

**Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak Liman
(*Elephantopus scaber* L.) Terhadap Mencit Putih
Betina Galur DDY Menggunakan Metode
*Organization for Economic Coorperation
And Development (OECD) Guideline***



Oleh:

Satria Berlian Saputra

P2.31.39.0.16.084

JURUSAN FARMASI

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN
JAKARTA II**

2019

**Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak Liman
(*Elephantopus scaber* L.) Terhadap Mencit Putih
Betina Galur DDY Menggunakan Metode
*Organization for Economic Cooperation
And Development (OECD) Guideline***

Karya Tulis Ilmiah

**Diajukan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Ahli Madya
Kesehatan bidang Farmasi**



Oleh:

Satria Berlian Saputra

P2.31.39.0.16.084

JURUSAN FARMASI

POLITEKNIK KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN

JAKARTA II

2019

PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap Mencit Putih Betina Galur DDY Menggunakan Metode *Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Guideline*
Oleh:

Satria Berlian Saputra

P2.31.39.0.16.084

Diujikan dihadapan Panitia Penguji KTI
Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta II
Pada tanggal: 26 Juni 2019

Jakarta, 8 Juli 2019

Mengetahui:

Pembimbing I



Khairun Nida, S.Si, M.Biomed, Apt
NIP. 19690610.200003.2.001

Dra. Yusmaniar, M.Biomed, Apt
NIP. 19661203.199303.2.002

Pembimbing II



Purnama Fajri, M.Biomed, Apt
NIP. 19830725.200501.1.002



Penguji:

Khairun Nida, S.Si, M.Biomed, Apt

Dra. Tati Suprapti, M.Biomed, Apt

Dra. Sujati Woro Indijah, M.Si, Apt

iii

HALAMAN BEBAS PLAGIAT

Karya Tulis Ilmiah ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Satria Berlian Saputra
NIM : P2.31.39.0.16.084
Tanda Tangan : 
Tanggal : 8 Juli 2019

ii Poltekkes Kemenkes Jakarta II

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Poltekkes Kemenkes Jakarta II Jurusan Farmasi, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Satria Berlian Saputra
NIM : P2.31.39.0.16.084
Jurusan : Farmasi Poltekkes Kemenkes Jakarta II
Jenis Karya : Karya Tulis Ilmiah (KTI)

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Jakarta II **Hak Bebas Royalti Nonekslusif (Non-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap Mencit Putih Betina Galur DDY Menggunakan Metode *Organization for Economic Coorperation And Development (OECD) Guideline*.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Nonekslusif ini Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Jakarta II berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya, tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.
Dibuat : Jakarta
Pada Tanggal : 8 Juli 2019

Yang menyatakan



(Satria Berlian Saputra)

ABSTRAK

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak liman (*Elephantopus scaber* L) Terhadap Mencit Putih Betina Galur DDY menggunakan Metode *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) *Guideline*

Oleh

Satria Berlian Saputra

P2.31.39.0.16.084

Pendahuluan: Sebelum dikonsumsi, obat tradisional harus melewati beberapa pengujian salah satunya adalah uji toksisitas. Tanaman tapak liman merupakan tanaman yang mudah di temui diberbagai tempat dengan berbagai manfaat sebagai terapi pengobatan seperti radang mata, sariawan, abses, radang otak, (epidemik ensefalitis B), radang ginjal akut dan kronis, kencing nanah (gonore akut), dan radang rahim. Dan beberapa penelitian menyatakan bahwa tanaman tapak liman berkhasiat sebagai apoptosis sel kanker rahim. Tanaman tapak liman diharapkan sebagai pengobatan alternatif yang dapat digunakan dengan aman oleh masyarakat.

Tujuan: Untuk mengetahui potensi ketoksikan akut oral (LD_{50}) ekstrak etanol herba tapak liman.

Metode: Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental menggunakan metode *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) 423 *Guideline* untuk mengetahui dosis toksik akut oral (LD_{50}) dari tanaman tapak liman yang dapat menyebabkan mortalitas atau gejala toksik. Data dianalisis dengan uji *Kruskall wallis* dilanjutkan uji *Mann whitney*.

Hasil: Tidak ada kematian maupun gejala toksik pada mencit yang dioralkan ekstrak tapak liman dengan dosis 300 mg/KgBB, 2000 mg/KgBB, dan kontrol. Data berat badan mencit yang dianalisis menggunakan uji *Kruskall wallis* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok uji dengan dosis 300 mg/KgBB dan 2000 mg/KgBB dengan kelompok kontrol. Sedangkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada data berat organ yang dianalisis menggunakan uji *Kruskall wallis*.

Kesimpulan: Tanaman tapak liman tidak dapat menyebabkan kematian maupun gejala toksik sehingga dapat di kategorikan *Unclassified*.

Kata kunci: Toksisitas, Tapak liman, *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) *Guideline*

ABSTRACT

Acute Toxicity Test of Ethanol Extract of Liman Tread Herba (*Elephantopus scaber* L.) Against Female White Mice DDY Line Using Method *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) *Guideline*

Oleh :

Satria Berlian Saputra

P2.31.39.0.16.084

Introduction : Before being consumed, traditional medicine must pass several tests, one of which is a toxicity test. Tapak liman plant is a plant that is easily found in various places with various benefits as therapeutic treatments such as inflammation of the eye, canker sores, abscesses, inflammation of the brain, (epidemic encephalitis B), acute and chronic kidney inflammation, gonorrhea (acute gonorrhea), and inflammation of the uterus . And some studies state that liman plant has the effect of apoptosis of uterine cancer cells. The Tapak liman plant is expected to be an alternative treatment that can be used safely by the community.

Purpose : To determine the potential for oral acute toxicity (LD50), the ethanol extract of the tapak liman herb.

Methodology : The research carried out was an experimental study using the *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) method 423 Guidline to determine the acute oral toxic dose (LD50) of tapak liman plant which can cause mortality or toxic symptoms. Data were analyzed by *Kruskall wallis* test followed by *Whitney Mann* test.

Result : There were no deaths or toxic symptoms in mice which were extracted from tapak liman extract at a dose of 300 mg / KgBB, 2000 mg / KgBB, and controls. Mice body weight data analyzed using the Kruskall wallis test showed that there were significant differences between the test groups with a dose of 300 mg / KgBB and 2000 mg / KgBB with the control group. Whereas there were no significant differences in organ weight data analyzed using the Kruskall Wallis test.

Conclusion : Tapak liman plant can not cause death or toxic symptoms so it can be categorized as Unclassified.

Key words : Toxicity, Tapak Liman, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Guideline

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa karena atas kuasa, berkat dan kehendak-Nya serta kerja keras penulis akhirnya dapat terselesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini dengan judul “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak liman (*Elephantopus scaber* L) Terhadap Mencit Putih Betina Galur DDY menggunakan Metode *Organization for Economic Cooporation and Development (OECD) Guidline.*”

Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi. Dalam penyusunan KTI penulis mendapatkan bimbingan serta dukungan moral maupun materil dari berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dra. Yusmaniar, M.Biomed., Apt. Selaku Ketua Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta II.
2. Ibu Khairun Nida, S.Si, M.Biomed, Apt. selaku pembimbing I yang senantiasa meluangkan waktu untuk memberikan arahan, bimbingan, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
3. Bapak Purnama Fajri, M.Biomed, Apt. selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberika bimbingan dan arahan selama penelitian dan penulisan karya tulis ilmiah ini.
4. Kedua orang tua penulis (Teguh Ratri Jatmiko dan Sukni Romanti) serta kakak penulis (Nico Farrasandy) tercinta yang senantiasa mengiringi langkah penulis untuk memberikan doa, perhatian, serta dukungan baik secara moril maupun materil.
5. Afnan, Latifah, Nurul, Santi, Zulfikri, Diva, Atikah, Ikhsan dan seluruh keluarga FOSTI Farmasi yang telah memberikan nasihat, dorongan, serta penguatan dalam penyusunan KTI ini.
6. Adit, Adi, Ferryan, Citra, Dupa, Ani, Ifah, Faisal, Siti Marlina, Asri, Christina Agustina selaku keluarga PUMAPASI yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doanya.
7. Selma, Ivena, Nurma, Hanifa, Atikah, Ikhsan, Zulfikri, Afnan, dan Saputra yang telah membantu dalam penelitian, memberikan motivasi, dan memberikan doanya.
8. Teman-teman lokal 3A dan 3B yang selalu memberi semangat dalam tiga tahun perkuliahan.
9. Seluruh dosen dan staff karyawan Poltekkes Kemenkes Jakarta II Jurusan Farmasi terima kasih atas ilmu, pengalaman serta bimbingan selama ini.

10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu hingga akhirnya KTI ini dapat terselesaikan.
11. Semoga segala kebaikannya mendaapat balasan dari Tuhan dan kita semua selalu mendapatkan berkah dan karunia-Nya.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan KTI ini masih terdapat banyak kekurangan mengingat kemampuan penulis yang terbatas. Meskipun demikian, penulis berharap KTI ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Jakarta, 16 Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR.....	iv
ABSTRAK.....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR GRAFIK.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Bagi Penulis.....	3
1.4.2 Manfaat Bagi Akademik.....	3
1.5 Hipotesis Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Tapak liman (<i>Elephantopus scaber</i> L).....	4
2.1.1 Taksonomi.....	4
2.1.2 Deskripsi.....	4
2.1.3 Khasiat.....	5
2.2 Ekstrak.....	5
2.2.1 Faktor Biologi.....	6
2.2.2 Faktor Kimia.....	6
2.2.3 Ekstraksi.....	7
2.3 Mencit Putih (<i>Mus musculus</i>).....	7

2.4 Toksikologi.....	8
2.4.1 Efek Toksik.....	9
2.4.2 Uji Toksisitas.....	9
2.4.3 Uji Toksisitas Akut.....	9
2.4.4 Metode Uji Toksisitas Akut Oral OECD 423.....	10
2.4.5 Prinsip Tes.....	11
2.4.6 Pemilihan Spesies Hewan.....	11
2.4.7 Pemberian dosis.....	12
2.4.8 Jumlah Hewan dan Tingkat Dosis.....	12
2.4.9 Limit Test.....	12
2.4.10 Observasi.....	12
2.5 Globally Harmonized System (GHS).....	13
2.6 Kerangka Berfikir.....	14
2.7 Kerangka Teori.....	15
2.8 Hipotesis Penelitian.....	15
2.9 Definisi Oprasional.....	16
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	17
3.1 Desain Penelitian.....	17
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.3 Alat dan Bahan.....	17
3.3.1 Alat.....	17
3.3.2 .Bahan.....	17
3.4 Penyiapan Hewan Uji.....	17
3.4.1 Kelompok Kontrol Negatif.....	17
3.4.2 Kelompok Zat Uji.....	18
3.5 Alur Penelitian.....	18
3.5.1 Determinasi Tapak liman.....	18
3.5.2 Pembuatan Ekstrak dan Sedian.....	18
3.5.3 Identifikasi Kandungan Zat.....	19
3.5.4 Penentuan Jumlah Hewan Coba dan Aklimatisasi hewan coba.....	20
3.5.5 Penentuan Dosis.....	20.

3.5.6 Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak liman dengan .	
Metode OECD Guideline 423.....	20
3.6 Analisis Data.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1 Hasil.....	23
4.1.1 Pembuatan dan Rendemen Ekstrak Herba Tapak liman.....	23
4.1.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Tapak liman.....	23
4.1.3 Efek Toksisitas Akut Pada Mencit Betina.....	24
4.1.3.1 Gejala Toksik secara Kualitatif.....	24
4.1.3.2 Jumlah Kematian Hewan.....	25
4.1.3.3 Pengamatan Berat Badan.....	25
4.1.3.4 Pengamatan Berat Organ.....	26
4.1.3.5 Hasil Pengamatan Makropatologi Organ Mencit Betina....	27
4.2 Pembahasan.....	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	29
5.1 Kesimpulan.....	29
5.2 Saran.....	29
DAFTAR PUSTAKA.....	30
LAMPIRAN.....	33

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Karakteristik Mencit.....	8
Tabel 2.2 Klasifikasi Toksisitas Zat Kimia.....	10
Tabel 2.3 Kategori Globally Harmonized System.....	14
Tabel 4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Tapak liman.....	23
Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Gejala Toksik Secara Kualitatif.....	24
Tabel 4.3 Jumlah Mencit Yang Mati Setelah Pemberian Ekstrak Tapak liman....	25
Tabel 4.4 Berat Rata-rata Organ Mencit.....	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Tapak liman.....	4
Gambar 2.2 Prosedur Metode <i>OECD 423</i>	13

DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Perubahan bobot mencit.....	26
---	----

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan catatan World Health Organization (WHO) lebih dari 20.000 spesies tumbuhan obat yang digunakan oleh 80% penduduk seluruh dunia.^{1,2} Di Republik Rakyat China (RRC), penggunaan obat tradisional mencapai 90% penduduk di Jepang 60 - 70% dokter meresepkan obat tradisional "kampo" untuk pasien mereka. Di Malaysia, obat tradisional Melayu, *Traditional Chinese Medicines* (TCM) dan obat tradisional India digunakan secara luas oleh masyarakatnya. Sementara itu, Kantor Regional WHO wilayah Amerika (AMOR/PAHO) melaporkan 71% penduduk Chile dan 40% penduduk Kolombia menggunakan obat tradisional. Di negara-negara maju, penggunaan obat tradisional tertentu sangat populer. Beberapa sumber menyebutkan penggunaan obat tradisional oleh penduduk di Perancis mencapai 49%, Kanada 70%, Inggris 40% dan Amerika Serikat 42%.³ Indonesia merupakan negara dengan biodiversitas terbesar kedua setelah Brazilia. Jumlah jenis tanaman di Indonesia diperkirakan lebih dari 30.000. Sekitar 7500 merupakan tanaman obat. Baru sekitar kurang dari 2000 tanaman obat telah teridentifikasi. Masyarakat baru menggunakan 1200 jenis tanaman obat, sedang industri baru memanfaatkan sekitar 300 jenis. Data ini menunjukkan betapa masih terbuka sangat luas pemanfaatan tanaman obat untuk dikembangkan sebagai obat tradisional.⁴

Sesuai Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 07 Tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional, dalam penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional telah dijaga oleh pemerintah mengenai keamanannya. Sebelum sampai ke konsumen obat tradisional harus melewati beberapa pengujian seperti, uji farmakologi eksperimental secara pra-klinik maupun klinik, uji toksisitas dan pengujian lainnya yang bertujuan untuk menjamin keamanan masyarakat dalam mengkonsumsi obat tradisional.

Di Indonesia, salah satu tanaman yang digunakan pada pengobatan tradisional adalah tapak liman (*Elephantopus scaber* L). Seluruh bagian tanaman baik dalam bentuk segar maupun yang telah dikeringkan dapat digunakan sebagai obat tradisional. Tanaman ini memiliki efek farmakologis sebagai obat untuk

penyakit seperti keputihan, radang rahim, radang ginjal, hepatitis, kurang darah, batuk pertusis, perut kembung, beri-beri, influensa, radang tenggorokan, radang amandel, radang mata, malaria, diare, pembersih darah.⁵ Serta tanaman ini memiliki kandungan kimia antara lain terpenoid, alkaloid, tanin, fenol, protein, glikosid, saponin dan steroid.⁶

Beberapa penelitian farmakologi terdahulu dari tanaman tapak liman telah dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba tapak liman yang diberikan pada tikus putih jantan yang telah diinduksi kafeina dengan dosis 27 mg/200 g BB tikus dapat menurunkan asam urat darah pada tikus.⁷ Penelitian lain menunjukkan bahwa perasaan daun tapak liman dengan konsentrasi 70% berpengaruh terhadap daya ingat mencit (*Mus musculus*) galur balb c.⁸ Fraksi Petroleum Eter ekstrak etanol daun tapak liman bersifat sitotoksik dan mampu menginduksi apoptosis terhadap sel kanker rahim (Hela) dengan menggunakan metode *Microculture Tetrazolium Salt* (MTT) test dan seri kadar fraksi petroleum eter yang digunakan terhadap sel Hela adalah 2000; 1500; 1000; 800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25 dan 2,125 μ g/ml. Parameter sitotoksitas yang digunakan adalah *Inhibition Concentration* (IC₅₀). Harga IC₅₀ fraksi petroleum eter ekstrak etanol daun tapak liman adalah 185 μ g/ml.⁹

Aktivitas ini erat kaitannya dengan toksisitas tanaman dan toksisitas tanaman berkaitan erat dengan senyawa metabolit sekunder yang dikandung di dalamnya. Makin berefek tanaman tersebut dalam pengobatan maka diduga semakin aktif senyawa metabolit yang dikandung oleh tanaman tersebut.¹⁰ Oleh karena itu penting dilakukan uji toksisitas akut terhadap ekstrak etanol herba tapak liman sebelum diaplikasikan sebagai obat tradisional untuk mengetahui klasifikasi toksisitas zat kimia yang terkandung dalam herba tapak liman.

Berdasarkan penjelasan tersebut, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan menyusun Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “ Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak liman (*Elephantopus scaber* L) Terhadap Mencit Putih Betina Galur DDY menggunakan Metode *Organization for Economic Coorperation and Development* (OECD) Guidline.”

1.2 Rumusan Masalah

1. Seberapa besar potensi ketoksikan akut oral (LD_{50}) ekstrak etanol herba tapak liman terhadap mencit putih betina galur DDY ?
2. Apa saja gejala-gejala toksik yang muncul akibat pemberian ekstrak etanol herba tapak liman ?
3. Mengetahui efek toksik ekstrak etanol herba tapak liman pada organ-organ vital hewan uji dilihat secara makroskopis ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui potensi ketoksikan akut oral (LD_{50}) ekstrak etanol herba tapak liman terhadap mencit putih betina galur DDY.
2. Mengetahui gejala-gejala toksik yang muncul akibat pemberian ekstrak etanol herba tapak liman.
3. Mengetahui efek toksik ekstrak etanol herba tapak liman pada organ-organ vital hewan uji dilihat secara makroskopis.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Penulis

1. Menambah pengetahuan penulis tentang toksisitas akut ekstrak etanol herba tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap mencit putih betina galur DDY.
2. Menerapkan ilmu yang telah didapat di Institusi Pendidikan dalam bidang Farmakologi dan Fitokimia.

1.4.2 Manfaat Bagi Akademik

Dapat digunakan sebagai referensi bacaan dan tambahan pustaka di perpustakaan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Jakarta II.

1.5 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol herba tapak liman diduga tidak menimbulkan kematian dan efek toksik yang berarti pada mencit putih betina galur DDY.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA



Gambar 2.1 Tanaman Tapak liman

2.1 Tanaman Tapak liman (*Elephantopus scaber L.*)

Tanaman Tapak liman dengan mudah ditemui di berbagai tempat, misalnya di ladang, pinggir jalan, kebun, atau di hutan pada ketinggian hingga 1500 mdpl. Penggunaan tumbuhan ini untuk mengobati berbagai penyakit sangat beragam seperti penyembuh luka, antiinflamasi, antidiabetes, sitotoksik dan antitumor.

2.1.1 Taksonomi

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophyta
Sub divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledone
Bangsa	:	Asterales
Suku	:	Asteraceae
Marga	:	Elephantopus
Jenis	:	<i>Elephantopus scaber L.</i>
Nama lain	:	Tapak liman, Tutup bumi, Talpak lana ¹¹

2.1.2 Deskripsi

Tapak liman tumbuh liar, kadang ditemukan dalam jumlah banyak di lapangan rumput, tepi jalan, atau pematang. Tanaman ini mempunyai batang pendek, dan kaku, tinggi 30-60 cm, dan berambut kasar. Daun tunggal berkumpul

pada permukaan tanah membentuk roset akar. Daun bentuknya jorong, tepi melekuk dan bergigi tumpul, ujung tumpul, permukaan berambut kasar, pertulangan menyirip, warnanya hijau tua, panjang 10-18 cm, lebar 3-5 cm. Tangkai bunga keluar dari tengah tengah roset dengan tinggi 60-75 cm. Batang tangkai bunga kaku dan liat, berambut panjang dan rapat, bercabang dan beralur. Daun pada tangkai bunga kecil, letaknya jarang, panjang 3-9 cm, lebar 1-3 cm. Bunga majemuk berbongkol, letaknya di ujung batang, berwarna ungu, mekar pada siang hari sekitar pukul satu siang, dan menutup kembali pada sore hari. Buah berupa buah longkah yang keras, berambut, berwarna hitam. Akarnya akar tunggang yang besar, warnanya putih.¹²

2.1.3 Khasiat

Elephantopus scaber L. memiliki beberapa khasiat sebagai influenza, demam, sakit tenggorokan, batuk rejan (pertutis), radang mata, sariawan, abses, radang otak, (epidemik ensefalitis B), radang ginjal akut dan kronis, kencing nanah (gonore akut), radang rahim, keputihan, kurang darah (anemia), busung air (asites), badan bengkak (beri-beri), diare, disentri, perut kembung, tidak punya gairah seksual, digigit ular. Bagian akar tanaman tapak liman dapat berkhasiat sebagai radang hati (hepatitis), melancarkan proses persalinan, perawatan setelah melahirkan dan demam pada malaria.¹²

2.2 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.¹³ Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia nabati dapat dipandang sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Terpenuhinya standar mutu produk/bahan ekstrak tidak terlepas dari pengendalian proses, artinya bahwa proses yang terstandar dapat menjamin produk terstandar. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak,¹⁴ yaitu:

2.2.1 Faktor Biologi

Mutu ekstrak yang dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tumbuhan obatnya dan khusus dipandang dari segi biologi. Faktor biologi, baik untuk bahan dari tumbuhan obat hasil budidaya (kultivar) ataupun dari tumbuhan liar (*wild crop*) yang meliputi beberapa hal, yaitu :

1. Identitas jenis (*species*) : Jenis tumbuhan dari sudut keragaman hayati dapat di konfirmasi sampai informasi genetik sebagai faktor internal untuk validasi jenis (*species*).
2. Lokasi tumbuhan asal : Lokasi berarti faktor eksternal, yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tumbuhan berinteraksi berupa energi (cuaca, temperatur, cahaya) dan materi (air, senyawa organik dan anorganik).
3. Periode pemanenan hasil tumbuhan : faktor ini merupakan dimensi waktu dari proses kehidupan tumbuhan terutama metabolisme sehingga menentukan senyawa kandungan. Kapan senyawa kandungan mencapai kadar optimal dari proses biosintesis dan sebaliknya kapan sebelum senyawa tersebut dikonversi/dibiotransformasi/biodegradasi menjadi senyawa lain.
4. Penyimpanan bahan tumbuhan : merupakan faktor eksternal yang dapat diatur karena dapat berpengaruh pada stabilitas bahan serta adanya kontaminasi (biotik dan abiotik)
5. Umur tumbuhan dan bagian yang digunakan.¹⁴

2.2.2 Faktor Kimia

Mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tumbuhan obatnya, khususnya dipandang dari segi kandungan kimianya. Faktor kimia, baik untuk bahan dari tumbuhan obat hasil budidaya (kultivar) ataupun dari tumbuhan liar (*wild crop*), meliputi beberapa hal, yaitu :

1. Faktor internal
 - a. Jenis senyawa aktif dalam bahan
 - b. Komposisi kualitatif senyawa aktif
 - c. Komposisi kuantitatif senyawa aktif
 - d. Kadar total rata-rata senyawa aktif
2. Faktor eksternal
 - a. Metode ekstraksi

- b. Perbandingan ukuran alat ekstraksi (diameter dan tinggi alat)
- c. Ukuran, kekerasan dan kekeringan bahan
- d. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi
- e. Kandungan logam berat
- f. Kandungan pestisida.¹⁴

2.2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen aktif (minyak atsiri) yang terkandung dalam tanaman menggunakan bahan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya.¹⁵ Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan.¹⁴ Ada beberapa metode yang bisa digunakan untuk ekstraksi, yaitu :

1. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut
 - a. Cara dingin : Maserasi, Perkolasi
 - b. Cara panas : Refluks, Soxhlet, Digesti, Infus, Dekok
2. Destilasi uap
3. Cara ekstraksi lainnya :
 - a. Ekstraksi berkesinambungan
 - b. Superkritikal karbondioksida
 - c. Ekstraksi ultrasonik
 - d. Ekstraksi energi listrik.¹⁴

2.3 Mencit Putih (*Mus Musculus*)

Mencit adalah hewan yang bersifat penakut, fotofobik cenderung berkumpul sesamanya, mempunyai kecenderungan untuk bersembunyi dan lebih aktif pada malam hari, kehadiran manusia akan menghambat gerak mencit.

Pemberian secara oral dapat dilakukan dengan alat suntik yang dilengkapi dengan jarum atau kanula berujung tumpul dan berbentuk bola dengan maksimal volume 1ml/20g berat badan. Jarum atau kanula dimasukkan ke dalam mulut perlahan-lahan diluncurkan melalui langit-langit kebelakang sampai esophagus. Pemberian tanda dapat dilakukan dengan cara memberi garis atau titik dengan menggunakan tinta cina atau pewarnaan lain pada punggung atau ekor.¹⁶

Tabel 2.1 Karakteristik mencit¹⁷

Karakteristik	Mencit (<i>Mus musculus</i>)
Pubersitas	35 hari
Masa beranak	Sepanjang tahun
Hamil	19-20 hari
Jumlah sekali lahir	4-12 (biasanya 6-8)
Lama hidup	2-3 tahun
Masa laktasi	21 hari
Frekuensi kelahiran/tahun	4
Suhu tubuh	37,9-39,2 °C
Kecepatan respirasi	136-216 /mencit
Tekanan darah	147/106 S/D
Volume darah	7,5% BB
Glukosa darah	60-70 mg/dL

2.4 Toksikologi

Toksikologi ialah ilmu pengetahuan mengenai kerja senyawa kimia yang merugikan terhadap organisme hidup.¹⁸ Atau dapat didefinisikan sebagai kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan sistem biologik lainnya. Toksikologi juga membahas penilaian kuantitatif tentang berat dan kekerapan efek ini sehubungan dengan terpejannya makhluk tadi.¹⁹ Toksikologi sendiri berhubungan dengan farmakologi, karena perbedaan fundamental hanya terletak pada penggunaan dosis yang lebih besar dalam eksperimen toksikologi.²⁰ Penelitian toksikologi berfungsi untuk mengkaji mekanisme aksi seluler, biokimia, dan molekuler serta efek fungsional seperti

neurobehavioral dan imunologi, dan menilai kemungkinan kemunculannya.²¹ Toksisitas merupakan sifat relatif dari suatu zat kimia, dalam kemampuannya menimbulkan efek berbahaya atau penyimpangan mekanisme biologi pada suatu organisme.²²

2.4.1 Efek Toksik

Semua efek toksik terjadi karena interaksi biokimiawi antara toksikan (dan/atau metabolitnya) dengan struktur reseptor tertentu dalam tubuh. Struktur itu dapat bersifat nonspesifik, seperti jaringan yang berkontak langsung dengan bahan korosif. Tetapi acap strukturnya itu spesifik, misalnya, struktur subseluler tertentu. Berbagai struktur, termasuk “reseptor” dapat juga dipengaruhi.²⁰

2.4.2 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 manusia.²³

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/sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia.²³

2.4.3 Uji Toksisitas Akut

Uji tunggal yang dilakukan atas segala zat kimia yang ada kaitannya dengan kepentingan biologi ialah uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut terdiri atas pemberian suatu senyawa kepada hewan uji pada satu saat. Maksud uji tersebut ialah untuk menentukan suatu gejala sebagian akibat pemberian suatu senyawa dan untuk menentukan peringkat letalitas senyawa itu.²⁴ Sebagian besar penelitian ini dirancang untuk menentukan dosis letal median (LD₅₀) toksikan. LD₅₀ didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan coba. Pengujian ini juga dapat menunjukkan organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta memberikan petunjuk tentang

dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama.¹⁹ Dalam penentuan LD₅₀ digunakan tikus dan mencit. Hewan ini dipilih karena murah, mudah didapat, dan mudah ditangani. Selain itu, terdapat banyak data toksikologi tentang hewan jenis ini, suatu fakta yang mempermudah pembandingan toksisitas zat-zat kimia.¹⁹

Nilai LD₅₀ sangat berguna untuk menentukan klasifikasi zat kimia sesuai dengan toksisitas relatifnya seperti pada Tabel 2.2. Kegunaan lain nilai LD₅₀ ialah dalam evaluasi dampak keracunan yang tidak disengaja; perencanaan penelitian toksisitas subakut dan kronik pada hewan; memberikan informasi tentang 1. mekanisme toksisitas; 2. pengaruh umur, seks, faktor penjamu dan faktor lingkungan lainnya dan 3. variasi respons antarspesies dan antarstrain hewan; memberikan informasi tentang reaktivitas suatu populasi hewan; memberi sumbangan bagi informasi yang dibutuhkan dalam merencanakan pengujian obat pada manusia dan dalam pengendalian mutu zat kimia, deteksi pencemaran toksik serta perubahan fisik yang mempengaruhi bioavailabilitas.¹⁹

Tabel 2.2 klasifikasi toksisitas zat kimia.¹⁹

Kategori	LD ₅₀
Supertoksik	5 mg/kg atau kurang
Amat sangat toksik	5-50 mg/kg
Sangat toksik	50-500 mg/kg
Toksik sedang	0,5-5 g/kg
Toksik ringan	5-15 g/kg
Praktis tidak toksik	>15 g/kg

2.4.4 Metode Uji Toksisitas Akut Oral OECD 423

Metode uji toksisitas OECD 423 merupakan salah satu metode yang dikeluarkan oleh *Organization for Economic Coorperation and Development* yang diadopsi pada bulan Maret 1996 sebagai alternatif kedua dari tes toksisitas akut

konvensional. Metode toksisitas akut yang ditetapkan dalam pedoman ini adalah prosedur bertahap dengan penggunaan 3 hewan dari satu jenis kelamin per langkah. Tergantung pada mortalitas dan/atau status sekarat hewan, rata-rata 2-4 langkah mungkin diperlukan untuk memungkinkan penilaian toksisitas akut dari bahan uji.²⁵

2.4.5 Prinsip tes

Prinsip yang digunakan pada metode ini berdasarkan prosedur bertahap dengan penggunaan jumlah hewan minimum per langkah. Zat ini diberikan secara oral ke sekelompok hewan percobaan pada salah satu dosis yang ditentukan. Zat ini diuji dengan menggunakan prosedur bertahap, setiap langkahnya menggunakan tiga hewan dari satu jenis kelamin (biasanya perempuan). Tidak adanya atau adanya mortalitas terkait senyawa dari hewan yang diberi dosis pada satu langkah akan menentukan langkah selanjutnya, yaitu :

1. Tidak perlu pengujian lebih lanjut
2. Dosis tiga hewan tambahan, dengan dosis yang sama
3. Dosis tiga hewan tambahan pada tingkat dosis berikutnya yang lebih tinggi atau lebih rendah berikutnya.

Metode ini akan memungkinkan penilaian sehubungan dengan mengklasifikasikan zat uji ke salah satu dari serangkaian kelas toksisitas yang didefinisikan oleh nilai batas LD₅₀ yang ditetapkan.²⁵

2.4.6 Pemilihan spesies hewan

Spesies hewan penggerat yang biasa digunakan adalah tikus, meskipun spesies hewan penggerat lainnya dapat digunakan. Biasanya jenis kelamin yang digunakan adalah betina. Karena, survei literatur dari tes LD₅₀ konvensional menunjukkan bahwa meskipun ada sedikit perbedaan dalam sensitivitas antara jenis kelamin, dalam kasus-kasus dimana perbedaan diamati perempuan umumnya sedikit lebih sensitif. Namun, jika pengetahuan tentang sifat toksikologis atau toksikokinetik dari bahan kimia yang terkait secara struktural menunjukkan bahwa laki-laki cenderung lebih sensitif, maka jenis kelamin ini harus digunakan.²⁵

Hewan dewasa muda yang sehat dari strain laboratorium dapat digunakan dalam penelitian. Jika digunakan jenis kelamin betina, maka harus nupliara dan tidak hamil. Setiap hewan, pada saat dimulai pemberian dosis harus berusia 8 dan 12 minggu.²⁵

2.4.7 Pemberian dosis

Hewan uji diberikan dosis dengan menggunakan tabung perut atau kanula intubasi yang sesuai. Dalam keadaan yang tidak biasa bahwa dosis tunggal tidak mungkin diberikan, dosis dapat diberikan dalam fraksi yang lebih kecil selama periode tidak melebihi 24 jam.²⁵

Hewan harus berpuasa sebelum di berikan dosis dengan tidak di berikan makan tetapi tetap diberikan minum dengan jangka waktu 3-4 jam. Setelah periode puasa, hewan harus ditimbang dan zat uji diberikan. Setelah zat tersebut diberikan, makanan dapat ditahan selama 1-2 jam.²⁵

2.4.8 Jumlah hewan dan tingkat dosis

Tiga hewan yang digunakan dalam setiap langkahnya. Level dosis yang akan digunakan sebagai dosis awal dipilih satu dari empat level dosis tetap, yaitu 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg berat badan. Jika terdapat informasi yang menyatakan bahwa kematian tidak terjadi pada dosis tertinggi (2000 mg/kg berat badan), maka *limit test* harus dilakukan. Jika tidak ada informasi mengenai ketoksikan zat uji, karena alasan kesejahteraan hewan direkomendasikan dosis dimulai pada 300 mg/kg berat badan. Interval waktu antara kelompok perlakuan ditentukan oleh onset, durasi, dan keparahan tanda-tanda toksik. Pengobatan hewan pada dosis berikutnya harus ditunda sampai seseorang yakin akan bertahan hidup dari hewan yang diberi dosis sebelumnya.²⁵

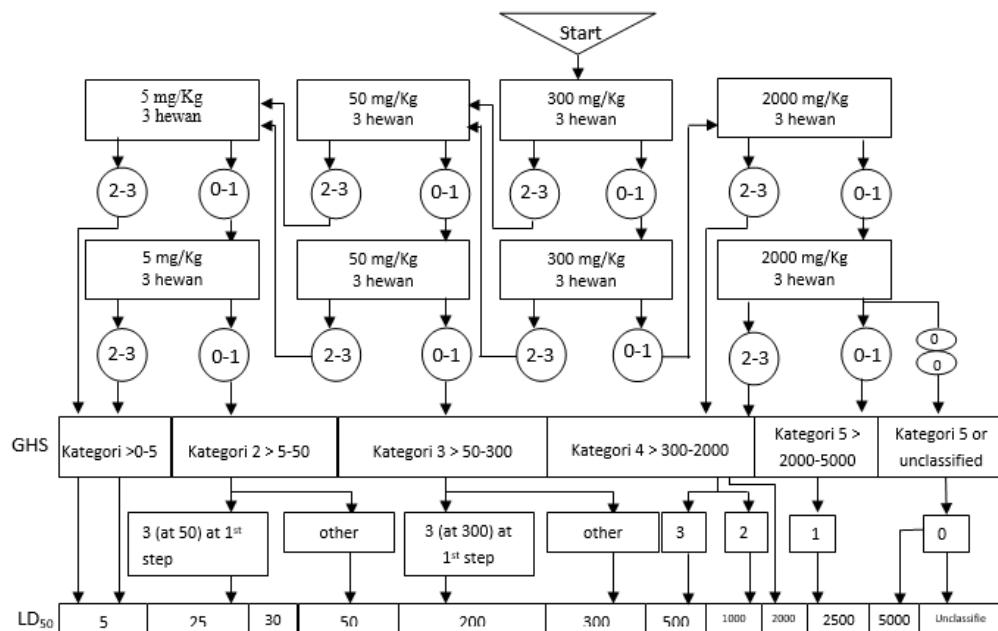
2.4.9 Limit test

Limit test terutama digunakan dalam situasi dimana eksperimen memiliki informasi yang menunjukkan bahwa bahan uji cenderung tidak beracun. *Limit test* pada level dosis 2000 mg/kg berat badan dapat dilakukan dengan 6 hewan uji. Pada *limit test* dosis 5000 mg/kg berat badan dapat dilakukan dengan 3 hewan uji. Apabila pada dosis ini terjadi kematian, maka diperlukan pengujian lebih lanjut dengan dosis yang lebih rendah.²⁵

2.4.10 Observasi

Hewan diamati secara individual setelah pemberian dosis setidaknya satu kali selama 30 menit pertama, secara berkala selama 24 jam pertama, dengan perhatian khusus diberikan selama 4 jam pertama, dan setiap hari setelahnya, selama total 14 hari. Pengamatan meliputi perubahan pada kulit dan bulu, mata dan membran mukosa, dan juga pernapasan, sirkulasi, susunan saraf pusat dan tepi,

aktivitas somatomotor, dan pola perilaku. Perhatian juga ditujukan pada pengamatan tremor, kejang, salivasi, diare, letargi, tidur dan koma. Dalam menahan kondisi stres berat hewan harus dikorbankan secara wajar. Setelah percobaan bobot di timbang lagi dan hewan uji di korbankan, dibedah, dan di ambil organ-organ vitalnya untuk dilakukan pemeriksaan histopatologis.²⁵



Gambar 2.2 Prosedur metode OECD 423

2.5 Globally Harmonized System (GHS)

Sistem klasifikasi dan pelabelan bahan kimia yang disetujui secara global dengan melibatkan banyak negara dan organisasi internasional yang mencakup dalam berbagai bidang seperti toksikologi hingga proteksi kebakaran yang bertujuan untuk mengidentifikasi bahaya yang ditemukan dalam zat untuk menyampaikan informasi bahaya dari suatu zat.²⁶

Dalam GHS membahas mengenai toksisitas akut yang didalamnya digolongkan beberapa kategori yaitu kategori 1, kategori 2, kategori 3, kategori 4, dan kategori 5. Disetiap kategori memiliki simbol, kata sinyal, dan pernyataan bahaya seperti pada di tabel 2.3²⁶

Tabel 2.3 Katergori Globally Harmonized System.²⁶

Kategori	Dosis	Simbol	Kata Sinyal	Pernyataan Bahaya
Kategori I	> 0-5	Tengkorak dan tulang bersilang	Bahaya	Fatal jika tertelan
Kategori II	> 5-50	Tengkorak dan tulang bersilang	Bahaya	Fatal jika tertelan
Kategori III	> 50 – 300	Tengkorak dan tulang bersilang	Bahaya	Racun jika tertelan
Kategori IV	> 300 – 2000	Tanda seru	Peringatan	Bahaya jika tertelan
Kategori V	> 2000 – 5000	Tidak ada simbol	Peringatan	Mungkin berbahaya jika tertelan
<i>Unclassified</i>	> 5000			

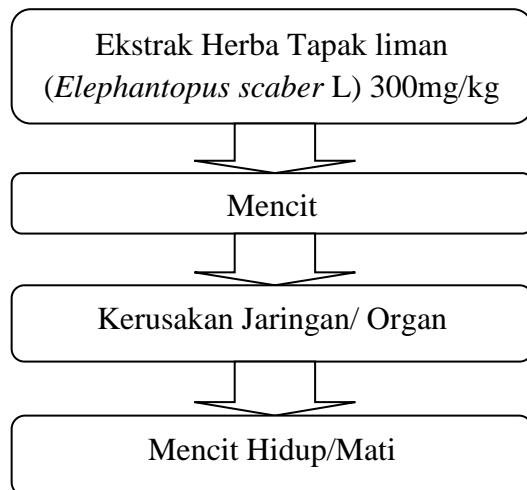
2.6 Kerangka Berfikir

Beberapa penelitian farmakologi terdahulu dari tanaman tapak liman telah dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba tapak liman yang diberikan pada tikus putih jantan yang telah diinduksi kafeina dengan dosis 27 mg/200 g BB tikus dapat menurunkan asam urat darah pada tikus. Penelitian lain menunjukkan bahwa perasaan daun tapak liman dengan konsentrasi 70% berpengaruh terhadap daya ingat mencit (*Mus musculus*) galur balb c. Serta Fraksi Petroleum Eter ekstrak etanol daun tapak liman bersifat sitotoksik dan mampu menginduksi apoptosis terhadap sel kanker rahim (Hela) dengan menggunakan metode MTT test dan seri kadar fraksi petroleum eter yang digunakan terhadap sel

Hela adalah 2000; 1500; 1000; 800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25 dan 2,125 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Dari beberapa penelitian diatas menunjukkan bahwa tanaman tapak liman dapat menjadi obat alternatif dan dijadikan sebagai produk atau obat baru yaitu fitofarmaka. Namun, sebelum menjadi fitofarmaka ada pengujian yang harus dilakukan yaitu pengujian toksisitas. Pengujian toksisitas berfungsi untuk mengetahui potensial senyawa yang ada di dalam tumbuhan tersebut sebagai racun, mengenali kondisi biologis atau lingkungan, munculnya efek toksik, dan mengkarakteristik aksi atau efek. Oleh sebab itu perlu dilakukan pengujian tentang toksisitas akut oral mengenai tanaman tapak liman.

2.7 Kerangka Teori



2.8 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol herba tapak liman diduga tidak menimbulkan kematian dan efek toksik yang berarti pada mencit putih betina galur DDY.

2.9 Definisi Operasional

No	Variable	Definisi	Alat Ukur	Hasil	Skala Ukur
					Ukur
1	Dosis tetap ekstrak etanol 70% herba tapak liman (<i>Elephantopus scaber L.</i>) 5, 50, 300, 2000	Sediaan ekstrak herba tapak liman kental yang didapat dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 70%	Spuit	mg/Kg BB mencit	Nominal

	mg/Kg berat badan		
2	Keadaan toksik	Keadaan dimana setelah diberikan zat uji, hewan uji mulai merasakan gejala toksik atau terjadi mortalitas	Pengamatan
3	Hewan uji	Mencit putih betina galur DDY yang memiliki bobot 18- 20g	Nominal
4	LD ₅₀	Dosis yang dapat menyebabkan 50% kematian pada populasi hewan uji	Nominal

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan penelitian Ekperimental *randomized control group pretest-posttest design*, yang menggunakan hewan coba sebagai obyek penelitian. Perlakuan berupa pemberian sediaan ekstrak etanol 70% herba tapak liman pada mencit betina galur DDY.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam waktu kurang lebih selama 3 bulan dimulai pada bulan April 2019 hingga Mei 2019. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta II.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan adalah sonde lambung, spuit (Terumo), timbangan analitik, timbangan hewan, alat-alat gelas, alat bedah, mortir dan stamper.

3.3.2 Bahan

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol 70% herba tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) yang diperoleh dari daerah Bojong gede. Bahan kimia yang digunakan adalah Tragakan dan Etanol 70%.

3.4 Penyiapan Hewan Uji

Sebanyak 20 ekor mencit putih betina galur DDY diaklimatisasi selama 5 – 7 hari dalam kandang karantina di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Jakarta II agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Kandang karantina berada dalam kondisi terang selama 12 jam dan kondisi gelap selama 12 jam. Mencit dipelihara pada suhu 22⁰C ($\pm 3^0\text{C}$) dan diberi makan secara *ad libitum*.

3.4.1 Kelompok kontrol negatif

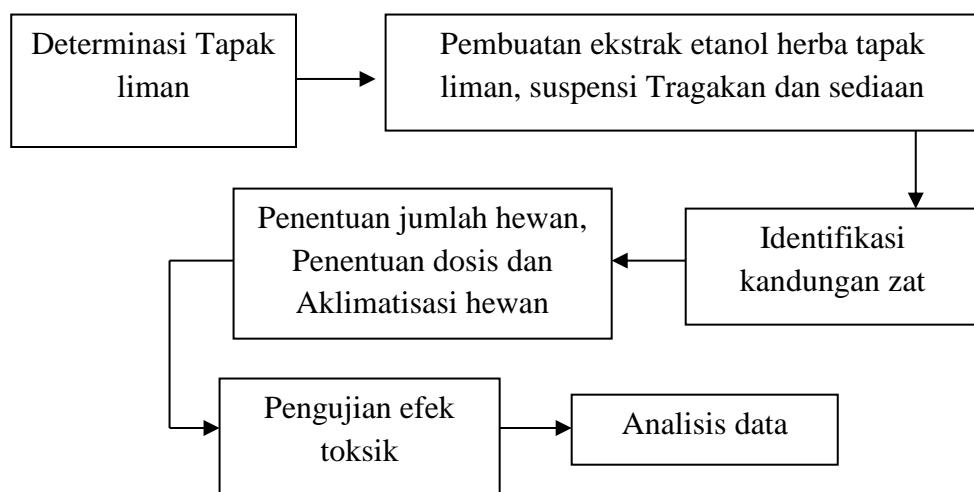
Pada kelompok ini, mencit diberi perlakuan dengan diberikan Tragakan dengan konsentrasi 1% dioralkan 0,5 mL/30 g BB mencit.

3.4.2 Kelompok zat uji

Pada kelompok pertama, mencit dimasukkan zat uji dengan dosis 300 mg/Kg BB mencit. Kelompok kedua akan di tambahkan apabila pada dosis tersebut terdapat 2-3 mencit yang mati, maka dosis akan diturunkan menjadi 50 mg/Kg BB mencit. Tetapi, apabila terdapat 1 atau tidak ada mencit yang mati, maka dosis akan dinaikkan menjadi 2000 mg/Kg BB mencit.

3.5 Alur Penelitian

Alur penelitian ini terdiri dari :



3.5.1 Determinasi Tapak liman

Tapak liman dideterminasi di Herbarium Bogoriense (LIPI) Cibinong untuk memastikan bahwa herba tersebut adalah Tapak liman.

3.5.2 Pembuatan Ekstrak dan Sediaan

Pembuatan Ekstrak dalam penelitian ini meliputi :

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Tapak liman

Tapak liman yang digunakan adalah tapak liman yang telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense (LIPI). Sebanyak 200 g serbuk dimasukkan dan direndam ke dalam bejana maserasi dengan etanol 70% sebagai cairan penyari 1500 ml, ditutup dan dibiarkan selama kurang lebih 3 hari terlindung dari cahaya. Selama waktu tersebut setiap 24 jam dengan sesekali diaduk. Kemudian setelah 3 hari proses maserasi, cairan maserasi dikeluarkan dari bejana dan ampasnya diperas menggunakan vacum kemudian cairan tersebut diletakkan diatas waterbah dengan suhu 60 °C hingga menjadi ekstrak kental. Setelah itu, ampas yang telah divacum

dimasukkan kembali kedalam bejana maserasi dengan ditambahkan 500 ml etanol 70% dan didiamkan selama 3 hari dengan sesekali diaduk untuk proses remaserasi. Cairan hasil Disaring dan dipisahkan dari ampasnya dan diperas kembali menggunakan vacum. Cairan remaserasi diletakkan kedalam waterbath dengan suhu 60 °C hingga menjadi ekstrak kental dengan bobot tetap. Ekstrak kental hasil maserasi dan ekstrak kental hasil remaserasi disatukan dan ditimbang untuk mendapatkan rendemen. Ekstrak kental ini kemudian disebut ekstrak etanol herba tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) yang akan menjadi zat uji dalam pengujian toksisitas.

2. Pembuatan suspensi Tragakan 1%

Pembuatan suspensi Tragakan 1% yaitu sebanyak 100 gram Tragakan ditimbang kemudian digerus di dalam lumpang sampai halus. Kemudian ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml lalu digerus dengan cepat hingga menjadi suspensi. Suspensi dimasukkan ke dalam *beaker glass*.

3.5.3 Identifikasi Kandungan Zat

1. Identifikasi golongan alkaloid

Timbang 500 mg serbuk simplisia, tambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air, panaskan di atas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan saring. Pindahkan 3 tetes filtrat pada kaca arloji, tambahkan 2 tetes Bouchardat LP. Jika pada kedua percobaan tidak terjadi endapan, maka serbuk tidak mengandung alkaloid. Jika dengan Mayer LP terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol P dan dengan Bouchardat LP terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid.²⁷

2. Identifikasi golongan saponin

Masukkan 0,5 gram serbuk yang diperiksa ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 ml air panas, dinginkan dan emudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang.²⁷

3. Identifikasi golongan tanin

Sebanyak kurang lebih 0,5 gram serbuk ditambah 10 ml air, didihkan selama 15 menit, setelah dingin kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat ditambah

1-2 tetes FeCl_3 1% terbentuknya warna hijau atau hitam menunjukkan adanya senyawa golongan tanin.²⁷

4. Identifikasi golongan flavonoid

Masukkan 0,5 gram ekstrak kedalam tabung reaksi tambahkan 0,1 gram serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat P, jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid.²⁷

3.5.4 Penentuan Jumlah Hewan Coba dan Aklimatisasi Hewan Coba

1. Penentuan Jumlah Hewan Coba

Penentuan jumlah sampel mencit yang akan diberi perlakuan pada penelitian ini berdasarkan OECD *Guidelines*, yaitu 3 hewan per langkah.

2. Aklimatisasi Hewan Coba

Dalam penelitian ini, hewan coba yang digunakan adalah mencit putih betina dengan spesifikasi yang sama untuk meminimalisir variasi biologis. Kemudian mencit diaklimatisasi selama lima hari untuk membiasakan mencit dengan lingkungan yang baru agar mencit tidak stress.

3.5.5 Penentuan dosis

1. Dosis Tapak liman

Penentuan dosis ekstrak etanol tapak liman yang dioralkan kepada mencit didasarkan pada OECD *Guidelines* yaitu pada dosis 300 mg/Kg BB mencit karena tidak ada informasi mengenai ketoksikan zat uji.

2. Tragakan 1%

Dibuat konsentrasi 1% dioralkan 0,5 mL/30 g BB mencit.

Pada penelitian direncanakan ada dua kelompok perlakuan yaitu:

- Kelompok I : Kelompok kontrol negatif (diberikan suspensi Tragakan 0,5 mL/30 g BB mencit).
- Kelompok II : Kelompok uji (diberikan ekstrak herba tapak liman dengan dosis 300 mg/Kg BB mencit pada tahap awal. Tahap selanjutnya yang menentukan naik atau turunnya dosis dilihat dari angka mortalitas pada tahap awal).

3.5.6 Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Herba Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) dengan Metode OECD Guidline 423

Prinsip yang digunakan pada metode ini berdasarkan metode OECD *Guidline 423* yaitu prosedur bertahap dengan penggunaan 3 hewan uji coba per langkah. Sebelum diberikan dosis hewan harus berpuasa dengan tidak diberikan makan tetapi tetap diberikan minum dengan jangka waktu 2-4 jam. Setelah itu hewan harus ditimbang.

Kemudian dosis diberikan kepada 3 hewan pertama dengan dosis 300 mg/Kg berat badan mencit. Mortalitas yang disebabkan oleh dosis yang telah diberikan akan menentukan langkah selanjutnya. Apabila terdapat 2-3 kematian pada mencit maka, dosis akan diturunkan menjadi 50 mg/Kg BB dan akan dilakukan penambahan kelompok hewan dengan jumlah yang sama. Tetapi apabila terdapat satu atau tidak ada kematian pada mencit maka, akan ada penambahan kelompok dengan jumlah hewan dan dosis yang sama. Apabila terdapat 2-3 kematian pada mencit maka, dosis akan diturunkan menjadi 50 mg/Kg BB. Tetapi, jika terdapat satu atau tidak ada kematian pada hewan maka, dosis akan ditingkatkan menjadi 2000 mg/Kg BB. Setiap pemberian dosis, hewan akan diamati secara individual setelah pemberian dosis setidaknya satu kali selama 30 menit pertama, secara berkala selama 24 jam pertama, dengan perhatian khusus diberikan selama 4 jam pertama, dan setiap hari setelahnya, selama total 14 hari

Setelah mendapatkan hasil berapa dosis tetap yang dapat menyebabkan efek toksik pada mencit maka dosis tersebut akan dikelompokkan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) pada tabel 2.3. Kemudian dilakukan LD₅₀ *cut-off* untuk menentukan dosis perkiraan yang dapat menyebabkan efek toksik berdasarkan tabel 2.3.

Pengamatan dilakukan setelah pemberian dosis dengan membandingkan kelompok uji dengan kelompok kontrol yang meliputi perubahan pada kulit dan bulu, mata, pernapasan, sirkulasi, susunan saraf pusat dan tepi, dan pola perilaku. Perhatian juga ditujukan pada pengamatan tremor, kejang, salivasi, diare, letargi, tidur dan koma. Dalam menahan kondisi stress berat hewan harus dikorbankan secara wajar.

3.6 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan uji nonparametrik *Kruskal wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* dengan *SPSS for windows* dan data kuantitatif berupa kematian hewan uji yang akan dianalisis menggunakan bagan OECD *Guidline 423* yang ada di gambar 2.2

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Pembuatan dan Rendemen Ekstrak Herba Tapak liman

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak 200 gram serbuk simplisia diekstrak dalam larutan etanol 70% sebanyak 1,5 liter, kemudian didiamkan selama 3 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan setelah itu dilakukan remerasi dengan 500 ml etanol 70% dan didiamkan selama 4 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil dari maserasi diletakkan di dalam waterbath menggunakan cawan uap hingga menjadi ekstrak kental sebanyak 29,70 gram dan diperoleh rendemen sebesar 14,85%.

4.1.2 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Tapak liman

Penentuan golongan senyawa kimia ekstrak herba tapak liman dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa yang terdapat di dalamnya. Adapun pemeriksaan yang dilakukan terhadap ekstrak herba tapak liman adalah pemeriksaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.1 Skrining fitokimia ekstrak etanol Herba Tapak liman

No	Pemeriksaan	Ekstrak Etanol
1	Flavonoid	-
2	Alkaloid	+
3	Saponin	+
4	Tannin	+

Keterangan : (+) Positif : mengandung golongan senyawa

(-) Negatif : tidak mengandung golongan senyawa

Hasil skrining di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba tapak liman mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, dan tannin. Dan tidak mengandung golongan senyawa flavonoid.

4.1.3 Efek Toksisitas Akut Pada Mencit Betina

Pengujian efek toksik ekstrak etanol herba tapak liman dilakukan terhadap mencit jantan dengan metode *fixed dose*. Pada penelitian ini, dosis ekstrak etanol herba tapak liman yang digunakan yaitu 300 mg/KgBB dan 2000 mg/KgBB. Pengamatan dilakukan selama 14 hari terhadap gejala toksik, jumlah kematian, dan pengamatan berat badan. Pada hari ke-15 dilakukan pengamatan berat organ dan pengamatan makropatologi organ.

4.1.3.1 Gejala Toksik secara Kualitatif

Hasil pengamatan secara kualitatif meliputi gejala-gejala sebagai berikut antara lain gejala tremor, kejang, salivasi, Diare, Letargi, Nyeri, Lakrimasi, kondisi bulu, kondisi mata, dan pernapasan yang selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil pengamatan gejala toksik secara kualitatif

Gejala Toksik	K1	K2	P1	P2
Kondisi Bulu	-	-	-	-
Kondisi Mata	-	-	-	-
Pernapasan	-	-	-	-
Tremor	-	-	-	-
Kejang	-	-	-	-
Salivasi	-	-	-	-
Diare	-	-	-	-
Letargi	-	-	-	-

Nyeri	-	-	-	-
Lakrimasi	-	-	-	-

Keterangan : K1 = Kontrol 300 mg/KgBB, K2 = Kontrol 2000 mg/KgBB, P1 = dosis 300 mg/KgBB, P2 = dosis 2000 mg/KgBB, (-) = tidak menunjukkan gejala. (+) = Menunjukkan gejala

4.1.3.2 Jumlah kematian hewan

Hasil pengamatan uji kuantitatif selama 14 hari, berupa jumlah mencit yang mati ditunjukkan pada tabel 4.3

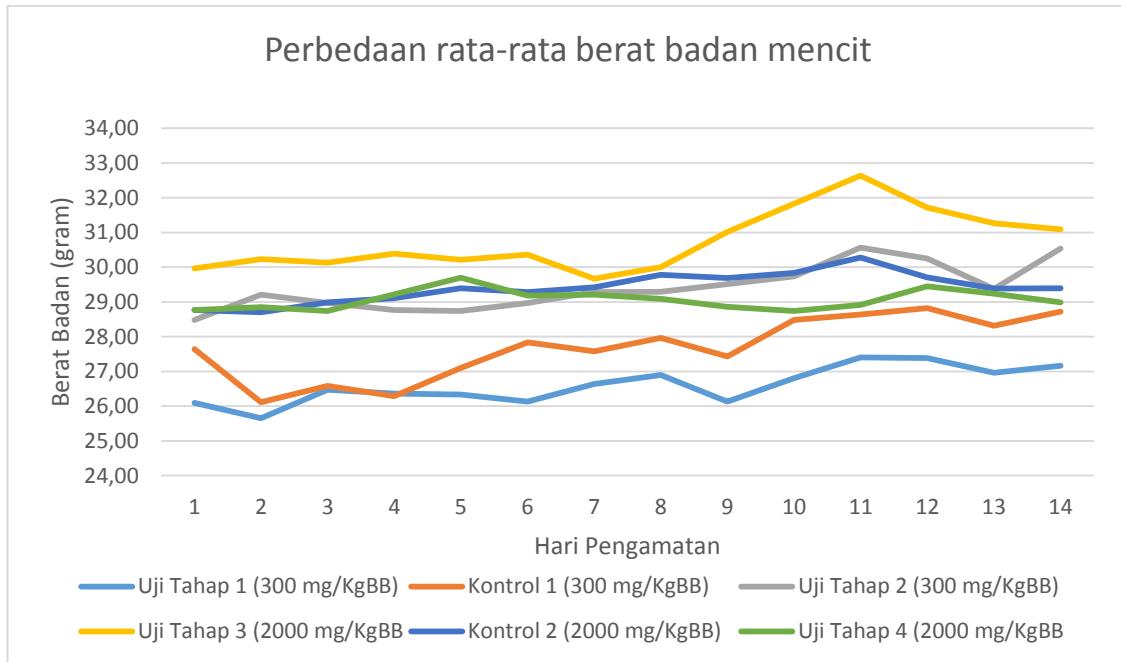
Tabel 4.3 Jumlah mencit yang mati setelah pemberian Ekstrak Etanol Herba Tapak liman

Kelompok	Jumlah Mencit	Jumlah kematian dalam 24 jam	Jumlah kematian dalam 14 hari
Kontrol 1	3	-	-
Kontrol 2	3	-	-
P1	6	-	-
P2	6	-	-

Keterangan : Kontrol 1 = kontrol 300 mg/KgBB, Kontrol 2 = kontrol 2000 mg/KgBB, P1= dosis 300 mg/KgBB, P2 = dosis 2000 mg/KgBB

4.1.3.3 Pengamatan Berat Badan

Penimbangan bobot berat badan mencit dilakukan setiap harinya dari pertama pemberian zat uji terhadap hewan coba hingga 14 hari kedepan. Penimbangan ini dilakukan untuk mengetahui apakah pemberian zat uji tersebut berpengaruh terhadap perubahan berat badan mencit yang signifikan, maka dibuat menjadi 3 kelompok uji untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok tersebut yaitu 300 mg/KgBB, 2000 mg/KgBB dan kontrol. Perubahan berat badan pada hewan coba dapat dilihat pada tabel 4.4.

Grafik 4.1 Perubahan bobot mencit

4.1.3.4 Pengamatan berat organ

Penimbangan bobot organ mencit dilakukan sesaat setelah dibedah yaitu pada hari ke-15. Mencit dibedah untuk diambil organnya dan dilakukan penimbangan yang bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan terhadap berat organ antara kelompok uji dengan kelompok kontrol. Berat rata-rata organ mencit yang telah dipresentasikan dengan rata-rata berat badan mencit pada hari ke-14 dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Berat rata rata organ mencit

No	Perlakuan	Percentase Berat Organ (%)					
		P1	K1	P2	P3	K2	P4
1	Paru-paru	0,95	0,76	0,94	0,99	1,02	1,03
2	Ginjal	1,06	1,009	1,11	1,09	1,29	1,31
3	Limpa	0,36	0,45	0,49	0,48	0,44	0,34
4	Jantung	0,44	0,48	0,42	0,48	0,47	0,44

5	Hati	5,48	5,08	4,81	3,44	5,47	6,45
6	Tiroid	0,80	0,62	0,65	0,61	0,68	0,82
7	Otak	1,25	1,28	1,34	1,02	0,91	1,13
8	Ovarium	0,77	0,59	0,68	0,86	0,78	0,75

Keterangan : P1 :Uji tahap 1 (300 mg/KgBB), P2 :Uji tahap 2 (300 mg/KgBB), P3 :Uji tahap 3 (2000 mg/KgBB), P4 :Uji tahap 4 (2000 mg/KgBB), K1 :Kontrol 1 (300 mg/KgBB), K2 :Kontrol 2 (2000 mg/KgBB)

4.1.3.5 Hasil pengamatan makropatologi organ mencit betina

Pengamatan secara makropatologi organ merupakan salah satu indikator yang berguna bagi toksisitas untuk mengetahui adanya gejala kerusakan pada organ sasaran. Pemeriksaan secara makropatologi dilakukan dengan mengamati adanya perubahan warna, bentuk permukaan, dan berat organ. Organ yang diamati yaitu paru-paru, ginjal, limpa, jantung, hati, tiroid, otak dan ovarium. Setelah dilakukan pengamatan tidak ditemukan adanya perbedaan antara kelompok organ mencit zat uji maupun kelompok organ mencit kontrol.

4.2 Pembahasan

Ekstrak herba tapak liman dapat digunakan alternatif oleh masyarakat sebagai pengobatan. Berbagai macam kandungan zat dalam tanaman ini seperti saponin, tannin dan alkaloid yang terbukti terdapat didalam tanaman tapak liman setelah dilakukan uji identifikasi dan tidak memunculkan efek toksik maupun kematian.

Dari hasil penelitian, terdapat mencit yang mengalami kematian pada kelompok kontrol 300 mg/KgBB di hari ke-5 yang ditandai dengan penurunan berat badan secara signifikan dari hari pertama hingga hari ke-4. Kematian mencit pada kelompok kontrol tersebut diduga terjadi akibat stress yang dipicu oleh prosedur penelitian.²⁸ Stress akibat pemberian perlakuan secara oral menggunakan sonde kepada mencit dalam kondisi sadar dapat menyebabkan penurunan berat badan selama periode uji²⁸. Selain itu tidak ada satupun mencit yang mati setelah dilakukan perlakuan. Berdasarkan konsep dari *guideline OECD 423* apabila dosis 2000 mg/KgBB tidak dapat menyebabkan kematian maupun gejala toksik, maka LD₅₀ dinyatakan dalam golongan *unclassified* .

Pada hasil penimbangan rata-rata berat badan mencit yang ditunjukkan pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa ada perbedaan berat badan yang bermakna antara kelompok uji dan kelompok kontrol. Perbedaan yang bermakna tersebut terbukti setelah dianalisis menggunakan uji nonparametrik *kruskall wallis* dengan *SPSS for windows* yang menunjukkan angka ($p < 0,5$). Perbedaan berat badan tersebut bisa terjadi karena beberapa faktor, seperti misalnya keadaan kandang, cahaya, makanan dan minuman, suhu kandang, yang mempengaruhi stress mencit²⁹.

Penimbangan organ pada mencit dilakukan setelah 14 hari pengamatan yaitu pada hari ke-15. Penimbangan dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antara organ dari kelompok zat uji dan organ dari kelompok zat kontrol. Data hasil penimbangan rata-rata berat organ dapat dilihat pada tabel 4.5. Setelah dilakukan analisa menggunakan uji nonparametrik *kruskal wallis* dengan *SPSS for windows* ditemukan hasil yang menunjukkan tidak adanya perbedaan berat organ yang bermakna ($p > 0,5$). Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba tapak liman tidak berpengaruh terhadap perubahan berat organ mencit.

Pengamatan organ-organ secara makroskopis dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan bentuk organ secara makroskopis antara kelompok zat uji dan kelompok kontrol. Pengamatan dilakukan dengan mengamati perubahan warna, bentuk permukaan, dan berat organ. Organ yang diamati yaitu paru-paru, ginjal, limpa, jantung, hati, tiroid, otak dan ovarium. Setelah dilakukan pengamatan tidak ditemukan adanya perbedaan antara kelompok organ mencit zat uji maupun kelompok organ mencit kontrol. Maka perlu diadakannya pengujian histopatologis untuk mengetahui lebih dalam mengenai kerusakan pada organ mencit.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat diambil beberapa kesimpulan, diantaranya :

1. Nilai LD₅₀ yang didapat dari hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol herba tapak liman termasuk dalam golongan *unclassified* sehingga ekstrak etanol herba tapak liman ini tergolong dalam tidak toksik.
2. Pengamatan gejala toksik pada mencit yang diberikan dosis 300 mg/KgBB maupun 2000 mg/KgBB terlihat tidak berbeda dengan hewan uji zat kontrol.
3. Secara makroskopis, kerusakan pada organ mencit yang diberikan dosis 300 mg/KgBB dan dosis 2000 mg/KgBB tidak memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol ($p \geq 0,5$).

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas yang dilakukan pada hewan uji jantan dan betina. Selain itu perlu dilakukan uji Histopatologis pada organ-organ mencit untuk mengetahui lebih lanjut kerusakan organ setelah pemberian ekstrak etanol herba tapak liman dan perlu dilakukan uji toksisitas subkronik dan kronik untuk mengetahui pengaruh penggunaan dalam jangka waktu yang lama.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO, IUCN, dan WWF. Guidelines on The Conservation of Medical Plants. IUCN. Gland, Switzerland. 1993.
2. Foster, S. Forest Pharmacy, Medicinal Plants in American Forest History Society. Durham, North California. 1995.
3. Murdopo. Obat Herbal Tradisional. Jakarta: Warta Ekspos; 2014.
4. Sutrisna E. Herbal Medecine : Suatu tinjauan farmakologis. Surakarta: Muhammadiyah University Press. 2016.
5. Soenanto H, Kuncoro S. Obat tradisional untuk pasangan suami istri mengatasi gangguan kesuburan, keputihan, impotensi, dan ejakulasi dini. Jakarta: Elex Media Komputindo; 2009.
6. Kementrian Kesehatan RI. 100 Top Tanaman Obat Indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI – Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional; 2011.
7. Azter AA. Uji Efek Ekstrak Etanol Herba Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Kafeina. [Skripsi]. Jakarta: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah Jakarta. 2009.
8. Muttaqin, Addin Najmal. Pengaruh Perasan Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap Daya Ingat Mencit (*Mus musculus*) Galur Balb C Jantan. [Skripsi]. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang.2009.
9. Listyowati Y, Nurkhasanah. Efek sitotoksik dan pemancahan apoptosis fraksi petroleum eter ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* Linn) terhadap sel hela. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan. 2013.
10. Lisdawati V, Wiryowidago S, Kardono SB. Brine lethallity Test (BSLT) dari berbagai fraksi ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Bul. Penel. Kesehatan. 2006;34:111-18
11. Hutapea JR. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2000
12. Dalimarta S. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3. Jakarta: Puspa Swara; 2007.

13. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia Edisi V. Jakarta: Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan; 2014. hal. 47.
14. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; 2000.
15. Yuliani S, Satuhu S. Panduan Lengkap Minyak Atsiri. Jakarta: Penebar Swadaya; 2012.
16. Kelompok Kerja Ilmiah. Penapisan farmakologi, pengujian fitokimia dan pengujian klinik. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica; 1993.
17. Wahjoedi B, Sulaksono E. Laboratorium farmakologi bagaimana memperoleh hewan percobaan. Bandung: Institute Teknologi Bandung; 1996.
18. Ariens EJ, Mutschler E, Simonis AM. Toksikologi Umum Pengantar. Yogyakarta: Gajah Mada University Press; 1986.
19. Lu FC. Toksikologi Dasar Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko. Jakarta: UI-Press; 1995.
20. Gunawan SG. Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Jakarta: Departemen farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedkteran – Universitas Indonesia; 2007
21. Eaton DL, Gilbert GS. Principles of Toxicology. In: Klaassen CD, Editor. Casarett and Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons. Seventh Edition. New York: McGraw-Hill Companies Inc.; 2008.
22. Wirasuta IM, Niruri R. Buku Ajar Toksikologi Umum. Bali: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana; 2007.
23. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara in vivo. Jakarta; 2014
24. Loomis TA. Essential of Toxicology, 3rd edition. Philadelphia: Lea & Febriger; 1978.
25. Organization for Economic Co-operation Development (OECD). In: OECD Guidline for Testing of Chemicals. Test No. 423: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. Paris; 2001.

26. United Nations. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Seventh revised edition. New York and Geneva; 2017
27. Departemen Kesehatan RI. Materia Medika Indonesia Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan. 1995.
28. Mahidah, Ratningsih N, Malini DM, Faiza AH, Iskandar J. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol (*Archidendron pauciflorium*) terhadap Tikus Wistar Betina. Bandung: Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran. 2017
29. Utomo AW. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Alkohol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) Pada Tikus Wistar. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2008

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Tapak liman



Senyawa Saponin



Senyawa Tanin



Senyawa Alkaloid



Senyawa Flavonoid

Lampiran 2 Ekstrak Kental

Lampiran 3 Hasil Uji Kadar Air



Uji Kadar Air Percobaan 1



Uji Kadar Air Percobaan 2

Lampiran 4 Hewan Percobaan dan Pembedahan

Lampiran 5 Pengamatan Organ Mencit Secara Makroskopis**1. Dosis 300 mg/KgBB**

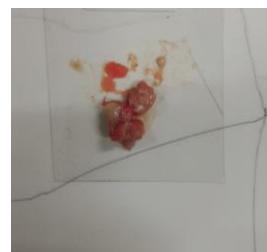
Hati



Tiroid



Limfa



Otak



Paru-paru



Jantung

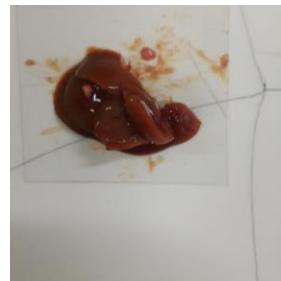


Ginjal



Ovarium

2. Dosis 2000 mg/KgBB



Hati



Tiroid



Limfa



Otak



Paru - paru



Jantung

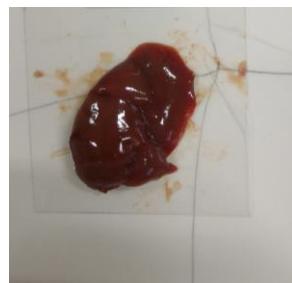


Ginjal



Ovarium

3. Kontrol



Hati



Tiroid



Limfa



Otak



Paru-paru



Jantung



Ovarium



Ginjal

Lampiran 6 Analisis data Berat Badan

1. Uji Normalitas Berat badan menggunakan uji Kolomogorov smirnov

	Perlakuan	Statisti			Statisti		
		c	df	Sig.	c	df	Sig.
Berat	uji 300 mg/KgBB	,151	14	,200*	,952	14	,595
Badan	(1) mencit 1						
	uji 300 mg/KgBB	,179	14	,200*	,927	14	,275
	(1) mencit 2						
	uji 300 mg/KgBB	,102	14	,200*	,977	14	,956
	(1) mencit 3						
	Tragakan 1% (1)	,239	4	.	,939	4	,650
	mencit 4						
	Tragakan 1% (1)	,069	14	,200*	,985	14	,994
	mencit 5						
	Tragakan 1% (1)	,090	14	,200*	,974	14	,924
	mencit 6						
	uji 300 mg/KgBB	,218	14	,071	,845	14	,019
	(2) mencit 7						
	uji 300 mg/KgBB	,144	14	,200*	,957	14	,681
	(2) mencit 8						
	uji 300 mg/KgBB	,138	14	,200*	,952	14	,596
	(2) mencit 9						
	uji 2000 mg/KgBB	,102	14	,200*	,975	14	,932
	(1) mencit 10						
	uji 2000 mg/KgBB	,160	14	,200*	,963	14	,776
	(1) mencit 11						
	uji 2000 mg/KgBB	,163	14	,200*	,912	14	,169
	(1) mencit 12						
	Tragakan 1% (2)	,134	14	,200*	,951	14	,582
	mencit 13						
	Tragakan 1% (2)	,130	14	,200*	,944	14	,470
	mencit 14						
	Tragakan 1% (2)	,145	14	,200*	,954	14	,631
	mencit 15						

uji 2000 mg/KgBB (2) mencit 16	,166	14	,200*	,924	14	,254
uji 2000 mg/KgBB (2) mencit 17	,151	14	,200*	,940	14	,418
uji 2000 mg/KgBB (2) mencit 18	,127	14	,200*	,956	14	,655

Data berat badan dianalisis menggunakan uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov karena sampel yang lebih dari 50. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak dan sebagai syarat apakah dapat dilakukan uji parametrik atau uji nonparametrik, apabila data tersebut terdistribusi normal akan menunjukkan nilai ($p>0,05$) jika tidak maka akan menunjukkan nilai ($p<0,05$).

2. Uji Homogenitas Berat badan menggunakan uji Levene Test

Test of Homogeneity of Variances

		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
Berat	Based on Mean	6,191	17	224	,000
Badan	Based on Median	5,210	17	224	,000
	Based on Median and with adjusted df	5,210	17	69,01	,000
	Based on trimmed mean	6,048	17	224	,000

Setelah itu dilakukan uji homogenitas dengan uji levene test untuk mengetahui apakah data tersebut homogen atau tidak dan sebagai syarat apakah dapat dilakukan uji parametrik atau uji nonparametrik. Dikatakan homogen apabila nilai menunjukkan ($p>0,05$) dan dikatakan tidak homogen apabila menunjukkan nilai ($p<0,05$)

3. Uji Nonparametrik Berat badan menggunakan uji Kruskall Wallis

Test Statistics^{a,b}

Berat Badan	
Kruskal-Wallis H	67,473
df	5
Asymp. Sig.	,000

Setelah dilakukan uji Normalitas dan uji Homogenitas maka, uji selanjutnya adalah uji nonparametrik *Kruskall wallis* karena data tersebut tidak homogen. Uji nonparametrik *Kruskall wallis* dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara zat uji dengan kontrol. Jika didalam data tersebut terdapat perbedaan maka nilai menunjukkan ($p<0,05$)

Lampiran 7 Analisis data Berat Organ

1. Uji Normalitas Berat organ menggunakan uji Kolomogorov smirnov

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Organ	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat Organ	Paru Paru	,130	18	,200*	,947	18	,376
	ginjal	,132	18	,200*	,940	18	,291
	limpa	,148	18	,200*	,952	18	,463
	jantung	,135	18	,200*	,959	18	,584
	hati	,123	18	,200*	,977	18	,910
	tiroid	,225	18	,016	,795	18	,001
	otak	,129	18	,200*	,963	18	,658
	ovarium	,107	18	,200*	,966	18	,718

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

a. Lilliefors Significance Correction

Data berat organ dianalisis menggunakan uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov karena sampel yang lebih dari 50. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak dan sebagai syarat apakah dapat dilakukan uji parametrik atau uji nonparametrik, apabila data tersebut terdistribusi normal akan menunjukkan nilai ($p>0,05$) jika tidak maka akan menunjukkan nilai ($p<0,05$).

2. Uji Nonspesifik Berat organ menggunakan uji Kruskall wallis

Test Statistics ^{a,b}		Test Statistics ^{a,b}	
Berat Badan		Berat Badan	
Kruskal-Wallis H	11,286	Kruskal-Wallis H	2,069
df	5	df	5
Asymp. Sig.	,046	Asymp. Sig.	,840

Uji Nonparametrik Otak

Test Statistics ^{a,b}		Test Statistics ^{a,b}	
Berat Badan		Berat Badan	
Kruskal-Wallis H	4,266	Kruskal-Wallis H	4,152
df	5	df	5
Asymp. Sig.	,512	Asymp. Sig.	,528

Uji Nonparametrik Ginjal

Uji Nonparametrik Limpa

Test Statistics^{a,b}

Berat Badan	
Kruskal-Wallis H	5,982
df	5
Asymp. Sig.	,308

Uji Nonparametrik Jantung

Test Statistics^{a,b}

Berat Badan	
Kruskal-Wallis H	5,982
df	5
Asymp. Sig.	,308

Uji Nonparametrik Hati

Test Statistics^{a,b}

Berat Badan	
Kruskal-Wallis H	3,452
df	5
Asymp. Sig.	,631

Uji Nonparametrik Tiroid

Test Statistics^{a,b}

Berat Badan	
Kruskal-Wallis H	1,733
df	5
Asymp. Sig.	,885

Uji Nonparametrik Ovarium

Setelah dilakukan uji Normalitas dan uji Homogenitas maka, uji selanjutnya adalah uji nonparametrik *Kruskall wallis* karena data tersebut tidak terdistribusi normal. Uji nonparametrik *Kruskall wallis* dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara zat uji dengan kontrol. Jika didalam data tersebut terdapat perbedaan maka nilai menujukkan ($p<0,05$) dan apabila tidak menujukkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$)

Lampiran 8 Surat Determinasi



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) PUSAT PENELITIAN BIOLOGI (RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website : www.biologi.lipi.go.id



Nomor : 568/IPH.1.01/If.07/II/2019
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Cibinong, 21 Februari 2019

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Satria Berlian Saputra**
NIM : P23139016084
Mhs. Politeknik Kesehatan Jakarta II
Jurusan Farmasi
Jl. Percetakan Negara No 23
Jakarta Pusat - 10560

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Tapak Liman	<i>Elephantopus scaber</i> L.	Compositae/Asteraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.



Lampiran 9 Surat Persetujuan Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
KEMENTERIAN KESEHATAN RI**
**BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN**
POLITEKNIK KESEHATAN JAKARTA II

Jl. Hang Jebat III/F3 Kebayoran Baru Jakarta Selatan 12120 Telp. 021.7397641, 7397643 Fax. 021-7397769
Website : www.poltekkesjkt2.ac.id Email: info@poltekkesjkt2.ac.id dan poltekkes_jakarta2@yahoo.com



Surat Persetujuan Etik (*Ethical Approval*)

Untuk Penelitian Kesehatan Yang Menggunakan Hewan Coba sebagai Subjek Penelitian

Persetujuan Etik (Ethical Approval)

LB.02.01/I/KE/39/ 232 /2019

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Jakarta II (KEPK-PKJ II), setelah dilaksanakan penelaahan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

"Uji Toksitas Akut Ekstra Etanol Herba Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap Mencit Putih Betina Galur DDY Menggunakan Metode Organization For Economic Cooperation And Development (OECD) Guideline"

Yang Menggunakan Hewan Coba sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana/Peneliti Utama :

Satria Berlian Saputra

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol.

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Jakarta II (KEPK-PKJ II). Jika ada perubahan protokol dan atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 10 April 2019

Jakarta, 10 April 2015
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Poltekkes Kemenkes Jakarta II

an Ketua,

Sekretaris

an Ketua,
Sekretaris

KOMISI ETIK PENELITIAN
KESEHATAN DI TERKES
KEMENKES JAKARTA
LEPKES 021

Khairi Anwar, S.Pd, M.Kes
NIP 036802181990031004

11-11-1977 S. Rd. M. Kes

Khairi Anwar, S.Pd, M.Kes
NIP. 306803181990031004

TembusanYth.:
1. Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Jakarta II

