



**UJI TOKSISITAS SUB KRONIK EKSTRAK DAUN INGGU (*Ruta Angustifolis L.*)
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN, JUMLAH ERITROSIT, DAN
HEMATOKRIT PADA TIKUS PUTIH JANTAN**

***Subchronic Toxicity Test of Guinea Leaf Ekstrak (*Ruta Angustifolia L.*) On
Hemoglobin Levels, Erythrocyte Count, and Hematocrit White Rats***

Piska Trimulti Aulia^{1*}, Elisma¹, Diah Rizki Gusti³

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas
Jambi

²Program Studi Kimia, Jurusan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, FST,
Universitas Jambi

Jl. Letjend Soeprono No. 33 Telanaipura Jambi 36122

E-mail*: piska@unja.ac.id

Submitted: 16 September 2021

Reviewed: 20 Juni 2022

Accepted: 20 Juli 2022

ABSTRAK

Tumbuhan yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional adalah daun inggu (*Ruta angustifolia (L.)*). Tanaman ini dipercayai dan digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat untuk berbagai penyakit. Penelitian ini bertujuan : 1) Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun inggu *Ruta angustifolia (L.)* terhadap parameter hematologi bila diberikan secara subkronik, 2) Untuk mengetahui keamanan penggunaan ekstrak daun inggu *Ruta angustifolia (L.)* yang diberikan secara subkronik. Penelitian ini terdiri dari empat tahapan kegiatan, yaitu pengambilan sampel, pembuatan serbuk simplisia daun inggu, pembuatan ekstrak daun inggu, metode uji ekstrak, dan uji toksisitas subkronik daun inggu. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Inggus (*Ruta angustifolia (L.)*). Efek toksik sangat bervariasi dalam mempengaruhi sifat organ sasaran maupun organisme kerja. Obat banyak dijumpai pada organ hati, ginjal, dan darah. Seluruh bagian tumbuhan inggu dapat digunakan sebagai obat bahan alam baik dalam bentuk segar maupun dalam bentuk kering. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kadar hemoglobin, jumlah eritrosit, dan kadar hematokrit pada tikus yang diberi ekstrak daun inggu dengan lama pemberian 30 hari (W_{30}) berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$).

Kata kunci: Uji Toksisitas Subkronik, Ekstrak, Daun Inggus, Hemoglobin, Eritrosit, Hematokrit

ABSTRACT

Plants used by the community as traditional medicine are inggu leaves (*Ruta angustifolia (L.)*). This plant is believed and used by the people of Indonesia as a cure for various diseases. This study aims to: 1) To find out the effect of giving leaf extract inggu *Ruta angustifolia (L.)* to hematological parameters when given subchronically, 2) To know the safety of the use of leaf extract inggu *Ruta angustifolia (L.)* given subchronically. This research consists of four stages of activities, namely sampling, making simplisia powder of inggu leaves, making inggu leaf extract, extract test method, and subchronic toxicity test of inggu leaves. The material used in this study is Daun Inggus (*Ruta angustifolia (L.)*). Toxic effects vary greatly in influencing the nature of the target organ as well as the working organism. Drugs are found in liver, kidney, and blood organs. All parts of plants can be used as natural medicine both in fresh form and in dry form. The results of this study showed that hemoglobin levels, the amount of erythrocytes, and hematocrit levels in mice given leaf extract with a duration of administration of 30 days (W) had an unreal effect ($p > 0.05$).

Keywords: Subchronic Toxicity Test, Extracts, Inggus Leaves, Hemoglobin, Erythrocytes, Hematocrit

PENDAHULUAN

Sebagai suatu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, potensi data tumbuhan merupakan suatu aset dengan nilai yang tinggi sehingga perlu adanya upaya pengolahan dan pemanfaatan yang baik. Hasil survei tim Ekspedisi Biota Medica tahun 1998 di Taman Nasional Bukit Tigapuluh dan Cagar Alam Biosfir Bukit dua belas yang terletak diwilayah Provinsi Riau dan Jambi, diketahui 45 ramuan dengan 195 spesies tumbuhan obat yang telah digunakan masyarakat Suku Talang Mamak dan 72 jenis ramuan dengan 116 spesies digunakan oleh masyarakat Suku Anak Dalam (Depkes RI, 2007).

Akhir-akhir ini penelitian tentang jenis-jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat gencar dilakukan. Melonjaknya harga obat sintesis dan efek sampingnya bagi kesehatan meningkatkan kembali penggunaan obat tradisional oleh masyarakat dengan memanfaatkan sumber daya yang ada disekitar. Sebagai langkah awal yang sangat membantu untuk mengetahui suatu tumbuhan berkhasiat obat adalah pengetahuan masyarakat secara turun –temurun (Kuntorini, 2005).Salah satu tumbuhan yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional adalah daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.)). Tanaman ini dipercayai dan digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat untuk berbagai macam penyakit. Secara tradisional penyakit yang dipercayai dapat diatasi dengan daun inggu ini meliputi sakit gigi, demam, kejang pada anak, nyeri ulu hati, merangsang haid, sakit kepala dan bisul (Noer et al., 2016). Bagian utama yang paling banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah daunnya. Daun inggu *Ruta angustifolia* (L.) mempunyai kandungan kimia antara lain flavonoid, tanin, steroid, kuinon dan saponin (Noer et al., 2017).Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa daun inggu *Ruta angustifolia* (L.) mempunyai aktivitas sebagai analgetik (Mansur, 2019). Kemudian fraksi n-heksan, fraksi etil, dan fraksi sisa daun inggu *Ruta angustifolia* (L.) mempunyai aktivitas sebagai antidiabetes dan antihiperkolesterol terhadap mencit. antihiperkolesterol yang diinduksikan dengan telur puyuh. Fraksi sisa dengan dosis 300 mg/kgBB mempunyai aktivitas antihiperkolesterol paling baik mendekati kontrol fositif yaitu 47,13%. dan aktidiabetes diinduksikan dengan fraksi n-heksan dengan dosis 300 mg/kgBB memiliki aktivitas antidiabetes paling baik dengan penurunan kadar gula darah mendekati kontrol positif yaitu 40,71% (Aryeni., 2019;Hasanah., 2019).

Salah satu parameter uji toksik pada darah adalah dengan melihat jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan hematokrit pada darah. Dalam pengujiannya sebagai obat herbal, perlu diketahui keamanannya agar tidak menimbulkan efek berbahaya yang tidak diinginkan. Namun, saat ini masih sedikit data yang mendukung informasi keamanan mengenai tanaman inggu. Sehubungan dengan pernyataan tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk menguji toksisitas subkronik ekstrak daun inggu *Ruta angustifolia* (L.) terhadap parameter hematologi seperti jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit pada tikus putih jantan.

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Bahan yang dipakai pada penelitian ini adalah daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.)) yang diperoleh dari Kabupaten Kerinci sebanyak 996 gr. dan telah diidentifikasi.Reagensia yang digunakan untuk ekstraksi daun inggu adalah etanol 70%. Reagen yang digunakan untuk penentuan karakteristik ekstrak adalah asam klorida (HCL), kloroform, aquades, etanol 90 %, serbuk Mg, HCl, FeCl₃, preaksi Lieberman- Bouchard (CH₃CO₂O + H₂SO₄), NaoH, Preaksi Dragendorf, Preaksi Mayer, Na-CMC, Alkohol 70%, Reagen Hayem (Na₂SO₂ + NaCl + HgCl₂).

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah grinder, *rotary evaporator*, timbangan hewan, timbangan analitik, Lumpang, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, krus porselin, corong buchner, plat tetes, mortal dan pestle, beaker glas, desikator, waterbath, tabung menampung sampel darah (K₂EDTA), haemometer, pipet hemoglobin, Tabung pengencer Haemometer, pipet toma (Eritrosit), kamar hitung improved neubeur, deck glass, sentrifuge hemtokrit, hematokrit kapiler, jarum oral, dan mikroskop.

2. Metode

Hewan Percobaan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dengan berat badan 200 – 250 gram sebanyak 36 ekor dan umur 2-3 bulan. Hewan uji di aklimatisasi selama 7 hari dengan pemberian makan dan minum yang cukup. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat, selama waktu

aklimatisasi berat badan naik atau menurun tidak lebih dari 10% serta menunjukkan langkah laku normal.

Preparasi sampel

Bahan yang dipakai pada penelitian ini adalah daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.)) yang diperoleh dari Kabupaten Kerinci sebanyak 996 gr dan telah diidentifikasi. Sampel diambil secara acak (pemetikan) dalam keadaan segar. Sampel diambil secara acak terdiri dari daun muda sampai daun tua yang diambil menggunakan gunting. Bagian yang digunting yaitu tangkai dan daun yang kemudian dimasukkan kedalam wadah kemudian dipisahkan daunnya dari tangkai.

Pembuatan Serbuk Simplisia

Pembuatan serbuk simplisia merupakan proses awal pembuatan ekstrak. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu. Derajat kehalusan serbuk simplisia terdiri dari serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus. Kecuali dinyatakan lain, derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan serbuk simplisia halus seperti tertera pada pengayak dan derajat halus serbuk (Kemenkes RI, 2017).

Pembuatan Ekstrak Daun Ingg

Pembuatan ekstrak daun inggu dilakukan dimana ekstrak dibuat dari serbuk kering simplisia dengan cara maserasi menggunakan pelarut yaitu etanol 70%. Ekstrak dibuat dengan cara memasukkan satu bagian kedalam maserator, lalu ditambahkan pelarut 10 bagian pelarut. Setelah itu direndam selama 6 jam pertama sambil diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat yang didapat lalu dipisahkan dengan filtrasi dengan bantuan corong untuk mempercepat penyaringan. Proses penyaringan diulang sekurang-kurangnya dua kali dengan jumlah dan jenis pelarut yang sama. Lalu maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum *Rotary Evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak etanol yang diperoleh dilakukan perhitungan rendemen dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Berat Ekstrak cair (g)}}{\text{Berat simplisia kering (g)}} \times 100\%$$

Karakterisasi Ekstrak

Penentuan Parameter Non Spesifik

1. Susut pengeringan

ekstrak sebanyak 1 gram krus porselen bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Ekstrak diratakan hingga membentuk lapisan dan dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap, kemudian tutupnya dibuka dan krus dibiarkan dalam keadaan tertutup dan mendingin dalam desikator hingga suhu kamar, kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh untuk menghitung persentase susut pengeringannya (Depkes RI, 2000).

$$\text{susut pengeringan (\%)} = \frac{(b - a) - (c - a)}{b - a} \times 100\%$$

2. Kadar Abu.

Ekstrak 2 g ke dalam krus yang telah ditara, kemudian dipijarkan perlahan-lahan. Kemudian suhu dinaikkan secara bertahap hingga 600°C sampai bebas karbon, selanjutnya didinginkan dalam desikator, serta timbang berat abu. Kadar abu dihitung dalam persen terhadap berat sampel awal (Depkes RI, 2000). Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan tambahkan air panas, saring dengan kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat kedalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap dan ditimbang.

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{c - a}{b - a} \times 100\%$$

Penentuan Parameter Spesifik

1. Sifat Organoleptis.

Sifat organoleptis menurut Depkes RI (2000) meliputi bau, bentuk, rasa dan warna. Adapun batasan – batasan sifat organoleptis ini adalah bau khas ekstrak daun inggu , bentuk ekstrak kental,

rasa yang khas dan warna ekstrak hijau kehitaman (Irsyad, 2013).

2. Uji Kualitatif Flavonoid .

Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambah etanol 90%. Campuran dikocok dan dipanaskan dalam penangas selama 10 menit, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 0,2 g serbuk Mg dan 3 tetes HCL pekat, campuran dikocok dan dibiarkan memisah. Hasil fositif flavonoid jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan etanol.

3. Uji Kualitatif Fenolik.

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan beberapa tetes $FeCl_3$ sebanyak 2 tetes, terbentuk warna hitam kehijauan menandakan adanya fenolik.

4. Uji Kualitatif Saponin.

Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan dikocok kuat selama 10 menit. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N memberikan indikasi adanya saponin.

5. Uji Kualitatif Steroid.

Sejumlah sampel digerus dalam kloroform. Lalu filtratnya diambil dan dimasukkan kedalam plat tetes dan pelarutnya dibiarkan menguap. Larutan uji kemudian ditambahkan pereaksi Lieberman – Bouchard yang terdiri dari 2-3 tetes asam asetat anhidrat dan diaduk sampel semua residu menjadi larut, kemudian tambahkan 1-2 tetes asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid.

6. Uji Kualitatif Kuinon.

Sejumlah sampel dikocok dengan air panas lalu dididihkan selama 5 menit, lalu disaring kedalam filtrat ditambahkan NaOH 1%. Suatu zat yang mengandung kuinon akan memberikan hasil positif berupa larutan berwarna kuning bila ditambahkan dengan NaOH.

7. Uji Kualitatif Alkaloid

Sejumlah 0,5 g ekstrak dilarutkan dengan 5 ml asam klorida 2N. Kemudian larutan dibagi menjadi dua bagian dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan preaksi dragendorff 3 tetes, tabung kedua ditambahkan preaksi mayer 3 tetes. Terbenruknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid.

8. Pemeriksaan tanin.

Sejumlah 1 gram ekstrak ditambahkan 10 mL aquadest dididihkan selama 15 menit. Filtratnya disaring dan direaksikan dengan 1-2 tetes $FeCl_3$. Hasil dinyatakan positif jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menghasilkan warna hijau violet.

Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan empat perlakuan (p_0 , p_1 , p_2 dan p_3) 4 X 9 dan pengelompokan dilakukan secara acak/random.

Penentuan Dosis Ekstrak

Dosis daun ingguyang digunakan 0 mg/kg BB, 150 mg/kg BB, 300 mg/kg dan 600 mg/kg BB ekstrak daun inggu

Pembuatan Larutan Uji

Sediaan uji dibuat dengan mensuspensikan ekstrak ke dalam Na CMC 0,5% sesuai dengan dosis yang telah ditentukan yaitu dengan dosis 150mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 600 mg/kg BB. Na CMC ditimbang sebanyak 0,5 g ditaburkan diatas air panas 10 ml yang berada dalam lumpang. Kemudian dibiarkan selama 15 menit sampai mengembang. Na CMC yang sudah mengembang digerus hingga homogen. Setelah itu dimasukkan ekstrak yang sudah ditimbang sesuai dengan dosis yang direncanakan yaitu 150 mg, 300 mg, dan 600 mg sambil digerus homogen. Kemudian ad-kan sampai 100 ml. Larutan uji siap diberikan ke hewan percobaan.

Pengelompokan Hewan Uji

Pengelompokan didasarkan pada bobot badan hewan uji. Pada kelompok kontrol (K) hewan uji hanya diberikan pensuspensi Na CMC 0,5%. Adapun perlakuan tersebut adalah:

K : 0 mg/kg BB ekstrak daun inggu

P_1 : 150 mg/kg BB ekstrak daun inggu

P_2 : 300 mg/kg BB ekstrak daun inggu

P₃ : 600 mg/kg BB ekstrak daun inggu

Pengujian Hewan Uji

Hewan percobaan dikelompokkan kedalam empat perlakuan dan masing-masing perlakuan akan menggunakan 9 ekor tikus. Ekstrak diberikan kepada tikus secara peroral satu kali sehari dengan volume pemberian 1% dari berat badan dibeikan satu kali sehari. Perlakuan dilakukan selama 30 hari berturut-turut, pada hari ke-10 dan 30 darah tikus diambil dengan memotong ekor tikus. Sebelum dipotong, ekor tikus dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian dipotong kira-kira 5 mm dari bagian ujung. Dari bagian pangkal ekor diurut perlahan hingga darah keluar sebanyak \pm 1,5 ml dan ditampung dengan tabung K₂EDTA kemudian ditentukan parameter hematologi.

Uji Toksisitas Sukronik Ekstrak Daun Inggu

1. Parameter kadar hemoglobin

dilakukan berdasarkan metode Sahli, dengan alat Haemometer. Masukkan 5 tetes HCl 0,1 N ke dalam tabung pengencer hemometer. Darah diambil dengan pipet hemoglobin sampai 20 μ m, masukkan darah kedalam dasar tabung pengencer yang berisi HCl. Angkat pipet sedikit, HCl jernih dihisap sebanyak 2 atau 3 kali untuk membersihkan darah yang masih tinggal dalam pipet. Campurkan isi tabung supaya darah dan asam bersenyawa sampai terbentuk warna coklat tua. Tambahkan air setetes demi setetes, setiap penambahan air diaduk dengan batang pengaduk yang tersedia, persamaan warna campuran dan batang standar harus dicapai dalam waktu 3-5 menit saat darah dan HCl dicampur. Pada saat menyamakan warna, tabung diputar sedemikian rupa hingga garis bagi tidak terlihat. Baca kadar hemoglobin dengan gram/dl darah (Gandasoebrata, 1999).

2. Parameter Jumlah Eritrosit

Darah diambil 0,5 skala pada pipet toma (pipet eritrosit), kemudian regensia hayem (Natrium Sulfat 5 gram, NaCl 1 gram, HgCl 0,5 gram, dan aquades ad 200 ml, dan disaring) diambil sampai angka 101. Kemudian dicampur dengan menggoyangkan pipet hingga rata. Setelah itu dibuang larutan tersebut 3 tetes, kemudian tetesan selanjutnya diteteskan pada bagian tengah atas dan bawah kamar hitung improved neubeur. Tutup kamar hitung improved neubeur dengan menggunakan deck glass. Biarkan selama 5 menit diatas kamar hitung, setelah itu diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali, hitung jumlah eritrosit pada bagian kotak yang lebih kecil dari arah A, lalu ke B, lanjut ke C kemudian dan terakhir E. Setiap eritrosit dihitung dengan menggunakan *Laboratory Counter* untuk menghindari kesalahan perhitungan.

Perhitungan Eritrosit

Pengenceran dalam pipet eritrosit ialah 200 kali, tinggi kamar hitung 1/10 mm, sedangkan eritrosit dihitung dalam $5 \times 10 \times 200 = 10.000$ (Gandasoebrata, 1999).

Rumus perhitungan jumlah eritrosit:

$$\sum \text{Eritrosit/mm}^3 = \sum \text{Eritrosit dalam 5 kamar} \times 10.000$$

3. Parameter Jumlah Hematokrit

Darah diambil dengan menggunakan hematokrit kapiler sebanyak $\frac{3}{4}$ dari kapiler tersebut. Setelah itu bagian bawah ditutup dengan parafin. Lalu dimasukkan kedalam sentrifuge dengan bagian yang tertutup mengarah keluar selama 30 menit dengan kecepatan 4000 rpm (Arief, 2015). Hasil dibaca dengan memperhatikan:

- Warna plasma diatas yang warna kuning, tebalnya lapisan putih diatas sel-sel merah yang tersusun dari leukosit dan trombosit (*Buffy coat*).
- Volume sel darah merah.

3. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian sesuai dengan rancangan percobaan dianalisis dengan menggunakan uji statistik *one way ANOVA* dan *paired sample T-Test* menggunakan program SPSS 20.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Daun Inggu

Ekstraksi daun inggu menggunakan metode maserasi. Maserasi ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah botol kaca gelap yang tertutup rapat pada suhu kamar. metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Hasil maserasi daun inggu diperoleh ekstrak kental sebanyak 501 gr dan

rendemen ekstrak daun inggu sebanyak 69,97%.

Tabel 1. Karakteristik Fisik Parameter Non Spesifik Daun Ingg

Sampel	Rata-Rata (%)		
	Kadar Abu	Susut Pengerinan	Standar Parameter
Ekstrak Ingg	12,04%	30,76%	Susut pengerinan $\leq 10\%$ Kadar abu $\leq 10\%$

Pada penelitian ini susut pengerinan ekstrak daun inggu sebesar 30,76%. Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2008) susut pengerinan ekstrak secara umum tidak lebih dari 10%. Selanjutnya kadar abu ekstrak daun inggu diperoleh sebesar 12,04%. Susut pengerinan dilakukan untuk mengetahui standar mutu dari ekstrak. Apabila nilai susut pengerinan besar, maka kandungan air didalam ekstrak juga banyak sehingga mempengaruhi konsentrasi dosis yang dihasilkan. Semakin kecil kandungan air pada ekstrak daun inggu maka tidak akan mudah ditumbuhi oleh jamur dan organisme lainnya yang akan dapat menurunkan aktivitas baik dari biologi maupun farmakologi selama dalam masa penyimpanan maupun dalam penggunaan sehari-hari. Besarnya kadar abu total ekstrak daun inggu menunjukkan bahwa ekstrak yang digunakan banyak mengandung mineral baik internal maupun eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuk menjadi ekstrak (Depker RI, 2000).

Tabel 2. Karakteristik Fisik Parameter Spesifik Daun Ingg

Parameter	Hasil
Identitas Ekstrak	
Nama Ekstrak	Ekstrak Daun Ingg
Nama Latin	<i>Ruta angustifolia (L) pers</i>
Bagian Tanaman yang digunakan	Daun
Nama Indonesia Tanaman	Ingg
Organoleptis Ekstrak	
Bentuk	Ekstrak Kental
Warna	Hijau Kehitaman
Rasa	Sepat
Bau	Bau Khas

Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak daun inggu dengan nama latin *Ruta angustifolia (L) Kunth*. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun inggu. Di Indonesia biasanya dikenal dengan tanaman daun inggu. Sifat organoleptis yang diamati secara visual pada penelitian ini ekstrak berupa ekstrak kental dengan warn hijau kehitaman, rasa pahit dan bau khas.

Tabel 3. Metabolit Sekunder

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Ket.
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl Pekat	Terbentuk warna merah jingga	Positif
Alkaloid	Mayer	Terbentuk merah jingga	Negatif
	Dragendorff	Terbentuk warna coklat	Negatif
Saponin	Aquades + HCl 2N	Terbentuk busa	Positif
Steroid	Preaksi Libermen	Terbentuk warna hijau	Positif
	Burchard		
Tanin	FeCl ₃	Terbentuk hijau kehitaman	Positif
Fenolik	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman	Positif

Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan diketahui bahwa daun inggu mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, steroid, tanin dan fenolik. Senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun inggu ini dapat dimanfaatkan dalam pengobatan seperti antidiabetes dan antihiperkolesterol

Aklimatisasi Tikus

Sebelum melakukan perlakuan, terlebih dahulu tikus diaklimatisasi selama 7 hari dengan cara ditempatkan pada sebuah kandang kelompok yang berupa bak plastik. Selama diaklimatisasi tikus

diberi makan pellet dan minum. Tujuan aklimatisasi adalah untuk penyesuaian hewan percobaan terhadap perubahan iklim dari lingkungan sekitarnya. Pada sebelum dan sesudah aklimatisasi terlebih dahulu dilakukan penimbangan berat badan untuk mengetahui apakah tikus mengalami stress atau tidak. Tikus dalam kondisi stres akan mempengaruhi dari penambahan berat badan pada tikus. Pada hasil penelitian mengalami kenaikan berat badan tidak lebih dari 10% dari berat badan tikus sebelum aklimatisasi, ini berarti bahwa tikus yang digunakan pada saat pengujian tidak mengalami stres karena tidak terdapat adanya penurunan berat badan pada tikus.

Tabel 4. Kadar Hemoglobin Tikus yang diberi Ekstrak Daun Inggu

Kelompok	Rata-rata Hemoglobin (g/dL)		Normal
	W ₁₀	W ₃₀	
K	11,60	12,00	11,I g/dL- 18 g/dL
P ₁	11,72	11,90	
P ₂	12,00	12,00	
P ₃	12,10	11,80	
Rata-rata ± SEM	11,85 ± 0,11	11,92 ± 0,07	

Ket : K = Kontrol, P₁ = dosis 150 mg/kg BB, P₂ = dosis 300 mg/kg BB, P₃ = dosis 600 mg/kg BB

Hasil kolerasi antara kedua variabel menunjukkan bahwa kolerai antara lama pemberian 10 hari (W₁₀) dan lama pemberian 30 hari (W₃₀) perpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar hemoglobin tikus. Nilai t hitung pada uji sampel berpasangan adalah sebesar -0,491 dengan sig 0,630 ($P > 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa Ho diterima., artinya tidak tidak berpengaruh nyata antara perlakuan terhadap kadar hemoglobin. Selain itu, rata-rata kadar hemoglobin tidak berpengaruh nyata terhadap variasi dosis daun inggu yang diberikan, sehingga kadar hemoglobin yang dihasilkan masih dalam rentang normal. Bila dibandingkan dengan kadar hemoglobin normal tikus maka pada semua dosis termasuk kontrol dan semua perlakuan masih dalam kisaran normal, sehingga bisa dinyatakan bahwa pemberian ekstrak daun inggu tidak mempengaruhi kadar hemoglobin normalnya.

Tabel 5. Kadar Eritrosit Tikus yang diberi Ekstrak Daun Inggu

Kelompok	Rata-rata Hemoglobin (g/dL)		Normal
	W ₁₀	W ₃₀	
K	4,59	5,12	5,40± 0,32 x 10 ⁶ /µl
P ₁	4,98	4,75	
P ₂	4,94	4,95	
P ₃	4,87	5,08	
Rata-rata ± SEM	4,84 ± 0,07	4,97 ± 0,06	

Ket : K = Kontrol, P₁ = dosis 150 mg/kg BB, P₂ = dosis 300 mg/kg BB, P₃ = dosis 600 mg/kg BB

Hasil analisis kolerasi antara kedua variabel menunjukkan bahwa kolerai antara lama pemberian 10 hari (W₁₀) dan lama pemberian 30 hari (W₃₀) perpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap jumlah eritrosit tikus. Nilai t hitung pada uji sampel berpasangan adalah sebesar -1,223 dengan sig 0,240 ($P > 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa Ho diterima., artinya tidak tidak berpengaruh nyata antara perlakuan terhadap kadar eritrosit. Selain itu, rata-rata kadar eritrosit tidak berpengaruh nyata terhadap variasi dosis daun inggu yang diberikan, sehingga kadar eritrosit yang dihasilkan masih dalam rentang normal. Bila dibandingkan dengan kadar eritrosit normal tikus maka pada semua dosis termasuk kontrol dan semua perlakuan masih dalam kisaran normal, sehingga bisa dinyatakan bahwa pemberian ekstrak daun inggu tidak mempengaruhi kadar hemoglobin normalnya.

Tabel 6. Kadar Hematokrit Tikus yang diberi Ekstrak Daun Inggu

Kelompok	Rata-rata Hemoglobin (g/dL)		Normal
	W ₁₀	W ₃₀	
K	39,5	40	
P ₁	40,5	39,2	
P ₂	39	41,2	
P ₃	40	40	35,5 % - 70%
Rata-rata ± SEM	39,75 ± 0,30	40,1 ± 0,30	

Ket : K = Kontrol, P₁ = dosis 150 mg/kg BB, P₂ = dosis 300 mg/kg BB, P₃ = dosis 600 mg/kg BB

Hasil kolerasi antara kedua variabel menunjukkan bahwa kolerai antara lama pemberian 10 hari (W₁₀) dan lama pemberian 30 hari (W₃₀) berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap kadar hematokrit tikus. Nilai t hitung pada uji sampel berpasangan adalah sebesar -0,752 dengan sig 0,464 ($P > 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa Ho diterima., artinya tidak tidak berpengaruh nyata antara perlakuan terhadap kadar hematokrit. Selain itu, rata-rata kadar hematokrit tidak berpengaruh nyata terhadap variasi dosis daun inggu yang diberikan, sehingga kadar hematokrit yang dihasilkan masih dalam rentang normal. Bila dibandingkan dengan kadar hematokrit normal tikus maka pada semua dosis termasuk kontrol dan semua perlakuan masih dalam kisaran normal, sehingga bisa dinyatakan bahwa pemberian ekstrak daun inggu tidak mempengaruhi kadar hematokrit normalnya.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun inggu dengan dosis 150 mg/kg BB sampai dosis 600 mg/kg BB tidak mempengaruhi dan tidak bersifat toksik secara subkronik selama 30 hari terhadap kadar Hemoglobin, jumlah eritrosit dan Hematokrit pada tikus putih berada rentang normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2008. *Farmakope herbal Edisi 1*. Jakarta : Ditjen POMJakarta
- Aryeni, H. 2019. *Efek Anti Diabetes Fraksi n-heksan, Etil Asetat, dan Sisa Daun Inggu Ruta angustifolia (L.) Terhadap Mencit Jantan Yang diinduksi Aloksa*. Jambi : Universitas Jambi.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter standar umum ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *Kebijakan Obat Tradisional Nasional Tahun 2007*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gandasoebrata. R. 1999. *Penuntun Laboratorium Klinik Edisi 10*. Jakarta : Dian Rakyat.
- Hasanah, M. 2019. Uji Aktivitas Uji Hiperkolesterol Fraksi n-heksan, Etil Asetat, dan Sisa Daun Inggu *Ruta angustifolia (L.) Terhadap Mencit Jantan Yang diinduksi Aloksa*. Jambi : Universitas Jamb.
- Irsyad, M. 2013. *Standarisasi Ekstrak Etanol Tanaman Ketumpang Air (Peperomia Pellucida (L.) Kunth)* [Skripsi]. Jakarta : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.
- Kuntorini, E. M. 2005. *Botani Ekonomi Suku Zingiberaceae sebagai obat Tradisional oleh Masyarakat Kota Madya Banjarbaru*. Banjarbaru : Fakultas MIPA Universitas Lampung Mangkurat
- Mansur, L. M. 2019. *Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Daun Inggu Ruta angustifolia (L.) Pada Mencit Putih Jantan*. Jambi : Universitas Jambi.
- Noer. S, dan D.R. Pratiwi. 2016. Uji Kualitatif Fitokimia Daun *Ruta Angustifolia L.* *Jurnal Ilmu-*

