

Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik Penggunaan Hewan Model**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA****KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 320-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : TERAPI PREVENTIF EKSYTRAK ETANOL DAUN
BELUNTAS (*Pluchea indica less*) TERHADAP KADAR
SOD DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI ILEUM
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI PLUMBUM

PENELITI : NI MADE ARTARI DEWI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 19 Maret 2015
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi Daun Beluntas



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074/156/101.8/2015
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Beluntas**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : OVILIA ZABHITA / 115130100111006
KARINA GRACE D. / 115130100111008
NI MADE ARTARI DEWI / 115130101111006
ANDRI JULIANTO / 115130101111002
TRI CAHYO DIRGAHARIYAWAN / 115130101111005
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman beluntas

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermayophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Asterales
Suku : Asteraceae
Marga : Pluchea
Jenis : *Pluchea indica* (L.) Less
Sinonim : *Baccharis indica* Linn.
Nama Daerah : Beluntas (Indonesia), luntas (Jawa), baluntas (Madura), baluntas, baruntas (Sunda), lamutasa (Makasar), beluntas (Sumatra), lenaboui (Timor), luan yi (China).

Kunci Determinasi : 1b -2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16b-286b-288b-289b-1a-2b-3b-4b-5a-6b-8b-9b-10a

2. Morfologi : Perdu kecil, tumbuh tegak, tinggi bisa mencapai 2 m. Batang berambut halus. Daun bulat telur, hijau muda, panjang 2-9 cm, ujung lancip, letak berseling, berbau khas. Bunga majemuk, bentuk malai, keluar dari ketiak daun, bercabang-cabang, warna putih kekuningan. Buah kecil, keras, warna coklat. Biji coklat keputih-putihan. Perbanyakkan dengan biji atau stek.
3. Nama Simplisia : Pluchae indicae Folium/ Daun Beluntas.
4. Kandungan : Alkaloid, minyak atsiri, saponin, flavanoid, dan polifenol.
5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi)
6. Daftar Pustaka
- Anonim. <http://www.idionline.com/beluntas>, diakses 9 Januari 2010.
 - Anonim. <http://www.iptek.net.id/beluntas>, diakses 21 Oktober 2010.
 - Anonim. <http://www.plantamor.com/beluntas>, diakses 19 Desember 2010.
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/beluntas>, diakses 22 Oktober 2010.
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

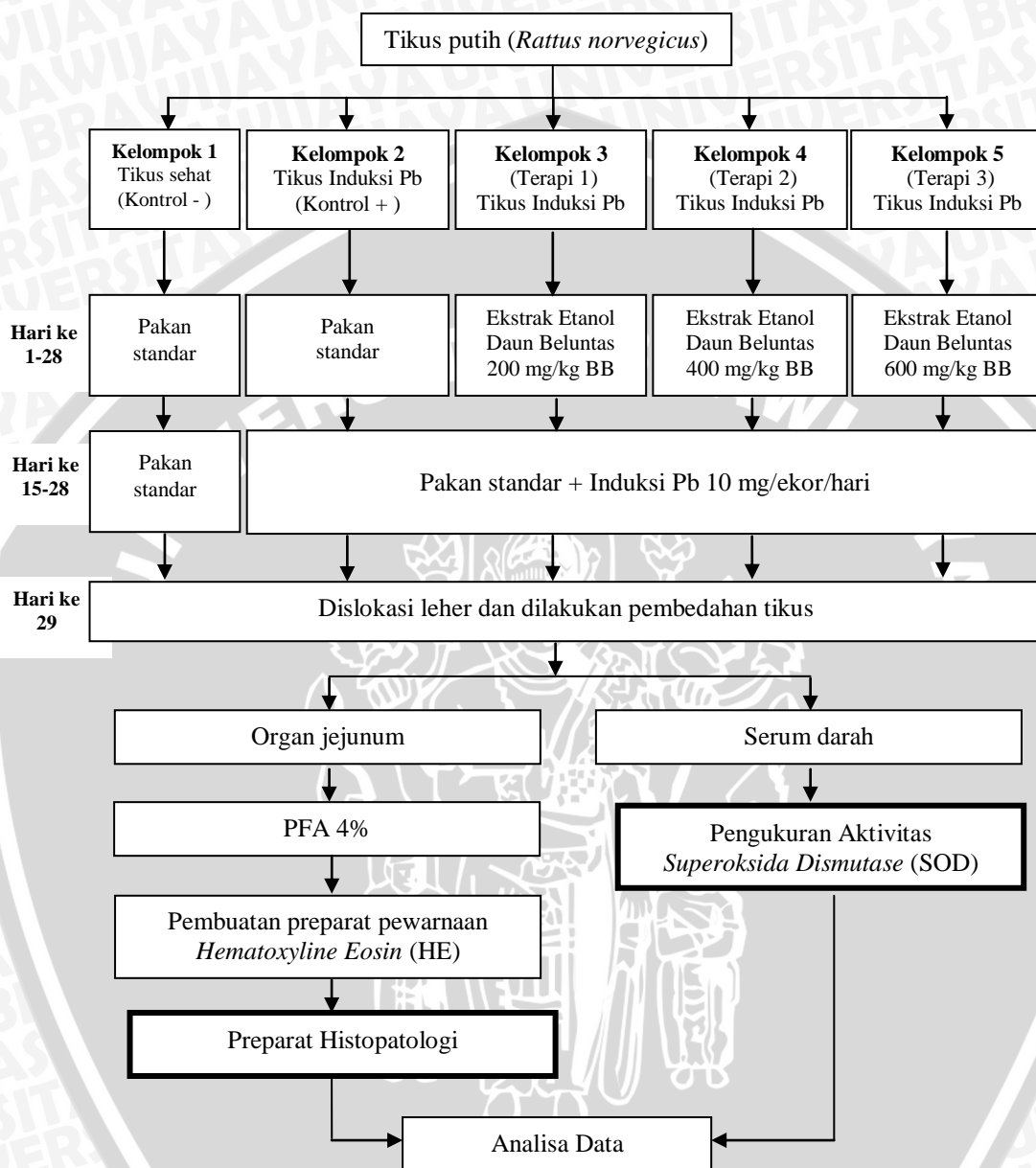
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 11 Maret 2015
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin RM, Apt. M.Kes.
NIP.196111021991031003

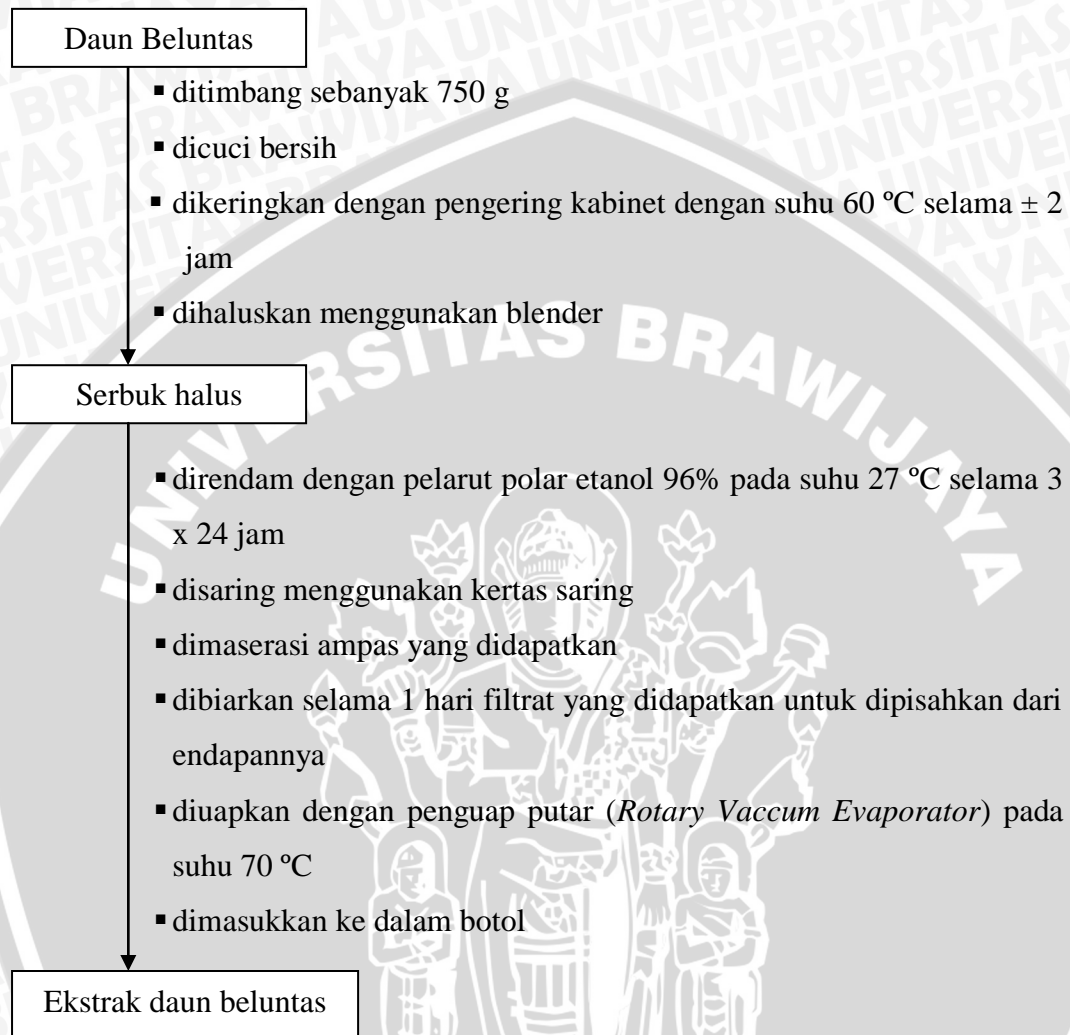


Lampiran 3. Skema Kerja Penelitian



Keterangan :

: Parameter yang diamati

Lampiran 4. Persiapan Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*)

Lampiran 5. Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*)

Perhitungan dosis ekstrak:

- Dari 750 gram serbuk kering daun beluntas, didapatkan sebanyak 23 gram ekstrak etanol daun beluntas.

$$750 \text{ g (serbuk)} \sim 23 \text{ g (ekstrak etanol)}$$

- Pengenceran dengan pelarut aquades : minyak jagung = 1 : 9

$$1 \text{ tikus} = 1 \text{ mL}$$

$$1 \text{ hari} = 4 \text{ ekor tikus}$$

$$1 \text{ hari} = 4 \text{ mL (4x sonde)}$$

- Aquades = $1/9 \times 4 \text{ mL} = 0,44 \text{ mL}$
- Minyak jagung = $8/9 \times 4 \text{ mL} = 3,56 \text{ mL}$

Berat badan tikus putih = 150 gram, sehingga volume ekstrak yang dibutuhkan untuk masing – masing perlakuan dalam sekali pemberian adalah:

1. Terapi 1 (P3)

Dosis pemberian ekstrak daun beluntas dengan dosis 200 mg/kg per ekor tikus adalah:

$$= \text{Dosis P3} \times \text{BB}$$

$$= \frac{200 \text{ mg/kg}}{1000 \text{ g}} \times 150 \text{ g}$$

$$= 30 \text{ mg/ekor}$$

Jadi, untuk 1 hari perlakuan diberikan sebanyak:

$$= \text{Jumlah tikus} \times \text{dosis/tikus}$$

$$= 4 \text{ ekor} \times 30 \text{ mg}$$

$$= 120 \text{ mg}$$

$$= \mathbf{0,12 \text{ g}}$$

2. Terapi 2 (P4)

Dosis pemberian ekstrak daun beluntas dengan dosis 400 mg/kg per ekor tikus adalah:

$$\begin{aligned} &= \text{Dosis P4} \times \text{BB} \\ &= \frac{400 \text{ mg/kg}}{1000 \text{ g}} \times 150 \text{ g} \\ &= 60 \text{ mg/ekor} \end{aligned}$$

Jadi, untuk 1 hari perlakuan diberikan sebanyak:

$$\begin{aligned} &= \text{Jumlah tikus} \times \text{dosis/tikus} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 60 \text{ mg} \\ &= 240 \text{ mg} \\ &= \mathbf{0,24 \text{ g}} \end{aligned}$$

3. Terapi 3 (P5)

Dosis pemberian ekstrak daun beluntas dengan dosis 600 mg/kg per ekor tikus adalah:

$$\begin{aligned} &= \text{Dosis P5} \times \text{BB} \\ &= \frac{600 \text{ mg/kg}}{1000 \text{ g}} \times 150 \text{ g} \\ &= 90 \text{ mg/ekor} \end{aligned}$$

Jadi, untuk 1 hari perlakuan diberikan sebanyak:

$$\begin{aligned} &= \text{Jumlah tikus} \times \text{dosis/tikus} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 90 \text{ mg} \\ &= 360 \text{ mg} \\ &= \mathbf{0,36 \text{ g}} \end{aligned}$$

Ekstrak daun beluntas yang diberikan dilarutkan dalam 1 mL (aquades dan minyak jagung) dengan perbandingan 1 : 9, sehingga volume sekali pemberian adalah 1 mL/ekor/hari. Setiap 1 mL P3 mengandung ekstrak 30 mg/ekor/hari, P4 60 mg/ekor/hari, dan P5 90 mg/ekor/hari.

Lampiran 6. Pemberian Plumbum (Pb)

Plumbum serbuk

- diambil sebanyak 10 mg
- dilarutkan dalam aquades 1 mL
- diambil dengan menggunakan spuit 1 cc
- dipasang selang sonde ke dalam spuit dan selang dimasukkan ke dalam lambung tikus secara perlahan
- dibersihkan alat sonde untuk perlakuan selanjutnya

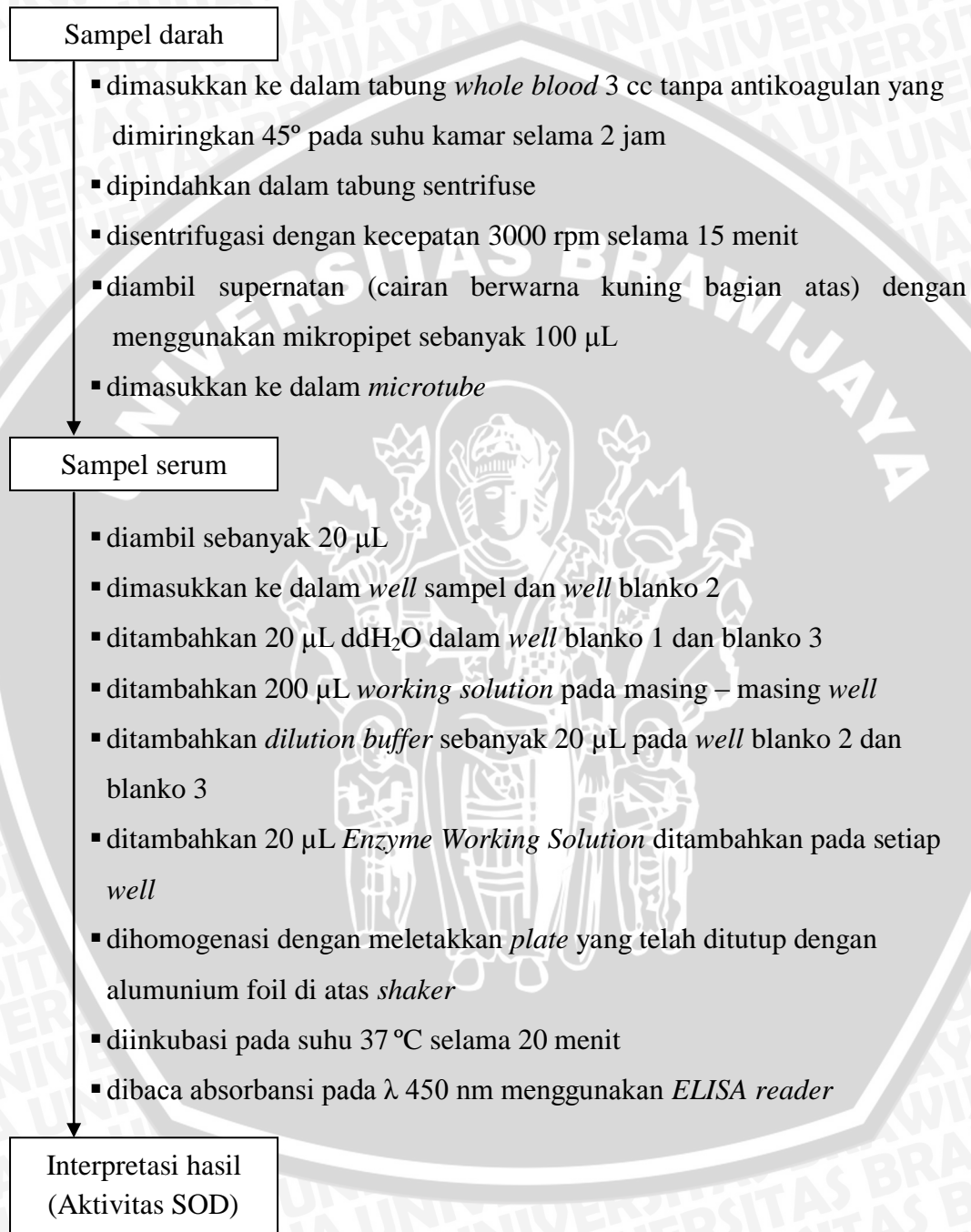
Hasil

Perhitungan volume pemberian Pb:

1 ekor tikus = 10 mg/hari

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Pb yang dibutuhkan} &= 10 \text{ mg} \times \text{jumlah tikus} \\ &= 10 \text{ mg} \times 16 \text{ ekor} \\ &= 160 \text{ mg} \\ &= \mathbf{0,16 \text{ g / hari}}\end{aligned}$$

Pb yang diberikan dilarutkan dalam 1 mL aquades sehingga volume satu kali pemberian adalah 1 mL/ekor/hari.

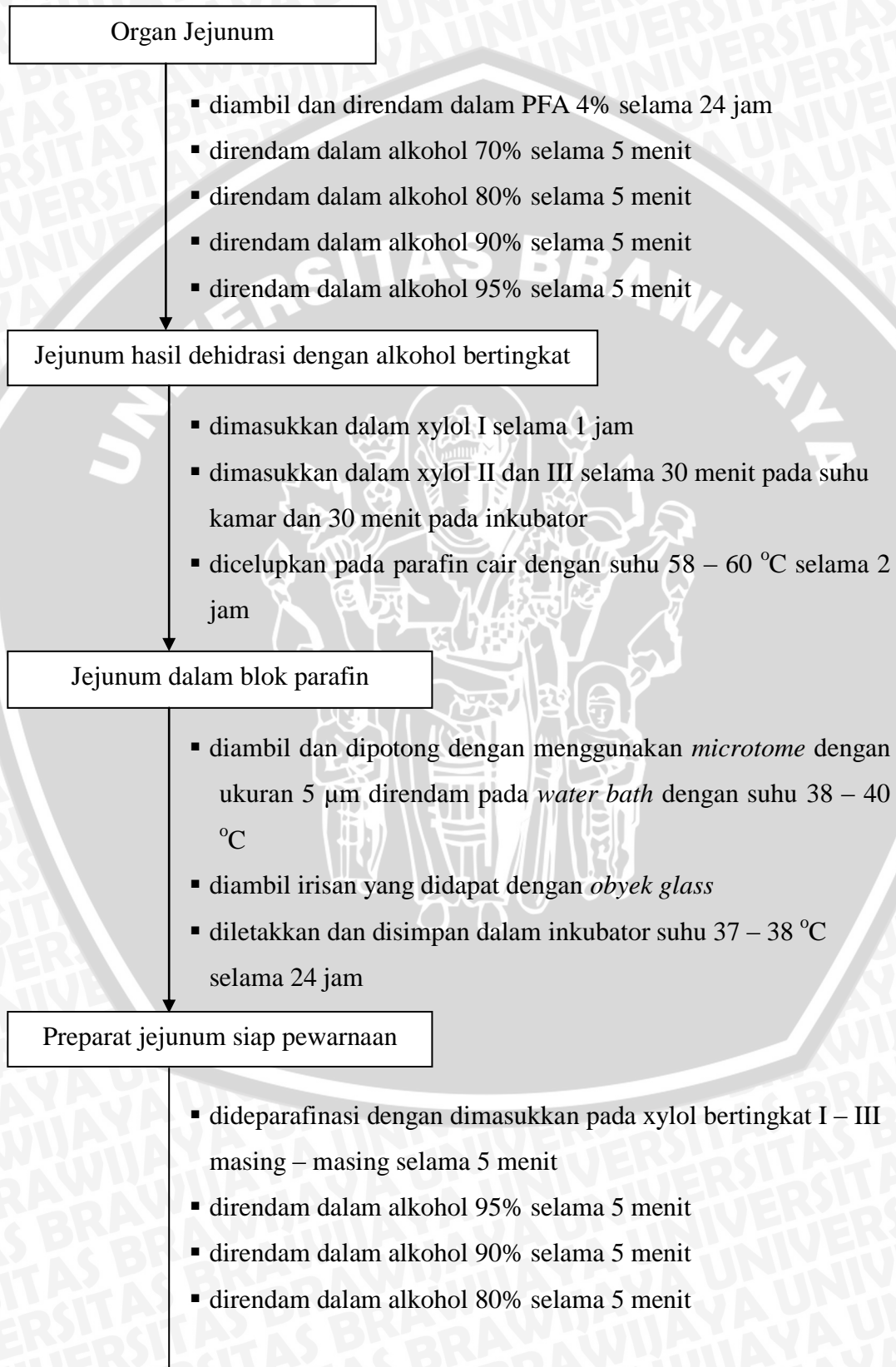
Lampiran 7. Pengukuran Aktivitas *Superoksida Dismutase* (SOD)**Lampiran 7.1** Pengukuran Aktivitas SOD Serum

Lampiran 7.2 Jumlah Larutan Untuk Uji Aktivitas SOD Dalam Tiap Well**Tabel L7.2** Jumlah Larutan Untuk Uji Aktivitas SOD Dalam Tiap Well

	Sampel 1	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3
Sampel	20 μ L	-	20 μ L	-
ddH₂O	-	20 μ L	-	20 μ L
Working Solution	20 μ L	20 μ L	20 μ L	20 μ L
Enzyme Working Solution	20 μ L	20 μ L	-	-
Dilution Buffer	-	-	20 μ L	20 μ L



Lampiran 8. Pembuatan Preparat dan Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE)
Histopatologi Organ Jejunum



- direndam dalam alkohol 70% selama 5 menit
- direndam dalam aquades selama 5 menit

Preparat jejunum

- diwarnai dengan *hematoxyline* selama 10 menit
- dicuci dengan aquades selama 5 menit
- dimasukkan dalam pewarna eosin selama 5 menit
- dicuci dengan aquades selama 5 menit
- dimasukkan dalam alkohol 70% selama 5 menit
- dimasukkan dalam alkohol 80% selama 5 menit
- dimasukkan dalam alkohol 90% selama 5 menit
- dimasukkan dalam alkohol 95% selama 5 menit
- di *clearing* dalam xylol I – II masing – masing selama 3 menit
- dikering anginkan dan ditutup dengan *cover glass*
- di *mounting* dengan menggunakan entellan

Preparat jejunum Pewarnaan HE



Lampiran 9. Hasil Pengukuran Aktivitas *Superoksida Dismutase* (SOD)

No	Kode Sampel	Absorbansi Blanko 1	Absorbansi Blanko 3	Absorbansi Sampel	Absorbansi Blanko 2	Aktivitas SOD (%)	Aktivitas SOD (Unit)	Rata- rata Aktivitas SOD (unit)	Standar devisi
1	Kontrol Negatif	Tikus 1	0.415	0.079	0.143	0.136	97.92	96.65	1.25
2		Tikus 2	0.415	0.079	0.188	0.171	94.94		
3		Tikus 3	0.415	0.079	0.141	0.13	96.73		
4		Tikus 4	0.415	0.079	0.178	0.168	97.02		
5	Kontrol Positif	Tikus 1	0.415	0.079	0.395	0.2	41.96	42.41	4.07
6		Tikus 2	0.415	0.079	0.376	0.168	38.10		
7		Tikus 3	0.415	0.079	0.388	0.192	41.67		
8		Tikus 4	0.415	0.079	0.322	0.147	47.92		
9	Terapi Beluntas dosis 200 mg/kgBB	Tikus 1	0.415	0.079	0.285	0.113	48.81	51.41	2.72
10		Tikus 2	0.415	0.079	0.266	0.115	55.06		
11		Tikus 3	0.415	0.079	0.275	0.107	50.00		
12		Tikus 4	0.415	0.079	0.277	0.115	51.79		
13	Terapi Beluntas dosis 400 mg/kgBB	Tikus 1	0.415	0.079	0.232	0.151	75.89	72.40	4.33
14		Tikus 2	0.415	0.079	0.198	0.116	75.60		
15		Tikus 3	0.415	0.079	0.213	0.117	71.43		
16		Tikus 4	0.415	0.079	0.225	0.113	66.67		
17	Terapi Beluntas dosis 600 mg/kgBB	Tikus 1	0.415	0.079	0.196	0.134	81.54	81.32	1.84
18		Tikus 2	0.415	0.079	0.202	0.138	80.95		
19		Tikus 3	0.415	0.079	0.195	0.14	83.63		
20		Tikus 4	0.415	0.079	0.205	0.135	79.16		

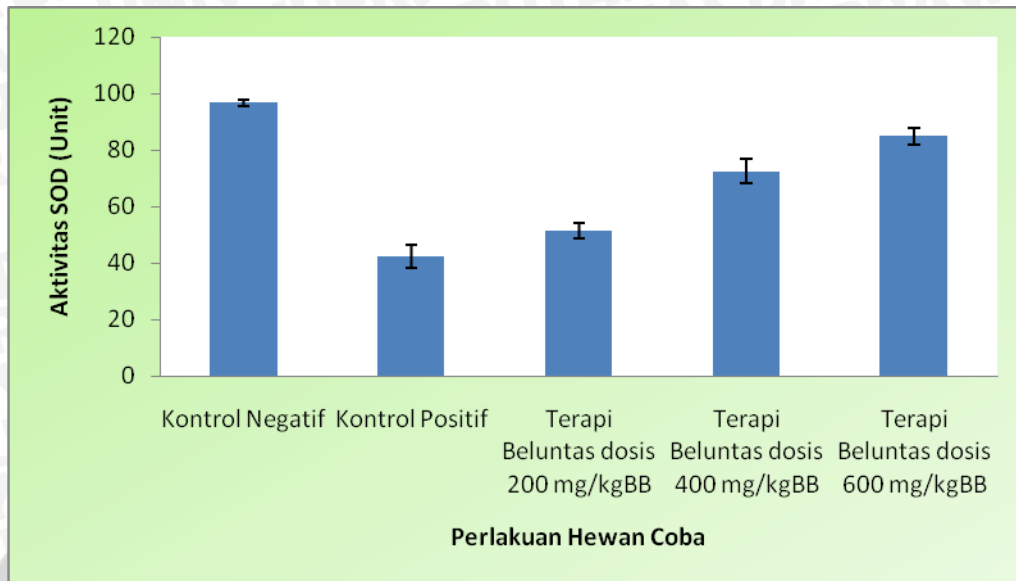
$$\% \text{ Aktivitas SOD} = \frac{(A. \text{ Blanko 1} - A. \text{ Blanko 3}) - (A. \text{ Sampel} - A. \text{ Blanko 2})}{(A. \text{ Blanko 1} - A. \text{ Blanko 3})}$$

$$\text{Aktivitas SOD (unit)} = \% \text{ Aktivitas SOD} / (50 \times 0.02)$$

Keterangan: 50 merupakan persentase penghambatan

0.02 merupakan volume yang digunakan dalam pengujian

No	Perlakuan Hewan Coba	Aktivitas SOD (unit)
1	Kontrol Negatif	96.65 ± 1.25
2	Kontrol Positif	42.41 ± 4.07
3	Terapi Beluntas dosis 200 mg/kgBB	51.41 ± 2.72
4	Terapi Beluntas dosis 400 mg/kgBB	72.40 ± 4.33
5	Terapi Beluntas dosis 600 mg/kgBB	81.32 ± 1.84



Presentasi penurunan dan peningkatan aktivitas SOD pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Plumbum dan diterapi dengan ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica Less*) adalah sebagai berikut.

❖ **Penurunan (%) terhadap K-**

$$\frac{\text{Kelompok kontrol} - \text{kelompok x}}{\text{Kelompok kontrol}} \times 100 \%$$

a. Penurunan K+ terhadap K-

$$= \frac{96,65 - 42,41}{96,65} \times 100 \%$$

$$= 56 \%$$

b. Penurunan K1 terhadap K-

$$= \frac{96,65 - 51,41}{96,65} \times 100 \%$$

$$= 47 \%$$

c. Penurunan K2 terhadap K-

$$= \frac{96,65 - 72,40}{96,65} \times 100 \%$$

$$= 25 \%$$

d. Penurunan K3 terhadap K-

$$\begin{aligned} &= \frac{96,65 - 81,32}{96,65} \times 100 \% \\ &= 16 \% \end{aligned}$$



Lampiran 10. Analisa Statistik Menggunakan SPSS 16

- Uji SPSS Data SOD

Tabel L10.1 Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		SOD
N		20
Normal Parameters ^a	Mean	69.5395
	Std. Deviation	2.09264E1
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156
	Negative	-.126
Kolmogorov-Smirnov Z		.695
Asymp. Sig. (2-tailed)		.719
P > 0.05		
a. Test distribution is Normal.		

Tabel L10.2 Uji Homogenitas

SOD			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.497	4	15	.253

Uji Homogen berdasarkan Levene Statistic

- H_0 = variabel homogen
- H_1 = variabel tidak homogen
- Pada tabel nilai sig = 0,253 > 0,05 berarti H_0 diterima, atau asumsi variabel dependen homogen diterima



Tabel L10.3 Uji One Way ANOVA

Descriptives								
SOD								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	4	96.6525	1.24904	.62452	94.6650	98.6400	94.94	97.92
K+	4	42.4125	4.06965	2.03483	35.9368	48.8882	38.10	47.92
dosis 200	4	51.4150	2.72121	1.36060	47.0850	55.7450	48.81	55.06
dosis 400	4	72.3975	4.32797	2.16398	65.5107	79.2843	66.67	75.89
dosis 600	4	81.3200	1.84273	.92137	78.3878	84.2522	79.16	83.63
Total	20	68.8395	20.41530	4.56500	59.2848	78.3942	38.10	97.92

ANOVA					
SOD					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7775.939	4	1943.985	203.968	.000
Within Groups	142.962	15	9.531		
Total	7918.901	19			

Analisis hasil: Pada output ANOVA terlihat nilai sig = 0,000 = 0% < 5% maka H₀ ditolak atau menerima H₁. Disini diperlukan uji lanjut yaitu menggunakan uji Tukey.

Tabel L10.4 Uji Tukey

SOD						
Tukey HSD						
(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	54.24000*	2.18298	.000	47.4991	60.9809
	Dosis 200	45.23750*	2.18298	.000	38.4966	51.9784
	Dosis 400	24.25500*	2.18298	.000	17.5141	30.9959
	Dosis 600	15.33250*	2.18298	.000	8.5916	22.0734
K+	K-	-54.24000*	2.18298	.000	-60.9809	-47.4991
	Dosis 200	-9.00250*	2.18298	.007	-15.7434	-2.2616
	Dosis 400	-29.98500*	2.18298	.000	-36.7259	-23.2441
	Dosis 600	-38.90750*	2.18298	.000	-45.6484	-32.1666

Dosis 200	K-	-45.23750*	2.18298	.000	-51.9784	-38.4966
	K+	9.00250*	2.18298	.007	2.2616	15.7434
	Dosis 400	-20.98250*	2.18298	.000	-27.7234	-14.2416
	Dosis 600	-29.90500*	2.18298	.000	-36.6459	-23.1641
Dosis 400	K-	-24.25500*	2.18298	.000	-30.9959	-17.5141
	K+	29.98500*	2.18298	.000	23.2441	36.7259
	Dosis 200	20.98250*	2.18298	.000	14.2416	27.7234
	Dosis 600	-8.92250*	2.18298	.007	-15.6634	-2.1816
Dosis 600	K-	-15.33250*	2.18298	.000	-22.0734	-8.5916
	K+	38.90750*	2.18298	.000	32.1666	45.6484
	Dosis 200	29.90500*	2.18298	.000	23.1641	36.6459
	Dosis 400	8.92250*	2.18298	.007	2.1816	15.6634

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

Pada uji Tukey nilai sig = 0,000 < 0,05 artinya pada dosis terapi ekstrak daun beluntas tersebut berbeda nyata terhadap hasil peningkatan SOD.

SOD

Tukey HSD

dosis	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K+	4	42.4125				
dosis 200	4		51.4150			
dosis 400	4			72.3975		
dosis 600	4				81.3200	
K-	4					96.6525
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 11. Hasil Uji LCMS Daun Beluntas

