

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL
KLIPA PISE (Alstonia scholaris R. BR) PADA MENCIT

OLEH

ANDI ALFIAN

9203085

REKORD KIRI KIRI 1999 8 APR 2001

28.3.2001
Fals. Mpa
1 dup

010328 4.6



JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
UJUNG PANDANG
1999

SKRIPSI

OLEH
ANDI ALFIAN
9203085



JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
UJUNG PANDANG

1999

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL
KLIKA PULE (*Alstonia scholaris* R.BR) PADA MENCIT

Skripsi untuk melengkapi tugas-tugas dan
memenuhi syarat-syarat untuk mencapai
gelar sarjana


OLEH
ANDI ALFIAN
9203085

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
UJUNG PANDANG


1999

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL
KLIKA PULE (*Alstonia scholaris* R.BR) PADA MENCIT**

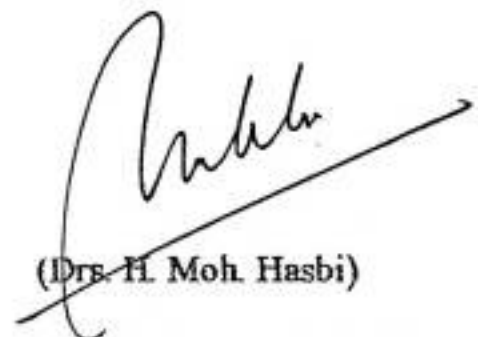
Disetujui oleh
Pembimbing Utama


(Dra. Sukati Kadis, MS)

Pembimbing Pertama


(Dra. Hj. Susanti Said, Msi)

Pembimbing Kedua


(Drs. H. Moh. Hasbi)

pada tanggal

UCAPAN TERIMA KASIH

Sesungguhnya pujian hanya untuk Allah, kami memuji-Nya dan kami mohon pertolongan-Nya dan kami memohon ampun kepada-Nya dan kami berlindung kepada-Nya dari kejelekan amal perbuatan diri kami. Salawat dan salam kepada Muhammad hamba dan utusan Allah beserta keluarga, sahabat dan orang-orang yang mengikutinya dengan baik hingga akhir zaman.

Kami bersyukur kepada Allah, setelah dengan susah payah kami berusaha menyusun hingga akhirnya dapat merampungkan skripsi ini. Tentu saja dalam penayungannya banyak pihak yang berperan dalam memberikan dorongan dan bimbingan terutama kedua orang tua kami, Bapak Yonreng Dg Nampo, BSc dan Ibu St. Hasnah Dg Puji. Selain itu kami, dengan segala kerendahan hati menghaturkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Ny. Sukati Kadis, MS, selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing kami selama ini.
2. Bapak Dra. Hj. Susanti Said, MSi, selaku Pembimbing Pertama yang telah membimbing kami selama ini,
3. Bapak Drs. H. Moh. Hasbi, selaku Pembimbing Kedua yang telah membimbing kami selama ini.

4. Ibu DR. Latifah Rahman, MSc, selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan arahan dan dorongan yang banyak kepada kami,
5. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
6. Bapak Ketua Jurusan Farmasi FMIPA-UH yang telah memberikan dorongan moril dan bantuan administrasi kepada kami,
7. Bapak-bapak dan Ibu-ibu Dosen Jurusan Farmasi yang terhormat yang telah mendidik kami selama ini,
8. Rekan-rekan dari angkatan 1992 yang memberikan dorongan kepada kami untuk segera menyelesaikan kuliah kami di jenjang strata-1 yang sudah sangat lama ditekuni.
9. Saudara Lalu Wiskariyadi (Mah. Farmasi Ang. 1994) atas penggunaan komputer dan printernya.
10. Adik-adikku tercinta ; Lini, Anie, Tamsil dan Asrul atas bantuan dan dorongannya kepada kami.
11. Adindaku tercinta St. Fatmawati, atas bantuan dan dorongan serta pengorbanannya kepada kami selama ini.

Semoga Allah Yang Maha Kuasa membalas segala macam bantuan tersebut dengan kebaikan yang banyak. Amin

Kami mengakui bahwa banyak terdapat kekurangan dalam skripsi ini. Akhirnya dengan segala kerendahan hati kami mempersembahkan skripsi ini kepada almamater tercinta, semoga bermanfaat adanya.

Ujungpandang, $\frac{17 \text{ Ramadhan } 1419 \text{ H}}{4 \text{ Januari } 1999 \text{ M}}$

Hormat kami,

(Andi Alfian)

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian toksisitas akut ekstrak metanol klika pule (*Alstonia scholaris* R.Br) pada mencit. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui toksisitas akut ekstrak metanol klika pule pada mencit, dengan tujuan untuk mendapatkan data tentang efek toksik klika pule pada hewan uji dan LD₅₀.

Hewan uji yang digunakan sebanyak 50 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 10 ekor setiap kelompok, yaitu 1 kelompok sebagai kontrol yang diberi larutan Na. CMC 0,5%, dan kelompok lainnya masing-masing diberi ekstrak metanol klika pule secara oral dengan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% b/v. Takaran yang digunakan sebanyak 1 ml/25 g BB.

Efek toksik yang diamati adalah peningkatan kecepatan pernapasan, urinasi dan salivasi berlebihan, penurunan aktivitas gerak, tremor, ataksia, konvulsi, paralisis dan hilangnya refleks balik badan, dengan waktu pengamatan 5 menit, 10 menit, 15 menit, 30 menit, 60 menit, 120 menit, 180 menit, dan 240 menit. Untuk penentuan LD₅₀, data diambil berdasarkan jumlah mencit yang mati dalam setiap kelompok selama 7 hari.

Analisa data pengamatan efek toksik menunjukkan bahwa efek toksik yang paling dominan untuk semua konsentrasi adalah stimulasi sistem saraf pusat, kolinerjik, relaksasi otot dan depresi sistem saraf pusat.

Berdasarkan hasil perhitungan dengan metode Reed dan Muench, diperoleh nilai LD₅₀ ekstrak metanol klika pule (*Alstonia scholaris* R.Br) sebesar 6,610 g/kg BB mencit.

ABSTRACT

The acute toxicity of the methanol extract of bitter bark (*Alstonia scholaris* R.Br), has been studied on mice. The aim of this investigation was to find out the acute toxicity of methanol extract of bitter bark upon mice, to obtain data about toxic effects of bitter bark on test animals and the LD₅₀.

Fifty mice has been used as test animals, wich were devided into 5 groups, each group consisted of 10 animals. One group was used as control, treated with 0,5% Sodium CMC solution, and 4 groups were treated orally with the methanol extract of bitter bark with the concentrations of 5%, 10%, 20%, dan 40% w/v, respectively. The dose used was 1 ml/25 g of body weight.

The toxic effect observed was the increase of respiration rate, excessive salivation and urination, decrease of motor activity, tremor, ataxia, convulsion, loss of turning reflex and paralysis, observed at the time of 5 minutes, 10 minutes, 15 minutes, 30 minutes, 60 minutes, 120 minutes, 180 minutes and 240 minutes. The determination of LD₅₀ was based on the amount of dead mice in each group during 7 days.

The analysis of the observed toxic effect data showed that the most predominant effect of all concentration was central nervous system stimulation, cholinergic, muscle relaxation and central nervous system depression.

Based on the calculation using Reed and Muench method it was found that the LD₅₀ of the methanol extract of bitter bark (*Alstonia scholaris* R.Br) on mice was 6,610 g/kg body weight.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACK	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II POLA PENELITIAN	3
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	6
III.1 Uraian Tumbuhan	6
III.1.1 Sistematik tumbuhan	6
III.1.2 Nama daerah	6
III.1.3 Morpologi tumbuhan	7
III.1.4 kandungan kimia	7
III.1.5 Penggunaan	7
III.2 Natrium Karboksimetil Selulosa	7
III.3 Metil Paraben	8
III.4 Ekstraksi	8
III.5 Toksisitas	9

III.5.1 Uji Toksisitas Akut	9
III.5.2 Median Lethal Dose (LD ₅₀)	11
III.5.3 Cara penentuan LD ₅₀	12
III.5.4 Mekanisme Terjadinya Toksisitas Obat	14
III.6 Pemilihan Dan Penyiapan Hewan Uji	16
BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN	18
IV.1 Alat-alat yang digunakan	18
IV.2 Bahan yang digunakan	18
IV.3 Penyiapan Bahan Penelitian	19
IV.3.1 Pengambilan bahan	19
IV.3.2 Pengolahan bahan	19
IV.3.3 Pembuatan ekstrak	19
IV.3.4 Pembuatan suspensi ekstrak metanol klika pule	19
IV.3.4.1 Pembuatan larutan Na. CMC 0,5 % b/v	19
IV.3.4.2 Pembuatan suspensi ekstrak metanol klika pule	20
IV.4 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji	21
IV.4.1 Pemilihan hewan uji	21
IV.4.2 Penyiapan Hewan Uji	21
IV.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji	21
IV.5.1 Pembagian Kelompok	21
IV.5.2 Perlakuan kelompok uji	22
IV.5.3 Perlakuan kelompok kontrol	22

IV.6 Pengujian Dan Penentuan	22
IV.7 Pengambilan Data	23
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	24
V.1 Hasil Penelitian	24
V.2 Analisis Data	24
BAB VI PEMBAHASAN	26
VI.1 Efek Setelah Pemberian Ekstrak Metanol Klika Pule	26
VI.2 LD ₅₀ Ekstrak Metanol Klika Pule	28
VI.3 Uji Statistik Jumlah kematian mencit jantan Dan Betina	29
BAB VII PENUTUP	30
VII.1 Kesimpulan	30
VII.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
I DATA HASIL PENGAMATAN SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL KLIKA PULE PADA MENCIT	34
II HASIL PENGAMATAN SUDAH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL KLIKA PULE PADA MENCIT UNTUK PENENTUAN LD ₅₀	35

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
A. HUBUNGAN ANTARA FAKTOR PEMBOBOTAN, AKTIFITAS DAN KATEGORI	36
B. HASIL PERHITUNGAN ANTARA BANYAKNYA EFEK YANG NAMPAK DENGAN BANYAKNYA PENGAMATAN DENGAN FAKTOR PEMBOBOTAN PARAMETER YANG DIAMATI?	37
C. PERHITUNGAN LD.50 MENURUT CARA REED DAN MUENCH	39
D. PERHITUNGAN LD.50.....	40
E. PERHITUNGAN PERBANDINGAN UJI t PADA MENCIT JANTAN DAN BETINA SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL KLIKA PULE	41
F. DAFTAR DISTRIBUSI t	43

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. PHOTO TUMBUHAN (<i>Alstonia scholaris</i> R.BR)	44
2. SKEMA KERJA	45

BAB I PENDAHULUAN

Obat tradisional telah lama digunakan masyarakat dalam menanggulangi masalah kesehatan yang dihadapi, baik untuk pengobatan berbagai penyakit maupun untuk peningkatan kesehatan tubuh (1). Salah satu tanaman obat yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah pule (*Alstonia scholaris* R.Br) dari suku Apocynaceae. Tanaman ini digunakan sebagai tonikum, amarum, dan ekspektoran (2). Seduhan klica digunakan sebagai obat malaria, anti diabetes dan sebagai obat demam (3).

Berdasarkan penggunaan yang sangat luas dan karena belum ada pengujian tentang toksisitas tanaman ini maka untuk menjamin keamanan pemakaiannya, diperlukan serangkaian uji tentang toksisitasnya (1,4).

Uji toksisitas juga diperlukan dalam rangka peningkatan derajat obat tradisional sebagai obat alternatif.

Berdasarkan hal tersebut, maka telah dilakukan uji toksisitas akut ekstrak metanol klica pule pada mencit, dengan mengamati efek toksik yang timbul setelah pemberian peroral dengan konsentrasi yang berbeda-beda.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui toksisitas akut ekstrak metanol klika pule pada mencit, dengan tujuan untuk mendapatkan data tentang efek toksik klika pule serta menentukan dosis yang dapat mematikan 50% hewan uji (LD_{50}).

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Penyiapan Alat Penelitian

Alat penelitian disiapkan sesuai dengan kebutuhan.

II.2 Penyiapan Bahan Penelitian

II.2.1 Pengambilan Bahan

II.2.2 Pengolahan Bahan

II.2.3 Ekstraksi Bahan

Klika pule yang telah diolah diekstraksi secara refluks menggunakan pelarut metanol.

II.2.4 Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Klika Pule

II.2.4.1 Pembuatan Larutan Na. CMC 0,5%

II.2.4.2 Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Klika Pule

Ekstrak metanol klika pule dibuat suspensi dengan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% b/v.

II.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

II.3.1 Pemilihan Hewan Uji

II.3.2 Penyiapan Hewan Uji

II.4 Perilaku Terhadap Hewan Uji

II.4.1 Pembagian Kelompok

Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yang setiap kelompok terdiri dari 10 ekor mencit, masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina.

II.4.2 Perlakuan Kelompok Uji

Kelompok uji masing-masing diberi suspensi ekstrak metanol klika pule dengan konsentrasi berbeda-beda secara peroral.

II.4.3 Perlakuan Kelompok Kontrol

Kelompok kontrol diberi larutan Na. CMC 0,5% b/v secara peroral.

II.5 Pengujian dan Pengamatan

Pelaksanaan pengujian dan pengamatan dilakukan setelah pemberian suspensi ekstrak metanol klika pule dan larutan Na. CMC 0,5% b/v pada kelompok kontrol.

II.6 Pengambilan Data

Berdasarkan hasil pengujian dan pengamatan, maka dapat dilakukan pengambilan data.

II.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan metode Reed dan Muench.

II.8 Pembahasan Hasil

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data, maka dilakukan pembahasan.

II.9 Pengambilan Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan, analisis data dan pembahasan, maka dapat diambil suatu simpulan.

BAB III
TINJAUAN PUSTAKA

III.1 Uraian Tumbuhan

III.1.1 Sistematika Tumbuhan (3)

Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak Kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Apocynales
Suku	: Apocynaceae
Marga	: Alstonia
Jenis	: <i>Alstonia scholaris</i> R.Br

III.1.2 Nama Daerah (2,3)

Selayar	: Rita
Bugis	: Lita-lita
Jawa	: Pufe
Irian Jaya	: Aliag
Ambon	: Rite
Sunda	: Lane
Indonesia	: Kayu gabus

III.1.3 Morfologi Tumbuhan (2,3)

Tumbuhan ini berupa pohon yang sangat tinggi, mencapai 20-25 meter, tumbuh pada ketinggian sampai 900 meter di atas permukaan laut. Kayunya sangat ringan dan lunak. Kulit batangnya pahit, tidak berbau, dari luar warnanya kelabu. Seluruh pohon penuh dengan getah yang mengalir sangat banyak apabila ranting-ranting muda dilukai atau daun dipatahkan. Getah terdapat juga dalam kulit batang. Getahnya berasa pahit dan tidak enak rasanya.

III.1.4 Kandungan Kimia (2,3,8)

Tumbuhan ini mengandung alkaloid-alkaloid ditamine, echitanine, echitin dan beberapa zat pahit.

III.1.5 Penggunaan (2,3)

Klika pule digunakan masyarakat secara tradisional sebagai tonikum, anti diabetes, antimalaria dengan cara menyeduh dengan air panas. Lapisan dalam klikanya yang digosok dengan air digunakan sebagai ekspektoran dan sebagai amaram. Air hasil rebusannya digunakan sebagai penguat lambung dan sebagai sebagai obat cacing. Getahnya digunakan sebagai antiseptik pada hewan.

III.2 Natrium Karboksimetilselulosa (6,7)

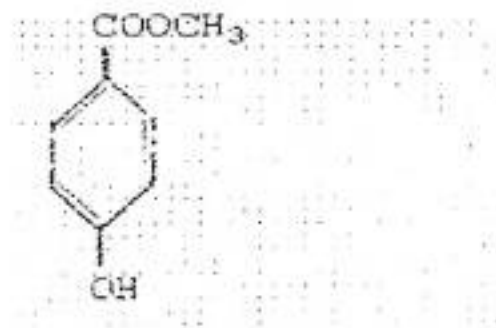
Berupa serbuk atau granul, putih atau putih kuning, tidak berbau atau hampir tak berbau, higroskopik, pH (1 dalam 100 bagian larutan yang mengandung air) antara 6,50-8,50. Mudah didispersikan dalam air membentuk

larutan koloidal, tidak larut dalam etanol (95%P), eter P, dan dalam pelarut organik lain (6). Digunakan sebagai bahan pensuspensi, bahan penambah kekentalan. Konsentrasi yang digunakan sebagai bahan pensuspensi adalah 0,5-2% (7).

III.3 Metil Paraben (6,7,8)

Nipagin, Methylis Parabenum

Rumus Molekul :



Metil Paraben merupakan serbuk hablur halus, putih, hampir tak berbau, tidak mempunyai rasa, agak membakar diikuti rasa tebal. Titik lebur 125°-128°C, larut dalam 500 bagian air, dalam 20 bagian air mendidih, dalam 3,5 bagian etanol (95%P) dan dalam 3 bagian aseton P, mudah larut dalam eter P dan dalam alkali hidroksida, larut dalam 60 bagian gliserol P panas, dan dalam 40 bagian minyak lemak nabati panas, jika didinginkan larutan tetap jernih (6).

Sebagai bahan pengawet digunakan konsentrasi 0,05 – 0,25 % (7,8).

III.4 Ekstraksi (9)

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa aktif dari tanaman atau jaringan hewan dari komponen yang inaktif atau inert dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut atau cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke 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 lebih pekat berdifusi keluar sel. Peristiwa tersebut berulang terus sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel (9).

Metode ekstraksi pada dasarnya dibagi dua, yaitu cara dingin misalnya maserasi dan perkolasi serta cara panas misalnya dengan menggunakan alat soxhlet, destilasi dan refluks.

Ekstraksi secara refluks merupakan metode ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas selama 4 jam (9). Labu yang dilengkapi alat pendingin tegak, lalu dipanasi sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap dan uap tersebut akan diembunkan oleh pendingin tegak selanjutnya turun kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi secara refluks biasanya dilakukan 3 kali berturut-turut

III.5 Toksisitas

Toksisitas adalah kemampuan molekul suatu senyawa kimia untuk menimbulkan kerusakan pada saat mengenai tubuh, baik bagian dalam atau bagian permukaan tubuh, yang peka terhadapnya (10)

Pada umumnya setiap senyawa kimia mempunyai potensi terhadap timbulnya gangguan atau kematian jika terdapat dalam jumlah yang cukup, sesuai ungkapan Paracelcus (1493 –1541) bahwa semua senyawa kimia adalah racun, takaranlah yang sebenarnya membedakan antara racun dengan obat (11).

Gambaran apakah suatu zat kimia bersifat aman atau tidak mengganggu kesehatan dapat diperoleh setelah dilakukan serangkaian uji toksisitas. Ada beberapa tipe uji toksisitas yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas sub kronis, uji toksisitas kronis dan uji khusus (11).

III.5.1 Uji Toksisitas Akut

Toksisitas akut didefinisikan sebagai efek berbahaya yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian oral dosis tunggal atau dosis ganda suatu senyawa dalam waktu 24 jam hingga beberapa hari tergantung dari gejala yang ditimbulkannya (11,12,13). Gejala toksisitas akut dapat menyerupai tiap macam sindrom penyakit, sehingga harus selalu mengingat kemungkinan keracunan pada keadaan sakit mendadak dan menunjukkan gejala-gejala seperti muntah, diare, konvulsi, koma dan sebagainya (13).

Banyak penelitian tentang toksisitas akut telah dilakukan untuk menentukan LD₅₀ senyawa-senyawa kimia. Tetapi LD₅₀ tidak sama dengan toksisitas akut. Nilai LD₅₀ hanya satu dari beberapa petunjuk dalam menentukan batasan toksisitas akut (13). Evaluasi tidak hanya mengenai LD₅₀ tetapi juga menyangkut kelainan tingkah laku, adanya stimulasi atau depresi sistem saraf pusat, perubahan aktifitas motorik dan pernapasan, untuk mendapat gambaran penyebab kematian (13).

Penelitian tentang toksisitas akut diperlukan untuk mengetahui :

1. Dosis fatal dan yang biasa ditentukan adalah LD₅₀
2. Gejala keracunan akut
3. Dosis yang dapat menimbulkan keracunan akut
4. Penyebab kematian hewan uji (13,14)

Pada umumnya senyawa kimia yang beracun adalah yang menimbulkan kematian dengan takaran beberapa mikron sedangkan senyawa kimia lain relatif tidak berbahaya dengan takaran lebih dari beberapa gram (11). Oleh Doull (1980) mengemukakan klasifikasi tingkat keracunan sebagai berikut (15) :

> 15 g/Kg BB	praktis tidak toksik
5 – 15 g/Kg BB	sedikit toksik
0,5 – 5 g/Kg BB	toksisitas sedang
50 – 500 mg/Kg BB	sangat toksik
5 – 50 mg/Kg BB	ekstrim toksik

< 5 mg/Kg BB super toksik

III.5.2 Median Letal Dose (LD₅₀)

Pengertian yang paling sederhana tentang LD₅₀ adalah dosis yang dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji (11,13). Menurut OECD (Organisation For Economic Corporation And Development), arti yang lebih tepat adalah dosis tunggal yang diperoleh secara statistik dari suatu bahan yang dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji (13).

Nilai LD₅₀ yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan tingkat toksisitas suatu bahan kimia dan menentukan indeks terapinya, yaitu dengan membagi LD₅₀ dan ED₅₀. ED₅₀ adalah dosis tunggal yang diperoleh secara statistik yang dapat menimbulkan efek yang diharapkan pada 50 % hewan uji. Makin tinggi indeks terapi, makin besar batas keamanan suatu obat. Disamping itu harga LD₅₀ dapat digunakan sebagai patokan dalam menentukan dosis pada pengembangan obat baru (11,13).

III.5.3 Cara penentuan LD₅₀

Ada beberapa cara untuk menentukan LD₅₀ diantaranya adalah sebagai berikut :

a. Metode Reed dan Muench

Metode ini menggunakan nilai kumulatif. Diasumsikan bahwa hewan yang mati pada dosis tertentu, akan mati pula pada dosis yang lebih besar dan hewan yang tetap hidup akan bertahan hidup pada dosis yang lebih kecil. Jumlah kumulatif hewan yang mati dicatat dengan menambahkan berturut-turut isi kolom hewan yang mati. Persentase yang telah mati untuk 2 dosis yang berurutan dihitung dan kemudian perbandingan jarak dari 50 % dihitung dengan logaritma perbandingan peningkatan dosis. Hasilnya ditambahkan pada logaritma dosis yang lebih rendah untuk mendapatkan logaritma LD_{50} (16).

b. Metode Grafik

Penentuan LD_{50} dengan metode ini menggunakan grafik hubungan antara persentase hewan uji yang mengalami kematian (ordinat) dan dosis yang diberikan pada hewan uji (absis). Dengan cara ini diperoleh kurva yang berbentuk S. Nilai LD_{50} dapat diperoleh dengan menarik garis lurus memotong kurva pada ordinat 50 (11).

c. Perhitungan Secara Matematika

Perhitungan ini menggunakan rumus :

$M = a - b(\pi_i - 0,5)$, dimana M adalah $\log LD_{50}$; a adalah \log dosis terendah yang masih memberikan 100 % efek pada hewan uji; b adalah beda logaritma dosis yang berurutan; π_i adalah jumlah hewan uji mati yang menerima dosis i dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i . Syarat penggunaan umum tersebut dalam menghitung LD_{50} yaitu menggunakan suatu seri takaran dengan pengenceran berkelipatan tetap, jumlah hewan uji atau jumlah biakan jaringan tiap kelompok harus sama, dan dosis harus di atur sedemikian rupa sehingga memberikan efek dari 0% - 100%, dan perhiungan dibatasi pada kelompok uji yang memberikan efek 0 % - 100 % (6).

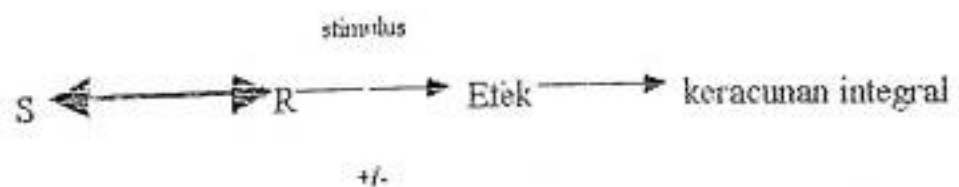
d. Metode Ketas Grafik Probit Log. Miller dan Tainter

Pada metode ini, persentase respon dari masing-masing kelompok hewan uji ditempatkan pada ordinat dan \log dosis obat pada absis. Presentase respon (angka kematian) tersebut dapat dikonversikan menjadi Probit, dimana notasi Probit adalah 5 tambah simpangan baku. Nilai LD_{50} ditentukan dengan membuat grafik hubungan antara Probit dan \log Dosis yang merupakan garis lurus, dimana dari garis lurus ini akan diperoleh $\log LD_{50}$ yang selanjutnya diubah menjadi LD_{50} .

III.5.4. Mekanisme Terjadinya Toksisitas Obat

Berbagai mekanisme dapat mendasari toksisitas obat. Biasanya reaksi toksik merupakan lanjutan dari efek farmakodinamika. Karena itu gejala toksik merupakan efek farmakodinamik yang berlebihan (12).

Semua keracunan mempunyai dasar reaksi antara zat beracun dan struktur molekul dari badan. Kerusakan primer pada taraf molekuler disebut lesi primer. Reseptornya yaitu struktur molekuler yang dikenai zat itu, diubah oleh zat beracun, misalnya dengan oksidasi atau dengan pengikatan dari zat pada reseptor. Perubahan reseptor merupakan stimulus untuk terjadinya efek. Stimulus yang terjadi dapat positif dan negatif. Mekanisme kerjanya diperlihatkan secara skematis sebagai berikut :



dimana S adalah bahan obat dan R adalah reseptornya (13,14). Efek terjadinya pada taraf subseluler atau seluler. Bila dosis yang diserap relatif kecil, kerusakan dapat terbatas pada beberapa sel saja. Masih cukup banyak sel yang sehat untuk dapat tetap menjalankan fungsi normal organ. Jika relatif banyak sel yang menderita, organ tersebut tidak dapat lagi memenuhi

fungsinya secara normal, pada saat inilah biasanya keracunan (efek toksik) muncul, umumnya sebagai proses penyakit yang integral pada individu itu. Proses keracunan itu berpindah secara berurutan dari taraf molekuler ke taraf yang lebih tinggi integrasi biologisnya dengan urutan sebagai berikut :

sel → jaringan → organ → individu
(11,14).

III.6 Pemilihan Dan Peayiapan Hewan Uji

Berdasarkan referensi dari National Institute Of Health Primate Research Center, 1978, persyaratan utama dalam pemilihan hewan uji yang sesuai dan dapat dipakai sebagai model adalah bahwa proses yang terjadi pada hewan tersebut mirip atau banyak kesamaannya dengan proses yang terjadi pada manusia (17). Jenis yang sering digunakan adalah mencit dan tikus, tetapi kadang-kadang kelinci dan anjing juga digunakan. Alasan memilih mencit adalah karena murah dan mudah didapat, berkembang biak dengan cepat, jenis hewan ini ukurannya kecil sehingga dapat dipelihara dalam sangkar dan tidak memerlukan biaya yang besar (12).

Respon yang disebabkan oleh suatu senyawa sering bervariasi diantara spesies yang berbeda. Oleh karena itu hewan uji yang akan diuji dipilih berdasarkan umur, jenis kelamin, berat badan, kondisi kesehatan dan keturunan yang sama. Berat badan untuk mencit antara 20 – 30 g dan untuk tikus 150 – 200 g (13).

Ketelitian uji efektif yang digunakan pada suatu sediaan uji sangat bergantung pada jumlah hewan uji yang digunakan. Untuk tingkat penelitian umumnya digunakan 4 – 6 kelompok hewan uji. Bila pada penelitian dengan tikus, tiap kelompok terdiri dari sekurang-kurangnya 4 ekor dan bila digunakan mencit, tiap kelompok terdiri dari 10 – 30 ekor (13).

Hewan uji yang digunakan harus dikarantina sekurang-kurangnya satu minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan iklim dan keadaan kandang. Sebelum perlakuan, keadaan umum dan kenaikan berat badan hewan uji diamati untuk mengetahui sehat atau tidak. Hewan dinyatakan sehat apabila selama pengamatan tersebut berat badan bertambah, tetap atau terjadi pengurangan berat badan tidak lebih dari 10% dari bobot semula 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 absorpsi. Tikus putih dipuasakan selama 1 malam dan mencit selama 3 – 4 jam.

BAB IV
PELAKSANAAN PENELITIAN

IV.1 Alat-alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Corong gelas
3. Gelas piala
4. Gelas ukur
5. Jarum oral
6. Labu alas bulat
7. Labu takar
8. Lumpang dan alu
9. Meja alas bulat
10. Pemanas
11. Pengaduk elektrik
12. Pipet
13. Rotavapor
14. Seperangkat alat refluks
15. Timbangan

IV.2 Bahan yang Digunakan

1. Klika pule
2. Air suling

3. Na. CMC
4. Metanol
5. Metil paraben

IV.3 **Penyiapan Bahan Penelitian**

IV.3.1 **Pengambilan Bahan**

Klika pule yang digunakan dalam penelitian ini diambil di Tamalanrea dengan cara mengupas klika dari pohonnya sampai pada bagian kambium.

IV.3.2 **Pengolahan Bahan**

Klika pule dicuci bersih dan dikeringkan di udara terbuka, terlindung dari matahari langsung, kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan derajat halus 5/8.

IV.3.3 **Pembuatan Ekstrak**

Serbuk klika pule ditimbang 600 g kemudian dimasukkan ke dalam labu refluks dan ditambahkan pelarut metanol. Direfluks selama 3 jam dan ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan rotavapor kemudian diuapkan sampai kental dan ditimbang.

IV.3.4 **Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Klika Pule**

IV.3.4.1 **Pembuatan Larutan Na. CMC 0,5% b/v**

Ditimbang 250 mg metil paraben dan dimasukkan

ke dalam 50 ml air panas suhu 70°C , diaduk hingga larut. Ke dalamnya dimasukkan 1,25 g Na. CMC sedikit demi sedikit sambil dimikser sampai semuanya larut. Ditambah air suling hingga 250 ml.

IV.3.4.2 Pembuatan Suspensi Ekstrak Metanol Klika Pule

Dibuat suspensi ekstrak metanol klika pule dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40% b/v, sebagai berikut :

1. Untuk konsentrasi 5% b/v dibuat dengan menimbang 1,25 g ekstrak metanol klika pule dan digerus dalam lumpang. Ditambahkan larutan Na. CMC 0,5% b/v sedikit demi sedikit sambil digerus hingga terdispersi homogen. Dimasukkan ke dalam labu takar 25 ml dan volumenya dicukupkan hingga 25 ml dengan larutan Na. CMC 0,5% b/v.
2. Untuk konsentrasi 10%, 20% dan 40% b/v dibuat dengan cara yang sama dengan pembuatan suspensi ekstrak klika pule 5% dengan menimbang masing-masing 2,5 g, 5 g dan 10 g ekstrak metanol klika pule dan volumenya

diculupkan hingga 25 ml dengan larutan Na. CMC 0.5% b/v.

IV.4 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji (4.11.12)

IV.4.1 Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan dan betina yang berbadan sehat (lincah, gesit dan penurunan berat badannya tidak lebih dari 5-10% dari berat semula), dewasa (berumur 2-3 bulan) dengan berat badan 20-25 g.

IV.4.2 Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan sebanyak 50 ekor dibagi ke dalam 5 kelompok masing-masing terdiri dari 10 ekor mencit, 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina.

IV.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji

IV.5.1 Pembagian Kelompok

Setelah masing-masing mencit ditimbang beratnya, kemudian dikelompokkan secara acak dalam 5 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina yang masing-masing ditempatkan dalam satu kandang. Kemudian hewan uji dipuasakan selama 4 jam.

IV.5.2 Perlakuan Kelompok Uji

Hewan uji diberi suspensi ekstrak metanol klika pulu sebanyak 1 ml/25 g berat badan secara oral dengan konsentrasi tiap kelompok masing-masing 5%, 10%, 20% dan 40% b/v. Tiap kelompok mencit diamati kegiatannya serta dibandingkan dengan kontrol.

IV.5.3 Perlakuan Kelompok Kontrol

Kelompok kontrol diberi larutan Na. CMC 0,5% b/v secara oral dan diamati sebagai pembanding.

IV.6 Pengujian dan Pengamatan

Pengujian dan pengamatan dilakukan setelah perlakuan baik pada kelompok uji maupun pada kelompok kontrol, sebagai berikut :

1. Uji panggung; pada uji ini mencit diletakkan di atas meja alas bulat dengan diameter 30-40 cm dan diamati aktivitasnya secara umum.
2. Uji katalepsi, pada uji ini kaki depan mencit diletakkan pada pensil yang digerakkan dari atas ke bawah 2-3 cm di atas permukaan meja. Dicatat mudah atau cepatnya kaki depan mencit jatuh kembali ke atas meja.
3. Uji pernafasan; pada uji ini diamati apakah terjadi peningkatan atau penurunan laju pernafasan atau apakah terjadi pernafasan tidak teratur pada mencit.

4. Uji salivasi; pada uji ini diamati apakah terjadi pengeluaran saliva atau tidak pada mencit dengan menggunakan kertas saring.
5. Uji urinasi; pada uji ini diamati apakah terjadi peningkatan atau penurunan pengeluaran urine pada mencit dengan menggunakan kertas saring.
6. Kematian; pada uji ini dihitung mencit yang mati setelah perlakuan yang diamati selama 7 hari.

Pengamatan dilakukan setelah 5 menit, 10 menit, 15 menit, 30 menit, 60 menit, 120 menit, 180 menit dan 240 menit.

IV.7 Pengambilan Data

Penentuan LD_{50} dilakukan dengan mendata dan menghitung jumlah hewan uji yang mati dan yang masih hidup dalam setiap kelompok, dalam periode 0-7 hari.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

V.1 Hasil penelitian

Hasil ekstraksi 600 g serbuk klika pule (*Alstonia scholaris* R.Br) dilakukan secara refluks dengan pelarut metanol menghasilkan 31 g ekstrak metanol kental.

Setelah melakukan uji toksisitas akut ekstrak metanol klika pule pada mencit, maka diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Hasil pengamatan efek toksik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol klika pule pada mencit memberikan gejala peningkatan kecepatan pernapasan, pengeluaran urine dan saliva yang bertubi-tubi, penurunan aktifitas gerak, tremor, ataksia, konvulsi, hilangnya refleksi balik badan dan paralisis. Hasil pengamatan pada kelompok kontrol tidak menunjukkan gejala-gejala seperti diatas. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel I.
2. Data yang diperoleh untuk penentuan LD₅₀ dengan menghitung jumlah hewan uji yang mati dan yang masih hidup dalam setiap kelompok atau setiap jenis konsentrasi ekstrak metanol klika pule yang diberikan per oral dapat dilihat pada tabel II.

V.2 Analisis Data

Data pada tabel I, dianalisis dengan membandingkan gejala tidak normal pada mencit setelah perlakuan dengan gejala normal yang sama dengan kontrol

dikalai dengan faktor pembobotan masing-masing efek yang timbul dan dihitung dalam persentase tiap kelompok. (lihat lampiran A dan B)

Data pada tabel II, untuk penentuan LD₅₀ dianalisis dengan menggunakan metode Reed dan Muench yaitu dengan menghitung jumlah hewan uji yang memberikan efek kumulatif terhadap dosis tertentu. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran C dan D.

Data pengaruh pemberian ekstrak metanol klinka pule terhadap kematian mencit jantan dan betina dianalisis dari tabel II. menggunakan metode statistik dengan uji "student t", dan hasilnya dapat dilihat pada lampiran E.

BAB VI

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data maka dapat dilakukan pembahasan sebagai berikut :

VI.1 Efek Setelah Pemberian Ekstrak Metanol Klika Pule

Pemberian ekstrak metanol klika pule secara oral pada mencit dengan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% b/v memperlihatkan gejala berupa peningkatan kecepatan pernapasan, urinasi dan salivasi berlebihan, penurunan aktifitas gerak, tremor, ataksia, konvulsi, paralisis dan hilangnya refleks balik badan. Berdasarkan gejala yang teramati maka kategori efek yang terlihat adalah kolinergik, stimulasi sistem saraf pusat, depresi sistem saraf pusat dan relaksasi otot.

Penguatan efek toksik yang tampak pada mencit setelah pemberian suspensi ekstrak metanol klika pule dengan konsentrasi 5% b/v, menunjukkan adanya peningkatan kecepatan pernapasan, urinasi dan salivasi. Aktifitas ini dihubungkan dengan efek kolinergik. Peningkatan kecepatan pernapasan juga dihubungkan dengan efek stimulasi sistem saraf pusat.

Pada pemberian konsentrasi 10% b/v, efek yang teramati adalah peningkatan kecepatan pernapasan, salivasi dan urinasi, tremor dan terjadi penurunan aktivitas gerak. Tremor dihubungkan dengan stimulasi sistem saraf pusat. Penurunan aktivitas gerak dihubungkan dengan depresi sistem saraf pusat dan relaksasi otot.

Pengamatan pada pemberian konsentrasi 20% b/v, aktifitas yang teramati sama dengan pada konsentrasi 10% b/v, tetapi konvulsi, ataksia dan kelumpuhan otot rangka juga terlihat sebelum terjadinya kematian hewan uji. Konvulsi disebabkan oleh pengaruh stimulasi sistem saraf pusat. Ataksia dan kelumpuhan dihubungkan dengan depresi sistem saraf pusat dan relaksasi otot. Dimana kemungkinan besar depresi sistem saraf pusat dan relaksasi otot inilah yang paling berperan dalam menyebabkan kematian mencit.

Pada konsentrasi 40% b/v, terjadi efek yang sama pada konsentrasi 20%, tetapi kematian mencit terlihat semakin cepat dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak metanol klica pule yang diberikan. Pada konsentrasi ini juga teramati hilangnya refleks balik badan mencit. Aktifitas ini dihubungkan dengan depresi sistem saraf pusat dan relaksasi otot.

Data pengamatan efek toksis ini selanjutnya dianalisis dengan menghubungkan jumlah efek yang tampak dengan faktor pembobotan dan kategori masing-masing efek yang diamati, dan dihitung dalam persentase tiap kelompok. Hasil analisis data menunjukkan bahwa pada konsentrasi 5% b/v efek yang terjadi berdasarkan persentasenya adalah sama yaitu stimulasi sistem saraf pusat dan kolinergik. Kategori pada konsentrasi 10% b/v yang lebih dominan adalah stimulasi sistem saraf pusat, diikuti kolinergik, relaksasi otot dan depresi sistem saraf pusat. Pada konsentrasi 20% b/v urutan persentase kategori yaitu relaksasi otot, depresi sistem saraf pusat, stimulasi sistem saraf pusat dan kolinergik. Pada konsentrasi 40% b/v urutan persentase kategorinya

yaitu stimulasi sistem saraf pusat, depresi sistem saraf pusat, relaksasi otot dan kolinergik.

Kategori efek farmakologi yang teramati pada konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% b/v secara keseluruhan berdasarkan urutan persentasenya adalah stimulasi sistem saraf pusat, kolinergik, relaksasi otot dan depresi sistem saraf pusat.

VL 2 LD₅₀ Ekstrak Metanol Klika Pule

Berdasarkan hasil pengamatan selama 7 hari, ternyata bahwa pada konsentrasi 5% b/v tidak ada mencit yang mati. Jumlah kematian tertinggi dimana semua mencit mati, terjadi pada konsentrasi 40% b/v. Kematian mencit pada konsentrasi ini mulai pada menit ke 30 setelah perlakuan. Mencit lainnya pada kelompok yang sama mati dalam 24 jam setelah perlakuan. Pada kelompok mencit yang diberi ekstrak metanol klika pule dengan konsentrasi 10% dan 20% b/v, kematian terjadi pada hari pertama, hingga hari ketujuh.

Mencit yang masih hidup setelah diberi ekstrak metanol klika pule pada awal pengamatan menunjukkan tingkah laku yang kurang aktif tetapi berangsur-angsur pulih kembali setelah beberapa hari. Hal ini disebabkan karena konsentrasi ekstrak metanol klika pule dalam sirkulasi sistemik turun secara berangsur-angsur dengan terjadinya metabolisme dalam tubuh mencit.

Harga LD₅₀ diperoleh dengan menghitung data pada tabel II menggunakan metode Reed dan Muench. Penentuan LD₅₀ dengan metode ini menggunakan nilai kumulatif kematian hewan uji pada dosis tertentu. Nilai

LD_{50} akan terletak diantara dosis yang lebih besar dan lebih kecil dari 50% kematian hewan uji. Dari hasil penelitian diperoleh nilai LD_{50} ekstrak metanol klika pule sebesar 6,610 g/kg BB (lihat lampiran D). Ini berarti ekstrak metanol klika pule termasuk dalam kategori sedikit toksik.

VI.3 Uji Statistik Jumlah Kematian Mencit Jantan Dan Betina

Jumlah mencit jantan dan betina yang mati pada setiap kelompok setelah pemberian ekstrak metanol klika pule tidak sama. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan pengaruh pemberian ekstrak metanol klika pule terhadap kematian mencit jantan dan betina, maka dilakukan analisa statistik dengan menggunakan uji student' t.

Dari hasil analisis data diperoleh nilai t hitung sebesar 1,7319 sedangkan dari tabel distribusi t dengan taraf kepercayaan 0,05 dB 6 diperoleh nilai t sebesar 2,45. Jadi t hitung lebih kecil dari t tabel, berarti pengujian bersifat non signifikan, artinya tidak ada perbedaan pengaruh pemberian ekstrak metanol klika pule terhadap kematian mencit jantan dan betina.

BAB VII

P E N U T U P

VII.1 Kesimpulan

Setelah melakukan pembahasan berdasarkan pengamatan dan analisis data, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Nilai LD_{50} ekstrak metanol klika pule (*Alstonia scholaris* R.Br) sebesar 6,610 g/kg berat badan pada mencit, sehingga termasuk dalam kategori sedikit toksik.
2. Ekstrak metanol klika pule mempunyai efek biologik berupa stimulasi sistem saraf pusat, kolinergik, relaksasi otot dan depresi sistem saraf pusat.

VII.2 Saran-saran

1. Perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas akut klika pule dengan menggunakan pelarut eter.
2. Perlu penelitian lebih lanjut tentang uji toksisitas sub kronis, kronis dan uji toksisitas spesifik ekstrak metanol klika pule.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tjokronegoro, A., Baziad, A., (1992), "Etik Penelitian Obat Tradisional", Semiloka di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 9, 21.
2. Sastroamidjojo, S., (1988), "Obat Asli Indonesia", edisi IV, PT. Dian Rakyat, 438-443.
3. Heyne, K., (1988), "Tumbuhan Berguna Indonesia", Terjemahan, Jilid III, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Jakarta, 1627-1629.
4. Donatus, I.A. dan Nurlaila., (1986), "Obat Tradisional dan Fitoterapi Uji Toksikologi", Kursus Penyegaran, Panitia Lustrum VIII dan Reuni Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2.
5. Susan, B., (1989), "The Merck Index", Eleventh Edition, Merck and Co, Inc, Rahway, New Jersey, USA, 3474.
6. Dirjend POM., (1979), "Farmakope Indonesia", Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta,
7. Osol, A., et. All., (1985), "Remington's Pharmaceutical Sciences, 17 th, Ed, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1167, 1297, 1516.
8. Scoville's, (1957), "The Art Of Compounding, Ninth Edition, The Blakiston Division, New York, Toronto, London, 306.
9. Darise, M., Tobo, F., (1996), "Penuntun Praktikum Fitokimia", Laboratorium Fitokimia, Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS, Ujung Pandang, 18-21.

10. Harminani.,(1983), "Penentuan Toksisitas Suatu Bahan Pencemaran Di Lingkungan perairan", Kursus Analisa Dampak Lingkungan I, Fakultas Biologi UGM, Yokyakarta, 11-12.
11. Loomis, T.A., (1978). "Toksikologi Dasar", Terjemahan oleh Donatus, I.A., Edisi Ketiga, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 225-233.
12. Gan.s., dkk., (1987), "Farmakologi dan Terapi", Edisi III, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 689, 696.
13. Hayes, A.W., (Ed). (1983). "Principles And Methods Of Toxicology", Raven Press, New York, 4-23.
14. Koeman, J.H., (1987), "Pengantar Umum Toksikologi", Terjemahan Oleh R.H. Yudono, Gadjah Mada University Press, Yokyakarta, 54-64.
15. Casarett dan Doull's., (1986), "Toxicology, The Basic Science Of Poison", Third Edition, Macmillan Publishing Company, New York, 20-26.
16. Turner, R.A., (1965), "Screening Methods In Pharmacology", Academic Press, New York And London, 61-63.
17. Sulaksono, E., (1988), "Peranan Pengelolaan Dan Pengembangbiakan Hewan Percobaan", Cermin Dunia kedokteran, 49, 50.

18. Sudjana, (1984), "Metode Statistik" Edisi III, Penerbit Tarsito, Bandung, 475.
19. Mutschler, E., (1991), "Dinamika Obat", Buku Ajar Farmakologi Dan Toksikologi, Edisi V, Penerbit ITB Bandung, 77-78.
20. Thompson, E.B., (1985), "Drug Bioscreening, Fundamental Of Drug Evaluation Techniques In Pharmacology", Graceway Publishing Company, Inc, New York, 77-80.

TABEL I.

TABEL. HASIL PENGAMATAN SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL
KLIKA PULE PADA MENCIT

Kon Sen 10:30	Waktu (men-)	Parameter Yang Diuji								
		Laju pernapas an naik	Uriensi	salivasi	Aktivitas Gerak Turun	tremor	ataksia	Konvulsi	Paralisis	Refleks baki haling
Kon Trol	
5%	5
	10
	15
	30	++++	+.....	++..
	60++
	120
	240
10%	5
	10
	15	+.....
	30	++...+	++..+	++...+	+++++
	60	+...+
	120
	240
30%	5
	10
	15
	30	+++++	+...+	+...+	+++..+++
	60	+++++++	+++++	+++..+
	120	++++++++++++++++
	240xxxxxxxxx
40%	5
	10	+++++	+...+	..+..++++++
	15	+++++++	+++++	+++++	+++++++++++
	30	+++++	+++++	+++++	+++++++++++
	60	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx
	120	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx
	240	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx

Keterangan : - = tidak ada efek

+ = ada efek

x = hewan uji mati

TABEL II

HASIL PENGAMATAN SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL KLIKA
PULE PADA MENCIT UNTUK PENENTUAN LD₅₀

Kons. %	Dosis g/Kg	Jumlah Hewan		Kematian		Jumlah Kematian
		Jantan	Betina	Jantan	Betina	
Kontrol	0	5	5	0	0	0
5	2	5	5	0	0	0
10	4	5	5	2	1	3
20	8	5	5	3	2	5
40	16	5	5	5	5	10

LAMPIRAN A

HUBUNGAN ANTARA FAKTOR PEMBOBOTAN, AKTIVITAS DAN KATEGORI

No	AKTIVITAS	FAKTOR PEMBOBOTAN	KATEGORI EFEK			
1	Peningkatan kec. Pernapasan	2,0	Kolinergik	Act.cns		
2	Urinasi	2,0	Kolinergik			
3	Salivasi	2,0	Kolinergik			
4	Penurunan aktivitas Gerak	1,0			Dep. cns	Musc.rel
5	Tremor	1,0	Kolinergik	Act.cns		
6	Ataksia	1,0			Dep. cns	
7	Konvulsi	1,0	Kolinergik	Act.cns		
8	Paralisis	1,0			Dep.Cns	Musc rel
9	Refleks balik hilang	1,0			Dep. cns	Musc rel

Keterangan; Act. Cns : Stimulasi sistem Saraf Pusat
 Dep. Cns : Depresi Sistem Saraf Pusat
 Musc. Rel : Relaksasi otot

LAMPIRAN B

HASIL PERHITUNGAN ANTARA BANYAKNYA EFEK YANG NAMPAK
DIBAGI DENGAN BANYAKNYA PENGAMATAN DIKALI DENGAN FAKTOR
PEMBOBOTAN MASING-MASING PARAMETER YANG DIAMATI

NO	KATEGORI	K	KONSENTRASI			
			5%	10%	20%	40%
1	KOLINERGIK	0	6,25%	7,19%	13,13%	17,19%
2	CNS. ACT	0	6,25%	8,13%	17,50%	28,13%
3	CNS. DEP	0	0	1,25%	18,13%	23,13%
4	MUSC. REL	0	0	1,67%	21,67%	20,00%

Rumus yang digunakan untuk memperoleh nilai di atas adalah :

$$\% = \frac{\Sigma(\text{banyaknya efek yang diamati} \times \text{faktor pembobotan})}{\Sigma(\text{banyaknya pengamatan} \times \text{faktor pembobotan})} \times 100 \%$$

Keterangan :

- K = Kelompok kontrol
- CNS. ACT = Stimulasi sistem saraf pusat
- CNS. DEP = Depresi sistem saraf pusat
- MUSC. REL = Relaksasi otot

Cara Perhitungan Persentase Efek Kolinergik

Rumus yang digunakan :

$$\% = \frac{\Sigma(\text{banyaknya efek yang diamati} \times \text{faktor pembobotan})}{\Sigma(\text{banyaknya pengamatan} \times \text{faktor pembobotan})} \times 100 \%$$

Konsentrasi 5 % b/v :

$$\begin{aligned} \% &= \frac{(5 \times 2) + (3 \times 2) + (2 \times 2) + (0 \times 1) + (0 \times 1)}{(40 \times 2) + (40 \times 2) + (40 \times 2) + (40 \times 1) + (40 \times 1)} \times 100 \% \\ &= 6,25 \% \end{aligned}$$

Konsentrasi 10 % b/v :

$$\begin{aligned} \% &= \frac{(4 \times 2) + (3 \times 2) + (2 \times 2) + (5 \times 1) + (0 \times 1)}{(40 \times 2) + (40 \times 2) + (40 \times 2) + (40 \times 1) + (40 \times 1)} \times 100 \% \\ &= 7,19 \% \end{aligned}$$

Konsentrasi 20 % b/v :

$$\begin{aligned} \% &= \frac{(10 \times 2) + (4 \times 2) + (3 \times 2) + (4 \times 1) + (4 \times 1)}{(40 \times 2) + (40 \times 2) + (40 \times 2) + (40 \times 1) + (40 \times 1)} \times 100 \% \\ &= 13,13 \% \end{aligned}$$

Konsentrasi 40 % b/v :

$$\begin{aligned} \% &= \frac{(15 \times 2) + (3 \times 2) + (4 \times 2) + (10 \times 1) + (5 \times 1)}{(40 \times 2) + (40 \times 2) + (40 \times 2) + (40 \times 1) + (40 \times 1)} \times 100 \% \\ &= 17,19 \% \end{aligned}$$

Persentase kategori efek stimulasi sistem saraf pusat, relaksasi otot dan depresi sistem saraf pusat dihitung dengan cara yang sama dan hasilnya pada lampiran B.

LAMPIRAN C

PERHITUNGAN LD₅₀ MENURUT CARA REDD DAN MUENCH

K E L	DOSIS G/kg	Log dosis	Mati	Hidup	Jml mati	Jml Hidup	Total yang Mati +Hidup	Ratio Kematian	% Kematian
							6 + 7		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
K	0	0	0	10	0	32	32	0/32	0
1	2	0,30	0	10	0	22	22	0/22	0
2	4	0,60	3	7	3	12	15	3/15	20
3	8	0,90	5	5	8	5	13	8/13	61,54
4	16	1,20	10	0	18	0	18	18/18	100

Keterangan :Kelompok K = Kelompok kontrol (CMC 0,5%)

Kelompok 1 = konsentrasi 5% b/v

Kelompok 2 = konsentrasi 10% b/v

Kelompok 3 = konsentrasi 20% b/v

Kelompok 4 = konsentrasi 40% b/v

LAMPIRAN D

PERHITUNGAN LD.50

Data yang tercantum pada tabel II, menunjukkan bahwa kematian terletak antara dosis 4000 mg/kg dan 8000 mg/kg berat badan.

$$1. \text{ Jarak proporsi} = \frac{50\% - 20\%}{61,54\% - 20\%} = \frac{30\%}{41,54\%} = 0,7246$$

2. Log penambahan dosis :

$$\text{Log } \frac{8000}{4000} = 0,3010$$

$$3. \text{ Perkalian (1) dan (2) } = 0,2181$$

$$4. \text{ Log dosis } 4000 = 3,6021$$

$$5. \text{ LD.50} = \text{antilog } (3,6021 + 0,2181)$$

$$= 6609,98 \text{ mg/kg}$$

$$= 6,610 \text{ g/kg}$$

LAMPIRAN E

PERHITUNGAN PERBANDINGAN UJI t PADA MENCIT JANTAN
DAN MENCIT BETINA SETELAH PEMBERIAN
EKSTRAK METANOL KLIKA PULE

n	Jumlah mencit jantan yang mati	Jumlah mencit betina yang mati	d	d ²
1	0	0	0	0
2	2	1	1	1
3	3	2	1	1
4	5	5	0	0
			$\Sigma d = 2$ — $d = 0,50$	$\Sigma d^2 = 2$

Rumus yang digunakan yaitu :

$$\begin{aligned}
 Sd &= \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1} - \frac{(\sum d)^2}{n(n-1)}} \\
 &= \sqrt{\frac{2}{4-1} - \frac{(2)^2}{4(4-1)}} \\
 &= \sqrt{\frac{2}{3} - \frac{4}{12}} \\
 &= \sqrt{\frac{8-4}{12}} \\
 &= 0,5774
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 SEd &= \frac{Sd}{\sqrt{n}} \\
 &= \frac{0,5774}{\sqrt{4}} = 0,2887
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 t &= \frac{d}{SEd} \\
 &= \frac{0,50}{0,2887} = 1,7319
 \end{aligned}$$

Dari tabel nilai uji t dengan taraf kepercayaan 0,05 pada $df = 6$ adalah 2,45 sehingga diperoleh t hitung lebih kecil dibanding t tabel, ini berarti pengujian bersifat non signifikan atau tidak berbeda nyata.

Keterangan : Sd = beda simpangan baku
 Sed = beda kesalahan baku
 n = selisih kematian antara mencit jantan dan betina
 d = nilai rata-rata selisih kematian antara mencit jantan dan betina

LAMPIRAN F
DAFTAR DISTRIBUSI

dB	Harga t		dB	Harga t	
	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	12,71	63,7	11	2,20	3,11
2	4,30	9,92	12	2,18	3,05
3	3,18	5,84	15	2,13	2,95
4	2,75	4,60	20	2,09	2,85
5	2,57	4,03	25	2,06	2,79
6	2,45	3,71	30	2,04	2,75
7	2,37	3,50	40	2,02	2,70
8	2,31	3,36	60	2,00	2,66
9	2,26	3,25	120	1,98	2,62
10	2,23	3,17		1,96	2,58

FOTO TUMBUHAN



Gambar 1 :Tumbuhan Pule (*Alstonia scholaris*,R.Br) Suku Apocynaceae
Lokasi Jl. P. Kemerdekaan VII, Kompleks UNHAS Tamalanrea,Makassar

SKEMA KERJA

