Pemberian 9 x dosis manusia yang diberikan selama 90 hari berturut-turut pada tikus putih, ramuan untuk menurunkan kadar gula darah, asam urat, kolesterol dan tekanan darah tinggi masih dalam batas aman.

X. DAFTAR PUSAKA

1. Efek imunostimulasn ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) secara invivo pada Tikus. Sriningsih, Agung Eru Wibowo, 2009. *Journal Bahan Alam* Vol. 7. No. 1. 2009.
2. Pemanfaatan Heba Seledri (*Apium graveolens* L.) untuk Menurunkan Kolesterol dan Lipid dalam Darah Tikus Putih yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak. Juheini. 2000. Skripsi Mahasiswa Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA UI.
3. Antidiabetic Activity of *Andrographis paniculata* L. Md. Alamgir Hossain, BK Roy, Kabir Ahmed, AM Sarwaruddin Chowdhury, MA Rashid. 2007. *Journal Pharmacy Sciences*. Vol. 6 No. 1. Juni 2007.
4. Antiheperuremic Activity of the Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F&TH) Leaves Extract and Xanthenne Oxidase Inhibitory Study. Purwaningsih, Arif Rahman, Indah Purwantini. 2010. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 2. Issue 2. 2010.
5. Bambang Wahjoedi dkk. 2004 Kajian Potensi tanaman Obat. Departemen Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan . Pusat Penelitian Dan Pengembangan Farmasi dan Obat Tradisional
6. B.Dzulkarnain dkk. 1990 Hasil penelitian Tanaman Obat di Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI 1974 – 1989. Badan Penelitian dan Pengembangan Farmasi Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan R.I.
7. Widowati L. 2005. Uji toksisitas akut ekstrak mahkota dewa pada hewan coba. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Vol. 15 No. 1.
8. WHO, 1993. Reasearch Guidelines for Evaluation the Safety and Efficacyof Herbal Medicinal. Manila 1993.
9. Hayes AW. 1984. Principle and Methods of Toxycology. Raven Perss, Books Ltd. New York

10. Audrey Ungerer. 2002 *The Guide for the Care and Use OF Laboratory Animals*. National Academy Perss. Unated State.

XI. SUSUNAN TIM PENELITI

No.	Nama	Kedudukan dalam Tim	Keahlian	Tugas
1.	M. Wien Winamo	Ketua Pelaksana	Dokter Hewan	Bertanggung jawab dalam jalannya Penelitian, membuat protokol, analisa data, dan membuat laporan akhir.
2.	Lucie Widowati	Peneliti	Master Farmasi	Bertanggung jawab dalam penelitian toksisitas akut ramuan menurunkan kadar gula darah.
3.	Yun Astuti Nugroho	Peneliti	Master Epidemiologi	Bertanggung jawab dalam penelitian toksisitas subkronis ramuan menurunkan kadar asam urat
4.	Sa'roni	Peneliti	Master Epidemiologi	Bertanggung jawab dalam penelitian Toksisitas subkronik ramuan menurunkan kadar kolesterol
5.	Pudjiastuti	Peneliti	Biologi	Bertanggung jawab dalam penelitian toksisitas akut ramuan menurunkan tekanan darah tinggi.
6.	Adjimi	Peneliti	Biologi	Bertanggung jawab dalam penelitian toksisitas subkronis ramuan menurunkan kadar gula darah
7.	Budi Nurabni	Peneliti	Biologi	Bertanggung jawab dalam penelitian toksisitas akut ramuan menurunkan kadar asam urat

8.	Triwahyuni	Peneliti	Farmasi	Bertanggung jawab dalam penelitian toksisitas akut ramuan menurunkan kadar kolesterol
9.	Dian Sundari	Peneliti	Biologi	Bertanggung jawab dalam penelitian toksisitas subkronik ramuan menurunkan tekanan darah tinggi.
10.	Putri Reno Intan	Peneliti	Dokter hewan	Bertanggung jawab dalam pemeriksaan kimia darah, dan evaluasi hasil hasil dan histopatologi
11.	Saryanto	Peneliti	Farmasi	Bertanggung jawab terhadap kualitas dan pengadaan simplisia
12.	Sari	Peneliti	S2	Membantu menganalisa hasil histopatologi
13.	Kelik	Peneliti	S1	Membantu dalam pelaksanaan jalannya percobaan
14.	Anggi	Administrasi	SMA	Bertanggung jawab terhadap administrasi
15.	Sahrul	Administrasi	SMA	Bertanggung jawab terhadap terhadap kualitas hewan dan kandang percobaan.
16.	Cornelis Adimunca	Pengolah data	Biologi	Bertanggung jawab terhadap analisa data

XII. JADUAL KEGIATAN

			Tolok ukur pancapaian per triwulan			
Uraian Kegiatan	Jumlah	Satuan	Triwulan 1	Triwulan 2	Triwulan 3	Triwulan 4
			Jumlah %	Jumlah %	Jumlah %	Jumlah %
1. PERSIAPAN						
a. Pembuatan protokol	1	Unit	100			
b. Surat menyurat	1	Paket	100			
c. Pengurusan etik	1	Paket	100			
d. Rapat	1	kali	-	1(100)		
2. PELAKSANAAN						
a. Penelitian	4	Unit	2 (50)	4(100)		
b. Pemeriksaan kimia darah	4	Unit	2(50)	4(100)		
c. Pemeriksaan histologi	4	Unit	2(50)	4(100)		
d. Pengolahan data	1	Unit		1(100)		
3. PELAPORAN						
a. Laporan triwulan	2	Lap	1 (50)	2 (100)		
b. Laporan akhir	1	Lap		1(100)		

	Uang harlan	2	Org	x	3	hr	x	1	kl					350.000	=	2.100.000		
	Akomodasi	2	Org	x	2	hr	x	1	kl					400.000	=	1.600.000		
Penyusunan laporan																	30.750.000	
	DKI-Bogor	15	org	x	1	Kl	x							150.000	=	2.250.000		
	Uang harian	15	org	x	1	Kl	x	3	hr	x				300.000	=	13.500.000		
	Paket meeting	15	org	x	1	Kl	x	2	hr	x				500.000	=	15.000.000		

XIV. REKAPITULASI BIAYA Per TRIWULAN

Jen'is Pengeluaran	Triwulan				Jumlah
	I	II	III	IV	
Gaji/Upah	-	41.890.000	-	-	41.890.000
Alat-alat	-	-	-	-	-
Bahan	-	95.500.000	-	-	95.500.000
Perjalanan	-	38.450.000	-	-	38.450.000
Total biaya	-	282.340.000	-	-	282.340.000

XV. BIODATA KETUA PELAKSANA

<p>a. Nama Pengusaul (Lengkap dengan gelar kesarjanaan dan keahlian) M. Wien Winarno / dokter hewan</p>
<p>b. Alamat (yang paling mudah dihubungi lewat pos, telepon, fax dane-mail) Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta Telepon 4261088 Ps.180 e-mail : winarno_wien@yahoo.com</p>
<p>c. Pendidikan Profesional (gelar akademis, nama instansi/lembaga dan tempat serta Waktu/tanggal tahun diperoleh Dokter Hewan, Universitas Airfangga 1987</p>
<p>d. Riwayat Pekerjaan Peneliti Madya</p>
<p>e. Publikasi</p> <ol style="list-style-type: none">1. Efek Anti Malaria Ekstrak Daun Pepaya gantung (<i>Carica papaya</i> L.) pada mencit terinfeksi <i>Plasmodium bergei</i>. Journal Bahan Alam Indonesia, Vol. 4, No. 1. Januari 2005.2. Uji Toksisitas Sub Kronis ; Gambaran Darah dan Fungsi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Buah Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i> (Scheff) Boerl.). Journal Bahan Alam Indonesia, Vol. 6, No. 5. Julii 2008.3. Pengaruh Ekstrak Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) terhadap Aktifitas Makrofag pada Mencit Setelah Diinfeksi <i>Plasmodium bergei</i>. Journal Bahan alam Indonesia, Vol. 7, No. 1. Juli 2009.4. Gambaran Histopatologi Beberapa Organ Tikus Putih Galur <i>Wistar</i> akibat Pemberia Minyak Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam) selam 90 hari. Proseding Seminar Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia (POKJANAS TOI) XXXVI. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta Mei

Lampiran 1



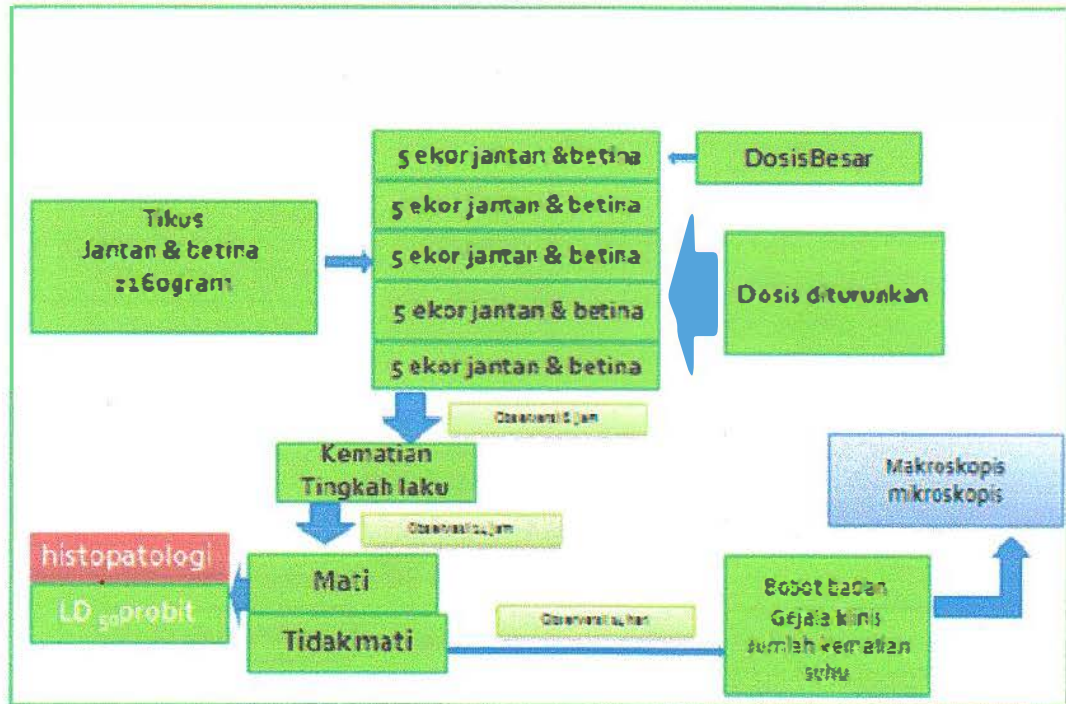
Gambar 11. Ramuan menurunkan kadar gula darah dan kadar kolesterol

Lampiran 2



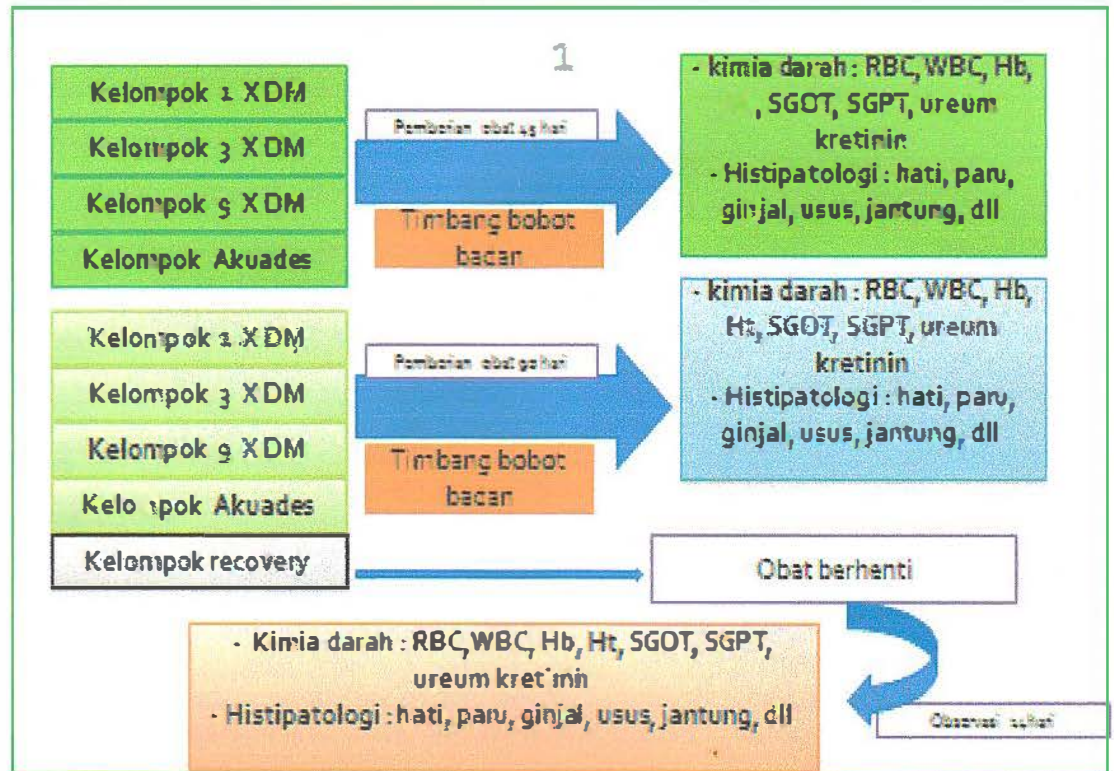
Gambar 13. Ramuan menurunkan kadar asam urat dan tekanan darah tinggi

METODE TOKSISITAS AKUT



Gambar 13. Skema metode Toksisitas akut

METODE SUBKRONIS



Gambar 14. Skema metode Toksisitas Subkronis