

Laporan Penelitian
**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
PLETEKAN (*Reullia tuberosa* Linn) TERHADAP KADAR MDA DAN SOD
GINJAL TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI CCl₄**

Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Vivi Anggia
0313028702



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2020**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas adalah suatu atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri, mempunyai elektron satu atau lebih yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Priyanto 2015). Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA (Winarsi 2011). Stres oksidatif merupakan keadaan saat jumlah molekul radikal bebas tidak seimbang dengan jumlah antioksidan didalam tubuh (Sayuti 2015). Radikal bebas yang tidak dinetralisir dapat menimbulkan kerusakan pada sel atau komponen sel dan telah diyakini sebagai penyebab timbulnya berbagai penyakit seperti kanker, diabetes melitus (DM), aterosklerosis, ulkus peptikum, alzheimer, rematik, paru menahun dan beberapa penyakit degeneratif (Priyanto 2009). Karenanya, dibutuhkan strategi dalam usaha untuk mencegah kerusakan seluler akibat stress oksidatif. Salah satu strategi yang bisa dilakukan adalah konsumsi antioksidan untuk melawan radikal bebas penyebab stress oksidatif (Aldini *et al.* 2010)

Malondialdehid (MDA) merupakan produk akhir peroksidasi lipid oleh aktivitas senyawa radikal bebas melalui inisiasi asam lemak tak jenuh, dan sering digunakan sebagai biomarker terjadinya stres oksidatif. Kenaikan peroksidasi lipid merupakan indikasi penurunan mekanisme pertahanan antioksidan enzimatis dan non enzimatis (Tiwari *et al.* 2013). *Superoxide Dismutase* (SOD) memiliki peran sebagai antioksidan endogen untuk menangkal radikal bebas dengan cara mempercepat dismutasi O_2^- dan menjaga keseimbangan antara O_2^- dan pembentukan H_2O_2 (Priyanto 2015).

Antioksidan adalah zat yang memperlambat atau menghambat stress oksidatif pada molekul target. Antioksidan melindungi molekul target antara lain dengan cara menangkap radikal bebas menggunakan protein, mengurangi pembentukan radikal bebas dengan merubahnya menjadi radikal bebas yang kurang aktif, mengikat ion logam yang dapat menyebabkan timbulnya radikal bebas, melindungi komponen sel utama yang menjadi sasaran radikal bebas, memperbaiki target organ dari radikal bebas yang telah rusak, menggantikan sel yang rusak dengan sel baru

(Priyanto 2015). Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan salah satu senyawa model hepatotoksin dan nefrotoksin (Hendra 2014). Senyawa radikal ini dapat menyebabkan terjadinya nefrotoksisitas. Gagal ginjal akut yang berhubungan dengan keracunan yang berhubungan oleh CCl_4 dapat menyebabkan penurunan kerja ginjal melalui sindrom hepatorenal tetapi secara langsung dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada tubulus kontortus ginjal dan pada lengkung henle (Goldfrank *et al.* dalam Irene 2013).

Ginjal merupakan organ yang kompak, terikat pada dinding dorsal dan terletak retroperitoneal (Santoso *et al.* 2006) ginjal normal mempunyai 3 fungsi pokok yaitu : filtrasi glomerulus oleh glomerulus, reabsorpsi oleh tubulus dan sekresi tubular oleh tubulus (Soewolo 2005). Ginjal menghasilkan urin yang merupakan jalur utama ekskresi toksikan. Ginjal merupakan volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, dan membawa toksikan melalui sel tubulus, serta mengaktifkan toksikan tertentu. Akibatnya ginjal merupakan organ sasaran utama efek toksik (Santoso *et al.* 2006).

Sampai saat ini masih banyak masyarakat Indonesia yang memanfaatkan tanaman sebagai obat untuk mengatasi penyakit. Untuk meningkatkan kesehatan, Banyak sekali tanaman obat tradisional yang tersebar diberbagai wilayah Indonesia. Salah satu tanaman obat yang banyak ditemukan di Indonesia yaitu *Ruellia tuberosa* Linn. mengandung steroid, triterpenoid, alkaloid dan flavonoid (Chothani, *et al.* 2011). Daun pletekan secara turun temurun dipercaya dapat dimanfaatkan sebagai obat kencing batu (Hariana 2013). Secara eksperimen *Ruellia tuberosa* Linn terbukti memiliki efek antioksidan, antimikroba, antikanker, aktivitas gastroprotektif, antinoseptif, aktivitas antiinflamasi dan juga berfungsi sebagai obat pada pengobatan sifilis, bronchitis, kanker, penyakit jantung, pilek, demam, hipertensi, dan masalah pencernaan (Chothani *et al.*, 2011; Rajan *et al.*, 2012). Secara *in vitro* daun pletekan telah diteliti dengan metode DPPH membuktikan bahwa daun pletekan memiliki daya antioksidan dengan nilai IC_{50} pada pelarut n-butanol 7,42 $\mu\text{g/ml}$ (Ahmad dkk 2012). Selain itu aktifitas antioksidan juga telah diuji dengan metode FTC dan aktifitas tertinggi adalah dimana aktivitas antioksidan didasarkan pada hambatan terhadap peroksidasi lemak. Nilai IC_{50} konsentrasi 125 ppm sebesar 51,7861% (Mentari 2018). Ekstrak etanol 70 % daun pletekan dengan uji fosfomolibdat diperoleh hasil pada konsentrasi 90 ppm mempunyai aktivitas antioksidan sebesar 151,10 mgQE/g (Inas dkk. 2018)

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian antioksidan dengan ekstrak etanol 70% daun pletekan dengan menggunakan parameter mengukur kadar MDA dan SOD pada ginjal tikus jantan yang diinduksi CCl₄ yang mengalami stres oksidatif. Pemberian ekstrak etanol 70% daun pletekan pada ginjal tikus diharapkan dapat menghambat dan mencegah kerusakan sel organ yang diakibatkan oleh radikal bebas ditandai dengan mencegah peningkatan kadar MDA dan penurunan SOD pada ginjal tikus putih jantan yang diinduksi CCl₄.

B. Permasalahan Penelitian

Apakah ekstrak etanol 70% daun Pletekan (*Reullia tuberosa* Linn) memiliki aktivitas antioksidan dalam mencegah peningkatan kadar MDA dan mencegah penurunan aktivitas SOD pada ginjal tikus putih jantan yang diinduksi CCl₄?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui ekstrak etanol 70% Daun Pletekan (*Reullia tuberosa* Linn) memiliki aktivitas antioksidan dalam mencegah peningkatan kadar MDA dan mencegah penurunan aktivitas SOD pada ginjal tikus putih jantan yang diinduksi CCl₄.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 70% Daun Pletekan (*Reullia tuberosa* Linn) dalam mencegah peningkatan kadar MDA dan mencegah penurunan aktivitas SOD pada ginjal tikus putih jantan yang diinduksi CCl₄.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Deskripsi Daun Pletekan

a. Klasifikasi Tumbuhan (Depkes 1997)

Berdasarkan ilmu taksonomi, klasifikasi tanaman daun pletekan (*Ruellia tuberosa* Linn.) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: Ruellia
Jenis	: <i>Ruellia tuberosa</i> Linn



Gambar 1 (Referensi dokumen pribadi)

b. Morfologi Tumbuhan

Tanaman pletekan memiliki habitus terna, semusim dan tinggi 0,4-0,9 m. Batangnya tegak, pangkal sedikit berbaring, bersegi, berwarna hijau. Daunnya tunggal, bersilang berhadapan, berbentuk solet, ujungnya membulat, pangkal runcing, tepi begerigi, memiliki panjang 6-18 cm, lebar 3-9 cm, licin, pertulangan menyirip dan berwarna hijau. Majemuk, bentuk payung, diketiak daun, terdiri 1-15 bunga dengan kelopak 2-3 cm, benang sari melekat pada tabung mahkota berjumlah 4, dasar mahkota membentuk tabung, ujung berlekuk 5, panjang 3,5 – 5 cm, berwarna ungu. Buah kotak, lonjong, kering, berbiji banyak, panjang 2-3 cm, membuka dengan 2 katup. Biji tiapa ruang 2-20. Berasal dari Amerika tropis; 1-1000 m. Tepi jalan, pematang, semak-semak. (Depkes 1997).

c. Kandungan Daun Pletekan

(*Ruellia tuberosa* Linn) dilaporkan mengandung flavonoid, steroid, triterpenoid, dan alkaloid. Terdapat lima jenis flavonoid yang terdapat pada tanaman *Ruellia tuberosa* diantaranya kirsimartin, kirsimarin, kirsilol 4'-glukosida, sorbifolin, dan pedalitin (Chothani *et al* 2011). Senyawa yang terdapat dalam daun pletekan yaitu: flavonoid, alkaloid, polifenol, tannin, triterpenoid, kuinon, monoterpen, dan seskuiterpenoid (Ayu dkk. 2014).

d. Khasiat Daun Pletekan

Ruellia terbukti memiliki efek antioksidan, antimikroba, antikanker, aktivitas antiinflamasi, dan daun pletekan juga berfungsi sebagai obat pada pengobatan sifilis, kencing batu, bronchitis, kanker, penyakit jantung, pilek, demam, hipertensi, dan masalah pencernaan (Chothani *et al* 2010). *Ruellia tuberosa* Linn. dikenal memiliki berbagai khasiat diantaranya untuk kencing batu, antihiperlipidemia, antioksidan dan antidiabetes (Shawar 2011).

2. Ginjal

Ginjal mempunyai bagian fungsional yang disebut nepron yang terdiri dari glomerulus, tubulus proksimal, lengkung henle dan tubulus distal serta kandung kemi. Fungsi ginjal antara lain alat ekskresi, mengatur jumlah cairan tubuh dan tekanan darah. Fungsi-fungsi tersebut dilakukan melalui proses filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus dan sekresi tubulus serta melalui sistem rennin-angiotensin. Selain zat-zat diatas, masih terdapat zat yang menyebabkan obstruksi ginjal, jika zat tersebut terkonsentrasi di cairan tubulus melampaui kelarutannya sehingga terbentuk kristal. Metotreksak dan sulfonamid menyebabkan neprotoksik melalui mekanisme ini. Asam oksalat yang antara lain berasal dari metabolit etilenglikol dapat berubah menjadi Ca-oksalat yang tidak larut dalam tubulus juga dapat menyebabkan neprotoksik. Oksalat juga dapat ditemukan dalam berbagai tanaman seperti kelembak yang kemungkinan juga dapat menyebabkan neprotoksik (Priyanto 2015).

3. Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan cair, kental atau kering merupakan hasil proses ekstraksi atau penyarian suatu matriks atau simplisia menurut cara yang sesuai (Hanani 2015). Ekstraksi atau penyarian merupakan proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Peran ekstraksi

dalam analisis fitokimia sangat penting karena sejak tahap awal hingga akhir menggunakan ekstraksi, termasuk fraksinasi dan pemurnian. Tujuan ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Ada berbagai cara ekstraksi yang telah diketahui. Masing-masing cara tersebut memiliki kelebihan dan kekurangannya. Pemilihan metode dilakukan dengan memperhatikan antara lain sifat senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat tersedia. Struktur untuk setiap senyawa, suhu dan tekanan merupakan faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi. (Hanani 2015).

4. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan peyarian maserat pertama dan seterusnya. (Dirjen POM Depkes RI 2000)

5. Antioksidan

Antioksidan adalah molekul yang berkemampuan memperlambat ataupun mencegah oksidasi molekul lain. Oksidasi merupakan suatu reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu zat ke oksidator. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi rantai, menyebabkan kerusakan sel tubuh. Antioksidan menghentikan reaksi berantai dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi lainnya dengan sendirinya teroksidasi. Secara alami, zat ini sangat besar peranannya pada manusia untuk mencegah terjadinya penyakit. Antioksidan digolongkan menjadi antioksidan enzimatis (intraseluler) dan non enzimatis (ekstraseluler). Antioksidan enzimatis terdiri dari tiga macam, antara lain superoxide dismutase, glutathione peroxidase, dan katalase (Priyanto 2015).

6. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri, mempunyai elektron satu atau lebih yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Priyanto 2009). Senyawa tersebut menyerang komponen seluler seperti lipid, lipoprotein, karbohidrat RNA dan DNA. Stres oksidatif merupakan keadaan jumlah molekul radikal bebas tidak seimbang dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh (Sayuti 2015).

7. Superoxide dismutase (SOD)

Superoxide dismutase merupakan salah satu antioksidan endogen yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas dengan cara mempercepat dismutasi O_2^* - dan menjaga keseimbangan antara jumlah O_2^* - dan pembentukan (Priyanto 2009). Ada tiga jenis SOD yang diketahui, dua diantaranya terdapat pada manusia, yaitu CuZnSOD dan Mn-SOD, sedangkan Fe-SOD tidak terdapat pada manusia. CuZnSOD terdapat di retikulum endoplasma, nukleus dan peroksisom sedangkan Mn-SOD terdapat di mitokondria. Logam Cu^+ sebagai katalisator sedangkan Zn^{++} diperlukan sebagai stabilisator enzim. Fungsi SOD untuk mempercepat dismutasi O_2^* - dan menjaga keseimbangan antara jumlah O_2^* - dan pembentukan H_2O_2 . SOD kurang atau berlebihan akan mengganggu keseimbangan yang berakibat tidak baik. Jika SOD terlalu banyak, H_2O_2 yang terbentuk dapat terlalu cepat dibandingkan peruraian oleh katalase atau peroksidase yang potensial menghasilkan radikal OH^* , begitu juga kalau kekurangan. Kekurangan SOD akan terjadi akumulasi O_2^* yang dapat mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} , adanya ion ini akan memacu reaksi Fenton. (Priyanto 2015).

8. Malondialdehyde (MDA)

Senyawa *malondialdehida* (MDA) merupakan indikator adanya stres oksidatif di dalam tubuh. MDA adalah produk sekunder dari proses peroksidasi lipid di membran sel, yang bersifat sangat reaktif terhadap molekul non radikal, sehingga mampu mengoksidasi elektron dari molekul lain. Hal inilah yang menyebabkan MDA toksik terhadap molekul non radikal lain, terutama terhadap protein dan Deoxyribosa nucleic acid (DNA) (Suarsana 2013). Malondialdehid adalah produk akhir yang terbentuk dari peroksidasi lipid senyawa radikal yang menyerang membran lipid mengandung asam lemak tak jenuh majemuk yang sedikitnya mempunyai tiga ikatan rangkap (Muchtadi 2013). Bersifat lebih mutagenik dibanding aldehid lainnya. Sifat MDA yang lebih stabil secara kimiawi membuat senyawa ini lebih sering digunakan sebagai penanda stres oksidatif dibanding dengan 4- HNE (Ayala *et al.* 2014).

9. Karbon Tetraklorida (CCl_4)

Karbon tetraklorida merupakan xenobiotik yang lazim digunakan untuk menginduksi peroksida lipid dan keracunan. Senyawa CCl_4 termasuk hidrokarbon alifatik tidak berwarna, tidak larut dalam air, tidak mudah terbakar, mudah menguap dan berbau tajam seperti eter. Efek jangka pendek dan jangka panjang

akan menyebabkan kerusakan otak, hati, jantung, ginjal, paru dan beberapa kasus dapat menyebabkan kematian. Toksisitas CCl_4 tidak disebabkan oleh molekul CCl_4 itu sendiri, tetapi adanya konversi molekul CCl_4 menjadi radikal bebas CCl_3^\cdot oleh enzim sitokrom P450, radikal bebas CCl_3^\cdot akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal triklorometil peroksida yang sangat reaktif, radikal bebas tersebut akan bereaksi dengan asam lemak tak jenuh ganda yang merupakan komponen penting dari membran sel yang akan menghasilkan peroksidasi lipid yang selanjutnya mengubah struktur dan membran sel. Permeabilitas membran sel akan meningkat yang selanjutnya diikuti dengan influks masif kalsium dan adanya kematian sel (Yuslianti 2018).

10. Kurkumin

Kapsul curcuma merupakan salah satu produksi Industri PT. SidoMuncul yang mengandung serbuk dari kunyit. Kunyit memiliki zat aktif kurkumin yang berkhasiat sebagai antioksidan. Kurkumin dapat berkhasiat sebagai antioksidan karena senyawa tersebut mempunyai gugus fenolik yang merupakan gugus penting sebagai zat antioksidan (Tristanti dkk 2013) Tablet curcuma dengan dosis 200 mg/kg BB dapat menurunkan kadar MDA secara signifikan dan meningkatkan aktivitas enzim SOD (Widyaningsih dkk. 2015).

11. Tikus

Menurut Armitage (2004), tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan percobaan di laboratorium. *Rattus norvegicus* telah diketahui sifat-sifatnya secara baik, mudah dipelihara dan merupakan hewan yang adaptif serta cocok untuk berbagai penelitian. Berikut klasifikasi tikus yang digunakan dalam penelitian yaitu:

Kingdom : Animalia
Divisi : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*

B. Kerangka Berfikir

Karbon tetraklorida merupakan senyawa toksik sumber radikal bebas penyebab timbulnya stress oksidatif (Yuslianti 2018). Gagal ginjal akut yang berhubungan dengan keracunan yang berhubungan oleh CCl₄ dapat menyebabkan penurunan kerja ginjal melalui sindrom hepatorenal tetapi secara langsung dapat menyebabkan terjadinya nekrosis pada tubulus kontortus ginjal dan pada lengkung henle (Goldfrank *et al.* dalam Irene 2013). Mengonsumsi antioksidan eksogen adalah salah cara untuk mengendalikan terjadinya stres oksidatif yang diakibatkan dari radikal bebas yang diberikan yang berlebihan. Salah satu sumber antioksidan eksogen adalah daun pletekan

Penelitian sebelumnya ekstrak etanol 70 % daun pletekan dengan metode *Ferric Thiocynate* (FTC) menggambarkan aktivitas hambatan terhadap peroksidasi lemak didapatkan pada konsentrasi 125 ppm sebesar 51,786 %. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol 70% Daun Pletekan (*Reullia tuberosa* Linn) sebagai antioksidan dengan parameter kadar MDA dan aktivitas enzim SOD pada ginjal tikus yang diinduksi CCl₄.

C. Hipotesis

Ekstrak etanol 70% daun Pletekan (*Reullia tuberosa* Linn) dapat beraktivitas sebagai antioksidan dalam mencegah peningkatan kadar MDA dan mencegah penurunan aktivitas SOD pada ginjal tikus, yang diinduksi dengan CCl₄.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Fitokimia, Laboratorium Hewan, Laboratorium Farmakologi serta Laboratorium Kimia Terpadu Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan agustus sampai januari 2020.

B. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan hewan, kandang hewan, wadah tempat hewan, sarung tangan, spuit, alat bedah hewan, *rotary evaporator*, sonde, *spuit*, *microtube*, *microplate reader*, *beaker glass*, statif, mikro pipet, spektrofotometer uv-vis, *vortex*, penangas air, lemari pendingin, pipet tetes, kuvet, alat-alat gelas, desikator, tanur, kapas steril, tip, *microcentrifuge*, *waterbath*, labu ukur, cawan, botol timbang, krus, tang krus desikator,, ayakan, *hot plate*, tabung reaksi, *mortir*, dan *stemper*, thermometer, timbangan analitik, serta alat gelas yang digunakan di dalam laboratorium

2. Bahan Penelitian

a. Bahan Uji

Bahan yang digunakan adalah tanaman daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* Linn) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) Bogor dan determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi, LIPI Bogor.

b. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%, asamtrikloroasetat (TCA), triethyl fosfat (*TEP*), karbon tetraklorida (CCl_4), asam thiobartbiturat (TBA) 0,67%, NaCl 0,9%, , dapar fosfat pH 7,4, minyak zaitun, HCl 0,01%, kloroform, Lieberman Buchard, gelatin, kurkuma, pereaksi *Bouchardat*, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Meyer*, HCl (p), HCl 2N, Mg, FeCl_3 , AlCl_3 , asam asetat anhidrat, Na-CMC 0,5%. NaOH, H_2SO_4 , bahan pembanding Curcuma FCT tablet (Soho), pirogalol, dapar Tris-HCl (mengandung EDTA). K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl 0,1N, KCl, ketamin.

c. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada percobaan ini adalah tikus jantan putih (*Rattus norvegicus*) yang berumur 2-3 bulan dengan bobot \pm 200-300 gram sebanyak 24 ekor.

d. Sediaan Pembanding

Sediaan pembanding yang digunakan adalah tablet Curcuma FTC yang diproduksi oleh PT. SOHO.

C. Prosedur Penelitian

1. Determinasi

a. Pengambilan Simplisia

Bahan yang digunakan adalah tanaman daun Pletekan (*Reullia tuberosa L.*) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) Bogor dan dideterminasi terlebih dahulu di bagian Herbarium Bogoriense Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi – LIPI Bogor.

b. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun pletekan dilakukan untuk mengidentifikasi jenis dan memastikan kebenaran simplisia yang akan digunakan. Determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi, LIPI Bogor.

2. Persiapan Bahan Uji

a. Pengumpulan Bahan dan Penyerbukkan Bahan Uji

Daun segar dibersihkan dari kotoran yang melekat dan dicuci dengan air mengalir sampai bersih, ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan diangin-anginkan diruangan tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah kering dihaluskan sampai menjadi serbuk simplisia dengan bantuan penggiling dan diayak menggunakan pengayak dengan no mesh 40, kemudian timbang dan catat hasilnya (Depkes RI 2008).

b. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan

Serbuk daun pletekan diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan cara memasukkan satu bagian serbuk ke dalam wadah dan ditambahkan 10 bagian etanol 70%. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk perlahan, kemudian didiamkan selama 18 jam, letakan wadah ditempat yang sejuk dan terlindung dari cahaya. Setelah itu disaring dengan menggunakan kertas saring, kemudian diambil ampasnya untuk dimaserasi kembali dengan etanol 70% yang

diperlakukan dengan cara yang sama. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya dua kali. Maserat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian hasil yang diperoleh ditimbang dan dicatat yang kemudian dihitung rendemennya (Depkes 2011).

3. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Perhitungan rendemen dilakukan untuk menentukan kadar senyawa dalam simplisia. Rendemen ekstrak dihitung dengan cara menghitung jumlah ekstrak kental yang didapatkan kemudian dibagi dengan jumlah serbuk kering sebelum dilakukan proses ekstraksi, kemudian dikalikan 100% (Depkes 2008).

$$\text{Rendemen}(\%) = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

4. Uji Karakteristik

a. Uji Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik adalah pemeriksaan yang didasarkan pada bentuk, warna, bau, rasa. Bentuk dapat dikategorikan dalam padat, serbuk kering, kental maupun cair, warna yang ditimbulkan bisa beragam baik kuning, coklat maupun yang lainnya, bau yang ditimbulkan dapat dibedakan menjadi aromatik, tidak berbau dll, sementara rasa yang dihasilkan dapat dibedakan menjadi pahit, manis, kelat dll (Depkes 2000).

b. Penetapan Kadar Air

Masukan lebih kurang 10 gram ekstrak daun pletekan dan timbang saksama dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang (W_1). Lanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam (W_2), sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%.

Kandungan air dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar air} (\%) = \frac{(W_1 - W_2)}{(W_1 - W_0)} \times 100 \% \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan: W_0 = berat cawan kosong, W_1 = berat cawan + sampel (pengeringan pertama), W_2 = berat cawan + sampel (pengeringan kedua).

c. Penetapan kadar abu

Pengujian kadar abu dilakukan dengan menimbang seksama 2 gram bahan uji yang telah ditimbang, kemudian masukkan ke dalam cawan krus silikat yang telah dipijar dan ditara, lalu dipanaskan dengan alat tanur 600°C hingga arang habis,

dinginkan dalam dan ditimbang hingga memperoleh bobot konstan (Depkes RI 2008).

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{(W_1 - W_2)}{(W_1 - W_0)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan: W_0 = berat cawan krusibel kosong
 W_1 = berat cawan krusibel + sampel ekstrak
 W_2 = berat cawan krusibel + abu

5. Penapisan Fitokimia

Pengujian penapisan fitokimia ini dilakukan untuk melihat kandungan kimia dari ekstrak etanol 70% daun pletekan.

Tabel 1 Penapisan Fitokimia

Kandungan kimia	Cara Identifikasi	Hasil
Alkaloid	Sampel 0,5 g + 1 ml HCl 2N + 9 ml aquadest, panaskan lalu dinginkan, dan saring. Filtrat dibagi menjadi 4 tabung, tabung 1 sebagai blanko, tabung 2 tambahkan pereaksi Bouchardat 2 tetes., Tabung 3 tambahkan pereaksi Mayer 2 tetes, dan tabung 4 tambahkan pereaksi Dragendorff (Hanani, 2015).	Bouchardat: endapan coklat hitam Mayer: endapan putih Dragendorff: endapan merah atau jingga
Flavonoid	Sampel 0,5 g + 5 mL aquadest, diuapkan hingga kering + 2-3 tetes etanol + serbuk mg + 2 ml HCl pekat (Hanani, 2015).	Warna kuning/jingga/merah
Tanin	Sampel 0,5 g + 10 ml aquadest, didihkan (100°C) 5 menit, dinginkan lalu saring. Filtrat + gelatin 10% (Hanani, 2015).	Endapan putih
Saponin	Sampel 0,5 g + 10 ml aquadest panas kocok. Busa setinggi 1-10 cm (Hanani, 2015).	Tambahkan 1 tetes HCl, buih tidak hilang
Terpenoid	Ekstrak kental 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan etanol lalu uapkan. Kemudian tambahkan 5 mL asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄ pekat. (Depkes, 1995).	Warna ungu atau merah

6. Persiapan Hewan Uji

a. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Sparague dawley* berumur 2-3 bulan dengan berat badan sekitar 200-300 g, hewan yang digunakan sebanyak 24 ekor.

b. Aklimatisasi

Tikus yang akan digunakan dalam penelitian ini diaklimatisasi selama 7 hari di dalam kandang hewan, sehingga tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru serta di beri makan dan minum setiap hari.

c. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dihitung berdasarkan rumus *federer* maka:

$$(t-1) (n-1) \geq 15 \dots\dots\dots(4)$$

$$(6-1) (n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan: t = jumlah kelompok perlakuan

n= jumlah hewan tiap kelompok

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor tikus yang dibagi dalam 6 kelompok dengan masing-masing kelompok yaitu kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif, kelompok dosis I, kelompok dosis II dan kelompok dosis III. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus.

7. Perhitungan Dosis dan Konsentrasi

a. Dosis Ekstrak Etanol Daun Pletakan

Berdasarkan penelitian Rajan dkk (2012) tentang efektifitas daun pletakan sebagai antidiates, antihiperqlikemia dan hepatoprotektor pada tikus yang di induksi alloxan. Menunjukkan efek hepatoprotektor dengan parameter SGOT dan SGPT yang signifikan, terlihat pada pemberian dosis 200 mg/kg BB tikus. Adanya radikal bebas dalam ginjal dapat menyebabkan penurunan fungsi ginjal yang dapat dilihat dari kadar serum SGOT dan SGPT dan kreatinin sehingga dosis di atas dapat di jadikan sebagai acuan. Hasil dari dosis acuan ini dijadikan sebagai variasi dosis pada penelitian.

Untuk mengetahui dosis yang efektif dalam mencegah peningkatan kadar MDA dan mencegah penurunan aktivitas SOD ginjal tikus maka pada percobaan ini digunakan 3 dosis yang berbeda, yaitu:

$$\text{Dosis I} = \frac{1}{2} \times 200 \text{ mg/Kg BB} = 100 \text{ mg/Kg} = 20 \text{ mg/200g}$$

$$\text{Dosis II} = 1 \times 200 \text{ mg/Kg BB} = 200 \text{ mg/Kg} = 40 \text{ mg/200g}$$

$$\text{Dosis III} = 2 \times 200 \text{ mg/Kg BB} = 400 \text{ mg/Kg} = 80 \text{ mg/200g}$$

b. Penetapan Dosis Pembanding Kurkumin Sebagai Kontrol Positif

Dosis kurkumin yang digunakan pada kontrol positif sebagai pembanding karena memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini menggunakan Curcuma FCT. Dosis Curcuma FCT yang digunakan sebagai hepatoprotektor pada manusia adalah 20 mg sehari 3 tablet. Faktor konversi manusia (dengan berat badan \pm 60 kg) ke tikus (dengan berat badan tikus \pm 200 gram) adalah 37/6 (Shin *et al* 2010).

c. Penetapan Dosis Penginduksi CCl₄ Sebagai Kontrol Negatif

Pengenceran CCl₄ dibuat dengan mencampurkan 4 mL CCl₄ yang dicukupkan volumenya dengan *corn oil* hingga 20 mL (Rowe *et al.* 2009). Berdasarkan penelitian Fahmy *et al.* (2015) pemberian dosis CCl₄ sebanyak 0,5 mL/kg BB tikus dengan konsentrasi 20% v/v CCl₄ dalam minyak jagung yang diinduksi secara intraperitoneal

d. Penetapan Dosis Ketamin

Dosis ketamin secara intramuskular pada manusia adalah 6,5 mg/kgBB. Konversi dosis dari manusia ke tikus berdasarkan rumus FDA adalah 40,08 mg/KgBB (Shin *et al* 2010).

8. Pembuatan Sediaan Uji

a. Pembuatan Sediaan Suspensi 0,5%

Pembuatan sediaan suspensi Na-CMC dibuat dengan cara melarutkan lebih kurang 0,5g Na-CMC yang telah ditimbang kemudian ditaburkan diatas air panas sedikit demi sedikit kemudian diaduk sampai homogen dan di tambahkan hingga volume 100ml. Setelah 5 menit aduk kuat dalam lumpang sampai terbentuk suspensi yang homogen.

b. Pembuatan Sediaan Bahan Ekstrak Uji Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan

Bahan uji berupa ekstrak etanol 70% daun pletekan dibuat dengan 3 konsentrasi sesuai dosis yang diberikan.

1) Dosis I (20 mg/200g BB)

Ekstrak sebanyak 200 mg dilarutkan dengan suspensi Na-CMC 0,5% hingga 10 mL.

2) Dosis II (40 mg/200g BB)

Ekstrak sebanyak 400 mg dilarutkan dengan suspensi Na-CMC 0,5% hingga 10 mL.

3) Dosis III (80mg/200g BB)

Ekstrak sebanyak 800 mg dilarutkan dengan suspensi Na-CMC 0,5% hingga 10 mL.

Masukan masing-masing kedalam wadah kemudian disondekan kepada masing-masing kelompok dosis hewan uji secara peroral.

c. Pembuatan sediaan Pembanding Curcuma (Curcuma Rhizoma FCT 0,05%)

Dosis curcuma yang digunakan sebagai memelihara fungsi hati pada manusia mengandung 20 mg Curcuma Rhizoma dan dikonsumsi sehari 3 tablet. Cara pembuatan suspensi curcuma adalah empat tablet curcuma digerus dalam mortar sampai halus. Kemudian ditimbang sebanyak 1,2813 gram, kemudian masukkan tambahkan Na-CMC 0,5% ad 50 ml kocok ad homogen

d. Pembuatan larutan CCl₄

Larutan karbon tetraklorida (CCl₄) dilarutkan dalam minyak zaitun dalam beaker glass dengan perbandingan 1:1, sehingga diperoleh konsentrasi 10%. Proses untuk sterilisasi minyak zaitun yaitu dengan metode panas kering menggunakan oven dengan suhu 150°C selama 1 jam (Rowe *et al.* 2009).

e. Pembuatan larutan kerja

Tabel 2 Pembuatan Larutan Kerja

Sediaan larutan kerja	Cara Pembuatan
Asam tiobarbiturat (TBA 0,67%)	Timbang asam tiobarbiturat 0,67 g dan dilarutkan dalam 100ml aquadest panas. (Depkes RI 1979).
Asam trikloroasetat (TCA 20%)	Timbang asam trikloroasetat 20 g dan dilarutkan dalam 100ml aquadest. (Depkes RI 1979).
Pembuatan larutan standar tetraetoksipropan (TEP 50 nmol/μl, BM 220,3 konsentrasi 97%, BJ 0,919)	Sebanyak 1,25 μl tetraetoksipropan (TEP) dilarutkan dengan aquadest sampai 100 ml. (Depkes RI 1979).
Pembuatan larutan buffer fosfat (pH 7,4)	Timbanglah dikalium hidrogen fosfat (K ₂ HPO ₄) sebanyak 2,16 g, kalium dihidrogen fosfat (KH ₂ PO ₄) sebanyak 200 mg, natrium klorida (NaCl) sebanyak 8,0 g, kalium klorida (KCl) 0,2 g, kemudian dilarutkan dengan aquades sampai volume 1000 ml (widowati 2009).

9. Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus yang kemudian dibagi secara acak dalam enam kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor:

- kelompok I : kelompok kontrol normal yang diberi pakan dan Na-CMC 0,5% sebagai pembawanya.
- kelompok II : kelompok kontrol negatif yang diberi Na-CMC 0,5% selama 14 hari kemudian setelah hari ke-15 diberi CCl₄ dosis 1ml/kg BB tikus secara intraperitoneal.
- kelompok III :kelompok kontrol positif yang diberi sediaan pembanding kurkuma dosis 200mg/kg secara oral selama 14 hari kemudian setelah hari ke-15 diberi CCl₄ dosis 1ml/kg BB tikus secara intraperitoneal.
- kelompok IV : kelompok sediaan uji ekstrak etanol 70% daun pletekan dosis I/200 g BB tikus secara oral selama 14 hari kemudian setelah hari ke-15 diberi CCl₄ dosis 1ml/kg secara intraperitoneal.
- kelompok V : kelompok sediaan uji ekstrak etanol 70% daun pletekan dosis II/200 g BB tikus secara oral selama 14 hari kemudian setelah hari ke-15 diberi CCl₄ dosis 1ml/kg secara intraperitoneal.
- kelompok VI : kelompok sediaan uji ekstrak etanol 70% daun pletekan dosis III/200 g BB tikus secara oral selama 14 hari kemudian setelah hari ke-15 diberi CCl₄ dosis 1ml/kg secara intraperitoneal
- Pada hari ke-15 semua kelompok diinduksi karbon tetraklorida secara intraperitoneal. Lalu hewan uji dipuasakan semalaman selama 12 jam.
- Pada hari ke-16 Hewan uji diberikan ketamin selanjutnya, dislokasi tulang leher dan dilakukan inisiasi untuk melihat homogenat ginjal dan dilanjutkan untuk analisis kadar Malondialdehid (MDA) dan Superoxide dismutase (SOD).

Tabel 3 Pengelompokan dan Perlakuan hewan uji

Kelompok	Perlakuan
I (Kontrol normal)	Na CMC secara oral
II (Kontrol negatif)	Na CMC secara oral + CCl ₄ (i.p)
III(Kontrol positif)	Pembanding kurkuma + CCl ₄ (i.p)
IV (Dosis 100mg/Kg BB)	Ekstrak etanol 70% daun pletekan 1 secara oral + CCl ₄ (i.p)
V (Dosis 200mg/Kg BB)	Ekstrak etanol 70% daun pletekan 2 secara oral + CCl ₄ (i.p)
VI (Dosis 400mg/Kg BB)	Ekstrak etanol 70% daun pletekan 3 secara oral + CCl ₄ (i.p)

10. Proses Pengambilan Organ

a. Proses Pembedahan

Tikus dieuthanasi dengan diinjeksikan ketamin, lalu dislokasi leher kemudian diletakkan diatas papan bedah. Pembedahan dilakukan dibagian toraks (dada) untuk pengambilan organ tikus. Bagian dada tikus dibersihkan dengan kapas steril dan dibedah dengan menjepit di area kulit dada menggunakan pinset bergigi dan digunting. Kulit disayat dengan pisau bedah tajam mulai dari bagian bawah perut sampai rongga toraks terbuka dan diambil organ ginjal pada tikus. Bersihkan organ ginjal dengan NaCl 0,9%, kemudian organ ginjal tersebut disimpan dalam pot plastik yang berisi NaCl 0,9% dan disimpan dalam *freezer*.

b. Persiapan Sampel Organ Ginjal

Organ ginjal dicuci dengan fosfat pH 7,4 secukupnya dalam *beaker glass* 500 ml lalu timbang organ ginjal $\pm 0,50$ gram (sebelumnya serap larutan pencuci dengan *tissue*), kemudian ambil dapar fosfat sebanyak 5 kali volume berat ginjal, homogenisasi ginjal dalam mortar yang diletakkan dalam wadah berisi es dan tambahkan fosfat sedikit demi sedikit dalam mortar tersebut. Pipet homogenat ginjal dalam tabung reaksi 10 ml untuk pemeriksaan kadar MDA dan SOD.

11. Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan *thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assay*. MDA berdasarkan reaksi antara MDA dengan TBA membentuk kompleks ikatan TBA-MDA yang menghasilkan warna merah mudah hingga kemerahan dan selanjutnya diukur intensitasnya menggunakan spektrofotometer (Suarsana dkk. 2013). Tetraetoksipropan (TEP) digunakan sebagai standar dari pengukuran MDA. Bahan yang digunakan meliputi homogenat ginjal tikus, TCA 20%, TBA 0,67%.

a. Penentuan Panjang Gelombang MDA

Panjang gelombang serapan maksimum di tentukan menggunakan Tetraetoksipropan (TEP) pada konsentrasi 50 nmol/mL dengan cara mengencerkan 1,25 μ l TEP dalam aquades ad 100 mL lalu kocok (Baku Primer), setelah itu ambil kembali sebanyak 80 μ l dari larutan baku primer ad kan dengan 100 mL aquadest tambahkan TCA 0,5 mL dan TBA 1 mL baca pada panjang gelombang 400-800 nm (Nisma dkk. 2010) panjang gelombang yang didapat yaitu 532 nm.

b. Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan kurva standar digunakan larutan standar tetraetoksipropan (pengenceran 1/80.000 kali). Dari larutan tersebut diambil 30,50,70,90 dan 110 µL, masukkan ke masing-masing tabung reaksi. Tambahkan aquadest hingga 1 ml lalu kocok homogen, tambahkan 0,5 ml larutan TCA 20%, 1 ml larutan TBA 0,67% ke dalam masing-masing tabung tersebut, kocok sampai homogen. Larutan standar blanko masukkan 1 ml aquadest, 0,5 ml larutan TCA 20% dan 1 ml larutan TBA 0,67%, lalu kocok hingga homogen. Larutan standar blanko dibuat duplo. Semua tabung dimasukkan dalam penangas air 95-100°C selama 10 menit, kemudian dinginkan dengan air mengalir. Absorban diukur pada panjang gelombang 532 nm (Nisma dkk 2010). Dari data pengukuran tersebut dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai serapan sebagai koordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar (nmol/ml) sebagai absis (X) (Sunaryo *et al* 2015)

c. Pengukuran Kadar Sampel

- 1) Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 0,5 ml TCA 20% lalu *vortex* sampai homogen, setelah itu di *sentrifuge* pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit lalu diambil supernatannya
- 2) TBA 0,67% sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung, kemudian tabung tersebut dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 95-100°C selama 10 menit lalu didinginkan dengan air mengalir. Serapannya diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 531,5 nm (Nisma dkk. 2010).

Perhitungan kadar MDA:

$$Y = a + b X \dots\dots\dots(5)$$

Keterangan:

X = kadar MDA

Y = serapan sampel

12. Penentuan Aktivitas SOD

A. Penentuan Aktivitas SOD

Uji Aktivitas Superoksida Dismutase

Pengukuran aktivitas SOD menggunakan prinsip inhibisi autoksidasi pirogalol oleh SOD. Pirogalol mengalami autoksidasi yang melibatkan radikal superoksida ($\cdot O_2^-$) pada kondisi basa. Keberadaan SOD akan menghambat reaksi autoksidasi karena adanya dismutasi $\cdot O_2^-$. Satu unit aktivitas SOD didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghambat 50% autooksidasi

pirogalol dalam 3 ml campuran pereaksi (Nandi dan Chatterjee 1988). Nilai pH dapar yang digunakan saat pengukuran ditingkatkan menjadi 8.5 untuk meningkatkan sensitivitasnya (Nandi dan Chatterjee 1988).

1. Pembuatan Grafik Laju Autoksidasi Pirogalol

Sebanyak 200 µl pirogalol 10 mM dicampurkan dengan 2725 µl dapar Tris-HCl 50 mM (pH 8.5) yang mengandung 11 mM EDTA, kemudian ditambahkan 35 µl dapar fosfat sebagai blanko SOD ($\frac{\Delta abs}{menit}$ tanpa sampel). Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm setiap 20 detik selama 3 menit. Grafik laju autoksidasi pirogalol digunakan sebagai standar pada penentuan inhibisi autoksidasi pirogalol oleh SOD.

2. Analisis Aktivitas SOD pada ginjal

Sebanyak 200 µl pirogalol 10 mM dicampurkan dengan 2725 µl dapar Tris-HCl 50 mM (pH 8.5) yang mengandung 1 mM EDTA, kemudian dilakukan penambahan 35 µl supernatan ginjal. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm setiap 10 detik selama 3 menit. Penentuan besar inhibisi autooksidasi pirogalol oleh SOD ditentukan berdasarkan pengurangan luas bawah kurva autooksidasi pirogalol.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\frac{\Delta abs}{menit} \text{ tanpa sampel} - \frac{\Delta abs}{menit} \text{ dengan sampel}}{\frac{\Delta abs}{menit} \text{ tanpa sampel}} \times 100\% = a\% \dots\dots\dots(6)$$

D. Analisis Data

Data penurunan kadar MDA dan peningkatan aktivitas SOD yang diperoleh dilakukan uji kenormalan dan uji homogenitas, bila data sudah normal dan homogen maka analisa dilanjutkan dengan menggunakan metode analisis varian satu arah (ANOVA) untuk mengetahui adanya pengaruh dari perlakuan. Hasil pengujian ANOVA apabila menunjukkan adanya pengaruh perlakuan maka pengujian dilanjutkan dengan uji *Tukey* mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna dari masing-masing kelompok (Trihendradi 2004).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Daun Pletekan

Determinasi dilakukan untuk mendapatkan identitas yang benar dari tanaman yang diteliti, sehingga dapat memberikan kebenaran tanaman tersebut. Daun pletekan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) Bogor. Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di *Herbarium Bogoriense* Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong didapat tanaman dengan nama *Ruellia Tuberosa* Linn.

B. Hasil Ekstrasi Daun Pletekan

Hasil Ekstrasi daun pletekan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 4. Hasil Ekstrasi Daun Pletekan

No	Jenis	Hasil
1	Daun Pletekan Segar	5 kg
2	Daun Pletekan Kering	1,2 kg
3	Serbuk Kering Daun Pletekan Yang Digunakan	750 g
4	Ekstrak Kental Etanol 70% Daun Pletekan	131,5 g

Penelitian ini menggunakan bagian tanaman yaitu daun pletekan segar berwarna hijau. Daun pletekan disortasi basah memisahkan dari batu atau bagian lain selain daun pletekan, dicuci untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada daun, kemudian daun pletekan dirajang untuk mempermudah proses pengeringan. Setelah itu daun pletekan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada udara terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kandungan air yang ada didalam simplisia, karena air yang terdapat pada simplisia merupakan media pertumbuhan untuk mikroorganisme. Setelah dikeringkan, simplisia disortasi kering untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang ikut terbawa dan memisahkan simplisia yang layak digunakan atau simplisia yang layu kemudian dilakukan peyerbukan dengan cara ditumbuk.

Penyerbukan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel, sehingga dapat memperbesar luas permukaan simplisia yang menyebabkan pelarut dapat dengan mudah menyerap kedalam simplisia sehingga senyawa aktif tertarik lebih maksimal dan memudahkan ekstraksi. Serbuk yang didapat akan dilakukan pengayakan

dengan menggunakan ayakan *mesh* 40. Pengayakan bertujuan untuk menyeragamkan ukuran partikel. Serbuk daun pletekan yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan cairan penyari etanol 70%. Cara maserasi dipilih karena faktor kerusakan zat aktif lebih kecil karena dalam metode ini tidak menggunakan suhu panas yang mungkin dapat merusak zat aktif yang rentan pertumbuhan mikroorganisme. Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk daun pletekan dalam cairan penyaring. Selama 6 jam pertama sesekali dilakukan pengadukan agar zat aktif yang terdapat pada simplisia dapat terlarut sempurna, kemudian didiamkan selama 24 jam, remaserasi dilakukan sebanyak 5 kali. Setelah mendapatkan maserat dari proses maserasi dilakukan penghilangan pelarut dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C. Pemekatan bertujuan untuk menaikkan kandungan ekstrak daun pletekan dengan mengurangi kadar air dan mengurangi sisa pelarut pada saat proses maserasi.

C. Karakteristik Serbuk dan Ekstrak Daun Pletekan

Karakteristik serbuk dan ekstrak daun pletekan meliputi uji organoleptik. Hasil karakteristik dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 5. Hasil Karakteristik Serbuk dan Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan

No	Jenis	Uji Organoleptik			
		Bentuk	Bau	Rasa	Warna
1	Serbuk	Halus	Khas	Pahit	Hijau
2	Ekstrak	Kental	Khas	Pahit	Hijau Pekat

Ekstrak dan serbuk dideskripsikan menggunakan panca indera untuk mengetahui karakteristik dari bentuk, bau, rasa dan warna. Dari hasil organoleptik menunjukkan serbuk daun pletekan memiliki bentuk halus dengan bau khas rasa pahit dengan warna hijau sedangkan ekstrak daun pletekan memiliki bentuk kental dengan bau yang khas serta rasa pahit dengan warna hijau pekat yang dilihat pada lampiran.

D. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Pletekan

Uji penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang ada didalam ekstrak etanol 70% daun pletekan. Hasil penapisan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 6 hasil penapisan fitokimia

NO	Penapisan	Pengamatan	Hasil
1	Alkaloid	Tidak terbentuk endapan	+ (kecuali mayer)

2	Flavonoid	Terbentuk warna jingga atau merah	+
3	Saponin	Terbentuk buih yang tidak hilang	+
4	Tanin	Terbentuk endapan putih	+
5	Terpenoid	Tidak terbentuk warna merah atau ungu	-
6	Steroid	Terbentuk warna hijau pekat	+
7	Fenol	Terbentuk warna hijau	+

Keterangan : (+) positif, (-) negatif

Untuk mengetahui kualitas dari ekstrak yang ingin digunakan dilakukan beberapa pengujian *in vitro* seperti uji identifikasi kandungan senyawa, kadar air dan kadar abu. Pemeriksaan kandungan kimia dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia aktif yang mempunyai aktivitas biologis yang terdapat pada tumbuhan. Berdasarkan data pada tabel 6 didapatkan bahwa ekstrak etanol 70% daun pletakan memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, steroid dan saponin.

Pada uji flavonoid, adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam polar seperti etanol (Sjahid 2008). Logam Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna merah atau jingga (Illing *et al.* 2017).

Saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Pada umumnya jika hasil positif maka penambahan HCl2N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk (Simaremare 2014).

Pengujian fenol dilakukan dengan penambahan FeCl₃, terbentuknya warna hijau pekat pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl₃ karena fenol bereaksi dengan ion Fe³⁺ membentuk senyawa kompleks. Pada identifikasi steroid didapatkan perubahan warna menjadi hijau pekat. Perubahan warna karena terjadi oksida pada golongan senyawa steroid melalui pembentukan ikatan rangkapa konjugasi (Setyowati *et al.* 2014)

Pengujian alkaloid Identifikasi pada senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif berupa endapan merah pada pereaksi dragendorf. Pereaksi dragendorf merupakan campuran hasil bismuth nitrat yang bereaksi dengan kalium iodide membentuk endapan hitam bismuth(III) iodide yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismuthat sehingga hasil positif berupa

endapan dimana merupakan hasil reaksi ikatan logam yang dikandung dari reagen tersebut (Asmara 2017).

Uji triterpenoid menggunakan metode Liebermann-Bouchard, ekstrak dilarutkan dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann-Bouchard (asam asetat anhidrat-H₂SO₄) menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi merah kecoklatan untuk steroid dan coklat-ungu untuk triterpenoid. Reaksi triterpenoid dengan pereaksi Liebermann menghasilkan warna merah-ungu sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H₂SO₄ dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (Marliana & Saleh, 2011)

E. Pengukuran Kadar Abu

Kadar Abu Ekstrak etanol 70% daun pletakan

$$\begin{aligned}
 \text{Dik I : Krus kosong} &= 23,9368 \\
 \text{Bobot abu + krusibel} &= 24,2214 \text{ gram} \\
 \text{Sampel} &= 2,0093 \text{ gram} \\
 \% \text{ Kadar abu} &= \frac{\text{bobot abu (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,2846 \text{ g}}{2,0093 \text{ g}} \times 100 \% \\
 \% \text{ Kadar abu} &= 14,16 \%
 \end{aligned}$$

Kadar Abu Ekstrak etanol 70% daun pletakan

$$\begin{aligned}
 \text{Dik II : Krus kosong} &= 22,7896 \\
 \text{Bobot abu + krusibel} &= 23,1326 \text{ gram} \\
 \text{Sampel} &= 2,0374 \text{ gram} \\
 \% \text{ Kadar abu} &= \frac{\text{bobot abu (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,0343 \text{ g}}{2,0374 \text{ g}} \times 100 \% \\
 \% \text{ Kadar abu} &= 17,18\%
 \end{aligned}$$

Kadar Abu Ekstrak etanol 70% daun pletakan

$$\begin{aligned}
 \text{Dik III : Krus kosong} &= 21,6288 \text{ gram} \\
 \text{Bobot abu + krusibel} &= 21,9699 \text{ gram} \\
 \text{Sampel} &= 2,0285 \text{ gram} \\
 \% \text{ Kadar abu} &= \frac{\text{bobot abu (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,3411 \text{ g}}{2,0285 \text{ g}} \times 100 \% \\
 \% \text{ Kadar abu} &= 16,81 \%
 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{14,16\% + 17,18\% + 16,81\%}{3} = 16,05\%$$

Pemeriksaan kadar abu menggunakan prinsip memanaskan bahan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga hanya tertinggal unsur mineral dan anorganik. Kadar abu dan kadar abu tak larut asam hendaknya menghasilkan nilai rendah karena uji ini merupakan indikator adanya cemaran logam yang tidak akan hilang pada suhu tinggi. Jika dibandingkan dengan nilai karakter nonspesifik, Penetapan kadar abu akan memberikan gambaran mengenai kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia/ekstrak. Adapun pengukuran kadar abu tak larut asam bertujuan untuk mengetahui jumlah abu yang berasal dari faktor eksternal, bersumber dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah (Salim 2016). Hasil dari kadar abu menunjukkan rata-rat hasil 16,05% yang berarti kandungan mineral dalam ekstrak banyak karena lebih dari 10%.

F. Hasil Uji Karakteristik Ekstrak Daun Pletakan

Tabel 7. Hasil Kadar Air, Rendemen dan Kadar Abu Ekstrak Etanol 70% Daun Pletakan

NO.	Uji Karkteristik	Hasil (%)
1	Kadar air	8,07%
2	Rendemen Ekstrak kental	17,53%
3	Kadar Abu	16,05%

Pengukuran kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air didalam bahan (Depkes RI 2000). Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dan mikroorganisme. Dari pemeriksaan kadar air diperioleh sebesar 8,07%, dimana nilai kadar air yang didapat masih memenuhi persyaratan kadar air yang diperbolehkan dalam ekstrak kental yaitu 5-30% (Saifudin dkk. 2011). Rendemen ekstrak etanol 70% daun pletakan dapat dilihat pada lampiran 4.

G. Kadar Malondialdehid (MDA) Ginjal Tikus

Pengujian aktivitas antioksidan daun pletakan pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur Malondialdehid (MDA) pada ginjal tikus. Malondialdehid merupakan produk akhir dari oksidasi lipid. Tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksida lipid, yang secara tidak langsung juga tingginya jumlah radikal bebas (Darwadi dkk 2013).

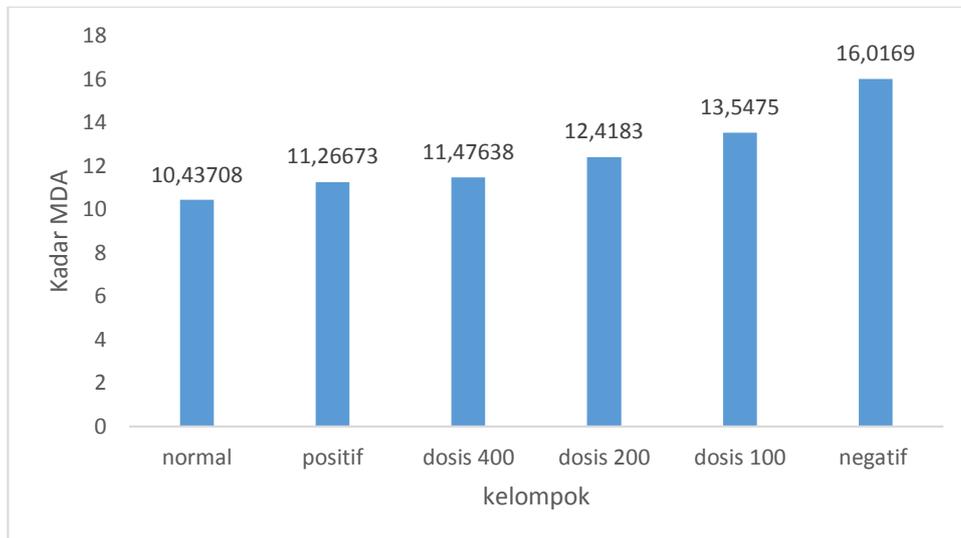
Pada pengukuran kadar MDA ginjal, digunakan 1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP) sebagai kurva standar. Senyawa TEP digunakan sebagai standar karena MDA merupakan senyawa yang tidak stabil. Pada suasana asam TEP terhidrolisis menghasilkan hemiasetal dan etanol. Hemiasetal yang terbentuk kemudian terdekomposisi menjadi etanol dan MDA (Widyaningsih dkk 2015)

Data hasil dari kurva diatas seperti pada gambar diperoleh persamaan garis: $Y = 0,0474 + 0,322x$. nilai koefisien korelasi (r) = 0,9947 Nilai (r) mendekati 1 menunjukkan kurva linier. Hasil persamaan garis ini digunakan untuk menentukan kadar MDA pada pengujian. Pengukuran kadar MDA pada penelitian ini digunakan metode Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) yang dapat diukur secara spektrofotometrik. MDA bila direaksikan dengan asam tiobarbiturat (TBA) akan membentuk senyawa berwarna merah muda yang menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum (Jusman 2013) pada penelitian digunakan panjang gelombang 532 nm.

Tabel 8 pengukuran kadar MDA

Kelompok	Kadar rata-rata (nmol/mL) ± SD
Normal	10,4370 ± 0,3883
Negatif	16,0169 ± 0,4045
Positif	11,2667 ± 0,2293
Dosis I	13,5475 ± 0,3299
Dosis II	12,4183 ± 0,3190
Dosis III	11,4763 ± 0,3180

Keterangan :huruf yang sama pada penandaan kadar MDA menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p > 0,05$)



Gambar 4. Grafik kadar MDA

Berdasarkan hasil pada Tabel 5, setelah perlakuan selama 14 hari kelompok kontrol normal tidak diberi perlakuan hanya diberikan pakan dan minum standar memiliki kadar MDA rata-rata 10,43708 nmol/mL, kelompok kontrol positif yang diberikan curcuma memiliki kadar MDA rata-rata sebesar 11,26673 nmol/mL, pada kontrol positif diberikan tablet kurkumin yang mengandung curcuma karena memiliki manfaat sebagai aktivitas antioksidan dari herbal dan penangkal radikal bebas akibat di induksi CCl_4 sedangkan kelompok dosis 400 memiliki kadar MDA 11,47638 nmol/mL dari hasil tersebut kadar MDA antara positif dengan dosis 400 memiliki kadar hampir sama ($p > 0,05$) yang kelompok dosis 400 sudah kelipatan dari dosis efektif dari ekstrak etanol 70% daun pletekan. kelompok kontrol negatif memiliki kadar 16,0169 nmol/mL sangat berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol normal dan positif. Hal ini dikarenakan kelompok normal hanya diberikan Na CMC saja dan tidak diinduksi CCl_4 , sedangkan pada kelompok negatif setelah pemberian induksi dengan senyawa CCl_4 secara intraperitoneal. CCl_4 merupakan senyawa toksik yang dapat menyebabkan stress oksidatif. Toksisitas CCl_4 tidak disebabkan oleh molekul CCl_4 itu sendiri, tetapi adanya konversi molekul CCl_4 menjadi radikal bebas CCl_3^\cdot oleh enzim sitokrom P450, radikal bebas CCl_3^\cdot akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal triklorometil peroksida yang sangat reaktif, radikal bebas tersebut akan bereaksi dengan asam lemak tak jenuh ganda yang merupakan komponen penting dari membran sel yang akan menghasilkan peroksidasi lipid yang selanjutnya mengubah struktur dan membran sel.

Permeabilitas membran sel akan meningkat yang selanjutnya diikuti dengan influks masif kalsium dan adanya kematian sel organ (Yuslianti 2018).

Pada kelompok dosis 200 memiliki kadar 12,4183 nmol/mL dan pada kelompok dosis 100 memiliki kadar 13,5475 nmol/mL dari kedua kelompok ini masih lebih tinggi dari kelompok dosis 400 yang menandakan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol 70% daun pletekan adanya senyawa flavoid yang aktif sebagai antioksidan yang diberikan akan mencegah radikal bebas yang dapat merusak organ ginjal pada hewan uji coba yaitu tikus. Hasil Selain itu aktifitas dengan penelitian sebelumnya antioksidan juga telah diuji dengan metode FTC Nilai IC_{50} konsentrasi 125 ppm sebesar 51,7861% (Mentari 2018). Ekstrak etanol 70 % daun pletekan dengan uji fosmolibdat diperoleh hasil pada konsentrasi 90 ppm mempunyai aktivitas antioksidan sebesar 151,10 mgQE/g (Inas dkk. 2018)

Hasil analisa statistik kadar MDA didapatkan hasil normalitas dengan nilai $P > 0,05$ yang menunjukkan data terdistribusi normal da pada uji homogenitas didapat nilai $P > 0,05$ yang menunjukkan data terdistribusi homogen. Dilanjutkan analisa varian satu arah (*One Way Anova*) $P < 0,05$ didapatkan perbedaan bermakna pada pengaruh perlakuan hasil kadar MDA tiap kelompok. Analisa dilanjutkan berdasarkan uji *Tukey* didapatkan bahwa terjadi perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, hal ini dikarenakan kelompok positif sebagai pembanding mengandung kurkumin yang sudah teruji sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas dan menghambat terbentuknya peroksidasi lipid sehingga tidak terjadi pembentukan MDA ($P > 0,05$) (Trihendradi C. 2004.).

H. Kadar Superoxide Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase (SOD) merupakan antioksidan endogen yang dapat mengkatalisis anion superoksid menjadi hidrogen peroksida. Keberadaan SOD melalui reaksi fenton akan membantu menangkap radikal bebas yang ada di jaringan jantung sehingga menghambat kerusakan oksidatif dengan menurunkan kadar radikal bebas di jaringan jantung (Kumar dkk 2015). SOD bersifat tidak stabil terhadap panas, cukup stabil pada kondisi basa dan masih mempunyai aktivitas walaupun disimpan sampai lima tahun pada suhu 5°C. Aktivitas enzim SOD memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Berdasarkan

adanya logam yang berperan sebagai kofaktor pada sisi aktif enzim, dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu Cu/ZnSOD, MnSOD dan FeSOD

Aktivitas antioksidan SOD ditentukan dengan mengukur daya hambat yang diberikan ekstrak pada proses autooksidasi pirogalol. Aktibitas Antioksidan SOD dinyatakan dalam bentuk persen hambatan proses autooksidasi pirogalol. Pirogalol mengalami autooksidasi yang melibatkan radikal peroksida (O_2^-) pada kondisi basa. Keberadaan SOD akan menghambat reaksi autooksidasi karena adanya dismutasi

Tabel 9. Hasil Pengukuran persen inhibisi SOD

No	Kelompok	Rata-rata Persen Inhibisi + SD
1	Normal	83,17 ± 1,15
2	Negatif	63,67 ± 2,01
3	Positif	75,98 ± 1,09
4	Dosis 100	71,33 ± 2,09
5	Dosis 200	73,36 ± 0,53
7	Dosis 400	79,41 ± 1,76

Pengujian statistik ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa aktivitas SOD semua kelompok hewan coba tidak berbeda signifikan. Namun perlakuan pada dosis 400 dan positif cenderung menurunkan aktivitas SOD di ginjal sebesar 79,41 % dan 75,98%. Hasil ini menunjukkan kelompok normal memiliki aktivitas tertinggi, sebesar 83,17%. Dan dosis 200 dengan rata-rata persen inhibisi 7,36% tidak berbeda signifikan juga dengan dosis 100 dengan nilai rata-rata 71,33%. Tetapi sangat berbanding terbalik dengan dosis negatif nilai rata-rata persen inhibisi sebesar 83,17%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis positif mg/kgBB dan dosis 400 mg/kgBB mempunyai aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan menurunnya aktivitas peroksidasi lipid membran ditandai peningkatan aktivitas antioksidan endogen yaitu enzim SOD yang menangkap anion superoksida dan mengubah menjadi hidrogen peroksida.

Peningkatan aktivitas enzim SOD tersebut diduga terjadi akibat aktivitas zat antioksidan melatonin. Mekanisme melatonin sebagai antioksidan meliputi penangkapan secara langsung terhadap radikal bebas, menstimulasi enzim antioksidan, meningkatkan efisiensi fosforilasi oksidatif di mitokondria, dan meningkatkan efisiensi antioksidan lain (Reiter et al., 2003). Aktivitas SOD bisa digunakan menjadi indikator dalam menentukan tingkat perlindungan seluler terhadap radikal bebas (Miyamoto *et al* 2010). Penelitian ini menggunakan

konsentrasi pirogalol 0,67mM dengan pH 8,5 untuk mendapatkan autooksidasi yang diinginkan. Laju autooksidasi sangat berpengaruh pada pH (Marklund dan Marklund 1974). Dan penggunaan dapar tris-HCl juga akan menurunkan sensitivitas pengukuran hingga 30%. Persen inhibisi enzim SOD diperoleh hasil uji homogenitas dan normalitas, pada uji normalitas di dapatkan nilai $(0,200 > 0,05)$ dan uji homogenitas didapat nilai *sig.* $(0,332 > 0,05)$ yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA satu arah didapatkan nilai *sig* $0,000 < 0,05$ hal tersebut menunjukkan adanya pengaruh perlakuan persen hambatan aktivitas enzim SOD ekstrak etanol 70% daun pletekan. Berdasarkan uji *Tukey* Kelompok positif sebanding dengan dosis 400 dan dosis 200 sebanding dengan dosis 400, dosis 200 sebanding dengan dosis 100 dan negatif memiliki perbedaan bermakna dengan normal. karena aktivitas persen inhibisi enzim SOD rata-rata tidak signifikan dengan kelompok kontrol normal ($P > 0,05$). Pemberian ekstrak etanol 70% daun pletekan dosis 400mg/kgBB menunjukkan hasil yang sebanding dengan kontrol positif.

BAB V

SIMPULAN dan SARAN

A. Simpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil ekstrak etanol 70% daun pletekan pada kelompok dosis III paling efektif sebagai antioksidan karena sebanding dengan kelompok positif sebagai antioksidan dengan parameter penurunan kadar MDA dan menghambat peningkatan SOD dibanding dengan dosis lainnya. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa nilai $P > 0,05$ menunjukkan kelompok dosis 400mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol positif Curcuma FCT dan memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad A R. 2012. Study of Antioxidant Activity with Reduction of DPPH Radical and Xantin Oxidase Inhibitor of the Extract of *Ruellia tuberosa* Leaf. *jurnal. Universitas Indonesia, Depok*
- Aldini G, Yeum KJ, Niki E, Russell RM. 2010. *Biomarkers for Antioxidant Defense and Oxidative Damage : Principles and Practical Application Singapura (SG):Blackwell Pub*
- Armitage D. 2004. *Rattus norvegicus*. http://www.animaldiversity.org/accounts/Rattus_norvegicus. Diakses 10 Juni 2019
- Asmara, AP. 2017. Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Metanol Bunga Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers). Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Hlm 53
- Ayala A, Muño MF, Argüelles S. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. Dalam: *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Publishing Corporation. Hlm. 1-31.
- Ayu N Ri, Afifah B. Sutjiatmo, Suci N V. 2014. Efek Hipoglikemik Ekstrak Air Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* Linn.) Pada Tikus Wistar Jantan dalam *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* Vol 2 (2), UNJANI, Bandung.
- Bargunmono, H. M. dan Wongsowijaya, Suyadi. 2013. *9 Umbi Utama Sebagai Pangan Alternatif Nasional*. Yogyakarta: Leutika prio
- Chothani D.L., Patel, M.B., & Mishra, S.H., 2011. HPTLC Fingerprint Profile and Isolation of Marker Compound of *Ruellia tuberosa*. *Chromatography Research International*, 2012, 180103.
- Darwadi RP, Aulanni'am, Mahdi C. 2013. Pengaruh Terapi Kurkumin Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hasil Isolasi Parotis Dan Profil Protein Tikua Putih Yang Terpapar Liposakarida (LPS). Dalam : *Kimia Student Journal. Vol. 1(1)*, Universtas Brawijaya, Malang. Hlm. 133-139
- Departemen Kesehatan RI. 1997. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia edisi ke IV*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta. Hlm. 157-158
- Dirjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Jakarta
- Depkes RI Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Depkes kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia edisi I*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Farrukh Aqil, Iqbal Ahmad, Zafar Mehmood. 2006. *Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Twelve Traditionally Used Indian Medicinal Plants*. Department of Agricultural Microbiology. India

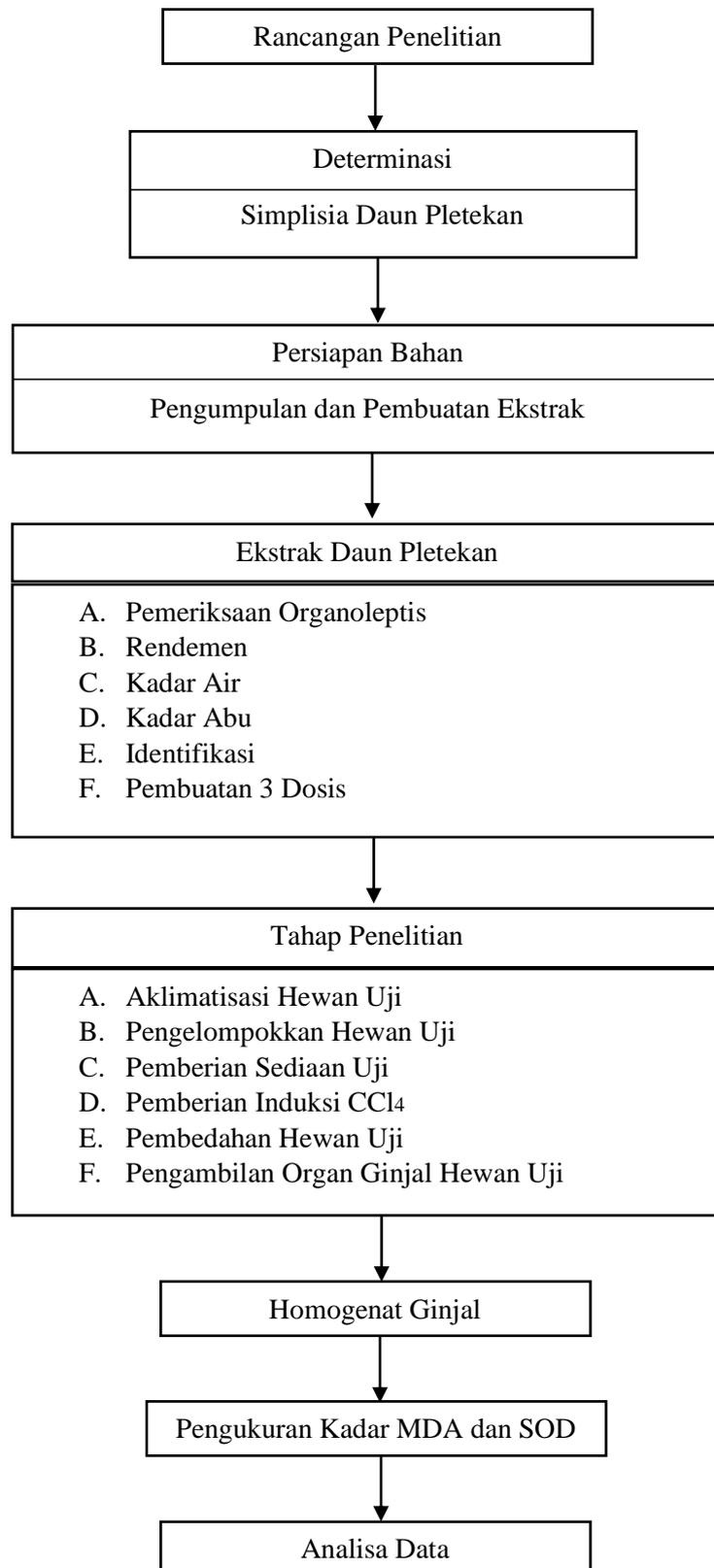
- Goldfrank, L.R., Neal E.F., Neal A.L., Mary A.H., Robert S.H., Lewis S.N., 2013, Toxicologic Emergencies, 7th Edition, Vol. 1, McGraw-Hill Companies, New York, pp. 211-212, 354.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Hariana A. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya, Jakarta. Hlm 280
- Hendra P, Paramita L, Brigita W R. P., Angeline S, Fransisca A, Asih P, Theresia E. 2014. Efek Proteksi Dekokta Kulit Alpukat pada Hepar Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida. Fakultas Farmasi, Universitas Skripsi Sanata Dharma. Yogyakarta
- Illing I, Safitri W, Erfiana. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. Fakultas Sains Universitas Cokroaminoto Palopo. Yogyakarta
- Inas U. 2018. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 % Daun Pletakan (*Ruellia tuberosa* Linn.) Dengan Metode Fosfomolibdat. *Skripsi*. Fakultas Farmasi UHAMKA, JAKARTA
- Latief, A. 2012. *Obat Tradisional*. Jakarta: EGC.
- Marklund S, Marklund G. 1974. *Involvement of the superoxide anion radical in the autooksidasi of pirogalol and a convenient assay for superoxide dismutase*. Eur J Biochem. 47: 469-474
- Marliana, S.D., Saleh, C. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi nHeksana, Etil asetat, dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari Siceraria* (Morliana). J. Kimia Mulawarman, 8(2): 39-63
- Mentari, I. 2018. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Pletakan (*Ruellia tuberosa* Linn.). Skripsi, Universitas Prof DR HAMKA. Jakarta
- Misra PH. 1995. Adenocrom Assay. In: *Greenwald RA ed CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*. CRC Press, Florida. Hlm 237-241
- Muchtadi D. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Alfabeta, Bandung.
- Nisma F, Situmorang A, Fajar M. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berdasarkan Aktivitas SOD (Superoxyd Dismutase) dan Kadar MDA (Malondialdehyde) pada Sel Darah Merah Domba yang Mengalami Stres Oksidatif In Vitro. dalam: *Jurnal Farmasains Vol 1(1)*. UHAMKA, JAKARTA
- Priyanto. 2009. *Toksikologi*. Leskonfil, Depok.
- Priyanto. 2015. *Toksikologi*. Leskonfil. Depok
- Rajan, M., Kumar, V.K., Kumar, S., Swathi, K.R., & Haritha, S. 2012. Antidiabetic, antihyperlipidaemic and hepatoprotective activity of methanolic extract of *Ruellia tuberosa* Linn leaves in normal and alloxan induced diabetic rats. *Journal of Chemical and Pharmacheutical Research*, 4(6), 2860-2868

- Reiter, R.J., Dun-Xian T., Juan C.M., Rosa M.S., Josefa L., Zbigniew Efek Antioksidan Ekstrak Wahyu Widyaningsih.dkk 175 C., 2003, Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans, *Acta Biochimica Polonica*, Vol. 50 No. 4:1129-1146
- Ridwina, G. 2008. Perbandingan Pengukuran Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol dan Minyak Atsiri Lempuyang Gajah. Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Santoso, Heri, Nurliani, Anni. 2006. *Efek Doksisisiklin Selama Masa Organogenesis Pada Struktur Histologi Organ Hati dan Ginjal Fetus Mencit*. Dalam *Jurnal Penelitian Bioscientiae* Vol 3 No.1. Kalimantan Selatan. Program Studi Biologi Universitas Lambung Mangkurat
- Sayuti, K., Rina, Y. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Setyowati, dkk. 2014. Skrinning Fitokimia dan indentifikasi komponene utama ekstrak metanol kulit durian (*Duriozibethinus*) varietas petruk, *seminar nasional kimia dan pendidikan kimia*, 6, 271-80
- Shawar, Dure, Saif U, Mobasher A, Ullah S, Naeem A, Muhammad AK. 2011. Hypoglycemic Activity of *Ruellia tuberosa* Linn (Acanthaceae) in Normal And Alloxan-INDUCED Diabetic Rabbits. Dalam *Irianian Journal of Pharmaceutical Science* Vol 7(2). Pakistan 107-115
- Sjahid, L.R. 2008. *Isolasi dan Indentifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (Eugenia Inflora L.)*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Shin, J., Seol, I., & Son, C. 2010. Interpretation of Animal Dose and Human Equivalent Dose for Drug Development. *The Journal of Korean Oriental Medicine*. Hlm 353
- Simaremare, dkk. 2014. Formulasi dan evaluasi daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd) sebagai kandidat antinyeri, *Tanaman Obat Indonesia*. Dalam: *PHARMACY, Vol.11(01)* ISSN 1693-3591
- Soewolo. 2005. *Fisiologi Manusia*. Malang: Universitas Negeri Malang
- Suarsana IN, Wresdiyati T, Suprayogi A. 2013. Respon stress oksidatif dan pemberian isoflavon terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase dan peroksidasi lipid pada hati tikus. *JITV*. 18(2): 146-152
- Sunaryo, Hadi., Rizky, Arcintha, R., Dwitiyanti., dan Siska. 2015. Antioxidant Activity of Combination between Ginger Extract (*Zingiber officinale* Rose) with Zink Based on MDA, SOD and Catalase Measurements in Hypercholesterolemia and Hyperglycemia Mice with Streptozotocin an Inducer. Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka. Jakarta. Dalam: *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2). Hlm. 1693-1831.
- Tiwari BK, Pandey KB, Abidi AB, Rizvi SI. 2013. Review Article Markers of Oxidative Stress uring Diabetes Mellitus. Hindawi Publishing Corporation Journal Of Biomarkers.

- Trihendradi C. 2004. *Memecahkan Kasus Statistik: Deskriptif, Parametrik, dan Non-parametrik dengan SPSS 12*. Andil, Yogyakarta.
- Trisanti I, Fatimawali, Bodhi W. 2013. Uji Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung (*Dendrophthoe Petandra* (L) Miq.) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Pada Hati Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄). *Dalam Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol 2 No3. UNSRAT. Manado. Hlm.75-78
- Widyaningsih W, Sativa R, Primardiana I. 2015. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (*Ulva lactuca* L.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) Hepar Tikus yang Diinduksi CCl₄. *Dalam : Media Farmasi*, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Hlm. 172
- World Health Organization (WHO). 2015. *Ketamine (INN) update Review Report Agena Item 6. 1. Expert Committee on Drug Dependence*, Geneva. Hlm13.
- Winarsi, H. 2011. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta
- Yuslianti E R. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Budi Utama, Yogyakarta.

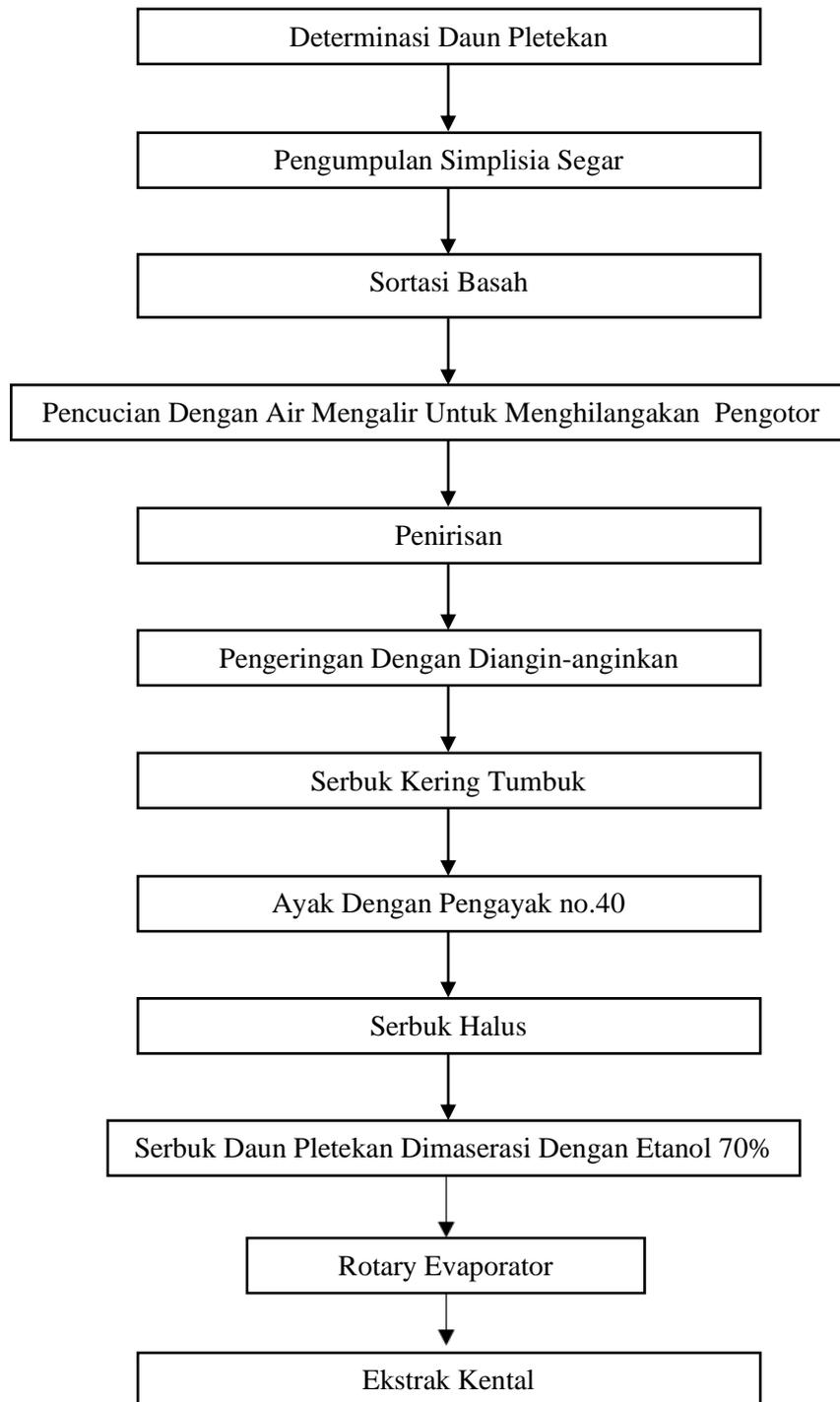
Lampiran

Lampiran 1. Skema Prosedur Penelitian



Skema Prosedur Penelitian

Lampiran 2. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan



Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan

Lampiran 3. Hasil Kadar Air

 **PEMERINTAH PROVINSI DAERAH KHUSUS IBUKOTA JAKARTA**
DINAS KESEHATAN
LABORATORIUM KESEHATAN DAERAH
Jl. Rawasari Selatan No. 2, Jakarta 10510, E-mail : dkklabs@gmail.com
Telp. : (021) 4247408, 4247432, 4247404, 42889512, Fax. (021) 4247364, 42873697

HASIL PEMERIKSAAN OBAT

PENGAMBILAN SAMPEL	PENERIMAAN DI LABORATORIUM
Tanggal : 14 Oktober 2019	Tanggal : 14 Oktober 2019
Oleh : Fitri Yuandini	No Sampel : 1
Jenis Sampel : Analisis	No Lab : 2.5 / 1142
Asal Sampel : -	Jenis Pemeriksaan : Analisis Obat
	Kondisi Sampel : Baik

DIKIRIM OLEH

Nama / Instansi : Fitri Yuandini
Alamat : Universitas Muhammadiyah Prof. DR Hamka
Pengambilan sampel di luar tanggung jawab LABKESDA

HASIL LABORATORIUM

I. IDENTIFIKASI SAMPEL

- Nama Sampel : Ekstrak Daun Pletekan
- Kode Produksi : -
- Exp. Date : -
- Tanggal Pengujian : -

II. PEMERIKSAAN FISIK

No.	Parameter	Hasil
1	Bentuk Sediaan	Semi solid
2	Warna	Coklat

III. PEMERIKSAAN KIMIA

No.	Parameter	Satuan	Syarat	Hasil	Metode
1	Kadar Air	%	-	8,07	PP 16 8-Obat-17025/Labkesda

Keterangan :
* Hasil pengujian ini hanya berlaku untuk sampel tersebut diatas

Jakarta, 14 Oktober 2019
Laboratorium Kimia & Doping

Dra. Arnawati, Si
NIP. 196604030 20031 2002

Lampiran kode etik hewan uji

	<p>Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA (KEPK – UHAMKA) Jakarta http://www.lcmilit.uhamka.ac.id</p>	<p>POB-KE.B/008/01.0 Berlaku mulai: 19 Mei 2017 FL/B.06-008/01.0</p>
---	--	--

SURAT PERSETUJUAN ETIK

PERSETUJUAN ETIK ETHICAL APPROVAL

No : 02/19.10/0212

Bismillaahirrohmaanirrohiim
Assalamu'alaikum warohmatullohi wabarokatuh

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA (KEPK-UHAMKA), setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian oleh reviewer yang bersertifikat, memutuskan bahwa protokol penelitian/skripsi/tesis dengan judul :

“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN PLETEKAN (*Reullia tuberosa* Linn) TERHADAP KADAR MDA DAN SOD PADA JANTUNG, GINJAL DAN HATI TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI CCl₄”

Atas nama
Peneliti utama : Dewi Latifa Permatasari
Peneliti lain : Fitri Yuandini
Siti Fatimah Azahra
Program Studi : S1 FARMASI
Institusi : UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA

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 KEPK-UHAMKA dalam bentuk *soft copy* ke email kepk@uhamka.ac.id. Jika terdapat perubahan protokol dan/atau perpanjangan penelitian, maka peneliti harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

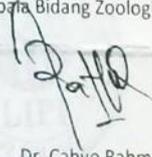
Wassatamu'alaikum warohmatullohi wabarokatuh

Jakarta, 15 Oktober 2019

Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA


(Dr. Enma Rachmawati, Ditt., M.Kes.)

Lampiran sertifikat hewan

	LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA <i>(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)</i>	
	PUSAT PENELITIAN BIOLOGI <i>(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)</i>	
	Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911 Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612 Website : www.biologi.lipi.go.id	
<hr/>		
Nomor : B-3788/IPH.1/KS.02.03/X/2019	Cibinong, 07 Oktober 2019	
Lamp :	Kepada Yth.	
Hal : Hasil identifikasi fauna	Dewi Latifa P	
	Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka	
	Fakultas Farmasi dan Sains	
	Jl. Delima II/IV Klender, Jakarta Timur 13460.	
<hr/>		
Dengan hormat,		
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi yang telah dilaksanakan oleh Sdr. Dr. Anang Setiawan Achmadi, S.KH, M.Sc staf peneliti Laboratorium Biosistemika Mamalia Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.		
Adapun hasilnya adalah sebagai berikut:		
Kode IM 5		
Nama ilmiah : <i>Rattus norvegicus</i> (Berkenhout, 1769).		
Nama internasional : Brown Rat.		
Nama Indonesia : Tikus Riul.		
Jenis kelamin : Jantan		
Reproduksi : Scrotal		
Umur : Adult / Dewasa		
Dengan ciri-ciri sebagai berikut:		
Panjang tubuh (badan dan kepala) : 122,6 mm		
Panjang ekor : 204,9 mm		
Panjang telinga : 18,10 mm		
Panjang kaki belakang/hind foot : 38,4 mm		
Berat badan : 241 gram		
Panjang tengkorak : 47,1 mm		
Lebar zygomatic : 21,10 mm		
Sagita cristas pada tulang tengkorak sejajar		
Ujung tulang zygomatic cenderung membulat ke atas		
Pembawaan tenang		
Warna rambut putih		
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.		
An. Kepala Pusat Penelitian Biologi LIPI Kepala Bidang Zoologi,		
		
Dr. Cahyo Rahmadi NIP. 197608272003121002		
<hr/>		
FR.75.1.PU.01-03 Ed. 1 Rev. 0 07-10-2013 1/1		

Lampiran Determinasi Tanaman

**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN KONSERVASI TUMBUHAN DAN KEBUN RAYA
(Research Center For Plant Conservation And Botanic Gardens)
Jalan Ir. H. Juanda No. 13, PO Box 309 Bogor 16003, Indonesia
Telepon +62 251 8322187; +62 251 8322220 Faximili +62 251 8322187

Nomor : B- 2962 /IPH.3/KS/VIII/2019 Bogor, 6 Agustus 2019
Sifat : -
Lamp : -
Penhal : Identifikasi tanaman

Yth. Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt.
Wakil Dekan I, Fak. Farmasi dan Sains
Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka
Jakarta Timur 13460

Menindak lanjuti surat Saudara Nomor 419/B.03.04/2018 tanggal 22 Juli 2019, dengan ini kami sampaikan hasil identifikasi berupa tanaman; akar, batang, daun, bunga dan buah yang dibawa ke Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya – LIPI oleh :

Nama : Fitri Yuandini
N P M : 1504015162
Prodi : Farmasi

adalah dan *Ruellia tuberosa* L., suku Acanthaceae, pletekan, pletikan, ceplikan, pletesan.

Demikian kami sampaikan dan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Plt. Kepala,

Dr. R. Hendrian, M.Sc.

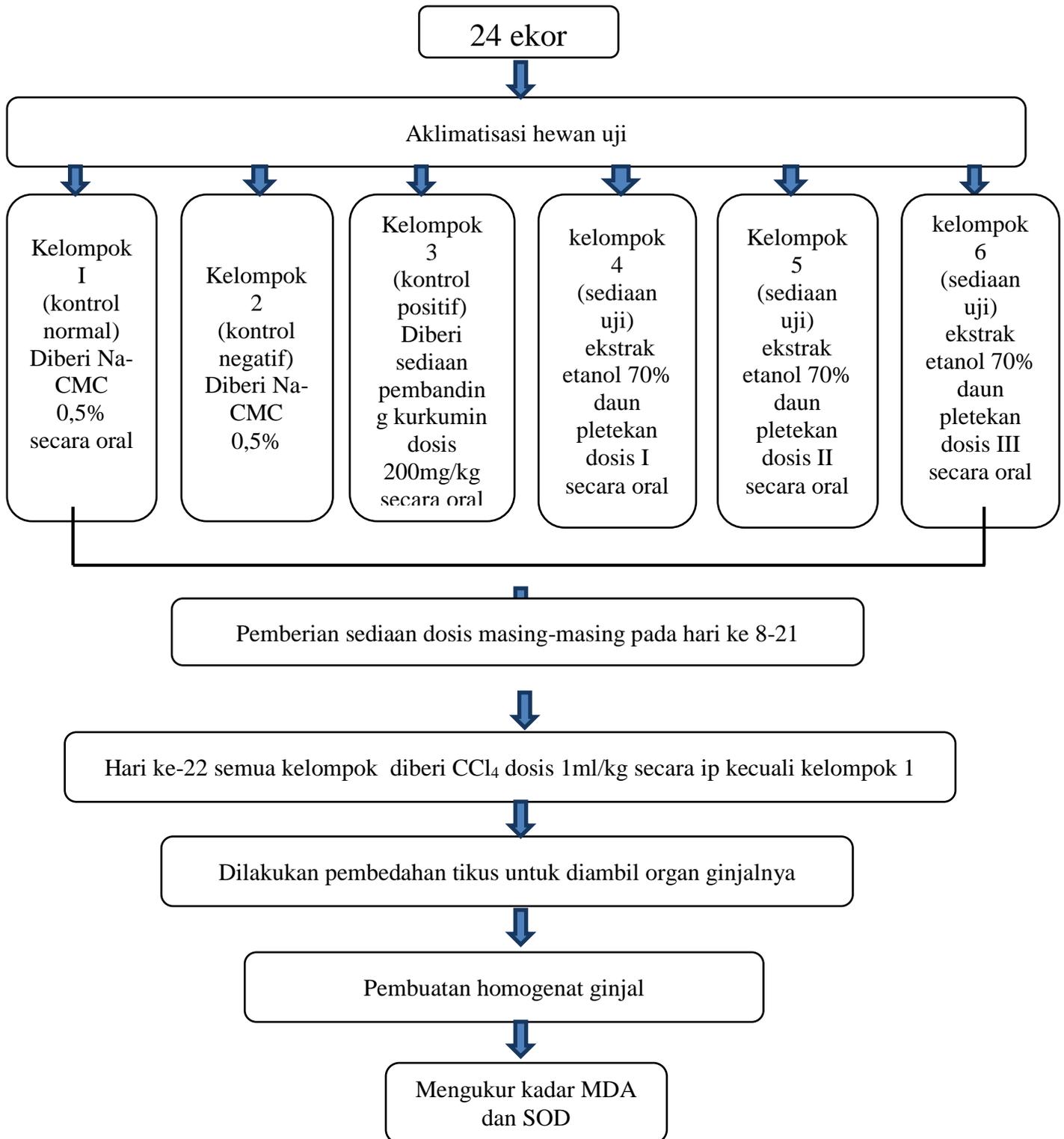
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Berat serbuk simplisia :750 g

Berat ekstrak kental :131,5 g

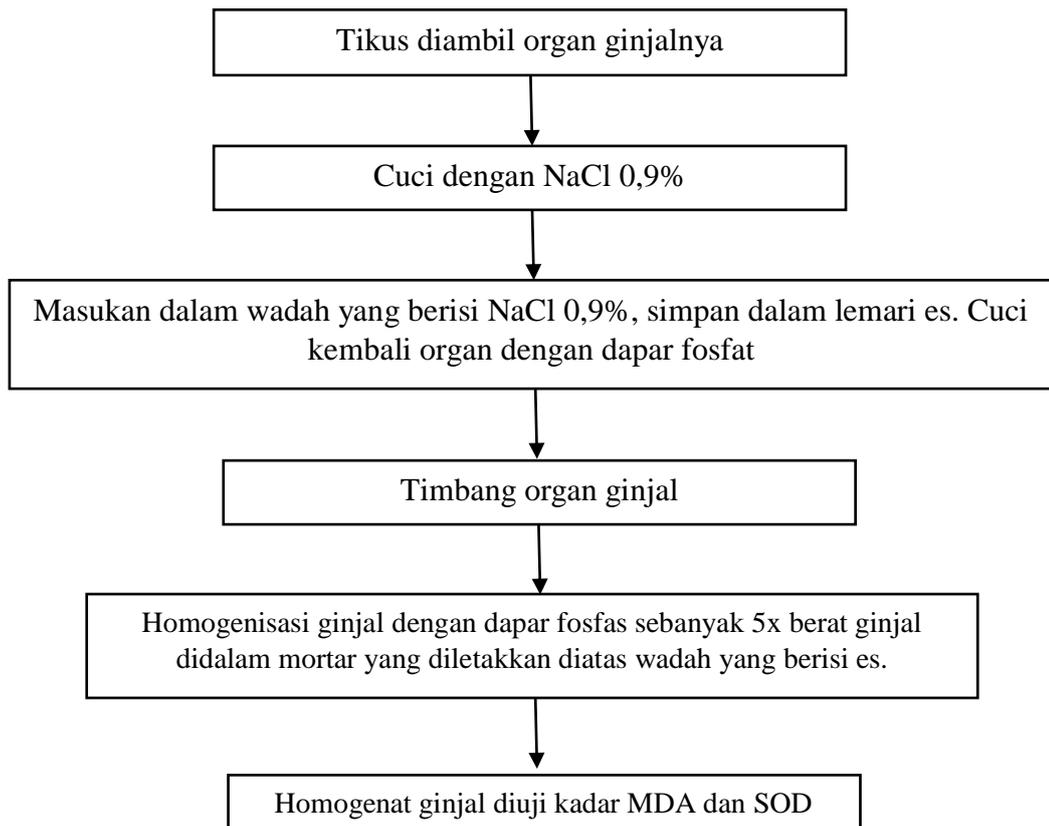
$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstra kental}}{\text{berat serbuk simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{131,5 \text{ g}}{750 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 17,53\%\end{aligned}$$

Lampiran 5. Skema Perlakuan Hewan Uji



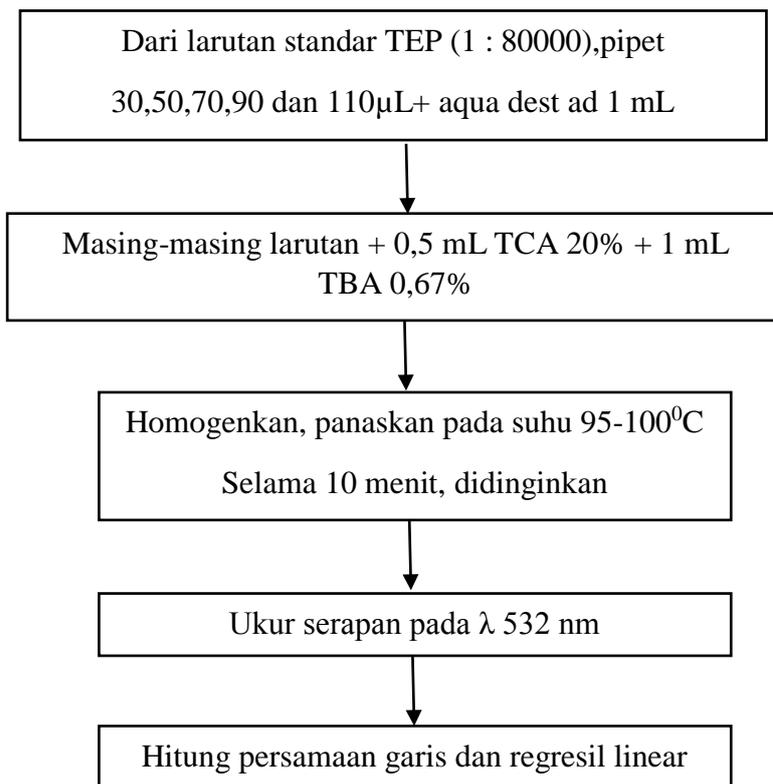
Skema Perlakuan Hewan Uji

Lampiran 6. Skema Persiapan Sampel Organ Ginjal



Skema Persiapan Sampel Organ Ginjal

Lampiran 7. Pembuatan Kurva Baku MDA



Pembuatan Kurva Baku

Lampiran 8. Kurva Kalibrasi MDA

A. Perhitungan Konsentrasi Tetraetoksipropan (TEP)

Konsentrasi TEP dalam larutan stok

$$\text{Berat molekul TEP } 97\% = 220,3 \text{ g/mol}$$

$$B_j = 0,92 \text{ g/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa (g)} &= (\text{volume} \times B_j) \times \text{konsentrasi} \\ &= (100\text{mL} \times 0,92 \text{ g/mL}) \times 97\% \\ &= 89,24 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M &= \frac{g/Mr}{0,1 L} \\ &= \frac{89,24\text{g}; 220,3 \text{ g/mol}}{0,1 L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Molaritas setelah diencerkan } 80.000 \text{ kali} &: \frac{4,05}{80.000} \\ &= 5,0625 \times 10^{-5} \text{ mol/L} \\ &= 50 \text{ nmol/mL} \end{aligned}$$

Pembuatan larutan standar TEP 50 nmol/mL

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 4,05 \text{ mol/L} = 100 \text{ mL} \times 5,0625 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 5,0625 \times 10^{-5} \text{ mol/L}}{4,05 \text{ mol/L}}$$

$$V_1 = 1,25 \times 10^{-3} \text{ mL} \sim 1,25 \text{ } \mu\text{L}$$

TEP 50 nmol/mL dibuat dengan mengencerkan 1,25 μL dalam 100 mL aquadest.

$$\text{Konsentrasi } 80 \text{ } \mu\text{L} = \frac{80 \text{ } \mu\text{L} \times 50 \text{ nmol/mL}}{2500 \text{ } \mu\text{L}}$$

$$= 1,6 \text{ nmol/mL}$$

$$a = \frac{A}{b \times c}$$

$$C_{\min} = \frac{A}{b \times a}$$

$$= \frac{0,5848}{1 \times 1,6}$$

$$= \frac{0,2}{21 \times 0,3655}$$

$$= 0,3655$$

$$= 0,5572 \sim 0,6 \text{ nmol/mL}$$

$$C_{\max} = \frac{A}{b \times a}$$

$$= \frac{0,8}{1 \times 0,3655}$$

$$= 2,1888 \sim 2,2 \text{ nmol/mL}$$

Lampiran (Lanjutan)

Perhitungan Volume Yang Dipipet

1. 0,6 nmol/mL

$$\begin{aligned}\text{Yang dipipet} &= \frac{0,6 \text{ nmol/mL}}{50 \text{ nmol/mL}} \times 2500 \mu\text{L} \\ &= 30 \mu\text{L}\end{aligned}$$

2. 1 nmol/mL

$$\begin{aligned}\text{Yang dipipet} &= \frac{1 \text{ nmol/mL}}{50 \text{ nmol/mL}} \times 2500 \mu\text{L} \\ &= 50 \mu\text{L}\end{aligned}$$

3. 1,4 nmol/mL

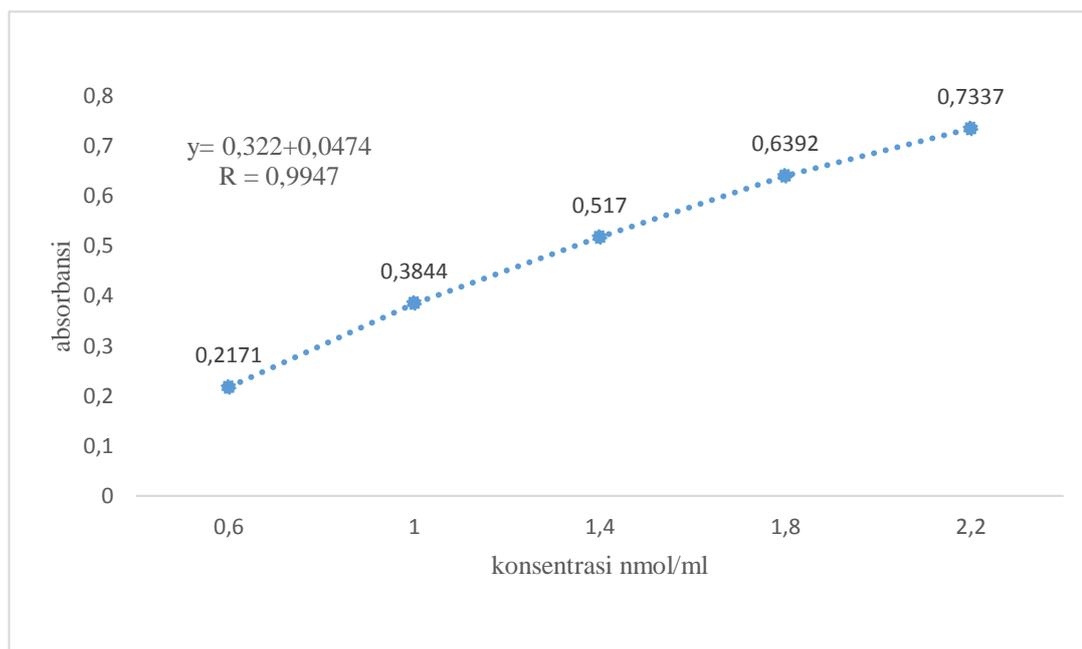
$$\begin{aligned}\text{Yang dipipet} &= \frac{1,4 \text{ nmol/mL}}{50 \text{ nmol/mL}} \times 2500 \mu\text{L} \\ &= 70 \mu\text{L}\end{aligned}$$

4. 1,8 nmol/mL

$$\begin{aligned}\text{Yang dipipet} &= \frac{0,6 \text{ nmol/mL}}{50 \text{ nmol/mL}} \times 2500 \mu\text{L} \\ &= 90 \mu\text{L}\end{aligned}$$

5. 2,2 nmol/mL

$$\begin{aligned}\text{Yang dipipet} &= \frac{0,6 \text{ nmol/mL}}{50 \text{ nmol/mL}} \times 2500 \mu\text{L} \\ &= 110 \mu\text{L}\end{aligned}$$



Lampiran (lanjutan)

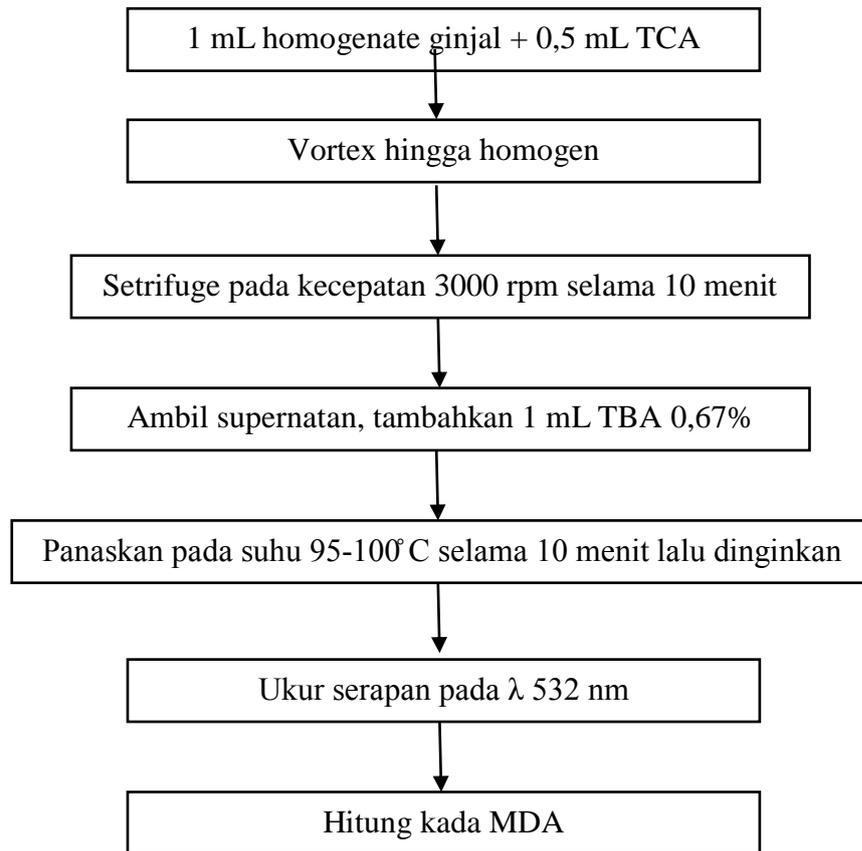
Tabel absorbansi kurva baku TEP

No	Konsentrasi (nmol/mL)	Absorbansi
1	0,6	0,2171
2	1	0,3844
3	1,4	0,5170
4	1,8	0,6392
5	2,2	0,7337

Dari data kurva kalibrasi TEP yang digunakan sebagai standar didapatkan persamaan garis : $Y = 0,322x + 0,0474$ dengan nilai $r = 0,9947$

Lampiran 9

Skema pengukuran kadar MDA



Skema pengukuran kadar MDA

Lampiran 10

Kadar MDA Ginjal

Kelompok	Tikus	Absorbansi	Kadar MDA (nmol/mL)	Rata-rata kadar MDA
Normal	1	0,2985	10,6826	10,4370±0,3883
	2	0,2391	10,7161	
	3	0,2347	10,4720	
	4	0,2241	9,8776	
Negatif	1	0,3231	15,4118	16,0169±0,4045
	2	0,3372	16,2000	
	3	0,3371	16,1944	
	4	0,3383	16,2614	
Positif	1	0,2477	11,1969	11,2667±0,2293
	2	0,2547	11,5881	
	3	0,2484	11,2360	
	4	0,2450	11,0459	
Dosis 1	1	0,2844	13,2484	13,5475±0,3299
	2	0,2919	13,6777	
	3	0,2856	13,3155	
	4	0,2971	13,9584	
Dosis 2	1	0,2690	12,3876	12,4183±0,3190
	2	0,2776	12,8683	
	3	0,2673	12,2925	
	4	0,2643	12,1248	
Dosis 3	1	0,2539	11,5435	11,4763±0,3180
	2	0,2511	11,3869	
	3	0,2394	10,2329	
	4	0,2503	11,3422	

Lampiran 11. Perhitungan Pengenceran dan Kadar MDA Ginjal Tikus

A. Perhitungan Pengenceran Sampel

1. Pengenceran I

Berat Sampel + 5x volume dapat fosfat

Sampel = 1

Dapar fosfat = 5x sampel +

Volume akhir = 6x

2. Pengenceran II

Volume total I = 1,5 mL

Volume total II = 2 mL

Factor Pengenceran = Volume total x $\frac{\text{volume total II}}{\text{volume sampel}}$

$$= 1,5 \text{ mL} \times \frac{2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}}$$

$$= 3x$$

B. Perhitungan Kadar MDA Sampel

Persamaan garis yang diperoleh dari kurva kalibrasi TEP :

$$Y = bx + a$$

$$Y = 0,322x + 0,0474$$

Y = absorbansi

X = Kadar MDA

Maka kadar MDA :

$$X = \frac{y-0,0474}{0,322} \times \text{faktor pengenceran}$$

$$= \frac{0,2985-0,0474}{0,322} \times 6 \times 3$$

$$= 10,6826 \text{ nmol/mL}$$

Lampiran 12 . Perhitungan dan Pembuatan Sediaan curcuma

A. Dosis Curcuma FCT yang digunakan pada manusia adalah 3x1 tablet per hari = 3 x 20 mg = 60 mg/hari

Dikonversikan ke tikus berdasarkan table konversi luas permukaan tubuh

$$\text{HED (mg/kg)} = \frac{60 \text{ mg (berat curcuma perhari)}}{60 \text{ kg (berat rata rata manusia)}} = 1 \text{ mg/kg}$$

$$1 \text{ mg/kg} = \text{animal dosis} \times \frac{37}{6} = 6,16 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{VAO} = \frac{\text{BB (kg)} \times \text{Dosis mg/kgBB}}{\text{Konsentrasi (mg/ml)}}$$

$$1 \text{ ml} = \frac{0,2 \text{ (kg)} \times 6,16 \text{ (mg/kgBB)}}{\text{Konsentrasi (mg/ml)}}$$

$$\text{Konsentrasi} = \frac{1,232 \text{ mg/ml} \times 50 \text{ ml}}{10} = 61,6 \text{ mg/50 ml} \\ = 0,0616 \text{ gram/50 ml}$$

$$\text{Berat tablet I} = 0,4125 \text{ g}$$

$$\text{Berat tablet II} = 0,4187 \text{ g}$$

$$\text{Berat tablet III} = 0,4168 \text{ g}$$

$$\text{Total berat tablet} = 1,248 \text{ g}$$

$$\text{Berat rata-rata pertablet} = 0,4173 \text{ g}$$

$$\text{Penimbangan} = \frac{61,6 \text{ mg} \times 0,416 \text{ g}}{20 \text{ mg}} = 1,2813 \text{ g}$$

Perhitungan pemberian sediaan Curcuma

$$\text{VAO} = \frac{\text{BB (kg)} \times \text{Dosis mg/kgBB}}{\text{Konsentrasi (mg/ml)}}$$

$$\text{VAO} = \frac{0,2 \text{ (kg)} \times 6,16 \text{ (mg/kgBB)}}{1,232 \text{ (mg/ml)}} = 1 \text{ ml}$$

Cara pembuatan sediaan curcuma

Tablet curcuma digerus dalam mortar sampai halus, kemudian timbang sebanyak 1,2813 g disuspensikan dengan Na-CMC 0,5% hingga volume 50 mL. masukkan ke dalam wadah. Kocok ad homogen.

B. Perhitungan Dosis Ketamin

$$\text{Dosis Lazim untuk manusia} = 6,5 \text{ mg/kg BB}$$

$$\text{HED (mg/kg)} = \text{Dosis manusia} \times \frac{\text{faktor km manusia}}{\text{faktor km tikus}}$$

$$\text{Dosis Tikus} = 6,5 \text{ mg/kgBB} \times \frac{37}{6}$$

$$\text{Dosis Tikus} = 40,08 \text{ mg/kgBB Tikus}$$

BB tikus 200 gram maka dosis :

$$40,08 \text{ mg/kg BB} \times 0,2 \text{ kg} = 8,016 \text{ mg/200 gram BB}$$

Konsentrasi sediaan ketamin 50 mg/mL

$$\begin{aligned} \text{Im} &= \frac{\text{dosis (mg/g)} \times \text{BB(g)}}{\text{konsentrasi((mg/mL)}} \\ &= \frac{8,016 \text{ mg/200g BB}}{50 \text{ mg/mL}} \times 200 \text{ gram BB} = 0,16 \text{ mL} \end{aligned}$$

C. Perhitungan Na-CMC 0,5%

$$\begin{aligned} \text{Jika dibuat 100 ml} &= \frac{0,5}{100} \times 100 \text{ ml} \\ &= 0,5 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi} = \frac{0,5}{100} = 5 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Volume Pemberian (VAO)} = \frac{\text{dosis (mg/kgbb)}}{\text{konsentrasi (mg/ml)}} \times \text{BB kg}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \frac{\text{VAO (mL)} \times \text{Konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)}{\text{BB Kg}} \\ &= \frac{1 \text{ ml} \times 5 \text{ mg/ml}}{0,25} \end{aligned}$$

$$\text{Dosis} = 20 \text{ mg/kg BB}$$

D. Perhitungan volume larutan uji ekstrak etanol 70% daun pletekan

Pada penelitian ini digunakan 3 variasi dosis :

$$\text{Dosis I} = 100 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{Dosis II} = 200 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{Dosis III} = 400 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{Konsentrasi dosis 1(mg/mL)} = \frac{0,2 \text{ (kg)} \times 100 \text{ (mg/kgBB)}}{1 \text{ mL}}$$

$$= 20 \text{ mg/mL}$$

$$= 200 \text{ mg/ 10 ml}$$

$$\text{Konsentrasi dosis 2(mg/mL)} = \frac{0,2 \text{ (kg)} \times 200 \text{ (mg/kgBB)}}{1 \text{ mL}}$$

$$= 40 \text{ mg/mL}$$

$$= 400 \text{ mg/ 10 ml}$$

$$\text{Konsentrasi dosis 3(mg/mL)} = \frac{0,2 \text{ (kg)} \times 400 \text{ (mg/kgBB)}}{1 \text{ mL}}$$

$$= 80 \text{ mg/mL}$$

$$= 800 \text{ mg/ } 10 \text{ ml}$$

$$\text{VAO} = \frac{\text{berat tikus (gram)} \times 1 \text{ mL}}{200 \text{ gram BB}}$$

Dosis 1 : ekstrak ditimbang 200 mg dicampur dengan na CMC 0,5% hingga 10 mL, volume pemberian akan disesuaikan dengan berat badan masing-masing tikus.

Dosis 2 : ekstrak ditimbang 400 mg dicampur dengan na CMC 0,5% hingga 10 mL, volume pemberian akan disesuaikan dengan berat badan masing-masing tikus.

Dosis 3 : ekstrak ditimbang 800 mg dicampur dengan na CMC 0,5% hingga 10 mL, volume pemberian akan disesuaikan dengan berat badan masing-masing tikus.

E. Perhitungan Volume Penyuntikan CCl₄

Dosis CCl₄ yang digunakan = 0,1mL/200 g BB tikus\

Konsentrasi larutan yang dibuat = 20% v/v

Pengenceran CCl₄ dibuat dengan mencampurkan 4 mL CCl₄ yang dicukupkan volumenya dengan *corn oil* hingga 20 mL.

Volume penyuntikan CCl₄ secara intraperitoneal.

$$\frac{\text{Berat tikus (g)}}{200 \text{ g BB}} \times \frac{\text{Dosis}}{\text{Konsentrasi larutan (mL)}}$$

Lampiran 13 Hasil Statistik Kadar MDA Ginjal

A. Uji Normalitas

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data kadar MDA terdistribusi normal atau tidak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kelompok
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	12,527146
	Std. Deviation	1,9020217
Most Extreme Differences	Absolute	,154
	Positive	,154
	Negative	-,102
Test Statistic		,154
Asymp. Sig. (2-tailed)		,145 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Kesimpulan : Nilai sig 0,145 > 0,05 H⁰ diterima berarti data terdistribusi normal

B. Uji Homogenitas

Tujuan : untuk mengetahui apakah data kadar MDA terdistribusi homogen atau tidak

Test of Homogeneity of Variances

		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
kelompok	Based on Mean	,328	5	18	,889
	Based on Median	,124	5	18	,985
	Based on Median and with adjusted df	,124	5	12,851	,984
	Based on trimmed mean	,272	5	18	,922

Kesimpulan : Nilai Sig 0,889 > 0,05 H⁰ diterima berarti data kadar MDA terdistribusi normal dan homogen sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah.

C. Uji ANOVA Satu Arah

Tujuan : Untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh atau perbedaan dosis ekstrak etanol 70% daun pletekan terhadap kadar MDA

ANOVA

kelompok

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	81,170	5	16,234	143,476	,000
Within Groups	2,037	18	,113		
Total	83,207	23			

Kesimpulan : Nilai Sig $0,000 < 0,05$ H^0 ditolak berarti terdapat perbedaan bermakna antara dua kelompok atau lebih.

Lampiran 14 pengukuran kadar MDA

Kelompok

kadar_mda	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Nor	4	10,437075				
Pos	4		11,266725			
d3	4		11,476375			
d2	4			12,418300		
d1	4				13,547500	
neg	4					16,016900
Sig.		1,000	,946	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

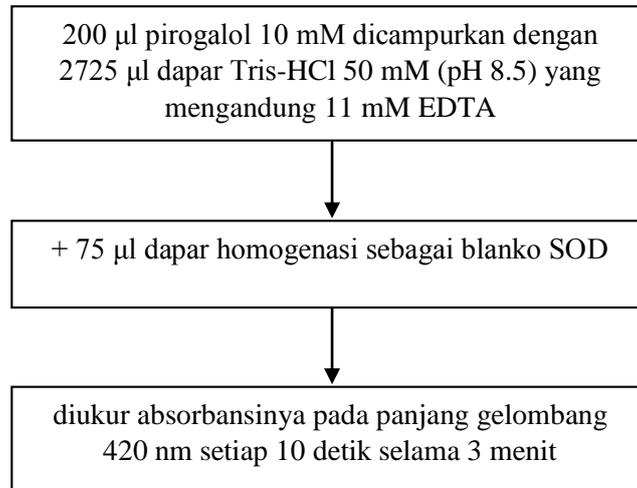
Kesimpulan : hasil ekstrak etanol 70% daun pletakan didapat kelompok dosis III paling efektif sebagai antioksidan karena sebanding dengan kelompok positif

Uji Tukey HSD

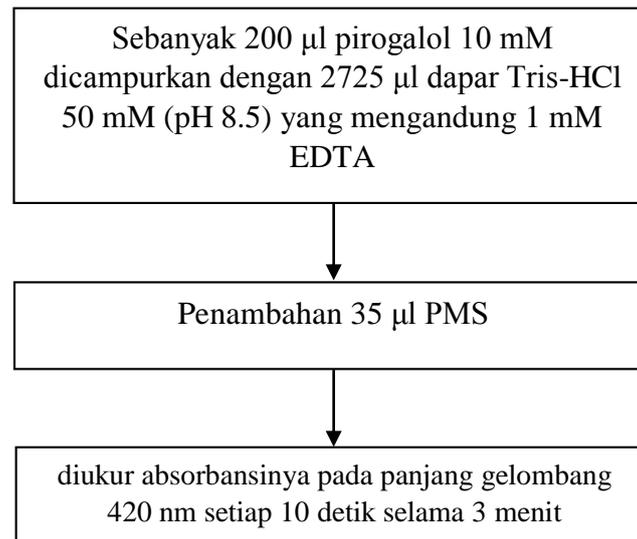
(I) kadar_mda	(J) kadar_mda	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
nor	d3	-,8296500*	,2378532	,027	-1,585556	-,073744
	Pos	-1,0393000*	,2378532	,004	-1,795206	-,283394
	d2	-1,9812250*	,2378532	,000	-2,737131	-1,225319
	d1	-3,1104250*	,2378532	,000	-3,866331	-2,354519
	Neg	-5,5798250*	,2378532	,000	-6,335731	-4,823919
d3	Nor	,8296500*	,2378532	,027	,073744	1,585556
	Pos	-,2096500	,2378532	,946	-,965556	,546256
	d2	-1,1515750*	,2378532	,002	-1,907481	-,395669
	d1	-2,2807750*	,2378532	,000	-3,036681	-1,524869
	Neg	-4,7501750*	,2378532	,000	-5,506081	-3,994269
pos	Nor	1,0393000*	,2378532	,004	,283394	1,795206
	d3	,2096500	,2378532	,946	-,546256	,965556
	d2	-,9419250*	,2378532	,010	-1,697831	-,186019
	d1	-2,0711250*	,2378532	,000	-2,827031	-1,315219
	Neg	-4,5405250*	,2378532	,000	-5,296431	-3,784619
d2	Nor	1,9812250*	,2378532	,000	1,225319	2,737131
	d3	1,1515750*	,2378532	,002	,395669	1,907481
	Pos	,9419250*	,2378532	,010	,186019	1,697831
	d1	-1,1292000*	,2378532	,002	-1,885106	-,373294
	Neg	-3,5986000*	,2378532	,000	-4,354506	-2,842694
d1	Nor	3,1104250*	,2378532	,000	2,354519	3,866331
	d3	2,2807750*	,2378532	,000	1,524869	3,036681
	Pos	2,0711250*	,2378532	,000	1,315219	2,827031
	d2	1,1292000*	,2378532	,002	,373294	1,885106
	Neg	-2,4694000*	,2378532	,000	-3,225306	-1,713494
neg	Nor	5,5798250*	,2378532	,000	4,823919	6,335731
	d3	4,7501750*	,2378532	,000	3,994269	5,506081
	pos	4,5405250*	,2378532	,000	3,784619	5,296431
	d2	3,5986000*	,2378532	,000	2,842694	4,354506
	d1	2,4694000*	,2378532	,000	1,713494	3,225306

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

Lampiran 15 Pembuatan Sediaan SOD
Pembuatan Grafik Laju Autoksidasi Pirogalol



Analisis Aktivitas SOD pada Ginjal



Lampiran 16 Perhitungan Pirogalol 100 mm

Berat Molekul pirogalol = 126,11 g/mol

Volume yang dibuat = 20 ml

$$\text{Massa} = \frac{g}{BM} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,01 = \frac{g}{126,11} \times \frac{1000}{20}$$

$$g = \frac{126,11 \times 0,01}{50}$$

$$= 0,025 \text{ g} \sim 25 \text{ mg}$$

Perhitungan Tris 50 mm

Berat Molekul Tris = 121,1 g/mol

Volume yang dibuat = 100 ml

$$\text{Massa} = \frac{g}{BM} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,01 = \frac{g}{121,1} \times \frac{1000}{20}$$

$$g = \frac{121,1 \times 0,05}{10}$$

$$= 0,0605 \text{ g} \sim 605 \text{ mg}$$

Perhitungan EDTA 11 mm

Berat Molekul Tris = 372,24 g/mol

Volume yang dibuat = 100 ml

$$\text{Massa} = \frac{g}{BM} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,01 = \frac{g}{327,24} \times \frac{1000}{100}$$

$$g = \frac{327,24 \times 0,011}{10}$$

$$= 0,409 \text{ g} \sim 409 \text{ mg}$$

Lampiran 17. Hasil Kadar SOD

Kelompok	Replikasi	Absorban tanpa sampel	Absorban sampel	Persentase inhibisi	Rata – rata % inhibisi ±SD
Normal	1	0,0328	0,0059	82,01	83,17 ±1,15
	2	0,0328	0,0057	82,40	
	3	0,0328	0,0053	83,84	
	4	0,0328	0,0051	84,45	
Negatif	1	0,0328	0,0120	63,41	63,67 ± 2,01
	2	0,0328	0,0127	61,05	
	3	0,0328	0,0112	65,85	
	4	0,0328	0,0116	64,39	
Positif	1	0,0328	0,0081	75,30	75,98 ± 1,09
	2	0,0328	0,0074	77,43	
	3	0,0328	0,0082	75,00	
	4	0,0328	0,0078	76,21	
Dosis 100	1	0,0328	0,0090	72,56	71,33 ± 2,09
	2	0,0328	0,0093	71,64	
	3	0,0328	0,0089	72,86	
	4	0,0328	0,0104	68,29	
Dosis 200	1	0,0328	0,0087	73,47	73,36 ± 0,53
	2	0,0328	0,0085	74,08	
	3	0,0328	0,0088	73,00	
	4	0,0328	0,0088	72,91	
Dosis 400	1	0,0328	0,0075	80,48	79,41 ± 1,76
	2	0,0328	0,0069	77,13	
	3	0,0328	0,0064	78,96	
	4	0,0328	0,0062	81,09	

Perhitungan persentase inhibisi

Misalkan : $\frac{\Delta abs}{menit}$ tanpa sampel = 0,0328

$$\frac{\Delta abs}{menit} \text{ sampel} = 0,0013$$

$$\begin{aligned} \% \text{ inhibisi} &= \frac{\frac{\Delta abs}{menit} \text{ tanpa sampel} - \frac{\Delta abs}{menit} \text{ dengan sampel}}{\frac{\Delta abs}{menit} \text{ tanpa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0328 - 0,0013}{0,0328} \times 100\% \\ &= 96,03\% \end{aligned}$$

Lampiran 18. Hasil Statistik Kadar SOD Ginjal

A. Uji Normalitas

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar SOD terdistribusi normal atau tidak

Ketentuan : $H^0 > \alpha$ (0,05) data terdistribusi normal

: $H^1 < \alpha$ (0,05) data tidak terdistribusi normal

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		persen_data
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	74,4921
	Std. Deviation	6,47262
Most Extreme Differences	Absolute	,133
	Positive	,076
	Negative	-,133
Test Statistic		,133
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

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

B. Uji Homogenitas

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar SOD terdistribusi homogen atau tidak

Ketentuan : $H^0 > \alpha$ (0,05) data terdistribusi homogen

: $H^1 < \alpha$ (0,05) data tidak terdistribusi homogen

Test of Homogeneity of Variances

kadar sod

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,239	5	18	.332

Kesimpulan: Nilai sig 0,332 > 0,05 H^0 diterima data kadar SOD terdistribusi normal dan homogen sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah.

C. Uji ANOVA Satu Arah

Tujuan: Untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh atau perbedaan dosis ekstrak etanol 70% daun pletekan terhadap kadar SOD

ANOVA

persen_data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	920,352	5	184,070	76,646	,000
Within Groups	43,228	18	2,402		
Total	963,580	23			

Kesimpulan : Nilai $0,000 < 0,05$ H^0 ditolak berarti terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok atau lebih dan dapat dilanjutkan dengan uji tukey.

Ketentuan : $H^0 > \alpha (0,05)$ data tidak ada perbedaan bermakna

Hasil Uji Turkey

persen_data Tukey HSDa

kelompok_sod	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Negative	4	63,6750				
dosis 1	4		71,3375			
dosis 2	4		73,3650	73,3650		
Positif	4			75,9850	75,9850	
dosis 3	4				79,4150	
Normal	4					83,1750
Sig.		1,000	,461	,211	,055	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Kesimpulan : Kelompok positif sebanding dengan dosis 3 dan dosis 2 sebanding dengan dosis 3, dosis 2 sebanding dengan dosis 1 dan negatif memiliki perbedaan bermakna dengan normal.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: persen_data

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
negatif	dosis 1	-7,66250*	1,09580	,000	-11,1450	-4,1800
	dosis 2	-9,69000*	1,09580	,000	-13,1725	-6,2075
	Positif	-12,31000*	1,09580	,000	-15,7925	-8,8275
	dosis 3	-15,74000*	1,09580	,000	-19,2225	-12,2575
	Normal	-19,50000*	1,09580	,000	-22,9825	-16,0175
dosis 1	Negative	7,66250*	1,09580	,000	4,1800	11,1450
	dosis 2	-2,02750	1,09580	,461	-5,5100	1,4550
	Positif	-4,64750*	1,09580	,006	-8,1300	-1,1650
	dosis 3	-8,07750*	1,09580	,000	-11,5600	-4,5950
	Normal	-11,83750*	1,09580	,000	-15,3200	-8,3550
dosis 2	Negative	9,69000*	1,09580	,000	6,2075	13,1725
	dosis 1	2,02750	1,09580	,461	-1,4550	5,5100
	Positif	-2,62000	1,09580	,211	-6,1025	,8625
	dosis 3	-6,05000*	1,09580	,000	-9,5325	-2,5675
	Normal	-9,81000*	1,09580	,000	-13,2925	-6,3275
positif	Negative	12,31000*	1,09580	,000	8,8275	15,7925
	dosis 1	4,64750*	1,09580	,006	1,1650	8,1300
	dosis 2	2,62000	1,09580	,211	-,8625	6,1025
	dosis 3	-3,43000	1,09580	,055	-6,9125	,0525
	Normal	-7,19000*	1,09580	,000	-10,6725	-3,7075
dosis 3	Negative	15,74000*	1,09580	,000	12,2575	19,2225
	dosis 1	8,07750*	1,09580	,000	4,5950	11,5600
	dosis 2	6,05000*	1,09580	,000	2,5675	9,5325
	Positif	3,43000	1,09580	,055	-,0525	6,9125
	Normal	-3,76000*	1,09580	,030	-7,2425	-,2775
normal	Negative	19,50000*	1,09580	,000	16,0175	22,9825
	dosis 1	11,83750*	1,09580	,000	8,3550	15,3200
	dosis 2	9,81000*	1,09580	,000	6,3275	13,2925
	Positif	7,19000*	1,09580	,000	3,7075	10,6725
	dosis 3	3,76000*	1,09580	,030	,2775	7,2425

