

**STUDI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK n-BUTANOL BINTANG LAUT  
(Protoreaster nodusus) TERHADAP  
HEWAN UJI MENCIT**



**OLEH  
M A E G A R I O  
85 03 106**



UNIVERSITAS HASANUDDIN	
No. Pengantar	26-06-95
Tgl. Pengantar	-
Jumlah Lembar	1 (satu)
Marginal	Hadiah
No. Inventaris	95 26 06 126
No. R. 10	

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**1993**

S K R I P S I

Oleh

M A E G A R I O

85 03 106



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN

1993

STUDI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK n-BUTANOL BINTANG LAUT  
(Protoreaster nodus) TERHADAP  
HEWAN UJI MENCIT

Oleh  
M A E G A R I O  
85 03 106

Skripsi untuk melengkapi tugas dan  
memenuhi syarat untuk memperoleh  
gelar sarjana

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
1993

STUDI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK n -BUTANOL BINTANG LAUT  
(Protoreaster nodusus) TERHADAP  
HEWAN UJI MENCIT

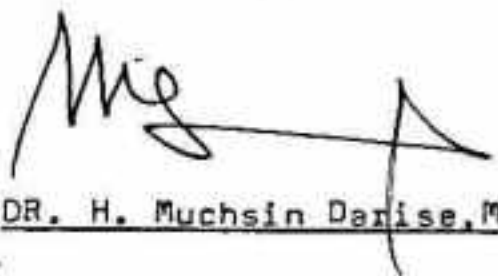
Disetujui oleh

Pembimbing Utama



(Dra. Ny. H. Susanti Said, MS)

Pembimbing Pertama



(DR. H. Muchsin Darise, MSc)

Pada tanggal, .....1993

## UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur yang tak terhingga penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, oleh karena hidayat dan taufiqnyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Pada kesempatan ini perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Ibu Dra. Ny. H. Susanti Said, MS sebagai pembimbing utama,
2. Bapak Drs. H. Muchsin Darise, MSc sebagai pembimbing Pertama,

yang telah memberikan petunjuk, nasehat serta dengan tekun membimbing penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini hingga selesainya.

Juga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada :

1. Dekan Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin,
2. Ketua Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin,
3. Bapak Drs. Moh. Hasbi sebagai penasehat akademik,
4. Para Kepala Laboratorium se-Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin,
5. Para staf dosen, karyawan dan karyawanati Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin,

6. Rekan-rekan mahasiswa (i) serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Yang telah memberikan saran-saran, petunjuk dan fasilitas selama penelitian sampai selesai penulisan skripsi ini.

Akhirnya ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada Ayahanda dan Ibunda tercinta serta kakak-kakak dan adik-adikku yang selama ini telah banyak memberikan dorongan moral dan bantuan materil; serta doa yang tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, namun harapan penulis semoga skripsi ini dapat berguna bagi pembaca khususnya dibidaag kefarmasian.

Ujungpandang, Juli 1993

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian toksisitas akut ekstrak n-butanol bintang laut (Protoreaster nodusus) yang diberikan secara oral pada hewan uji mencit. Penelitian ini dimaksudkan untuk menentukan  $LD_{50}$  dan efek toksik yang timbul pada mencit setelah pemberian ekstrak n-butanol bintang laut.

Ekstrak n-butanol bintang laut yang sudah dipekatkan dibuat suspensi dengan natrium karboksimetilselulose 1% b/v dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 4% dan 8% b/v.

Hewan uji sebanyak 60 ekor mencit dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu 5 kelompok perlakuan yang diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut dan 1 kelompok kontrol yang diberi larutan natrium karboksimetilselulose 1% b/v.

Untuk menentukan  $LD_{50}$  data diambil berdasarkan jumlah mencit yang mati dalam setiap kelompok selama tujuh hari. Efek toksik yang diamati adalah pengeluaran urine yang berlebihan, diare, peningkatan laju pernafasan, kejang, penurunan aktivitas gerak dan kelumpuhan.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai  $LD_{50}$  ekstrak n-butanol bintang laut dengan metode grafik probit log dosis yakni 0,77 g/kg berat badan mencit. Ini menunjukkan bahwa tingkat toksisitas ekstrak n-butanol bintang laut terdapat pada kategori toksisitas sedang.

## ABSTRACT

A research concerning the acute toxicity of the n-butanol extract of starfish (Protoreaster nodusus) administered orally to female mice has been conducted. The aim of the research was to determine the  $LD_{50}$  value and the toxic effect after the administration of n-butanol extract of starfish.

The n-butanol extract of starfish were suspended in the concentration of 0.5%, 1%, 2%, 4% and 8% w/v with 1% w/v sodium CMC.

Sixty mice were divided into 6 groups, 5 groups were treated with n-butanol extract suspension of starfish and 1 control group that received 1% w/v sodium CMC solution.

The determination of  $LD_{50}$  value, based on the dead mice in each group during 7 days of treatment. The toxic effect observed were excessive salivation, diarrhea, increasing of respiratory rate, excitement, decreasing of motor activity and paralysis.

Based on the result of the research it found that  $LD_{50}$  of n-butanol extract of starfish was by graphic probit log dose method found 0.77 g/kg of body weight of mice. The result indicated that the toxicity of n-butanol extract of starfish can be categorised in moderately toxic.



## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH .....	iv
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
BAB II. POLA PENELITIAN .....	3
BAB III. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
III. 1. Uraian bintang laut .....	5
1.1. Sistematika bintang laut .....	5
1.2. Morfologi bintang laut .....	5
1.3. Zat yang dikandung .....	7
1.4. Kegunaan bintang laut .....	7
III. 2. Natrium karboksimetilsellulose .....	7
III. 3. Metil paraben .....	8
III. 4. Ekstraksi .....	8
III. 5. Definisi ekstrak .....	9
III. 6. Toksisitas .....	9
6.1. Uji toksisitas akut .....	10
6.2. Median lethal dose (LD <sub>50</sub> ) .....	12
2.1 Persyaratan hewan uji .....	14
BAB IV. PENELITIAN DAN HASIL PENELITIAN .....	16
IV. 1. Penyiapan alat dan bahan .....	16

	1.1. Alat-alat yang digunakan .....	16
	1.2. Bahan yang digunakan .....	17
IV.	2. Penyiapan sampel .....	17
	2.1. Pengambilan sampel .....	17
	2.2. Pengolahan sampel .....	17
IV.	3. Penyiapan dan pemilihan hewan percobaan	17
IV.	4. Pembuatan bahan penelitian .....	18
	4.1. Pembuatan ekstrak bintang laut .....	18
	4.2. Pembuatan suspensi ekstrak bintang laut .....	19
	2.1. Pembuatan larutan CMC 1% b/v ..	19
	2.2. Pembuatan suspensi ekstrak n-BuOH bintang laut .....	19
IV.	5. Perlakuan terhadap hewan percobaan .....	20
	5.1. Pengamatan.....	20
IV.	6. Pengamatan dan pengumpulan data .....	21
IV.	7. Analisis data.....	21
IV.	8. Hasil penelitian .....	22
BAB	V. PEMBAHASAN .....	24
BAB	VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	28
	VI. 1. Kesimpulan .....	28
	VI. 2. Saran-saran .....	28
DAFTAR	PUSTAKA .....	29

## DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
I. Hasil Pengamatan Efek Toksik Setelah Pemberian Ekstrak n-Butanol Bintang Laut .....	32
II. Hasil Pengamatan Jumlah Kematian Hewan Uji Setelah Pemberian Ekstrak n-Butanol Bintang Laut .....	33
III. Hasil Pengamatan Jumlah Kematian Hewan Uji Berdasarkan Perbedaan Jenis Kelamin Setelah Pemberian Ekstrak n-Butanol Bintang Laut ....	34
IV. Harga Probit Sesuai dengan Prosentasenya ....	35
V. Nilai Bobot Per Probit .....	36
VI. Harga $\chi^2$ (Chi Kuadrat) .....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
A. Hubungan antara Faktor Pembobotan, Aktivitas, dan Kategori .....	38
B. Hasil Perhitungan Banyaknya Efek yang Tampak Dihubungkan Faktor Pembobotan Masing-masing Aktivitas .....	39
C. Perhitungan LD <sub>50</sub> Ekstrak n-Butanol Bintang Laut Menurut Cara Reed dan Muench .....	40
D. Perhitungan LD <sub>50</sub> Menurut Farmakope Indonesia Edisi III dari Ekstrak n-Butanol Bintang Laut..	42
E. Perhitungan Hasil Penelitian dengan Metode Grafik Setelah Pemberian Ekstrak n-Butanol Bintang Laut .....	43
F. Perhitungan Ketelitian LD <sub>50</sub> Ekstrak n-Butanol Bintang Laut ( <u>Protoreaster nodusus</u> ) pada mencit	44
G. Hasil Analisa Statistik Data dengan Uji t Berpasangan terhadap Jumlah Kematian Mencit Jantan Betina Setelah Pemberian Ekstrak n-Butanol Bintang Laut .....	45
H. Analisa Data Hasil Pemberian Suspensi Ekstrak n-Butanol Bintang Laut ( <u>Protoreaster nodusus</u> ) Menggunakan Uji Chi Kuadrat .....	47
I. Skema Kerja Uji Toksisitas Akut Ekstrak n-Butanol Bintang Laut ( <u>Protoreaster nodusus</u> ) Terhadap Hewan Uji Mencit .....	48

## DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. Kurva Hubungan antara Nilai Probit Terhadap Log Dosis Suspensi Ekstrak n-Butanol Bintang Laut ( <u>Protoreaster nodusus</u> ).....	49
2. Hasil Kromatografi lapis tipis Ekstrak n-Butanol .....	50
3. Hasil Kromatografi lapis tipis Ekstrak Metanol .....	51
4. Morfologi Bintang Laut ( <u>Protoreaster nodusus</u> )	52

BAB I  
PENDAHULUAN



Perairan Indonesia terutama daerah pesisir pantai kepulauan Indonesia bagian Timur terdapat beraneka ragam sumberdaya laut yang bermanfaat bagi manusia. Berbagai penelitian yang telah dilakukan di wilayah pantai dan laut kawasan Indonesia bagian Timur menunjukkan bahwa selain kaya akan bahan tambang maupun energi seperti minyak dan gas bumi, juga memiliki flora dan fauna yang mempunyai daya tarik bagi wisatawan serta dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan, obat-obatan dan kosmetik (1).

Perkembangan pengetahuan kelautan pada umumnya berjalan seiring dengan perkembangan teknologi pemanfaatan sumberdaya laut untuk memenuhi kebutuhan manusia.

Pemanfaatan sumberdaya laut sebagai bahan baku obat yang selama ini dikenal hanyalah minyak ikan sebagai sumber vitamin A, namun pada akhir-akhir ini juga sudah mulai diteliti berbagai jenis biota laut sebagai penghasil bahan baku obat dan secara tradisional telah digunakan pula sebagai kosmetik (2).

Beberapa ahli dari Inggris, Jepang dan Filipina dari berbagai perguruan tinggi telah dapat mengisolasi senyawa kimia dari ekstrak biota laut phillum Echinodermata kelas Asteroidea yang mempunyai aktifitas biologik sebagai sitotoksik, hemolitik dan antifungi. Sedangkan dari jenis

bintang ular oleh Russel berhasil mengisolasi suatu senyawa yang mempunyai aktivitas biologik sebagai anti koagulan (J).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian tentang toksisitas akut ekstrak n-butanol bintang laut dengan cara menentukan dosis yang dapat mematikan 50% hewan uji ( $LD_{50}$ ) dan efek toksik yang timbul setelah pemberian per oral ekstrak n-butanol bintang laut pada hewan uji mencit.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak n-butanol bintang laut pada hewan uji mencit dengan menggunakan beberapa dosis, dengan tujuan menentukan  $LD_{50}$  ekstrak n-butanol bintang laut. Hewan uji mencit yang digunakan sebanyak 60 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu 5 kelompok perlakuan yang diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 4% dan 8% b/v dan 1 kelompok kontrol diberi larutan koloidal Na CMC 1% b/v.

Analisis data dilakukan berdasarkan jumlah hewan yang mati dan masih hidup pada setiap kelompok yang telah diberi ekstrak n-butanol bintang laut dengan berbagai konsentrasi dan  $LD_{50}$  ditentukan dengan metode Reed dan Muench, grafik probit log-dosis dan Farmakope Indonesia.

BAB II  
POLA PENELITIAN

II.1 Penyiapan alat/bahan penelitian

Alat/bahan disiapkan sesuai dengan kebutuhan

II.2 Penyiapan sampel

Bintang laut (Protoreaster nodusus) diambil dari perairan sekitar Pulau Barang Lombo dibersihkan kemudian dicuci dengan air tawar, selanjutnya dipotong kecil-kecil kemudian diekstraksi dengan pelarut metanol secara maserasi pada suhu kamar selama 5 hari.

II.3 Penyiapan dan pemilihan hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit yang sehat, berat badan antara 20-30 gram, dewasa, gerakannya lincah dan gesit.

II.4 Pembuatan bahan penelitian

II.4.1 Pembuatan ekstrak bintang laut

II.4.2 Pembuatan suspensi ekstrak bintang laut

II.5 Perlakuan terhadap hewan percobaan

Kelompok kontrol diberi larutan CMC 1% b/v dan kelompok perlakuan diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut dengan konsentrasi berbeda-beda sebanyak 1 ml/25 gram berat badan, secara oral.

II.6 Pengamatan dan pengumpulan data

Pengamatan dilakukan terhadap hewan uji setelah pemberian ekstrak n-butanol bintang laut, secara peroral.



## II.7 Analisis data

Data pengamatan efek toksik dianalisis dengan menghubungkan jumlah efek yang tampak dengan faktor pembobotan dan kategori masing-masing efek yang diamati, dihitung dalam prosentase tiap kelompok. Sedang data untuk perhitungan LD<sub>50</sub> dianalisis dengan menggunakan metode Reed dan Muench, metode grafik probit log-dosis dan Farmakope Indonesia.

II.8 Pembahasan dilakukan berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data

II.9 Kesimpulan diambil berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data serta pembahasan.

BAB III  
TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Bintang laut

III.1.1 Sistematika Bintang laut (5)

Divisi	: Invertebrata
Filum	: Echinodermata
Kelas	: Asteroidea
Bangsa	: Valvatidae
Suku	: Oreasteridae
Marga	: Protoreaster
Jenis	: <u>Protoreaster nodusus</u>

III.1.2 Morfologi Bintang laut

Bintang laut amat mudah dikenali dari bentuknya seperti bintang berlengan lima atau lebih. Beberapa jenis bintang laut mempunyai warna cerah yang indah: merah, jingga, biru atau berbagai pola menarik dengan warna-warna yang kontras.

Mulut bintang laut terdapat di bagian pusat pada sisi oral yang menghadap ke bawah atau menghadap ke dasar laut, sedang duburnya terletak di sisi aboral yang menghadap ke atas. Meskipun jarak antara mulut dan duburnya amat pendek, tetapi saluran pencernaannya cukup panjang yang berlanjut sampai ke tiap lengan.

Di bagian bawah tiap lengan terdapat celah ambulakral yang memanjang, dan dari sini

mencuat deretan kaki-kaki berupa kaki-kaki tabung. Dengan kaki-kaki ini ia dapat bergerak atau melekatkan diri pada dasar tempat ia berada dan dapat bergerak ke segala arah dengan mudah.

Pada tiap lengan bintang laut terdapat kerucut-kerucut kecil dan panjang lengan dapat mencapai 10 cm. Tubuh bintang laut memang agak kaku tetapi masih dapat mengadakan gerakan melengkung atau memutar. Kekakuan tersebut disebabkan karena jaringan kapur muda yang mengelilingi daging yang lunak. Dari jaringan kulit yang kaku ini ditonjolkan sejumlah duri kapur yang adakalanya dapat digerakkan.

Kerangkanya melekat pada daging, yang berbeda dengan kerangka artropoda yang terletak di luar tubuhnya.

Daya gerak dari bintang laut merupakan mekanisme tekanan hidraulik, dikenal sebagai sistem saluran air yang spesifik dalam Echinodermata. Air masuk sistem ini melalui lobang-lobang kecil pada pelat penyaring pada permukaan atas, masuk melalui tabung saluran batu ke dalam saluran cincin. Dari saluran cincin ini terbentuk cabang-cabang saluran sesuai dengan banyaknya lengan bintang laut

dan tiap cabang saluran terdapat kantong-kantong yang mempunyai kaki-kakian.

Dengan gerakan mengembang dan mengempisnya kantong, bintang laut ini melakukan gerakan pada dasar batu karang atau substrat yang keras.

### III.1.3 Zat yang dikandung (3,7)

Bintang laut ini mengandung kolesterol sulfat, asterosaponin, karotenoid-protein homarin dan amonium kuarternar.

### III.1.4 Kegunaan bintang laut (3,4)

Bintang laut digunakan sebagai sitotoksik, hemolitik, antifungi dan antikoagulan.

## III.2 Natrium Karboksimetilselulose (8,9,10)

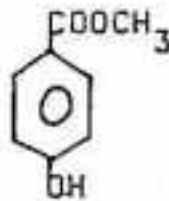
Berupa serbuk berwarna putih hingga krem, higroskopik, pH (1 dalam 100 bagian larutan yang mengandung air) antara 6,50 dan 8,50. Mudah didispersikan dalam air membentuk larutan koloidal, tidak larut dalam alkohol, eter dan banyak pelarut organik. Digunakan sebagai bahan pensuspensi, bahan penambah kekentalan.

Konsentrasi yang digunakan sebagai bahan pensuspensi adalah 0,5 - 2 % (9).

### III.3 Metil Paraben (10)

Nipagin M, Methylis parabenum

Rumus molekul



Metil paraben merupakan serbuk halus, putih hampir tidak berbau, tidak mempunyai rasa, titik lebur 125-128°C. Larut dalam 500 bagian air, dalam 20 bagian air mendidih. Sebagai bahan pengawet dalam konsentrasi 0,05 - 0,25 % (8).

### III.4 Ekstraksi (11)

Ekstraksi adalah pemisahan senyawa aktif dari tanaman atau jaringan hewan, dari komponen yang inaktif atau inert dengan menggunakan pelarut yang selektif.

Senyawa aktif yang terdapat pada tanaman, hewan dan beberapa jenis ikan pada umumnya berupa senyawa organik yang mudah larut tergantung dari senyawa apa yang akan diekstraksi. Pelarut atau cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, menyebabkan larutan yang paling pekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang terus sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Cara ekstraksi pada dasarnya dibagi dua, yaitu cara dingin misalnya maserasi, soxhlet dan perkolasi,

dan cara panas misalnya dengan menggunakan alat : ...  
refluks.

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Umumnya dilakukan dengan cara : 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari dikerai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan dikerai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian.

### III.5 Definisi Ekstrak (10)

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung, Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk.

### III.6 Toksisitas (12,13,14,15)

Toksisitas adalah kemampuan molekul suatu senyawa kimia untuk menimbulkan kerusakan pada saat mengenai tubuh baik bagian dalam maupun bagian permukaan tubuh yang peka terhadapnya.

Pada umumnya setiap senyawa kimia mempunyai potensi

terhadap timbulnya gangguan atau kematian jika terdapat dalam jumlah yang cukup, sesuai yang diungkapkan oleh Paracelcus mengatakan bahwa semua senyawa kimia adalah racun, tidak satupun yang tidak beracun, hanya takaranlah yang sebenarnya membedakan antara racun dan obat. Gambaran tentang suatu zat kimia bersifat aman atau tidak mengganggu kesehatan dapat diperoleh setelah dilakukan serangkaian uji toksisitas. Uji toksisitas dibagi dalam beberapa tipe yaitu, uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis dan uji toksisitas khusus.

### III.6.1 Uji toksisitas akut (12,13,14,15,16)

Toksisitas akut didefinisikan sebagai efek berbahaya terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian oral dosis tunggal atau dosis ganda suatu senyawa kimia dalam waktu 24 jam. Biasanya toksisitas akut terjadi sangat mendadak setelah pemberian dosis, gejalanya menyerupai gejala: muntah, berak-berak, kejang, aktifitas menurun, gemetar, dan kehilangan perasaan keseimbangan.

Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk menentukan suatu gejala sebagai akibat pemberian suatu senyawa kimia untuk menentukan peringkat letalitas senyawa itu.

Beberapa senyawa kimia ada yang mempunyai spektrum takaran untuk menimbulkan efek

keracunan atau kematian yang menunjukkan 50% binatang yang diberikan takaran tersebut, sehingga toksisitas akut dapat dinyatakan sebagai lethal dose ( $LD_{50}$ ).

Lethal concentration 50 ( $LC_{50}$ ) dan Tolerance Limit Median (TLM) yaitu besarnya kadar atau dosis yang dalam kondisi spesifik dapat menyebabkan kematian setengah dari jumlah populasi dalam jangka waktu tertentu.

Banyak penelitian tentang toksisitas akut telah dilakukan untuk menentukan  $LD_{50}$  senyawa-senyawa kimia. Tetapi  $LD_{50}$  tidak sama dengan toksisitas akut. Nilai  $LD_{50}$  hanya satu dari beberapa petunjuk dalam menentukan batasan toksisitas akut. Evaluasi ini tidak hanya mengenai  $LD_{50}$ , tetapi juga terhadap kelainan tingkah laku, stimulasi, atau depresi sistem saraf pusat, pernapasan dan aktivitas motorik, untuk mendapat gambaran tentang sebab kematian.

Pada umumnya senyawa kimia yang sangat beracun adalah yang dapat menimbulkan kematian dengan takaran beberapa mikrogram, sedang senyawa kimia lain relatif tidak berbahaya dengan takaran lebih dari beberapa gram.



Klasifikasi tingkat keracunan yang dikemukakan oleh Doull (1980) adalah sebagai berikut :

- > 15 g/kg ----- Praktis tidak toksis
- 5 - 15 g/kg ----- Sedikit toksis
- 0,5 - 5 g/kg ----- Toksisitas sedang
- 50 - 500 mg/kg --- Sangat toksis
- 5 - 50 mg/kg ----- ekstrem toksis
- < 5 mg/kg ----- super toksis

### III.6.2 Median Lethal Dose ( $LD_{50}$ ) (12,14,16,18)

Definisi yang paling sederhana adalah takaran yang dapat menyebabkan kematian 50% dari populasi. Menurut OECD arti yang lebih tepat adalah takaran tunggal yang diharapkan dapat menyebabkan kematian 50% dari binatang percobaan yang digunakan.

Nilai  $LD_{50}$  dapat digunakan untuk menunjukkan toksisitas akut suatu senyawa kimia dan dapat pula digunakan untuk menentukan indeks terapi suatu obat yaitu dengan membagi  $LD_{50}$  dengan  $ED_{50}$ . Takaran yang dapat memberikan efek yang diharapkan pada 50% binatang percobaan disebut  $ED_{50}$ .

Makin tinggi indeks terapi makin besar batas keamanan obat tersebut, juga  $LD_{50}$  dapat digunakan sebagai pedoman atau patokan dalam menentukan takaran suatu penelitian atau sediaan obat pada pengembangan obat baru.

Percobaan yang paling umum untuk menentukan  $LD_{50}$  suatu senyawa kimia dalam penelitian uji toksisitas akut dilakukan dengan menggunakan mencit, tikus besar, kelinci atau marmut dengan pemberian secara subkutan, intraperitoneal atau peroral.

Cara menentukan  $LD_{50}$  dapat dihitung dengan beberapa metode seperti Metode Reed dan Muench, yaitu dengan menggunakan nilai kumulatif.

Diasumsikan bahwa uji yang berefek oleh dosis tertentu akan memberikan  $LD_{50}$  diantara dosis yang lebih besar dari 50% dan dosis yang lebih kecil dari 50%.

Sedangkan penentuan  $LD_{50}$  dapat di hitung dengan menggunakan grafik.

Probit persentase binatang percobaan yang mengalami kematian ditempatkan pada ordinat dan logaritma dosis yang diberikan pada binatang percobaan ditempatkan pada absis.

Nilai  $LD_{50}$  diperoleh dengan menarik garis lurus yang memotong kurva pada ordinat 50, antilog titik ini menunjukkan  $LD_{50}$ . Dapat pula digunakan kertas log probit, prosentase respon masing-masing kelompok binatang ditempatkan pada ordinat dan log dosis obat yang diberikan sebagai dosis absis, atau

secara probit Analysis (12,14,16,18,19)..

### III.6.2.1 Persyaratan hewan uji

Dalam buku Hayes (12), di jelaskan bahwa setiap hewan uji memiliki keterbatasan bobot badan, luas permukaan tubuh, kapasitas organ dan volume cairan tubuh. Bobot badan untuk setiap mencit yakni 20 sampai 30 gram.

Ketelitian uji efektif yang digunakan pada suatu sediaan uji sangat tergantung pada jumlah hewan uji yang digunakan, untuk tingkat penelitian umumnya digunakan 4 sampai 6 kelompok hewan uji. bila pada penelitian digunakan tikus, tiap kelompok terdiri dari sekurang-kurangnya 4 ekor dan bila digunakan mencit, tiap kelompok terdiri dari 10 sampai 30 ekor.

Hewan uji yang digunakan harus dikarantina sekurang-kurangnya satu minggu agar dapat menyesuaikan iklim dan keadaan kandang. Sebelum perlakuan mencit betina di biarkan hamil dan melahirkan, kemudian dipelihara dan diamati keadaan umum serta kenaikan bobot

badannya selama 7 hari untuk mengetahui sehat atau tidak. Hewan dinyatakan sehat apabila pada periode pengamatan tersebut bobot badan bertambah, tetap atau pengurangan bobot badan tidak lebih dari 10 persen, serta tidak ada kelainan dalam tingkah lakunya.

Jika pelaksanaan uji secara oral, sebelum pemberian sediaan uji hewan harus dipuasakan, karena umumnya makanan yang mengisi lambung akan menyebabkan penurunan kecepatan pengosongan lambung. Tikus putih dipuasakan selama 1 malam dan mencit selama 3-4 jam.

Dalam Farmakope Indonesia edisi III (10), dikatakan bahwa tiap kelompok hewan uji diberi obat dengan dosis tertentu yang meningkat dengan faktor kelipatan tetap. Dosis yang digunakan harus memberikan efek pada hewan uji dari 0 sampai 100 persen.

BAB IV  
PENELITIAN DAN HASIL PENELITIAN

IV.1 Penyiapan Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat-alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Corong
3. Erlenmeyer 50 ml (Pyrex)
4. Gelas piala 50 ml (Pyrex)
5. Gelas ukur 25 ml (Pyrex)
6. Kandang mencit
7. Kertas timbang
8. Labu semprot
9. Lumpang dan alu
10. Meja alat bulat "plat form"
11. Parang
12. Pemanas
13. Pensil
14. Pipet volume
15. Rotavapor (Buchii)
16. Sduit oral ujung bulat (Kosan)
17. Stoples besar
18. Timbangan (Berkel)

#### IV.1.2 Bahan yang digunakan

1. Air suling
2. Bintang laut
3. Mencit
4. Metanol
5. Metil paraben
6. Natrium karboksimetilselulose
7. n-butanol
8. Petroleum eter

#### IV.2 Penyiapan Sampel

##### IV.2.1 Pengambilan sampel

Bintang laut (Protoreaster nodusus) diambil dari perairan sekitar Pulau Baranglombo dibersihkan kemudian dicuci dengan air tawar dan ditempatkan dalam wadah yang berisi metanol.

##### IV.2.2 Pengolahan sampel

Bintang laut yang telah dibersihkan dan selanjutnya dipotong kecil-kecil, kemudian ditimbang 2,5 kg dan dimasukkan kedalam alat maserasi di biarkan pada temperatur kamar.

#### IV.3 Penyiapan dan Pemilihan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan dan betina, sehat, gerakannya lincah, bulunya bersih, penurunan berat badan tidak lebih dari 5-10% dari berat badan semula dan berumur 2-3 bulan dengan bobot badan 20 - 30 gram. Jumlah mencit yang digunakan 60 ekor yang terdiri dari 30 ekor mencit jantan

dan 30 ekor mencit betina. Mencit tersebut dibagi dalam 6 kelompok yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina.

#### IV.4 Pembuatan bahan penelitian

##### IV.4.1 Pembuatan ekstrak bintang laut

Ekstrak bintang laut diperoleh dengan cara mengekstraksi 2,5 kg bintang laut secara maserasi pada temperatur kamar dengan pelarut metanol selama 5 hari dan setiap 24 jam diaduk kemudian disaring, ini dilakukan 3 kali.

Ekstrak metanol yang diperoleh dikumpulkan dan dikisatkan sampai kental dengan rotavapor kemudian ditimbang diperoleh ekstrak metanol kental 78,5 g. Ekstrak metanol yang sudah kental sebagian diidentifikasi dengan KLT (lihat gambar 3) dan sebahagian ditambahkan sedikit air kemudian diekstraksi dengan dietil eter dalam corong pisah dilakukan 3 kali.

Ekstrak eter yang diperoleh dikumpulkan dan dikisatkan dengan rotavapor kemudian ditimbang diperoleh ekstrak eter kental 25 g. Lapisan air dari ekstraksi dietil eter selanjutnya diekstraksi kembali dengan n-butanol jenuh air dalam corong pisah dilakukan sebanyak 3 kali.

Ekstrak n-butanol yang diperoleh dikumpulkan kemudian dikisatkan dengan rotavapor sampai kental, kemudian ditimbang diperoleh ekstrak n-butanol 10 g lalu diidentifikasi dengan KLT (lihat gambar 2 ).

#### IV.4.2 Pembuatan Suspensi Ekstrak Bintang Laut

##### IV.4.2.1 Pembuatan larutan CMC 1 % b/v (20)

Ditimbang metil paraben sebanyak 50 mg lalu dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 50 ml air yang telah dipanaskan hingga suhu sekitar 70°C sambil diaduk sampai larut, kemudian ditimbang CMC sebanyak 1 gram lalu masukkan sedikit demi sedikit kedalam larutan yang telah berisi metil paraben sambil diaduk dengan pengaduk elektrik hingga homogen kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 ml. Larutan CMC 1% ini didiamkan selama 2 hari sebelum digunakan.

##### IV.4.2.2 Pembuatan Suspensi Ekstrak n-BuOH Bintang Laut

Konsentrasi yang dibuat adalah 0,5%, 1%, 2%, 4% dan 8% b/v.

Suspensi ekstrak n-butanol 8% b/v :

Ekstrak n-butanol kental ditimbang sebanyak 8 gram dimasukkan ke dalam lumpang digerus, kemudian ditambahkan larutan CMC 1% b/v dalam jumlah yang sama dengan ekstrak dan digerus



hingga homogen.

Kemudian dimasukkan lagi larutan CMC 1% b/v aduk dan pindahkan kedalam labu takar 100 ml dan cukupkan volumenya dengan CMC 1% b/v. Untuk membuat suspensi ekstrak n-butanol bintang laut 8%, 4%, 2%, 1% dan 0,5% b/v dibuat dengan cara yang sama seperti dengan pembuatan suspensi ekstrak n-butanol bintang laut 8% b/v.

#### IV:5 Perlakuan terhadap Hewan Percobaan (12,14,16)

Tiap kelompok mencit terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina masing-masing ditempatkan dalam 1 kandang, kemudian masing-masing mencit ditimbang dan diberi tanda. Sebelum diberi perlakuan, mencit dipuasakan selama 3-4 jam. Pada perlakuan, kelompok kontrol diberi larutan koloidal Na CMC 1% b/v sebanyak 1 ml/25 g berat badan secara oral dan kelompok lainnya diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut sebanyak 1 ml/25 g berat badan secara oral dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 4% dan 8% b/v. Dari setiap kelompok diambil 4 ekor mencit secara acak, lalu diamati efek toksik yang timbul dibandingkan dengan kontrol. Waktu pengamatan adalah 5 menit, 10 menit, 15 menit, 30 menit, 60 menit, 120 menit, 180 menit dan 240 menit. Jadi total waktu pengamatan adalah 4 jam. Pengamatan dan pengujian meliputi uji panggung, uji urinasi, uji defekasi dan uji salivasi. Setelah diamati, diulang kembali pada mencit yang lain dalam

kelompok yang sama, kemudian dilanjutkan pada kelompok yang lain.

Cara pengujian :

1. Uji panggung, mencit yang telah diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut diletakkan diatas meja alas bulat "plat form" dengan diameter 30-40 cm dan tinggi 40-45 cm. Pada uji ini yang diamati adalah aktivitas mencit secara umum dan aktivitas motorik.
2. Uji katalepsi, mencit yang telah diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut diletakkan di atas pensil yang digerakkan dari atas ke bawah 2-3 cm di atas permukaan meja. Dicatat mudah tidaknya kaki depan mencit jatuh kembali ke atas meja.
3. Uji urinasi, pengeluaran urin mencit yang diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut dibandingkan dengan kontrol, menggunakan kertas saring.
4. Uji defekasi, pengeluaran tinja mencit yang diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut dibandingkan dengan kontrol.
5. Uji salivasi, pengeluaran air liur mencit yang diberi suspensi ekstrak n-butanol bintang laut dibandingkan dengan kontrol menggunakan kertas saring.

#### IV.5 Pengamatan dan Pengumpulan Data

Pengamatan dilakukan terhadap hewan uji yang menunjukkan baik efek yang normal maupun yang tidak normal terhadap kontrol. Data diambil dari jumlah hewan yang mati dan yang hidup dalam setiap kelompok atau konsentrasi

suspensi ekstrak n-butanol bintang laut dari hari pertama sampai hari ketujuh.

#### IV.7 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah menggunakan metode Reed dan Muench, grafik probit log-dosis dan menurut Farmakope Indonesia.

#### IV.8 Hasil Penelitian

Hasil penelitian setelah pemberian suspensi ekstrak n-butanol bintang laut secara oral pada mencit adalah sebagai berikut :

1. Gejala-gejala toksik yang diperlihatkan adalah berupa peningkatan laju pernapasan, pengeluaran urine yang berlebihan, gejala diare, penurunan aktivitas gerak dan terjadi kelumpuhan. Hasil pengamatan pada kelompok kontrol, yaitu kelompok yang diberi larutan koloidal Na CMC 1% b/v tidak menunjukkan gejala - gejala seperti diatas. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel I.
2. Nilai  $LD_{50}$  ekstrak n-butanol bintang laut menurut metode Reed dan Muench diperoleh 0,8002 g/kg berat badan. Nilai  $LD_{50}$  ekstrak n-butanol bintang laut menurut Farmakope Indonesia diperoleh 0,8000 g/kg badan. Nilai  $LD_{50}$  ekstrak n-butanol bintang laut berdasarkan metode grafik probit log-dosis diperoleh 0,7736 g/kg berat badan.

3. Jumlah kematian mencit berdasarkan perbedaan jenis kelamin dapat dilihat pada tabel III. Dan untuk melihat apakah ada pengaruh pemberian ekstrak n-butanol bintang laut terhadap kematian mencit jantan dan betina, maka dilakukan uji statistik dimana hasilnya tidak berbeda nyata atau non signifikan. Hasil analisa secara statistik dapat dilihat pada lampiran G.

BAB V  
PEMBAHASAN

Uji toksisitas akut suspensi ekstrak n-butanol bintang laut (Protoreaster nodusus) pada percobaan mencit memberikan hasil sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak n-butanol bintang laut secara oral pada mencit dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 4%, dan 8% b/v memperlihatkan gejala-gejala toksik berupa pengeluaran urine yang berlebihan, diare, peningkatan laju pernafasan, penurunan aktivitas gerak dan kelumpuhan (lihat tabel 5). Gejala toksik tersebut dikategorikan sebagai parasimpatomimetik, stimulasi sistim saraf pusat dan relaksasi otot. Efek kejang pada konsentrasi 0,5% dan 1% b/v belum terlihat. Pada konsentrasi selanjutnya, semua gejala di atas sudah nampak dan beberapa saat setelah pemberian ekstrak n-butanol bintang laut dengan konsentrasi 2%, 4% dan 8% b/v sudah ada yang mati.

Data pengamatan efek toksik ini selanjutnya dianalisis dengan menghubungkan jumlah efek yang tampak dengan faktor pembobotan dan kategori masing-masing efek yang diamati (lihat lampiran A). Dari analisis data tersebut, diperoleh prosentase kategori untuk setiap kelompok seperti terlihat pada lampiran B.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,5% b/v, kategori efek diurutkan dari tertinggi prosentasenya adalah simpatolitik, depresi sistim saraf sama

dengan relaksasi otot, stimulasi sistim saraf pusat dan parasimpatomimetik. Pada konsentrasi 1% b/v kategori yang paling tinggi persentasenya adalah simpatolitik sama dengan depresi sistim saraf pusat dan relaksasi otot kemudian stimulasi sistim saraf pusat dan parasimpatomimetik. Konsentrasi 2% dan 4% b/v urutan persentase kategorinya sama mulai dari yang tertinggi adalah relaksasi otot dan depresi sistim saraf pusat, simpatolitik dan simpatomimetik. Sedang pada konsentrasi 8% b/v adalah depresi sistim saraf pusat sama dengan relaksasi otot, stimulasi sistim saraf pusat, parasimpatomimetik, simpatolitik dan simpatomimetik.

Gejala toksik sudah dapat diamati pada konsentrasi 0,5% b/v dan semakin meningkat pada konsentrasi tinggi, Gejala keracunan akut dari suspensi ekstrak n-butanol bintang laut yang paling dominan adalah depresi sistim saraf pusat dan relaksasi otot dimana kemungkinan besar penekanan sistim saraf pusat dan relaksasi otot yang berperan menyebabkan kematian mencit.

2. Dari hasil pengamatan jumlah kematian mencit setelah pemberian suspensi ekstrak n-butanol bintang laut menunjukkan pada konsentrasi 0,5% b/v tidak ada mencit yang mati pada hari ketujuh. Jumlah kematian tertinggi mencit terjadi pada konsentrasi 8% b/v dalam waktu 24 jam, kematian mulai terjadi 60 menit setelah pemberian dengan tanda-tanda gelisah, lumpuh dan kejang kemudian mati. Mencit yang masih hidup menunjukkan tingkah laku yang kurang

aktif dan malas makan tetapi berangsur-angsur akan pulih kembali setelah beberapa hari.

3. Dari ketiga metode pengujian  $LD_{50}$  nampak ada perbedaan, ini disebabkan oleh prosedur hitung numerik berbeda. Metode Reed dan Muench melakukan hitung penetapan  $LD_{50}$  tanpa asumsi distribusi kepeluangan. Reed dan Muench mengasumsikan bahwa uji yang oleh efek dosis tertentu akan memberikan  $LD_{50}$  di antara dosis yang lebih besar 50 % yaitu :

$$LD_{50} = \left[ \frac{(0,5 - a)}{b - a} (\log \frac{k}{s}) + \log s \right]^{10}$$

Metode Farmakope Indonesia dianalisis secara non statistik dan mempunyai syarat yaitu :

- menggunakan seri dosis dengan pengenceran berkelipatan tetap
- jumlah hewan percobaan atau jumlah biakan jaringan tiap kelompok harus sama
- dosis diatur sedemikian rupa, sehingga memberikan efek dari 0%-100% dan perhitungan dibatasi pada kelompok percobaan yang memberikan efek dari 0%-100%.

Metode grafik probit log dosis, melakukan hitung penetapan  $LD_{50}$  melalui garis regresi antara probit (y) dan log dosis (x) :  $y = a + bx$ .

Metode ini mengasumsikan y berdistribusi normal baku dan x berdistribusi normal dengan mean  $\mu$  dengan variansi  $\sigma^2$ .

Garis regresi ini dihitung secara semi manual dengan paket komputasi lotus 123, dimana probit diperoleh dari tabel

probit. Pada penelitian ini prosentase kematian kumulatif tidak tepat seperti yang ada pada tabel probit, sehingga untuk menentukan nilai probit suatu prosentase kematian kumulatif dilakukan interpolasi. Hal ini memungkinkan pada pembulatan (lampiran C,D,E).

Dengan metode ini  $LD_{50}$  diperoleh melalui rumus :

$$LD_{50} = 5 - \frac{a}{b}$$

4. Hasil analisis data untuk menentukan efek toksik secara statistik diperoleh nilai t hitung sebesar 0,1482. Sedangkan dari tabel distribusi t dengan  $\alpha = 0,01$  dB 8 diperoleh nilai t sebesar 3,36. Jadi nilai t hitung terletak antara t tabel, yang berarti pengujian bersifat non signifikan, artinya tidak ada perbedaan pengaruh efek toksik antara pencit jantan dan betina pada pemberian suspensi ekstrak n-butanol bintang laut. (lihat lampiran G).
5. Hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan untuk ekstrak metanol dengan larutan pengembang EtOAc-EtOH-H<sub>2</sub>O (8:2:1) menampakkan 4 noda, sedang untuk larutan pengembang Heksan-EtOAc (8:2) terdapat 3 noda dan untuk ekstrak n-butanol dengan dengan larutan pengembang EtOAc-EtOH-H<sub>2</sub>O (8:2:1) menampakkan 4 noda, sedang untuk larutan pengembang (20:6:1) menampakkan 3 noda (gambar 2 dan 3). Setelah diteliti menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan ekstrak n-butanol bintang laut dapat dikatakan diantara noda-noda yang nampak dalam KLT ada yang merupakan zat toksik.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan yang diperoleh setelah dilakukan penelitian, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak n-butanol bintang laut (Protoreaster nodusus) mempunyai efek dengan kategori yang paling dominan adalah depresi sistim saraf pusat dan relaksasi otot kemudian stimulasi sistim saraf pusat parasimpatomimetik, simpatolitik dan terakhir simpatomimetik.
2. Nilai LD<sub>50</sub> ekstrak n-butanol bintang laut adalah 0,7736 ± 0,1307 g/kg berat badan mencit dan termasuk kategori toksisitas sedang.
3. Jenis kelamin hewan uji tidak mempengaruhi efek toksik.

#### VI.2 Saran-saran

1. Untuk mendapatkan Indeks Terapinya dilakukan penelitian ED<sub>50</sub> dari ekstrak n-butanol bintang laut.
2. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi ekstrak n-butanolnya untuk mengetahui senyawa mana yang mempunyai toksisitas sedang.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Montji, A., (1986), "Laut Nusantara", Djambatan, Jakarta, 6-13, 200-209.
2. Dharma, A.P., (1982), "Tanaman Obat Tradisional Indonesia", Balai Pustaka, Jakarta, 7-8.
3. Russel, E.F., (1978), "Marine Toxine and Venomous and Poisonous Marine Animals", T.F.H. Publ. Inc., New York, 43-47.
4. Mursydi, A., (1984), "Statistika Farmasi dan Biologi", Ghalia Indonesia, Cetakan I, Jakarta, 61-101.
5. Hegner, W.R. and J.G. Engemann., (1968), "Invertebrate Zoology", Second Edition, The Macmillan Company, New York, 540-551.
6. Buchsbaum, R., (1976), "Animals Without Backbones . An Introduction to the Invertebrates", Second Edition, The University of Chicago Press, Chicago and London, 299-309.
7. Scheur, J.P., (1978), "Marine Natural Products. Chemical and Biological Perspectives", Volume II, Academic Press, New York, 1-3.
8. Osol, A., et al (Eds). (1985), "Remington's Pharmaceutical Science", Seventeenth Edition, Mack Publishing Company, Pensilvania, 1167,1297,1516.
9. Scoville's, (1957), "The Art of Compounding", Ninth Edition, The Blakiston Division, New York, Toronto, London, 305.

10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (1979), "Farmakope Indonesia", Edisi III, Jakarta, 9,378,401,910.
11. Thompson, B.E., "Drug Bioscreening", Fundamentals of Drug Evaluation Techniques in Pharmacology, Graceway Publishing Company, Inc, New York, 87-111.
12. Hayes, A.W., (Ed), (1983), "Principles and Methods of Toxicology", Raven Press, New York, 4-23.
13. Gan, S., Setiabudy, R., Syamsuddin, U., dan Bustami Z,S., (1987). Edisi III, "Farmakologi dan Terapi", Edisi III, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta, 689, 695-696.
14. Loomis, Ted.A., (1978), "Toksikologi Dasar", Terjemahan oleh Donatus, I.A., Edisi III, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, 20,28,208,228.
15. Koeman, J.H., (1987), "Pengantar Umum Toksikologi", Terjemahan oleh Yudono, R.H., Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 34-36,58,228.
16. Doull's, Casarett., (1980), "Toxicology", The Basic Science of Poisons, Second Edition, Macmillan Publishing Co, Inc., New York, 20-24.
17. Turner, R.A., (1965), "Screening Methods in Pharmacology", Academic Press, New York and London, 61-63.
18. Gilman A.G., Goodman L.S., (1980), "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Sixth Edition, Macmillan Publishing Co, Inc, New York, Toronto, London, 1603.

19. Ritschel, W.A., (1974), "Laboratory Manual of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics", Drug Intelligence Publication, Cincinnati, 17.
20. Donatus, I.A., dan Nurlaila., (1986), "Obat Tradisional dan Fitoterapi Uji Toksikologi", Kursus Penyegaran, Panitia Lustrum VIII dan Reuni Fakultas Farmasi, Universitas GadjahMada, Yogyakarta, 12-15.
21. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (1986), "Sediaan Galenik", Jakarta, 1-10.

Tabel 2 : Hasil Pengamatan Efek Toksik setelah Pemberian Ekstrak n-Butanol Rintang Laut

Gaster yang diamati	K	Konsentrasi yang diberikan																																																					
		0,5% b/v										1% b/v										2% b/v										4% b/v										8% b/v													
		5	10	15	30	60	120	180	240	5	10	15	30	60	120	180	240	5	10	15	30	60	120	180	240	5	10	15	30	60	120	180	240	5	10	15	30	60	120	180	240														
Diare (diarrhea)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kelemahan laju pernapasan (decrease respiratory rate)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Kemungkinan (convulsion)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Penurunan aktivitas motorik (decrease motor activity)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Kelemahan (paralysis)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Keterangan : K = Kontrol (CMC 1% b/v)  
 5 - 240 = waktu pengamatan (Menit)  
 - = Tidak ada efek  
 + = ada efek  
 \* = terjadi percobaan mati

Tabel II : Hasil pengamatan jumlah kematian hewan uji setelah pemberian ekstrak n-butanol bintang laut

Konsentrasi % b/v	Jumlah hewan uji	Jumlah hewan uji mati	Jumlah hewan uji hidup
kontrol	10	0	10
0,5	10	0	10
1	10	2	8
2	10	5	5
4	10	8	2
8	10	10	0

Tabel III : Hasil pengamatan jumlah kematian hewan uji berdasarkan perbedaan jenis kelamin setelah pemberian ekstrak n-butanol bintang laut

Konsentrasi % b/v	Kelompok hewan uji		Mati		Jumlah mati
	jantan	betina	jantan	betina	
kontrol	5	5	0	0	0
0,5	5	5	0	0	0
1	5	5	1	1	2
2	5	5	2	3	5
4	5	5	5	3	8
8	5	5	5	5	10

Tabel IV : Harga probit sesuai persentasenya

Persen tise	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,66	7,75	7,88	8,09

Sumber : Statistika Farmasi dan Biologi (1984).



Tabel V : Nilai bobot per probit

Probit	w									
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
1	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,003	0,005	0,006	0,006	0,011
2	0,015	0,019	0,025	0,031	0,040	0,050	0,062	0,076	0,092	0,110
3	0,131	0,154	0,180	0,208	0,238	0,269	0,302	0,336	0,370	0,405
4	0,439	0,471	0,503	0,532	0,558	0,581	0,601	0,616	0,627	0,634
5	0,637	0,634	0,627	0,616	0,601	0,581	0,558	0,532	0,503	0,471
6	0,439	0,405	0,370	0,336	0,302	0,269	0,238	0,208	0,180	0,154
7	0,131	0,110	0,092	0,076	0,062	0,050	0,040	0,030	0,025	0,019
8	0,015	0,011	0,008	0,006	0,005	0,003	0,002	0,002	0,001	0,001

Sumber : Statistika Farmasi dan Biologi (1984).

Keterangan :

w = Faktor bobot masing-masing probit

Tabel VI : Harga  $\chi^2$  ( Chi kuadrat)

°	Harga $\chi^2$		°	Harga $\chi^2$	
	P = 0,95 P' = 0,05	P = 0,99 P' = 0,01		P = 0,95 P' = 0,05	P = 0,99 P' = 0,01
1	3,84	6,63	9	16,9	21,7
2	5,99	9,21	10	18,3	23,2
3	7,81	11,3	11	19,7	24,7
4	9,49	13,3	12	21,0	26,2
5	11,1	15,1	15	25,0	30,6
6	12,6	16,8	20	31,4	37,6
7	14,1	18,5	25	37,7	44,3
8	15,5	20,1	30	43,8	50,9

Sumber : Statistika Farmasi dan Biologi (1984)

Lampiran A : Hubungan antara Faktor Pembobotan, Aktivitas dan Kategori

No.	AKTIVITAS	FAKTOR PEMBOBOTAN	KATEGORI						
1	Urine (urination)	2,0			PARASYM M				
2	Diare (Diarrhea)	1,0			PARASYM M				
3	Peningkatan laju pernapasan (Increase respiration rate)	2,0							
4	Kejang (Convulsion)	1,0			SYMM				
5	Penurunan aktivitas gerak (Decrease motor activity)	1,0		CNS DEP					
6	Kelumpuhan (Paralysis)	1,0		CNS DEP					

Keterangan : CNS DEP : Depresi sistim syaraf pusat  
 CNS ACT : Stimulasi sistim syaraf pusat  
 PARASYM M : Parasimpatomimetik  
 SYMM : Simpatomimetik  
 SYML : Simpatolitik  
 MUSC.REL : Relaksasi otot

Lampiran B : Hasil Perhitungan Banyaknya Efek yang Tampak Dihubungkan  
 dengan Faktor Pembobotan masing-masing Aktivitas :

NO.	KATEGORI	KONSENTRASI YANG DIBERIKAN					
		0,5 %	1 %	2 %	4 %	8 %	
1.	PARASYMM	15,62 %	22,91 %	25,19 %	31,57 %	72,62 %	
2.	CNS DEP	34,37 %	37,50 %	46,03 %	50 %	83,33 %	
3.	CNS ACT	25 %	34,37 %	41,05 %	48,80 %	77,77 %	
4.	SYMM	0	0	3,23 %	17,86 %	19,05 %	
5.	SYML	34,38 %	37,50 %	39,68 %	44,64 %	66,66 %	
6.	MUSC REL	34,37 %	37,50 %	46,03 %	50 %	83,33 %	

Rumus yang digunakan untuk memperoleh nilai di atas adalah :

$$\% = \frac{\sum (\text{banyaknya efek yang diamati} \times \text{faktor pembobotan})}{\sum (\text{banyaknya pengamatan} \times \text{faktor pembobotan})}$$

Keterangan :

banyaknya efek yang tampak dan jumlah pengamatan diambil dari tabel I dan faktor pembobotan diambil dari lampiran A

Lampiran C : Perhitungan  $LD_{50}$  Ekstrak n-Butanol Bintang Laut Menurut Cara Reed dan Muench

Kelompok hewan uji	Dosis g/kg	Mati	Hidup	Kumulatif		Total	% Mati
				Mati	Hidup		
1	0,2	0	10	0	25	25	0
2	0,4	2	8	2	15	17	11,76
3	0,8	5	5	7	7	14	50,00
4	1,6	8	2	15	2	17	88,23
5	3,2	10	0	25	0	25	100

Dari data yang tercantum pada tabel diatas, terlihat bahwa persentase kematian mencit terletak antara dosis 0,4 g/kg dan 1,6 g/kg berat badan.

Cara perhitungan  $LD_{50}$  yaitu :

$$1. \text{ Jarak proporsi} = \frac{50\% - a}{b - a}$$

$$2. \text{ Log pertambahan dosis} = \log \frac{k}{s}$$

3. Perkalian (1) dan (2)

4. Log s

$$5. LD_{50} = \text{anti log (3) + (4)}$$

dimana : a = persentase kematian yang lebih kecil dari 50%

b = persentase kematian yang lebih besar dari 50%

k = dosis yang lebih besar dari 50%

s = dosis yang lebih kecil dari 50%

Sehingga :

$$1. \text{ Jarak proporsi} = \frac{50\% - 11,76\%}{88,23\% - 11,76\%} = 0,5001$$

$$2. \text{ Log pertambahan dosis} = \frac{\log 1,6}{0,4} = 0,6021$$

$$3. ( 0,5001 \times 0,6021 ) = 0,3011$$

$$4. \text{ Log } 0,4 = -0,3979$$

$$5. \text{ LD}_{50} = \text{antilog} ( 0,3011 + (-0,3979) ) \\ = 0,8002 \text{ g/kg}$$

Lampiran D : Perhitungan LD<sub>50</sub> Menurut Farmakope Indonesia  
Edisi III dari ekstrak n-butanol bintang laut

Konsentrasi	Σ hewan tiap kelompok	Hewan yang mati	Hewan yang hidup	pi
8	10	10	0	1
4	10	8	2	0,8
2	10	5	5	0,5
1	10	2	8	0,2
0,5	10	0	10	0

$$m = a - b ( p_i - 0,5 )$$

$$m = \log LD_{50}$$

a = logaritma dosis terendah yang menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok

b = beda logaritma dosis yang berurutan

Σ pi = jumlah hewan yang mati menerima dosis i dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i

$$m = a - b ( p_i - 0,5 )$$

$$\Sigma p_i = 1 + 0,8 + 0,5 + 0,2 + 0 = 2,5$$

$$m = 3,2 - 0,3010 ( 2,5 - 0,5 ) = -0,0969$$

$$\text{anti log} = + 0,0969$$

$$LD_{50} = 0.8000 \text{ g/kg}$$

Lampiran E : Perhitungan Hasil Penelitian dengan Metode Grafik setelah Pemberian Ekstrak n-Butanol Bintang Laut

Log-dosis		Probit		XY
x	x <sup>2</sup>	y	y <sup>2</sup>	
-0,3979	0,1583	4,1584	17,2923	-1,6546
-0,0969	0,0094	5,0000	25,0000	-0,4845
0,2041	0,0417	5,8416	34,1243	1,1922
0,5051	0,2551	7,1601	51,2670	3,6166

Persamaan garis regresinya :  $Y = bx + a$

Untuk menghitung harga a dan b digunakan rumus :

$$a = \frac{\sum x^2 \cdot \sum Y - \sum x \cdot \sum XY}{N \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{N \sum XY - \sum x \cdot \sum Y}{N \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$a = 5,3647$$

$$b = 3,2713$$

Persamaan garis regresinya adalah :

$$Y = 3,2713 x + 5,3647$$

Jika  $Y = 5$ , maka  $x = (5 - 5,3647)/3,2713$

$$x = -0,1115$$



Lampiran F : Perhitungan Ketelitian LD<sub>50</sub> Ekstrak n-Butanol Bintang Laut (Protoreaster nodusus) pada Mencit



Dosis % b/v	2	4	8	16
W	0,503	0,637	0,503	0,092
nW	5,03	6,37	5,03	0,92
nW	17,35			

Keterangan :

W = Faktor bobt masing-masing

n = Banyaknya hewan uji dalam kelompok

Untuk menghitung SE (LD<sub>50</sub>) digunakan rumus sebagai berikut

$$SE (LD_{50}) = (10^m) (\log e^{10}) (S_m)$$

$$S_m = \frac{\sigma^2}{\sqrt{\sum nW}}$$

$$= \frac{1}{\text{Slope}} = \frac{1}{3,2713} = 0,3057$$

Sehingga :

$$S_m = \frac{0,3057}{\sqrt{17,35}} = 0,0734$$

$$SE (LD_{50}) = (0,7736) (2,302) (0,0734) = 0,1307$$

Jadi nilai LD<sub>50</sub> yang tepat adalah 0,7736 ± 0,1307 g/kg BB

Lampiran G : Hasil Analisa Statistik Data dengan Uji t Berpasangan Terhadap Jumlah Kematian Mencit Jantan Betina Setelah Pemberian Ekstrak n-Butanol Bintang Laut

No	Jumlah hewan mati		$x_1^2$	$x_2^2$
	Jantan ( $x_1$ )	Betina ( $x_2$ )		
1	0	0	0	0
2	1	1	1	1
3	2	3	4	9
4	5	3	25	9
5	5	5	25	25
	$\bar{X}_1 = 13$	$\bar{X}_2 = 12$	$\bar{X}_1^2 = 55$	$\bar{X}_2^2 = 44$
	$\bar{x}_1 = 2,6$	$\bar{x}_2 = 2,4$		

$$sd^2 X_1 = \frac{n \bar{x}_1^2 - (\sum x_1)^2}{n(n-1)}$$

$$= \frac{5(55) - (13)^2}{5(5-1)} = \frac{106}{20} = 5,3$$

$$sd X_1 = \sqrt{5,3} = 2,3022$$

$$sd^2 X_2 = \frac{5(44) - (12)^2}{5(5-1)} = \frac{76}{20} = 3,8$$

$$sd X_2 = \sqrt{3,8} = 1,9494$$

$$sd^2 X_1 X_2 = \frac{(n_1 - 1) sd^2 X_1 + (n_2 - 1) sd^2 X_2}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$= \frac{(5 - 1) 5,3 + (5 - 1) 3,8}{5 + 5 - 2} = 4,55$$

$$Sd \ X_1 X_2 = \sqrt{4,55} = 2,1331$$

$$t_h = \frac{X_1 - X_2}{Sd \ X_1 X_2 \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}} \quad \text{dimana ; } H_0 = \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 = \mu_1 \neq \mu_2$$

$$t_h = \frac{2,6 - 2,4}{2,1331 \sqrt{1/5 + 1/5}}$$

$$= \frac{0,2}{2,1331 \sqrt{0,4}} = 0,1482$$

t tabel dengan tingkat kepercayaan 99% dengan db 8

$$t \text{ tabel } (0,995 ; 8) = 3,36$$

$$-t(1 - 1/2\alpha) < t_{hitung} < t(1 - 1/2\alpha)$$

$$-3,36 < 0,1482 < 3,36$$

Maka 0,1482 terletak antara -3,36 dan 3,36, Jadi  $H_0$  diterima (non signifikan) atau jumlah kematian antara mencit jantan dan betina pada pemberian suspensi ekstrak n-butanol bintang laut tidak menunjukkan perbedaan yang sangat nyata.

Keterangan :

$\bar{X}_1$  = Jumlah total mencit jantan yang mati

$\bar{X}_2$  = Jumlah total mencit betina yang mati

$\bar{X}_1$  = Nilai tengah mencit jantan yang mati

$\bar{X}_2$  = Nilai tengah mencit betina yang mati

$Sd^2$  = Varians (keragaman)

$Sd$  = Standar deviasi (Simpangan baku)

Lampiran H : Analisis Data Hasil Pemberian Suspensi Ekstrak n-butanol Bintang Laut (Protoreaster nodusus) Menggunakan Uji Chi Kuadrat

Log-dosis (X)	n	Probit		P	Respon		
		O	E		O	E	X <sup>2</sup>
2,3010	10	4,16	4,061	17,03	2	1,703	0,0518
2,6021	10	4,75	5,047	51,05	5	5,105	0,0022
2,9031	10	5,84	6,032	89,08	8	8,908	0,0926

$$dk = 8$$

$$x^2 = 0,1466$$

Keterangan :

X = Logaritma dosis suspensi ekstrak bintang laut dari pelarut n-butanol masing-masing kelompok  
 n = Banyaknya binatang yang digunakan masing-masing kelompok

P = Kemungkinan yang diharapkan

O = Frekwensi yang diamati

E = Frekwensi yang diharapkan

X<sup>2</sup> = Chi kuadrat

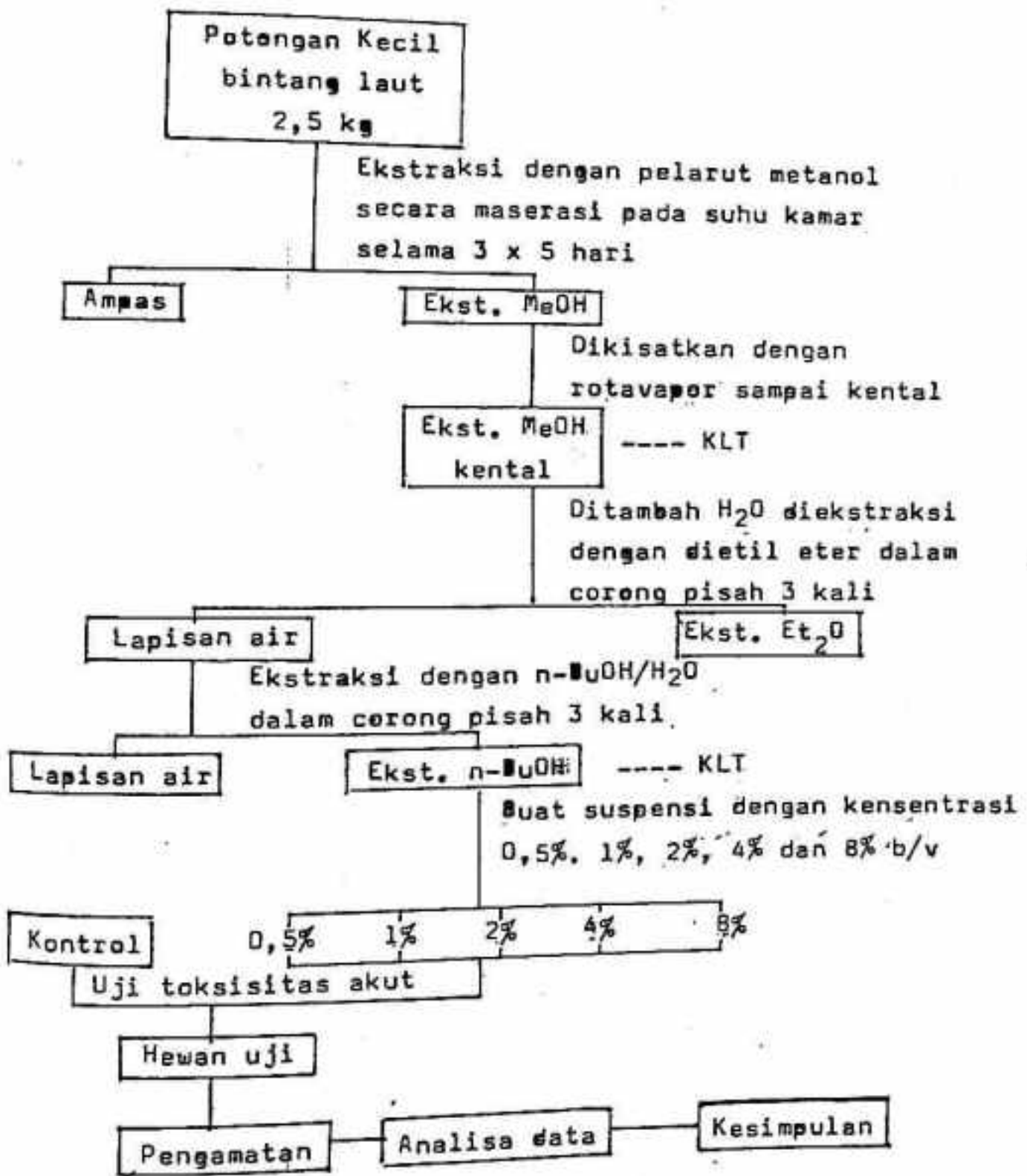
dk = Derajat kebebasan (dk = n - 2)

Persamaan Chi kuadrat :

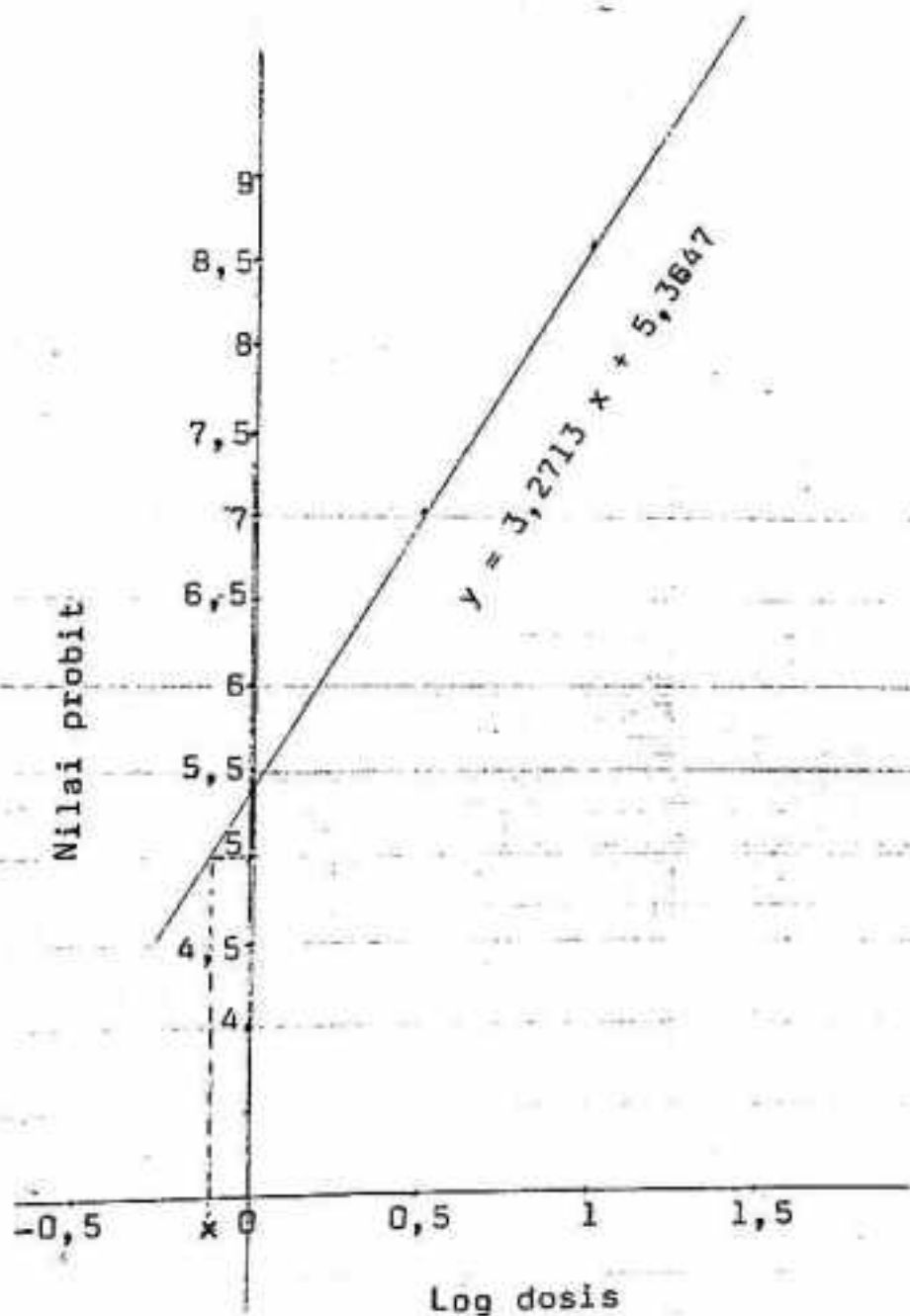
$$x^2 = \frac{(O - E)^2}{E}$$

Chi kuadrat untuk dk = 8 adalah 15,5 pada P' = 0,05 dan x<sup>2</sup> yang didapatkan dari perhitungan adalah 0,1466. Karena nilainya lebih kecil dari tabel maka garis yang dibuat adalah memadai

Lampiran I : Skema Kerja Uji Toksisitas Akut Ekstrak n-butanol Bintang Laut (Protoreaster nodusus) Terhadap Hewan Uji Mencit



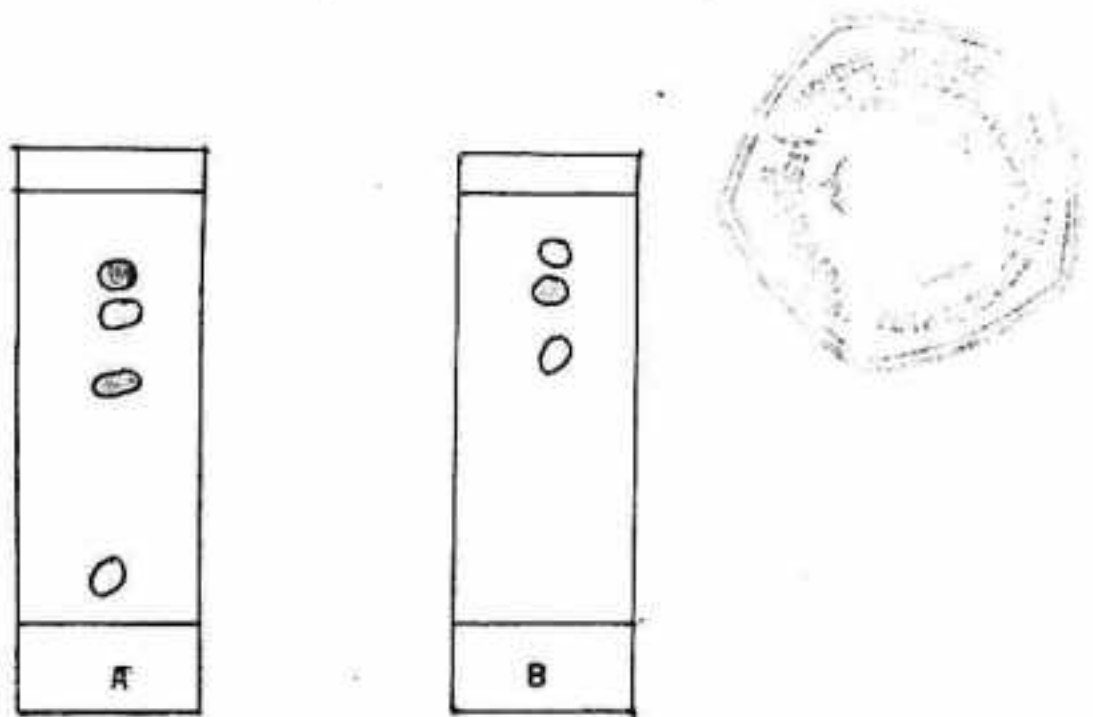
Gambar 1. Kurva Hubungan antara Nilai Probit terhadap Log dosis Suspensi Ekstrak n-Butanol Bintang Laut (Protorester nodusus)



$$y = 5 \text{ maka } 5 = 3,2713 x + 5,3647$$

$$x = -0,1115$$

anti log -0,1115 adalah 0,7736

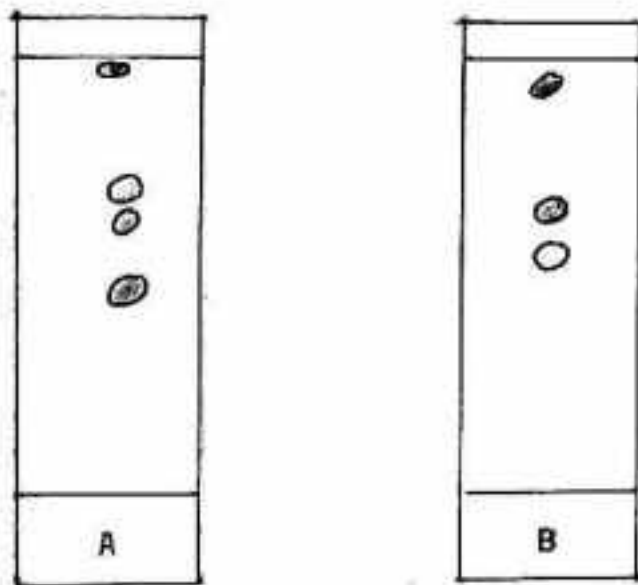


Gambar 2. Hasil Kromatografi lapis tipis ekstrak n-butanol

Keterangan :

A = Cairan pengelusi EtOAc-EtOH-H<sub>2</sub>O (8 : 2 : 1)

B = Cairan pengelusi EtOAc-EtOH-H<sub>2</sub>O (20 : 6 : 1)



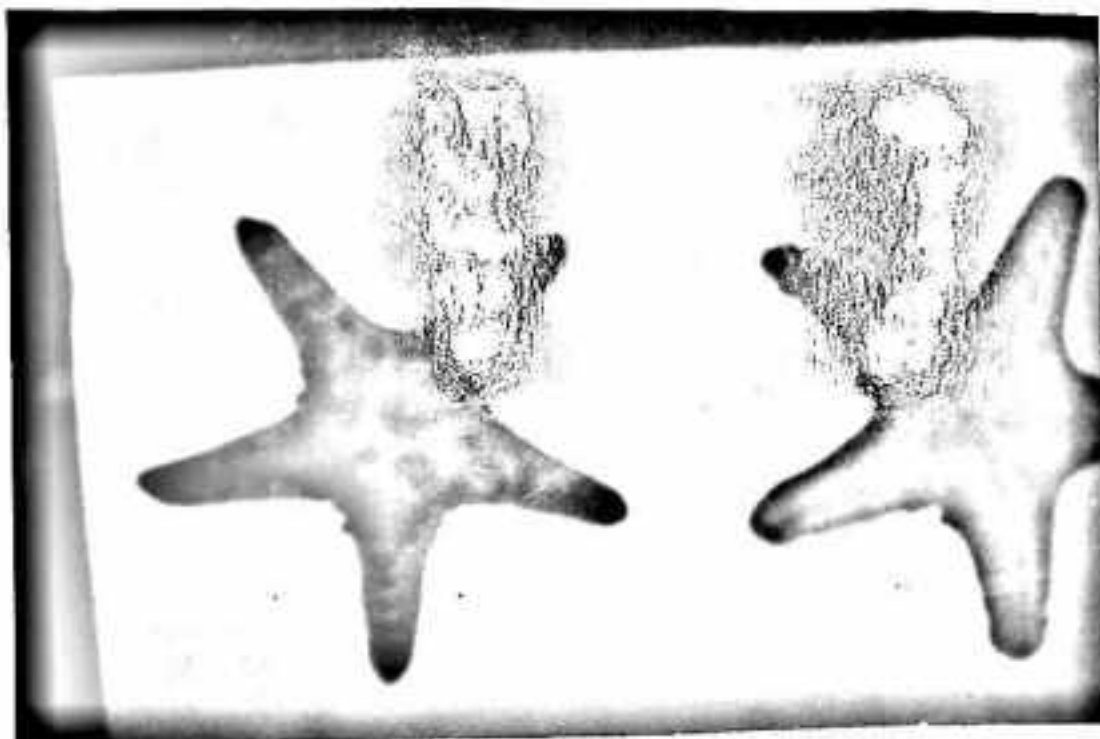
Gambar 3. Hasil Kromatografi lapis tipis ekstrak metanol

Keterangan :

A = Cairan pengelusi EtOAc-EtOH-H<sub>2</sub>O (8 : 2 : 1)

B = Cairan pengelusi Heksan-EtOAc (8 : 2)





A

B

Gambar 4. Morfologi bintang laut (Protorester nodusus)

A. Permukaan atas

B. Permukaan bawah