

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SEMANGGI AIR (*Marsilea crenata*) TERHADAP KADAR KALSIMUM DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA



Oleh :

FRIDA WAHYU PRATIWI

NIM 060413293

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
SEMANGGI AIR (*Marsilea crenata*) TERHADAP
KADAR KALSIUM DARAH TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) BETINA**

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

FRIDA WAHYU PRATIWI
NIM 060413293

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Dr. Wurlina, M.S., drh.)
Pembimbing Pertama



(Erma Safitri, M.Si., drh.)
Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SEMANGGI AIR
(*Marsilea crenata*) TERHADAP KADAR KALSIMUM DARAH
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 27 September 2007

Frida Wahyu Pratiwi
NIM. 060413293

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 1 Oktober 2007

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Koesnoto Soepranianondo, M.S., drh.

Sekretaris : R. Budi Utomo, M.Si., drh.

Pembimbing I : Dr. Wurlina, M.S., drh.

Pembimbing II : Erma Safitri, M.Si., drh.

Telah diuji pada

Tanggal : 9 Oktober 2007

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Koesnoto Soepranianondo, M.S., drh.

Anggota : R. Budi Utomo, M.Si., drh.

Dr. Wurlina, M.S., drh.

Erma Safitri, M.Si., drh.

Surabaya, 27 Oktober 2007

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., Drh.

NIP. 130 687 305

**THE INFLUENCE OF WATER CLOVER'S LEAF (*Marsilea crenata*)
EXTRACT TREATMENT TO BLOOD CALCIUM LEVEL
OF FEMALE RAT (*Rattus norvegicus*)**

Frida Wahyu Pratiwi

ABSTRACT

The aim of this research was to find out the influence of *Marsilea crenata*'s leaf extract to blood calcium level of female rat. 24 female rats aged 18 months weighted \pm 300 grams were divided into four treatments and six replicates. P0 was aquadest solution as a control, P1, P2, and P3 were *Marsilea crenata*'s leaf extract 10mg/kg body weight, 30mg/kg body weight, and 100mg/kg body weight in dose. The treatment were given twice everyday at 6 a.m. and 6 p.m. Taking over of the blood were done on ten days later for blood calcium level test with *Cresolphthalein* method. Completely Randomized Design or Fully Randomized Design method were used in this research. The analysis of result data were done by Variance Analysis continued with Duncan's Multiple Range Test. The result show that *Marsilea crenata*'s leaf extract treatment of female rats has a significant effect, and it can be noticed from the increasing blood calcium level ($p < 0,05$). The highest level of blood calcium was consist of P2, whereas the lowest level were consist of P1, P0, and P3.

Key words : extract, *Marsilea crenata*' leaf, blood calcium, female rat

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya yang telah dilimpahkan kepada penulis sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan seminar dengan judul **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Kadar Kalsium Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, PhD., drh. dan Mantan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh. atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Ibu Dr. Wurlina, M.S., drh. selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Erma Safitri, M.Si., drh. selaku pembimbing kedua, atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Dr. Koesnoto Soepranianondo, M.S., drh. selaku ketua penguji, dan R. Budi Utomo, M.Si., drh. selaku sekretaris penguji.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh paramedis Rumah Sakit Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan teknik dalam proses penelitian ini.

Ayah, Ibu dan kakakku tercinta, Ary Ratna, Novita Rahmawati, Sartika Juwita, Sela Kartika, Tirta Mahendra, Yaska Ikarina, Khoridatul Anisah, serta teman-teman Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga angkatan 2003 yang telah memberikan bantuan doa, dorongan dan semangat. Terakhir, untuk semua pihak yang tidak dapat disebutkan seluruhnya, atas bantuan yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran yang bersifat menyempurnakan sangat penulis harapkan. Semoga tulisan ini bermanfaat bagi semua pihak dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, 27 September 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN IDENTITAS	iii
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Landasan Teori	3
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Manfaat Penelitian	4
1.6. Hipotesis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tanaman Semanggi Air (<i>Marsilea crenata</i>)	5
2.1.1. Tinjauan Umum <i>Marsilea crenata</i>	5
2.1.2. Klasifikasi <i>Marsilea crenata</i>	6
2.1.3. Nama Lain <i>Marsilea crenata</i>	6
2.1.4. Penyebaran dan Tempat Tumbuh <i>Marsilea crenata</i>	6
2.1.5. Morfologi <i>Marsilea crenata</i>	7
2.1.6. Kandungan Zat Pada <i>Marsilea crenata</i>	8
2.1.7. Kegunaan <i>Marsilea crenata</i>	8
2.2. Estrogen	9
2.2.1. Tinjauan Umum Estrogen	9
2.2.2. Metabolisme Estrogen	9
2.3. Fitoestrogen	10
2.3.1. Tinjauan Umum Fitoestrogen	10
2.3.2. Sumber dan Bentuk Kimia Fitoestrogen	10
2.3.3. Metabolisme Fitoestrogen	11
2.3.4. Fitoestrogen dalam <i>Marsilea crenata</i>	11
2.4. Kalsium	13
2.4.1. Tinjauan Umum Kalsium	13
2.4.2. Kalsium Darah	13
2.4.3. Sumber Kalsium	14
2.4.4. Penyerapan Kalsium	14
2.4.5. Ekskresi Kalsium	15
2.5. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	16
2.5.1. Tinjauan Umum Tikus Putih	16

2.5.2. Klasifikasi Tikus Putih	17
BAB 3 MATERI DAN METODE	19
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2. Materi Penelitian	19
3.2.1. Hewan Coba	19
3.2.2. Bahan Penelitian	19
3.2.3. Alat Penelitian	20
3.3. Metode Penelitian.....	20
3.3.1. Ekstraksi Daun <i>Marsilea crenata</i>	20
3.3.2. Penentuan Dosis	20
3.3.3. Adaptasi	21
3.3.4. Pembuatan dan Pemeriksaan Preparat Ulas Vagina	21
3.3.5. Perlakuan	22
3.3.6. Pemeriksaan Kadar Kalsium Darah	23
3.4. Peubah Yang Diamati	23
3.5. Rancangan Penelitian	24
BAB 4 HASIL PENELITIAN	25
BAB 5 PEMBAHASAN	27
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	31
6.1. Kesimpulan	31
6.2. Saran	31
RINGKASAN	32
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Data reproduksi tikus putih.....	17
4.1. Rata-rata dan simpangan baku kadar kalsium darah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) betina setelah pemberian ekstrak daun semanggi air (<i>Marsilea crenata</i>).....	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Daun semanggi air (<i>Marsilea crenata</i>).....	5
2.2. Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	17
3.1. Preparat ulas vagina fase diestrus.....	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Lampiran kerangka operasional penelitian.....	37
2. Ekstraksi bahan.....	38
3. Pemeriksaan kalsium (cara <i>cresolphthalein</i>).....	39
4. Hasil pemeriksaan kadar kalsium darah.....	40
5. Analisis data kadar kalsium darah tikus putih betina.....	41
6. Proses ekstraksi daun <i>Marsilea crenata</i>	43
7. Ekstrak daun <i>Marsilea crenata</i> dan cara pemberian pada tikus putih betina.....	44
8. Proses pengambilan darah.....	45
9. Pemeriksaan kadar kalsium darah.....	46

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ANOVA	= Analysis of Varian
BB	= Berat Badan
BR	= Broiler
C	= Carbon
Ca	= Kalsium
cm	= Centimeter
dl	= Desiliter
Dt	= Nilai Kalsium Tes
Dst	= Nilai Kalsium Standar
g	= Gram
H	= Hidrogen
ICPM	= Incisiva, Caninum, Premolar, Molar
m	= Meter
mg	= Miligram
ml	= Mililiter
N	= Banyaknya ulangan
NaCl	= Natrium Clorida
NADPH	= Nikotinamida Adenin Dinukleotida
nm	= Nanometer
OH	= Hidroksil
O	= Oksigen
PDAM	= Perusahaan Daerah Air Minum
PO	= per Oral
pH	= Eksponen Hidrogen
PO₄	= Phospat
PTH	= Hormon Paratiroid
RAL	= Rancangan Acak Lengkap
Å	= Angstrom
α	= Alfa
β	= Beta
°C	= Celcius

BAB 1
PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Salah satu unsur organik yang paling berperan penting dalam tubuh manusia maupun hewan adalah kalsium. Hal tersebut disebabkan karena kalsium turut terlibat dalam beberapa proses fisiologis dan biokimia penting dalam tubuh (Pikiran Rakyat, 2003). Agar dapat menjalankan fungsinya dengan baik, kadar kalsium yang terdapat dalam darah harus tetap dipertahankan pada batas normal (Murray *et al.*, 2003).

Pengaturan kadar kalsium darah dalam batas normal bergantung pada beberapa hal antara lain persediaan kalsium dalam pakan, pengaturan pengeluaran kalsium oleh ginjal, dan kemampuan penyerapan kalsium oleh saluran pencernaan (Medicastore, 2007). Manolagas (1992) menyatakan bahwa estrogen turut berperan pada proses penyerapan kalsium dalam usus, oleh karena itu penurunan kadar estrogen dalam tubuh sangat berpengaruh terhadap kemampuan saluran pencernaan dalam menyerap kalsium. Selain itu, kadar estrogen yang rendah dalam ginjal juga akan menurunkan kemampuan reabsorpsi kalsium oleh ginjal (Raisz *and* Johannessons, 1984). Melalui kinerja usus dan ginjal terlihat bahwa kehilangan estrogen cenderung menurunkan kadar kalsium darah.

Pada bidang kedokteran hewan, penurunan kadar estrogen dapat terjadi pada hewan betina yang mengalami *ovariohisterektomi*. *Ovariohisterektomi* atau yang lebih dikenal masyarakat dengan istilah sterilisasi sering

dilakukan pada hewan kesayangan seperti anjing dan kucing. Tujuan dilakukan *ovariohisterektomi* antara lain mencegah estrus beserta masalah-masalah yang menyertainya, menghindari peningkatan populasi hewan yang tidak terkendali, atau akibat dari penyakit yang menyerang organ reproduksi (Galiono, 2006).

Ovariohisterektomi dilakukan untuk menjamin kesejahteraan hewan dan memudahkan dalam perawatan, namun di samping itu juga dilakukan usaha pencarian tanaman-tanaman yang mengandung estrogen serta memiliki khasiat estrogenik untuk menghindari terjadinya dampak negatif akibat kekurangan estrogen dalam tubuh. Kandungan estrogen dalam tanaman dikenal sebagai fitoestrogen.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan terhadap mencit, tikus, kelinci dan manusia, terdapat beberapa tanaman yang memiliki kandungan fitoestrogen antara lain kacang kedelai, *Red clover*, *Black cohosh*, dan kulit bengkoang. Fitoestrogen yang terkandung dalam tanaman dapat berasal dari beberapa jenis isoflavon antara lain genestein, daidzein, formononetin, dan biochanin-A (Yuliati, 2003). Menurut Achadiat (2007), tanaman yang mengandung senyawa isoflavon dapat menimbulkan efek estrogenik dalam tubuh manusia maupun hewan. Tanaman-tanaman yang mengandung isoflavon dapat berasal dari berbagai jenis, salah satunya adalah semanggi air (*Marsilea crenata*).

Marsilea crenata mengandung isoflavon genestein sehingga diduga memiliki efek estrogenik terhadap berbagai fungsi yang berkaitan dengan

estrogen, salah satunya adalah terhadap kadar kalsium darah. Diperkirakan peningkatan kadar kalsium darah terjadi pada tahap penyerapan kalsium di dalam ginjal dan saluran pencernaan yang akan diuji cobakan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina. Bagian dari *Marsilea crenata* yang dapat menimbulkan efek estrogenik adalah daunnya. Penggunaan daun *Marsilea crenata* pada tikus putih betina umur 18 bulan dimaksudkan untuk mengetahui kadar kalsium darah pada saat produksi estrogen di dalam tubuh hewan coba sudah menurun.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka diambil sebuah rumusan masalah yaitu apakah pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* berpengaruh terhadap kadar kalsium darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina?

1.3. Landasan Teori

Menurut *Center For Medical and Urological Andrology-Gent* (2007) fitoestrogen adalah suatu bahan atau substrat tanaman yang memiliki khasiat seperti estrogen. Secara biologis, fitoestrogen dapat berikatan dengan reseptor estrogen yang terdapat di dalam tubuh sehingga dapat menghasilkan efek estrogenik (Widodo, 2005). Fitoestrogen yang terkandung dalam daun *Marsilea crenata* adalah isoflavon genestein (Hardjopranjoto, 2002). Hasil penelitian Oilis yang dikutip oleh Prawiroharsono (2006) memperlihatkan fungsi isoflavon genestein sebagai fungsi hormonal yaitu memiliki sifat estrogenik di dalam tubuh.

Isoflavon dapat menstimulasi pembentukan $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ di dalam ginjal. Kemudian $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ akan mengaktifkan reseptor kalsium yang terdapat di dalam sel-sel mukosa usus dan merangsang pembentukan protein pengikat kalsium intraseluler untuk meningkatkan kemampuan penyerapan kalsium (Smith *et al.*, 1983). Kerja $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ pada ginjal yakni bersama dengan hormon paratiroid menstimulasi reabsorpsi kalsium dalam bentuk ion (Jee, 1983). Proses penyerapan kalsium oleh usus dan ginjal turut berperan dalam mempertahankan kadar kalsium darah pada batas normal.

1.4. Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* terhadap kadar kalsium darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai :

1. Bahan penunjang referensi tentang pengembangan obat yang berkaitan dengan kadar kalsium darah pada hewan betina.
2. Diharapkan dapat menjadi dasar pemikiran untuk penelitian lebih lanjut terhadap kemungkinan *Marsilea crenata* sebagai bahan baku obat alternatif pada wanita pasca *menopause*.

1.6. Hipotesis

Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* meningkatkan kadar kalsium darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Semanggi Air (*Marsilea crenata*)

2.1.1. Tinjauan Umum *Marsilea crenata*

Kehadiran populasi tanaman *Marsilea crenata* pertama kali dicatat oleh Marie Bruegmann dalam “*Journal of the Nature Center*” pada tanggal 18 Mei 1994. Populasi asli tanaman ini dapat ditemukan pada beberapa negara di Asia Tenggara, antara lain : Philipina, Malaysia, Indonesia, dan Australia (Ferns, 2007).



Gambar 2.1 Daun Semanggi Air (*Marsilea crenata*)
Sumber : www.rsabg.org/herbarium/fer`ns/wilson/mars_cre.html (2007)

Marsilea crenata berbentuk menyerupai payung dengan empat buah anak daun yang tersusun berhadapan. Semua spesies *Marsilea crenata* bersifat heterospora yaitu memiliki makrospora dan mikrospora. Tanaman ini juga memiliki organ penyimpan spora atau yang disebut dengan *sporocarp*. *Sporocarp* terletak di dekat pangkal tangkai daun. *Marsilea crenata* tergolong paku air (*hydropterides*)

karena memiliki akar serabut seperti yang dimiliki tanaman paku air (Praweda Ciptakarsa Informatika, 2006).

2.1.2. Klasifikasi *Marsilea crenata*

Adapun klasifikasi *Marsilea crenata* menurut *United States Department of Agriculture* (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Pteridophyta
Class	: Filicopsida
Ordo	: Hydropteridales
Famili	: Marsileaceae
Genus	: <i>Marsilea</i> L.
Spesies	: <i>Marsilea crenata</i>

2.1.3. Nama Lain *Marsilea crenata*

Menurut Sastroamidjojo (2001) nama umum *Marsilea crenata* adalah semanggi, pegagan embun, patikan cina, rendeng, dan salatun. *Marsilea crenata* juga memiliki beberapa nama lokal sesuai dengan tempat ditanamnya, antara lain Semanggi (Jawa), Lembut (Sunda), Take cena (Madura).

2.1.4. Penyebaran dan Tempat Tumbuh *Marsilea crenata*

Marsilea crenata dapat tumbuh pada air yang dalam dengan cara mengapung atau muncul di atas permukaan air. *Marsilea crenata* juga dapat tumbuh pada air dangkal, daerah dengan kondisi tanah yang

lembab, tepi selokan, lapangan berumput, daerah terbuka maupun tempat teduh di tepi jalan, dan tempat lain sampai setinggi 2.500 m dari permukaan laut. Pada umumnya tanaman ini sering tumbuh di tepi sawah atau saluran air dekat pematang sawah dan pada daerah berair atau tanah becek yang mengandung air. *Marsilea crenata* biasanya tumbuh pada bulan Maret hingga November dan terdapat di seluruh pulau Jawa dan Madura (Arnold, 2006).

2.1.5. Morfologi *Marsilea crenata*

Morfologi *Marsilea crenata* tersusun atas enam bagian utama yaitu daun, bunga, tangkai, batang, buah, dan akar. Daunnya merupakan daun tunggal, berbentuk lonjong, berukuran panjang ± 2 cm dan lebar ± 1 cm, berwarna hijau dengan tepi rata, dan pangkal runcing. Bunga berupa bunga majemuk, berwarna kuning, berbentuk bonggol, keluar dari ketiak daun. Tangkai panjang, berbentuk bulat atau reniform dengan tepi terbagi menjadi 5-7 lekukan dangkal. Batang lunak, berongga, dengan panjang ± 45 cm atau lebih. Buahnya tegak, berbentuk kotak lonjong, bagian ujung menyerupai paruh, apabila telah masak berwarna merah kecoklatan, dan pecah bila disentuh (Praweda Ciptakarsa Informatika, 2006). Akar berupa akar serabut berwarna putih kotor. Spora tanaman *Marsilea crenata* berkelopak dua, berbentuk lonjong dengan panjang 3-5 cm, berwarna hijau, dan dapat berdiri sendiri (Arnold, 2006).

2.1.6. Kandungan Zat Pada *Marsilea crenata*

Komposisi bahan yang terkandung pada *Marsilea crenata* antara lain minyak atsiri, coumarin, hyperin, triterpenoid asiaticoside, thankuniside, isothankuniside, madecassoside, brahmoside, brahmic acid, hydrocotyline, mesoinisitol, centellose, caretonoid, saponin, hydrocotylosides I-VII, kalium, natrium, magnesium, kalsium, besi, kromium, zat pahit vellarine, isoflavon genestein dan formononetin (Hardjopranojoto, 2002; Young dan Jewel, 2003; Matsushita *et al*, 2004; Schmidt, 2005).

2.1.7. Kegunaan *Marsilea crenata*

Marsilea crenata dapat digunakan sebagai anti radang, anti diare, penurun panas, dan ekspektoran. Selain itu juga dapat digunakan untuk menghilangkan bengkak, menetralsir racun, menghentikan perdarahan, menurunkan tekanan darah tinggi, dan obat pada penderita infeksi saluran kencing. Secara umum *Marsilea crenata* digunakan sebagai *hepatoprotektor* (Marjo, 1990; Widiarti, 1996; Wijayakusuma, 1996).

Di Jawa Barat, *Marsilea crenata* dimakan sebagai lalapan dan digunakan untuk mengatasi sakit perut, cacingan, demam, campak, radang tenggorokan, serta keracunan. Pemanfaatan *Marsilea crenata* sebagai obat luar antara lain untuk luka akibat gigitan ular, bisul, dan penyakit kulit (Marjo, 1990; Widiarti, 1996).

2.2. Estrogen

2.2.1. Tinjauan Umum Estrogen

Estrogen yang terdapat di dalam tubuh diproduksi oleh sel-sel teka interna folikel ovarium, korpus luteum, plasenta, dan dalam jumlah kecil oleh kortek adrenal (McDonald's, 2003). Estrogen tergolong hormon steroid kelamin, karena memiliki struktur kimia berinti steroid dan secara fisiologis sebagian besar estrogen diproduksi oleh kelenjar endokrin sistem reproduksi (Suherman, 1995). Struktur kimia estrogen tersusun atas 18 atom karbon dengan inti steroid *siklopentano-phenanthrene*, dan atom karbon ke-18 bertaut pada atom karbon ke-13 dari inti steroid tersebut (Murray *et al.*, 2003).

Terdapat tiga unsur utama estrogen, yaitu estradiol ($C_{18}H_{26}O_2$), estron ($C_{18}H_{25}O_2$), dan estriol ($C_{18}H_{27}O_3$). Estradiol merupakan hormon estrogen primer yang berasal dari ovarium. Pada beberapa spesies, estron disintesis oleh sejumlah jaringan dengan jumlah berlimpah. Estriol diproduksi oleh plasenta dalam jumlah lebih banyak pada masa kehamilan (Murray *et al.*, 2003).

2.2.2. Metabolisme Estrogen

Estrogen dibentuk melalui reaksi aromatisasi androgen dalam suatu proses yang kompleks dan melibatkan tiga tahap hidroksilasi yang masing-masing memerlukan O_2 dan NADPH. Aktivitas enzim aromatase terdapat pada sel adiposa, hati, kulit, dan juga pada jaringan

lainnya. Kompleks enzim aromatase diperkirakan mencakup pula enzim P-450 oksidase. (Murray *et al.*, 2003).

2.3. Fitoestrogen

2.3.1. Tinjauan Umum Fitoestrogen

Penelitian mengenai fitoestrogen berawal dari penemuan pada kacang kedelai (*soy beans*) yang diketahui mengandung kadar fitoestrogen tinggi sehingga dapat digunakan untuk pengobatan. Tingginya konsumsi produk-produk kedelai terbukti bermanfaat dalam mencegah berbagai penyakit kardiovaskular, mencegah kanker payudara dan prostat, meningkatkan kesehatan tulang pada penderita osteoporosis, dan mengurangi berbagai gejala serta keluhan pada wanita *menopause* (Achadiat, 2007).

Efek estrogenik akan terlihat setelah fitoestrogen tersebut berikatan dengan reseptor estrogen di dalam tubuh (Moskowitz, 2007). Namun afinitas fitoestrogen terhadap reseptor estrogen sangat rendah bila dibanding dengan estrogen, sehingga dibutuhkan fitoestrogen dalam jumlah yang sangat besar untuk menimbulkan efek yang memadai seperti estrogen (Achadiat, 2007).

2.3.2. Sumber dan Bentuk Kimia Fitoestrogen

Fitoestrogen terbagi dalam tiga kelas utama, yaitu : isoflavon, coumestan, dan lignan. Bentuk yang paling banyak ditemukan dalam tanaman adalah isoflavon dan coumestan. Keduanya memiliki struktur 15-karbon yang mirip dengan 17-karbon pada estradiol-17 β (salah satu

bentuk estrogen endogen) (Kurzer, 1997). Isoflavon terutama terdapat pada buah-buahan, teh hijau, kacang kedelai beserta produknya seperti tempe, tahu, dan tauco. Kandungan coumestan banyak terdapat pada kacang-kacangan dan biji bunga matahari, sedangkan lignan dapat ditemukan pada biji-bijian, gandum, dan wijen (Achadiat, 2007).

2.3.3. Metabolisme Fitoestrogen

Setelah masuk ke dalam tubuh, fitoestrogen segera diserap oleh usus kemudian diedarkan ke dalam plasma darah, menuju target organ, dan selanjutnya diekskresikan melalui urin. Penyerapan isoflavon dan lignan diperantarai oleh bakteri *B-glukosidase* yang terdapat pada usus dan makanan, serta asam hidroklorik lambung. Setelah diserap oleh usus, keduanya akan dikongjugasi dengan asam glukoronik dan sulfat yang diperantarai oleh enzim *UDP-glukoronosiltransferase* dan *sulfotransferase* dari hepar untuk mengalami siklus enterohepatik yang akhirnya akan dihasilkan bentuk kongjugasi. Bentuk kongjugasi ini akan diekskresikan melalui dua jalur yaitu urin dan kandung empedu. (Kurzer, 1997).

2.3.4. Fitoestrogen Dalam *Marsilea crenata*

Senyawa-senyawa asal tanaman yang diketahui memiliki khasiat estrogenik alami dapat dibagi menjadi beberapa golongan antara lain : (1) *resorcylic acid lactones*, contohnya zearalanone beserta dua hasil metabolitnya yaitu zearalenol dan zearalanol; (2) steroid, merupakan estrogen klasik yang terdiri dari estradiol dan estron

dengan fungsi dan struktur kimia yang sama dengan estrogen di dalam tubuh; (3) *phenol* (Lou *et al.*, 1990). Senyawa *phenol* terdapat dalam jumlah berlimpah pada famili leguminosae, khususnya *Red clover* dan kacang kedelai beserta produk olahannya seperti tahu, tempe, susu kedelai, dan produk lainnya. Isoflavon atau isoflavonoid merupakan senyawa *phenol* tanaman (*plant phenol*) yang banyak diteliti saat ini. (Kelly *et al.*, 1997).

Terdapat lebih dari 1000 jenis isoflavon telah diidentifikasi, namun hanya empat diantaranya yang diketahui memiliki aktivitas biologis yang nyata yaitu formononetin, biochanin, daidzein, dan genestein (Knight *et al.*, 1999). Aktivitas biologis senyawa isoflavon telah diteliti dan hasilnya banyak aktivitas berkaitan erat dengan struktur kimia senyawa tersebut (Prawiroharsono, 2006). Pada aktivitas estrogenik, isoflavon terkait dengan struktur kimianya yang mirip dengan *stilbestrol* yang umumnya digunakan sebagai obat estrogenik, bahkan aktivitas isoflavon lebih tinggi dari *stilbestrol*. Knight *et al.* (1999) juga menyatakan bahwa isoflavon dapat mengaktifkan reseptor estrogen pada tubuh mamalia, sehingga isoflavon sering disebut sebagai fitoestrogen.

Marsilea crenata diidentifikasi mengandung dua jenis isoflavon yang memiliki aktivitas estrogenik yaitu genestein dan formononetin (Widodo, 2005). Hasil penelitian Oilis yang dikutip Prawiroharsono (2006) juga memperlihatkan fungsi isoflavon sebagai fungsi

hormonal yaitu memiliki sifat estrogenik seperti pada genestein dan daidzein. Formononetin juga diketahui memiliki aktivitas estrogenik, meskipun dengan kadar yang lebih rendah (Widodo, 2005).

2.4. Kalsium

2.4.1. Tinjauan Umum Kalsium

Kalsium merupakan penyusun utama mineral tulang. Sekitar 99% kalsium berada pada tulang dalam bentuk kristal *hydroxyapatit* $[3Ca_3(PO_4)_2.Ca(OH)_2]$ yang menyediakan komponen anorganik dan struktural skeleton, sedangkan sisanya terdapat dalam cairan ekstrasel dan jaringan lunak (Murray *et al.*, 2003). Besarnya kandungan mineral tulang, terutama kalsium, turut menentukan kepadatan tulang. Apabila kandungan kalsium berkurang maka kekuatan tulang akan menurun dan tulang akan kehilangan struktur pendukung interna (Sari dkk., 2004). Kepadatan tulang dan deposisi kalsium dalam tubuh bervariasi menurut umur baik pada manusia maupun hewan (Linder, 1992).

2.4.2. Kalsium Darah

Kalsium dalam darah terdapat dalam tiga bentuk, yaitu : bentuk senyawa kompleks dengan asam organik; bentuk yang terikat protein; dan bentuk terionisasi. Sekitar 6% dari jumlah total kalsium membentuk senyawa kompleks dengan sitrat, fosfat, dan anion lainnya. Sisanya dapat dibagi hampir sama besarnya antara bentuk

yang terikat protein (terutama albumin) dan bentuk yang terionisasi (bentuk tak terikat) (Murray *et al.*, 2003).

Rendahnya kadar kalsium darah atau hipokalsemia dapat terjadi karena kurangnya konsumsi kalsium, penurunan kemampuan retensi kalsium oleh ginjal akibat defisiensi vitamin D, atau dalam status hipoparatiroid. Sebaliknya, pada kondisi hiperparatiroid dan konsumsi vitamin D berlebih dapat menyebabkan terjadinya hiperkalsemia (Linder, 1992).

2.4.3. Sumber Kalsium

Pemasukan kalsium dapat diperoleh dari makanan atau suplemen dalam bentuk kalsium tablet. Kadar kalsium yang tinggi dapat ditemukan pada air susu beserta produk olahannya, dan juga pada kacang serta biji-bijian. Beberapa bahan makanan nabati juga mengandung cukup banyak kalsium, tetapi tidak dapat digunakan sebagai sumber kalsium karena tingginya kadar oksalat atau pitat (Linder, 1992). Menurut Monroe (1994), suplemen kalsium peroral dapat diberikan dalam bentuk karbonat (40% Ca), glikonat (9,3% Ca), laktat (13% Ca) atau asetat (25% Ca)

2.4.4. Penyerapan Kalsium

Agar dapat diserap oleh tubuh, kalsium yang terdapat dalam pakan harus dibebaskan dari senyawanya. Pernyataan yang sama juga diungkapkan oleh Murray *et al.* (1999) bahwa kalsium hanya dapat diserap bila terdapat dalam bentuk larut air dan bukan dalam unsur

pakan lain. Zat-zat yang membantu pengendapan kalsium dalam pakan akan menentukan jumlah kalsium yang secara aktual tersedia untuk diserap. Tingkat stimulasi dari vitamin D-aktif terhadap sel-sel penyerap dalam mukosa usus juga akan menentukan jumlah kalsium yang akan menentukan jumlah kalsium yang akan diserap (Linder, 1992).

Sebagian besar penyerapan kalsium terjadi di duodenum dan jejunum bagian proksimal. Murraray *et al.* (1999) mengungkapkan bahwa pH asam lambung dapat bermanfaat dalam memperlancar proses penyerapan kalsium dalam usus. Meskipun kurang sempurna tetapi hal tersebut sangat berpengaruh terhadap kemampuan penyerapan kalsium oleh usus. Penyerapan kalsium dalam usus halus terjadi melalui dua mekanisme, yaitu transfer aktif dan transfer pasif. Pada transfer aktif, kalsium bergerak dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi. Proses ini membutuhkan energi, vitamin D, dan derivatnya. Vitamin D mempengaruhi terjadinya ikatan kalsium dan protein yang diperlukan dalam mekanisme ini. Transfer pasif yaitu apabila kalsium diserap secara difusi (Tillman dkk., 1998).

2.4.5. Ekskresi Kalsium

Kalsium yang terdapat di dalam tubuh diekskresikan melalui beragam jalur, antara lain urin, feses, plasenta selama kehamilan, air susu, dan kulit. Proses pengeluaran kalsium melalui urin merupakan suatu mekanisme aktif yang dilakukan ginjal dalam rangka resorpsi

terhadap kalsium. Pengeluaran kalsium melalui urin dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya kadar kalsium dalam plasma, vitamin D, hormon paratiroid, ekskresi hormon kalsitonin, defisiensi fosfor, dan acidosis yang terjadi karena gangguan proses metabolisme (Djojosoebagio, 1990).

Jalur utama pengeluaran kalsium pada mamalia adalah melalui feses. Kalsium yang dikeluarkan melalui feses merupakan gabungan dari kalsium endogen dan eksogen. Kalsium endogen dalam feses berasal dari kalsium pakan yang tercerna, sedangkan kalsium eksogen dalam feses berasal dari bagian kalsium yang tidak tercerna (Tillman dkk., 1998).

2.5. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.5.1. Tinjauan Umum Tikus Putih

Tikus putih merupakan salah satu hewan laboratorium yang sering digunakan dalam penelitian obat-obatan, makanan, dan uji toksikologi (Elsevier, 1993). Tikus putih tidak memiliki kelenjar empedu di dalam tubuhnya. Formula gigi tikus putih 1003 (ICPM) = 16, kelenjar maxilla terdiri dari kelenjar submaxillaris dan sublingualis, lambung terdiri dari dua bagian yaitu glandular dan nonglandular, lama hidup 2,5-3 tahun, temperatur tubuh 37,5⁰C, kebutuhan air 8-11 ml/100gBB, kebutuhan makanan sebesar 5 g/100gBB. Berat badan tikus putih jantan antara 300-400 g, sedangkan pada betina 250-300 g. Tikus putih betina mulai mengalami dewasa

kelamin pada hari ke 50-60, dengan siklus kelamin poliestrus (Kusumawati, 2004).

Tabel 2.1 Data reproduksi tikus putih (Kusumawati, 2004)

Tipe siklus estrus	Poliestrus
Lama siklus estrus	4-6 hari
Estrus	9-20 jam
Mekanisme ovulasi	Spontan
Lama kebuntingan	21-23 hari
Jumlah anak	6-9
Berat anak lahir	4-6 gram
Umur sapih	18-23 hari
Berat anak sapih	35-50 gram

2.5.2. Klasifikasi Tikus putih



Gambar 2.2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
Sumber : Koleksi Pribadi

Adapun klasifikasi tikus putih menurut Ballenger (2000) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Class : Mamalia

Ordo : **Rodentia**
Sub Ordo : **Sciurugnathi**
Famili : **Muridae**
Sub Famili : **Murinae**
Genus : **Rattus**
Spesies : ***Rattus norvegicus***

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Kandang Percobaan dan Laboratorium Kemajiran Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Waktu pelaksanaan mulai tanggal 1 Juli 2007 sampai 16 Agustus 2007.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar berumur 18 bulan dengan berat badan \pm 300 g. Tikus putih betina dibeli dari Bagian Ilmu Bahan Alam, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga Surabaya.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan selama masa perlakuan hingga proses pengambilan darah antara lain ekstrak daun *Marsilea crenata* dengan empat macam dosis perlakuan yaitu 0 mg/kgBB; 10 mg/kgBB; 30 mg/kgBB; 100 mg/kgBB, aquades, eter, alkohol, dan kapas. Bahan yang digunakan pada proses pembuatan dan pemeriksaan preparat ulas vagina adalah NaCl fisiologis, zat pewarna Giemsa, dan air. Bahan yang digunakan pada pemeriksaan kadar kalsium darah adalah larutan *cresolphthalein*, larutan *buffer*, dan standar kalsium 10 mg/dl.

3.2.3. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan selama masa perlakuan hingga proses pengambilan darah, antara lain timbangan digital, sarung tangan (*gloves*), gelas ukur, spuit 3 cc beserta sonde, spuit 10 cc, dan *venoject*. Pada proses pembuatan dan pemeriksaan preparat ulas vagina digunakan alat-alat sebagai berikut : *cotton bud*, objek *glass*, dan mikroskop. Alat yang digunakan pada pemeriksaan kadar kalsium darah adalah tabung reaksi beserta rak, label, pipet *ependorf*, *yellow tip*, sentrifuse, tabung *cuvvet*, dan spektrofotometer.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Ekstraksi Daun *Marsilea crenata*

Pembuatan ekstrak daun *Marsilea crenata* dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga Surabaya dengan mengikuti petunjuk kerja sesuai dengan yang tercantum pada Farmakope (lampiran 2) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

3.3.2. Penentuan Dosis

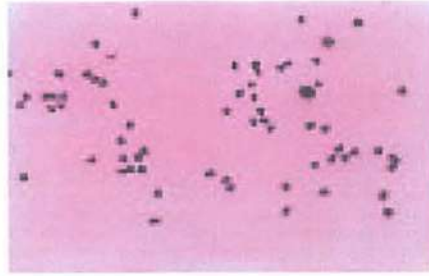
Penentuan dosis ekstrak daun *Marsilea crenata* dibuat berdasarkan metode dari Wagner dan Wolf (1997), sehingga digunakan dosis 0 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 30 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB.

3.3.3. Adaptasi

Seluruh tikus putih betina sebanyak 24 ekor dipindahkan ke dalam kandang berukuran 30 x 40 cm. Masing-masing kandang berisi tiga ekor. Adaptasi terhadap kandang dan pakan dilaksanakan selama satu bulan. Air minum (air PDAM) dan pakan jadi berupa pellet (BR-II produksi PT. Japfa Comfeed Indonesia) diberikan secara *ad libitum*. Perlakuan dilaksanakan setelah masa adaptasi berakhir.

3.3.4. Pembuatan dan Pemeriksaan Preparat Ulas Vagina

Tikus putih betina dipegang pada lipatan tengkuk dengan tangan kiri di antara telunjuk dan ibu jari, sedangkan bagian ekor dipegang dengan jari kelingking dan jari manis (Kusumawati, 2004). Tangan kanan memasukkan *cotton bud* yang telah dibasahi dengan NaCl fisiologis ke dalam vagina tikus putih betina, kemudian dioles pada objek *glass* dan ditunggu sampai kering. Preparat ulas vagina yang telah kering difiksasi dengan alkohol selama dua menit, lalu direndam dalam zat pewarna Giemsa selama sepuluh menit. Selanjutnya, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Setelah kering, preparat tersebut diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x (Marcondes *et al.*, 2002).



Gambar 3.1 Preparat ulas vagina fase diestrus
Hasil pengamatan dengan mikroskop perbesaran 40x

Perlakuan dilaksanakan setelah hasil pemeriksaan preparat ulas vagina menunjukkan tikus putih betina berada pada fase diestrus. Fase diestrus ditandai dengan banyaknya leukosit pada seluruh lapangan pandang (Hafez, 2000).

3.3.5. Perlakuan

Pelakuan terdiri dari beberapa tahap, antara lain :

1. Dilakukan pembagian secara acak terhadap 24 ekor tikus putih betina menjadi empat kelompok :

Kelompok Kontrol (P0): Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 0 mg/kgBB

Kelompok 1 (P1) : Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 10 mg/kgBB

Kelompok 2 (P2) : Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 30 mg/kgBB

Kelompok 3 (P3) : Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 100 mg/kgBB

Dalam penelitian ini terdapat empat buah perlakuan dengan jumlah ulangan masing-masing sebanyak enam kali.

2. Perlakuan diberikan secara *per oral* dengan cara meminumkan ekstrak daun *Marsilea crenata* menggunakan sonde sebanyak 1ml/ekor tiap kali pemberian. Perlakuan hari pertama sampai hari kesepuluh dilakukan dua kali sehari yakni pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB.
3. Setelah masa perlakuan selesai, tikus putih betina dieutanasia dengan menggunakan eter dan dilakukan pengambilan darah dari jantung (Kusumawati, 2004).
4. Darah yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15-20 menit untuk mendapatkan serum. Serum inilah yang selanjutnya digunakan untuk pemeriksaan kadar kalsium darah (Bijanti dkk., 2002).

3.3.6. Pemeriksaan Kadar Kalsium Darah

Pemeriksaan kadar kalsium darah dilakukan dengan cara *Cresolphthalein* (lampiran 3) (Gowenlock, 1988). Pemeriksaan ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya.

3.4. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar kalsium darah pada tikus putih betina setelah pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dengan dosis 0 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 30 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB.

3.5. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan enam ulangan. Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (Analysis of Variance). Apabila terdapat perbedaan yang bermakna, dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (Steel and Torrie, 1993).

BAB 4
HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh dari hasil penelitian “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Kadar Kalsium Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina” dengan empat macam perlakuan dan enam ulangan adalah sebagai berikut :

Tabel 4.1 Rata-rata dan simpangan baku kadar kalsium darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemberian ekstrak daun semanggi air (*Marsilea crenata*).

Perlakuan	Rata-rata kadar kalsium darah (mg/dl) ($\bar{x} \pm SD$)
P0	9,03 ^b ± 0,75
P1	9,04 ^b ± 0,17
P2	10,78 ^a ± 2,14
P3	8,92 ^b ± 0,52

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Kelompok Kontrol (P0) : Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 0 mg/kgBB

Kelompok 1 (P1) : Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 10 mg/kgBB

Kelompok 2 (P2) : Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 30 mg/kgBB

Kelompok 3 (P3) : Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 100 mg/kgBB

Hasil analisis dengan menggunakan ANOVA menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel} (0,05)$ yang berarti bahwa kadar kalsium darah tikus putih betina berbeda nyata terhadap perlakuan yang diberikan. Hal tersebut menunjukkan pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dengan empat macam perlakuan dan enam ulangan berpengaruh meningkatkan kadar kalsium darah tikus putih betina. Perhitungan lebih lanjut dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan hasil tertinggi pada perlakuan P2, sedangkan hasil terendah pada perlakuan P1, P0, dan P3 (Lampiran 5).

BAB 5
PEMBAIHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Kalsium berperan dalam pengaturan sejumlah proses fisiologis dan biokimia penting pada tubuh manusia maupun hewan. Proses tersebut mencakup eksitabilitas neuromuskular, koagulasi darah, proses sekresi, permeabilitas membran, reaksi enzim, pelepasan hormon, dan sebagai unsur esensial struktur tulang. Agar seluruh proses tersebut dapat berjalan normal, konsentrasi kalsium di dalam darah harus tetap dipertahankan (Murray *et al.*, 2003). Penyimpangan kadar kalsium darah sebesar 1% sampai 5% dari batas normal dapat menimbulkan gangguan pada tubuh dan membahayakan jiwa. Dalam hal ini, estrogen turut berperan menjaga kadar kalsium darah pada batas normal (Mc Donald's, 2003). Berkurangnya kadar estrogen dalam tubuh menyebabkan penurunan $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ yang berakibat pada rendahnya kemampuan penyerapan kalsium di dalam usus (Smith *et al.*, 1983). Penurunan kemampuan penyerapan kalsium oleh usus menyebabkan turunnya kadar kalsium darah. Kadar estrogen yang rendah dalam ginjal juga akan menurunkan kemampuan reabsorpsi kalsium oleh ginjal sehingga kadar kalsium darah menurun (Jee, 1983).

Proses pengembalian kadar kalsium darah ke batas normal diperankan oleh mekanisme homeostasis. Mekanisme homeostasis kalsium dikendalikan oleh hormon paratiroid (PTH) dan $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$. Hormon paratiroid bekerja secara langsung pada tulang dan ginjal serta secara tidak langsung pada mukosa usus (Murray *et al.*, 2003). Kerja hormon paratiroid pada tulang adalah meningkatkan laju pelarutan tulang dan memobilisasikan kalsium tulang ke dalam darah,

sehingga kadar kalsium darah meningkat (Capen, 1993). Aksi tersebut diperankan oleh osteoklas yang terdapat di dalam tulang. Hormon paratiroid merangsang osteoklas menjadi lebih aktif menyerap bagian tulang yang telah mengalami mineralisasi untuk melepaskan kalsium tulang, fosfat, dan unsur matrik organik lainnya. (Bullock *and* Rosendhal, 1984). Kerja hormon paratiroid pada ginjal meliputi peningkatan resorpsi kalsium dari tubulus kontortus distal (Capen, 1993). Secara tidak langsung, hormon paratiroid juga akan meningkatkan efisiensi absorpsi kalsium oleh sel-sel mukosa usus dengan meningkatkan sintesis $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ (Suyatni, 2005). Perubahan paling cepat terjadi melalui kerja pada ginjal, namun efek terbesar terhadap perubahan kadar kalsium darah berasal dari tulang. Sehingga turunnya kadar kalsium darah akan berpengaruh terhadap penurunan kadar kalsium tulang (Murray *et al.*, 2003).

Akibat lain dari berkurangnya kadar estrogen dalam tubuh adalah penurunan sekresi hormon kalsitonin. Hormon kalsitonin berperan sebagai inhibitor resorpsi kalsium tulang. Saat kadar kalsium darah meningkat, hormon kalsitonin bereaksi dengan menghambat aktivasi osteoklas yang berakibat pada penurunan resorpsi kalsium tulang. Penurunan kadar kalsitonin akan meningkatkan laju penyerapan tulang oleh osteoklas sehingga menyebabkan penurunan kadar kalsium tulang (Setyawan, 2005).

Kerja komponen mekanisme homeostasis kalsium di atas menunjukkan bahwa proses pengembalian kadar kalsium darah ke batas normal sebagian besar diambil dari kalsium tulang yang terjadi melalui proses resorpsi kalsium tulang. Apabila hal ini berlangsung terus-menerus maka dapat menyebabkan penurunan

kadar kalsium tulang yang berakibat pada terjadinya osteoporosis (Setyawan, 2005).

Kejadian osteoporosis pada penderita defisiensi estrogen dapat dicegah dengan pemberian fitoestrogen. Fitoestrogen yang merupakan substrat dari tanaman diyakini tidak menimbulkan efek samping yang berarti, bila dibandingkan dengan pemberian estrogen sintetik. Fitoestrogen memiliki dua gugus-OH (hidroksil) yang berjarak 11-11,5 Å pada bagian inti, sama persis dengan estrogen itu sendiri. Para peneliti sepakat bahwa jarak 11 Å dan gugus hidroksil inilah yang menjadi struktur pokok suatu substrat agar memiliki efek estrogenik (Achadiat, 2007). Potensi estrogenik akan terlihat setelah fitoestrogen berikatan dengan reseptor estrogen di dalam tubuh (Widodo, 2005).

Pada penelitian ini digunakan tikus putih betina umur 18 bulan, dimana siklus birahinya sudah tidak berjalan normal atau berhenti sama sekali. Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar estrogen dalam tubuh tikus putih betina sudah mulai menurun (Ducommun, 2007). Pemberian daun *Marsilea crenata* yang mengandung fitoestrogen diharapkan dapat menggantikan peran estrogen di dalam tubuh tikus putih betina. Potensi estrogenik daun *Marsilea crenata* dapat diketahui dengan mengukur kadar kalsium darah tikus putih betina. Menurut Wagner and Wolf (1997) bahwa penentuan dosis perlakuan terhadap jenis obat yang belum diketahui dosisnya atau belum pernah digunakan sama sekali dilakukan eksplorasi dosis yaitu dari 0 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 30 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB.

Hasil perhitungan dengan ANOVA menunjukkan P2 (pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 30 mg/kgBB) berpengaruh terhadap peningkatan kadar kalsium darah tikus putih betina. Pada P1 (pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 10 mg/kgBB), dan P3 (pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 100 mg/kgBB) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan P0 (kontrol).

Isoflavon dapat merangsang aktivitas 1α -hidroksilase di dalam ginjal. 1α -hidroksilase berperan mengubah 25OH-D₃ menjadi 1,25(OH)₂-D₃. Di dalam ginjal 1,25(OH)₂-D₃ menstimulasi reabsorpsi kalsium dalam bentuk ion sehingga kadar kalsium darah akan meningkat (Jee, 1983). Pada usus, 1,25(OH)₂-D₃ dapat mengaktifkan reseptor kalsium pada *brush border* yang terdapat dalam sel-sel mukosa usus dan merangsang pembentukan protein pengikat kalsium intarseluler untuk meningkatkan proses penyerapan kalsium, sehingga kadar kalsium darah meningkat (Smith *et al.*, 1983).

Isoflavon dalam jumlah berlebih tidak akan meningkatkan kemampuan penyerapan kalsium oleh usus. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Linder (1992) yang menyatakan bahwa hanya 30%-50% dari kalsium yang diberikan yang mampu diserap oleh saluran pencernaan dan jumlahnya disesuaikan dengan kebutuhan tubuh. Penyerapan kalsium disesuaikan dengan kebutuhan untuk tetap mempertahankan kadar kalsium darah dalam batas normal, sedangkan kelebihan kalsium akan diekskresikan oleh tubuh.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tentang penggunaan ekstrak daun *Marsilea crenata* terhadap kadar kalsium darah tikus putih betina dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dengan dosis 30 mg/kgBB berpengaruh meningkatkan kadar kalsium darah tikus putih betina.

6.2. Saran

Saran yang dapat diberikan setelah melihat hasil penelitian adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan interval dosis yang lebih kecil.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai efek samping penggunaan *Marsilea crenata*.

RINGKASAN

RINGKASAN

Salah satu dampak kekurangan kadar estrogen dalam tubuh adalah terjadinya osteoporosis. Fitoestrogen dalam daun *Marsilea crenata* dapat digunakan sebagai pengganti estrogen alamiah karena dapat berikatan dengan reseptor estrogen dalam tubuh dan menghasilkan efek estrogenik, dengan demikian pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dapat mengurangi tingkat kejadian osteoporosis.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* terhadap kadar kalsium darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

Isoflavon yang terdapat dalam daun *Marsilea crenata* dapat meningkatkan kemampuan penyerapan kalsium oleh usus dan resorpsi ion kalsium dalam ginjal melalui pengaktifan 1,25(OH)₂-D₃. Proses penyerapan kalsium oleh usus dan resorpsi ion kalsium dalam ginjal turut berperan dalam mempertahankan kadar kalsium darah pada batas normal.

Hewan coba yang digunakan adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar umur 18 bulan. Hewan coba dibagi menjadi empat kelompok perlakuan secara acak yaitu : P0, P1, P2, P3 yang masing-masing mendapat ekstrak daun *Marsilea crenata* sebesar 0 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 30 mg/kgBB, 100 mg/kgBB. Perlakuan diberikan sebanyak 1 ml/ekor tiap pemberian selama sepuluh hari, dimana setiap harinya mendapat dua kali perlakuan. Pada hari ke-11 dilakukan pengambilan darah yang kemudian

perlakuan Pada hari ke-11 dilakukan pengambilan darah yang kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan kadar kalsium darah dengan cara *Cresolphthalein*. Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap. Data dianalisis menggunakan ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan P0 $9,03 \pm 0,75$; P1 $9,04 \pm 0,17$; P2 $10,78 \pm 2,14$ dan P3 $8,92 \pm 0,52$. Analisis dengan menggunakan ANOVA menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel} (0,05)$ yang berarti bahwa kadar kalsium darah berbeda nyata terhadap perlakuan yang diberikan. Selanjutnya dengan uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan perlakuan tertinggi pada P2, sedangkan hasil terendah secara berturut-turut yaitu P1, P0, P3. Dengan demikian pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* dosis 30 mg/kgBB dapat berpengaruh meningkatkan kadar kalsium darah tikus putih betina.

Saran yang diberikan pada penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan interval dosis yang lebih kecil dan juga mengenai efek samping penggunaan *Marsilea crenata*.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Achadiat, C.M. 2007. Fitoestrogen untuk Wanita Menopause. <http://situs.kesrepro.info/aging/jul/2003/ag01.htm>. [15 Agustus 2007]
- Arnold, M.A. 2006. Marsileaceae. <http://aggie-horticulture.tamu.edu/syllabi/206/Marsileaceae.pdf>. [19 Mei 2007]
- Ballenger, L. 2000. *Rattus norvegicus* Norway Rat. Education Research Initiative. University of Michigan.
- Bijanti, R., S. Partosoewignyo, R.S. Wahjuni dan B. Utomo. 2002. Penuntun Praktika. Laboratorium Patologi Klinik Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.19.
- Bullock, B.L. and P.P. Rosendhal. 1984. Pathophysiology Adaptations and Alterations in function. Little, Brown and Company. Boston. Toronto. 547-577.
- Capen, C.C. 1993. Parathyroid Glands and Calcium Regulating Hormones. In : Pathologi of Domestic Animals Academic Press Inc. Hartcourt Brace Javanovich Publisher. San Diego. 287-329.
- Center For Medical and Urological Andrology-Gent. 2007. Phytoestrogen. <http://www.andrology.be/life98/keywords.php>. [1 Agustus 2007]
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. Ekstraksi Bahan. Farmakope. Edisi IV.
- Djojosoebagio, S. 1990. Fisiologi Kelenjar Endokrin. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas. Ilmu Hayati IPB. 467-483.
- Ducommun, D. 2007. Reproduction in Rats. <http://www.peteducation.com/article.cfm?cls=18&cat=1804&articleid=889>. [14 September 2007]
- Elsevier Science Publisher. 1993. Principle Of Laboratory Animal Science : A Contribution To The Human Use And Care Of Animal And To The Quality Of Experimental Results. Amsterdam. The Netherlands. 26-29.
- Ferns, A. 2007. *Marsilea crenata*. The Natural History Museum of Los Angeles Country Foundation. Los Angeles. http://www.rsabg.org/herbarium/ferns/wilson/mars_cre.html. [24 Agustus 2007]

- Galiono, D. 2006. Ovariohisterektomi. Bahan Ajar Kuliah Bedah Umum Veteriner I. Laboratorium Ilmu Bedah Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Ailangga. Surabaya.
- Gowenlock. 1988. Practicum Clinical Biochemistry. Sixth Ed. Varley's. 604-605.
- Hafez, E.S.E. 2000. Reproduction in Farm Animal 7th. Lea and Fabiger. Philadelphia. 392-404.
- Hardjopranto, S. 2002. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya.
- Jee, W.S.S. 1983. The Skeletal Tissue, in Histology Cell and Tissue Biology, 5th Ed. Elsevier Biomedical. New York. 201-255.
- Kelly, G., Husband, A. and Waring, M. 1997. Phenolic phytoestrogen. Clinical Monograph. Australia.
- Knight, D.C., Wall, P.L. and Eden, J.A. 1999. A Review of Phytoestrogen and Theirs Effect in Relations to Menopausal Symptoms. Centre for Management of The Menopause. Royal Hospital for Woman. Sydney.
- Kurzer, S.M. and X. Xia. 1997. Dietary Phytoestrogen. Annual Review Nutrition. 17: 353-374.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 8-10; 36; 50.
- Linder, M.C. 1992. Nutritional Biochemistry and Metabolism with Clinical Application. Elsvier. New York. 248-258.
- Lou, Y., Yozsisawa, T. and Katayama, T. 1990. Comaparative Study on The Natural Occurrence of Fusarium Mycotoxin in Corn and Wheay From High-and-Low Risk Areas for Human Esophageal Cancer in China. Applied Envir. Microbiol.
- Manolagas, S.C., T. Bellido and R.L. Jilka. 1992. Sex Steroids, Cytokines and The Bone Marrow : New Concepts on The Pathogenesis of Osteoporosis. Non-Reproductive Actions of Sex Steroids. John Wiley and Sons Ltd. Baffins Lane. Chichester. England. 1987-1996.
- Marcondes, F.K., F.J. Bianchi and A.P. Tanno. 2002. Determination Of The Estrous Cycle Phases Of Rats : Some Helpful Consideration. Brazilian Journal Of Biology. 62 : no 4a.

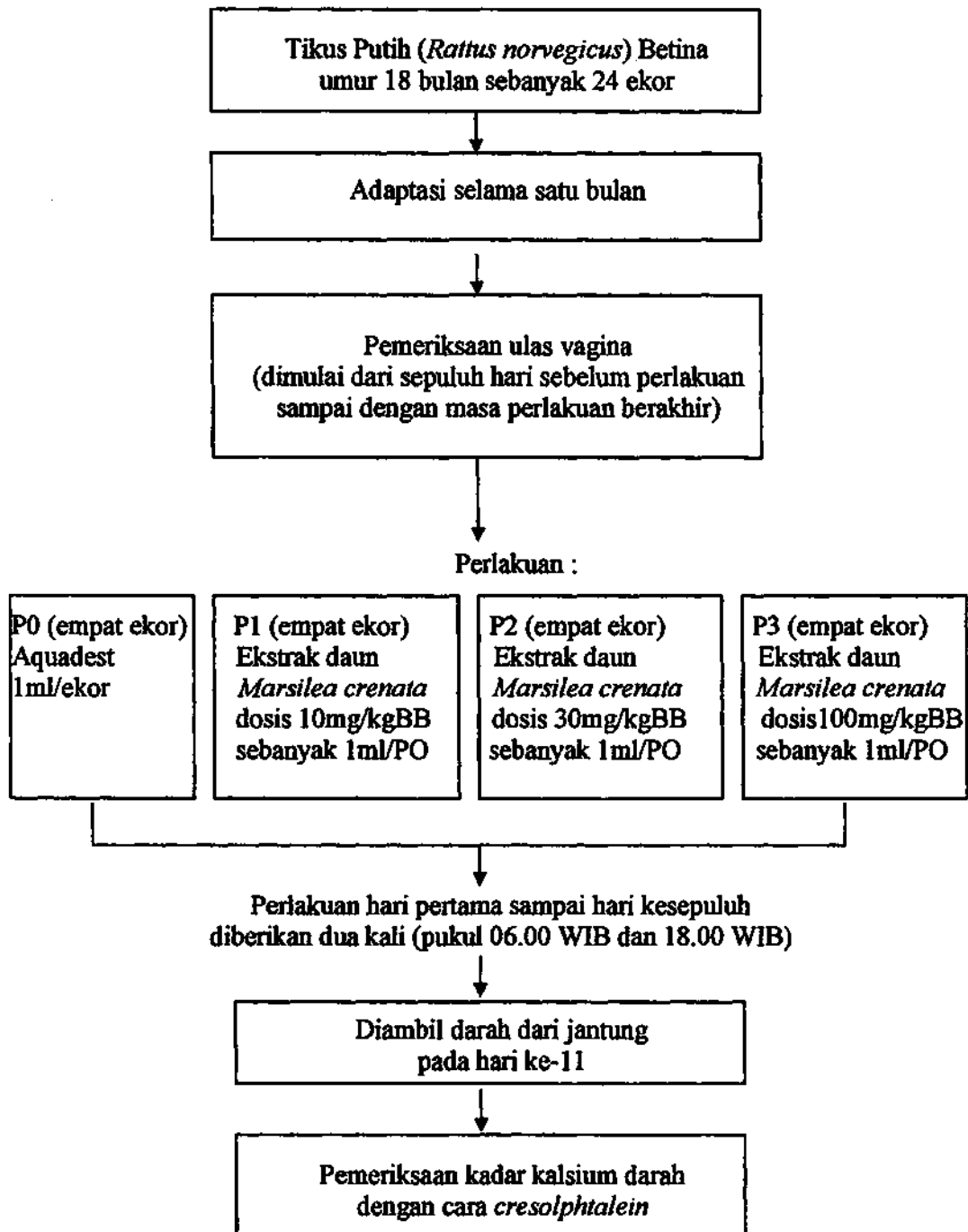
- Marjo, Y.S. 1990. *Aneka Resep Obat Kuno Mujarab*. Penerbit Bintang Timur. Surabaya.
- Matsushita, A., T. Sasaki, T. Warashina, T. Miyase, H. Noguchi, V.D. Vander. 2004 Hydrocotylosides I-VII. New Oleanane Saponin from Hydrocotyle Sibthorpionides. *J. Nat. Prod.* 67 (3) : 384-389.
- McDonald's. 2003. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 5th. ed. Iowa State Press. A Blackwell Publishing Company. United States of America. 77-110.
- Medicastore. 2007. Kalsium. http://www.medicastore.com/cybermed/detail_pyk.php?idktg=10&iddtl=286. [20 Agustus 2007]
- Monroe, W.E., 1994. *Diseases of Parathyroid Glands in Practical Small Animal Internal Medicine*. Leib, M.S. and Monroe, W.E., W.B. Saunders Company. Philadelphia. London. Toronto. Montreal. Sydney. Tokyo. 1071-1082.
- Moskowitz, N.D. 2007. Phytoestrogens : An Exciting Alternative. *In* : A Warm and Caring Community For Woman in Menopause. <http://www.power-surge.com/headlines/phytoestrogens.htm>. [24 Agustus 2007]
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Meyes and V.W. Rodwell. 1999. *Biokimia Harper*. Edisi 24. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 644-655.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes and V.W. Rodwell. 2003. *Biokimia Harper*. Edisi 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 539-546, 572-578.
- Pikiran Rakyat. 2003. Kebutuhan Kalsium Tubuh. <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/0703/13/1003.htm>. [15 Agustus 2007]
- Praweda Ciptakarsa Informatika. 2006. *Biologi : Paku (Pteridophyta)*. <http://www.praweda.co.id>. [21 Mei 2007]
- Prawiroharsono, S. 2006. *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*. Direktorat Teknologi Bioindustri. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. <http://www.tinjauan.pustaka/pus-2.htm>. [20 Juli 2007]
- Raisz, L.G., and Johannessons, A. 1984. Pathogenesis, Prevention and Therapy of Osteoporosis. *Journal of Medicine*. 15: 267-278.

- Sari, G.M., S. Setyawan, Yuliati. 2004. Pengaruh Pemberian Tambahan Kalsium Pada Masa Pertumbuhan Terhadap Kepadatan dan Tebal Tulang. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*. 5 : 114-122. <http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/J.%20Penelit.%20Med.%20Eksakta%205-2%20Agustus%202004%20%5B02%5D.pdf>. [15 September 2007]
- Sastroamidjojo, S. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Penerbit Dian Rakyat. Jakarta. 228-229.
- Schmidt, R.J. 2005. Umbelliferae. http://bodd.ef.ac.uk/Bot_Derm_Folder/otDerm_UUMBF.html. [20 Mei 2007]
- Setyawan. 2005. Pengaruh Pemberian Kalsium Karbonat Terhadap Kadar Kalsium Darah Tikus Putih (*Sprague dawley*) Pasca Ovariohisterektomi [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Smith, E.L., R.L. Hill, I.R. Lehman, R.J. Lefkowitz, P. Handler and A. White. 1983. *Principles of Biochemistry : Mamalian Biochemistry*. Ed. 7. Mac Graw Hill Book Co. Mew York. 441-467.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika (Suatu Pendekatan Biometrik)*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 168-178; 225-227.
- Suherman, S.K. 1995. *Estrogen, Antiestrogen, Progestin dan Kontrasepsi Hormonal*. Farmakologi dan Terapi. Edisi 4. Gaya Baru. Jakarta. 439-455.
- Suyatmi. 2005. Pengaruh Pemberian Kalsium Dosis Tinggi Terhadap Mineralisasi Tulang Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Ovariohistorektomi [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tillman, A.D., H. Hartadi, S. Reksohadiprojo dan S. Lebdoesoekojo. 1998. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Gajah Mada Press. Yogyakarta. 51-57.
- United States Department of Agriculture (Natural Resources Conservation Service). 2007. *Plants Profile Marsilea crenata*. <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=MACR81>. [15 September 2007]
- Wagner, H. and P. Wolf. 1997. *New Natural Products and Plant Drugs With Pharmacological Biological or Therapeutical Activity*. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. New York. 34-37.
- Widiarti, T. 1996. *Mengenal Tanaman dan Khasiatnya*. Penerbit Arloka. Surabaya.

- Widodo, W. 2005. **Tanaman Beracun dalam Kehidupan Ternak**. Universitas Muhammadiyah Press. Malang.
- Wijayakusuma, H. 1996. **Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia**. Pusataka Kartini. Jakarta.
- Young, G.L. and D. Jewel 2003. **Creams for Preventing Strech Marks in Pregnancy** *In* : The Cochrane Library (Issue 4). Chichester.
- Yuliati. 2003. **Pengaruh Pemberian Tambahan Kalsium dan Estrogen Terhadap Pertumbuhan Tulang Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus strain Wistar*)** [Master Thesis]. Universitas Airlangga. Surabaya.

LAMPIRAN

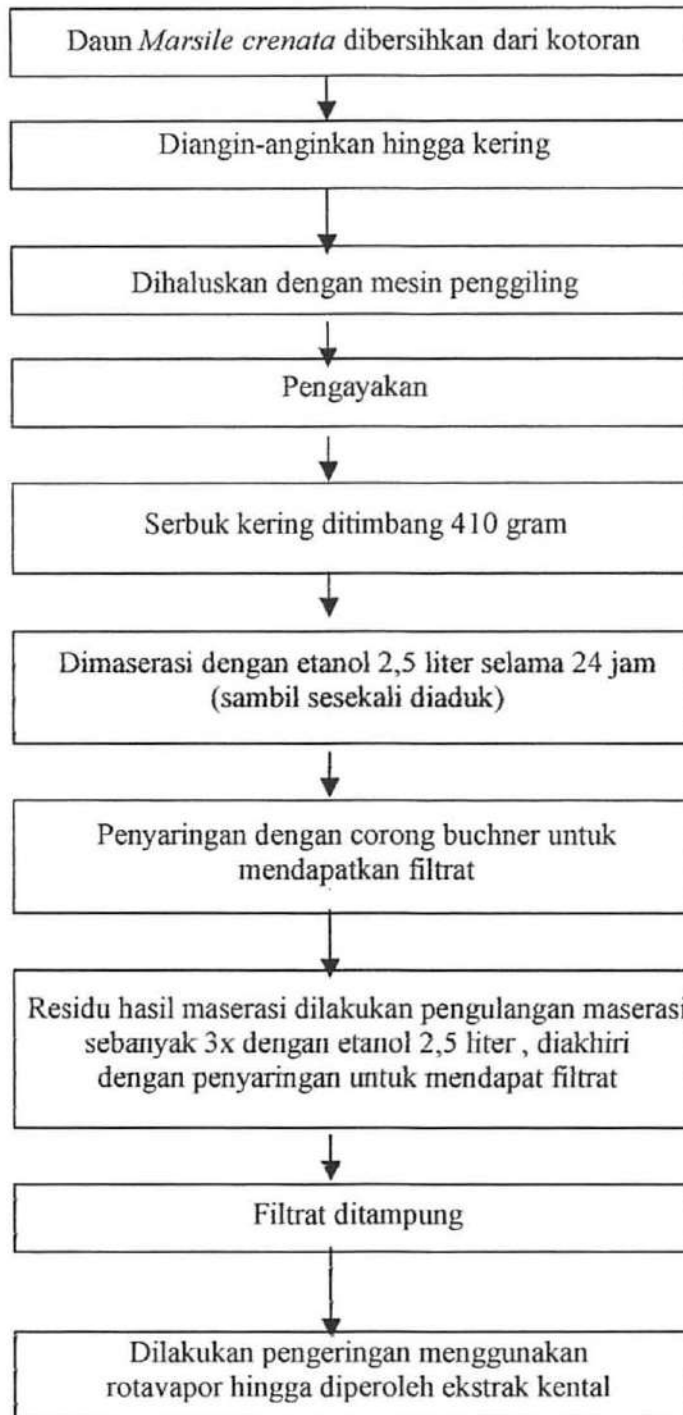
Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian





LABORATORIUM FITOKIMIA
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
KAMPUS B, DHARMAWANGSA DALAM, SURABAYA 60286
Telp : (031) 5033710; Fax : (031) 5020514
Website : http://www.unair.ac.id/ff_farmasi@unair.ac.id

EKSTRAKSI BAHAN



Lampiran 3



LABORATORIUM PATOLOGI KLINIK VETERINER
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
 UNIVERSITAS AIRLANGGA
 KAMPUS C, MULYOREJO, SURABAYA 60115
 Telp : (031) 5992785; Fax : (031) 5993015
 e-mail : Vetunair@sby.centrin.net.id

PEMERIKSAAN KALSIMUM
 (Cara *Cresolphthalein*)

Pereaksi :

1. Larutan Cresolphthalein
2. Larutan Buffer
3. Standar Kalsium 10mg/dl

Bahan :

Serum atau plasma

Absorban :

575 nm atau 570 nm

Cara Kerja :

(1) Siapkan tiga buah tabung reaksi dan kerjakan sebagai berikut :

	Tes	Standar	Blanko
Serum, ml	0,02	-	-
Standar, ml	-	0,02	-
Larutan Cresolphthalein, ml	1,0	1,0	1,0
Larutan Buffer, ml	1,0	1,0	1,0

(2) Tiap kali penambahan reagen dicampur merata, tungguhkan selama lima menit lalu dibaca pada 575nm.

$$\text{Perhitungan : } \frac{Dt}{Dst} \times 10 = \text{mg Ca/dl}$$

Catatan :

Khusus untuk serum yang keruh atau lipemic, setelah pembacaan kepada tabung tabung tes dan blanko, tambahi satu tetes larutan EDTA, lalu dibaca lagi. Selisih dari pembacaan absorban pertama dan kedua adalah absorban yang dipakai untuk perhitungan.

Pustaka :

Varley's; Pract Clin Biochem; Sixth Ed; p. 604-605; Gowenlock (1988)



LABORATORIUM PATOLOGI KLINIK VETERINER
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
 UNIVERSITAS AIRLANGGA
 KAMPUS C, MULYOOREJO, SURABAYA 60115
 Telp : (031) 5992785 ; Fax : (031) 5993015
 e-mail : Vetunair@sby.centrin.net.id

Jenis Hewan : Umur :
 Nama Pemilik : F.R.I.D.A..... Alamat :
 Dth. yang Meminta :
 Tanggal : 13. Agustus. 2007.....

HEMATOLOGI / KIMIA KLINIK

PEMERIKSAAN	HASIL	ANGKA NORMAL
<u>Calcium</u>	<u>mgCa/dl</u>	
1.	9,08	
2.	8,79	
3.	8,87	
4.	9,15	
5.	9,11	
6.	9,25	
7.	14,91	
8.	10,27	
9.	10,76	
10.	10,44	
11.	8,89	
12.	9,43	
13.	8,82	
14.	8,41	
15.	8,52	
16.	8,89	
17.	9,00	
18.	9,87	
19.	10,18	
20.	9,59	
21.	9,10	
22.	8,26	
23.	8,30	
24.	8,73	

PEMERIKSA :

[Signature]
 SKRIPSI Pardi

CATATAN :

PENGARUH PEMBERIAN ENSEBAK

Surabaya, ...13-08-2007..

PENANGGUNG JAWAB
 PEMERIKSAAN



FRIDA WAHYU PRATIWI
 M. Gendut Atik Kurniani Dth. MKes
 NIP.
 UNIVERSITAS AIRLANGGA

Lampiran 5. Analisis data kadar kalsium darah tikus putih betina

Summarize

Case Summaries*

			Calcium (mg/dl)	
Dosis (mg/kgBB)	P0 (0)	1	10,18	
		2	9,59	
		3	9,10	
		4	8,26	
		5	8,30	
		6	8,73	
		Total	N	6
			Sum	54,16
			Mean	9,0267
			Std. Deviation	,75587
	P1 (10)	1	9,08	
		2	8,79	
		3	8,87	
4		9,15		
5		9,11		
6		9,25		
	Total	N	6	
		Sum	54,25	
		Mean	9,0417	
		Std. Deviation	,17555	
P2 (30)	1	14,91		
	2	10,27		
	3	10,76		
	4	10,44		
	5	8,89		
	6	9,43		
	Total	N	6	
		Sum	64,70	
		Mean	10,7833	
		Std. Deviation	2,13670	
P3 (100)	1	8,82		
	2	8,41		
	3	8,52		
	4	8,89		
	5	9,00		
	6	9,87		
	Total	N	6	
		Sum	53,51	
		Mean	8,9183	
		Std. Deviation	,51766	
Total		N	24	
		Sum	226,62	
		Mean	9,4425	
		Std. Deviation	1,34512	

a. Limited to first 100 cases.

Oneway**Descriptives**

Calcium (mg/dl)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
P0 (0)	6	9,0267	,75587	,30858	8,26	10,18
P1 (10)	6	9,0417	,17555	,07167	8,79	9,25
P2 (30)	6	10,7833	2,13670	,87231	8,89	14,91
P3 (100)	6	8,9183	,51766	,21134	8,41	9,87
Total	24	9,4425	1,34512	,27457	8,26	14,91

Test of Homogeneity of Variances

Calcium (mg/dl)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,727	3	20	,071

ANOVA

Calcium (mg/dl)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14,437	3	4,812	3,541	,033
Within Groups	27,178	20	1,359		
Total	41,615	23			

Post Hoc Tests**Homogeneous Subsets****Calcium (mg/dl)**

Duncan^a

Dosis (mg/kgBB)	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
P3 (100)	6	8,9183	
P0 (0)	6	9,0267	
P1 (10)	6	9,0417	
P2 (30)	6		10,7833
Sig.		,865	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

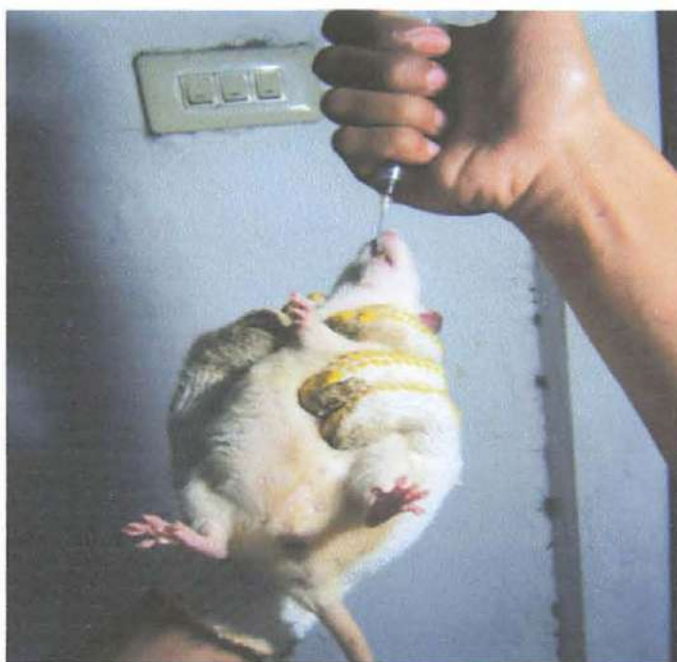
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran 6. Proses ekstraksi daun *Marsilea crenata***Ekstraksi serbuk daun *Marsilea crenata* dalam etanol****Labu hisap dan corong buchner yang disambung dengan pompa vacum****Rotavapor**

Lampiran 7. Ekstrak daun *Marsilea crenata* dan cara pemberian pada tikus putih betina



Ekstrak daun *Marsilea crenata*



Pemberian ekstrak daun *Marsilea crenata* per oral

Lampiran 8. Proses pengambilan darah



Bahan dan alat pengambilan darah



Pengambilan darah dari jantung

Lampiran 9. Pemeriksaan kadar kalsium darah**Alat-alat pemeriksaan kadar kalsium darah****Pipet eppendorf****Sentrifuge****Spektrofotometer**



Bahan pemeriksaan kadar kalsium darah



Hasil pemeriksaan kadar kalsium darah