ADLN - Perpustakaan Unair
- GUAVA
- MEGAKARYOCYTES

# SKRIPSI

**LISTYO ERNA SANTI**

## PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70 % DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L) TERHADAP JUMLAH MEGAKARIOSIT PADA MENCIT

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA**
**BAGIAN ILMU BAHAN ALAM**
**SURABAYA**
**2004**

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

**Lembar Pengesahan**

# PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70 % DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L) TERHADAP JUMLAH MEGAKARIOSIT PADA MENCIT

## SKRIPSI

**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

**2004**

**Oleh :**

**LISTYO ERNA SANTI**
**NIM : 050012258**

**Disetujui Oleh :**

| Pembimbing Utama | Pembimbing Serta |
|---|---|
| Prof. DR. H. Noor Cholies Zaini, Apt. | DR. Supranto Ma'at, MS.Apt. |
| NIP : 130355372 | NIP : 080030365 |

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

# KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang karena berkat rahmat dan karunia-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi saya yang berjudul: **"PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JAMBU BIJI( *Psidium guajava* )TERHADAP JUMLAH MEGAKARIOSIT PADA MENCIT"** ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. DR. Suprapto Ma'at dan Idha Kusumawati Ssi, Msi selaku pimpinan proyek.
2. Balai Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) dan Que Project selaku penyandang dana.
2. Prof. Noor Cholies Zaini , selaku pembimbing utama dan dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas, bimbingan, arahan, saran, nasehat yang bermanfaat serta kebijaksanaannya mengantarkan saya menyelesaikan skripsi ini.
3. DR. Mulja Hadi Santosa selaku dosen penguji dan kepala laboratorium Ilmu Bahan Alam yang telah memberikan fasilitas, masukan, kritik, dan saran yang berguna untuk perbaikan skripsi ini.
4. Drs. H. Achmad Fuad, MS,Apt selaku dosen penguji dan dosen wali atas motivasi, kritik, dan saran yang berguna dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. DR. Wahyo Djatmiko selaku Kepala Laboratorium Hewan beserta seluruh karyawannya atas segala fasilitas yang disediakan dan bantuan yang diberikan selama pengerjaan skripsi ini.
6. Dra. Rakhmawati, MS dan Drs. Herra studiawan, MS yang telah banyak membantu memberikan bantuan, arahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi saya ini.

7. Staf karyawan bagian Ilmu Bahan Alam: Pak Jarwo dan Mas Iwan, terima kasih atas segala bantuan baik tenaga maupun waktunya untuk membantu proyek Jambu Biji.
8. Mbak Helen di Tropical Disease Center Kampus C Universitas Airlangga atas bantuannya membuat kultur.
9. Kedua orang tua saya yang telah mendoakan saya dan menyemangati saya untuk selalu terus maju dan belajar. Makasih atas kasih sayangnya.
10. Papa, mama yang selalu memberikan dukungan padaku. Doakan ilmu saya bermanfaat dan bisa membantu mama-papa..
11. Kakakku nana dan mas lutful serta si kecil Salwa atas doa dan kasih sayangnya, nantikan mama santi selalu.
12. Adityo Wahyo P , terima kasih atas perhatian, kasih sayang, dan bantuannya …always say Adek Dipo-ku .
13. Teman-teman satu proyek Jambu Biji
14. Sobat-sobatku: sawir, kiki, bud-bud, anggi, diana, cucak, kuririn, endah, umi, ratna, retna, dina, hanik, fitri…makasih atas hari-hari "indahnya" di farmasi.
15. Teman-temanku angkatan '00 atas kebersamaannya selama mengikuti perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
16. Teman-teman kosku: Sendy, mbak Elmi, Santi Stb (biarpun kau pergi ☺) dan mas jono…no day without Glenik-glenikan.
17. Dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Saya menyadari bahwa skripsi ini belum sempuran, namun semoga skripsi ini berguna bagi ilmu pengetahuan dan pembaca pada umumnya demi kemajuan dunia kefarmasian.

Wassalamualaikum Wr.Wb

Surabaya, Agustus 2004

Penulis

# RINGKASAN

## PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JAMBU BIJI (*Psidium* guajava L)TERHADAP JUMLAH MEGAKARIOSIT PADA MENCIT

Penggunaan tanaman obat sebagai alternatif dalam pengobatan untuk masyarakat semakin meningkat, sehingga diperlukan penelitian untuk membuktikan khasiat tanaman obat tersebut. Salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk pengobatan suatu penyakit adalah jambu biji. Jambu biji dapat digunakan sebagai obat diare, sariawan dan keputihan. Secara empiris, jambu biji juga berkhasiat untuk mengatasi demam berdarah. Seperti yang terdapat pada literatur, pada demam berdarah salah satu temuan laboratorium adalah trombositopenia, dimana jumlah trombosit < 100.000/$mm^3$ . Pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas ekstrak etanol 70% daun jambu biji (*Psidium guajava*) terstandar terhadap peningkatan jumlah megakariosit pada mencit.

Salah satu senyawa yang terkandung dalam daun jambu biji adalah kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai senyawa marker dalam penelitian ini karena diduga mempunyai peranan dalam peningkatan jumlah trombosit pasien demam berdarah. Selain itu kuersetin dapat berfungsi sebagai immunomodulator serta dapat menghambat agregasi trombosit Juga didukung penelitian sebelumnya bahwa kuersetin mampu menurunkan permeabilitas vaskular dimana pada pasien demam berdarah terjadi peningkatan permeabilitas vaskular yang dapat menyebabkan terjadinya syok. Dalam penelitian ini digunakan tiga macam dosis pemberian ekstrak etanol 70% daun jambu biji berdasarkan perhitungan kadar kuersetin yaitu setengah, satu, dan dua kali dosis yang digunakan pada studi klinik yang telah dilakukan di bangsal rawat inap rumah sakit Syaiful Anwar Malang.

Untuk dapat memastikan adanya senyawa kuersetin dalam bahan uji, maka dilakukan uji kualitatif. Metode yang digunakan untuk uji kualitatif ekstrak ini adalah KLT-Densitometri. Dengan menggunakan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat = 15 : 3,3 : 2,5 (v/v), akan diperoleh harga Rf sampel dan profil kromatogram yang dipayar dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 360 nm yang dibandingkan dengan standar kuersetin. Dari hasil uji kualitatif didapatkan hasil bahwa dalam ekstrak etanol 70% daun jambu biji yang digunakan sebagai bahan uji mengandung senyawa kuersetin. Sedangkan untuk uji kuantitatif dilakukan dengan metode KLT-Densitometri pada panjang gelombang 375 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum kuersetin. Dari penetapan kadar kuersetin ini diperoleh rata-rata kandungan kuersetin dalam bahan uji 2,46%. Kandungan rata-rata kuersetin ini yang akan digunakan untuk perhitungan dosis sediaan oral yang diberikan pada hewan coba.

Uji aktivitas dilakukan dengan menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculinus*). Sediaan yang diberikan adalah ekstrak etanol 70% daun jambu biji (*Psidium guajava* L). Metode ekstraksi yang digunakan untuk sediaan oral adalah

maserasi-perkolasi. Dosis yang diberikan berdasarkan studi klinis yang dilakukan Harijono Achmad di RS Syaiful Anwar Malang, yaitu ekstrak yang setara dengan 5,31 mg kuersetin per 50 kg berat badan manusia. Selanjutnya, dosis ini dikonversikan ke mencit dengan nilai konversi 0,0036 untuk mencit dengan berat badan 20 g sehingga diperoleh untuk Dosis1 : 0,389 mg / 20 g BB mencit, dosis 2: 0,777mg / 20 g BB mencit, dosis 3 : 1,554 mg / 20 g BB mencit. Untuk membuat sediaan yang diberikan secara per oral pada mencit, ekstrak etanol 70% daun jambu biji dengan tiga macam dosis yang berbeda tersebut masing-masing dibuat suspensi dalam 0,5% CMC Na, sedangkan kelompok kontrol hanya diberi CMC Na 0,5%.

Uji aktivitas dilakukan dengan memberikan ekstrak daun jambu biji terstandar dengan dosis yang sesuai dengan berat badan mencit. Mencit dibagi menjadi empat kelompok yaitu kontrol, dosis 1, dosis 2, dosis 3 dimana tiap kelompok terdiri dari 8 mencit. Ekstrak daun jambu biji ini diberikan selama 6 hari dan setelah 6 hari (pada hari ke tujuh) semua mencit dimatikan dan diambil femurnya untuk dibuat preparat hapusan sumsum tulang. Selanjutnya dilakukan perhitungan per satuan luas pandang terhadap jumlah megakariosit dari kelompok kontrol, dosis 1, dosis 2, dan dosis3.

Hasil perhitungan jumlah megakariosit per satuan luas pandang tiap kelompok di analisa dengan menggunakan Anava One Way dengan rancangan CRD (*Completely Randomized Design*) pada $\alpha = 0,05$ didapat $F_{sig} < 0,05$ artinya ada perbedaan bermakna minimal satu pasang kelompok atau lebih. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda bermakna, maka digunakan Post Hoc Test, yaitu HSD (Honestly Significant Difference) atau LSD (Least Significant Difference). Dari hasil Post Hoc Test maka didapat bahwa ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan dosis 1, dosis 2, dosis 3; kelompok dosis 1 dengan dosis 3 ; kelompok dosis 2 dengan dosis 3.

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun jambu biji yang dipakai dapat meningkatkan jumlah megakariosit pada dosis 0,389 mg /20 BB mencit ; 0,777 mg/20 BB mencit; dan 1,554 mg/20 BB mencit. Namun dalam penelitian ini masih perlu dicari senyawa aktif yang berperan dalam peningkatan jumlah megakariosit.

# ABSTRACT

## INFLUENCE OF GIFT 70% ETHANOL GUAVA LEAF EXTRACT (*Psidium guajava* L) TO AMOUNT MEGAKAYOCYTES AT MICE

Intention of this research is to know and prove whether administrated-oral of 70% ethanol guava leaf extract( *Psidium guajava L*) can improve the amount of megakaryocytes at mice.

The activity test of 70% ethanol guava leaf extract ( *Psidium guajava* L*)* to make-up this megakaryocytes amount use mice as animal test. Oral preparation used is 70% ethanol guava leaf extract which has been already standardized. Dose used is 0,777 mg/ 20g mice body weight. Mice divided into four groups that is control group, dose 1 ( 0,389 mg/ 20g mice body weight), dose 2 ( 0,777 mg/ 20g mice body weight), dose 3 ( 1,554/ 20g mice body weight). Mice given the oral preparation during six days, afterwards all mice killed to be taken its thighbone (femur) and made its bone marrow smear, later then the megakaryocytes were count of per set of wide look from every group.

The result of this research indicate that the 70% ethanol guava leaf extract *(Psidium* guajava L) can improve the amount of megakaryocytes at mice so that it can serve the purpose as alternative medication for dengue haemorragic fever. But, the active compound that plays a role in this improvement of megakaryocytes still requires to be searched.

Keywords : guava leaf (*Psidium guajava* L); bone marrow smear ; megakaryocytes.

# DAFTAR ISI

Halaman

**LEMBAR PENGESAHAN**.....i
**KATA PENGANTAR**.....ii
**RINGKASAN**.....iv
**ABSTRACT**.....vi
**DAFTAR ISI**.....vii
**DAFTAR TABEL**..... ix
**DAFTAR GAMBAR**..... x
**DAFTAR LAMPIRAN**.....xi
**BAB I PENDAHULUAN**.....1
1.1 Latar belakang masalah.....1
1.2 Rumusan Masalah..... 5
1.3 Tujuan Penelitian.....5
1.4 Hipotesis Penelitian..... 5
1.5 Manfaat Penelitian..... 5
**BAB II TINJAUAN PUSTAKA**.....6
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman *Psidium guajava* L.....6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....6
2.1.2 Nama Daerah.....6
2.1.3 Penyebaran dan Tempat Tumbuh.....7
2.1.4 Morfologi Tanaman.....7
2.1.5 Kandungan Tanaman.....7
2.1.6 Kegunaan Tanaman.....8
2.2 Tinjauan Tentang Demam Berdarah.....8
2.3 Tinjauan Tentang Trombosit.....10
2.4 Tinjauan Tentang Ekstraksi.....12
**BAB III KERANGKA KONSEPTUAL**.....15

**BAB IV BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN**.....19
4.1 Rancang Bangun Penelitian.....20
4.2 Bahan Penelitian.....20
4.2.1 Bahan Uji .....20
4.2.2 Hewan Coba.....20
4.2.3 Bahan Kimia.....20
4.2.4 Alat.....20
4.3 Cara Kerja..... 21
4.3.1 Persiapan ekstrak etanol 70%.....21
4.3.2 Perhitungan dosis dan Pembuatan Sediaan Per Oral.....22
4.3.2 Perlakuan terhadap hewan coba.....23
4.4 Iji kualitatif ekstrak.....23
4.5 Prosedur penetapan kadar kuersetin.....24
4.4 Analisis Data.....25
**BAB V HASIL PENELITIAN**.....26
5.1 Pembuatan ekstrak.....26
5.2 Hasil uji kualitatif ekstrak.....26
5.3 Hasil penentuan kadar kuersetin dalam ekstrak.....29
5.4 Perhitungan dosis dan pembuatan sediaan per-oral.....29
5.5 Data perhitungan jumlah megakariosit.....30
**BAB VI PEMBAHASAN**.....33
**BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN**.....37
**DAFTAR PUSTAKA**.....38
**LAMPIRAN**.....41

# DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Macam-macam isi granul trombosit dan aktivitas biologinya.....11
Tabel IV.1Data penghitungan jumlah megakariosit.....25
Tabel V.1 Pembuatan ekstrak etanol 70%.....26
Tabel V.2 Nilai Rf pada standar kuersetin dan sampel.....27
Tabel V.3 Kadar kuersetin pada panjang gelombang 375nm.....29
Tabel V.4 Data penghitungan jumlah megakariosit per satuan luas pandang..30

# DAFTAR GAMBAR

Gambar III.1 Skema kerangka konseptual.....18
Gambar IV.1 Rancang bangun penelitian.....19
Gambar IV.2 Pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu biji.....22
Gambar V.1 Hasil KLT dengan fase gerak kloroform:aseton:asam formiat (15 : 3,3 : 2,5).....26
Gambar V.2 Profil kromatogram standar kuersetin yang dipayar dengan densitometer pada λ = 254 nm.....27
Gambar V.3 Profil kromatogram sampel yang dipayar dengan densitometer pada λ = 254 nm .....28
Gambar V.4 Profil kromatogram standar kuersetin yang dipayar dengan densitometer pada λ = 360 nm .....28
Gambar V.5 Profil kromatogram sampel yang dipayar dengan densitometer pada λ = 360 nm .....29
Gambar V.6 Grafik jumlah rata-rata megakariosit pada tiap-tiap kelompok.....32

# DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Laporan pemeriksaan tanaman jambu biji.....41
Lampiran 2 Tabel perbandingan luas permukaan tubuh beberapa hewan coba dan manusia.....42
Lampiran 3 Tabel volume maksimum dari obat yang diberikan pada binatang Percobaan.....43
Lampiran 4 Pembuatan kurva baku untuk penetapan kadar kuersetin dalam bahan uji.....44
Lampiran 5 Hasil Analisis Varian Satu Arah pada Tingkat Kepercayaan 95%.....45
Lampiran 6 Gambar jumlah megakariosit tiap kelompol.....48

# BAB I

# PENDAHULUAN

## I. Latar Belakang

Dalam 60 tahun terakhir ini, timbulnya demam berdarah cenderung bertambah secara drastis. Pertumbuhan populasi pada daerah tropik menyebabkan adanya host yang rentan terkena. Urbanisasi yang tidak terkontrol menyebabkan tidak cukupnya ilmu dalam mengatasi masalah air dan sampah, sehingga akan menjadi habitat larva. Masih sedikit program untuk mengontrol air dan sampah yang cukup efektif dalam melawan nyamuk [ www.vaccinationnews.com ].

Angka kesakitan demam berdarah dengue di Indonesia cenderung meningkat, mulai 0,05 insiden per 100.000 penduduk di tahun 1968 menjadi 35,19 insiden per 100.000 penduduk di tahun 1998, dan pada saat ini demam berdarah dengue di banyak negara kawasan Asia Tenggara merupakan penyebab utama perawatan anak di rumah sakit [Sumarmo, 1999].

Demam berdarah dengue adalah suatu keadaan sakit yang disebabkan infeksi virus dengue, yang ditularkan manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypty*. Semula keadaan sakit ini hanya didapatkan pada anak-anak, namun dalam perjalanan alamiahnya, cenderung makin banyak dijumpai pada orang dewasa terutama remaja dan dewasa muda [ Soemarsono,1999].

Demam berdarah dengue terutama menyerang anak dibawah usia 15 tahun pada daerah hiperendemic. Penyakit ini ditandai dengan bertambahnya permeabilitas kapiler dan perubahan haemostatis. Terdapat kasus pembesaran liver yang dilaporkan oleh hampir 40% pasien. Tanda-tanda dari demam berdarah ini adalah sakit pada daerah perut, muntah berkepanjangan, berubah tingkat kesadarannya, perubahan dari demam ke hipothermia dan berkurangnya jumlah trombosit secara mendadak [ www.vaccinationnews.com].

Trombositopenia atau penurunan jumlah trombosit dan hemokonsentrasi adalah temuan tetap pada demam berdarah dengue. Penurunan jumlah trombosit sampai dibawah 100.000 per $mm^3$ biasanya ditemukan antara hari ketiga dan kedelapan, sering sebelum atau bersamaan dengan perubahan hematokrit



MILIK PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Tinjauan Tentang Tanaman *Psidium guajava* L

### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

| | | |
|---|---|---|
| Divisi | : | Spermatophyta |
| Anak Divisi | : | Angiospermae |
| Kelas | : | Dicotyledoneae |
| Anak Kelas | : | Dialypetalae |
| Bangsa | : | Myrtales |
| Famili | : | Myrtaceae |
| Suku | : | Psidium |
| Jenis | : | *Psidium guajava* L |

[Tjitrosoepomo, 1988]

### 2.1.2 Nama Daerah

| | | |
|---|---|---|
| Nusa Tenggara | : | Sotong (Bali), Guawa (Ende), Goihawas (Sika), Kejawas, Kujawas, Kujabas(Timor), Kujabas (Roti) |
| Sumatera | : | Glima Breuah (Aceh), Glimeu beru (Gayo), Galiman (Batak), Masiambu (Nias), Biawas, Jambu Biawas, Jambu biji, Jambu susu. |
| Kalimantan | : | Libu, Nyibu (Dayak busang) |
| Jawa | : | Jambu klutuk (Sunda), Bayawas, Jambu klutuk, Petokal, Tokal, Jambu bender, Jambu biji |
| Sulawesi | : | Goyawas (Manado), Dambu (Gorontalo), Biabuto (Buol), Jambu (Bare), Jambu paratugala (Makasar), Jambu paratukala (Bugis) |

(peningkatan hematokrit sedikitnya 20% diatas rata-rata untuk usia, jenis kelamin dan populasi). Adapun manifestasi perdarahan untuk diagnosis demam berdarah adalah tes tourniket positif; adanya petekie; perdarahan dari mukosa, saluran gastrointestinal, tempat injeksi;hematemesis/ melena [WHO, 1999].

Vaksin untuk mencegah DBD maupun obat terhadap virus penyebabnya belum tersedia. Satu-satunya cara mencegah/ memberantas DBD yang dapat dilakukan saat ini adalah memberantas nyamuk penularnya yaitu *Aedes aegypty*. Nyamuk ini tersebar luas di rumah, sekolah maupun tempat umum [Thomas, S.,1989]. Virus-virus dengue ditularkan ke tubuh manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypty*, dan karenanya dianggap sebagai arbovirus (virus yang ditularkan melalui arthropoda). Bila terinfeksi, nyamuk tetap akan terinfeksi sepanjang hidupnya, menularkan virus ke individu rentan selama menggigit dan menghisap darah. Virus bersirkulasi dalam darah manusia terinfeksi pada kurang lebih waktu dimana mereka mengalami demam, dan nyamuk tak terinfeksi mungkin mendapatkan virus bila mereka menggigit individu pada saat ia dalam keadaan viraemik [WHO, 1999].

Tidak ada terapi yang spesifik untuk demam berdarah. Steroid, antiviral, atau carbazochrome (untuk mengurangi permeabilitas kapiler) tidak membuktikan adanya peranan penting. Paracetamol dapat digunakan untuk demam dan analgesik. Aspirin, anti inflamasi non steroid sebaiknya dihindari karena menyebabkan haemorrhage[ www.vaccinationnews.com].

Perawatan di rumah sakit biasanya difokuskan untuk menaikkan kadar trombosit dalam darah dan pemberian cairan infus untuk mencegah dehidrasi. Meskipun transfusi trombosit dapat menurunkan resiko perdarahan sekitar 30%, transfusi menyebabkan komplikasi seperti penyebaran penyakit yang disebabkan oleh virus. Selain itu, transfusi trombosit relatif mahal [Pavithran, 2003]. Di samping transfusi trombosit, untuk menambah jumlah trombosit pada penderita demam berdarah dengue telah dilakukan terapi alternatif dengan memberikan kapsul ekstrak jambu biji [ Achmad, H., 2001].

Penggunaan bahan alam sebagai obat bukanlah hal baru. Sejak ada manusia di permukaan bumi, maka sejak itu pula mereka sudah mengobati

penyakit yang dideritanya dengan menggunakan bahan alam (Sutrisno, 1983). Sampai saat ini obat tradisional dianggap dan diharapkan berperan dalam usaha-usaha pencegahan dan pengobatan penyakit. Penggunaan terutama didasarkan pada dugaan-dugaan dan hasil pengalaman atau pengetahuan yang diteruskan secara turun temurun, belum didasarkan pada hasil penelitian (Donatus, 1985). Oleh karena itu, penelitian obat tradisional sangat penting dalam upaya mengembangkan pengobatan alternatif yang berkualitas baik dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

Salah satu tanaman obat tersebut adalah jambu biji (*Psidium guajava* L). Tanaman ini banyak digunakan oleh masyarakat secara tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit antara lain diare, sariawan, dan keputihan (Wijayakusuma, 1994). Buah jambu biji juga digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit demam berdarah, karena seperti yang dikatakan oleh dr Hadi Wibowo, telah banyak pengalaman yang membuktikan bahwa penderita bisa sembuh setelah makan jambu biji (www.suaramerdeka.com, 2003). Selain itu, secara klinis ekstrak daun jambu biji juga telah terbukti bisa menyembuhkan pasien demam berdarah (Achmad, 2001). Namun, belum diketahui secara pasti senyawa apa yang berkhasiat sebagai anti demam berdarah dan bagaimana mekanisme penyembuhan penyakit demam berdarah tersebut.

Badan Pemeriksa Obat dan Makanan mengembangkan ekstrak daun jambu biji untuk mengatasi penyakit demam berdarah dengue, dimana saat ini telah mencapai tahap uji klinis dengan hasil yang sangat menjanjikan. Setelah uji klinis, ternyata ekstrak daun jambu biji dapat meningkatkan jumlah trombosit pasien demam berdarah secara efektif [www.pharmasindo.com ].

Terapi pemberian ekstrak *Psidium guajava* L diduga mempunyai efek inhibisi enzim *reverse transcriptase* merupakan terapi yang aman dan murah. Studi klinik pengobatan demam berdarah dengue menggunakan ekstrak kering daun jambu biji dengan maksud untuk mempercepat pencapaian jumlah trombosit >100.000/uL oleh Harijono achmad di RS Saiful anwar Malang membuktikan bahwa pemberian 3 kali 2 kapsul (500mg ekstrak kering ) selama 5 hari kepada relawan penderita demam berdarah dengue mempercepat pencapaian jumlah trombosit >100.000/uL pada hari ke 5 [ Achmad, H., 2001].

Pada penelitian ini digunakan daun jambu biji karena diharapkan daun jambu biji juga memiliki kandungan senyawa kimia yang sama dengan buah yang dapat berkhasiat sebagai anti demam berdarah. Selain itu, daun jambu biji lebih mudah diperoleh daripada buahnya karena jambu biji hanya berbuah pada musim tertentu saja sedangkan daunnya dapat ditemukan setiap musim. Tersedianya daun ini setiap musim sangat membantu untuk menanggulangi kasus wabah demam berdarah yang dapat terjadi setiap saat, tidak hanya pada musim tertentu saja. Daun jambu biji yang dipakai sebagai bahan uji dibuat dalam bentuk ekstrak etanol 70% yang diekstraksi dengan metode maserasi- perkolasi. Hal ini dimaksudkan untuk dapat menarik seluruh senyawa kimia yang terkandung di dalam daun, karena senyawa-senyawa kimia tersebut memiliki kelarutan yang berbeda-beda. Jadi dengan etanol 70% diharapkan metabolit yang terkandung di dalam daun jambu biji dapat tertarik seluruhnya.

Salah satu senyawa yang terkandung dalam daun jambu biji adalah kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai senyawa marker dalam penelitian ini karena diduga mempunyai peranan dalam peningkatan jumlah trombosit pasien demam berdarah. Selain itu kuersetin dapat berfungsi sebagai immunomodulator serta dapat menghambat agregasi trombosit [Tzeng *et al*, 1991]. Juga didukung penelitian sebelumnya bahwa kuersetin mampu menurunkan permeabilitas vaskular [ Skaper, 1994] dimana pada pasien demam berdarah terjadi peningkatan permeabilitas vaskular yang dapat menyebabkan terjadinya syok. Dalam penelitian ini digunakan tiga macam dosis pemberian ekstrak etanol 70% daun jambu biji berdasarkan perhitungan kadar kuersetin yaitu setengah, satu, dan dua kali dosis yang digunakan pada studi klinik yang telah dilakukan di bangsal rawat inap rumah sakit Syaiful Anwar Malang.

Untuk dapat memastikan adanya senyawa kuersetin dalam bahan uji, maka dilakukan uji kualitatif. Metode yang digunakan untuk uji kualitatif ekstrak ini adalah KLT-Densitometri. Dengan menggunakan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat = 15 : 3,3 : 2,5 (v/v), akan diperoleh harga Rf sampel dan profil kromatogram yang dipayar dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 360 nm yang dibandingkan dengan standar kuersetin. Sedangkan untuk uji kuantitatif dilakukan dengan metode KLT-Densitometri pada panjang

gelombang 375 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum kuersetin. Dari penetapan kadar kuersetin ini nantinya diperoleh rata-rata kandungan kuersetin dalam bahan uji yang akan digunakan untuk perhitungan dosis sediaan oral yang diberikan pada hewan coba.

Uji aktivitas ekstrak etanol 70% daun jambu biji (*Psidium guajava* L) dimana dapat mempengaruhi jumlah megakariosit dilakukan dengan metode hapusan sumsum tulang yang kemudian dilakukan perhitungan jumlah megakariosit per satuan luas pandang.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian per-oral ekstrak etanol 70% daun jambu biji dapat mempengaruhi peningkatan jumlah megakariosit pada hewan coba mencit .

## 1.3 Tujuan penelitian

Untuk mengetahui dan membuktikan apakah pemberian per-oral ekstrak etanol 70% daun jambu biji dapat meningkatkan jumlah megakariosit pada mencit.

## 1.4 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol 70 % daun jambu biji dapat meningkatkan jumlah megakariosit pada hewan coba mencit.

## 1.5 Manfaat Penelitian

Dapat mengetahui dan membuktikan bahwa pemberian peroral ekstrak etanol 70% daun jambu biji dapat meningkatkan jumlah trombosit melalui peningkatan jumlah megakariosit sehingga dapat digunakan untuk pengobatan alternatif demam berdarah dengue.

# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Tinjauan Tentang Tanaman *Psidium guajava* L

### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

| | | |
|---|---|---|
| Divisi | : | Spermatophyta |
| Anak Divisi | : | Angiospermae |
| Kelas | : | Dicotyledoneae |
| Anak Kelas | : | Dialypetalae |
| Bangsa | : | Myrtales |
| Famili | : | Myrtaceae |
| Suku | : | Psidium |
| Jenis | : | *Psidium guajava* L |

[Tjitrosoepomo, 1988]

### 2.1.2 Nama Daerah

| | | |
|---|---|---|
| Nusa Tenggara | : | Sotong (Bali), Guawa (Ende), Goihawas (Sika), Kejawas, Kujawas, Kujabas(Timor), Kujabas (Roti) |
| Sumatera | : | Glima Breuah (Aceh), Glimeu beru (Gayo), Galiman (Batak), Masiambu (Nias), Biawas, Jambu Biawas, Jambu biji, Jambu susu. |
| Kalimantan | : | Libu, Nyibu (Dayak busang) |
| Jawa | : | Jambu klutuk (Sunda), Bayawas, Jambu klutuk, Petokal, Tokal, Jambu bender, Jambu biji |
| Sulawesi | : | Goyawas (Manado), Dambu (Gorontalo), Biabuto (Buol), Jambu (Bare), Jambu paratugala (Makasar), Jambu paratukala (Bugis) |

Maluku : Kayawase, Koyawase (Seram Barat), Kojawase (Seram selatan), Koyafate, Lainehatu, Lutuhatu (Alfur Ambon), Jambu rutung (Haruku), Gawaya (Halmahera Selatan, Ternate) [ Depkes RI, 1977 ].

### 2.1.3 Penyebaran dan Tempat Tumbuh

Tanaman *Psidium guajava* L berasal dari Amerika Tropik. Sekarang telah ditanam secara meluas di Malaysia, India, Srilanka, Vietnam, Indo Pasifik dan merupakan jenis umum yang terdapat di daerah tropik. Di Indonesia dijumpai sampai ketinggian 1200m diatas permukaan laut. Pertumbuhannya sangat cepat. Tumbuh di daerah terbuka/ bekas ladang, di semak belukar tua/ hutan sekunder muda. Di jawa umumnya terdapat pada ketinggian 1200m diatas permukaan laut dan sering tumbuh liar pada tanah gembur maupun liat [Depkes RI, 1977].

### 2.1.4 Morfologi Tanaman

Tanaman *Psidium guajava* L termasuk tanaman semak atau pohon yang mempunyai tinggi 3 m sampai 10 m, kulit batang halus permukaannya, berwarana coklat dan mudah mengelupas. Daun berhadapan, bertulang menyirip, berbintik, berbentuk bundar telur agak menjorong atau agak bundar sampai meruncing. Panjang helai daun 6 cm sampai 14 cm, lebar 3 cm sampai 6 cm, panjang tangkai 3 mm sampai 7 mm, daun yang muda berambut, daun yang tua permukaan atasnya menjadi licin. Perbungaan terdiri dari 1 sampai 3 bunga, panjang gagang perbungaan 2 cm sampai 4 cm, panjang kelopak 7 mm sampai 10 mm, tajuk berbentuk bundar telur sungsang, panjang 1,5 cm sampai 2 cm. Buah bentuk bulat atau bulat telur. Kalau masak berwarna kuning. Panjang 5 cm sampai 8,5 cm, berdaging menyelimuti biji-biji dalam massa berwarna kuning atau merah jambu [Depkes RI, 1977].

### 2.1.5 Kandungan Tanaman

Kandungan tanaman *Psidium guajava* L adalah tannin 9-12%, minyak lemak, asam malat [Depkes RI, 1977], minyak atsiri (eugenol), damar 3% dan

banyak kalsium oksalat [Aliadi *et al*, 1996], triterpenoid, asam amino (triptofan, lisin), kalsium, fosfor, besi, belerang, vitamin A, B, dan C [Wijayakusuma, 1994], betakaroten, klorofil, limonene, kuersetin [Hargono, 2003] serta garam-garam mineral [ Mardisiswojo dan Sudarso, 1985].

### 2.1.7 Kegunaan Tanaman

Tanaman ini dapat digunakan sebagai obat mencret, disentri, sariawan, radang lambung, cucur darah tidak henti-hentu, keputihan (daun,kulit dan akarnya) [Mardisiswojo *et al*, 1985 ]. Di samping itu juga untuk pengobatan gangguan pencernaan pada bayi, peluruh haid, mempermudah persalinan, kencing manis, perut kembung, dan luka berdarah. Daun segar juga dipakai pada luka akibat kecelakaan, perdarahan akibat benda tajam, dan borok (ulkus) disekitar tulang (Wijayakusuma, 1994).

## 2.2 Tinjauan Tentang Demam Berdarah

Infeksi virus dengue telah ada di Indonesia sejak abad ke 18, seperti yang dilaporkan oleh David Bylon, seorang dokter berkebangsaan Belanda. Saat itu virus dengue menimbulkan penyakit yang dikenal sebagai penyakit demam 5 hari (vijfdaagse koorts) yang kadangkala disebut juga sebagai demam sendi (knokkel koorts). Disebut demikian karena demam yang disertai dengan nyeri pada bagian sendi. Nyeri otot dan nyeri kepala menghilang dalam waktu 5 hari. Pada masa itu infeksi virus dengue di Asia Tenggara hanya merupakan penyakit ringan yang tidak menyebabkan kematian. Kemudian penyakit ini menyebar ke negara lain seperti Thailand, Vietnam dan Indonesia pada tahun 1968. Dilaporkan di Surabaya dan Jakarta adanya DBD dengan jumlah kematian yang sangat tinggi [ Soegijanto, 1999 ].

Demam dengue adalah penyakit yang terutama terdapat pada anak dan remaja atau orang dewasa dengan tanda-tanda klinis berupa demam, nyeri otot dan atau nyeri sendi yang disertai leukopenia, dengan atau tanpa ruam dan limfadenopati, demam bifasik, sakit kepala yang hebat, nyeri pada pergerakan bola mata, gangguan rasa mengecap, trombositopenia ringan dan ptecheae

spontan. Demam berdarah dengue adalah penyakit yang terdapat pada anak dan dewasa dengan gejala utama demam, nyeri otot dan sendi [Mansjoer *et al*, 1999].

Demam dengue dan Demam berdarah dengue disebabkan oleh virus dengue. Virus ini termasuk famili Flaviviridae, yang banyak menimbulkan penyakit arboviral di dunia. Mereka banyak ditemukan di daerah tropik dan menyebabkan kira-kira 50-100 juta penyakit pertahunnya, termasuk 250.000-500.000 kasus demam berdarah dengue dan 24.000 diantaranya mati. Lebih dari 2,5 milyar penduduk dunia hidup di daerah yang potensial terkena dengue. Ada 4 serotipe virus yang telah dikenal yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4. Infeksi oleh salah satu serotipe akan menghasilkan imunitas seumur hidup tetapi tidak memberikan kekebalan terhadap serotipe lain. Manusia dan nyamuk adalah host yang utama bagi virus dengue. Virus dengue ditularkan dengan cara gigitan nyamuk *Aedes aegypti* [www.vaccinationnews.com].

Nyamuk *Aedes aegypti* mengandung virus dengue pada saat menggigit manusia yang sedang mengalami viremia. Kemudiaan virus berkembang biak dalam tubuh nyamuk terutama yang ditemukan pada kelenjar liurnya dalam waktu 8-10 hari sebelum dapat ditularkan kembali pada manusia pada saat gigitan berikutnya. Virus dalam tubuh nyamuk betina juga dapat ditularkan kepada telurnya, namun peranannya dalam penularan virus kepada manusia masih dalam penelitian. Sekali virus dapat masuk dan berkembang biak dalam tubuh nyamuk, nyamuk tersebut akan dapat menularkan virus selama hidupnya pada manusia. Virus memerlukan waktu 4-6 hari sebelum menimbulkan sakit. Penularan dari manusia kepada nyamuk hanya terjadi bila nyamuk menggigit manusia yang sedang mengalami viremia, yaitu 2 hari sebelum panas sampai 5 hari setelah demam timbul [ Soegijanto, 1999 ].

Sebagai reaksi terhadap infeksi yang terjadi yaitu (1) aktivasi sistem komplemen sehingga dikeluarkan zat anafilatoksin yang menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler dan terjadi perembesan plasma dari ruang intravaskuler ke ruang ekstravaskuler (2) agregasi trombosit menurun, apabila kelainan ini berlanjut akan menyebabkan kelainan fungsi trombosit sebagai akibat mobilisasi sel trombosit muda dari sumsum tulang dan (3) kerusakan sel endotel pembuluh darah akan merangsang/ mengaktifasi faktor pembekuan. Ketiga faktor

di atas menyebabkan (1) peningkatan permeabilitas kapiler (2) kelainan haemostasis yang disebabkan oleh vaskulopati, trombositopenia dan koagulopati [ Mansjoer *et al*, 2000]. Trombositopenia pada pasien demam berdarah dengue dapat terjadi karena penurunan produksi trombosit, meningkatnya destruksi dan pemakaian trombosit berlebih [Sugianto *et al*, 1994].

## 2.3 Tinjauan Tentang Trombosit

Trombosit atau platelet bukan merupakan sel melainkan pecahan granular sel, berbentuk piringan tidak berinti. Trombosit adalah bagian terkecil dari unsur selular sumsum tulang dan sangat penting peranannya dalam hemostasis dan pembekuan [Heuber dan Di Julio, 1989]. Trombosit berasal dari *stem cell* yang berubah menjadi megakarioblast, berubah lagi menjadi promegakariosit. Dalam pematangan megakarioblast menjadi promegakariosit dan megakariosit yang menghasilkan trombosit, terjadi perubahan pada inti dan sitoplasmanya. Pada saat itu terjadi pembelahan inti secara mitosis beberapa kali tanpa pembelahan pada sitoplasmanya. Pembentukan trombosit dari megakariosit melalui pelepasan potongan-potongan sitoplasma megakariosit tersebut ke dalam peredaran darah. Maturasi megakariosit menjadi trombosit dirangsang oleh trombopoetin yang terbatas jumlahnya. Trombopoetin merupakan hormon yang diproduksi oleh hati dan ginjal untuk meningkatkan produksi trombosit setelah serangan trombositopenia [Surya dan Kirana, 1989]. Trombosit merupakan suatu tipe sel terbanyak jumlahnya kedua setelah sel darah merah. Jumlahnya kira-kira $250.10^9$ per liter darah. Di sirkulasi, trombosit dipelihara di dalam sumsum dan dibatasi oleh suatu mekanisme trombopoetin . Trombosit darah normal berbentuk diskoid dan sitoplasmanya bergranular. Diameternya 3μm dan tebal 1μm. Trombosit didalam sirkulasi darah bertahan 10-12 hari. Peranan utama trombosit adalah pada mekanisme haemostasis: trombosit menempelkan diri pada tepi luka dan membentuk sumbat yang menghambat keluarnya darah. Penurunan jumlah trombosit atau fungsi trombosit yang abnormal menyebabkan perdarahan. Selama haemostasis, trombosit mempunyai empat tugas, yaitu:

1. Berubah bentuk, yaitu dari bentuk keeping pipih menjadi bentuk bulat berduri

2. Adhesi, melekatnya trombosit pada subendotelium dinding pembuluh darah atau pada jaringan kolagen
3. Agregasi, melekatnya trombosit satu sama lain
4. Sekresi, misal ADP, $TXA_2$, serotonin, kalsium dll

Ada 2 macam granul intraseluler yaitu α granul dan dense granul. Granul-granul ini mengandung aktivitas biologi yang bermacam-macam [Pallister, 1994 ]

Tabel II.1 Macam-macam isi granul dari trombosit dan aktivitas biologinya

| Lokasi | Komposisi | Fungsi |
|---|---|---|
| α granul | Platelet factor 4(PF 4) | Menetralkan efek heparin |
| | β thromboglobulin | Meningkatkan kemotaksis fibroblast |
| | Platelet Derived Growth Factor (PDGF) | Mitogenik fibroblast, kemotaksis neutrofil |
| | vWF | Adesi, pembawa factorVIII |
| | PAI-1 | Inhibitor fibrinolisis |
| | Fibronectin | Adesi platelet dan fibroblast |
| | Thrombospondin | Meningkatkan interaksi antar platelet |
| Dense granul | ADP | Agregasi platelet |
| | ATP | Sumber ADP |
| | Serotonin | Vasokonstriksi |

Penurunan produksi trombosit pada kasus demam berdarah terjadi karena adanya depresi sumsum tulang yaitu tahap hiposeluler pada hari ke 3-4 demam dan perubahan patologis sistem megakariosit [Sugianto , 1994]. Meningkatnya destruksi trombosit dapat terjadi sebagai akibat dari infeksi virus dengue yang mengganggu sistem dalam tubuh, antigen akan bereaksi dengan trombosit yang beredar dalam sirkulasi. Trombosit yang telah bereaksi dengan auto-antibodi

tersebut menjadi rentan untuk dihancurkan oleh sistem retikuloendotelial dengan akibat trombositopenia. Sedangkan yang dapat menimbulkan perdarahan pada demam berdarah adalah peninggian fragilitas dinding kapiler, yang ditunjukan dengan *tourniquet test* positif. Akibat koagulasi intravaskular inilah pemakaian faktor-faktor pembekuan dan trombosit meningkat [L.K.Kho *et al*,1984].

Gangguan pada faktor-faktor pembekuan ini dapat menyebabkan gangguan terhadap masa perdarahan. Pada beberapa kasus demam berdarah dengue ditemukan adanya penurunan fibrinogen, protrombin, factor VIII, XII, dan antitrombin III, serta α-antiplasmin (α-plasmin inhibitor). Pada penderita demam berdarah dengue disertai disfungsi liver juga ditemukan penurunan tingkat factor protrombin yang tergantung vitamin K, seperti factor V, VII, IX, dan X. Akibatnya *Partial Tromboplastin Time* (PTT) dan *Prothrombin Time* (PT) meningkat. Sebagian mengalami peningkatan *Thrombin Time* (TT). Fungsi platelet menurun dan terjadi penurunan tingkat serum komplemen, terutama C3 [McKay, 1983].

Selain mengalami defisit secara kuantitatif, juga terdapat gangguan fungsi trombosit . Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya sekresi ADP dan metabolit prostasiklin plasma ($PGI_2$). ADP disekresi oleh granula padat yang terdapat dalam trombosit sedangkan $PGI_2$ dibentuk oleh sel endotel dan otot polos pembuluh darah . ADP menginduksi agregasi trombosit terhadap trombosit yang sudah melekat pada dinding pembuluh darah yang rusak, sedangkan $PGI_2$ merupakan inhibitor agregasi trombosit. Efek $PGI_2$ berlawanan dengan ADP. Jadi, trombositopenia pada pasien demam berdarah dengue terjadi karena penurunan produksi, meningkatnya destruksi dan pemakaian trombosit yang berlebihan [Sugianto *et* al, 1994].

## 2.4 Tinjauan Tentang Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang akan diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dll. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak

MILIK PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

atsiri, alkaloid, flavonoid, dll. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan , udara, cahaya, logam berat dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti rimpang dan daun mudah diserap oleh pelarut. Karena itu pada proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai halus. Simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu dan kulit akar sulit diserap oleh pelarut. Karena itu perlu diserbuk sampai halus. Disamping memperhatikan sifat fisik dan senyawa aktif dari simplisia harus juga diperhatikan senyawa-senyawa lain yang terdapat dalam simplisia seperti protein, karbohidrat, lemak dan gula. Karena senyawa ini akan mempengaruhi tingkat kejenuhan pelarut sehingga akan berpengaruh pula pada proses pelarutan senyawa aktif. Keajegan kadar senyawa aktif merupakan syarat mutlak ekstrak yang diproduksi. Oleh sebab itu setiap ekstrak harus distandarisasi [ Depkes RI,2000].

Dalam buku FI Edisi IV disebutkan bahwa:

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengektraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhu baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan secara destilasi dengan pengurangan tekanan agar bahan sesedikit mungkin terkena panas.

Metode ekstraksi yang sering digunakan untuk menarik kandungan kimia yang terkandung dalam tanaman (simplisisa) adalah dengan cara dingin, yaitu maserasi dan perkolasi. Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Sedangkan perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perkolasi merupakan proses ekstraksi yang sering digunakan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserasi antara, tahapan perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan [Depkes RI, 2000].

Fakta menunjukan tidak sedikit penggunaan perkolasi sebagai proses ekstraksi pada skala laboratorium atau skala industri. Proses perkolasi sangat dipengaruhi oleh:

1. Selektivitas pelarut

   Selektivitas pelarut sangat berpengaruh terhadap kualitas dan kuantitas komposisi (kandungan) yang terdapat dalam simplisia (bahan/material).

2. Kecepatan penetesan dari pelarut

   Laju (kecepatan) aliran (tetesan) menentukan waktu kontak antara pelarut dengan bahan. Semakin rendah laju aliran maka semakin lama waktu kontak pelarut dengan bahan, sehingga kandungan zat aktif yang didapat semakin banyak.

3. Suhu

   [List,P.H.,1989]

# BAB III

# KERANGKA KONSEPTUAL

Penggunaan bahan alam sebagai obat bukanlah hal baru. Sejak ada manusia di permukaan bumi, maka sejak itu pula mereka sudah mengobati penyakit yang dideritanya dengan menggunakan bahan alam (Sutrisno, 1983). Sampai saat ini obat tradisional dianggap dan diharapkan berperan dalam usaha-usaha pencegahan dan pengobatan penyakit. Penggunaan terutama didasarkan pada dugaan-dugaan dan hasil pengalaman atau pengetahuan yang diteruskan secara turun temurun, belum didasarkan pada hasil penelitian (Donatus, 1985). Oleh karena itu, penelitian obat tradisional sangat penting dalam upaya mengembangkan pengobatan alternatif yang berkualitas baik dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

Salah satu tanaman obat tersebut adalah jambu biji (*Psidium guajava* L). Tanaman ini banyak digunakan oleh masyarakat secara tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit antara lain diare, sariawan, dan keputihan (Wijayakusuma, 1994). Buah jambu biji juga digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit demam berdarah, karena seperti yang dikatakan oleh dr Hadi Wibowo, telah banyak pengalaman yang membuktikan bahwa penderita bisa sembuh setelah makan jambu biji (www.suaramerdeka.com, 2003). Selain itu, secara klinis ekstrak daun jambu biji juga telah terbukti bisa menyembuhkan pasien demam berdarah (Achmad, 2001). Namun, belum diketahui secara pasti senyawa apa yang berkhasiat sebagai anti demam berdarah dan bagaimana mekanisme penyembuhan penyakit demam berdarah tersebut.

Demam berdarah dengue (DBD) adalah salah satu keadaan sakit yang disebabkan oleh infeksi virus dengue, yang ditularkan manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypty*. Semula keadaan sakit ini hanya didapatkan pada anak-anak, namun dalam perjalanan alamiahnya, cenderung makin banyak dijumpai pada orang dewasa terutama remaja dan dewasa muda [Soemarsono, 1990]. Virus dengue merupakan bagian dari famili *Flaviviridae*, yang mempunyai empat

serotype yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4. Infeksi oleh salah satu serotype menghasilkan imunitas sepanjang hidup terhadap infeksi ulang oleh serotype yang sama [WHO, 1999].

Salah satu kriteria untuk mendiagnosis demam berdarah dengue ialah trombositopenia (trombosit < 100.000/μL), yang merupakan salah satu sebab perdarahan pada demam berdarah dengue, disamping sebab-sebab lain seperti kerusakan endotel vaskular, defek koagulasi, dan disfungsi trombosit [Sugianto D,*et al.*,1994].

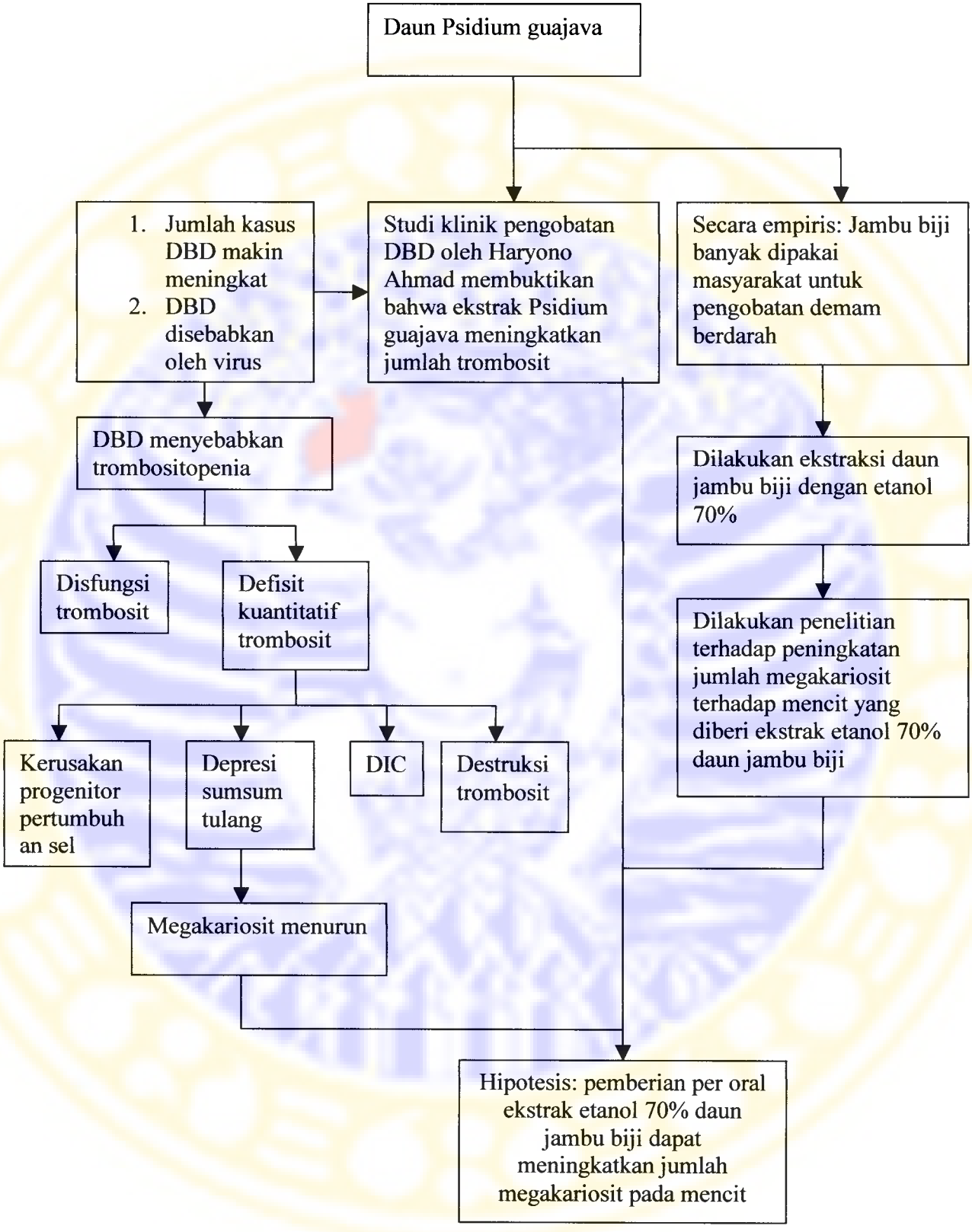
Penelitian sumsum tulang pada pasien demam berdarah dengue menunjukan adanya depresi sumsum tulang yaitu tahap hiposeluler pada hari 3-4 demam dan perubahan patologis sistem megakariosit [Sugianto D,dkk.1994]. Selain itu, ditemukan 52,5% antibodi trombosit positif pada 80 kasus demam berdarah. Patogenesis trombositopenia ini sama dengan penyakit-penyakit virus lain, dimana dengan adanya infeksi virus (dengue) akan mengganggu sistem imun dalam badan kita, antigen ini akan bereaksi dengan trombosit yang beredar dalam sirkulasi. Trombosit yang telah bereaksi dengan auto-antibodi tersebut menjadi lebih rentan untuk dihancurkan oleh sistem retikuloendotelial yang mengakibatkan trombositopenia [L.K.Kho, *et al.*, 1984]. Selain mengalami defisit secara kuantitatif, juga terdapat gangguan fungsi trombosit . Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya sekresi ADP dan metabolit prostasiklin plasma ($PGI_2$). ADP disekresi oleh granula padat yang terdapat dalam trombosit sedangkan $PGI_2$ dibentuk oleh sel endotel dan otot polos pembuluh darah . ADP menginduksi agregasi trombosit terhadap trombosit yang sudah melekat pada dinding pembuluh darah yang rusak, sedangkan $PGI_2$ merupakan inhibitor agregasi trombosit. Efek $PGI_2$ berlawanan dengan ADP. Jadi, trombositopenia pada pasien demam berdarah dengue terjadi karena penurunan produksi, meningkatnya destruksi dan pemakaian trombosit yang berlebihan [Sugianto D, *et al*,1994].

Perawatan di rumah sakit biasanya difokuskan untuk menaikkan kadar trombosit dalam darah dan pemberian cairan infus untuk mencegah dehidrasi. Meskipun transfusi trombosit dapat menurunkan resiko perdarahan sekitar 30%, transfusi menyebabkan komplikasi seperti penyebaran penyakit yang disebabkan

samping transfusi trombosit, untuk menambah jumlah trombosit pada penderita DBD telah dilakukan terapi alternative dengan memberikan kapsul ekstrak jambu biji [ Achmad, H *et al*, 2001].

Badan Pemeriksa Obat dan Makanan mengembangkan ekstrak daun jambu biji untuk mengatasi penyakit demam berdarah dengue, dimana saat ini telah mencapai tahap uji klinis dengan hasil yang sangat menjanjikan. Setelah uji klinis, ternyata ekstrak daun jambu biji dapat meningkatkan jumlah trombosit pasien demam berdarah secara efektif [www.pharmasindo.com ].

Terapi pemberian ekstrak *Psidium guajava* L diduga mempunyai efek inhibisi enzim *reverse transcriptase* merupakan terapi yang aman dan murah. Studi klinik pengobatan DBD menggunakan ekstrak kering daun jambu biji (Psidium guajava L) dengan maksud untuk mempercepat pencapaian jumlah trombosit >100.000/uL oleh Harjono achmad di RS Saiful anwar Malang membuktikan bahwa pemberian 3 kali 2 kapsul (500mg ekstrak kering ) selama 5 hari kepada relawan penderita DBD mempercepat pencapaian jumlah trombosit >100.000/uL pada hari ke 5 [ Achmad, H *et al*, 2001].



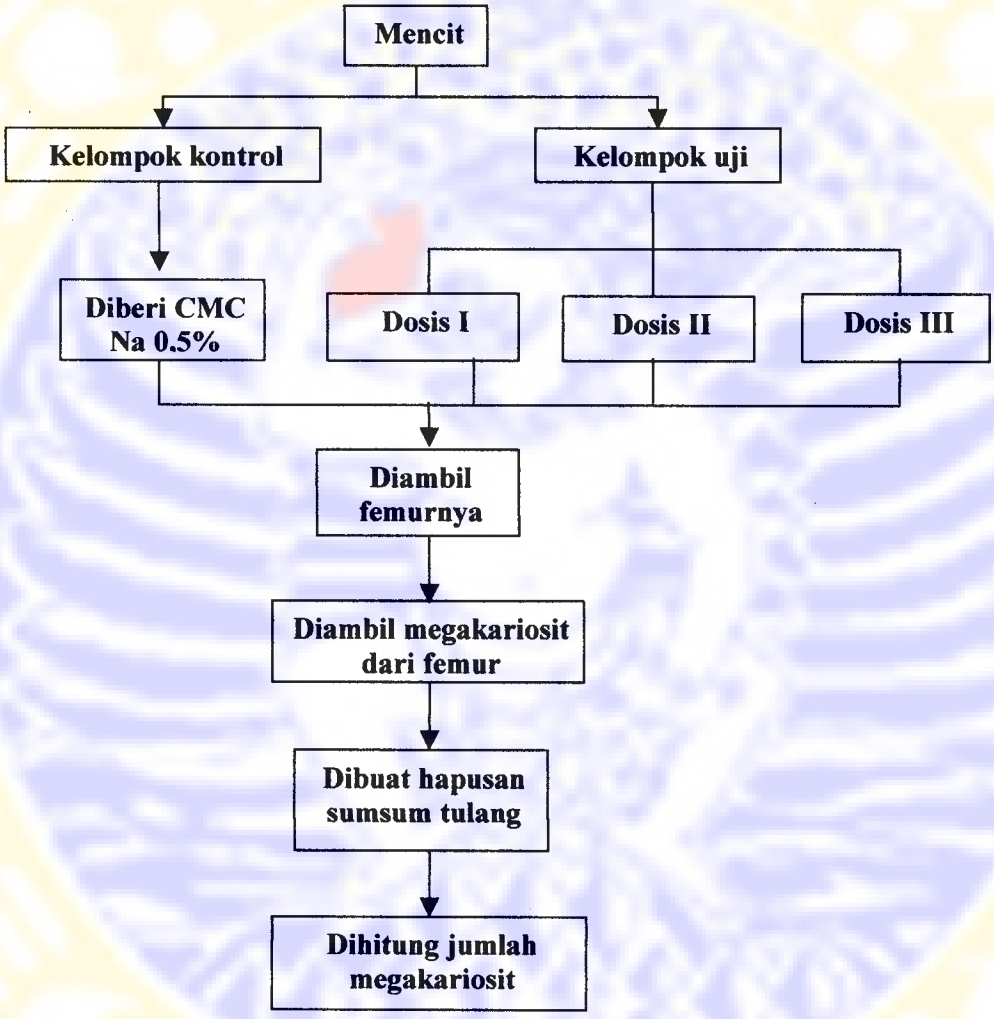

Gambar III.1 Skema Kerangka Konseptual

# BAB IV

# ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN

## 4.1. Rancang Bangun Penelitian

Rancang bangun penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol terhadap peningkatan jumlah megakariosit pada mencit digambarkan sebagai berikut:




Skema IV.1 Rancang Bangun Penelitian

## 4.2 Bahan Penelitian

### 4.2.1 Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah serbuk simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L). Serbuk simplisia daun jambu biji diperoleh dari industri obat tradisional .

### 4.2.2 Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan dengan berat badan tertentu ( 20-30 gram) yang diperoleh dari Pusat Veterenaria Farma (PUSVETMA) Surabaya. Hewan coba dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

- Kelompok perlakuan, terdiri dari tiga subkelompok yang masing-masing terdiri dari 8 ekor hewan percobaan. Masing-masing subkelompok tersebut diberi ekstrak etanol 70% daun jambu biji (dalam suspensi CMC Na 0,5%).
- Kelompok kontrol, terdiri dari 8 ekor hewan percobaan. Kelompok ini diberi suspensi CMC Na 0,5%

### 4.2.3 Bahan Kimia

- Saline
- CMC Na
- Metanol
- Etanol

### 4.2.4 Alat

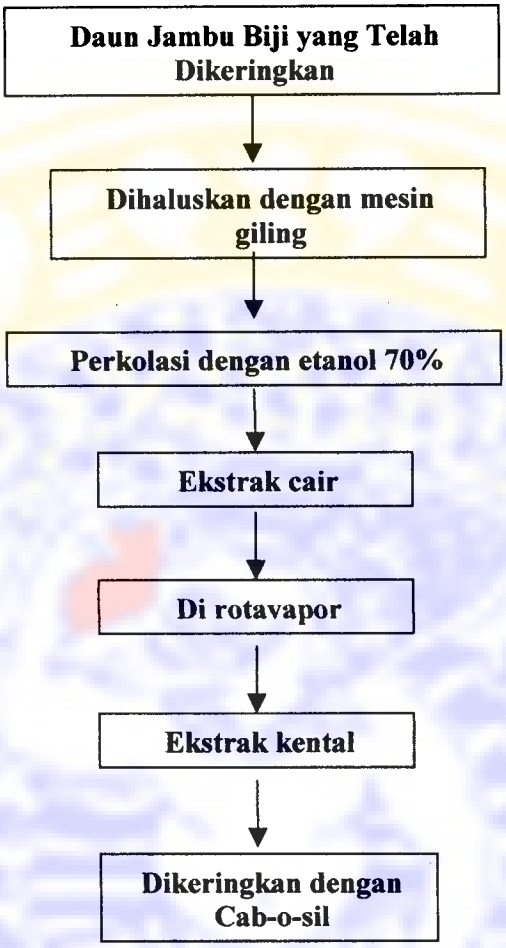
- Beaker glass
- Cawan penguap
- Batang pengaduk
- Gelas ukur
- Sonde
- Srynge
- Peralatan bedah
- Mikroskop
- Spuit injeksi
- Densitometer

## 4.3 Cara kerja

### 4.3.1 Persiapan Ekstrak Etanol 70%

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode ekstraksi perkolasi dengan cara kerja sebagai berikut :

1. Serbuk simplisia ditimbang secara seksama sebanyak 500 g, kemudian dibasahi dalam wadah dengan alkohol 70%
2. serbuk simplisia yang sudah terbasahi secara keseluruhan dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan dengan hati-hati kemudian dituangi alkohol 70% secukupnya sampai cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih ada kira-kira 3 – 5 cm cairan alkohol 70%.
3. Perkolator ditutup rapat, dibiarkan selama 24 jam kemudian diteteskan dengan kecepatan 1 ml/menit. Setiap hari filtrat ditampung sekitar 500 ml.
4. Filtrat dikumpulkan setelah dilakukan beberapa kali penampungan dan penambahan pelarut yang selalu baru tiap kali selesai menampung filtrat.
5. Untuk perkolasi secara keseluruhan dibutuhkan alkohol 70% sebanyak 5 L.
6. Filtrat yang terkumpul dipekatkan dengan rotavapor hingga didapat ekstrak kental sama dengan berat serbuk simplisia.
7. Ekstrak dikeringkan dengan penambahan Cab – O – Sil sebanyak 20 g. Hasil pengeringan ekstrak tersebut selanjutnya disebut Bulk dan digunakan untuk tahapan selanjutnya.




Skema IV.2 Pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu biji

**4.3.2 Perhitungan Dosis dan Pembuatan Sediaan Per Oral**

Berdasarkan studi klinis yang telah dilakukan oleh Harijono Achmad pada pasien demam berdarah di RS Syaiful Anwar Malang, maka dosis yang dipakai adalah ekstrak yang setara dengan 5,31 mg kuersetin per 50 kg berat badan manusia. Sediaan oral yang diberikan pada hewan coba dibuat bentuk suspensi dalam CMC Na 0,5%.

### 4.3.3 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

- Mencit kelompok uji diberi perlakuan pemberian per-oral ekstrak etanol 70% daun jambu biji , sedangkan kelompok kontrol diberi CMC Na 0,5% selama 6 hari
- Setelah 6 hari pemberian peroral ekstrak etanol 70% daun jambu biji selanjutnya semua mencit dibunuh.
- Semua mencit diambil femurnya untuk pemeriksaan sumsum tulang
- Femur dipotong di kedua sisinya, sumsum tulang dikeluarkan dengan bantuan spuite yang berisi salin sebanyak 0,05 ml, ditampung dalam mikrotiter.
- Di ambil 20 µL dari mikrotiter untuk dibuat preparat hapusan sumsum tulang
- Dilakukan pemeriksaan mikroskopis, terutama terhadap jumlah morfologi dari megakariosit, dibandingkan antara mencit kelompok uji dengan kelompok kontrol.

## 4.4 Uji Kualitatif Ekstrak

Untuk mengetahui adanya senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% daun jambu biji (*Psidium guajava* L), dilakukan uji kualitatif ekstrak dengan memisahkan senyawa-senyawa tersebut berdasarkan sifat polaritasnya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. Uji ini dilakukan dengan menggunakan standar kuersetin sebagai pembanding. Eluen atau fasa gerak yang bisa digunakan adalah kloroform : aseton : asam formiat = 15 : 3,3 : 2,5 (v/v)

Cara kerja uji kualitatif ekstrak tersebut adalah :

1. Diambil masing-masing bahan yang akan digunakan sebagai eluen sesuai dengan komposisinya.
2. Eluen tersebut dimasukkan ke dalam masing-masing bejana dan menutupnya dengan rapat, dibiarkan beberapa saat sampai eluen jenuh.
3. Dibuat larutan ekstrak etanol 70% :
   a. ditimbang ekstrak etanol 70% sebanyak 25 mg.

b. ekstrak etanol 70% tersebut dilarutkan dalam 1 mL etanol 70%.
c. standar kuersetin dilarutkan secukupnya dalam pelarut yang sama.
d. lempeng aluminium TLC Silika Gel F254 yang akan digunakan disiapkan.
e. masing-masing larutan fraksi ditotolkan pada lempeng fasa diam yaitu Lempeng aluminium TLC Silika Gel F254 dengan menggunakan pipa kapiler berukuran 2 μL, sebanyak 3 totolan untuk ekstrak dan 1 totolan untuk standar.
f. masing-masing lempeng yang telah berisi totolan sampel dimasukkan ke dalam masing-masing bejana eluasi, kemudian bejana ditutup rapat. Dieluasi hingga batas yang telah ditentukan pada lempeng fasa diam.
g. Setelah eluasi selesai, masing-masing lempeng dipayar dengan sinar ultraviolet. Hal ini dilakukan untuk mengetahui adanya noda-noda senyawa yang tampak pada masing-masing sampel yang ditotolkan.
h. Masing-masing noda dianalisis pada panjang gelombang 254 nm dan 360 nm untuk mendapatkan profil kromatogramnya dengan TLC Scanner-densitometer.

**4.5 Prosedur Penetapan Kadar Kuersetin**

Sampel sebelum di analisis dengan KLT-densitometer dilakukan perlakuan sebagai berikut:

1. Sampel (bulk ekstrak alkohol 70%) sebanyak 250,0 mg ditambah 21ml metanol dan 0.6 ml HCl 57% v/v (dihitung dari pengenceran HCl pekat dengan air) kemudian di refluks dalam labu alas bulat.
2 Hidrolisis dilakukan selama 30 menit pada suhu $70^0$ C
3. Hasil hidrolisis dimasukkan dalam labu ukur 25,0 ml dan di tambah metanol sampai volume tepat 25,0 ml.

Pada penetapan kadar kuersetin, sampel yang sudah diproses seperti diatas kemudian ditotolkan pada plate KLT bersama dengan larutan standar kuersetin dalam metanol konsentrasi 250, 500, 750, 1000, 1500, dan 1750 ppm. Plate ini lalu dieluasi dengan fase gerak dan dianalisis dengan KLT- densitometer pada panjang gelombang 375nm untuk mengukur area noda.

**Kondisi KLT**

a. Fase diam : plate silika gel 60 F 254

b. Fase gerak : kloroform : aseton : asam formiat = 150:33:17

**4.6 Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova pada tingkat kepercayaan 95%. Analisis anova yang digunakan adalah satu arah (*one way anova*) dengan rancangan CRD (*Completely Randomized Design*). Dari hasil perhitungan, apabila didapatkan nilai Fsig lebih kecil dari 0,05, maka menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna satu pasang kelompok atau lebih. Perhitungan dilanjutkan dengan uji *Honestly Significant Difference* (HSD test) untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna[Daniel, 1995].

**TABEL IV.1 Analisis Data Hasil Penghitungan Jumlah Megakariosit Per satuan Luas Pandang**

| No | Kelompok 1 (Kontrol) | Kelompok 2 (Dosis I) | Kelompok 3 (Dosis II) | Kelompok 4 (Dosis III) |
|---|---|---|---|---|
| 1. | | | | |
| 2. | | | | |
| 3 | | | | |
| 4. | | | | |
| 5. | | | | |
| 6. | | | | |
| 7. | | | | |
| 8. | | | | |

# BAB V

# HASIL PENELITIAN

## 5.1 Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan metode maserasi-perkolasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil tampungan kemudian dipekatkan dengan rotavapor dan dikeringkan dengan menambahkan cab-o-sil.

Tabel V.1 Hasil pembuatan ekstrak etanol 70%

| Ekstrak etanol | Berat serbuk daun (kg) | Volume pelarut total (L) | Penambahan Cab-o-Sil (g) | Bulk ekstrak (g) | Ekstrak kering (g) |
|---|---|---|---|---|---|
| Etanol 70% | 0,5 | 5 | 20 | 118,6756 | 98,6756 |

## 5.2 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak

Dengan menggunakan fase gerak kloroform: aseton: asam formiat = 15 : 3,3 : 2,5 didapatkan hasil sebagai berikut :

1 2

Gambar V.1 Hasil KLT dengan fase gerak
kloroform : aseton : asam formiat ( 15 : 3,3 : 2,5)

Keterangan : 1. Standar Kuersetin

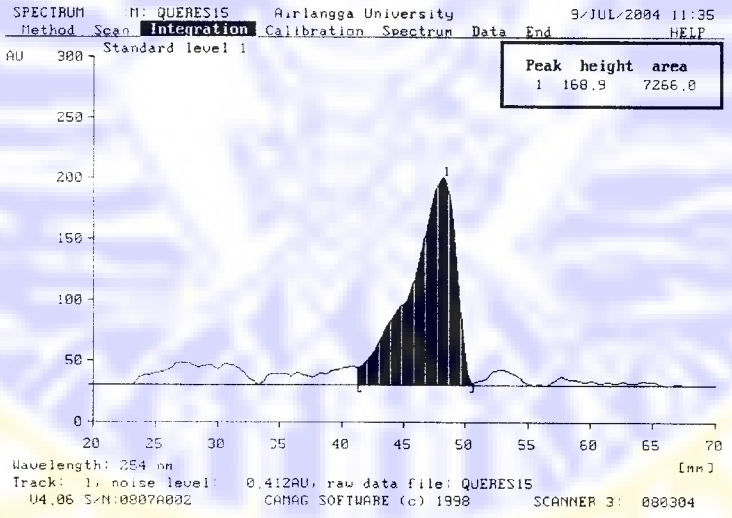
2. Ekstrak etanol 70% daun jambu biji

Tabel V.2 Nilai Rf pada standar kuerseti dan sampel

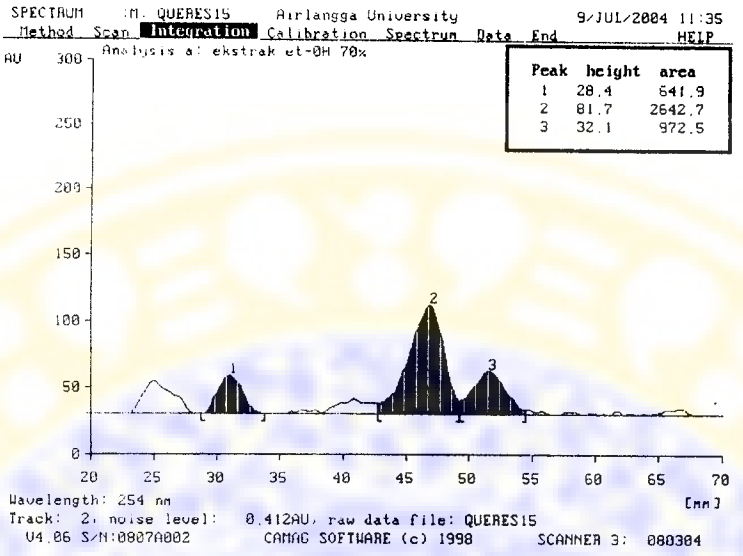
| | | |
|---|---|---|
| a. pada λ = 254nm | Rf standar kuersetin | 0,42 |
| | Rf sampel | 0,20 |
| | | 0,40 |
| | | 0,46 |
| b. pada λ = 360nm | Rf standar kuersetin | 0,42 |
| | Rf sampel | 0,20 |
| | | 0,40 |
| | | 0,46 |

Profil kromatogram pada panjang gelombang 254 nm dan 360nm terdapat beberapa area puncak .

1. Profil Kromatogram Bahan Uji pada λ = 254 nm dengan eluen kloroform : aseton : asam formiat ( 15 : 3,3 : 2,5)

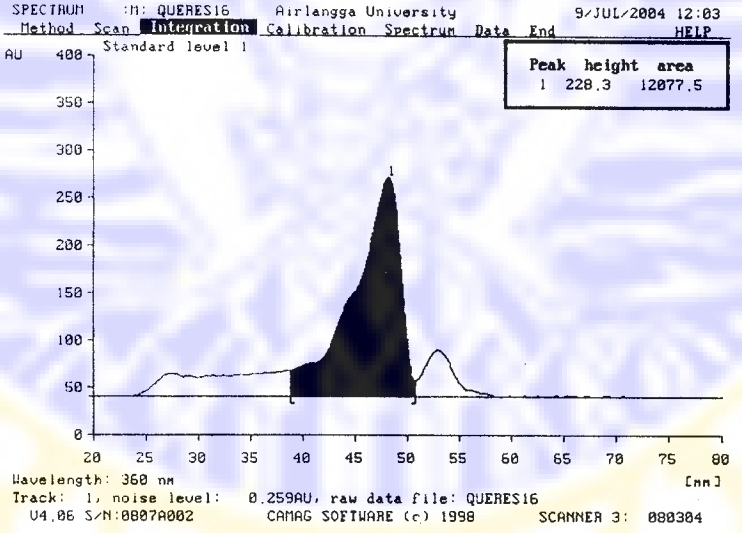



Gambar V.2 Profil kromatogram standar kuersetin yang dipayar dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm

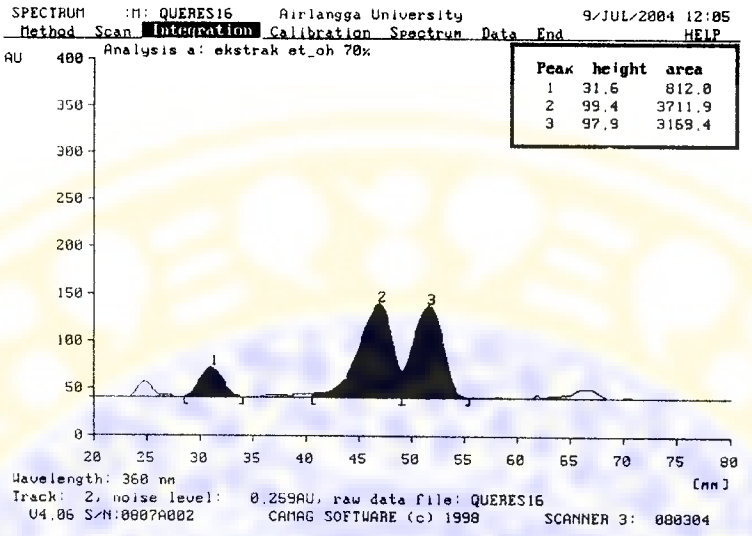



Gambar V.3 Profil kromatogram sampel (ekstrak etanol 70% daun jambu biji) yang dipayar dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm

2. Profil Kromatogram Bahan Uji pada λ = 360 nm dengan eluen kloroform : aseton : asam formiat ( 15 : 3,3 : 2,5)




Gambar V.4 Profil kromatogram standar kuersetin yang dipayar dengan densitometer pada panjang gelombang 360 nm




Gambar V.5 Profil kromatogram sampel (ekstrak etanol 70% daun jambu biji) yang dipayar dengan densitometer pada panjang gelombang 360 nm

## 5.3 Hasil Penentuan Kadar Kuersetin Dalam Ekstrak

Tabel V.2 Hasil Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Ekstrak Etanol 70% Daun Jambu Biji (Bulk) yang dianalisis dengan KLT-Densitometri

| No | Berat bulk ekstrak (mg) | λ 375 nm | |
|---|---|---|---|
| | | Area noda | Kadar dalam bulk (%) |
| 1 | 250,1 | 7614,7 | 2,47 |
| 2 | 249,4 | 7601,3 | 2,47 |
| 3 | 250,2 | 7659,4 | 2,45 |
| 4 | 249,7 | 7469,0 | 2,45 |
| 5 | 250,0 | 7857,3 | 2,47 |

Pada panjang gelombang 375 nm : Kadar rata rata dalam ekstrak: 2,46%

Standar deviasi (SD) : 0,01

## 5.4 Perhitungan Dosis dan Pembuatan Sediaan Per Oral

Berdasarkan studi klinis yang telah dilakukan oleh Harijono Achmad pada pasien demam berdarah di RS syaiful Anwar Malang, maka dosis yang dipakai adalah ekstrak yang setara dengan 5,31 mg kuersetin per 50 kg berat badan

manusia. Dari penetapan kadar kuersetin ekstrak etanol 70% daun jambu biji diperoleh kadar 2,46%. Kemudian dikonversikan dengan dosis studi klinis:

$$\frac{5,31}{2,46} \times 100 \text{ mg} = 215,854 \text{ mg/ 50 kg BB manusia}$$

Nilai konversi manusia terhadap mencit:

Manusia dengan BB 50 kg = 0,0036 mencit dengan BB 20 g

Dosis kuersetin untuk mencit = 0,0036 x 215,854 mg

= 0,777 mg / 20 g BB mencit

Pada penelitian ini digunakan tiga macam dosis yang berbeda, yaitu setengah dosis, satu dosis, dan dua kali dosis diatas, sehingga diperoleh:

Dosis 1 (setengah dosis) = 0,389 mg /20g BB mencit

Dosis 2 (satu dosis) = 0,777 mg /20g BB mencit

Dosis 3 (dua dosis) = 1,554 mg /20g BB mencit

Untuk membuat sediaan yang diberikan secara per oral pada mencit, ekstrak etanol 70% daun jambu biji dengan tiga macam dosis yang berbeda tersebut masing-masing dibuat suspensi dalam 0,5% CMC Na.

## 5.4 Data Penghitungan Jumlah Megakariosit

Perhitungan megakariosit dilakukan dengan cara menghitung jumlah megakariosit pada preparat hapusan sumsum tulang per satuan luas pandan dengan perbesaran mikroskop 400x

Tabel V.3 Data Penghitungan Jumlah Megakariosit
Per Satuan Luas Pandang

| No | Kontrol | Dosis 1 | Dosis 2 | Dosis 3 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 7 | 14 | 11 | 17 |
| 2 | 5 | 16 | 13 | 21 |
| 3 | 9 | 11 | 12 | 22 |
| 4 | 5 | 16 | 14 | 19 |
| 5 | 7 | 17 | 16 | 16 |
| 6 | 7 | 17 | 13 | 18 |
| 7 | 5 | 14 | 13 | 16 |
| 8 | 4 | 13 | 12 | 15 |
| Rata-rata | 6,1 | 14,8 | 13,0 | 18,0 |

ADLN - Perpustakaan Unair

k = 4 (Jumlah kelompok)
N = 32 (Jumlah data keseluruhan)

Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova pada tingkat kepercayaan 95%. Analisis anova yang digunakan adalah satu arah (*one way anova*) dengan rancangan CRD (*Completely Randomized Design*).

Tabel V.4 Hasil Data penghitungan Jumlah Megakariosit Per Satuan Luas Pandang

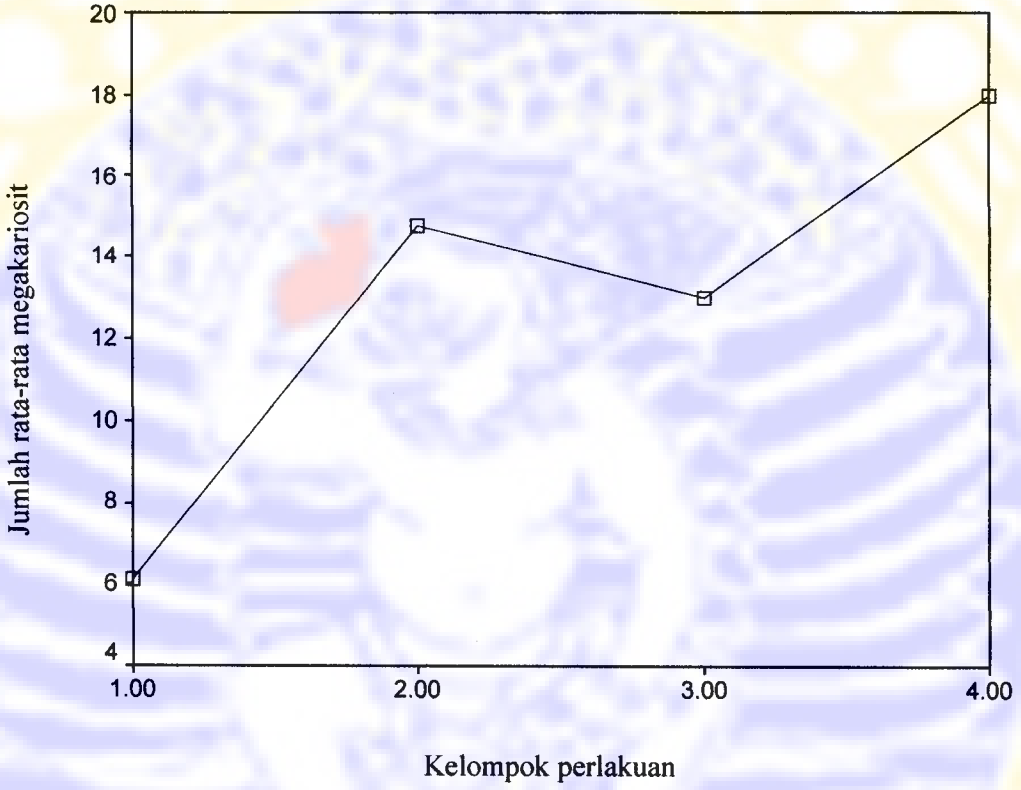
| | Sum of Squares (SS) | df | Mean Square (MS) | Fhitung | FSig |
|---|---|---|---|---|---|
| Between group | 602,594 | k-1<br>4-1=<br>3 | 200,865 | 200,865/3,942=<br>50,955 | 0.000 |
| Within group | 110,375 | N-k<br>32-4=<br>28 | 3,942 | | |
| Total | 712,969 | N-1<br>32-1=<br>31 | | | |

Karena harga FSig < 0,005, maka Ho ditolak, Ha diterima sehingga ada perbedaan bermakna minimal satu pasang pada keempat kelompok mencit tersebut. Pada Anava CRD, apabila Ha diterima, maka untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda bermakna, maka digunakan Post Hoc Test, yaitu HSD (Honestly Significant Difference) atau LSD (Least Significant Difference).

Dari hasil Post Hoc Tests yaitu Tukey HSD (hasil terlampir), maka didapat kesimpulan:

1. Ada perbedaan bermakna jumlah megakariosit pada kelompok kontrol dengan kelompok dosis 1.
2. Ada perbedaan bermakna jumlah megakariosit pada kelompok kontrol dengan kelompok dosis 2.
3. Ada perbedaan bermakna jumlah megakariosit pada kelompok kontrol dengan kelompok dosis 3.

4. Ada perbedaan bermakna jumlah megakariosit pada kelompok dosis 1 dengan kelompok dosis 3.
5. Ada perbedaan bermakna jumlah megakariosit pada kelompok dosis 2 dengan kelompok dosis 3.




Gambar V.6 Grafik jumlah rata-rata megakariosit pada tiap-tiap kelompok

Ket:
1.00 : kelompok kontrol
2.00 : kelompok dosis 1 (0,389 mg/20 BB mencit)
3.00 : kelompok dosis 2 (0,777 mg/20 BB mencit)
4.00 : kelompok dosis 3 (1,554 mg/20 BB mencit)

# BAB VI
# PEMBAHASAN

Penggunaan bahan alam sebagai pengobatan alternatif untuk suatu penyakit telah banyak dilakukan. Sejak dahulu, nenek moyang kita telah menggunakan tanaman dalam mengobati penyakit. Salah satu tanaman yang berkhasiat dalam pengobatan suatu penyakit adalah jambu biji ( *Psidium guajava*). Jambu biji digunakan sebagai obat sariawan, diare, dan keputihan. Secara empiris, jambu biji juga telah banyak digunakan masyarakat untuk mengatasi demam berdarah, karena telah banyak pengalaman yang membuktikan bahwa penderita dapat sembuh setelah makan jambu biji. Namun, belum diketahui secara pasti senyawa apa yang berkhasiat sebagai anti demam berdarah dan bagaimana mekanisme penyembuhan penyakit demam berdarah tersebut.

Dari studi klinis yang telah dilakukan oleh Harijono Achmad membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat meningkatkan jumlah trombosit pada pasien demam berdarah secara efektif, dan didukung penelitian sebelumnya bahwa kuersetin mampu menurunkan permeabilitas vaskular (skaper, 1997) maka diharapkan ekstrak etanol 70% daun jambu biji yang juga mengandung kuersetin dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk demam berdarah. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk membuktikan apakah ekstrak daun jambu biji mampu meningkatkan jumlah megakariosit dengan asumsi jika megakariosit meningkat maka trombosit meningkat, karena salah satu temuan data laboratorium pada pasien demam berdarah adalah trombositopenia. Pada penelitian ini dilakukan pada mencit yang di beri ekstrak etanol 70% daun jambu biji.

Hewan coba yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculinus*) strain Balb C dan berjenis kelamin jantan. Penggunaan mencit ini karena harganya yang lebih murah, mudah di dapat, dan penanganannya mudah. Selain itu, mencit tidak muntah jika diberi sediaan uji per oral karena struktur anatominya yang tidak lazim yaitu esofagusnya bermuara di dalam lambung ( Semler, 1990). Hewan coba ini dapat menunjukkan variasi respon biologis meskipun berasal dari strain yang sama, oleh karena itu jenis kelamin, umur, lingkungan hidup dan

makanannya diusahakan sama. Adapun mencit yang digunakan adalah mencit jantan dengan usia 3 bulan dan berat badan 20-30 gram.

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dengan cara maserasi-perkolasi dengan pelarut etanol 70%. Alasan digunakan cara maserasi-perkolasi karena metode ekstraksi ini memiliki banyak keuntungan, antara lain dapat digunakan untuk sampel dalam jumlah yang besar. Selain itu, pada proses perkolasi terjadi reaksi yang berjalan ke kanan, artinya setelah zat aktif mengadakan kesetimbangan dengan pelarut, zat aktif tersebut tidak akan berdifusi kembali ke dalam sel, karena adanya proses pengaliran dari miscella( sample yang terlarut). Hal ini menyebabkan sebagian besar zat aktif akan terekstraksi.

Ekstrak etanol 70% daun jambu biji yang digunakan untuk bahan uji, terlebih dahulu dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung dalam bahan uji tersebut, terutama untuk memastikan adanya senyawa kuersetin dalam bahan uji, yang digunakan sebagai senyawa marker untuk perhitungan dosis bahan uji. Metode yang digunakan untuk uji kualitatif ekstrak ini adalah KLT-Densitometri.Dengan menggunakan fase gerak kloroform: aseton: asam formiat = 15 : 3,3 : 2,5 (v/v), diperoleh harga Rf sampel dan profil kromatogram yang akan dibandingkan dengan standar kuersetin.

Berdasarkan hasil uji kualitatif ekstrak menggunakan fase gerak kloroform: aseton: asam formiat = 15 : 3,3 : 2,5, diperoleh harga Rf standar kuersetin 0,42, sedangkan pada sampel diperoleh tiga macam harga Rf, yaitu 0,40; 0,46 dan 0,20. Harga Rf sampel yang relatif sama dengan standar menunjukkan bahwa dalam ekstrak tersebut terdapat senyawa yang sama dengan standar yaitu kuersetin. Selanjutnya hasil KLT ini dipayar dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 360 nm. Hasil densitometri dari KLT menunjukkan bahwa salah satu dari tiga jarak puncak profil kromatogram sampel sama dengan jarak puncak profil kromatogram standar. Dari data-data tersebut dapat diketahui bahwa di dalam bahan uji terdapat senyawa kuersetin dan kandungan senyawa lainnya.

Penetapan kadar kuersetin dilakukan secara KLT- Densitometri pada panjang gelombang 375 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimum dari

kuersetin. Dari penetapan kadar ini diperoleh rata-rata kandungan kuersetin dalam ekstrak etanol 70% daun jambu biji yaitu 2,46%. Perhitungan dosis untuk sediaan oral yang diberikan pada mencit berdasarkan studi klinis yang telah dilakukan Harijono Acmad terhadap pasien demam berdarah di RS Syaiful Anwar Malang yaitu ekstrak yang setara dengan 5,31 mg kuersetin untuk 50 kg BB manusia. Selanjutnya, dosis ini dikonversikan ke mencit dengan nilai konversi 0,0036 untuk mencit dengan berat badan 20 g sehingga diperoleh untuk Dosis1 (setengah dosis) : 0,389 mg / 20 g BB mencit; dosis 2 (satu dosis): 0,777 mg / 20 g BB mencit; dosis 3 (dua kali dosis) 1,554 mg / 20 g BB mencit. Tujuan dari pembuatan tiga macam dosis ini adalah untuk mengetahui hubungan antara dosis dengan aktivitas yang diharapkan. Untuk membuat sediaan yang diberikan secara per oral pada mencit, ekstrak etanol 70% daun jambu biji dengan tiga macam dosis yang berbeda tersebut masing-masing dibuat suspensi dalam 0,5% CMC Na, sedangkan kelompok kontrol hanya diberi CMC Na 0,5%.

Pengujian aktivitas ekstrak daun jambu biji terhadap peningkatan jumlah megakariosit ini dilakukan dengan memberikan suspensi ekstrak etanol 70% daun jambu biji dalam CMC Na 0,5% pada hewan coba selama 6 hari. Mencit dibunuh pada hari ke tujuh untuk diambil tulang femurnya, dikeluarkan sumsum tulangnya dengan bantuan saline 0.05 ml dan dibuat preparat hapusan sumsum tulang pada obyek glass sebanyak 20 μL, difiksasi dengan metanol sampai kering, kemudian diwarna dengan pewarnaan giemsa. Pewarnaan giemsa yang digunakan diencerkan 10x. Untuk pengeluaran sumsum tulang dengan bantuan saline dan pengambilan sumsum tulang untuk pembuatan hapusan harus selalu sama yaitu 0,05 ml dan 20μL karena diharapkan preparat hapusan yang dibuat seragam dan dapat menggambarkan hasil sesungguhnya. Setelah preparat hapusan jadi, dihitung jumlah megakariosit per satuan luas pandang dari tiap-tiap kelompok uji maupun kontrol.

Hasil perhitungan jumlah megakariosit dari tiap-tiap kelompok uji maupun kontrol dianalisis dengan Anava One way dengan rancangan CRD pada derajat kepercayaan 95%, diperoleh harga signifikan lebih kecil 0,05 yaitu 0,000. Dengan demikian dapat diambil kesimpulan bahwa ada perbedaan bermakna antara satu pasang kelompok atau lebih. Untuk mengetahui secara pasti kelompok mana yang

ADLN - Perpustakaan Unair

mempunyai perbedaan bermakna maka uji tersebut dilanjutkan dengan uji HSD.Dari hasil analisis HSD dapat disimpulkan ada perbedaan bermakna jumlah megakariosit antara kelompok kontrol dengan kelompok dosis 1, dosis 2, dan dosis 3; ada perbedaan bermakna antara kelompok dosis 1 dengan dosis 3; ada perbedaan bermakna antara kelompok dosis 2 dengan dosis 3.

Karena hasil dari penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun jambu biji ini dapat meningkatkan jumlah megakariosit pada mencit, maka ekstrak ini dapat meningkatkan jumlah trombosit, karena trombosit terbentuk dari sitoplasma megakariosit. Jadi, semakin banyak megakariosit maka semakin banyak trombosit yang terbentuk. Seperti pada temuan data laboratoriun pada pasien demam berdarah yaitu trombositopenia dimana jumlah trombosit < 100.000/mm$^3$, maka jika ekstrak ini dapat meningkatkan jumlah megakariosit maka trombosit ikut meningkat pula.

Namun, dalam penelitian ini belum diketahui senyawa dalam ekstrak yang berperan dalam peningkatan jumlah megakariosit dan bagaimana mekanismenya masih merupakan tanda tanya. Karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang berperan aktif dalam peningkatan jumlah megakariosit.

# BAB VII
# KESIMPULAN DAN SARAN

## 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian terhadap pengaruh ekstrak etanol 70% daun jambu biji (*Psidium guajava* L) terhadap jumlah megakariosit pada mencit dapat disimpulkan bahwa pemberian per oral ekstrak etanol 70% daun *Psidium guajava* L. dapat meningkatkan jumlah megakariosit pada dosis 0,389 mg /20 BB mencit ; 0,777 mg/20 BB mencit; dan 1,554 mg/20 BB mencit.

## 7.2 Saran

Dari hasil penelitian ini masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang berperan dalam peningkatan jumlah megakariosit.

# DAFTAR PUSTAKA

Abbas, A.K., Litchman, A.H., Pober JS, 1991. ***Cellular and Molecular Immunology***. Philadelphia ; WB Saunders company, p. 240-242

Achmad, H., 2001, Pengaruh Pemberian Ekstrak Psidium guajava Terhadap Jumlah Trombosit Pada Penderita Demam Berdarah Dengue di Bangsal rawat Inap Penyakit Dalam RSUD Dr. Saiful Anwar. ***Majalah Kedokteran Unibraw,*** No.1, Vol. XVII April 2001

Anonim, 1995, ***Farmakope Indonesia,*** Edisi IV, Jakarta: Departemen Kesehatan RI, hal 7

Anonim, 1977, ***Materia Medika Indonesia,*** Jilid 1, Jakarta: Departemen kesehatan RI, Hal. 90-94.

Anonim, 2000, ***Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat,*** Jakarta: Departemen Kesehatan RI, hal 7-11

Anonim, 2003. ***Jambu Klutuk yang Tersisa dari Ngaliyan,*** http://www.suaramerdeka.com/harian/0306/30/kot4.htm, diakses tanggal 8 November 2003

Daniel, W.W., 1995. ***Biostatistics, A fundation for analysis in The Health Sciences***, Ed. 6th, New York : John Willey&Sons

***Daun Jambu Biji Manjur Untuk Demam Berdarah*** [online] 2003 [diakses tanggal 4 September 2003], Diambil dari: http://www.pharmashindo.com/Details.asp?

Donatus, I.A., 1985. ***Toksikologi Dasar,*** edisi ketiga, Yogyakarta : Gajah Mada University Press

Gibson, Robert V., ***Dengue :An Escalating Problem*** [online] 2002 [ diakses tanggal 4 September 2003], Di ambil dari: http://www.vaccinationnews.com/daily News/June2002/Dengue28.htm

Gosh, M.N., 1971. ***Fundamentals of Experimental Pharmacology.*** Calcuta : Scientific Book Agency

Kho, L.K., Leman, H., Choeswati, S. dan Himawan, T., 1984, Antibodi Trombosit pada Demam Berdarah, ***Majalah Jurnal Kedokteran dan Farmasi*** , No. 8 th.10, Hal 593.

List, P.H. and Schmidt, P.C., 1989, ***Phytopharmaceutical Technology*** , Boston: CRC Press , pp. 107-109.

Maat, Suprapto., 1999. ***Kultur Jaringan***, Surabaya: Lab/ Instal. Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga RSUD Dr. Soetomo. Hal 7.

Mardisiswojo, S., Rajakmangunsudarso, H., 1985, ***Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang***, Jakarta: PN Balai Pustaka, Hal.86.

Pallister, C., 1994, ***Blood Physiology and Pathophysiology***, London: The Bath Press, pp 450-453.

Price, S.A., dan Wilson, L.M., 1992. ***Patofisiology : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit***, edisi keempat, Jakarta : Penerbit : Buku Kedokteran EGC, hal 561-563.

Ritschel, W.A., 1974. ***Laboratory manual of Biopharmaceutis and Pharmacokinetics***. Drug Intellegence publications, Inc

Semler, David E., dkk, 1992, ***Animal Models in toxicology***,Edited by Sahyne Cox Gog and Christopher P. Changelis, Mercel Dekker Inc, New York, hal. 68, 112-113.

Sumarmo, PS., 1999, Masalah Demam Berdarah Dengue di Indonesia, Dalam: Sri Rejeki dan Hindra IS, ***Pelatihan bagi Dokter Spesialis Anak dan Dokter Penyakit Dalam dalam Tatalaksana kasus DBD***, Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal. 1-12.

Soemarsono, 1990, Aspek Klinik Demam Berdarah Dengue Pada Penderita Dewasa, Budi Haryono, Sri rejeki, Suharyono W, I Made Djaja, ***Berbagai Aspek Demam Berdarah Dengue Dan Penanggulangannya***,Depok, Hal 63.

Soegijanto, S., ***Pola Klinis Setiap Serotipe Virus dan Penatalaksanaannya*** [online] 1999 http://www. Pediatric.com/kanal-karya_ tulis_ ilmiah/ POLA KLINIS.htm

Suroso, T., 1990. ***Demam Berdarah Dengue ; Situasi, Masalah dan Program Pemberantasannya di Indonesia.*** Laporan Semiloka, Jakarta : Pusat penelitian kesehatan lembaga penelitian UI

Sutrisno, B., 1983. ***Tanaman Obat Keluarga***, Jakarta : Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Departemen Kesehatan RI

Sugianto, D. dkk, 1994, Perubahan Jumlah Trombosit pada Demam Berdarah Dengue, ***Cermin Dunia kedokteran***, no.92, Hal. 14.

Tjitrosoepomo, G., 1988, ***Taksonomi tumbuhan***, Yogyakarta: Gajah Mada University Press, hal. 219-222.

Tzebg, S.H., Ko, W.C., F.N., 1991., Inhibition of platelet by some Flavonoid:***Thromb Res***, Oct : 64(1) :91-100, Taiwan : Departement of Pharmacology, Taipeh Medical College :www.Left org diakses tanggal 15 mei 2004

WHO, 1999, ***Demam Berdarah Dengue: Diagnosis, Pengobatan, Pencegahan, dan Pengendalian***, Edisi kedua, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, hal.10-16

Wijayakusuma, H., 1994. ***Tanaman Obat Berkasiat di Indonesia***, jilid kedua, Jakarta : Pustaka Kartini, hal. 61-63

Wuryadi, S., 1990. Pengamatan Virus Dengue dan penderita DBD di Indonesia tahun 1975-1988. ***Laporan Semiloka***, Jakarta : Pusat penelitian kesehatan lembaga penelitian UI.

**Lampiran 1**

## LAPORAN PEMERIKSAAN TANAMAN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L)

**INDUSTRI OBAT TRADISIONAL**

**TRADIMUN**

Kantor
Alamat Jl. Manggis Timur No. 11
Gresik, Jawa Timur
Telepon (031) 3984554, (031) 3975122

Facsimile (031) 3984554
E-mail tradimun@yahoo.com

**LAPORAN PEMERIKSAAN**

Nama sediaan: Psidii folium
Asal simplisia: Agronomi
Tanggal penerimaan: [illegible] 2003
Tanggal pemeriksaan: [illegible] April 2003
Pustaka: MMI 1977

| No. | PEMERIKSAAN | SPESIFIKASI SYARAT | HASIL |
|---|---|---|---|
| I | PEMERIAN | | |
| | • Bau | Khas aromatik | Khas aromatik |
| | • Rasa | Kelat | Kelat |
| | • Warna | Hijau kecoklatan | Hijau kecoklatan |
| II | IDENTIFIKASI | | |
| | warna, 2 mg sediaan | | |
| | 5 tetes H2SO4 (P) | Coklat | Coklat |
| | 5 tetes H2SO4 70% (P) | Kuning kehijauan | Kuning kehijauan |
| | 5 tetes HCl (P) | Kuning kehijauan | Kuning kehijauan |
| | 5 tetes Amonia 25% | Kuning kehijauan | Kuning kehijauan |

Dengan ini menyatakan sediaan yang dikirim ke Fakultas Farmasi Universitas Airlangga untuk penelitian tentang daunan berkhasiat berasal dari simplisia Psidii folium

Mengetahui

TRADIMUN

(Drs. Prajitno Maar)

**Lampiran 2**

Tabel Perbandingan Luas Permukaan Tubuh Beberapa Hewan Coba dan Manusia Untuk Perhitungan Dosis

| | Mencit 20 g | Tikus 200 g | Marmot 400 g | Kelinci 1,5 kg | Anjing 12 kg | Manusia 70 kg | Manusia 50 kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mencit 20 g | 1,0 | 7,0 | 12,25 | 27,8 | 124,2 | 387,9 | 277,1 |
| Tikus 200 g | 0,14 | 1,0 | 1,74 | 3,9 | 17,8 | 56,0 | 39,9 |
| Marmot 400 g | 0,08 | 0,57 | 1,0 | 2,25 | 10,2 | 31,5 | 22,5 |
| Kelinci 1,5 kg | 0,04 | 0,25 | 0,44 | 1,0 | 4,5 | 14,2 | 10,1 |
| Anjing 12 kg | 0,008 | 0,06 | 0,10 | 0,22 | 1,0 | 3,1 | 2,2 |
| Manusia 70 kg | 0,0026 | 0,018 | 0,031 | 0,07 | 0,32 | 1,0 | 0,07 |
| Manusia 50 kg | 0,0036 | 0,025 | 0,043 | 0,10 | 0,45 | 1,4 | 1,0 |

Dikutip dari :

Gosh, M.N., 1971. *Fundamentals of Experimental Pharmacology*, Calcutta : Scientific Book Agency

Keterangan :

Untuk menentukan dosis absolut bagi suatu spesies yang tercantum dalam kolom, dosis absolut spesies yang dicantumkan dalam lajur dikalikan dengan faktor yang terdapat pada irisan kolom dan lajur yang sesuai.

Data diatas digunakan untuk menentukan dosis sediaan uji yang akan diberikan pada mencit.

**Lampiran 3**

Tabel Volume Maksimum dari Obat yang Diberikan Kepada Binatang Percobaan

| Binatang | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Intra vena | Intra muskular | Intra peritoneal | subcutan | Per oral |
| Mencit (20-30 g) | 0,5 | 0,05 | 1,0 | 0,5 – 1,0 | 1,0 |
| Tikus (100 g) | 1,0 | 0,1 | 2,0 – 5,0 | 2,0 – 5,0 | 5,0 |
| Tupai (50 g) | - | 0,1 | 1,0 – 2,0 | 2,5 | 2,5 |
| Marmot (250 g) | - | 0,25 | 2,0 – 5,0 | 5,0 | 10,0 |
| Merpati (300 g) | 2,0 | 0,5 | 2,0 | 2,0 | 10,0 |
| Kelinci (2,5 kg) | 5,0 - 10,0 | 0,5 | 10,0 – 20,0 | 5,0 –10,0 | 20,0 |
| Kucing (3 kg) | 5,0 - 10,0 | 1,0 | 10,0 – 20,0 | 5,0 –10,0 | 50,0 |
| Anjing (5 kg) | 10,0 - 20,0 | 5,0 | 20,0 – 50,0 | 10,0 | 100,0 |

Dikutip dari :

Ritschel, W.A., 1974. *Laboratory Manual of Biopharmaceutis and Pharmacokinetics.* Drug Intellegence Publications, Inc.

Keterangan :

Pada umumnya volume yang diberikan setengah kali volume maksimum

**Lampiran 4**

Pembuatan Kurva Baku untuk Penetapan Kadar Kuersetin dalam Bahan Uji

1) Pembuatan larutan baku induk

   Penimbangan standar kuersetin = 15,2 mg

   Standar kuersetin tersebut ditambah metanol sampai 5,0 ml sehingga diperoleh kadar larutan baku induk = 3040 ppm.

2) Pembuatan larutan baku dengan berbagai konsentrasi dari larutan baku induk di atas dan diukur area puncaknya secara KLT Densitometri pada $\lambda$ = 375 nm. Selanjutnya dibuat kurva baku antara kadar vs area puncak, sehingga diperoleh persamaan regresi linier untuk penetapan kadar kuersetin dalam sampel (bahan uji).

Tabel Data kadar kuersetin dan area puncak hasil analisis dengan KLT Densitometer pada $\lambda$= 375 nm dengan fase diam silica gel $F_{254}$ dan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat ( 150 : 33 : 17) untuk pembuatan kurva baku

| Kadar kuersetin (ppm) | Peak area ( $\lambda$ = 375 nm) |
|---|---|
| 506,667 | 1696,5 |
| 760,000 | 5195,8 |
| 1013,333 | 7238,4 |
| 1266,667 | 10422,9 |
| 1520,000 | 12809,7 |
| 1773,333 | 14849,6 |

Data diatas diperoleh persamaan regresi linier untuk kurva baku

$Y = 10,35X - 3099,60$

$r = 0,996805$

**Lampiran 5**

Hasil Analisis Varian Satu Arah pada Tingkat Kepercayaan 95% Dari Hasil Penghitungan Jumlah Megakariosit Per Satuan Luas Pandang Pada Tiap Kelompok.

## ANOVA

VAR00002 (Jumlah Megakariosit Per satuan Luas Pandang)

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 602,594 | 3 | 200,865 | 50,955 | ,000 |
| Within Groups | 110,375 | 28 | 3,942 | | |
| Total | 712,969 | 31 | | | |

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAR00002

| | | | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | (I) VAR00001 | (J) VAR00001 | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| Tukey HSD | 1,00 | 2,00 | -8,6250* | ,99272 | ,000 | -11,3354 | -5,9146 |
| | | 3,00 | -6,8750* | ,99272 | ,000 | -9,5854 | -4,1646 |
| | | 4,00 | -11,8750* | ,99272 | ,000 | -14,5854 | -9,1646 |
| | 2,00 | 1,00 | 8,6250* | ,99272 | ,000 | 5,9146 | 11,3354 |
| | | 3,00 | 1,7500 | ,99272 | ,312 | -,9604 | 4,4604 |
| | | 4,00 | -3,2500* | ,99272 | ,014 | -5,9604 | -,5396 |
| | 3,00 | 1,00 | 6,8750* | ,99272 | ,000 | 4,1646 | 9,5854 |
| | | 2,00 | -1,7500 | ,99272 | ,312 | -4,4604 | ,9604 |
| | | 4,00 | -5,0000* | ,99272 | ,000 | -7,7104 | -2,2896 |
| | 4,00 | 1,00 | 11,8750* | ,99272 | ,000 | 9,1646 | 14,5854 |
| | | 2,00 | 3,2500* | ,99272 | ,014 | ,5396 | 5,9604 |
| | | 3,00 | 5,0000* | ,99272 | ,000 | 2,2896 | 7,7104 |
| LSD | 1,00 | 2,00 | -8,6250* | ,99272 | ,000 | -10,6585 | -6,5915 |
| | | 3,00 | -6,8750* | ,99272 | ,000 | -8,9085 | -4,8415 |
| | | 4,00 | -11,8750* | ,99272 | ,000 | -13,9085 | -9,8415 |
| | 2,00 | 1,00 | 8,6250* | ,99272 | ,000 | 6,5915 | 10,6585 |
| | | 3,00 | 1,7500 | ,99272 | ,089 | -,2835 | 3,7835 |
| | | 4,00 | -3,2500* | ,99272 | ,003 | -5,2835 | -1,2165 |
| | 3,00 | 1,00 | 6,8750* | ,99272 | ,000 | 4,8415 | 8,9085 |
| | | 2,00 | -1,7500 | ,99272 | ,089 | -3,7835 | ,2835 |
| | | 4,00 | -5,0000* | ,99272 | ,000 | -7,0335 | -2,9665 |
| | 4,00 | 1,00 | 11,8750* | ,99272 | ,000 | 9,8415 | 13,9085 |
| | | 2,00 | 3,2500* | ,99272 | ,003 | 1,2165 | 5,2835 |
| | | 3,00 | 5,0000* | ,99272 | ,000 | 2,9665 | 7,0335 |

* The mean difference is significant at the .05 level.

## Homogeneous Subsets

VAR00002

| | | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | VAR00001 | | 1 | 2 | 3 |
| Tukey HSD | 1,00 | 8 | 6,1250 | | |
| | 3,00 | 8 | | 13,0000 | |
| | 2,00 | 8 | | 14,7500 | |
| | 4,00 | 8 | | | 18,0000 |
| | Sig. | | 1,000 | ,312 | 1,000 |

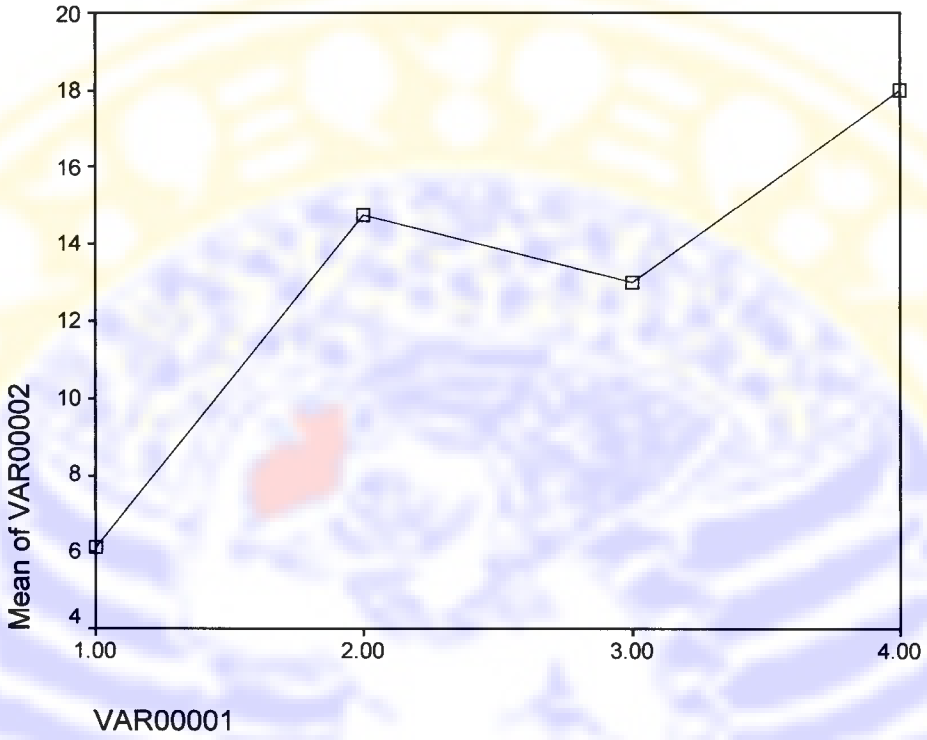
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 8,000.

## Descriptives

VAR00002

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 1.00 | 8 | 6.1250 | 1.64208 | .58056 | 4.7522 | 7.4978 | 4.00 | 9.00 |
| 2.00 | 8 | 14.7500 | 2.12132 | .75000 | 12.9765 | 16.5235 | 11.00 | 17.00 |
| 3.00 | 8 | 13.0000 | 1.51186 | .53452 | 11.7361 | 14.2639 | 11.00 | 16.00 |
| 4.00 | 8 | 18.0000 | 2.50713 | .88641 | 15.9040 | 20.0960 | 15.00 | 22.00 |
| Total | 32 | 12.9688 | 4.79573 | .84777 | 11.2397 | 14.6978 | 4.00 | 22.00 |

## Means Plots



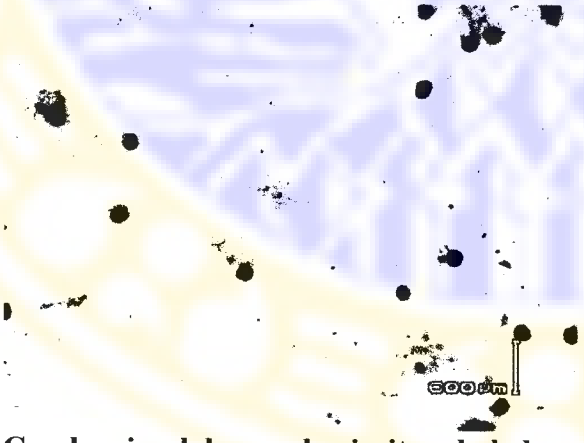

Grafik jumlah rata-rata megakariosit pada tiap-tiap kelompok

Keterangan: 1.Mean Of VAR00002 = Jumlah Megakariosit rata-rata tiap kelompok
2.VAR00001 = Kelompok Perlakuan
1.00 : kelompok kontrol
2.00 : kelompok dosis 1 (0,389 mg/20 BB mencit)
3.00 : kelompok dosis 2 (0,777 mg/20 BB mencit)
4.00 : kelompok dosis 3 (1,554 mg/20 BB mencit)

**Lampiran 7 GAMBAR JUMLAH MEGAKARIOSIT TIAP KELOMPOK**

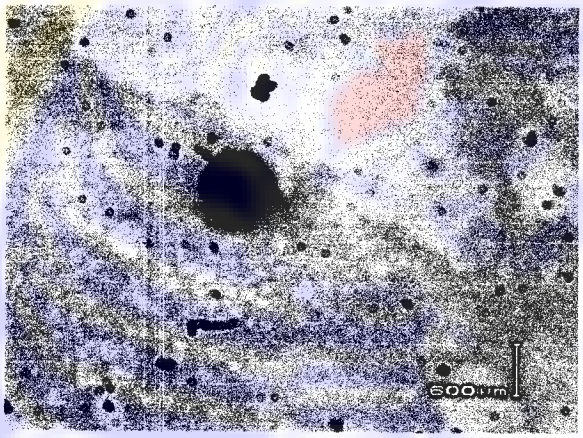
**Gambar jumlah megakariosit pada kelompok kontrol**

**Gambar jumlah megakariosit pada kelompok dosis 1**




**Gambar jumlah megakariosit pada kelompok dosis 2**

**Gambar jumlah megakariosit pada kelompok dosis 3**




**Gambar megakariosit yang diperbesar**

**(Gambar diperkecil 0,75x)**