



F O A

LAPORAN PENELITIAN

UJI PREKLINIK FORMULA TANAMAN OBAT SEBAGAI
PENURUN ASAM URAT DAN CHOLESTEROL DARAH

Saryanto S. Farm., Apt

BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
KEMENTERIAN KESEHATAN
2010

LAPORAN PENELITIAN

UJI PREKLINIK FORMULA TANAMAN OBAT SEBAGAI
PENURUN ASAM URAT DAN CHOLESTEROL DARAH

Saryanto S. Farm., Apt

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
PERPUSTAKAAN
Tanggal : 15-3-2013
No. Jilid : _____
No. Kelas : 127
Lit

BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
KEMENTERIAN KESEHATAN
2010

1. LATA R BELAKANG

Tanaman obat tradisional merupakan salah satu modal dasar pembangunan kesehatan nasional. Selain pelayanan kesehatan formal, pengobatan dengan cara tradisional dan pemakaian obat tradisional masih banyak dilakukan oleh masyarakat secara luas, baik di daerah pedesaan maupun daerah perkotaan. Hal ini muncul sebagai akibat banyak dijumpainya efek samping yang tidak dikehendaki dari penggunaan obat kimia (sintetik) yang beredar di pasaran (Depkes RI, 2003).

Masa transisi demografi akibat keberhasilan upaya menurunkan angka kematian, dapat menimbulkan transisi epidemiologis, dimana pola penyakit bergeser dari infeksi akut ke penyakit degeneratif yang menahun. Penyakit yang berkaitan erat dengan gangguan metabolisme dan cenderung akan mengalami peningkatan sebagai dampak adanya pergeseran perilaku pola konsumsi gizi makanan diantaranya adalah hiperkolesterolemia dan hiperuricemia

Hiperkolesterolemia adalah keadaan dimana terjadi kelebihan kadar kolesterol dalam darah (Guyton, 1997). Jika kita kurang waspada maka kadar kolesterol yang tinggi ini akan merusak dinding pembuluh darah dan tentunya keadaan yang demikian dapat memicu timbulnya berbagai penyakit baik penyakit jantung koroner (PJK) oleh proses arteriosklerosis atau kerusakan otak (stroke). Empat puluh persen kematian mendadak akibat serangan jantung disebabkan oleh hiperkolesterolemia. Di Indonesia, terdapat 36 juta penduduk (18%) yang menderita hiperkolesterolemia (Anonim, 2002).

Kolesterol merupakan sterol utama dalam tubuh manusia, dan merupakan komponen struktural membran sel dan lipoprotein plasma, serta sebagai bahan awal pembentukan asam empedu dan hormon steroid. Sterol dan derivatifnya sukar larut dalam larutan berair tetapi larut dalam pelarut organik terutama alkohol, sehingga senyawa ini dimasukkan dalam golongan lipid (Montgomery, 1983).

Kolesterol termasuk lipid kompleks, konsentrasinya di dalam plasma darah orang dewasa dan sehat berkisar antara 150 dan 200 mg/100 ml darah. Sekitar 30% kolesterol yang terdapat dalam plasma darah berupa kolesterol bebas, sedangkan 70% lainnya terdapat dalam bentuk senyawa ester dengan asam lemak rantai panjang, terutama asam linoleat. Di dalam cairan empedu jumlah kolesterol sekitar 390 mg/100 ml. Berbeda dengan kolesterol plasma darah yang sebagian besar dalam bentuk teresterifikasi, kolesterol cairan empedu hanya 4% yang berbentuk ester (Haepel, 1980).

Kolesterol di dalam darah 70% beredar tidak dalam keadaan bebas, tetapi berada dalam partikel-partikel lipoprotein. Lipoprotein merupakan senyawa kompleks antara lemak dan protein, lipoprotein terdiri empat jenis yaitu kilomikron, very low density lipoprotein (VLDL), low density lipoprotein (LDL) dan high density lipoprotein (HDL) (Devlin, 1992). Kilomikron mengandung 96% trigliserida; 1,7% protein, 1,55 kolesterol, dan 0,8% fosfolipid. Kilomikron berfungsi sebagai pengangkut lemak dari usus ke tempat-tempat yang membutuhkan. VLDL mengandung 60% trigliserida, 15% kolesterol, 10% protein, dan 15% fosfolipid, fungsi VLDL adalah sebagai pengangkut trigliserida endogen dari tempat tempat pembentukannya ke tempat yang membutuhkannya. Selanjutnya LDL mengandung 10% trigliserida, 45% kolesterol, 25% protein, dan 20% fosfolipid. Dapat dilihat bahwa LDL mengandung kolesterol yang cukup tinggi. Hal ini berarti, peningkatan kadar LDL di dalam darah selalu disertai hiperkolesterolemia. LDL berfungsi mengangkut kolesterol dari sel yang satu ke sel yang lain dan dia diperlukan untuk pembentukan hormon sterol dan steroid.

HDL mengandung 3% trigliserida, 18% kolesterol, 50% protein, dan 30% fosfolipid. HDL berfungsi sebagai pengangkut kolesterol dari darah ke hati untuk di degradasi menjadi asam empedu dan di buang ke dalam kantong empedu. Bila kadar HDL dalam darah rendah, maka kolesterol yang dimetabolisme relatif sedikit, sehingga banyak kolesterol yang tertimbun dalam darah. Akibat penimbunan ini akan dapat terjadi hipokolesterolemia dan lebih lanjut menjadi arterosklerosis yaitu terjadi pengendapan kolesterol dan lipid lainya pada dinding arteri yang lebih lanjut mengakibatkan pengerasan dinding arteri tersebut (Mathews dan van holde, 1991). HDL mempunyai sifat spesifik, karena hubungannya yang bersifat negatif terhadap arterosklerosis dan hipokolesterolemia. Semakin tinggi kadar kolesterol-HDL dalam serum darah maka akan semakin kecil kemungkinan individu tersebut mengalami penyakit arterosklerosis (McGilvery, 1996). Orang yang mempunyai kadar kolesterol sekitar 260 mg/100 ml darah mempunyai kemungkinan dua kali lebih besar untuk terkena penyakit jantung koroner daripada orang yang kadar kolesterolnya di bawah 220 mg/100 ml.

Sejauh ini tindakan yang paling penting untuk mengatasi hiperkolesterolemia adalah memperbaiki pola hidup sehari-hari seperti diet rendah lemak (Ganiswra, 2002) serta pemberian obat yang meliputi obat yang dapat mengkonversi kolesterol yang dihasilkan hati menjadi asam empedu juga obat-obat lain yang dapat menghambat sistem enzim hati untuk pembentukan kolesterol (Guyton, 1997).

Hiperurecemia adalah kadar asam urat di dalam darah melebihi normal yaitu di atas 7 mg/dL pada pria dan di atas 6 mg/dL pada wanita. Berdasarkan patofisiologinya peningkatan asam urat disebabkan oleh tiga hal, yaitu: produksi asam urat berlebih, pembuangan atau ekskresi asam urat terganggu dan kombinasi keduanya. Hiperuricemia merupakan penyakit gangguan metabolisme, sehingga diperlukan pengobatan jangka panjang yang bertujuan menurunkan kadar asam urat darah dan mengatasi komplikasi lebih lanjut (Anonim, 2001).

Asam urat merupakan produk akhir utama dari metabolisme asam nukleat dan purin pada manusia melalui jalur konversi xantin, dengan menggunakan xantin oksida dan dikeluarkan melalui ginjal.

Ada beberapa hal yang dapat meningkatkan kadar asam urat dalam darah dan merupakan faktor resiko terjadinya hiperurisemia. Faktor faktor tersebut dapat dikelompokkan dalam tiga mekanisme, yaitu: 1). Peningkatan produksi asam urat. Hal ini bisa terjadi karena faktor idiopatik primer, makanan yang kaya purin (banyak mengandung protein), obesitas, alkohol, polisitemia vera, paget's disease, proses hemolitik dan psoriasis 2). Penurunan ekresi asam urat. Penurunan ekresi asam urat merupakan sebagian besar penyebab hiperurisemia (hampir 90% kasus). Penyebabnya antara lain : idiopatik primer, insufisiensi ginjal, ginjal polistik, diabetes insipidus, hipertensi, asidosis, toksik pada kehamilan, penggunaan obat-obatan seperti salisilat < 2 gram/hari, diuretik, alkohol, levodopa, ethambutol dan pyrazinamid. 3). Kombinasi antara kedua mekanisme tersebut. Dapat terjadi pada defisit glukosa 6-fosfat, defisiensi fruktosa 1-fosfat aldosa, konsumsi alkohol dan shock.

Kadar asam urat dapat meningkat menjadi hiperurisemia jika kadarnya lebih dari 7 mg/dl dan ada indikasi peningkatan total urat dalam tubuh (Gaw et al., 1998). Jika pada hiperurisemia didapatkan hasil bentukan kristal asam urat, maka hiperurisemia dapat berkembang menjadi gout.

Alopurinol berguna untuk mengobati penyakit pirai (hiperuricemia), karena dapat menurunkan kadar asam urat darah. Alopurinol bekerja dengan menghambat xantin oksidase, enzim yang mengubah hipoxantin menjadi xantin dan selanjutnya menjadi asam urat. Melalui mekanisme umpan balik alopurinol menghambat sintesis purina yang merupakan prekursor xantin (Anonim, 2001).

Kondisi masyarakat Indonesia yang masih banyak tinggal di pedesaan dan dengan adanya krisis ekonomi yang terjadi maka diharapkan obat tradisional dapat menjadi solusi

pengobatan yang berharga murah. Masyarakat luas sekarang sudah menengok fitoterapi sebagai alternatif pengobatan hiperkolesterolemia dan hiperuricemia, karena dianggap fitoterapi relatif aman dan tanpa efek samping yang berarti. Secara umum pilihan obat fitoterapi sebagai terapi alternatif didasarkan pada beberapa alasan: (1). Lebih aman (toksisitas dan efek samping lebih kecil) terutama untuk jangka waktu lama, (2) Lebih tinggi efikasinya, (3) Lebih baik keberhasilan terapi karena tidak hanya meliputi terapi kausal tetapi juga terapi komplikasi, simptomatik dan rehabilitasi, (4) Lebih terjangkau biayanya dengan efikasi yang sama, (5) Lebih bernilai ekonomi jika ditinjau dari pemanfaatan dan pengembangan sumber daya nasional tanaman obat asli Indonesia (Santosa dan Zaini, 2002).

Jati belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) merupakan tanaman yang tumbuh baik di iklim tropis. Tanaman dari kelas *Dicotyledonae* ini termasuk dalam famili *Sterculiaceae*, dan diduga berasal dari negara Amerika yang beriklim tropis. Tanaman ini tumbuh di dataran rendah sampai dengan ketinggian 800 mdpl. Jati belanda biasanya ditanam sebagai pohon peneduh, tanaman pekarangan atau tumbuh liar begitu saja. Daun, buah, biji, dan kulit kayu bagian dalam merupakan bagian tanaman yang bisa dipergunakan sebagai obat. Secara umum, zat utama yang terkandung dari seluruh bagian tanaman adalah tanin dan musilago. Kandungan lainnya yaitu resin, flavonoid, karotenoid, asam fenolat, zat pahit, karbohidrat, kafein, terpen, juga senyawa – senyawa lain seperti sterol, beta-sitosterol, friedelin-3-alfa-asetat, friedelin -3-beta-ol, alkaloida serta karbohidrat dan minyak lemak. Tanin yang banyak terkandung di bagian daun, mampu mengurangi penyerapan makanan dengan cara mengendapkan mukosa protein yang ada dalam permukaan usus. Sementara itu, musilago yang berbentuk lendir bersifat sebagai pelicin. Dengan adanya musilago, absorpsi usus terhadap makanan dapat dikurangi. Hal ini yang menjadi alasan banyaknya daun jati belanda yang dimanfaatkan sebagai obat susut perut dan pelangsing. Dalam perkembangannya, daun jati belanda juga banyak dimanfaatkan untuk mengatasi penyakit kolesterol dan rematik.

Kemuning (*Murraya paniculata [L.] Jack*) biasa tumbuh liar di semak belukar, tepi hutan, atau ditanam sebagai tanaman hias dan tanaman pagar. Kemuning dapat ditemukan sampai ketinggian \pm 400 m dpl. Variasi morfologi besar sekali. Yang biasa ditanam untuk memagari pekarangan, biasanya jenis yang berdaun kecil dan lebat. Semak atau pohon kecil, bercabang banyak, tinggi 3 - 8 m, batangnya keras, beralur, tidak berduri. Daun majemuk, bersirip ganjil dengan anak daun 3 - 9, letak berseling. Helaian anak daun

bertangkai, bentuk bulat telur sungsang atau jorong, ujung dan pangkal runcing, tepi rata atau agak beringgit, panjang 2 - 7 cm, lebar 1 - 3 cm, permukaan licin, mengilap, warnanya hijau, bila diremas tidak berbau. Bunga majemuk berbentuk tandan, 1 - 8, warnanya putih, wangi, keluar dari ketiak daun atau ujung ranting. Buah buni berdaging, bulat telur atau bulat memanjang, panjang 8 - 12 mm, masih muda hijau setelah tua merah mengilap, berbiji dua.

Daun kemuning mengandung cadinene, methyl-anthranilate, bisabolene, P-earyophyllene, geraniol, carene-3, eugenol, citronellol, methyl-salicylate, s-guaiazulene, osthole, paniculatin, tanin, dan coumurrayin. Kulit batang mengandung mexotioin, 5-7-dimethoxy-8- (2,3-dihydroxyisopentyl) coumarin. Sedangkan bunga kemuning mengandung scopeletin, dan buahnya mengandung semi-ec-carotenone.

Kelembak (*Rheum officinale* Baill). Mempunyai *Habitus*: Semak, tahunan, tinggi 25-80 cm. Batang: Pendek, terdapat di dalam tanah, beralur melintang, masif, coklat. Daun: Tunggal, bulat telur, pangkal bentuk jantung dan berbulu, ujung runcing, tepi rata, bertangkai 10-40 cm, pangkal tangkai daun memeluk batang, panjang 10-35 cm, lebar 8-30 cm, hijau. Bunga: Majemuk, berkelamin dua atau satu, bergabung menjadi malai yang bercabang, mahkota enam helai tersusun dalam lingkaran, benang sari sembilan, bakal buah bentuk segi tiga, tangkai putik melengkung, kepala putik tebal, putih kehijauan. Buah: Padi, bersayap tiga, bulat telur, merah. Akar: Tunggang, lunak, bulat, coklat muda. Akar dan daun kelembak mengandung flavonoida, di samping itu akarnya juga mengandung glikosida dan saponin, sedangkan daunnya juga mengandung polifenol.

Ramuan yang terdiri dari tiga tanaman obat jati belanda, kemuning dan kelembak telah digunakan secara empiris oleh masyarakat sebagai jamu untuk menurunkan kolesterol darah.

Secang (*Caesalpia sappan* L.) Tanaman ini menyenangi tempat terbuka sampai ketinggian 1.000 m dpl., seperti di daerah pegunungan yang berbatu tetapi tidak terlalu dingin. Secang tumbuh liar dan kadang ditanam sebagai tanaman pagar atau pembatas kebun. Perdu atau pohon kecil, tinggi 5-10 m, batang dan percabangannya berduri tempel yang bentuknya bengkok dan letaknya tersebar, batang bulat, warnanya hijau kecoklatan. Daun majemuk menyirip ganda, panjang 25-40 cm, jumlah anak daun 10-20 pasang yang letaknya berhadapan. Anak daun tidak bertangkai, bentuknya lonjong, pangkal romping, ujung bulat, tepi rata dan hampir sejajar, panjang 10-25 mm, lebar 3-11 mm, warnanya hijau. Bunganya bunga majemuk berbentuk malai, keluar dari ujung tangkai dengan

panjang 10-40 cm, mahkota bentuk tabung, warnanya kuning. Buahnya buah polong, panjang 8-10 cm, lebar 3-4 cm, ujung seperti paruh berisi 3-4 biji, bila masak warnanya hitam. Biji bulat memanjang, panjang 15-18 mm, lebar 8-11 mm, tebal 5-7 mm, warnanya kuning kecoklatan. Panenan kayu dapat dilakukan mulai umur 1-2 tahun. Kayunya bila digodok memberi warna merah gading muda, dapat digunakan untuk pengecatan, memberi warna pada bahan anyaman, kue, minuman atau sebagai tinta. Perbanyakkan dengan biji atau stek batang. Sepat tidak berbau. Menghentikan perdarahan, pembersih darah, pengelat, penawar racun dan antiseptik. Kandungan kimia: Kayu: Asam galat, tanin, resin, resorsin, brasilin, brasilein, d-alfa-phellandrene, oscimene, minyak atsiri. Daun: 0,16%-0,20% minyak atsiri yang berbau enak dan hampir tidak berwarna.

Kepel merupakan tumbuhan asli Indonesia, ditanam di pekarangan, ladang, atau tumbuh liar di tempat-tempat yang tanahnya tidak lembap dan berpasir seperti di dekat pantai atau di hutan sampai ketinggian 1600 m dpl. Tumbuhan menahun, batang kokoh. Percabangan dimulai dari pangkalnya yang keras dan menyerupai kayu. Daun tunggal, bertangkai, bentuknya bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat, ujung runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin, permukaan bawah berbintik-bintik, panjang 8,5 - 30 cm, lebar 3 - 13 cm, hijau. Bunga berkelamin tunggal, tersusun dalam bulir yang tumbuh tegak atau sedikit merunduk, bulir jantan lebih panjang dari bulir betina. Buah majemuk berupa bulir, bentuk bulat panjang sampai silindris, bagian ujung agak mengecil, permukaan tidak rata, bertonjolan teratur, panjang 2 - 7 cm, garis tengah 4 - 8 mm, bertangkai panjang, masih muda berwarna hijau, keras dan pedas, kemudian warna berturut-turut menjadi kuning gading dan akhirnya menjadi merah, lunak dan manis. Biji bulat pipih, keras, cokelat kehitaman. Perbanyakkan dengan biji atau setek batang.

Tempuyung (*Sonchus arvensis*) merupakan tanaman ternak semusim, tinggi dapat mencapai 1,5 m. Akar gasing sangat kuat. Batang bersegi, bercabang mulai pangkal batang, bergetah putih, percabangan batang monopodial, hijau-keputihan, di bagian atas berambut kasar, diameter batang lebih dari 1 cm. Daun tunggal, letak daun pangkal berkumpul dalam suatu roset akar, bentuk helaian pangkal lonjong sampai sudip, panjang 6-38 cm, lebar 1 - 8 cm, tepi rata sampai bergerigi halus atau berbagi menyirip, ujung tumpul, pangkal runcing. Daun ujung di bagian ujung tanpa tangkai, memeluk batang, berbentuk tombak, ujung runcing, pangkal bertelinga, permukaan bawah helaian keputih-putihan. Perbungaan berupa bunga majemuk bongkol (cawan), berdaun pembalut dengan susunan malai rata, panjang rata-rata daun pembalut 1,5 cm, panjang bongkol 2 - 2,5 cm, bongkol tanpa bunga

tepi, panjang tangkai 1-8 cm, berambut kelenjar, hijau keputihan. Mahkota bunga berbentuk tabung, berwarna putih, papus rata-rata 1,5 cm. Benang sari 5, kepala sari saling berlekatan, dengan tangkai sari berlepasan, berwarna kuning kecoklatan. Buah kurung, diliputi papus berupa rambut panjang, berfungsi untuk pemencaran biji melalui angin.

Kandungan kimia daun tempuyung diketahui adanya natrium, kalium dan kalsium (Interferky, 1980). Pemeriksaan lanjutan terhadap senyawa turunan flavonoid dan kumarin menemukan senyawa lain yang diduga adalah skopoletin dan ada senyawa flavonoid lain yaitu luteolin-7-O glukosida dan apigenin 7-O glukosida (Sabar 1984). Di samping itu juga ditemukan adanya kandungan silika, teraksasterol, inositol. (Materia medika) Pada pustaka lain disebutkan bahwa tempuyung mengandung oe-laktuserol, p-laktuserol, manitol, inositol, silica, kalium, flavonoid dan taraksastero (Materia medica 2005). Paul Cos dan kawan-kawan, 1998 dari Department of Pharmaceutical Science, University of Antwerp, Belgia, menyatakan bahwa flavonoid jenis apigenin-7-O-glukosida mempunyai potensi yang cukup baik untuk menghambat kerja enzim xantin oksidase dan superoksidase.

Dengan adanya flavonoid dalam daun tempuyung, kemungkinan besar tumbuhan tersebut memiliki potensi untuk menurunkan kadar asam urat dengan cara menghambat aktivitas kerja enzim xantin oksidase. Selain itu, ion-ion natrium dan kalium pada tempuyung dapat menjaga keseimbangan elektrolit pada ginjal dan akan berikatan dengan asam urat membentuk senyawa garam yang mudah larut dalam air, sehingga asam urat yang telah mengkristal di dalam darah dan ginjal akan terlarut secara perlahan-lahan. Ion kalium akan menimbulkan efek diuretik (melancarkan urin) sehingga proses pembuangan asam urat atau batu ginjal pun menjadi lebih cepat (/)

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian ilmiah untuk mendukung data empirik mengenai khasiat ramuan daun tempuyung dalam menurunkan kadar asam urat dengan metode penghambatan kerja enzim xantin oksidase.

Daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* L.) mengandung musilago yang dapat mengembang di lambung sehingga memberikan efek menekan nafsu makan (Pramono dkk, 2000), sementara kandungan tannin yang ada di dalamnya berfungsi mencegah absorpsi lemak dan kolesterol di usus (Pramono, 2003), sedangkan kandungan kimia lain yang diperkirakan suatu alkaloid memiliki efek menghambat aktivitas enzim lipase sehingga mencegah pemecahan lemak menjadi molekul yang lebih kecil dan berakibat pula pada pengurangan jumlah lemak yang terserap ke dalam darah (Setyorahardjo, 2004). Ketiga kandungan kimia daun jati belanda yang memiliki efek saling mendukung inilah yang

disebut efek komplementer dan semuanya bermuara kepada efek daun tersebut sebagai pelangsing.

Kelembak (*Rheum officinale* Bail.) mengandung senyawa golongan antrakinon yaitu rein dan turunannya yang berefek sebagai laksansia (Wichtl, 1994). Dalam hal ini terjadi efek yang memacu pengeluaran feses sehingga mempercepat pengosongan di usus yang berakibat mengurangi waktu absorpsi di usus.

Sehubungan dengan hal di atas maka akan dilakukan penelitian aktivitas ramuan tanaman obat sebagai penurun kolesterol darah dan asam urat darah. Ramuan yang terbukti menurunkan kolesterol darah dan asam urat darah dilanjutkan dengan uji toksisitas akut. Sehingga dari penelitian ini diharapkan dihasilkan ramuan yang terbukti aman dan berkhasiat menurunkan kolesterol dan asam urat darah. Penggunaan ramuan jamu karena secara empiris jamu merupakan ramuan dari beberapa tanaman obat, dimana bila dalam ramuan itu saling mendukung secara efek farmakologi maka semakin baik ramuan itu bekerja, sehingga hasil yang dicapai diharapkan semakin baik, bila bentuk tunggal kadar zat aktif dalam satu tanaman umumnya tidak terlalu besar sehingga untuk mencapai efek terapi yang diharapkan penggunaan bahan juga besar. Efek terapi dalam ramuan kadang dengan mekanisme kerja yang berbeda dari masing-masing bahan tetapi untuk satu tujuan terapi, sehingga bentuk ramuan diharapkan akan menghasilkan efek terapi yang lebih baik.

II. TUJUAN.

1. Tujuan Umum : Pengembangan formula tanaman obat yang aman sebagai penurun asam urat darah dan kolesterol darah.

2. Tujuan khusus :

- a) Mengkaji aktivitas penurun kolesterol darah formula tanaman obat dengan komponen tanaman Jati belanda, kelembak dan Kemuning
- b) Mengkaji aktivitas penurun asam urat darah formula tanaman obat dengan komponen tanaman Secang, Kepel dan Tempuyung.

- c) Mengkaji toksisitas akut formula tanaman obat yang mempunyai aktivitas penurun kolesterol darah tertinggi
- d) Mengkaji toksisitas akut formula tanaman obat yang mempunyai aktivitas penurun asam urat darah tertinggi

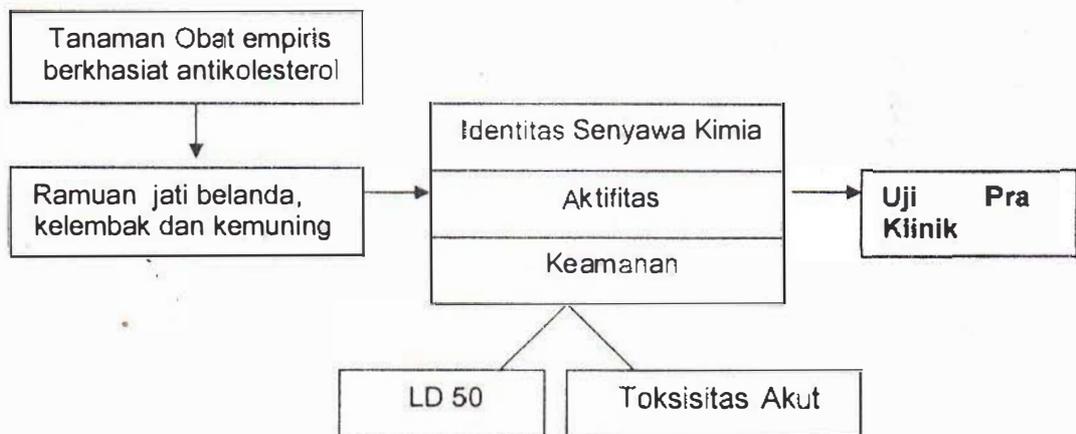
III. MANFAAT

Mendapatkan ramuan tanaman obat yang aman dan berkhasiat sebagai penurun kolesterol dan asam urat darah.

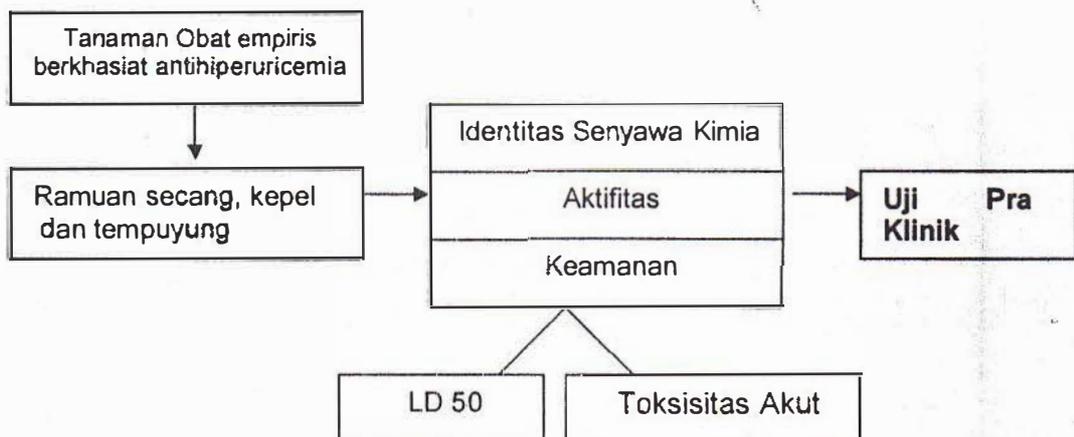
IV. METODE PENELITIAN

I. Kerangka Pikir

a. Uji Anti Cholesterolemia



b. Uji Anti Hiperuricemia



2.Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di B2P2TO-OT Tawangmangu

Penelitian dilakukan selama selama 11 (delapan) bulan dari bulan Pebruari sampai dengan Desember 2010

3.Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap, satu kelompok normal, satu kontrol positif, satu kontrol negatif dan kelompok tiga perlakuan, digunakan hewan uji tikus putih.

4.Jenis Penelitian

Jenis penelitian farmakologi eksperimental

5.Populasi dan Sampel

Uji khasiat :

Jumlah sampel ditentukan dengan rumus Frederer

$$RAL \approx T(n-1) > 15 \quad 5(n-1) > 15 \dots \dots \dots n=4$$

Jadi jumlah minimal sampel untuk setiap perlakuan dan kelompok dosis adalah 4. Dalam penelitian ini digunakan enam sampel dengan hewan uji tikus putih jantan galur SD umur \pm dua bulan berat badan 150-200 gram.

Uji toksisitas:

Hewan percobaan, tikus putih(*Rattus norvegicus*) galur SD (Sprague Dawley) umur \pm 2 bln, berat badan 150-200 gram.

Penentuan jumlah sampel digunakan rumus $RAL \dots T(n-1) > 15; 4(n-1) > 15; n=4$ jadi jumlah minimal sampel tiap perlakuan dan kelompok dosis adalah 4. Pada penelitian ini setiap perlakuan digunakan enam ekor.

Sesuai pedoman WHO, untuk toksisitas akut terdiri empat kelompok (satu kelompok kontrol dan tiga kelompok dosis) @ 3 ekor jantan dan 3 ekor betina.

6.Variabel dan Cara pengumpulan Data

- a. Variabel bebas:
Variasi formula tanaman obat dan dosis infusa tanaman obat
- b. Variabel tergantung :
1. Uji khasiat : aktivitas penurun asam urat dan kolesterol darah
 2. Uji keamanan : toksisitas akut : penghitungan LD 50 gejala toksik: mis: diare, muntah, tremor, perubahan berat badan, gambaran darah rutin, Fungsi hepar, dan fungsi ginjal.

7. Bahan dan Cara Kerja

Secara rinci prosedur pelaksanaan kegiatan penelitian adalah sebagai berikut :

1. Determinasi tanaman, pengumpulan dan pengeringan bahan.

Determinasi dan penyimpanan spesimen dilakukan di Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu. Dilakukan di laboratorium sistematika tumbuhan B2P2TO2T.

Bahan uji merupakan bahan yang telah digunakan dalam klinik saintifikasi jamu hortus medicus B2P2TO2T. Beberapa tanaman seperti Jati belanda, Kemuning, Tempuyung, dan secang merupakan bahan dari petani binaan Koperasi KPRI Kobabto Tawangmangu berasal dari daerah Karanganyar dan sekitarnya, daun kepel berasal dari daerah purworejo dan metesih karanganyar, Kelembak dari daerah wonosobo Jateng.

Bagian tanaman yang digunakan

Tanaman	Bagian yang digunakan
Secang	Kayu/ lignum
Kepel	Daun/ folium
Tempuyung	Daun/ folium
Jati belanda	Daun/ folium
Kemuning	Daun/ folium
Kelembak	Akar/ radix

Mencuci bahan dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian diangin-anginkan dilanjutkan pengeringan di dalam oven suhu 40°C. Simplisia kemudian disimpan dalam wadah yang sesuai yaitu wadah dari kertas.

2. Pembuatan infusa

Membuat infusa ramuan formula tanaman obat untuk penurunan kolesterol darah dan anti asam urat dalam panci infus, hasil sari infusa digunakan untuk pemberian oral pada hewan uji. Sari infusa dibuat sesuai dengan FI Edisi IV yaitu 10% b/v misal bahan 30 g dalam 300 ml air, dibuat dengan cara bahan ditimbang sesuai berat komposisi, dibuat infusa pada panci infus pada suhu setelah mencapai 90 C selama 15 menit, sari infusa disaring kemudian diadkan sampai volume yang dibuat dalam labu takar. (volume yang didapat dipekatkan dalam vacuum evaporator sampai volume menjadi separuhnya, agar pemberian pada hewan coba tidak terlalu besar)

3. Uji aktivitas penurun asam urat darah

Perlakuan sebelum uji aktivitas

Tikus putih galur SD diadaptasikan dalam kandangnya selama satu minggu. Sekam sebagai alas kandang diganti dengan yang baru. Tiap kandang (ukuran 25 x 30 x 20 cm) berisi tidak lebih dari 3 ekor tikus dengan jenis kelamin yang sama. Makan dan minum diberikan *ad libitum*. Kandang ditempatkan dalam ruangan dengan kondisi terang-gelap yang seimbang dan suhu ruang yang terjaga.

Mengelompokkan tikus secara acak menjadi empat kelompok (@ 6 ekor) yaitu Kelompok I : Kelompok Normal, Kelompok II : Kelompok Kontrol Positif, Kelompok III : Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok IV : Kelompok Uji Formula

Formula yang digunakan untuk uji :

- Formula I = infusa formula Secang : kepel : Tempuyung = 1 : 1 : 1
- Formula II = infusa formula Secang : kepel : Tempuyung = 3 : 2 : 1
- Formula III = infusa formula Secang : kepel : Tempuyung = 3 : 1 : 2
- Formula IV = infusa formula Secang : kepel : Tempuyung = 3 : 1 : 1

Sebelum perlakuan (hari ke-0) tikus dipuasakan +8 jam kemudian diambil darahnya Retroorbital untuk diperiksa kadar asam urat darah sebelum perlakuan

Perlakuan hewan uji

Hewan uji (tikus putih galur SD) diinduksi dengan kafein dosis 140 mg/kg BB, bersamaan dengan itu tikus juga diberikan formula uji peroral dengan dosis sesuai formula g/kg BB Selama 6 hari.

Tabel 1 Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah tikus
Kelompok normal	- diberi air minum	6
Kontrol (-)	Diberi kafein 140 mg/kgBB	6
Kontrol (+)	Diberi kafein 140 mg/kgBB diberi alopurinol 50 mg/kgBB dalam larutan CMC 0.125%	6
Formula I	Diberi kafein 140 mg/kgBB Sari infusa 0,270 g/ 200 g BB	6
Formula II	Diberi kafein 140 mg/kgBB Sari infusa 0,540 g/ 200 g BB	6
Formula III	Diberi kafein 140 mg/kgBB Sari infusa 0,540 g/ 200 g BB	6
Formula IV	Diberi kafein 140 mg/kgBB Sari infusa 0,450 g/200 g BB	6

Mengukur kadar asam urat darah pada hari ke-0 dan setelah perlakuan /hari ke-7

Pengukuran asam urat darah

Mengambil darah dari bagian retro orbital tikus, sebelum perlakuan (hari ke-0) dan setelah perlakuan (hari ke-7) Sebanyak 1,5 ml. Darah dimasukkan dalam tabung hematokrit, disentrifuse selama 10 menit, hingga serum terpisah. Serum (bagian yang jernih) diambil kemudian

diperiksa kadar asam urat darah dengan menggunakan alat kimia darah otomatis..

Semua data kadar asam urat total serum darah sebelum dan setelah perlakuan yang diperoleh dibandingkan dengan penurunan kadar asam urat masing masing untuk kemudian dibuat rata rata dan dianalisa.

4. Uji khasiat penurun kolesterol darah

Perlakuan sebelum uji aktivitas

Tikus putih galur SD diadaptasikan dalam kandangnya selama satu minggu. Sekam sebagai alas kandang diganti dengan yang baru. Tiap kandang (ukuran 25 x 30 x 20 cm) berisi tidak lebih dari 3 ekor tikus dengan jenis kelamin yang sama. Makan dan minum diberikan *ad libitum*. Kandang ditempatkan dalam ruangan dengan kondisi terang-gelap yang seimbang dan suhu ruang yang terjaga.

Mengelompokkan tikus secara acak menjadi empat kelompok (@ 6 ekor) yaitu Kelompok I : Kelompok Normal, Kelompok II : Kelompok Kontrol Positif, Kelompok III : Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok IV : Kelompok Uji Formula (Formula I s/d Formula V

Formula yang digunakan untuk uji :

-Formula I = Infusa formula Jati belanda : Kelembak : Kemuning = 1:1:1

-Formula II = Infusa formula Jati belanda : Kelembak : Kemuning = 3:2:1

-Formula III = Infusa formula Jati belanda : Kelembak : Kemuning = 3:1:2

-Formula IV = Infusa formula Jati belanda : Kelembak : Kemuning = 3:1:1

Masing- masing perbandingan 1 = 5 g simplisia

Sebelum perlakuan (hari ke-0) tikus dipuasakan +8 jam kemudian diambil darahnya Retroorbital untuk diperiksa kadar kolesterol darah sebelum perlakuan

Perlakuan hewan uji

Hewan uji (tikus putih galur SD) diinduksi dengan makanan tinggi kolesterol dan PTU 0,01% , bersamaan dengan itu tikus juga diberikan formula uji peroral dengan dosis sesuai perbandingan masing-masing selama 12 hari.

Tabel 1 Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah tikus
Kelompok normal	- diberi air minum	6
Kontrol (-)	Diberi makanan tinggi kolesterol+PTU	6
Kontrol (+)	Diberi makanan tinggi kolesterol+PTU dan diberi Simvastatin 0.18 mg/kgBB	6
Formula I	Diberi makanan tinggi kolesterol+PTU dan sari infusa 0,270 g / 200 g BB tikus	6
Formula II	Diberi makanan tinggi kolesterol+PTU dan Sari infusa 0,540 g / 200 g BB tikus	6
Formula III	Diberi makanan tinggi kolesterol+PTU dan Sari infusa 0,540 g / 200 g BB tikus	6
Formula IV	Diberi makanan tinggi kolesterol+PTU dan Sari infusa 0,450 g / 200 g BB tikus	6

Mengukur kadar kolesterol darah pada (hari ke-0) dan setelah perlakuan (hari ke-12)

Pengukuran kolesterol darah

Mengambil darah dari bagian retro orbital tikus, sebelum perlakuan (hari ke-0) dan setelah perlakuan (hari ke-12) Sebanyak 1,5 ml. Darah dimasukkan dalam tabung hematokrit, disentrifuse selama 10 menit, hingga serum terpisah. Serum (bagian yang jernih) diambil kemudian diperiksa kadar kolesterol darah dengan menggunakan alat kimia darah spektrofotometer (biolyzer 100).

Semua data kadar kolesterol total serum darah sebelum dan setelah perlakuan yang diperoleh dibandingkan penurunan kadar kolesterol masing masing untuk kemudian dibuat rata rata dan dianalisa

Dari hasil uji khasiat yang terbaik dari berbagai formula penurunan kadar kolesterol darah dan penurunan asam urat kemudian formula terbaik dilakukan uji toksisitas akut

5. Uji Toksisitas Akut

5.1. Prinsip : pemberian dosis tunggal suatu bahan uji secara oral yang dapat memperlihatkan efek toksik.

5.2. Tujuan :

- Untuk menetapkan nilai LD₅₀
- Untuk menentukan ada-tidaknya gejala keracunan.

5.3. Perlakuan Hewan Coba

Tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok dosis pemberian bahan uji. Masing – masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus jantan dan 3 ekor tikus betina.

Bahan uji diberikan secara oral (cara WHO) untuk sekali pemberian, bila dosis terlalu besar dapat diberikan beberapa kali namun tetap dalam satu hari.

5.4. Dosis

Untuk dosis paling besar adalah jumlah maksimal bahan uji yang secara teknis dapat diterima oleh hewan coba. Kemudian dosis diturunkan dengan menggunakan kelipatan dosis secara logaritmik. Bila pada dosis 5000 mg/kg BB tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi.

5.5. Observasi

Pengamatan meliputi kesehatan hewan/gejala klinis, berat badan, jumlah kematian dan *gross pathology* Pengamatan dilakukan selama 14 hari, dua hari sekali bobot badan ditimbang. dicatat terjadinya gejala klinik/toksik. Penentuan LD 50

5.6. Prosedur

Hewan uji diaklimatisasi di dalam ruangan percobaan selama 7 hari, kemudian dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran bobot tubuh merata untuk semua kelompok.

a. Sebelum pemberian bahan uji :

- masing-masing hewan coba ditimbang.
- hewan coba dipuasakan selama 8-12 jam.

b. Setelah pemberian zat uji :

- diberi makan + 4 jam.
- selama 6 jam diamati secara saksama terhadap adanya gejala toksik/keracunan dan kematian.
- pengamatan dilanjutkan sampai 14 hari, diamati 2 hari sekali, bobot tubuh ditimbang paling dua hari sekali. Pada hari ke-14 diperiksa lab. darah rutin, ureum creatinin dan SGOT-SGPT

5.7. Penentuan LD₅₀

Penentuan LD₅₀ (dosis yang menyebabkan kematian 50% hewan uji) menggunakan probit. Apabila tidak terjadi kematian hewan coba, maka hasil toksisitas akut dapat ditentukan dosis terbesar tersebut sebagai nilai LD₅₀ semu.

8. Pertimbangan etik penelitian

Etik penelitian dimintakan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbangkes Jakarta

VI. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil permohonan persetujuan etik komisi etik Badan Litbangkes Jakarta
Nomor : LB.03.02/KE/8321/2010
Pejabat : Prof. Dr. M. Sudomo
2. Hasil uji khasiat ramuan penurun kolesterol dan asam urat darah

Tabel 1. Hasil uji khasiat ramuan penurun kolesterol

No	Uji khasiat	Bagian yg diuji	Ramuan	Dosis	Hasil
1	anti kolesterol	Sari infusa	Formula 1	0,270 g/ 200 g BB tikus	Menurunkan kolesterol darah tikus
			Formula 2	0,540 g/ 200 g BB tikus	Menurunkan kolesterol darah tikus
			Formula 3	0,540 g/ 200 g BB tikus	Menurunkan kolesterol darah tikus
			Formula 4	0,450 g/ 200 g BB tikus	Menurunkan kolesterol darah tikus
2	penurun asam urat	Sari infusa	Formula 1	0,270 g/ 200 g BB tikus	Menurunkan asam urat darah tikus
			Formula 2	0,540 g/ 200 g BB tikus	Menurunkan asam urat darh tikus
			Formula 3	0,540 g/ 200 g BB tikus	Menurunkan asam urat darah tikus
			Formula 4	0,450 g/ 200 g BB tikus	Menurunkan asam urat darah tikus

Sumber data : Hasil percobaan

Dari hasil pengamatan perhitungan statistik didapatkan bahwa, ramuan penurun kolestrol darah yang terdiri dari empat formula dengan perbandingan komposisi yang berbeda masing-masing penyusun tanaman obat terlihat mampu menurunkan kolesterol darah tikus, juga dibandingkan dengan pemberian simvastatin 0,18 mg/ kg bb tikus, tidak berbeda secara bermakna, sehingga keempat formula dapat digunakan sebagai ramuan penurun kolesterol darah. Formula ramuan yang terdiri dari Jati belanda, kemuning, dan akar kelembak mempunyai efek terapi sebagai penurun kolesterol darah dengan mekanisme aksi :

- Daun Jati belanda: Polisakarida musilago berefek penekan nafsu makan, alkaloidnya menghambat enzim lipase pankreatik
- Daun Kemuning: banyak kandungan flavonoid dan kumarin → anti oksidan, penurun tekanan darah
- Akar Kelembak → Antrakinon Rhein dsj berefek laksansia → Kesempatan absorpsi kolesterol berkurang

Demikian juga terhadap formula penurun asam urat darah keempat formula mempunyai kemampuan menurunkan asam urat darah dari dosis 270, 450, dan 540 mg/ kg bb tikus, dibandingkan dengan pemberian alopurinol 50 mg/kg bb tikus. Sehingga formula penurun asam urat darah tersebut dapat dipergunakan sebagai ramuan penurun asam urat. Formula ramuan yang terdiri dari Secang, daun kepel dan akar kelembak mempunyai efek terapi sebagai penurun asam urat darah dengan mekanisme aksi :

- Daun Kepel: Flavonoid turunan flavonol → antioksidan → kemungkinan Penekan enzim xantin oksidase atau Antiinflamasi
- Daun Tempuyung: Flavonoid Luteolin-7-glukosida → Diuretika lemah → Urikosurik (mempercepat pengeluaran asam urat melalui mekanisme ekskresi melalui urin)
- Kayu Secang: Senyawa fenol brasilin → Penghambat xantin oksidase sehingga menghambat terbentuknya asam urat dalam darah.

3. Uji toksisitas akut formula penurun kolesterol dan asam urat darah pada tikus

Pengamatan dilakukan setelah pemberian bahan uji dan diamati secara saksama terhadap adanya gejala toksik/keracunan dan kematian. Pengamatan dilanjutkan sampai 14 hari, diamati 2 hari sekali, bobot tubuh ditimbang paling sedikit 3 kali dalam seminggu¹³. Pengamatan meliputi kesehatan hewan/gejala klinis, berat badan, jumlah kematian dan *gross pathology* (patologi makro) untuk hewan coba yang mati pada waktu pengamatan. Pada akhir penelitian hewan coba yang masih hidup diotopsi, dilakukan pengamatan secara makroskopis organ hepar, ginjal, usus dan jantung.

Penentuan LD₅₀ (dosis yang menyebabkan kematian 50% hewan uji) menggunakan probit. Apabila tidak terjadi kematian hewan coba, maka hasil toksisitas akut dapat ditentukan dosis terbesar tersebut sebagai nilai LD₅₀ semu¹⁴.

Hasil pengamatan uji toksisitas akut ramuan anti kolesterol dan penurun asam urat darh terhadap kenaikan berat badan hewan uji setelah pemberian dosis tunggal dalam pengamatan selama 14 hari terlihat dalam gambar 1, 2 dan 3. Pemberian dosis ekstrak tanaman dengan variasi tiga dosis yaitu 1250 mg/Kgbb (dosis 1), 2500 mg/Kgbb(dosis 2) dan 5000 mg/Kgbb (dosis 3).



Gambar 1. Perubahan bobot badan rata-rata (gram) tikus yang diamati selama 14 hari setelah pemberian dosis tunggal ramuan anti kolesterol.



Gambar 2. Perubahan bobot badan rata - rata (gram) tikus yang diamati selama 14 hari setelah pemberian dosis tunggal ramuan anti asam urat.

Sumber data : hasil percobaan

Dari gambar 1 dan 2 tersebut dapat dilihat bahwa bobot badan tikus mengalami kenaikan setelah pemberian dosis tunggal sari infusa ramuan anti kolesterol dan penurun asam urat darah tanaman. Pada penimbangan berat badan selama 14 hari pengamatan tidak ditemukan penurunan berat badan yang bermakna. Hampir seluruh hewan coba mengalami kenaikan berat badan selama penelitian. Gambaran perkembangan bobot badan tikus selama 14 hari setelah pemberian dosis tunggal oral bahan uji terlihat pada gambar 1, dan 2. Terlihat bahwa peningkatan bobot badan tikus kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol tidak berbeda secara signifikan dari hari ke hari selama 14 hari pengamatan.

Dari hasil perhitungan LD_{50} didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil uji toksisitas akut

No	Nama tanaman	Bagian yg diuji	Hasil LD ₅₀	Golongan
1	Ramuan anti kolesterol	Sari infusa	>5000mg/Kg BB	PNT
2	Ramuan penurun asam urat	Sari infusa	>5000mg/Kg BB	PNT

Keterangan : PNT (Practitial Non Toxic)

Sumber data : Hasil percobaan

Dari hasil pengamatan selama penelitian dapat dilihat bahwa uji toksisitas akut ramuan anti kolesterol dan penurun asam urat darah. Pada pengamatan kesehatan hewan coba selama penelitian (14 hari) seluruh kelompok hewan coba tidak ditemukan gejala klinis keracunan seperti diare, poliuria, muntah-muntah, kejang, tremor, dan penurunan kesadaran.

Pada tabel 1. dapat dilihat bahwa pemberian dosis terbesar 5000 mg/Kgbb pada dosis tunggal oral tidak ditemukan adanya kematian sampai 14 hari pengamatan.. Sehingga nilai LD₅₀ ditetapkan sebagai nilai LD₅₀ semu dari sari infusa ramuan anti kolesterol dan penurun asam urat darah adalah 5000 mg/Kgbb. Pada akhir penelitian, seluruh hewan coba yang masih hidup, tidak dicurigai adanya perubahan makroskopis terhadap organ hepar, ginjal, usus dan jantung.

VII. KESIMPULAN

1. Formula ramuan penurun kolesterol darah (jati belanda, kemuning, kelembak) dapat menurunkan kolesterol darah tikus.
2. Formula ramuan penurun asam urat (Secang, daun kepel, tempuyung) dapat menurunkan asam urat darah tikus.
3. Uji toksisitas akut infusa ramuan penurun kolesterol dan asam urat darah dosis tunggal oral tidak menimbulkan efek toksit, dengan nilai LD₅₀ ifusa ramuan lebih besar dari 5000 mg/Kgbb. Termasuk Practitial Non Toxic(PNT).

VIII. DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Anonim, Farmakope *Indonesia Ed IV*, Dep Kes RI, 1995.
- Anonim, 1989, *Materia Medika Indonesia*, Jilid V, Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- Anonim, 1991, *Prosedur Operasional Baku Uji Toksisitas, PPOM*, Ditjen POM Jakarta
- Anonim I, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Anonim I, 2003. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Tanaman Obat*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- Arief M.T.Q. 2004, *Pengantar Metodologi Penelitian Untuk Ilmu Kesehatan*, CSGF, Surakarta
- Gad S.C. 2002. *Drug Safety Evaluation*, Wiley-Interscience, New York
- Harrison Principles of Internal Medicine, 2001. 15th edition, Mc Grow Hill, New York
- Mc.Gilvery, R. W. and Golstein, G. W., 1996, *Biokimia Suatu Pendekatan Fungsional*, Edisi ketiga, Airlangga University Press, Jakarta.
- Montgomery, R., Robert, L. D., Thomas W.C., and Arthur, A.S., 1993, *Biokimia Berorientasi kasus*, Alih Bahasa M. Ismadi, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Naghawi, M., 2003. *Vulnerable Patient A Call for New Definition, and A Risk Assessment Strategi*.
- Pudjiastuti dkk, 2006, *Hasil Penelitian Tanaman Obat Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi 1997-2002*, Balitbangkes, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Rahardjo, S.S., 2004. " Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) terhadap Aktifitas Enzim Lipase Serum *Rattus norvegicus*", Abstrak Penelitian Kesehatan Seri 23.
- Pramono S, Nurwati S, Sugiyanto, 2000, Pengaruh lendir daun jati belanda terhadap berat badan tikus jantan galur Wistar, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol.6, No.2, 2000
- Pramono S, Purnomo FX, Sugiarto, 2005, *Pengembangan temulawak sebagai fitofarmaka antihipertensi*, Laporan Penelitian Badan POM, Jakarta.
- Rahardjo, 2004, Pengaruh ekstrak etanol daun jati belanda terhadap aktivitas enzim lipase in vivo, *Tesis Pasca Sarjana*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

- Soedibyo, Mooryati.1998. *Alam Sumber Kesehatan: Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta: Balai Pustaka, 357.
- Vogel.H.G. 2002, *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assay*,2nd Edition, Springer Verlag . Berlin Heidelberg Jerman

Form Penanganan Hewan Coba

- Nama Percobaan : Pengembangan Formulasi Tanaman Obat Sebagai Penurun Asam Urat dan Kolesterol Darah
- Bahan uji : sari infusa ramuan tanaman obat
- Nama pengusul : Saryanto S. Farm, Apt
- Instansi pengusul : Balai Besar Litbang TO & OT
- Hewan uji :
1. Jenis : Tikus putih
 2. Strain : SD
 3. Asal : UPHP UGM
 4. Kelamin : jantan & betina
 5. Umur : 2 bulan
 6. Berat badan : ± 180 gram
 7. Jumlah hewan : 100 ekor
 8. Makanan : Standart percobaan
 9. Minuman : air kran
 10. Aklimatisasi : ya, lama aklimatisasi : 7 hari
 11. Jenis & ukuran kandang : 35 x 20 x 15 cm
 12. Jumlah hewan dlm kandg : 3 ekor
 13. Suhu kamar pemeliharaan : 27°C
 14. Pencahayaan kamar pemlih : lampu PLN
 15. Ventilasi kamar pemeliharaan : cukup
 16. Pemeliharaan kes hewan : dilakukan setiap hari selama percobaan
 17. Pemberian bahan uji : oral
 18. Dosis bahan uji : 40mg/Kg BB, berdasarkan dosis LD₅₀
 19. Lama pembr. bahan uji : maks 12 hari
 20. Tindakan operasi : tdk
 21. Anastesia : ya
 22. Parameter yg ingin diket. : gejala klinis toksik/keracunan, gambaran darah rutin(Hb, jumlah eritrosit, jumlah leukosit, jumlah trombosit, hematokrit), gambaran kimia darah(SGOT, SGPT, ureum, kreatinin)
 23. Tindakan akhir percobaan : dikorbankan
 24. Cara pengorbanan : inhalasi menggunakan eter
 25. Otopsi, organ yg diambil : -
 26. Spesimen yang diambil : darah
Cara pengambilan darah :
Darah tikus diambil satu kali sebanyak 2 ml dari vena orbitalis dengan hati-hati menggunakan tabung hematokrit dan menggunakan antikoagulan (heparin) agar tidak terjadi pembekuan. Darah ditempatkan dalam tabung sentrifuga yang bersih dan kering lalu disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm.
 27. Pemusnahan karkas : dibakar

Tawangmangu, 14 April 2010
Pengusul

Saryanto S. Farm., Apt
NIP. 197206191998031001