

**PS1  
4**

Jakarta

**DOKUMEN CALON PATEN  
BERSIFAT RAHASIA**

## **LAPORAN AKHIR PENELITIAN**

### **Ramuan Penambah ASI Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) dan Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Sebagai Upaya Promotif Kesehatan Ibu Anak**



Nama Penyusun Laporan :

1. Lucie Widowati
2. Ani Isnawati
3. Komari
4. Suryana
5. Wien Winarno

**PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN**

**2011**

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

**Ramuan Penambah ASI  
Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) dan Kelor (*Moringa oleifera*  
Lamk) Sebagai Upaya Promotif Kesehatan Ibu Anak**



Nama Penyusun Laporan :

1. Lucie Widowati
2. Ani Isnawati
3. Komari
4. Suryana
5. Wien Winarno

**PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN  
2011**





**KEMENTERIAN KESEHATAN RI**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**  
**PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

**KEPUTUSAN**

**KEPALA PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN**  
NOMOR: HK.03.05/III/962/2011

**TENTANG**

**PEMBENTUKAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2011**

**KEPALA PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN**

- MENIMBANG** :
- bahwa untuk melaksanakan kegiatan penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, perlu ditunjuk Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011;
  - bahwa berdasarkan pertimbangan huruf a tersebut diatas, maka dipandang perlu menetapkan Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tentang Pembentukan Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 sejumlah tujuh belas penelitian;
- MENGINGAT** :
- Undang-Undang Nomor 23 Tahun 1992 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia tahun 1992 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3495);
  - Undang-undang Nomor 14 Tahun 2001 tentang Paten (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2002 Nomor 109, Tambahan Lembaran negara Republik Indonesia Nomor 4130);
  - Peraturan Pemerintah RI No. 39 Tahun 1995 tentang Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Lembaran Negara Tahun 1995 Nomor 67, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3609);
  - Peraturan Pemerintah Nomor 20 Tahun 2005 tentang Alih Tehnologi Kekayaan Intelektual serta hasil Penelitian dan Pengembangan oleh Perguruan Tinggi dan Lembaga Penelitian dan Pengembangan (Lembaran Negara Tahun 2005 Nomor 43, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4497);
  - Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 791/Menkes/SK/VII/1999 tentang Koordinasi Penyelenggaraan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
  - Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1179A/Menkes/SK/X/1999 tentang Kebijakan Nasional Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
  - Peraturan Presiden Nomor 47 Tahun 2009 tentang Pembentukan dan Organisasi Kementerian Negara.
  - Peraturan Menteri Kesehatan No. 1144/Menkes/Per/VIII/2010 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan;
  - Keputusan Kementerian Kesehatan RI No.03.05/4/220/2001 tanggal 7 Januari 2011 tentang Penetapan Pejabat Kuasa Pengguna Anggaran, Pejabat yang melakukan Tindakan yang Mengakibatkan Pengeluaran Anggaran Belanja/Pembuat Komitmen, Pejabat Penguji SPP, Pejabat Penandatanganan SPM, Bendahara Penerima dan Pengeluaran pada Kantor Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Jakarta;
- MEMPERHATIKAN** :
- Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tahun 2011 dengan No.0683/024-11.1.01/00/2011, tanggal 20 Desember 2010;
  - Perjanjian Pelaksanaan Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan dengan No. PR.03.01/III/876/2011 sampai dengan Nomor: No. PR.03.01/III/912/2011, tanggal 14 Februari 2011



# KEMENTERIAN KESEHATAN RI

## BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

### PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

#### MEMUTUSKAN

#### MENETAPKAN

#### KESATU

- 1) Membentuk Tim Pelaksana Penelitian Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011 sebagaimana tercantum dalam lampiran keputusan ini;
- 2) Kepada Tim Pelaksana Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan Tahun Anggaran 2011, dapat diberikan honorarium sebagaimana tersebut dalam lampiran 2 Keputusan ini;

#### KEDUA

- Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 mempunyai tugas sebagai berikut:
- 1) Melaksanakan Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011, dengan susunan Tim seperti pada lampiran surat keputusan ini;
- 2) Menyerahkan Laporan Kemajuan Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian dan Laporan Akhir Penelitian kepada Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.

#### KETIGA

- Dalam melaksanakan tugasnya, Tim bertanggungjawab kepada Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan serta wajib menyampaikan laporan akhir penelitian sebagai pertanggungjawaban kegiatan;

#### KEEMPAT

- Biaya pelaksanaan kegiatan serta honor Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 dibebankan pada anggaran DIPA Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011;

#### KELIMA

- Keputusan ini mulai berlaku sejak bulan Januari sampai dengan Desember 2011 dengan ketentuan apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini akan diadakan perbaikan dan perubahan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Jakarta  
Pada tanggal : 17 Februari 2011



Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt  
NIP 19621119 198803 100 1

#### Tembusan Yth:

1. Sekretaris Jenderal Kemenkes RI;
2. Inspektur Jenderal Kemenkes RI .
3. Ketua Badan Pemeriksa Keuangan;
4. Kepala Badan Pengawasan Keuangan dan Pembangunan;
5. Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
6. Sekretaris Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
7. Kanwil Ditjen Anggaran Kemenkeu RI DKI Jakarta;
8. Para Kepala Pusat di Lingkungan Badan Litbang Kesehatan;
9. Kepala Bagian Tata Usaha Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
10. Kepala Bidang Biomedis, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
11. Kepala Bidang Teknologi Dasar Kesehatan, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
12. Bendaharawan Pengeluaran Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
13. Masing-masing yang bersangkutan untuk dilaksanakan.



# KEMENTERIAN KESEHATAN RI

## BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

### PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

#### Lampiran 1

Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar  
Kesehatan

Nomor : HK.03.05/III/962/2011

Tanggal : 17 Februari 2011

#### SUSUNAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2011

RAMUAN PENAMBAH ASI KLABET (*Trigonella Foenum-Gracum* L) DAN KELOR  
(*Moringa Oleifera* Lamk) SEBAGAI UPAYA PROMOTIF KESEHATAN IBU ANAK

1. Dra. Lucie Widowati, Apt., M.Si : Peneliti Madya/Ketua Pelaksana
2. Dra. Marice Sihombing, MS : Peneliti Madya
3. Dra. Yun Astuti, M.Kes : Peneliti Madya
4. Drs. Winarno, M.Kes : Peneliti Madya
5. Pudjiastuti, B.Sc : Peneliti Madya
6. Adjirni, B.Sc : Peneliti Madya
7. Budi Nuratmi, B.Sc : Peneliti Madya
8. Dra. Ani Isnawati, M.Kes., Apt : Peneliti Madya
9. Dra. Sukmayati Alegantina : Peneliti Madya
10. Drs. Suryana : Peneliti Madya
11. Prof. Komari : Peneliti Madya (Utama)
12. Kurniati : Pembantu Peneliti
13. Usmadi : Pembantu Peneliti
14. Sugianto, S.Kom : Sekretariat Penelitian
15. Uly Adhie Mulyani, S.Si., Apt : Pengolah Data



Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt  
NIP. 19621119 198803 100 1



**KEMENTERIAN KESEHATAN RI**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**  
**PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

**Lampiran 2**

**Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi  
Dasar Kesehatan**

Nomor : HK.03.05/III/962/2011  
Tanggal : 17 Februari 2011

JUDUL PENELITIAN : **KLABET (*Trigonella Foenum-Gracum* L) DAN KELOR (*Moringa Oleifera* Lamk) SEBAGAI UPAYA PROMOTIF KESEHATAN IBU ANAK**

**JUMLAH HONOR TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2011**

- |                           |   |     |           |
|---------------------------|---|-----|-----------|
| 1. Peneliti Utama         | : Jumlah honor yang diterima per-Jam sebesar      | =Rp | 50.000    |
| 2. Peneliti Madya         | : Jumlah honor yang diterima per-Jam sebesar      | =Rp | 45.000    |
| 3. Pembantu Peneliti      | : Jumlah honor yang diterima per-Jam sebesar      | =Rp | 20.000    |
| 4. Peneliti Muda          | : Jumlah honor yang diterima per-Jam sebesar      | =Rp | 35.000    |
| 5. Sekretariat Penelitian | : Jumlah honor yang diterima setiap bulan sebesar | =Rp | 260.000   |
| 6. Pengolah Data          | : Jumlah honor yang diterima per-penel. sebesar   | =Rp | 1.330.000 |

Kepala  
Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt  
NIP. 19621119 198803 100 1

## KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat dan hidayah-Nya, karena telah terselesaikannya penyusunan laporan penelitian Ramuan Penambah ASI Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) dan Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Sebagai Upaya Promotif Kesehatan Ibu Anak.

Data Susenas (2007-2008) menunjukkan bahwa cakupan pemberian ASI eksklusif pada bayi 0-6 bulan di Indonesia menunjukkan penurunan dari 62,2% (2007) menjadi 56,2% (2008). Salah satu alasan dari tidak menyusuihnya ibu, adalah karena tidak keluarnya ASI.

Dalam upaya meningkatkan pengeluaran ASI ibu dan menambah gizi ASI, telah selesai dilakukan penelitian tahap I, dari tiga tahap penelitian yang direncanakan.

Hasil penelitian mempunyai potensi strategis untuk dimanfaatkan secara komersial untuk industri, sehingga penelitian diarahkan akan berhasil guna secara komersial dalam mendapatkan paten untuk bidang kesehatan. Selain itu, akan bermanfaat bagi program Saintifikasi Jamu, untuk pengembangan perolehan *evidence base*, sehingga dapat digunakan dalam pelayanan kesehatan formal melalui Direktorat Bina Gizi dan Kesehatan Ibu Anak.

Melalui kesempatan ini, kami menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan ucapan terima kasih kepada semua pihak terutama tim peneliti dan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, atas sumber pembiayaan yang telah disediakan, sehingga penelitian berjalan sebagaimana mestinya, tepat waktu sehingga laporan penelitian dapat diselesaikan pada waktunya.

Jakarta, 20 Januari 2012

Ketua Pelaksana Penelitian

Dra. Lucie Widowati MSi. Apt.

## RINGKASAN EKSEKUTIF

**Judul Penelitian: Ramuan Penambah ASI Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) dan Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Sebagai Upaya Promotif Kesehatan Ibu Anak**  
**Penyusun : Lucie Widowati, Ani Isnawati, Komari, Suryana, Wien Winarno**

Deklarasi Innocenti, Florence Italia tahun 1990, mengamanatkan agar semua ibu sukses menyusui. Dengan terbitnya Undang-undang No. 36 tahun 2009 tentang kesehatan yang salah satu pasalnya telah memerintahkan membuat peraturan pemerintah (PP) tentang Pemberian ASI eksklusif yaitu Peraturan Menteri Negara Pemberdayaan Perempuan dan Perlindungan Anak No. 03/2010 tentang 10 Langkah Menuju Keberhasilan Menyusui (LMKM).

Masalah tidak lancarnya pengeluaran ASI pada ibu setelah melahirkan tidak pernah berhenti. Air Susu Ibu (ASI) merupakan makanan utama yang sangat dibutuhkan oleh anak dari lahir hingga minimal berusia dua tahun. Saat ini masalah kekurangan gizi bayi di bawah lima tahun (Balita) di Indonesia belum bisa diatasi dengan baik. Indonesia berhasil menurunkan prevalensi gizi kurang pada balita dari 25,8 persen tahun 2004 menjadi 18,4 persen tahun 2007, tetapi secara umum belum bisa mengatasi kekurangan gizi dengan baik.

Dilakukan suatu upaya untuk memperoleh suatu ramuan dari tanaman obat yang berfungsi sebagai pelancar ASI sekaligus meningkatkan kandungan gizi ASI. Ramuan terdiri dari 2 tanaman obat, yaitu biji klabet dan daun kelor. Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) dapat berfungsi sebagai galaktogoga yang baik, daun kelor (*Moringa oleifera*) mempunyai keunggulan pada kandungan nutrisinya, terutama golongan mineral dan vitamin.

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mendapatkan formula jamu yang dapat meningkatkan produksi ASI serta meningkatkan status gizi ibu dan bayi berbasis tanaman obat yang aman, berkhasiat dan berkualitas. Penelitian berupa uji Kimia Analisis, uji khasiat dan keamanan pada hewan coba dan uji formulasi.

Hasil penelitian kimia analisis menunjukkan daun kelor mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi karena dalam 100 g mengandung Fe 26,79 mg; Ca 1249,25 mg; K 0,09 %; Protein 24,27 %; Vitamin A: 24916,85 IU; Vitamin C: 414,13 mg. Biji klabet mengandung

alkaloid trigonelin dan diosgenin yang merupakan golongan steroid. Kedua senyawa ini yang diperkirakan berperan berpengaruh pada hormone untuk meningkatkan produksi ASI. Hasil uji kemananan ramuan klabet dan kelor (1:1) termasuk dalam golongan bahan *practically Non Toxic* (PNT). Hasil uji khasiat melancarkan ASI, ditunjukkan bahwa ramuan dapat memperbanyak jumlah ASI dan menambah berat janin tikus dibandingkan kelompok control, Penilaian keamanan jangka panjang dilakukan melalui penilaian gambaran kimia darah dan biokimia darah serta hasil histopatologi pada hewan coba. Hasil pengujian toksisitas dengan pemberian jangka panjang, masih menunjukkan adanya beberapa penilaian yang masih perlu dikaji ulang kembali. Prototype sediaan dari formula ekstrak klabet dan kelor telah diperoleh dengan cara penguapan dengan tekanan dan penambahan maltodekstrin dan dekstrin.

### Kesimpulan

1. Telah dilakukan standarisasi dengan menilai karakteristik biji klabet dan daun kelor serta profil kromatografi, serta penentuan zat identitas dalam ramuan.
2. Daun kelor mempunyai nilai gizi yang tinggi, dinyatakan dengan kandungan Vitamin, mineral dan Protein
3. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1), sangat aman digunakan karena mempunyai nilai LD<sub>50</sub> yang sangat besar, hingga pemberian dosis 4000 mg/200g bb tidak menimbulkan kelainan dan kematian.
4. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1) yang diberikan setiap hari selama 3 bulan terus menerus masih menunjukkan adanya efek merugikan, yaitu meningkatnya jumlah sel darah putih, dan munculnya bisul pada hewan coba.
5. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1) meningkatkan penegluaran volume ASI pada indung tikus mulai hari ke 6 hingga ke 21, sebanding dengan Moloco sebagai pembanding.
6. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1) meningkatkan pertambahan bobot bayi tikus mulai hari ke 6 hingga 21, lebih besar daripada bayi yang diberi Moloco sebagai pembanding .
7. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1) dapat menunjukkan peningkatan kadar prolaktin.

8. Dari uji formulasi, telah didapatkan prototype ramuan ASI sebagai pelancar ASI dan penambah gizi, dan prototype ini akan disampaikan pada acara temu bisnis sentra HKI Badan Litbangkes tahun 2012.
9. Penelitian ramuan pelancar ASI dan peningkat gizi, akan diajukan sebagai perolehan paten kesehatan.

#### Saran

1. Dilanjutkan penelitian dengan merubah komposisi ramuan, sehingga tidak terjadi kelebihan protein dalam tubuh hewan coba
2. Adanya penelitian lanjutan untuk menilai keamanan, berupa uji teratogenik dan mutagenik
3. Adanya penelitian lanjutan untuk mendapatkan zat aktif sebagai pelancar ASI (ketentuan perolehan paten)
4. Bila data keamanan penggunaan sudah lengkap, dilanjutkan penelitian klinik dalam program Sainifikasi Jamu, sebagai upaya promotif kesehatan ibu dan anak.

## ABSTRAK

Dilakukan suatu upaya untuk memperoleh suatu ramuan dari tanaman obat yang berfungsi sebagai pelancar ASI sekaligus meningkatkan kandungan gizi ASI, melalui penelitian Ramuan Penambah ASI Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) dan Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Sebagai Upaya Promotif Kesehatan Ibu Anak. Klabet dapat berfungsi sebagai galaktogoga yang baik. Daun kelor mempunyai keunggulan pada kandungan nutrisinya, terutama golongan mineral dan vitamin.

Penelitian terdiri dari 3 jenis kelompok kegiatan yaitu Kimia Analisis: Pembuatan ekstrak, Karakteristik bahan uji, Pemeriksaan golongan kimia, Profil kromatografi, penetapan kadar serta analisis kandungan gizi daun kelor. 2) Khasiat dan keamanan: uji toksisitas akut ( $LD_{50}$ ) dan sub kronis menggunakan tikus serta uji khasiat pelancar ASI ramuan pada hewan uji. 3) Penelitian formulasi untuk mendapatkan prototype dalam persiapan perolehan HKI Kesehatan Badan Litbangkes. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis dan Laboratorium Hewan Coba, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, tahun 2011.

Hasil penelitian kimia analisis menunjukkan daun kelor mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi karena dalam 100 g mengandung Fe 26,79 mg; Ca 1249,25 mg; K 0,09 %; Protein 24,27 %; Vitamin A: 24916,85 IU; Vitamin C: 414,13 mg. Biji klabet mengandung alkaloid trigonelin dan diosgenin yang merupakan golongan steroid. Kedua senyawa ini yang diperkirakan berperan berpengaruh pada hormon untuk meningkatkan produksi AS. Ramuan klabet dan kelor (1:1) termasuk dalam golongan bahan *practically Non Toxic* (PNT). Ramuan dapat memperbanyak jumlah ASI dan menambah berat janin tikus dibandingkan kelompok kontrol. Prototype sediaan dari formula ekstrak klabet dan kelor telah diperoleh dengan cara penguapan dengan tekanan dan penambahan maltodekstrin dan dekstrin.

## DAFTAR ANGGOTA PENELITI

1. Dra. Lucie Widowati MSi. Apt
2. Prof. Komari
3. Drh. M. Wien Winarno
4. Dra. Ani Isnawati MKes Apt
5. Suryana Purawisastra, MSc
6. Dra. Yun Astuti Nugroho
7. Dra. Maritje Sihombing MSi
8. Pudjiastuti BSc.
9. Budi Nuratmi BSc.
10. Adjirni BSc
11. Dra. Sukmayati Alegantina
12. Uly Adhie Mulyani MSc. Apt
13. Kurniati
14. Sugianto S. Kom
15. Usmadi

## DAFTAR ISI

Bab		Halaman
	Kata Pengantar	i
	Ringkasan Eksekutif	ii
	Abstrak	v
	Daftar anggota tim peneliti	vi
	Daftar Isi	vii
	Daftar Tabel	viii
	Daftar Gambar	x
I	LATAR BELAKANG .....	1
II.	TUJUAN PENELITIAN .....	4
III.	METODOLOGI	
	a. Tempat dan waktu penelitian .....	5
	b. Jenis Penelitian .....	5
	c. Desain penelitian .....	6
	d. Bahan dan cara kerja .....	6
IV.	HASIL .....	25
V.	PEMBAHASAN .....	42
VI.	KESIMPULAN DAN SARAN .....	43
VII	UCAPAN TERIMA KASIH .....	49
VIII.	KEPUSTAKAAN .....	51
	LAMPIRAN	53

## DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1	Rendemen ekstrak .....	25
Tabel 2	Karakteristik ekstrak daun kelor dan biji klabet .....	25
Tabel 3	Uji Kandungan golongan kimia ekstrak daun kelor dan biji klabet .....	25
Tabel 4	Hasil Perhitungan Rf dan Warna Profil Kromatogram Tiga Fraksi Ekstrak Daun Kelor .....	26
Tabel 5	Hasil Perhitungan Rf dan Warna Profil Kromatogram Tiga Fraksi Ekstrak Biji Klabet .....	27
Tabel 6	Hasil Analisis kandungan Gizi daun kelor.....	31
Tabel 7	Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus jantan tiap minggu selama 6 minggu (45 hari) pemberian bahan uji .....	33
Tabel 8	Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus betina tiap minggu selama 6 minggu (45 hari) pemberian bahan uji .....	33
Tabel 9	Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus jantan tiap minggu selama 12 minggu (90 hari) pemberian bahan uji .....	34
Tabel 10	Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus betina tiap minggu selama 12 minggu (90 hari) pemberian bahan uji .....	34
Tabel 11	Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum 5 ekor tikus jantan selama 45 hr pemberian bahan uji .....	36
Tabel 12	Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus jantan tiap minggu selama 6 minggu (45 hari) pemberian bahan uji .....	36
Tabel 13	Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum 5 ekor tikus jantan selama 90 hari pemberian bahan uji .....	37
Tabel 14	Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum 5 ekor tikus betina selama 90 hari pemberian bahan uji ...	37
Tabel 15	Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum setelah masa <i>recovery</i> pada tikus jantan dan betina .....	38
Tabel 16	Rata-rata hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap organ (jantung, paru-paru, ginjal, hati, lambung, usus) tikus jantan dan betina setelah pemberian bahan uji 45 hari.....	38
Tabel 17	Rata-rata hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap organ (jantung, paru-paru, ginjal, hati, lambung, usus) tikus jantan dan betina setelah pemberian bahan uji 90 hari.....	39
Tabel 18	Rata-rata hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap organ (jantung, paru-paru, ginjal, hati, lambung, usus) tikus jantan dan betina setelah masa <i>recovery</i> .....	39
Tabel 19	Perhitungan jumlah ASI Rata-rata (ml) yang dikeluarkan saat pengukuran hari ke 6, 11, 16 dan 21 .....	39
Tabel 20	Kadar prolaktin Induk Tikus Rata-rata (ug/ml) yang diukur pada hari ke 6, 11, 16 dan 21 .....	40

Tabel 21	Pertambahan rata-rata berat badan bayi tikus (g) dari hari ke 6 sampai hari ke-11, 6-16, 6 -21 .....	40
Tabel 22	Persentase bahan terevaporasi .....	41
Tabel 23	Komposit antara klabet atau kelor dan dekstrin atau maltodekstrin ....	41
Tabel 24	Komposit antara klabet, kelor dan dekstrin atau maltodekstrin .....	41
Tabel 25	Komposisi komposit klabet, kelor dan dekstrin atau maltodekstrin ...	42

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1	26
Gambar 2	27
Gambar 3	28
Gambar 4	28
Gambar 5	29
Gambar 6	29
Gambar 7	30
Gambar 8	30
Gambar 9	32
Gambar 10	32
Gambar 11	33
Gambar 12	34
Gambar 13	35
Gambar 14	35
Gambar 15	40
Gambar 16	41

## I. PENDAHULUAN

Masalah tidak lancarnya pengeluaran ASI pada ibu setelah melahirkan tidak pernah berhenti. Air Susu Ibu (ASI) merupakan makanan utama yang sangat dibutuhkan oleh anak dari lahir hingga minimal berusia dua tahun. Banyaknya ASI yang dapat dikonsumsi bayi tergantung pada banyaknya produksi ASI, selain aktifnya penghisapan ASI oleh bayi. Bayi baru lahir dan ibunya memerlukan nilai gizi yang tinggi, dan nilai gizi bagi ibu dan bayi tergantung pada apa yang dikonsumsi ibu dan bayi.

Menurut hasil Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) tahun 2002-2003, didapati data jumlah pemberian ASI eksklusif pada bayi di bawah usia dua bulan hanya mencakup 64% dari total bayi yang ada. Persentase tersebut menurun seiring dengan bertambahnya usia bayi. Yakni, 46% pada bayi usia 2-3 bulan dan 14% pada bayi usia 4-5%. Yang lebih memprihatinkan, 13% bayi di bawah dua bulan telah diberi susu formula dan satu dari tiga bayi usia 2-3 bulan telah diberi makanan tambahan <sup>(1)</sup>. Hasil suatu survei melaporkan bahwa 38% ibu menghentikan pemberian ASI bagi bayi dengan alasan produksi ASI tidak mencukupi <sup>(2)</sup>.

ASI sebagai makanan yang terbaik bagi bayi tidak perlu diragukan lagi, namun akhir-akhir ini sangat disayangkan banyak diantara ibu-ibu menyusui melupakan keuntungan menyusui. Selama ini dengan membiarkan bayi terbiasa menyusui dari alat pengganti, padahal hanya sedikit bayi yang sebenarnya menggunakan susu botol atau susu formula. Kalau hal yang demikian terus berlangsung, tentunya hal ini merupakan ancaman yang serius terhadap upaya pelestarian dari peningkatan penggunaan ASI.

Selama pubertas perkembangan payudara diatur oleh hormone esterogen dan progesterone sebagai hormone yang dikeluarkan oleh ovarium. Hormone esterogen merangsang pertumbuhan saluran-saluran kelenjar susu, sedangkan hormone progesterone merangsang pertumbuhan sel-sel sekretori kelenjar susu yang disebut "alveoli". Di dalam alveoli inilah air susu dibentuk dengan hormone laktasi yaitu hormone prolaktin sebagai hormone utama, dibantu oleh hormone-hormon yang lain. Hormone-hormon ini baru bekerja setelah kadar hormone esterogen menurun, kira-kira 36-48 jam setelah kelahiran (Greenspan dan Forsham, 1983). Beberapa hari setelah kelahiran konsentrasi hormone prolaktin di dalam darah menurun, tetapi dengan adanya

rangsangan berupa hisapan mulut bayi pada waktu menyusu menyebabkan naiknya kadar prolaktin kembali sampai kira-kira 3 bulan (Ganong, 1983)

Aktivitas protoplasma sel-sel sekretoris kelenjar susu, merangsang ujung saraf sekretoris mekanisme daya laktagogum suatu senyawa dapat terjadi dengan cara merangsang secara langsung sekretoris dalam kelenjar susu sehingga air susu meningkat, atau merangsang hormone prolaktin yang bekerja pada sel-sel epithelium alveolar<sup>(3)</sup>. Prolaktin atau luteotropin atau LTH merupakan hormone laktagonik dan proliferaatif terhadap kelenjar mammae, yang spesifik dari hipofisis anterior. Oleh sebab itu efek laktogonik dari suatu laktagogum dapat dievaluasi terhadap prolaktin sebagai pembanding<sup>(4)</sup>.

Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) merupakan tumbuhan herba, tegak, tinggi 30 cm sampai 60 cm, dari suku Papilionaceae. Di India biji klabet dimanfaatkan sebagai obat diabetes dengan mencampurkannya ke dalam masakan. Di Indonesia biji klabet digunakan untuk bumbu masak, terutama di daerah Sumatera terutama untuk masakan kari. Sudah sejak jaman dahulu kala dibudidayakan, yaitu dari jaman Mesir kuno. Klabet mempunyai potensi yang besar untuk pengembangan obat, karena besar harapan dapat menyaingi tanaman *Dioscorea* sp. sebagai penghasil diosgenin, prekursor hormon kontrasepsi, kaya akan fitoestrogen. Di Eropa digunakan sebagai pelancar ASI (Simplisia klabet mengandung minyak lemak 20-30%, lendir, trigonelin sebagai basa kuaterner, nikotinamida, kholin, dan saponin, sapogenin steroid antara lain diosgenin dan dilaporkan mengandung 0,8 – 2,2 % sebagai basa bebas<sup>(5)</sup>. Klabet dapat berfungsi sebagai galaktogoga yang baik. Suatu penelitian terhadap 10 wanita, signifikan dapat meningkatkan volume ASI<sup>(6)</sup>. Protein yang terkandung dalam biji klabet mempunyai angka banding lisin-arginin yang rendah. Selain itu dalam biji klabet terdapat 16 asam amino lain, karbohidrat, serat, mineral. Biji klabet di Indonesia kurang mendapat perhatian untuk dikembangkan menuju arah fitofarmaka atau kearah penemuan obat baru, walaupun potensinya sangat besar. Budidaya klabet sangat mudah, panen dilakukan pada saat tanaman berumur 3-4 bulan, setiap kali panen menghasilkan biji antara 600 – 900 kg untuk setiap hektar lahan<sup>(7)</sup>.

Saat ini masalah kekurangan gizi bayi di bawah lima tahun (Balita) di Indonesia belum bisa diatasi dengan baik. Indonesia berhasil menurunkan prevalensi gizi kurang pada balita dari 25,8 persen tahun 2004 menjadi 18,4 persen tahun 2007, tetapi secara umum belum bisa mengatasi kekurangan gizi dengan baik.

Tingginya BBLR umumnya terjadi karena ibu kurang gizi. Wanita usia 15-45 tahun menderita kurang energi kronis (BMI<18,5) sebesar 12-22 % dan 40% wanita hamil menderita anemia. Pada tahun 2003 sebanyak 27,5% balita Indonesia menderita kurang gizi dan gizi buruk atau hanya 10% dibawah kondisi tahun 1989<sup>(8)</sup>.

Pada tahun 2001 sebanyak 45,6% balita Indonesia pendek. Anak kurang gizi yang BBLR dan pendek akan tumbuh menjadi remaja dan dewasa yang kurang gizi, sebaliknya konsumsi pangan yang berlebihan yang berhubungan dengan perubahan gaya hidup, pada gilirannya berakibat pada meningkatnya berbagai penyakit non-infeksi yang dianggap sebagai pemunculan masalah kesehatan masyarakat yang signifikan.<sup>(9)</sup>

Daun kelor mirip dengan daun katuk, bentuknya bulat dan berwarna hijau. Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk ) merupakan pohon berkayu yang tingginya bisa mencapai 6 meter. Biji tanaman yang sudah tua bisa dimanfaatkan sebagai penjernih air sumur yang keruh. Sedangkan daunnya enak dimakan menjadi beragam masakan<sup>(10)</sup>. Keunggulan daun kelor terletak pada kandungan nutrisinya, terutama golongan mineral dan vitamin. Setiap 100 g daun kelor mengandung 3390 SI vitamin A. Dua kali lebih tinggi dari bayam dan tigapuluh kali lebih tinggi dari buncis. Daun kelor juga tinggi kalsium, sekitar 440 mg/100 g, serta fosfor 70 mg/100 g. Aroma daun kelor agak langu, namun aroma berkurang ketika daun mudanya diolah menjadi sayur bening atau sayur bobor<sup>(11)</sup>.

Dari 30.000 jenis tanaman obat di Indonesia, baru 5 produk yang dapat dikategorikan sebagai fitofarmaka dan 28 sediaan yang terdaftar sebagai herbal terstandar . Salah satu herbal terstandar yang mempunyai kemanfaatan sebagai penambah laktasinya ASI adalah produk dengan bahan baku daun katuk (*Sauropus androgynus* L.). Laktagogum merupakan obat yang dapat meningkatkan atau memperlancar pelepasan ASI. Diperlukan inovasi baru untuk mendapatkan produk sebagai pelancar ASI disamping dapat meningkatkan nilai gizi ASI. Klabet yang berpotensi melancarkan pengeluaran ASI akan dikombinasikan dengan daun kelor yang mempunyai nilai gizi tinggi, dalam suatu formula ramuan, dengan formula pelancar ASI lebih besar persentasenya terhadap peningkat Gizi.

Untuk mendapatkan khasiat dan keamanan ramuan pelancar ASI , akan diujikan ramuan pelancar ASI sekaligus dapat meningkatkan gizi ibu dan anak, menggunakan hewan coba tikus putih. Untuk penelitian praklinik pelancar ASI, terdapat dua metoda yang berbeda yaitu langsung dan tidak langsung. Secara tidak langsung, digunakan hewan model merpati, dengan pengukuran hipertrofi tembolok sebagai ukuran kerja

sesuatu laktagogum dan mengukur bobot janin pada hewan model tikus putih. Cara langsung adalah dengan mengukur kadar prolaktin dan volume ASI, menggunakan model hewan model uji tikus putih. Menggunakan hewan model tikus putih dapat menghasilkan data yang berhubungan langsung dan tidak langsung, yaitu pengukuran volume ASI, kadar prolaktin dan pengukuran bobot janin.

Ramuan untuk meningkatkan ASI dan Gizi (klabet dan kelor), akan meningkatkan status gizi ibu dan bayi yang disusui dan menilai kemanfaatannya pada responden ibu menyusui di POSYANDU , sebagai upaya promotif kesehatan ibu anak (penelitian 3 tahun).

Data khasiat dan keamanan ramuan tersebut, akan diperoleh melalui uji ramuan klabet dan kelor sebagai peningkat ASI dan Gizi, serta uji keamanan ramuan akibat penggunaan jangka panjang dan uji teratogenik. Kemanfaatan ramuan, akan diperoleh melalui penelitian berbasis pelayanan (saintifikasi jamu ) pada ibu menyusui.

Hasil penelitian mempunyai potensi strategis untuk dimanfaatkan secara komersial untuk industry, sehingga penelitian diarahkan akan berhasil guna secara komersial dalam mendapatkan paten untuk bidang kesehatan. Sebagai Lembaga Penelitian, jumlah paten yang dihasilkan merupakan salah satu indikator keberhasilan sebagai pendorong percepatan IPTEK di Indonesia. Badan Litbangkes saat terus mendorong perolehan paten, salah satunya dari bidang farmasi, khususnya tanaman obat/obat tradisional yang mempunyai peluang yang sangat besar untuk mendapatkan paten. Mengingat bahwa hasil penelitian ini akan diarahkan untuk mendapatkan paten, maka akan dilakukan mekanisme untuk perolehan paten, dan pemanfaatan hasil untuk komersial akan dilakukan melalui Forum Temu Bisnis Sentra HKI Kesehatan Badan Litbang Kesehatan.

## II. TUJUAN

### Tujuan umum

Mendapatkan formula yang dapat meningkatkan produksi ASI, status gizi ibu dan bayi berbasis tanaman obat yang aman, berkhasiat dan berkualitas.

Untuk mendapatkan kemanfaatan ramuan meningkatkan pengeluaran ASI dan meningkatkan asupan Gizi, maka penelitian akan dilakukan selama 3 tahun.

Penelitian tahun pertama adalah untuk mendapatkan khasiat dan keamanan jangka panjang pada hewan coba tikus putih, serta pengujian kandungan gizi dan karakterisasi bahan uji.

Tahun kedua, merupakan penelitian lanjutan berupa penelitian lebih lanjut terhadap kandungan zat aktif dari biji klabet sebagai pelancar ASI, serta uji keamanan lebih khusus yaitu terhadap teratogenitas dan mutagenitas. Tahun ketiga adalah penelitian implementasi ramuan pada ibu menyusui di Posyandu, terkait dengan prog Saintifikasi Jamu.

Tujuan khusus (tahun 2011):

1. Melakukan karakteristik biji klabet, daun kelor serta menetapkan profil kromatogramrafi
2. Mengukur nilai gizi bahan uji
3. Menilai potensi ketoksikan akut yang dinyatakan sebagai kisaran dosis letal tengah (LD50)
4. Menghitung jumlah sel darah merah, putih; mengukur kadar Hb, Hematokrit, SGOT, SGPT, Ureum, Kreatinin antara kelompok tikus putih yang diberi ramuan dan kelompok kontrol, sebagai penilaian ketoksikan sub kronis.
5. Mengukur volume ASI yang dihisap melalui perubahan bobot bayi bayi tikus sebelum dan sesudah menyusui pada hari ke 6, 11, 16 dan 21
6. Mengukur perubahan bobot bayi pada hari setelah lahir dari indung yang diberi bahan uji, pada hari ke 6, 11, 16 dan 21
7. Menilai kualitas air susu, dengan pengukuran kadar prolaktin pada indung yang diberi bahan uji
8. Mendapatkan formula awal, sebagai prototype
9. Mempersiapkan perolehan paten

### **III. METODOLOGI**

#### **a. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian tahap I (2011) dilakukan di Laboratorium Hewan Coba dan di Laboratorium Kimia Analisis, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes.

Penelitian dilakukan Maret 2011- Desember 2011 (10 bulan)

#### **b. Jenis Penelitian**

Penelitian ini terdiri dari:

1. Penelitian Kimia Analisis terdiri dari:
  - Pembuatan ekstrak, Karakteristik bahan uji, Pemeriksaan golongan kimia, Profil kromatogramrafi, penetapan kadar.
  - Analisis kandungan gizi
2. Uji Toksisitas akut dan sub kronis, dengan jenis penelitian Eksperimental
3. Uji khasiat ramuan pada hewan uji, jenis penelitian Eksperimental
4. Formulasi ramuan, dengan jenis eksperimental

#### **c. Desain penelitian**

Uji Farmakologi eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap

Variabel dependent : Bobot indung tikus, bobot janin, volume ASI melalui pengukuran berat badan janin, gambaran darah dan biokimia darah, histopatologi (pemberian 3 bulan)

Variabel independent : ramuan ekstrak klabet: ekstrak kelor (1:1) dengan 3 dosis berbeda; perlakuan kelompok control dan kelompok pembanding)

#### **d. Bahan dan cara kerja**

##### **Bahan uji**

Biji klabet (*Trigonella foenum-graecum*) diperoleh dari petani di Jawa Timur.

Daun kelor (*Moringa oleifera*) diperoleh dari petani di Jawa Timur.

Daun kelor dan biji klabet berasal dari petani di Jawa Timur diidentifikasi di Pusat Biologi Nasional, LIPI, Bogor. Bahan dikeringkan dengan suhu tidak lebih dari 50°C, kemudian digiling dan diayak sehingga menjadi serbuk.

##### **Hewan uji**

Hewan uji adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) strain Wistar, jenis kelamin jantan dan betina, umur 2 bulan, berat rata-rata 180 gr.

## Cara kerja

### A. Penelitian Kimia Analisis

#### 1. Pembuatan ekstrak

##### 1) Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Serbuk simplisia daun kelor ditimbang lebih kurang 2000 g direndam dengan etanol 70 % lebih kurang 15 liter selama 3 hari. Kemudian disaring dan hasil saringan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Untuk menghilangkan etanol dari ekstrak maka ekstrak kental diuapkan lagi dengan menggunakan penangas air pada suhu lebih kurang 40°C. Ampas simplisia direndam lagi dengan 15 liter etanol 70 % selama 3 hari dan diperlakukan seperti tersebut di atas. Hasil keseluruhan ekstrak yang telah diuapkan dengan penangas air disatukan dan ditimbang untuk mendapatkan rendemen.

##### 2) Pembuatan Ekstrak Biji Klabet

Serbuk simplisia biji klabet ditimbang lebih kurang 2000 g direndam dengan etanol 50 % lebih kurang 10 liter selama 1 hari. Kemudian disaring dan hasil saringan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Untuk menghilangkan etanol dari ekstrak maka ekstrak kental diuapkan lagi dengan menggunakan *water bath* pada suhu lebih kurang 40°C. Ampas simplisia direndam lagi dengan 10 liter etanol 50 % selama 1 hari dan diperlakukan seperti tersebut di atas. Hasil keseluruhan ekstrak yang telah diuapkan dengan penangas air disatukan dan ditimbang untuk mendapatkan rendemen.

#### 2. Karakteristik ekstrak daun kelor dan biji klabet

##### 1) Penetapan Kadar Air

Lebih kurang 10 g ekstrak dimasukkan ke dalam labu destilasi yang telah terhubung dengan alat destilasi, yang telah terisi dengan 200 ml toluen. Kemudian panaskan pada suhu 105°C selama 2 jam. Setelah 2 jam diukur volume air yang ditampung pada tabung pengukur.

**2) Penetapan Susut Pengerinan**

Ditimbang ekstrak lebih kurang 1 g dimasukkan dalam botol timbang bertutup yang telah ditara. Kemudian dipanaskan pada suhu 110°C sampai bobot konstan.

**3) Penetapan Kadar Abu Total**

Lebih kurang ditimbang 2 g ekstrak dimasukkan ke dalam krus silica bertutup yang telah ditara. Kemudian dipijarkan dengan panas 700-800°C sampai arang habis kemudian didinginkan ditimbang jika arang tidak habis tambahkan dengan air panas dan disaring. Filtrat dipanaskan sampai bobot tetap.

**4) Penetapan Kadar Abu Larut dalam Asam**

Hasil penetapan kadar abu total ditambahkan HCl encer 2% secukupnya. Kemudian disaring dipanaskan sampai bobot tetap.

**5) Penetapan Kadar Sari Larut dalam etanol**

Lebih kurang ditimbang 5 g ekstrak dimasukkan ke dalam botol bertutup dan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol 95 %. Kemudian dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 6 jam kemudian disaring. Hasil saringan diambil 20 ml filtrat dan masukkan ke dalam cawan yang susah ditara. Cawan dipanaskan pada suhu 110°C sampai bobot konstan.

**6) Penetapan Kadar Sari Larut dalam Air**

Lebih kurang ditimbang 5 g ekstrak dimasukkan ke dalam botol bertutup dan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air. Kemudian dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 6 jam kemudian disaring. Hasil saringan diambil 20 ml filtrat dan masukkan ke dalam cawan yang susah ditara. Cawan dipanaskan pada suhu 110°C sampai bobot konstan.

**3. Uji Kandungan golongan kimia**

**1) Tanin**

Sejumlah lebih kurang 1 ml ekstrak ditambah 2ml akuades dan 2-3 tetes FeCl<sub>3</sub> dan jika terjadi warna biru tua atau coklat tua menunjukkan adanya tannin.

**2) Saponin**

Sejumlah lebih kurang 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 3 ml akuades kemudia dikocok selama 15 menit untuk

diamati, jika terjadi busa setinggi 1 cm yang bertahan selama 15 menit maka menunjukkan adanya saponin.

**3) Steroid**

Sejumlah lebih kurang 1 ml ekstrak ditambah kloroform kemudian dikocok ditambahkan akuades biarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan pertama kloroform diteteskan pada pelat tetes dan dibiarkan kering, ditambahkan beberapa tetes asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru atau hijau positif steroid.

**4) Sterol – triterpenoid**

Sejumlah 1 ml ekstrak ditambah 0,5 ml asam asetat anhidrat dan 0,5 ml kloroform dan selanjutnya ditambah  $H_2SO_4$  pekat setetes demi setetes sebanyak 0,2 ml ke dalam dasar tabung jika terjadi warna ungu maka menunjukkan adanya sterol triterpenoid.

**5) Flavanoid**

Sejumlah lebih kurang 1 ml ekstrak ditambah 1-2 ml metanol, dipanaskan pada suhu sekitar  $50^{\circ}C$  dan setelah dingin ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Warna merah atau jingga pada filtrat menunjukkan ada flavanoid.

**6) Alkaloid**

Sejumlah lebih kurang 1 ml ekstrak ditambah 1,5 ml HCl 2%, dipanaskan sambil dikocok di atas penangas air kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi 2. Filtrat pertama ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Meyer, sedangkan filtrat kedua ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorf. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan oleh endapan putih dengan pereaksi Meyer dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorf pada masing-masing filtrat.

**7) Fenol**

Sejumlah lebih kurang 1 ml larutan ekstrak ditambah 2 ml akuades dan beberapa tetes larutan  $FeCl_3$  perubahan ungu tua pada filtrat menunjukkan adanya fenol.

#### 4. Profil Kromatogram Ekstrak

##### 1) Ekstrak daun kelor

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun kelor diencerkan dengan etanol 70 %. Kemudian ditotolkan pada plat TLC GF<sub>254</sub> yang telah diaktifkan dengan memasukkan ke dalam oven pada suhu 110°C. Kemudian masukkan ke dalam *chamber* yang telah diisi dengan larutan pengembang. Setelah larutan pengembang mencapai tinggi 15 cm, maka plat TLC diangkat dan dikeringkan di udara. Kromatogram dilihat dengan menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Kromatogram dibaca dengan menggunakan densitometer.

##### 2) Ekstrak biji Klabet

Sebanyak 0,5 g ekstrak biji klabet diencerkan dengan etanol 50 %. Kemudian ditotolkan pada plat TLC GF<sub>254</sub> yang telah diaktifkan dengan memasukkan ke dalam oven pada suhu 110°C. Kemudian masukkan ke dalam *chamber* yang telah diisi dengan larutan pengembang heksan : kloroform : etanol (90:5:5). Setelah larutan pengembang mencapai tinggi 15 cm, maka plat TLC diangkat dan dikeringkan di udara. Kromatogram dilihat dengan menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Kromatogram dibaca dengan menggunakan densitometer.

#### 5. Penetapan Kadar

##### 1) Ekstrak Daun Kelor

Sebanyak 2,5 mg ekstrak daun kelor diencerkan dengan etanol 70 %, kemudian diukur dengan menggunakan Spektrofotometer UV-VIS untuk mengukur kadar alkaloid total dengan menggunakan baku pembanding alkaloid Klorokuin.

##### 2) Ekstrak biji Klabet

Sebanyak lebih kurang 5 mg ekstrak biji klabet diencerkan dengan etanol 50 %. Kemudian ditotolkan pada plat TLC GF<sub>254</sub> yang telah diaktifkan dengan memasukkan ke dalam oven pada suhu 110°C. Kemudian masukkan ke dalam *chamber* yang telah diisi dengan larutan pengembang heksan : kloroform : etanol (90:5:5). Sebanyak lebih kurang 2,5 mg diosgenin dilarutkan dalam 1 ml kloroform. Kemudian ditotolkan pada plat yang sama dengan yang telah ditotolkan ekstrak biji klabet. Setelah larutan

pengembang mencapai tinggi 15 cm, maka plat TLC diangkat dan dikeringkan di udara. Kromatogram dilihat dengan menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Kromatogram dibaca dan diukur dengan menggunakan densitometer.

#### **6. Pengukuran nilai gizi daun kelor**

Nilai gizi daun kelor dilakukan dengan mengukur kadar kandungan yang berkaitan dengan nilai gizi, yaitu : kadar Fe, Vit A, Protein, Calsium, Potasium, Vitamin C, dengan metoda standar.

##### **1) Penetapan kadar Fe, Ca, dan K**

Metoda yang digunakan untuk ke-3 jenis mineral ini adalah metoda AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*). Prinsipnya, semua jenis mineral yang terkandung dalam bahan diabukan melalui pengabuan basah. Pengabuan basah dilakukan dengan penambahan larutan asam perklorat dan asam nitrat yang dipanaskan pada suhu tinggi. Proses pengabuan dilakukan di dalam ruang asam, dan dilakukan sangat hati-hati, karena hasil proses pemanasan berbahaya bagi pernafasan. Hasil pengabuan merupakan larutan dalam asam nitrat. Setelah ditera lalu dianalisis dengan AAS dengan menggunakan lampu halogen Fe untuk analisis kadar Fe, lampu halogen Ca untuk analisis kadar Kalsium, dan lampu halogen K untuk analisis kadar Kalium.

##### **2) Penetapan kadar vitamin A**

Metoda yang digunakan adalah metoda HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Prinsipnya, contoh bahan yang akan dianalisis disaponifikasi dengan KOH dalam larutan etanol dengan penambahan antioksidan. Kemudian diekstraksi dengan acetonitril, hasil ekstraksi lalu dianalisis dengan HPLC.

Ditimbang 0,5 g contoh bahan yang akan dianalisis ke dalam labu ukur 50 cc. Lalu ditambah 25 ml etanol, diaduk, lalu ditambah 1,5 ml reagent A (KOH dalam larutan asam borat). Kemudian ditera hingga batas labu, 50 cc dengan akuabidest. Disaring dengan kertas saring Whatman no. 41, filtrate yang diperoleh dipipet 5.0 ml ke dalam labu 25 cc, lalu ditera hingga batas dengan acetonitril. Kemudian dituangkan ke dalam kolom

berisi glass wool dan  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Hasil filtrate kemudian diinjeksikan ke system alat HPLC. Kolom HPLC menggunakan kolom C-18, dengan eluent campuran metanol : air (96:4), pada laju 1,0 ml/menit. Detektor yang digunakan UV 340 nm.

### 3) Penetapan kadar protein

Metoda yang digunakan adalah metoda Keyldahl. Prinsipnya senyawa nitrogen yang terkandung dalam bahan contoh, dikonversikan menjadi amoniumsulfat ( $\text{NH}_4\text{SO}_4$ ) melalui proses destruksi pemanasan dengan penambahan asam sulfat pekat. Amoniumsulfat kemudian didestilasi uap setelah penambahan natriumhidroskida yang melepaskan amonium dari amoniumsulfat. Amonium yang terlepas, kemudian ditampung dalam larutan asam borat, membentuk senyawa amoniumborat. Senyawa amoniumborat dititrasi dengan larutan asam klorida, yang hasilnya adalah kandungan nitrogen total. Nitrogen total dikonversikan menjadi kadar protein dengan pengkalian faktor 6,25.

Ditimbang  $\pm 2$  g contoh bahan yang akan dianalisis, ke dalam labun Kyeldahl, lalu ditambah katalis  $\text{K}_2\text{SO}_4$  dan  $\text{HgO}$  dan 10 ml asam sulfat pekat. Kemudian didestruksi dengan pemanasan di ruang asam hingga larutan menjadi jernih. Setelah dingin, larutan jernih dimasukkan ke dalam labu ukur 100 cc, lalu ditera hingga batas dengan akuadest dan dihomogenkan. Lalu dimasukkan ke dalam alat destilasi Kyeldahl, lalu ditambah 10 ml larutan natrium hidroksida 60%. Penampung destilasi digunakan 5 ml larutan  $\text{H}_3\text{BO}_3$  4% yang ditambah 3 tetes indikator campuran MB (*methylene blue*) dan MR (*Methyl Red*) yang menghasilkan warna violet tua. Destilasi selsai ketika larutan penampung asam borat berubah menjadi hijau jernih. Lalu dititar dengan larutan  $\text{HCl}$  0.02 N hingga warna larutan kembali menjadi violet. Dengan menggunakan rumus maka diperoleh kadar nitrogen total, dan kadar protein diperoleh dengan mengalikan nitrogen total dengan faktor 6,25.

### 4) Panetapan vitamin C

Penetapan vitamin C menggunakan metoda HPLC. Preparasi sampel, 100 g bahan diblender dengan 100 g larutan asam metafosfat 6%. Kemudian

50 g aliquot dari campuran hasil blender, dicampur dengan 35 ml methanol dan 10 ml larutan standar internal, yaitu 0,05% pentanofenon dalam methanol. Lalu disentrifuge selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan didekantasi, dan diencerkan menjadi 100 ml dengan methanol 50%. Lalu 10 ml aliquot dari larutan di bagian atas diencerkan menjadi 100 ml, dengan 1,5 mM pirogalol dalam metanol 50%. Sebagian larutan di atasnya disaring dengan saringan 0.45 um, lalu diijeksikan ke dalam HPLC, dengan kolom Vydac 201 HS, detektor 247 nm. Fase gerak adalah 0,5 mM tridesil amonium format dalam campuran metanol : air : asetonitril (60:40:1) pH 4.25.

## **B. Penelitian Eksperimental**

### **1. Uji toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) menggunakan tikus**

Prinsip pengujian adalah bahwa pemberian dosis tunggal suatu bahan uji secara oral yang dapat memperlihatkan efek toksik.

Tujuan pengujian :

- Untuk menentukan organ sasaran yang mungkin rusak, efek toksik spesifik dan petunjuk dosis dalam pengujian lebih lanjut dari bahan uji.
- Untuk menetapkan harga LD<sub>50</sub> suatu bahan uji.

Digunakan tikus putih (*Rattus novergicus*), galur Wistar, jantan dan betina, umur ± 2 bulan, berat badan rata-rata 160 g berasal dari Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes. Jumlah tikus sebanyak 50 ekor terdiri atas 25 ekor jantan dan 25 ekor betina yang dibagi dalam 5 kelompok dosis. Setiap kelompok dosis terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina.

Kelompok I : dosis 4000 mg/200 g bb

Kelompok II : dosis 3360 mg/200 g bb

Kelompok III : dosis 2800 mg/200 g bb

Kelompok IV : dosis 2400 mg/200 g bb

Kelompok V : dosis 2000 mg/200 g bb

#### **Observasi**

Setelah 4 jam pemberian bahan uji dilakukan pengamatan terhadap kesehatan tikus/gejala klinis, penimbangan berat badan setiap 2 hari, dan jumlah tikus

yang mati. Untuk tikus yang mati pada saat percobaan berlangsung dilakukan pemeriksaan *gross pathology* (patologi makro). Kemudian pengamatan dilanjutkan selama 14 hari untuk melihat adanya tikus yang mati. Pada akhir penelitian, tikus yang masih hidup diotopsi dan dilakukan pengamatan secara makroskopis. Apabila ada kecurigaan dilakukan pemeriksaan histopatologi.

## **2. Uji toksisitas sub kronis menggunakan tikus**

### **Prinsip**

Pemberian bahan uji menggunakan minimal 3 tingkatan dosis yang berbeda, dan satu kelompok kontrol. Ketiga dosis bahan uji, yaitu satu dosis yang tidak menimbulkan efek, satu dosis yang memberikan efek farmakologi dan satu atau lebih dosis yang diperkirakan memperlihatkan efek toksik.

Tujuan: Untuk melihat efek toksik bahan uji yang diberikan secara berulang setiap hari selama 3 bulan, untuk melihat perubahan karena akumulasi, toleransi, metabolisme, kelainan khusus pada organ tertentu. Parameter yang diukur adalah gambaran darah normal, biokimia darah dan patologi anatomi organ penting.

### **Hewan Coba**

Digunakan hewan tikus putih (*Rattus norvegicus*), galur Wistar, jantan dan betina, umur  $\pm$  3 bulan, berat badan rata-rata 200 g berasal dari Laboratorium hewan coba Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Pada prinsipnya jenis hewan yang digunakan untuk uji toksisitas harus dipertimbangkan berdasarkan sensitifitas, cara metabolisme serupa dengan manusia, kecepatan tumbuh, serta mudah tidaknya cara pembiakan dan penanganan sewaktu dilakukan percobaan. Hewan pengerat merupakan jenis hewan yang memenuhi persyaratan tersebut sehingga paling banyak digunakan pada sebagian besar uji toksisitas.

### **Makanan Hewan Percobaan**

Makanan dalam bentuk pelet dengan komposisi makanan standar untuk tikus: Selulosa 6%; Protein 16,5%; Lemak 3% dan mineral-mineral 6,6%. Untuk satu

hari tikus diberi makanan 20 g/hari/ekor. Air minum menggunakan air kran (PAM) dan minum yang diperlukan untuk setiap hewan 1-2 ml/g makanan, diberikan ad libitum.

Sebelum percobaan dimulai, tikus diaklimatisasi di dalam ruangan percobaan (suhu 27°C) selama kurang lebih 7 hari, dalam kandang ukuran 20 X 20 yang berisi @ 3 ekor. Tikus diberi makanan dan minum standar untuk hewan laboratorium, dengan jumlah tanpa batas. Tikus dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran bobot tubuh merata untuk semua kelompok. Dibagi dalam 8 kelompok, yang dibagi menjadi 4 kelompok jantan @ 5 ekor dan 4 kelompok betina @ 5 ekor. Sebelum pemberian zat uji, masing-masing hewan uji ditimbang.

Puasakan hewan selama 16 sampai 18 jam, berikan bahan uji secara oral menggunakan sonde dengan cara: kanulla dimasukkan ke dalam mulut, kemudian perlahan lahan dimasukkan melalui tepi langit-langit ke belakang sampai esofagus.

#### Pemberian bahan uji

Bahan uji diberikan secara oral setiap hari selama 45 hari dan 90 hari. Selama penelitian diamati kesehatan hewan antara lain gejala-gejala umum atau kelainan yang dijumpai, misal diare, tremor, demam dsb.

Berat badan : penimbangan berat badan dilakukan sebelum pemberian bahan uji, kemudian setiap minggu selama masa pemberian bahan uji .

Pengukuran gambaran darah meliputi Hb, jumlah sel darah merah dan sel darah putih dan pemeriksaan biokimia darah meliputi SGOT, SGPT, ureum, kreatinin.

Pemilihan organ untuk pembuatan preparat histopatologi, yaitu hati, ginjal, paru, jantung, lambung. Sebelum dibuat sediaan histologi organ- organ tersebut ditimbang terlebih dahulu.

#### *Recovery from toxicity.*

Setelah masa observasi berakhir ada sebagian hewan coba yang dibiarkan hidup selama 2 minggu untuk mengetahui apakah sifat toksik bahan uji yang dipakai bersifat reversibel. *Hewan uji yang dibiarkan hidup tersebut adalah yang diberi dosis terbesar dan kontrol.*

### Populasi dan Sampel

Jumlah minimal sampel untuk setiap perlakuan dan kelompok dosis adalah 5 ekor tikus jantan dan 5 ekor tikus betina.

### Uji toksisitas sub-kronis selama 45 hari

40 ekor tikus dibagi dalam 4 kelompok.

Kelompok I: dosis 30 mg/200 g bb

Kelompok II: dosis 100 mg/200 g bb

Kelompok III: dosis 300 mg/200 g bb

Kelompok IV: kontrol (akuades)

Semua kelompok diperlakukan selama 45 hari, kemudian diambil darahnya untuk pemeriksaan kimia darah dan biokimia darah, kemudian tikus diotopsi diambil organnya (hati, ginjal, paru, jantung dan lambung).

### Uji toksisitas sub-kronis selama 90 hari

50 ekor tikus dibagi dalam 5 kelompok.

Kelompok I: dosis 30 mg/200 g bb

Kelompok II: dosis 100 mg/200 g bb

Kelompok III: dosis 300 mg/200 g bb

Kelompok IV: kontrol (akuades)

Kelompok V: dosis besar 300 mg/200 g bb (*recovery*)

Semua kelompok diperlakukan selama 90 hari.

Setelah itu pada kelompok I–IV kemudian diambil darahnya untuk pemeriksaan hematologi, biokimia darah dan dilakukan otopsi dan diamati secara makroskopis dari organ hati, ginjal, paru, limpa dan lambung. Organ-organ tersebut diambil dimasukkan dalam bufer formalin untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi.

Sementara itu pada kelompok V tetap dibiarkan hidup selama 2 minggu kemudian baru dilakukan seperti kelompok I–IV.

Setelah 45 hari dan 90 hari, puasakan hewan selama 16 sampai 18 jam. Hewan dianestesi dengan inhalasi menggunakan eter dan dilakukan pengambilan darah sebanyak 5 ml dari vena jugularis dengan hati-hati menggunakan jarum suntik ukuran 22G 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> TW (0,7 x 38 mm). Darah ditempatkan dalam tabung sentrifuga yang bersih dan kering.

### **Pemeriksaan gambaran darah:**

#### **- Jumlah sel darah merah**

Darah diambil ke dalam pipet pengencer eritrosit hingga tanda 0,5 kemudian diencerkan dengan larutan natrium klorida 0,85% hingga tanda 10. Kedua ujung pipet ditutup kemudian dikocok dengan tangan secara perlahan. Cairan dibuang tiga tetes, kemudian diteteskan ke dalam bilik Meubaeur. Cairan diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 200-400 kali.

#### **- Jumlah sel darah putih**

Darah diambil ke dalam pipet pengencer leukosit hingga tanda 0,5 kemudian diencerkan dengan larutan Turk hingga tanda 11. Kedua ujung pipet ditutup kemudian dikocok dengan tangan secara perlahan. Cairan dibuang tiga tetes, kemudian diteteskan ke dalam bilik Meubaeur. Cairan diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali.

#### **- Hemoglobin**

0,02 ml cuplikan darah, larutan baku dan blanko ditambahkan ke dalam 5,0 ml pereaksi warna. Cairan dalam masing-masing tabung reaksi dikocok dengan alat *Vortex*, didiamkan pada suhu kamar selama 3 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 540 nm.

Kadar Hemoglobin dalam larutan cuplikan adalah:

$$Ac/Ab \times Cb \text{ (g/dl)}$$

Ac = serapan cuplikan

Ab = serapan larutan baku

Cb = konsentrasi larutan baku

### **Pemeriksaan biokimia darah:**

Darah disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3.000 rpm. Segera setelah darah terpisah, serum dipipet ke dalam lemari es.

#### **- Kadar SGOT**

0,02 ml cuplikan serum, baku, blanko ditambahkan 0,02 ml larutan substrat GOT. Dicampur dan dibiarkan 60 menit didalam tangas air suhu 37°C. Tambahkan 0,2 ml pereaksi warna GOT. Pada 0,02 ml blanko cuplikan serum ditambahkan 0,2 ml pereaksi warna GOT dan 0,2 ml larutan substrat. Pada semua campuran, dibiarkan selama 25 menit pada suhu kamar, kemudian tambahkan 2,0 ml NaOH 0,4 N. Cairan dalam masing-masing tabung reaksi

dikocok ulang pada alat *Vortex* sampai homogen, dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian serapannya diukur pada panjang gelombang 540 nm.

Aktivitas GOT adalah:

Ac- Ablc/Ab x 101

Ac = serapan cuplikan

Ablc= serapan blanko cuplikan

Ab = serapan larutan baku

101 = faktor GOT pada larutan baku

- Kadar SGPT

0,02 ml cuplikan serum, baku, blanko ditambahkan 0,02 ml larutan substrat GPT. Dicampur dan dibiarkan 30 menit didalam tangas air suhu 37°C. Tambahkan 0,2 ml pereaksi warna GPT. Pada larutan diatas dan pada 0,02 ml blanko cuplikan serum ditambahkan 0,2 ml pereaksi warna GPT. Pada larutan blanko cuplikan ditambahkan dan 0,2 ml larutan substrat. Pada semua campuran, dibiarkan selama 25 menit pada suhu kamar, kemudian tambahkan 2,0 ml NaOH 0,4 N. Cairan dalam masing-masing tabung reaksi dikocok ulang pada alat *Vortex* sampai homogen, dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian serapannya diukur pada panjang gelombang 540 nm.

Aktivitas GPT adalah:

Ac- Ablc/Ab x 43

Ac = serapan cuplikan

Ablc= serapan blanko cuplikan

Ab = serapan larutan baku

43 = faktor GPT pada larutan baku

- Kadar ureum

0,02 ml serum, larutan baku dan blanko ditambahkan 3,0 ml pereaksi warna. Cairan dalam masing-masing tabung reaksi dikocok ulang pada alat *Vortex* sampai homogen, dan dididihkan di dalam tangas air 100°C selama 20 menit, kemudian didinginkan dengan air mengalir selama 5 menit. Serapannya diukur pada panjang gelombang 540 nm.

Kadar ureum adalah:

$$Ac/Ab \times Cb \text{ (mg/dl)}$$

Ac = serapan cuplikan

Ab = serapan larutan baku

Cb = konsentrasi larutan baku

- Kadar kreatinin

0,05 ml cuplikan serum, larutan baku blanko di dalam tabung reaksi ditambahkan 1,4 ml deproteinasi. Penambahan dilakukan sambil larutan diaduk menggunakan pengaduk magnet, kemudian didiamkan 10 menit pada suhu kamar. Disentrifuga pada 3000 rpm selama 10 menit, beningan akan terpisah. 1 ml beningan ditambahkan 0,7 ml larutan asam pikrat basa, kemudian dikocok pada alat *Vortex* dan didiamkan pada suhu kamar selama 15 menit, kemudian serapan diukur pada panjang gelombang 500 nm.

Kadar kreatinin dalam larutan cuplikan adalah:

$$Ac/Ab \times Cb \text{ (g/dl)}$$

Ac = serapan cuplikan

Ab = serapan larutan baku

Cb = konsentrasi larutan baku

### **Histopatologi**

Hewan yang sama dikorbankan dengan inhalasi lanjut dan dilakukan otopsi serta dilakukan pengamatan secara makropatologi, penimbangan organ tertentu dan pemeriksaan adanya kelainan jaringan (mikropatologi). Organ dan jaringan yang diperiksa antara lain: jantung, paru, hati, limpa, lambung, ginjal.

Cara pemeriksaan histopatologi :

Pembuatan preparat jaringan

- a. Fiksasi. Fiksasi dilakukan dengan merendam jaringan dalam larutan Bouin selama 24 jam.
- b. Penyimpanan jaringan. Jaringan yang telah difiksasi, disimpan dalam alkohol 70%
- c. Dehidrasi. Dehidrasi bertujuan mengeluarkan air dari jaringan, yaitu dengan:  
Merendam jaringan dalam alkohol 96% selama 2 jam, dua kali ganti.  
Merendam jaringan dalam alkohol 100% selama 2 jam, dua kali ganti.

- d. Penjernihan. Merendam jaringan dalam benzil benzoat lebih dari 24 jam, sampai jaringan terlihat transparan. Merendam jaringan dalam benzol selama 30 menit, dua kali ganti.
- e. Infiltrasi. Bertujuan untuk memasukkan parafin dalam jaringan, yang dilakukan dalam inkubator suhu  $62^{\circ}$  C, yaitu : jaringan dimasukkan ke dalam parafin I selama 1 jam, kemudian dipindahkan ke dalam parafin II selama 1 jam.
- f. Penanaman. Bertujuan memasukkan jaringan yang telah diinfiltrasi kedalam kotak- kotak kertas yang berisi parafin cair yang telah diberi label dan diatur letaknya serta biarkan dingin dan membeku. Apabila telah mengeras maka jaringan dapat dilepaskan dari kotak kertas.
- g. Pemotongan. Pemotongan jaringan dilakukan dengan alat mikrotom, dengan ketebalan 7 mikrometer.
- h. Melekatkan irisan jaringan pada gelas objek. Gelas objek diolesi dengan albumin Mayer, kemudian ditaruh di atas *hot plat* dengan suhu  $47^{\circ}$  C, dan diberi air sehingga air menjadi hangat. Irisan jaringan diletakkan di atas gelas objek, dan dibiarkan mengembang. Setelah preparat mengembang, air yang masih tersisa diisap oleh kertas saring dan objek dibiarkan mengering.

#### Pewarnaan preparat

Pewarnaan yang digunakan adalah pewarnaan Hemotoksilin-Eosin (HE). Tahap pewarnaan adalah sebagai berikut:

- a. Deparafinasi. Bertujuan untuk menghilangkan parafin dan air dalam jaringan, dengan cara gelas objek direndam dalam xilol I selama 5 menit, dan dalam xilol II selama 5 menit.
- b. Hidrasi. Gelas objek dimasukkan ke dalam alkohol seri dengan konsentrasi turun: alkohol 100 % selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 70% selama 3 menit, dalam air selama 3 menit
- c. Pewarnaan HE. Gelas objek dimasukkan ke dalam hematoksilin selama 3-4 menit, kemudian dibilas dengan air (bila warna jaringan dan inti terlalu biru, rendam preparat dalam HCl 1% dalam alkohol, dua kali celup, kemudian bilas dengan air lagi).
- d. Diferensiasi. Gelas objek di masukkan ke dalam eosin untuk pewarnaan sitoplasma selama 3-4 menit.

e. Dehidrasi. Gelas objek di masukkan ke dalam alkohol 70% selama 3 menit; ke dalam alkohol 96 % selama 1-3 menit; ke dalam alkohol 96% selama 3 menit; ke dalam alkohol 100% selama 3 menit.

f. Penjernihan. Gelas objek dimasukkan ke dalam alkohol xilol (1:1) selama 3 menit; dalam xilol I selama 3 menit; dalam xilol II selama 3 menit; dalam xilol III selama 3 menit.

g. Penempelan. Tiriskan kelebihan xilol di atas kertas penyerap, teteskan larutan Entelan sebelum xilolnya mengering, tutup dengan gelas penutup.

#### **Analisis makroskopik dan mikroskopik.**

Secara makroskopik, pengamatan yang dilakukan adalah: menimbang berat organ dan mengamati perubahan pada organ secara keseluruhan.

Secara mikroskopis, pengamatan yang dilakukan adalah melihat adanya sel perubahan jaringan organ dibandingkan dengan kontrol. Pengukuran menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 20 dan 40 x 10.

#### **Analisis statistik data**

Dari data yang diperoleh, dilakukan uji homogenitas dan normalitas. Apabila data yang diperoleh homogen dan berdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan ANOVA. Jika ada perbedaan, dilanjutkan dengan uji BNT. Data yang tidak homogen atau tidak terdistribusi normal, diuji dengan cara non parametrik.

Untuk melihat hubungan antara variabel bebas dan variabel terkait dilakukan uji regresi korelasi. Tingkat kemaknaan pada penelitian ini adalah 95 %.

### **3. Uji khasiat pelancar air susu ramuan pada tikus betina <sup>(16,17)</sup>.**

Prinsip: melihat pengaruh ramuan pada efek laktagogum indung tikus putih. Dosis ramuan diberikan secara oral. Moloco (placenta extr 1.5 mg) dan akuades diberikan pada kelompok kontrol. Ramuan diberikan satu kali sehari pada indung tikus putih, mulai hari ke 6 sampai hari ke 21 setelah kehamilan. Metode penelitian yang digunakan adalah mengukur banyaknya air susu yang diminum oleh bayi dengan *test feeding method* atau *test wighting method*. Dengan metoda ini, jumlah air susu diperoleh dari selisih berat badan bayi sesudah dan sebelum menyusui induknya.

Kualitas ASI dinilai dari hasil pengukuran kadar hormon prolaktin dari indung tikus dilakukan pada hari ke 6, 11, 16, 21.

#### Hewan percobaan

Sejumlah tikus putih Wistar derived strain, usia 3 bulan, bobot lebih kurang 200 g, jenis kelamin betina, diperoleh dari Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan, Jakarta. Sebelum percobaan dimulai, hewan uji diaklimatisasi di dalam ruangan percobaan selama kurang lebih 7 hari, kemudian dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran bobot tubuh merata untuk semua kelompok.

Tikus dikawinkan pada masa suburnya, 3 ekor tikus jantan dan 2 ekor tikus betina yang diambil secara acak, dimasukkan dalam satu kandang, dan diberikan makanan standar.

#### Cara:

Induk tikus menyusui dibagi dalam 5 kelompok perlakuan masing-masing 4 ekor. Tiap induk menyusukan 5 ekor anak terdiri dari 3 ekor jantan dan 2 ekor betina yang diambil secara acak. Tiap induk tikus dengan kelima anaknya dimasukkan dalam satu kandang. Untuk penelitian digunakan 20 ekor induk tikus yang masing-masing akan menyusukan 5 anak tikus.

Puasakan hewan selama 16 sampai 18 jam sebelum pemberian zat uji.

Dosis yang diberikan adalah:

- Kelompok I diberi ramuan dengan dosis 30 mg/200g bb.
- Kelompok II diberi ramuan dengan dosis 100 mg/200 g bb
- Kelompok III diberi ramuan dengan dosis 300 mg/200g bb
- Kelompok IV diberi pembanding moloco 94mg/200g bb.
- Kelompok V diberi akuades 2 ml/200g bb

Pemberian bahan uji satu kali sehari secara oral menggunakan sonde lambung kepada masing-masing induk tikus dalam masa laktasi mulai hari ke 6 sampai hari ke 21 sesudah melahirkan. Pencatatan hasil pengujian dilakukan pada hari ke 6, 11, 16 dan hari ke 21. Pada saat pengujian bayi tikus dipindahkan dari induknya 4 jam sebelum dimulai percobaan. Satu jam sebelum dimulai, sediaan uji dan pelarut diberikan secara oral pada tikus. Tiga puluh menit kemudian

pada kelompok pembanding moloco disusul pemberian oksitosin 0,5 UI secara sub cutan kepada semua hewan percobaan untuk memperlancar pengeluaran air susu.

Pada hari pengamatan, tiap induk tikus dipisahkan dari anaknya selama 6 jam agar anak-anaknya berpuasa dan lambung dalam keadaan kosong. Setelah berpuasa anak tikus ditimbang bersama-sama dan dimasukkan kembali ke dalam kandang induknya serta dibiarkan menyusui selama 1,5 jam dimana diperkirakan lambung dalam keadaan penuh. Kemudian anak tikus diambil untuk ditimbang bersama kembali, dan selesai penimbangan dikumpulkan lagi dengan induknya. Selain itu setiap hari dilakukan penimbangan berat badan anak tikus seperindukan untuk mengetahui pertumbuhan normal dan penambahan berat badannya. Pertambahan berat badan kumulatif anak tikus diperoleh dari selisih berat badan pada hari pengamatan dengan berat lahir.

#### **1) Pertambahan berat badan anak tikus**

Didapat dari berat badan kelima bayi tikus sebelum menyusui pada hari ke 1/16/21 dikurangi berat badan hari ke 6.

#### **2) Pengukuran kadar hormon prolaktin**

Dilakukan dengan mengambil darah 1 cc pada saat pengujian dari ujung mata induk tikus. Pemeriksaan kadar hormon prolaktin dilakukan dengan cara Axsym system (Abbott). Prolaktin tikus seperti prolaktin manusia terdiri dari polipeptida dengan BM 21.500.

Cara mengorbankan janin tikus dan tikus dewasa: yaitu dengan cara kimia, menggunakan eter, tikus dimasukkan dalam bejana dengan uap eter, sampai tikus mati. Karkas tikus dibakar dalam *incenerator*.

#### **Analisa data**

Untuk mengetahui efektifitas ramuan terhadap peningkatan ASI induk, prolaktin dan peningkatan berat badan bayi tikus dilakukan secara analisis varians (Anova) satu arah, pada yang bermakna dilanjutkan dengan uji Tukey

### C. Formulasi

#### Pembuatan formula klabet kelor (KK)

Bahan: Ekstrak klabet dan kelor yang masing-masing diekstraksi dengan 70% etanol dan 50% etanol merupakan ekstrak berwarna kacoklatan dengan viskositas yang tinggi sehingga dikonversikan menjadi tepung sehingga mudah digunakan menjadi *system delivery* yang mudah.

#### Cara:

Pada percobaan pendahuluan dilakukan penambahan ekstrak klabet dan kelor dengan dekstrin dan maltodektrin sehingga menghasilkan tepung yang mudah dicurahkan dan tidak lengket. Dalam penelitian pendahuluan ini 1 g ekstrak klabet dan 1 g ekstrak kelor dapat menjadi komposit yang berbentuk tepung dengan 3x 2 g dekstrin atau maltodektrin, sehingga penambahan dekstrin dan maltodektrin untuk ekstrak klabet 1 g dan kelor 1g adalah 5 g dan 6 g.

Pada penelitian pembuatan komposit yang terdiri dari 1 g ekstrak klabet + 1 g ekstrak kelor dengan dekstrin atau maltodekstri masing-masing 5 g atau 6 g dilakukan dengan oven vakum selama 2-3 hari sehingga kandungan kadar airnya berubah. Baik pada saat selesai membuat komposit dengan oven vakum selama 3 hari dan langsung sehabis oven vakum (dry basis) dilakukan pengukuran sudut curah yakni sudut dimana tepung komposit menunjukkan curah baik pada permukaan kaca atau aluminium foil.

#### IV. HASIL

##### A. Hasil Kimia Analisis

##### 1. Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak ditimbang berdasarkan berat akhir setelah ekstraksi selesai dilakukan dibandingkan terhadap jumlah simplisia yang digunakan pada saat ekstraksi.

**Tabel 1.**  
**Rendemen Ekstrak**

No.	Nama Ekstrak	Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1.	Daun kelor (pelarut etanol 70 %)	2000	311,8737	15,59
2.	Biji klabet (pelarut etanol 50 %)	2000	353,6788	17,68

##### 2. Karakteristik Ekstrak daun kelor dan biji klabet

**Tabel 2.**  
**Karakteristik Ekstrak Daun Kelor dan Biji Klabet**

No.	Karakteristik	Persentase dalam ekstrak		Keterangan
		daun kelor	biji klabet	
1.	Kadar air	15,68	13,70	Persyaratan Kadar air < 10 %
2.	Susut pengeringan	29,70	20,59	
3.	Kadar abu total	3,04	1,16	
4.	Kadar abu larut asam	1,13	0,06	
5.	Kadar sari larut dalam etanol	33,11	59,58	
6.	Kadar sari larut dalam air	47,53	47,78	

##### 3. Uji Kandungan Golongan Kimia Ekstrak daun kelor dan biji klabet

**Tabel 3.**  
**Uji Kandungan Golongan Kimia Ekstrak Daun Kelor dan Ekstrak Biji Klabet**

No.	Pengujian	Ekstrak		Keterangan
		Daun Kelor	Biji Klabet	
1.	Tanin	+	+	
2.	Saponin	+	+	
3.	Steroid	+	+	
4.	Sterol - Triterpenoid	+	+	
5.	Flavanoid	-	+	
6.	Alkaloid	+	+	
7.	Fenol	-	-	

4. **Profil Kromatogramrafi Lapis Tipis**

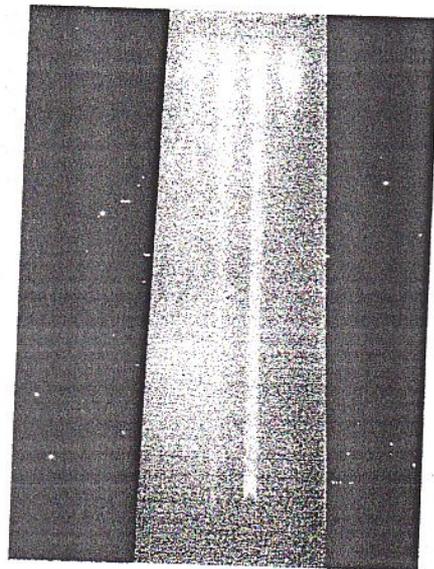
Karakter ekstrak digambarkan dari profil kromatogram dengan harga Rf masing-masing bercak fraksi heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol. Harga Rf bercak masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 4 sampai Tabel 9.

**Tabel 4. Hasil Perhitungan Rf dan Warna Profil Kromatogram Tiga Fraksi Ekstrak Daun Kelor**

No.	Sinar UV 254 nm						Sinar UV 366 nm					
	Fraksi Heksan		Fraksi Etil asetat		Fraksi Eetanol		Fraksi Heksan		Fraksi Etil asetat		Fraksi Etanol	
	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna
1	1.8	biru					-	-	-	-	-	-
2	13.7	biru		biru		biru	13.7	biru f	13.7	biru f	13.7	biru f
3	14.6	biru		biru		biru	14.3	biru f	14.3	biru f	14.3	biru f



$\lambda = 254 \text{ nm}$

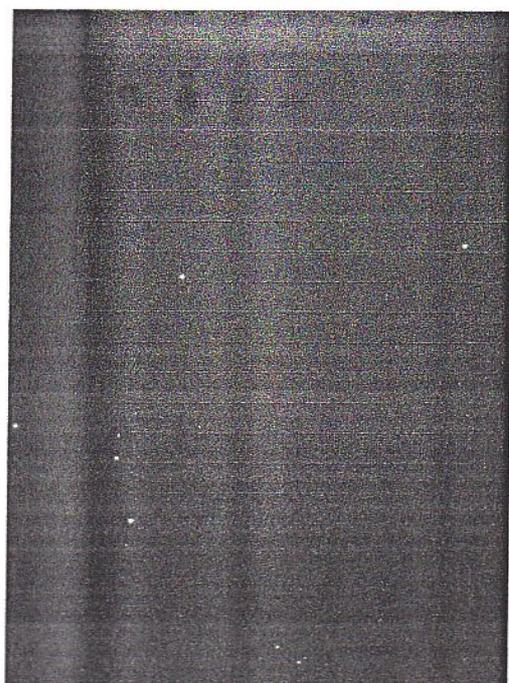


$\lambda = 366 \text{ nm}$

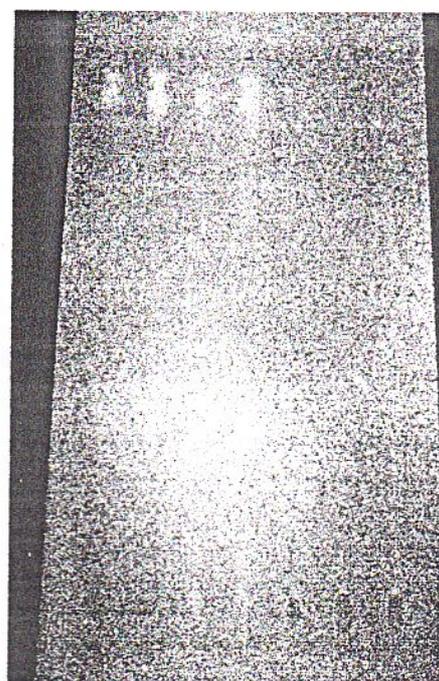
**Gambar 1. Profil Kromatogram KLT ekstrak Daun Kelor ke tiga Fraksi**

**Tabel 5 . Hasil Perhitungan Rf dan Warna Profil Kromatogram Tiga Fraksi Ekstrak Biji Klabet**

No.	Sinar UV 254 nm						Sinar UV 366 nm					
	Fraksi Heksan		Fraksi Etil asetat		Fraksi Etanol		Fraksi Heksan		Fraksi Etil asetat		Fraksi Etanol	
	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna
1	-	-	4.5	biru	-	-						
2	-	-	8.7	biru	-	-						
3	-	-	11.4	biru	10.8	biru						
4	-	-	13.3	biru	-	-	14.0	biru f	13.5	Biru f	13.5	Biru f
5	14.8	biru	14.8	biru	14.8	biru	14.7	biru f	14.0	Merah f	14.0	Merah f



$\lambda = 254 \text{ nm}$



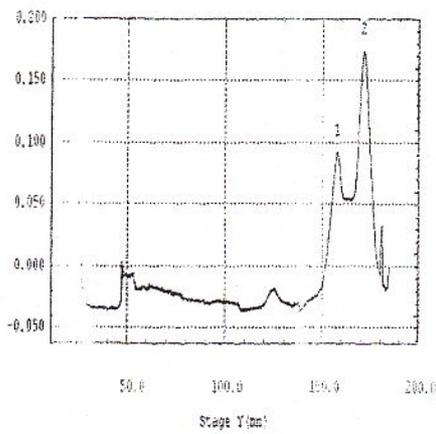
$\lambda = 366 \text{ nm}$

**Gambar 2. Profil Kromatogram KLT ekstrak Biji Klabet ke tiga Fraksi**

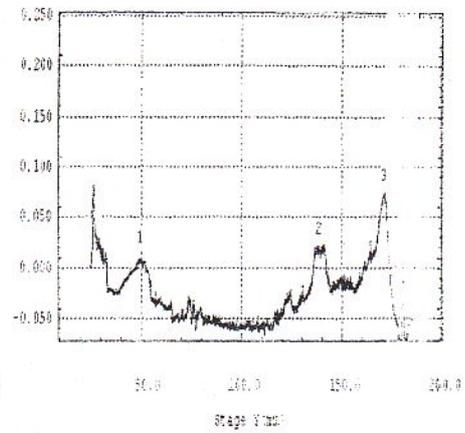
#### 5. Profil Kromatogram Ekstrak daun Kelor dan Biji Klabet

Profil kromatogram ekstrak daun kelor dan biji klabet dilihat dari 3 fraksi yaitu fraksi heksan, etil asetat dan fraksi etanol dan ketiganya dilihat pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm

**Daun kelor**

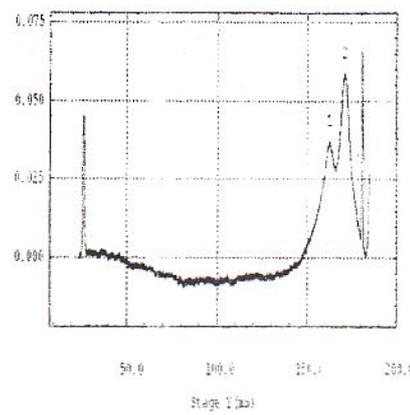


$\lambda = 254 \text{ nm}$

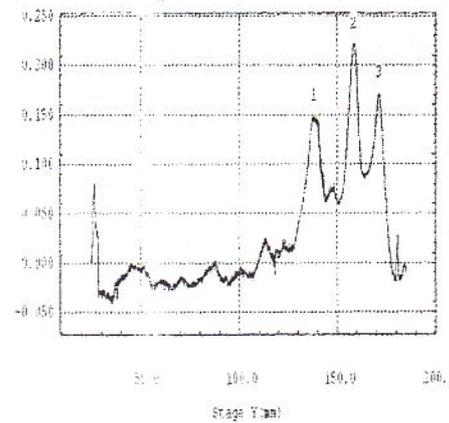


$\lambda = 366 \text{ nm}$

**Gambar 3. Profil Kromatogram fraksi heksan daun kelor dengan sinar UV pada  $\lambda = 254 \text{ nm}$  dan  $\lambda = 366 \text{ nm}$**

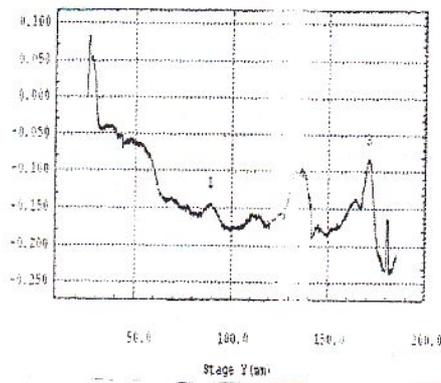


$\lambda = 254$

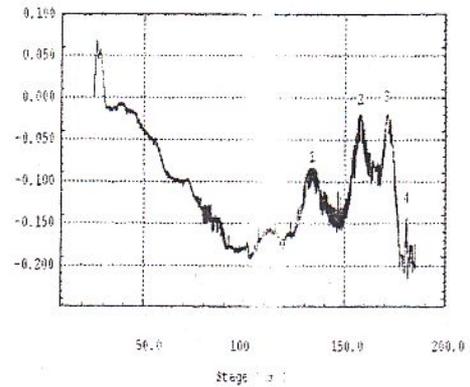


$\lambda = 366 \text{ nm}$

**Gambar 4. Profil Kromatogram fraksi etil asetat daun kelor dengan sinar UV pada  $\lambda = 254 \text{ nm}$  dan  $\lambda = 366 \text{ nm}$**



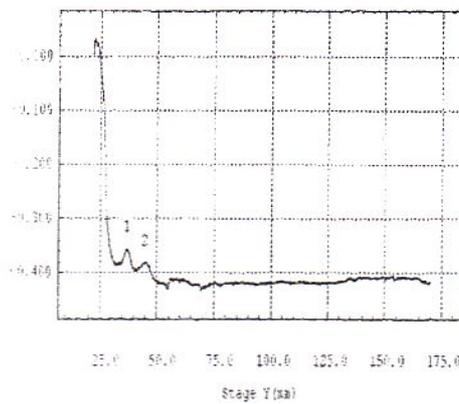
$\lambda = 254 \text{ nm}$



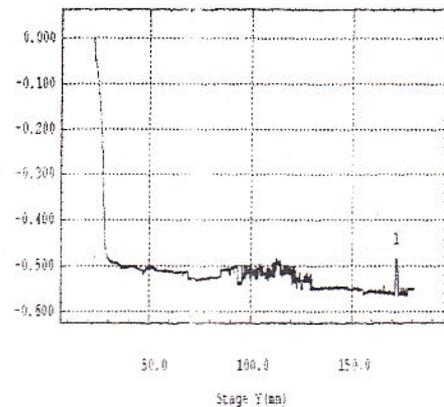
$\lambda = 366 \text{ nm}$

**Gambar 5. Profil kromatogram fraksi alkohol daun kelor dengan sinar UV pada  $\lambda = 254 \text{ nm}$  dan  $\lambda = 366 \text{ nm}$**

**Biji Klabet**

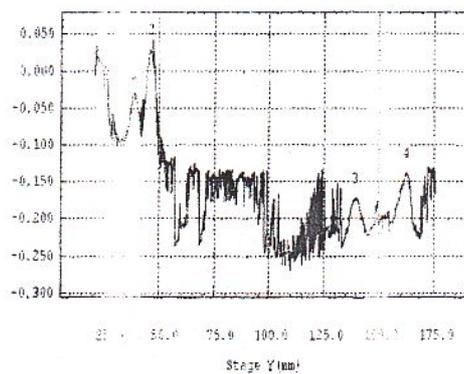


$\lambda = 254 \text{ nm}$

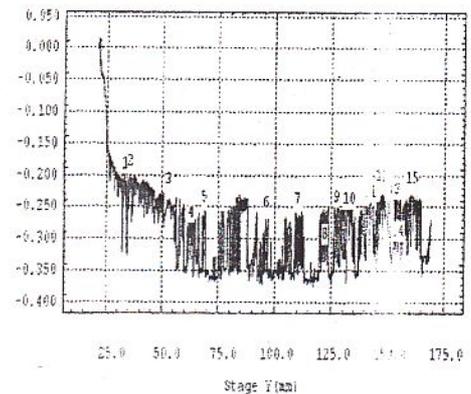


$\lambda = 366 \text{ nm}$

**Gambar 6. Profil kromatogram fraksi heksan biji klabet dengan sinar UV pada  $\lambda = 254 \text{ nm}$  dan  $\lambda = 366 \text{ nm}$**

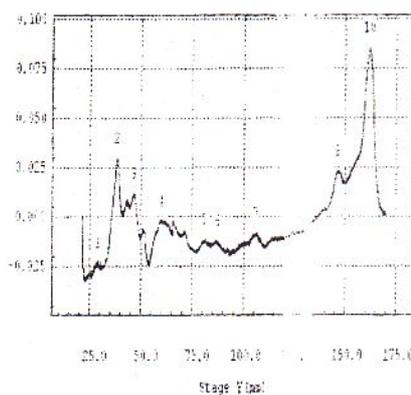


$\lambda = 254 \text{ nm}$

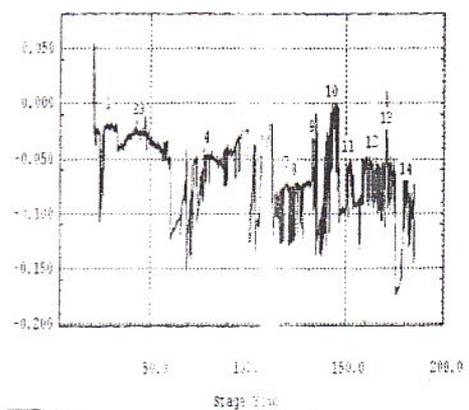


$\lambda = 366 \text{ nm}$

**Gambar 7. Profil Kromatogram fraksi etil asetat biji klabet dengan sinar UV pada  $\lambda = 254 \text{ nm}$  dan  $\lambda = 366 \text{ nm}$**



$\lambda = 254 \text{ nm}$



$\lambda = 366 \text{ nm}$

**Gambar 8. Profil Kromatogram fraksi etanol biji klabet dengan sinar UV pada  $\lambda = 254 \text{ nm}$  dan  $\lambda = 366 \text{ nm}$**

## 6. Penetapan Total Alkaloid Ekstrak Kelor

Penetapan Total Alkaloid Ekstrak Daun Kelor dan Ekstrak Alkaloid Biji Klabet

Penetapan kadar alkaloid total pada ekstrak daun Kelor dengan menggunakan alkaloid standar alkaloid klorokuin.

Absorban standar pada panjang gelombang  $342,5 \text{ nm} = 0,502$

Absorban ekstrak daun Kelor pada panjang gelombang  $340,5 = 0,047$

Perhitungan

$$Cu = \frac{Au}{As} \times Cs$$

Keterangan :

Cu = konsentrasi alkaloid ekstrak

Cs = konsentrasi standar alkaloid

Au = Absorban alkaloid ekstrak

As = Absorban alkaloid standar

$$Cu = \frac{0,047}{0,502} \times 0,51 \text{ mg/ml} = 0,0478 \text{ mg/ml}$$

Kadar alkaloid dalam 1,2428 gr daun Kelor

$$= \frac{0,0478 \text{ mg/ml}}{24,86 \text{ mg/ml}} \times 100 \% = 0,193 \%$$

Penetapan kadar alkaloid total pada ekstrak biji Klabet dengan menggunakan alkaloid standar alkaloid klorokuin.

Absorban standar pada panjang gelombang 342,5 nm = 0,502

Absorban ekstrak daun Kelor pada panjang gelombang 340,5 = 0,076

Kadar alkaloid total pada ekstrak biji Klabet dengan menggunakan rumus seperti di atas

$$Cu = \frac{0,07}{0,502} \times 5,17 \text{ mg/ml} = 0,721 \text{ mg/ml}$$

Kadar alkaloid dalam 25850 gr biji Klabet

$$\frac{0,721 \text{ mg/ml}}{51,74 \text{ mg/ml}} \times 100 \% = 1,40 \%$$

## 7. Penetapan zat gizi daun kelor

Tabel 6. Hasil Analisis kandungan Gizi daun kelor

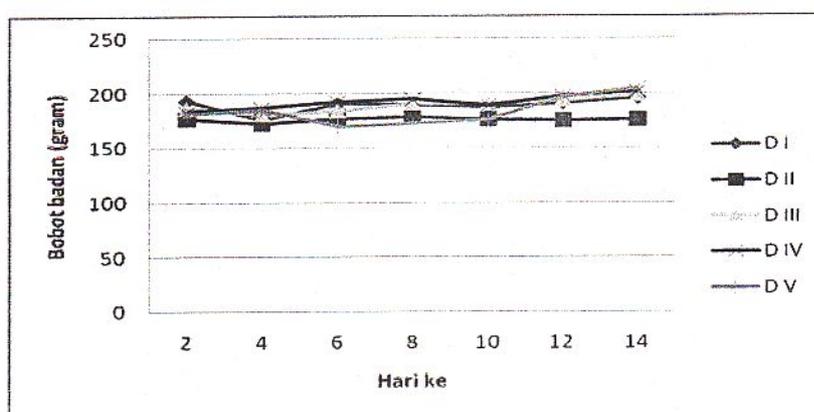
No	Jenis Analisis	Metode	Hasil	Satuan
1	Fe	AAS	26,79	mg/100g
2	Ca		1249,25	
3	K		0,09	
4	Protein	Kjeldahl	24,27	%
5	Vitamin A	HPLC	24916,85	IU/100g
6	Vitamin C		414,13	Mg/100g

## B. Hasil uji farmakologi eksperimental

### 1. Uji toksisitas akut

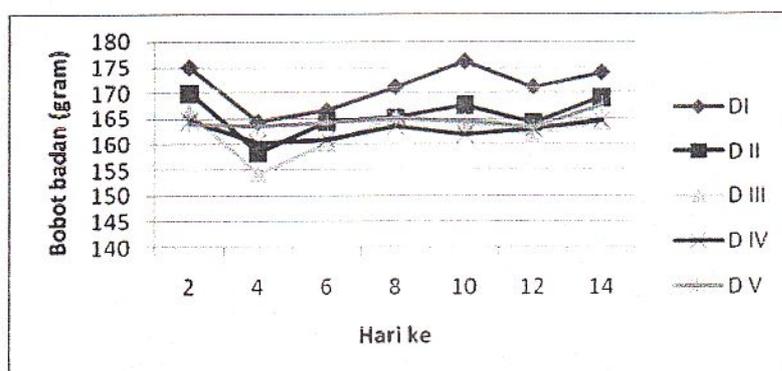
Pengamatan selama 6 jam setelah pemberian ekstrak terhadap aktivitas tikus (aktivitas spontan, peka sentuhan, rasa nyeri) dan eksitasi sistem syaraf pusat (gejala straub, melompat, tremor, konvulsi), tidak terlihat gejala-gejala tersebut diatas, semua tikus terlihat normal baik pada kelompok dosis besar maupun kecil.

Hasil percobaan toksisitas akut LD<sub>50</sub> terhadap berat badan tikus yang merupakan selisih penimbangan berat badan setiap 2 hari selama pengamatan 14 hari, disajikan pada Gambar 9 dan Gambar 10.



Gambar 9

Rata-rata perubahan berat badan selama 14 hari pada tikus jantan



Gambar 10

Rata-rata perubahan berat badan selama 14 hari pada tikus betina

LD<sub>50</sub> Ekstrak biji klabet dan daun kelor perbandingan 1:1 pada tikus putih didapatkan LD<sub>50</sub> semu >400 mg/200g bb, sehingga campuran bahan tersebut termasuk dalam

golongan bahan *practically Non Toxic* (PNT). Hal ini karena dosis terbesar pada kelompok di atas (20.000 mg/kg bb) >15000 mg/Kg bb.

## 2. Uji toksisitas sub kronis

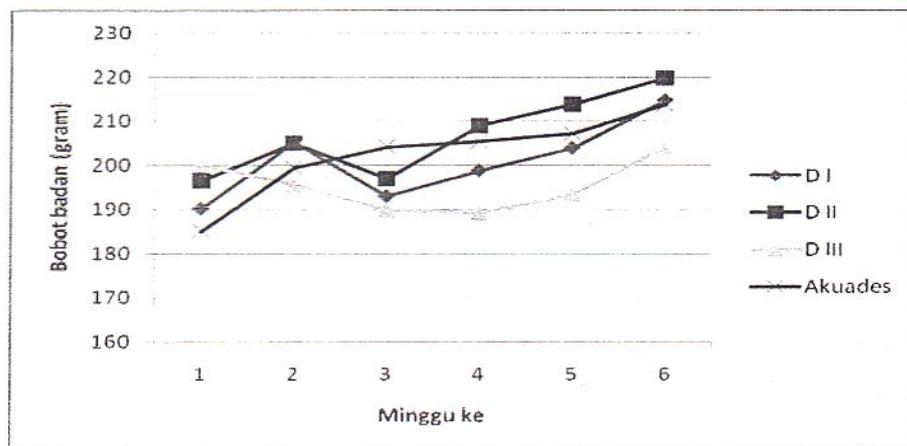
### 1) Pengukuran berat badan

**Tabel 7.**  
Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus jantan tiap minggu selama 6 minggu (45 hari) pemberian bahan uji

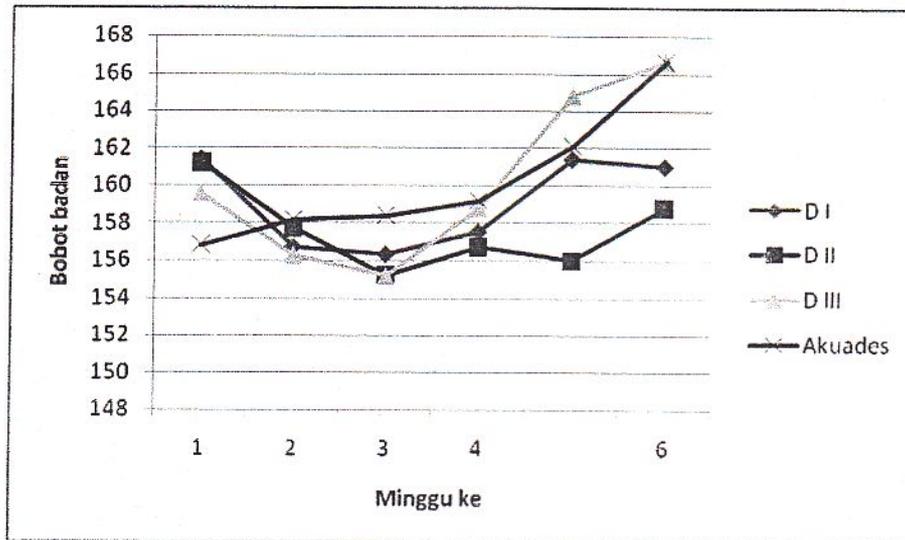
Kelompok	MINGGU					
	I	II	III	IV	V	VI
Ramuan 30 mg/200 g bb	190.1	205.3	192.9	198.8	203.9	214.8
Ramuan 100 mg/200 g bb	196.4	204.9	196.9	208.9	213.8	219.9
Ramuan 300 mg/200 g bb	200	195.6	189.9	189.2	193.4	204
Akuades 2 ml/200g bb.	185	199.5	204.2	205.4	207.2	213.9

**Tabel 8**  
Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus betina tiap minggu selama 6 minggu (45 hari) pemberian bahan uji

Kelompok	MINGGU					
	I	II	III	IV	V	VI
	161.4	156.7	156.3	157.5	161.4	161
Ramuan 30 mg/200 g bb	161.2	157.7	155.2	156.7	156	158.8
Ramuan 100 mg/200 g bb	159.6	156.3	155.2	158.8	164.8	166.6
Ramuan 300 mg/200 g bb	156.8	158.2	158.4	159.2	162.1	166.6
Akuades 2 ml/200g bb.	161.4	156.7	156.3	157.5	161.4	161



**Gambar 11 . Rata-rata perubahan berat badan tikus selama 6 minggu pada tikus jantan**



**Gambar 12 . Rata-rata perubahan berat badan tikus selama 6 minggu pada tikus betina**

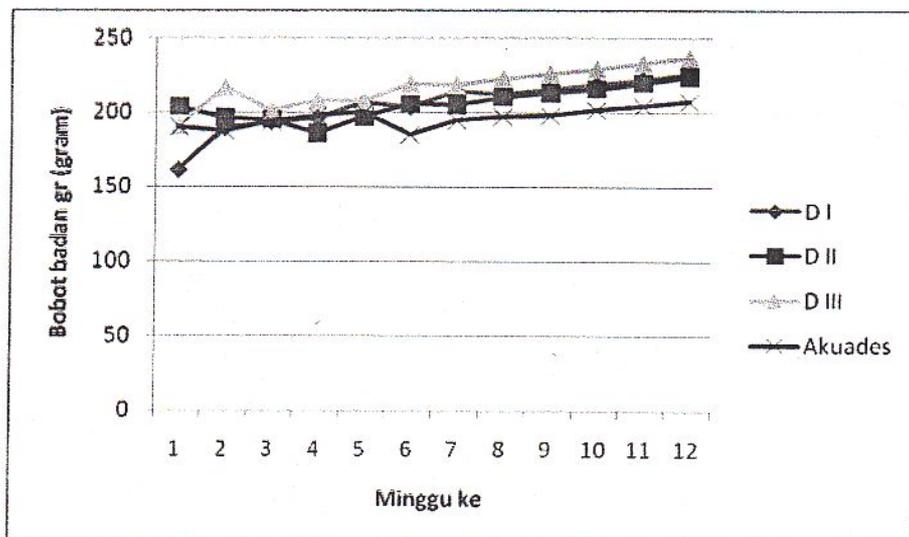
Dari pemberian bahan uji selama 6 minggu (45 hari), terlihat pola penurunan berat badan sampai minggu ke 3, dan kemudian naik kembali hingga minggu ke 6. Hal tersebut berlaku untuk kelompok jantan maupun betina.

**Tabel 9  
Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus jantan tiap minggu selama 12 minggu (90 hari) pemberian bahan uji**

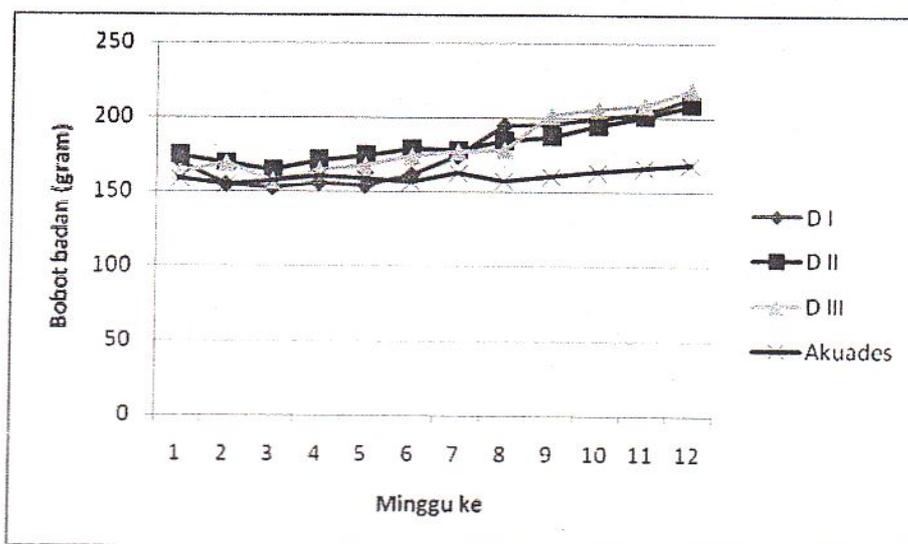
Kel	MINGGU											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
D1	161.3	189.6	193.3	196.2	206.2	203.4	213.8	211.8	175	218.4	221.6	225.6
D2	203.9	196.4	195.1	186	197.2	205.6	205	210.2	212.8	215.8	219.8	224.2
D3	190.6	216.5	201	208.2	207.2	219	218.3	222.6	226	229.2	233.2	236.8
AK	190	187.3	193.4	197.5	199.8	185	194.5	196.6	197.5	201.4	204.1	207

**Tabel 10  
Rata-rata berat badan (gr) 5 ekor tikus betina tiap minggu selama 12 minggu (90 hari) pemberian bahan uji**

Kelp	MINGGU											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
D1	170.3	154.7	152.4	155.6	154	161.2	162	204.4	195.8	199.4	203	213
D2	174.4	169.4	164.7	171.1	174.4	178.6	178	184.2	187.2	194.4	200.4	208.2
D3	162.6	169.3	157.4	164.5	167.5	173.8	177.2	178.4	202	206	208.6	218.6
AK	158.4	154.6	157.2	159.9	158.6	156	162.4	157.2	160.3	160	163	168



**Gambar 13.**  
Rata-rata perubahan berat badan tikus selama 12 minggu pada tikus jantan



**Gambar 14.**  
Rata-rata perubahan berat badan tikus selama 12 minggu pada tikus betina

a. Pengamatan 45 hari (kelompok tikus jantan)

Tabel 11.  
Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum 5 ekor tikus jantan selama 45 hr pemberian bahan uji

Kelompok	Ekst. ramuan 30 mg/200g bb	Ekst. ramuan 100mg/200g bb	Ekst. ramuan 300 mg/200g bb	Akuades 2 ml/200g bb
Sel darah merah (x 10 <sup>6</sup> )	8.78±0.56a	8.35±0.56a	7.85±0.56a	7.47± 0,92a
Sel darah putih (x 10 <sup>3</sup> )	18±5.77a	21.72±8.11a	<b>18.1±5.86a</b>	10.44±1.33b
Hb (mg/dl)	14.06± 0,49a	13.92± 0.39a	13,96± 0,53a	13,70± 0,64a
SGPT (UI/l)	<b>71.1±13.58a</b>	<b>81.43±11.13a</b>	<b>66.2±5.20b</b>	<b>62.26±6.36b</b>
SGOT (UI/l)	<b>139.28±31.34a</b>	<b>146±20.37a</b>	138.26±20.05a	<b>146.24±11.89a</b>
Ureum (mg/dl)	45.19±5.36a	44.65±5.92a	41.18±12.46a	45.50±10.63a
Kreatinin (mg/dl)	0.69±0.11a	0.76±0.08b	0.78±0.14c	0,66± 0,08d

Ket: Huruf yang sama pada kolom yang berbeda, tidak menunjukkan perbedaan (p>0,05).  
Tanda tebal, menunjukkan nilai diatas/dibawah normal

b. Pengamatan 45 hari (kelompok tikus betina)

Tabel 12.  
Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum 5 ekor tikus betina selama 45 hari pemberian bahan uji

Kelompok / Pengukuran	Ekst. ramuan 30 mg/200g bb	Eks. ramuan 100 mg/200g bb	Ekst. ramuan 300 mg/200g bb	Akuades 2 ml/200g bb
Sel darah merah (x 10 <sup>6</sup> )	6.95 ± 0.25 <sup>a</sup>	7.14 ± 0.37a	7.098 ± 0.36a	6,99 ± 0,53a
Sel darah putih (x 10 <sup>3</sup> )	14.72 ± 1.96a	15.92 ± 4.53a	20.98 ± 6.013a	8.28 ± 1.06b
Hb (mg/dl)	12.84± 0.64a	13.27± 0.53a	13,06 ± 0,54a	13.38 ± 8.26a
SGPT (UI/l)	67.45 ± 14.07a	67.01 ± 9.80a	75.23 ± 5.98a	<b>57.59 ± 8.26b</b>
SGOT (UI/l)	124.32± 6.93ab	137.62 ± 30.87a	156.18 ± 19.35a	153.04 ± 8.135
Ureum (mg/dl)	43.74 ± 3.74a	74.39 ± 9.26b	45.26 ± 6.20a	40.37 ± 13.01a
Kreatinin (mg/dl)	0.772± 0,107a	0.912 ± 0,089a	0.87 ± 0,11a	0.55 ± 0,07b

Ket: Huruf yang sama pada kolom yang berbeda, tidak menunjukkan perbedaan (p>0,05).  
Tanda tebal, menunjukkan nilai diatas/dibawah normal

c. Pengamatan 90 hari (tikus jantan)

Tabel 13.

Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum 5 ekor tikus jantan selama 90 hari pemberian bahan uji

Kelompok / Pengukuran	Ekst. ramuan 30 mg/200g bb	Ekst. ramuan 100 mg/200g bb	Ekst. ramuan 300 mg/200g bb	Akuades 2 ml/200g bb
Sel darah merah ( $\times 10^6$ )	7.95 ± 1.09	8.20 ± 0.46	8.11 ± 0.49	7,84 ± 0,853
Sel darah putih ( $\times 10^3$ )	16.06 ± 7.87	18.92 ± 6.03	15.14 ± 4.37	11,70 ± 1,325
Hb (mg/dl)	13.82 ± 0.31	13.98 ± 0.61	13.06 ± 0.80	14.31 ± 1,117
SGPT (UI/l)	68.61 ± 11.34	64.81 ± 2.72	61.23 ± 19.62	62.90 ± 3,986
SGOT (UI/l)	147.68 ± 37.22	147.68 ± 5.44	170.70 ± 29.97	162.67 ± 18.93
Ureum (mg/dl)	34.36 ± 7.71	34.36 ± 7.71	26.09 ± 3.61	31.16 ± 3.545
Kreatinin (mg/dl)	0.902 ± 0.142	0.902 ± 0.142	1.004 ± 0.138	0,786 ± 0,005

Ket: Tanda yang berbeda, menunjukkan perbedaan ( $p < 0,05$ ).

Tanda tebal, menunjukkan nilai diatas/dibawah normal

d. Pengamatan 90 hari (tikus betina)

Tabel 14.

Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum 5 ekor tikus betina selama 90 hari pemberian bahan uji

Kelompok / Pemeriksaan	Ekst. ramuan 30 mg/200g bb	Ekst. ramuan 100 mg/200g bb	Ekst. ramuan 300 mg/200g bb	Akuades 2 ml/200g bb
Sel darah merah ( $\times 10^6$ )	7.59 ± 0.16	6.95 ± 0,59	6.65 ± 0,71	7,84 ± 0,853
Sel darah putih ( $\times 10^3$ )	25.56 ± 7.68	10.22 ± 2.84	14.03 ± 1.46	11,70 ± 1,325
Hb (mg/dl)	13,84 ± 0,93	13.20 ± 0.70	13,08 ± 1.39	14.31 ± 1,117
SGPT (UI/l)	60.73 ± 5.91	53.88 ± 5.44	61.82 ± 20.57	62.90 ± 3,986
SGOT (UI/l)	158.88 ± 28.53	132.78 ± 18.21	133.38 ± 20.57	162.67 ± 18.93
Ureum (mg/dl)	31.35 ± 2.02	26.94 ± 3.12	29.43 ± 5.38	31.16 ± 3.545
Kreatinin (mg/dl)	0,734 ± 0,154	0,970 ± 0,204	0,817 ± 0.092	0,786 ± 0,005

Ket: Huruf yang sama pada kolom yang berbeda, tidak menunjukkan perbedaan ( $p > 0,05$ ).

Tanda tebal, menunjukkan nilai diatas/dibawah normal

e. Pengamatan masa recovery.

Pemeriksaan gambaran darah, biokimia darah dan histopatologi dilakukan pula pada kelompok akuades dan kelompok ekstrak ramuan dosis 300 mg/200g bb yang mendapat perlakuan selama 90 hari dan diberhentikan pemberiannya, kemudian didiamkan 14 hari tanpa perlakuan. Pemeriksaan ini dilakukan untuk mengetahui keadaan masa pemulihan (recovery).

**Tabel 15.**  
**Rata-rata hasil pengukuran gambaran darah dan biokimia darah pada serum**  
**setelah masa recovery pada tikus jantan dan betina**

Kelompok / Pengukuran	Ekstrak ramuan 300 mg/200g bb jantan	Ekstrak ramuan 300 mg/200g bb betina	Akuades 2 ml/200g bb
Sel darah merah ( $\times 10^6$ )	$10.70 \pm 1.36$	$7.66 \pm 0.72$	$7,55 \pm 0,55$
Sel darah putih ( $\times 10^3$ )	$17.36 \pm 9.27$	$8.10 \pm 0.95$	$11,73 \pm 3,23$
Hb (mg/dl)	$16.44 \pm 0.25$	$14.12 \pm 1.69$	$14,23 \pm 0,56$
SGPT (UI/l)	$57.26 \pm 4.22$	$61.24 \pm 5.22$	$67,59 \pm 6,03$
SGOT (UI/l)	$130.02 \pm 17.91$	$117.30 \pm 9.39$	$155,44 \pm 1,62$
Ureum (mg/dl)	$28.13 \pm 3.02$	$28.45 \pm .17$	$46,51 \pm 21,43$
Kreatinin (mg/dl)	$0.864 \pm 0.096$	$0.762 \pm 0.067$	$0,705 \pm 0,06$

Ket: Tanda tebal menunjukkan nilai diatas normal

Kadar rata-rata kelompok akuades untuk SGOT, SGPT dan ureum kelompok jantan menunjukkan nilai diatas normal, dan hal ini menyebabkan analisis tidak dapat dilanjutkan. Namun yang terlihat spesifik adalah bahwa kadar SGPT pada dosis 300 mg/200g bb menunjukkan nilai diatas normal, yaitu 57.26 UI/l.

#### f. Histopatologi

Hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap organ (jantung, paru-paru, ginjal, hati, lambung, usus ) dari tikus percobaan yang diberi akuades (K-) dan tikus percobaan yang diberi ekstrak ramuan 30 mg/200g bb; 100 mg/200g bb dan 300 mg/200 g bb. selama 45 hari dan 90 hari dapat dilihat pada Tabel 16.

**Tabel 16.**  
**Rata-rata hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap organ (jantung, paru-paru, ginjal,**  
**hati, lambung, usus ) tikus jantan dan betina setelah pemberian bahan uji 45 hari.**

No	Kelp	Kelainan organ (dari 10 ekor)					
		Jantung	Paru	Ginjal	Hati	Lambung	Usus
1.	Ekstrak ramuan 30 mg/200g bb	9 TKS	10 TKS	7 TKS	6 TKS	7 TKS	9 TKS
2.	Ekstrak ramuan 100 mg/200g bb	10 TKS	9 TKS	10 TKS	8 TKS	9 TKS	8 TKS
3.	Ekstrak ramuan 300 mg/200g bb	6 TKS	7 TKS	7 TKS	4 TKS	10 TKS	8 TKS
4.	Akuades 2 ml/200g bb	10 TKS	10 TKS	9 TKS	6 TKS	10 TKS	8 TKS

TKS : Tidak terjadi kelainan spesifik

Tabel 17.

Rata-rata hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap organ (jantung, paru-paru, ginjal, hati, lambung, usus) tikus jantan dan betina setelah pemberian bahan uji 90 hari.

No	Kelp	Kelainan organ (dari 10 ekor)					
		Jantung	Paru	Ginjal	Hati	Lambung	Usus
1.	Ekstrak ramuan 30 mg/200g bb	10 TKS	10 TKS	9 TKS	8 TKS	5 TKS	7 TKS
2.	Ekstrak ramuan 100 mg/200g bb	10 TKS	7 TKS	9 TKS	7 TKS	5 TKS	8 TKS
3.	Ekstrak ramuan 300 mg/200g bb	10 TKS	9 TKS	9 TKS	8 TKS	5 TKS	9 TKS
4.	Akuades	10 TKS	10 TKS	9 TKS	10 TKS	9 TKS	9 TKS

TKS : Tidak terjadi kelainan spesifik

Tabel 18.

Rata-rata hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap organ (jantung, paru-paru, ginjal, hati, lambung, usus) tikus jantan dan betina setelah masa recovery.

No	Kelp	Kelainan organ					
		Jantung	Paru	Ginjal	Hati	Lambung	Usus
1.	Akuades 2 ml/200g bb (dari 6 ekor)	10 TKS	10 TKS	9 TKS	10 TKS	9 TKS	9 TKS
2.	Ekstrak ramuan 300 mg/200g bb (dari 10 ekor)	10 TKS	9 TKS	9 TKS	8 TKS	5 TKS	9 TKS

TKS : Tidak terjadi kelainan spesifik

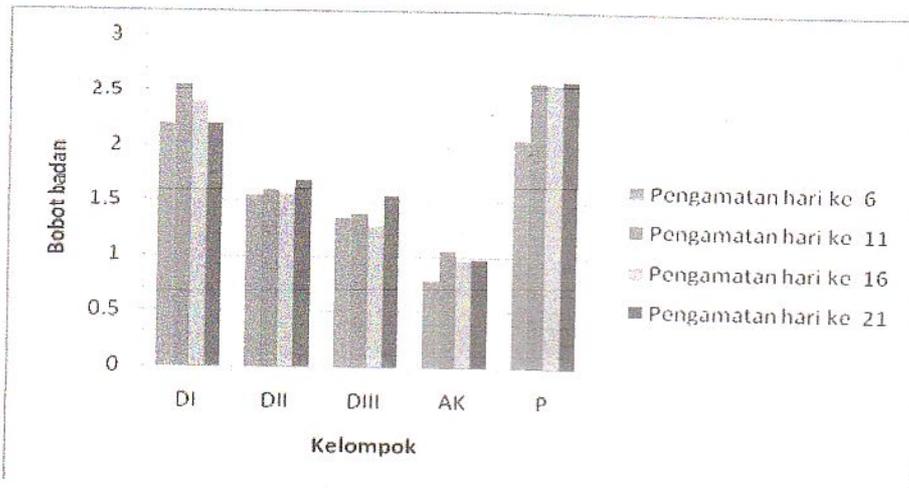
### 3. Uji khasiat pelancar ASI

Tabel 19

#### Perhitungan jumlah ASI

Rata-rata (ml) yang dikeluarkan saat pengukuran hari ke 6, 11, 16 dan 21

Hari ke	Dosis perlakuan				
	Ramuan 30 mg/200g bb	Ramuan 100 mg/200g bb	Ramuan 300 mg/200g bb	Pembanding (Moloco)	Akuades 2 ml/200g bb
6	2.19	1.54	1.34	2.06	0.78
11	2.55	1.59	1.38	2.58	1.05
16	2.39	1.56	1.28	2.57	0.97
21	2.19	1.69	1.54	2.6	0.97



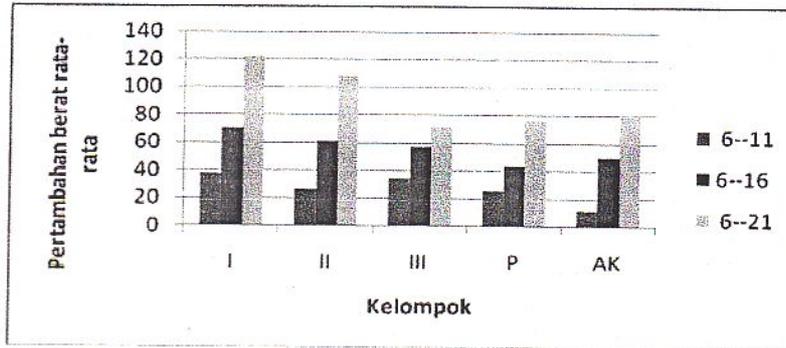
**Gambar 15.**  
Perbedaan rata-rata jumlah ASI yang dikeluarkan hari ke 6 sampai ke 21

**Tabel 20**  
Kadar prolaktin Induk Tikus  
Rata-rata (ug/ml) yang diukur pada hari ke 6, 11, 16 dan 21

Hari ke	Dosis perlakuan				
	Ramuan 30 mg/200g bb	Ramuan 100 mg/200g bb	Ramuan 300 mg/200g bb	Moloco 1/10 tabl/100g bb	Akuades 2 ml/200g bb
6	0.51 ± 0.31	0.38 ± 0.96	0.55 ± 0,5	0.45 ± 0.31	0.31 ± 0.16
11	0.33 ± 0.14	0.43 ± 0.08	0.34 ± 0,16	0.37 ± 0.12	0.60 ± 0.31
16	1.07 ± 1.02	0.62 ± 0.77	0.62 ± 0.24	0.75 ± 0.46	0.46 ± 1.03
21	1.08 ± 0.57	0.69 ± 0.20	0.74 ± 0.84	0.66 ± 0.40	0.83 ± 0.29

**Tabel 21**  
Pertambahan rata-rata berat badan bayi tikus (g)  
dari hari ke 6 sampai hari ke-11, 6-16, 6-21

Hari ke	Dosis perlakuan				
	Ramuan 30 mg/200g bb	Ramuan 100 mg/200g bb	Ramuan 300 mg/200g bb	Moloco 1/10 tabl/100g bb	Akuades 2 ml/200g bb
6 - 11	34.3	26.36	37.88	25.66	11.92
6 - 16	57.33	60.89	70.47	43.92	49.7
6 - 21	70.93	108.24	121.76	76.41	81.4



**Gambar 16**  
Perbedaan rata-rata berat bayi tikus pada hari ke 6 sampai 21

### C. Formulasi

**Tabel 22**  
Persentase bahan terevaporasi

Bahan	% Bahan Terevaporasi
Ekstrak klabet (70% alkohol)	0,15
Ekstrak kelor (50% alkohol)	0,08

**Tabel 23**  
Komposit antara klabet atau kelor dan dektrin atau maltodekstrin

Ekstrak	Bahan Terevaporasi	Sudut curah (derajat)		Sudut curah (derajat)	
		pada permukaan		dry basis pada permukaan	
		Kaca	Aluminium Foil	Kaca	Aluminium Foil
1 g klabet dan 3 g dekstrin	0,36	42	45	38	35
1 g klabet dan 3 g maltodekstrin	0,52	40	39	40	39
1 g kelor dan 3 g dekstrin	0,65	58	43	40	36
1 g kelor dan 3 g maltodekstrin	0,71	30	40	48	38

**Tabel 24.**  
Komposit antara klabet, kelor dan dektrin atau maltodekstrin

Ekstrak	Bahan Terevaporasi	Sudut curah (derajat)		Sudut curah (derajat)	
		pada permukaan		dry basis pada permukaan	
		Kaca	Aluminium Foil	Kaca	Aluminium Foil
1 g klabet + 1 g kelor + 5g dekstrin	0,74	57	39	45	40
1 g klabet + 1 g kelor + 5g maltodekstrin	0,78	44	47	37	36
1 g klabet + 1 g kelor + 6g dekstrin	0,64	80	43	42	36
1 g klabet + 1 g kelor + 6g maltodekstrin	0,95	65	45	39	35

**Tabel 25.**  
**Komposisi komposit klabet, kelor dan dektrin atau maltodekstrin**

Ekstrak	% Bahan Terevaporasi
1 g klabet + 1g kelor + 5g dekstrin	0,74
1 g klabet + 1g kelor + 5g maltodekstrin	0,78
1 g klabet + 1g kelor + 6g dekstrin	0,64
1 g klabet + 1g kelor + 6g maltodekstrin	0,95

## V. PEMBAHASAN

### A. Hasil Kimia Analisis

#### 1. Karakterisasi, kadar dan profil kelor dan klabet.

Rendemen ekstrak daun Kelor dengan etanol 70 % rendah yaitu hanya mencapai sekitar 15 % dan rendemen untuk ekstrak biji Klabet 17 %. Hal ini dimungkinkan karena hanya senyawa kimia yang bersifat polar yang terlarut dalam kedua ekstrak. Rendemen ekstrak daun Kelor lebih rendah dari pada ekstrak biji Klabet karena ekstrak daun Kelor disari dengan menggunakan alcohol 70 % yang bersifat lebih polar dari ekstrak biji klabet yang disari dengan etanol 50 %. Sehingga lebih banyak senyawa kimia yang larut atau tersari dalam etanol 50 % karena kemungkinan senyawa semi polar akan ikut terlarut.

Dari karakterisasi, kadar air kedua ekstrak tidak memenuhi persyaratan yaitu tidak boleh melebihi 10 %, sedangkan ekstrak daun kelor mempunyai kadar air 15,68 % dan ekstrak biji klabet 13,78 %. Kadar air dalam ekstrak yang melebihi 10 % akan memudahkan tumbuhnya jamur dan kemungkinan akan membahayakan kesehatan. Susut pengeringan mengindikasikan bahwa selain kandungan air yang ikut menguap juga kandungan minyak atsiri dan senyawa-senyawa lain yang mudah menguap. Oleh karena itu kadar susut pengeringan lebih besar dari pada kadar air. Kadar abu total kedua ekstrak mempunyai rentang rendah yaitu sekitar 1,16 – 3,04 % yang menunjukkan bahwa ekstrak tidak tercemar logam-logam, karena penetapan kadar dengan pemanasan lebih dari 700°C hanya yang tersisa adalah logam, sedangkan kadar abu larut asam menunjukkan adanya logam berat. Pada pemeriksaan kadar abu larut asam nilai kedua ekstrak, cukup kecil yang berarti ekstrak tidak banyak tercemar logam dan logam berat. Kadar sari larut air dan alkohol menunjukkan bahwa senyawa

kimia yang diduga berperan dalam menentukan efek dapat tertarik pada penetapan kadar sari. Sehingga semakin tinggi persentase kadar sari maka semakin baik ekstrak tersebut.

Pada uji golongan kimia kedua ekstrak menunjukkan kandungan hampir sama kecuali ekstrak daun kelor tidak mengandung flavanoid. Berdasarkan kepustakaan, kedua ekstrak mengandung alkaloid trigonelin dan ekstrak biji klabet mengandung diosgenin yang merupakan golongan steroid. Kedua senyawa ini yang diperkirakan berperan sebagai hormon untuk meningkatkan produksi ASI.

Dari penetapan kadar ekstrak, ternyata kedua ekstrak mengandung golongan senyawa kimia sama kecuali ekstrak biji tidak mengandung senyawa fenol dan flavanoid. Keduanya mengandung golongan alkaloid dan triterpenoid. Alkaloid yang terkandung Trigonelin dan biji Klabet mengandung diosgenin Alkaloid Trigonelin dapat merupakan senyawa identitas dari kedua tanaman dan diosgenin merupakan golongan triterpenoid yang diduga berperan untuk meningkatkan ASI karena senyawa diosgenin mempunyai struktur mirip dengan hormone prosteron, sehingga kedua senyawa ini yang akan menjadi penanda untuk karakteristik kedua ekstrak. Namun penetapan kadar dalam ekstrak biji Klabet tidak dapat menggunakan pembanding diosgenin, karena ekstrak biji Klabet adalah ekstrak dalam etanol 70 % dan pembanding diosgenin larut dalam pelarut kloroform. Sehingga ekstrak dalam etanol 70 % tidak mengandung diosgenin dan seandainya ada diosgenin itupun dalam jumlah yang sangat kecil. Jadi penetapan kadar sebagai senyawa identitas kedua ekstrak adalah sebagai total alkaloid dengan menggunakan pembanding alkaloid klorokuin.

Kadar total alkaloid ekstrak daun Kelor 0,193 % dan ekstrak biji Klabet 1,4 %. Disini senyawa kimia yang diduga berperan banyak dari ekstrak biji Klabet dan terlihat pada kadar total alkaloid. Kemungkinan ekstrak daun Kelor lebih mendukung adanya zat-zat gizi.

## 2. Penetapan zat gizi daun kelor

Daun kelor dikenal mempunyai nilai gizi yang tinggi, dimana didalamnya terdapat vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin C, E, K, magnesium, kalium, kalsium, besi dan protein. Protein dalam daun kelor mengandung 9 asam amino. Disebutkan bahwa zat besi 25 kali lebih banyak dari bayam, vitamin A, 10 kali lebih

besar dari wortel; protein 9 kali lebih besar dari susu; calcium 17 kali lebih banyak dari susu; kalium 15 kali lebih besar dari pisang dan vitamin C setengah kali buah jeruk. Dicoba untuk mengukur kandungan gizi daun kelor, dengan menggunakan beberapa metode yaitu Fe, Ca dan K menggunakan AAS; Protein menggunakan cara Kjeldahl, serta Vit A dan C menggunakan HPLC. Protein dalam kelor sangat tinggi yaitu 24,27%. Bahan nabati yang menjadi sumber protein adalah kacang2an, bukan daun-daunan. Daun kelor mengandung 24,27 g/100 g bahan, memang termasuk angka yang tinggi, tetapi belum pasti merupakan protein polipeptida. Karena metoda analisis yang digunakan adalah metoda Kjeldahl yang menentukan kadar Nitrogen total. Maka mungkin ada senyawa lain bukan protein yang mengandung nitrogen turut serta teranalisis, contohnya asam sianida (HCN). Untuk memastikan bahwa protein itu merupakan protein polipeptida, sebaiknya dilakukan analisis komposisi asam amino dari daun kelor tersebut. Kalau memang total asam aminonya tinggi, barangkali benar sebab dari terjadi bisul pada tikus percobaan disebabkan oleh tingginya protein daun kelor.

## **B. Uji khasiat dan keamanan**

### **1. Toksisitas Akut**

Pada semua kelompok dosis, tikus jantan dan betina tidak terjadi peningkatan berat badan secara normal, terjadi fluktuasi berat badan . Selama pengamatan, terutama hari ke 4 ada kecenderungan berat badan yang menurun, namun terjadi peningkatan lagi. Selama 14 hari tidak terdapat kelainan fisik maupun perilaku tikus. Dapat disimpulkan bahwa pemberian akut sampai dengan dosis terbesar 4000 mg/200g bb. tidak menimbulkan efek toksik, berupa kematian atau kelainan perilaku tikus, sehingga didapatkan LD50 semu >4000 mg/200g bb.

### **2. Toksisitas sub kronis pada pemberian bahan uji 45 hari**

Pemberian ramuan selama 6 minggu (45 hari) pada tikus jantan, menunjukkan peningkatan berat badan walaupun terlihat ada fluktuasi, sebanding dengan kenaikan kelompok akuades, dimana pada kelompok akuades juga kenaikan yang terjadi kurang berarti dan fluktuatif. Pada semua kelompok tidak terdapat kematian, namun terdapat tikus yang mengalami bisul di badannya (terlihat pada gambar). Munculnya bisul pada badan tikus setelah pemberian ramuan selama 45 hari, kemungkinan karena adanya protein tinggi pada bahan yang diuji. Diketahui kandungan protein pada daun kelor adalah 24,27 persen dan kandungan protein tinggi dapat menyebabkan tikus hiperproteinemia, sehingga menyebabkan munculnya bisul.

Namun bisul tidak berkembang lebih jauh menjadi luka, namun mengecil dan mengering segera.

#### **Gambaran darah dan biokimia darah pada pemberian 45 hari pada tikus jantan**

Dari rata-rata jumlah sel darah merah, terlihat perbedaan antara kelompok akuades berbeda dengan kelompok ekstrak ramuan dosis 100 mg/200g bb ( $p = 0,06$ ).

Jumlah sel darah putih, secara rata-rata terlihat kenaikan kadar sel darah putih dengan bertambahnya dosis. Secara statistik kelompok akuades berbeda dengan kelompok ramuan kelompok dosis 30mg/200g bb; 100 mg/200g bb ( $p = 0,01$ ) dan 300 mg/200g bb . Dengan ANOVA 2 arah untuk melihat hubungan antara kadar sel darah putih, perlakuan dan waktu, ada perbedaan yang nyata antara kadar sel darah putih dan waktu pemberian ( $p = 0,01$ ) dan ada perbedaan yang nyata antara kadar sel darah putih dan perlakuan ( $p = 0,00$ ). Dari hasil ini dapat disimpulkan secara keseluruhan ada pengaruh pemberian ekstrak ramuan terhadap jumlah sel darah putih, dengan meningkatnya jumlah sel darah putih dengan waktu dan dosis pemberian. Meningkatnya jumlah sel darah putih juga ditandai dengan munculnya bisul pada beberapa tikus. Hal ini kemungkinan disebabkan karena tingginya kandungan protein dalam kelor dan tingginya fitoestrogen dalam biji klabet, karena dalam klabet juga terdapat kandungan asam amino yang tinggi.

Kadar SGPT kelompok akuades berbeda dengan kelompok ekstrak ramuan dosis 30 mg/200g bb ( $p = 0,008$ ), tetapi tidak berbeda dengan kelompok dosis 100 mg/200g bb ( $p = 0,763$ ) dan 300 mg/200g bb ( $p = 0,030$ ). Dari hasil rata-rata kadar SGPT ternyata kelompok akuades mempunyai nilai diatas normal, sehingga tidak dapat diambil kesimpulan. Pada tikus jantan terlihat nilai SGOT diatas nilai normalnya. Dari nilai rata-rata, terlihat pada dosis yang paling besar, terdapat penurunan kadar SGOT, namun secara statistik tidak ada perbedaan SGOT antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $p = 0,218$ ).

#### **Gambaran darah dan biokimia darah pada pemberian 45 hari pada tikus betina**

Dari jumlah sel darah merah, terdapat perbedaan antara kelompok akuades dengan kelompok ekstrak ramuan dosis 30 mg/200g bb ( $p = 0,03$ ), dosis 300 mg/200g bb ( $p = 0,045$ ). Tidak ada perbedaan antara kelompok dosis 30mg/200g bb dan 300 ng/200g bb ( $p = 1,99$ ).

Kadar SGPT kelompok dosis 100 mg/200g bb menunjukkan nilai diatas normal, namun secara statistik tidak ada perbedaan antara kelompok akuades dengan kelompok perlakuan ketiga dosis ekstrak ramuan ( $p = 0,394$ ). Hal ini juga dikarenakan kadar SGPT kelompok akuades, diatas normal. Hal ini tidak dapat dijadikan dasar adanya kelainan.

Secara keseluruhan, tidak ada kelainan yang terjadi akibat pemberian ekstrak ramuan pada tikus jantan dan betina, sampai pemberian bahan uji 45 hari dengan dosis 300 mg/200g bb. Namun yang spesifik adalah meningkatnya jumlah sel darah putih secara rata-rata pada kelompok tikus jantan dan betina. Hal tersebut disertai dengan munculnya bisul.

#### **Toksisitas sub kronis pada pemberian bahan 90 hari**

Pengamatan 12 minggu (90 hari), baik pada tikus jantan maupun tikus betina, terlihat kenaikan berat badan yang normal bagi perkembangan berat badan tikus sebagai hewan coba, yaitu rata-rata 5 g seminggu. Hal ini menunjukkan bahwa bahan uji tidak menyebabkan kelainan secara makro. Hal ini merupakan salah satu indikator bahwa bahan uji secara langsung tidak mempengaruhi berat badan yang berkaitan dengan tidak terganggunya metabolisme tubuh secara umum pada kelompok tikus jantan maupun betina. Berat badan tikus jantan lebih besar dari tikus betina hal tersebut dalam keadaan normal.

#### **Gambaran darah dan biokimia darah pada pemberian 90 hari pada tikus jantan**

Kadar SGOT rata-rata kelompok akuades menunjukkan nilai dibawah normal, dan terlihat meningkat dengan pemberian ekstrak ramuan pada semua kelompok dosis. Secara statistik terdapat perbedaan antara kelompok akuades dengan kelompok dosis 300 mg/200g bb ( $p = 0,03$ ), namun peningkatannya masih dalam batas nilai normal. Tidak ada perbedaan antara kelompok akuades dengan kelompok dosis 30 mg/200g bb dan 100 mg/200g bb. Pada pengukuran variabel yang lain, tidak terlihat nilai diatas/dibawah nilai normal, dan secara statistik tidak terlihat adanya perbedaan ( $p > 0,05$ ).

#### **Gambaran darah dan biokimia darah pada pemberian 90 hari pada tikus betina**

Kadar SGOT rata-rata kelompok akuades menunjukkan nilai diatas normal, dan terlihat meningkat dengan pemberian ekstrak ramuan pada semua kelompok dosis. Secara statistik terdapat perbedaan antara kelompok akuades dengan kelompok dosis 30 mg/200g bb ( $p =$

0,00), dosis 100 mg/200g bb ( $p = 0,00$ ) dan dosis 300 mg/200g bb ( $p = 0,00$ ). Keadaan ini dapat menjadi perhatian, namun perlu diperhatikan juga bahwa peningkatan kadar SGOT masih dalam batas nilai normal. Pada pengukuran variabel yang lain, tidak terlihat nilai diatas/dibawah nilai normal, dan secara statistik tidak terlihat adanya perbedaan ( $p > 0,05$ ).

Pemberian bahan uji 90 hari pada kelompok tikus putih jantan maupun betina secara umum tidak mempengaruhi gambaran darah dan biokimia darah, dengan pemberian ekstrak ramuan selama 90 hari. Namun perlu mendapat perhatian, bahwa pada pemberian dosis yang terbesar yaitu 330 mg/200g bb. terjadi peningkatan kadar SGOT, namun nilainya masih dalam batas normal. Secara statistik ANOVA 2 arah, terdapat perbedaan karena waktu pemberian ( $p = 0,00$ ). Namun terlihat bahwa pemberian selama 45 hari menunjukkan nilai yang lebih besar daripada setelah pemberian 90 hari. Untuk membahas hal ini lebih lanjut, data perlu dikaitkan dengan hasil uji histopatologi.

Terhadap kadar ureum dan kreatinin, pemberian ekstrak ramuan sampai 90 hari tidak mempengaruhi nilai normalnya. Jadi secara keseluruhan ekstrak ramuan tidak mempengaruhi fungsi ginjal.

#### **Histopatologi pemberian bahan selama 90 hari**

Terhadap hati. Dari hasil pemeriksaan histopatologi, pada pemberian 45 hari, kejadian tidak terjadi kelainan spesifik pada kelompok kontrol dan perlakuan hampir sama. Hal ini dapat beralasan mengingat bahwa hasil pengukuran kadar SGOT dan SGPT kelompok kontrol dan perlakuan, mempunyai nilai diatas normal. Namun justru pada pemberian 90 hari tidak ada perbedaan antara sel hati kontrol dan sel hati bahan uji, yang didukung pula dari data pengukuran kadar SGOT dan SGPT kelompok kontrol dan perlakuan ekstrak ramuan, menunjukkan hasil masih dalam batas normalnya. Degenerasi parenkhim terjadi baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan sampai dosis besar. Hal masih dianggap normal. Kejadian yang dianggap membahayakan ialah apabila terjadi degenerasi lemak. Sementara itu, ada satu ekor tikus yaitu pada kelompok kontrol yang secara individual, pada organ hatinya terlihat adanya kelainan berupa fokal hepatitis yang kronik. Kelainan ini mungkin diakibatkan oleh adanya infeksi cacing (Trematoda) di dalam organ tersebut.

Secara keseluruhan, dilihat dari kadar SGPT, SGOT dan kelainan pada jaringan hati, mengindikasikan tidak ada pengaruh ekstrak ramuan terhadap kerusakan hati.

**Terhadap lambung.** Organ lambung, pada umumnya tidak menunjukkan adanya kelainan yang spesifik (TKS). Namun beberapa organ terlihat adanya vakuolisasi pada sub

mukosa atau pada lapisan tunika muskularisnya. Sebagian besar tidak menunjukkan kelainan yang spesifik (TKS) baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan.

**Terhadap ginjal.** Dari pemeriksaan histopatologi ginjal, pembendungan /perdarahan kemungkinan terjadi pada saat mengorbankan tikus, darah tidak seluruhnya keluar. Secara keseluruhan tidak ada pengaruh pemberian ekstrak ramuan terhadap fungsi ginjal yang diukur melalui kadar ureum dan kreatinin, serta gambaran kelainan jaringan ginjal.

Setelah pemberian bahan uji 90 hari, dilakukan pemeriksaan *recovery*/pemulihan kembali dari organ-organ yang sama pada kelompok tikus kontrol dan dosis besar. Tidak ada perbedaan dengan kelompok kontrol.

### **Formulasi**

Kandungan bahan yang terevaporasi dari ekstrak klabet dan kelor adalah 0,15% dan 0,08%, Pada saat ekstrak klabet dan kelor dicampur dekstrin dan malto dekstrin menunjukkan bahwa kadar air dalam sediaan lebih tinggi dibanding dalam ekstrak sendiri hal ini disebabkan kadar air dalam bentuk tepung lebih higroskopis dibandingkan ekstraknya (Tabel 20 bandingkan dengan Tabel 21)

Dalam Tabel 20 juga ditunjukkan derajat kemiringan permukaan kaca dan aluminuim foil terhadap tepung tersebut pada kondisi mengandung air menunjukkan permukaan kaca mempunyai kemiringan lebih tinggi dengan dekstrin dibandingkan dengan maltodekstrin, sedangkan pada dry basis kemiringannya lebih tinggi pada maltodekstrin dibanding dekstrin. Kemiringannya tertinggi 58 derajat.

Pada komposit ekstrak klabet dan kelor dengan dekstrin dan maltodekstrin pada kondisi mengandung uap air hampir sama dengan komposit tunggalnya kecuali pada dry basis dimana sudut kemiringan tidak berbeda dengan yang mengandung uap air. (Tabel 21)

## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Telah dilakukan standarisasi dengan menilai karakteristik biji klabet dan daun kelor serta profil kromatogramrafi, serta penentuan zat identitas dalam ramuan.
2. Daun kelor mempunyai nilai gizi yang tinggi, dinyatakan dengan kandungan Vitamin, mineral dan Protein
3. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1), sangat aman digunakan karena mempunyai nilai LD50 yang sangat besar, hingga pemberian dosis 4000 mg/200g bb tidak menimbulkan kelainan dan kematian.
4. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1) yang diberikan setiap hari selama 3 bulan terus menerus masih menunjukkan adanya efek merugikan, yaitu meningkatnya jumlah sel darah putih, dan munculnya bisul pada hewan coba.
5. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1) meningkatkan pengeluaran volume ASI pada indung tikus mulai hari ke 6 hingga ke 21, sebanding dengan Moloco sebagai pembanding.
6. Ramuan ekstrak klabet dan kelor (1:1) meningkatkan pertambahan bobot bayi tikus mulai hari ke 6 hingga 21, lebih besar daripada bayi yang diberi Moloco sebagai pembanding .
7. Dari uji formulasi, telah didapatkan prototype ramuan ASI sebagai pelancar ASI dan penambah gizi, dan prototype ini akan disampaikan pada acara temu bisnis sentra HKI Badan Litbangkes tahun 2012.
8. Penelitian ramuan pelancar ASI dan peningkat gizi, akan diajukan sebagai perolehan paten kesehatan.

### Saran

1. Dilanjutkan penelitian dengan merubah komposisi ramuan, sehingga tidak terjadi kelebihan protein dalam tubuh hewan coba
2. Adanya penelitian lanjutan untuk menilai keamanan , berupa uji teratogenik dan mutagenik
3. Adanya penelitian lanjutan untuk mendapatkan zat aktif sebagai pelancar ASI (ketentuan perolehan paten)

4. Bila data keamanan penggunaan sudah lengkap, dilanjutkan penelitian klinik dalam program Saintifikasi Jamu, sebagai upaya promotif kesehatan ibu dan anak.

#### **VII. UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini, Balai Penelitian Veteriner, Bogor; Laboratorium Prodia dan Badan POM.

**Rekomendasi: Mengingat hasil penelitian ini akan dilanjutkan untuk perolehan paten, maka laporan ini dinyatakan bersifat rahasia, tidak bisa dipublikasikan dalam bentuk apapun sebelum didaftarkan ke Dirjen Paten.**

## VIII. DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Sri Poedji Hastoety Djaiman, Sihadi, 2009. Besarnya peluang usia penyapihan baduta di Indonsia dan faktor yang mempengaruhinya, *Media Litbang Kesehatan*, vol. XIX, No. 1.
2. Prawirosudirdjo , 1984. A survey of Breast Practices Among Mothers of Highly Selected Group in Jakarta, Jakarta: *Majalah Kedokteran indonesia*, 14, p. 198-207.
3. Lawrence, Ruth A, 1980. *Breast Feeding a Guide far The Medical Profession*. Toronto: The CV Mosby Company, p. 135-151.
4. ----, *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*
5. Wirahardja T dan Mulyono MW, 1985. *Halba Trigonella foenum-graecum L., tumbuhan potensial untuk obat dan industri Farmasi*. Prosiding I Seminar Pembudidayaan Tanaman Obat, Purwokerto, Oktober, p. 295-298.
6. Wiryowidagdo S , 2000. *Kimia dan Farmakologi Bahan Alam*, Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional: viii + 339 hlm.
7. Sawfford S, Berens B, 2000. Effect of fenugreek on breast milk production, *ABM News and Views ; 6(3) : Annual meeting abstracts Sept 11-13*.
8. Wirahardja T dan Mulyono MW, 1985. *Halba Trigonella foenum-graecum L., tumbuhan potensial untuk obat dan industri Farmasi*. Prosiding I Seminar Pembudidayaan Tanaman Obat, Purwokerto, Oktober, p. 295-298.
9. Mhd. Arifin Siregar , 2000. Pemberian asi eksklusif dan faktor-faktor yang mempengaruhinya Artikel , *Bagian Gizi Kesehatan Masyarakat*, t Fakultas Kesehatan Masyarakat , Universitas Sumatera Utara
10. -----, 2005. Laporan Penelitian Gizi dan makanan, 28(2): 43-30.
11. Mardisiswojo S, 1990. *Cabe Puyang, Warisan Nenek Moyang*, Jilid I, Jakarta: PT Karya Wreda, p. 132.
12. Henry, 1988. *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*. Cambridge: Lily M. Perry; The MIT Press, p. 143.
13. Anonim, 2000. *Parameter Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Edisi I, Departemen Kesehatan RI
14. Ciulei I, 1984. *Methodology for Analysis of Vegetable Drugs*, Chemical Industries Branch Division. Industrial Operation UNIDO, Bucharest- - Rumania : 11 - 23

15. J.B. Harbone , 1973. *Phytochemical Methods, Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Toppan Company Limited, Tokyo, Japan.
16. ----, Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan Ri, volume 2
17. WHO, 1993. *Research Guidenlines For Evaluating The Safety and Efficacy Of Herbal Medicines*. Manila Philippnes Lo, C.W. (1985). Human Milk. In : *Nutrition in Pediatrics*, ed Walker WA. Boston: Litle Brown and Company, pp. 10-20
18. Anonim, 1993. Laktagogum . Dalam : *Penapisan Farmakologi. Pengujian Fitokimia dan Pengujian klinik*. Jakarta: Kelompok Kerja Ilmiah Phyto Medika. p.86

### LEMBAR PENGESAHAN

#### Mengetahui

Kepala  
Pusat Biomedis dan Teknologi  
Dasar Kesehatan

(Drs. Ondri Dwi Sampurno MSi. Apt)

#### Menyetujui

Ketua PPI  
Pusat Biomedis dan Teknologi  
Dasar Kesehatan

(DR. Drg. Magdarina Destri A. MSc.)



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

**PERSETUJUAN ETIK (ETHICAL APPROVAL)**

Nomor : KE.01.06/EC/377/2011

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

***"Ramuan Penambah ASI Klabet (Trigonella foenum-graecum L) dan Kelor (Moringa oleifera Lamk) Sebagai Upaya Promotif Kesehatan Ibu Anak"***

yang mengikutsertakan hewan percobaan sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana / Peneliti Utama :

**Dra. Lucie Widowati, Apt., M.Si.**

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

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Jika ada perubahan protokol dan / atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 5 Juni 2011

Ketua  
Komisi Etik Penelitian Kesehatan  
Badan Litbang Kesehatan,

  
Prof. Dr. M. Sudomo

## LAMPIRAN





Anak tikus yang baru lahir



Penimbangan anak tikus



Anak tikus sampai umur 21 hari

GAMBAR PROTOTYPE FORMULA KLABET DAN KELOR 1:1



A. Klabet 1 g + kelor 1 g + dekstri 6 g



B. Klabet 1 g + kelor 1 g + maltodekstrin 6 g



C. Klabet 1 g + kelor 1 g + dekstri 5 g



D. Klabet 1 g + kelor 1 g + maltodekstrin 5 g



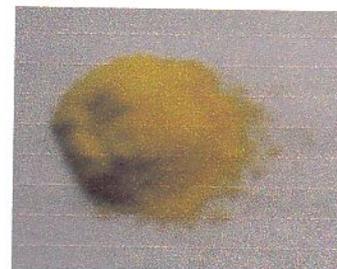
E. Kelor 1 g + dekstrin 3 g



F. Kelor 1 g + maltodekstrin 3 g



G. Klabet 1 g + dekstrin 3 g



H. Klabet 1 g + maltodekstrin 3 g