



**LD₅₀ EKSTRAK AIR POHON PATAH TULANG (*Euphorbia tirucalli*
Linn) TERHADAP MENCIT JANTAN GALUR BALB-C**

SKRIPSI

Oleh

Indri Noor Hidayati
NIM 082010101058

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012



**LD₅₀ EKSTRAK AIR POHON PATAH TULANG (*Euphorbia tirucalli*
Linn) TERHADAP MENCIT JANTAN GALUR BALB-C**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Indri Noor Hidayati
NIM 082010101058

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012

PERSEMBAHAN

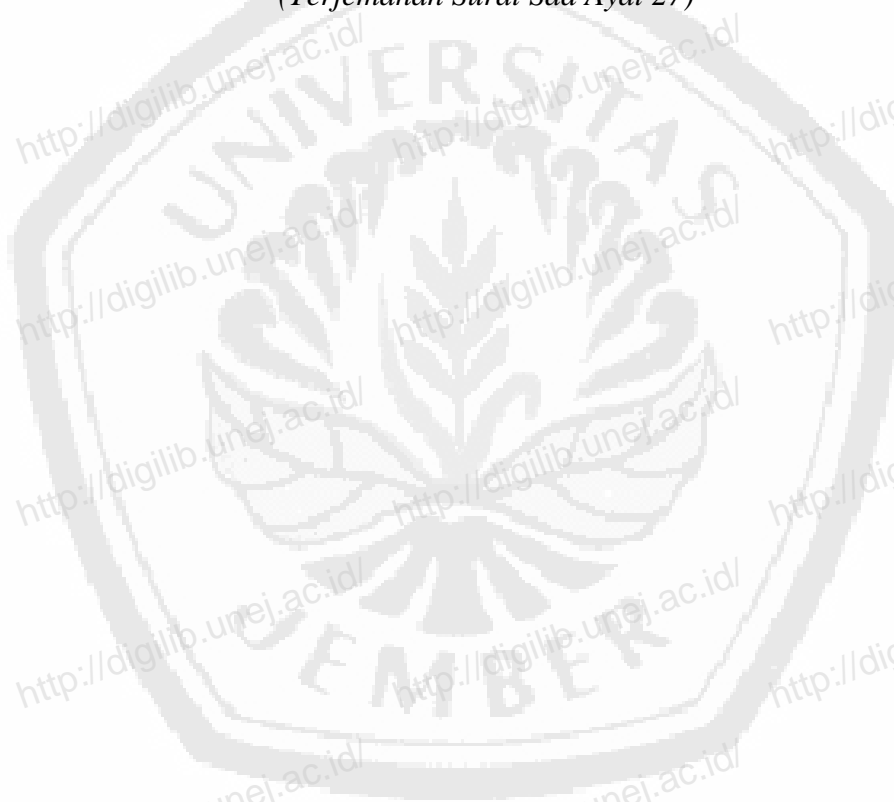
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, yang telah memberi limpahan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya sehingga saya mendapat kesempatan untuk hidup dan menuntut ilmu, beserta Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi tauladan saya;
2. Ayah Mulyadi dan Ibu Muntamah tercinta, terima kasih untuk segenap cinta, kasih sayang, doa dan pengorbanannya selama ini. Kalian adalah motivasi terbesar saya untuk meraih kesuksesan. Senyum dan kebahagiaan ayah dan ibu adalah harapan terbesar saya;
3. Adek Lina Ash Shabrina, yang selalu bersedia menjadi tempat berbagi cerita suka dan duka, serta mendukung saya dengan doa dan motivasi positif. Semoga cita-citanya terkabul;
4. Guru-guru formal dan informal saya yang terhormat, yang selalu mendidik saya dengan penuh ketulusan dan kesabaran;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.

(Terjemahan Surat Sad Ayat 27))*



*⁾ Departemen Agama Republik Indonesia.. 2002 *Al Qur'an dan Terjemahannya*.
Surabaya: Mekar Surabaya.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Indri Noor Hidayati

NIM : 082010101058

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “LD₅₀ Ekstrak Air Pohon Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) terhadap Mencit Jantan Galur Balb-C” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 September 2012

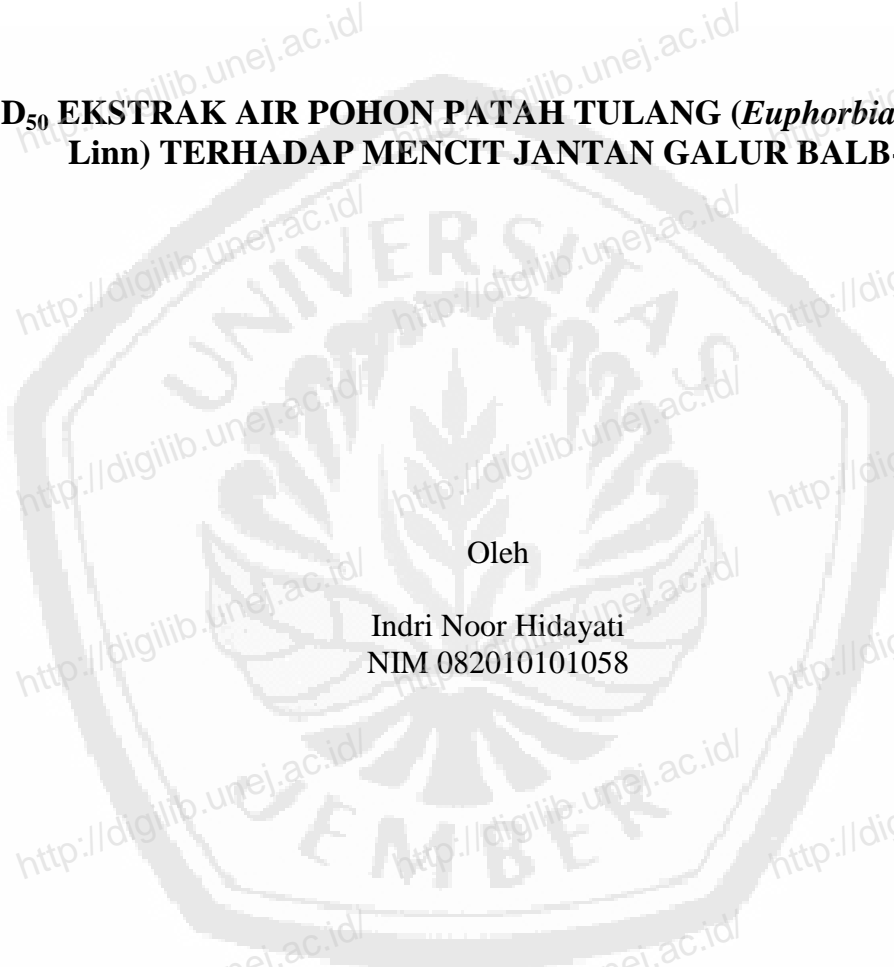
Yang menyatakan,

Indri Noor Hidayati

NIM 082010101058

SKRIPSI

**LD₅₀ EKSTRAK AIR POHON PATAH TULANG (*Euphorbia tirucalli*
Linn) TERHADAP MENCIT JANTAN GALUR BALB-C**



Oleh

Indri Noor Hidayati
NIM 082010101058

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Edy Junaidi, M.Sc.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “LD₅₀ Ekstrak Air Pohon Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) terhadap Mencit Jantan Galur Balb-C” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :
hari, tanggal : Jumat, 14 September 2012
tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Dosen Penguji I

dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked.
NIP 19710521 199803 1 003

Dosen Penguji III

dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D
NIP 19690901 199903 1 003

Dosen Penguji II

dr. Erfan Efendi, Sp.An
NIP 19680328 199903 1 001

Dosen Penguji IV

dr. Edy Junaidi, M.Sc.
NIP 19750801 200312 1 003

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes.
NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

LD₅₀ Ekstrak Air Pohon Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) terhadap Mencit Jantan Galur Balb-C; Indri Noor Hidayati, 082010101058; 2012: 49 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) sudah dimanfaatkan sebagai tanaman tradisional karena terbukti bahwa akar, batang, ranting, maupun getahnya dapat dimanfaatkan sebagai terapi untuk beberapa penyakit. Namun, selain bermanfaat sebagai obat tradisional, ternyata pohon patah tulang memiliki beberapa kandungan yang dapat menyebabkan efek toksik. Melihat fenomena ini maka peneliti melakukan penelitian LD₅₀ ekstrak air pohon patah tulang terhadap mencit jantan galur Balb-C.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan uji secara *in vivo* pada 36 ekor mencit jantan galur balb-c yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomolekul Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan membagi mencit menjadi enam kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari enam mencit. Masing-masing kelompok dilakukan perlakuan yang berbeda. Pada kelompok kontrol, keenam mencit diinjeksi secara intraperitoneal 0,5 cc aquades. Sedangkan pada kelompok perlakuan dilakukan injeksi secara intraperitoneal masing-masing dengan dosis ekstrak air pohon patah tulang sebesar 20 mg, 25 mg, 33,33 mg, 50 mg, dan 100 mg. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.

Hasil pengamatan pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan satu (P1) dan kelompok perlakuan dua (P2) tidak ditemukan kematian mencit sama sekali. Pada kelompok perlakuan tiga (P3) ditemukan kematian mencit sebanyak satu ekor. Sedangkan pada kelompok perlakuan empat (P4) ditemukan kematian mencit

sebanyak lima ekor. Kematian total terjadi pada kelompok perlakuan lima (P5), yaitu enam ekor mencit mati. Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh jumlah dosis yang diinjeksikan terhadap jumlah kematian mencit. Selain itu, pada kelompok kontrol tidak ditemukan kematian mencit sama sekali maka dapat disimpulkan bahwa kematian mencit disebabkan oleh pengaruh ekstrak pohon patah tulang, bukan karena trauma yang disebabkan oleh jarum suntik.

Berdasarkan penelitian, data yang dihasilkan adalah berupa data nominal. Selain itu, pada penelitian ini digunakan jumlah sampel yang cukup besar. Oleh karena itu, data yang sudah didapatkan dianalisis dengan menggunakan analisis *Chi-square* lalu dilanjutkan dengan analisis probit sehingga dapat ditentukan nilai LD₅₀. Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa nilai LD₅₀ yang didapatkan pada penelitian ini adalah 42,062 mg.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “LD₅₀ Ekstrak Air Pohon Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) terhadap Mencit Jantan Galur Balb-C”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. dr. Enny Suswati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Edy Junaidi, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Kedua, yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya selama penulisan skripsi ini;
3. dr. Cholis Abrori, M.Kes., MPd.Ked selaku Dosen Penguji I dan dr. Erfan Efendi, Sp.An selaku Dosen Penguji II, yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang bersifat membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Seluruh staf pengajar dan karyawan/karyawati Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas bimbingan serta bantuannya;
5. Pengajar dan staf Laboratorium Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember serta Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas bantuannya dalam pembuatan ekstrak air pohon patah tulang dan penyediaan mencit yang digunakan sebagai bahan penelitian;
6. Ayah Mulyadi dan Ibu Muntamah tercinta yang senantiasa mengiringi langkah saya dengan dukungan moril, materil, doa, dan kasih sayang yang tidak pernah

- putus, serta selalu menggyur saya dengan siraman ilmu agama, sebagai bekal perjalanan hidupku dalam meraih kesuksesan di dunia dan di akhirat kelak;
7. Adek Lina Ash Shabrina yang senantiasa mendukung dengan doa dan motivasi positif;
 8. Keluarga saya di Surabaya, Bojonegoro dan Lamongan yang senantiasa selalu memberikan dukungan kepada saya;
 9. Bapak dan Ibu Majid sekeluarga di Jember yang telah senantiasa seperti keluarga saya sendiri;
 10. The Doctors FK 08, yang menjadi teman seperjuangan terhebat saya;
 11. Sahabat-sahabat saya di Surabaya dan Jember, sahabat-sahabat organisasi saya di BEM, BPM, IMSAC dan FULDFK Indonesia, serta sahabat-sahabat KKT saya di Desa Wringintelu, Puger yang selalu mampu mengukirkan senyum saya;
 12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya;

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, September 2012

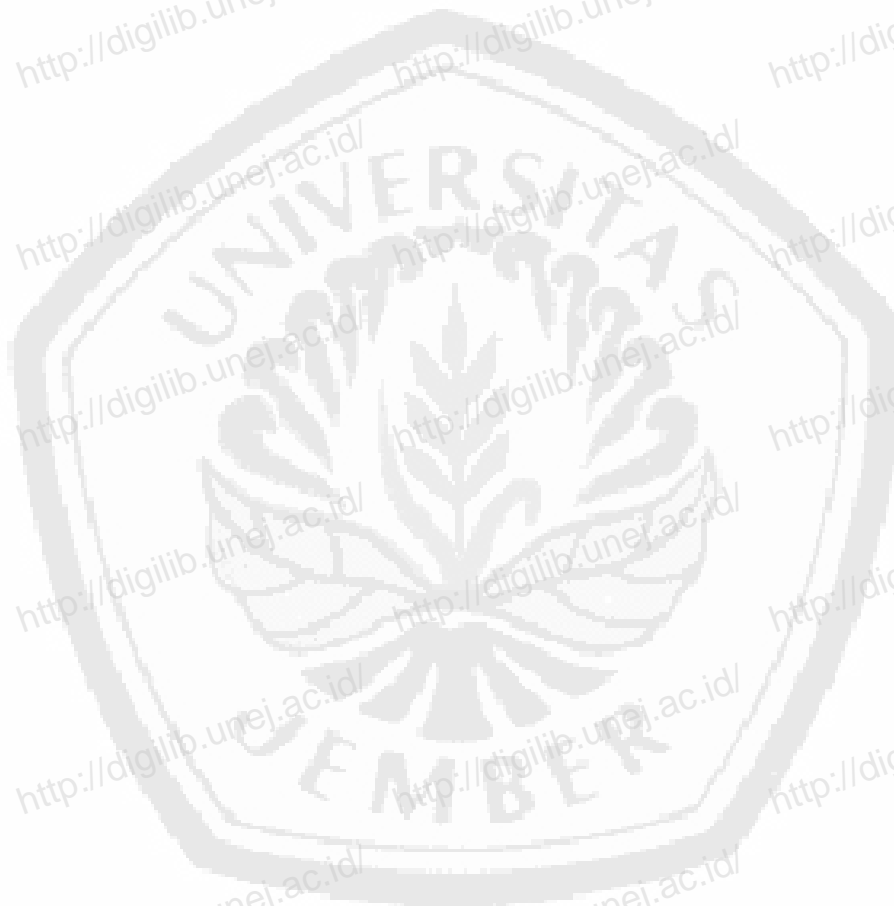
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Umum	2
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Pohon Patah Tulang (<i>Euphorbia tirucalli</i> Linn)	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Kandungan Kimia	7
2.1.3 Manfaat	8
2.1.4 Bahaya	9

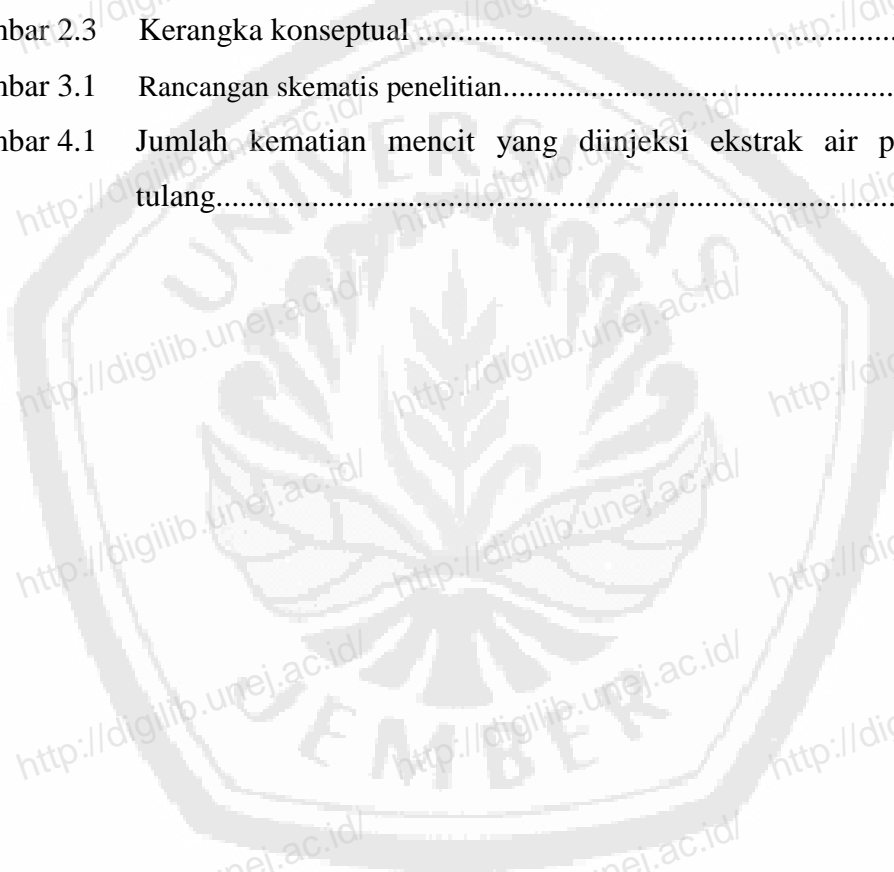
2.2 Ekstraksi Pohon Patah Tulang	11
2.2.1 Ekstraksi.....	11
2.2.2 Metode Ekstrak Air Pohon Patah Tulang.....	12
2.2.3 Maserasi	12
2.3 Lethal Dose 50% (LD₅₀)	13
2.5 Kerangka Konseptual	15
2.6 Hipotesis Penelitian	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Jenis Penelitian	17
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.3 Teknik Pengumpulan Bahan	17
3.4 Rancangan Penelitian	17
3.5 Jumlah Sampel	19
3.6 Variabel Penelitian	19
3.7 Definisi Operasional	20
3.8 Alat dan Bahan yang Digunakan	20
3.8.1 Alat Uji	20
3.8.2 Bahan Uji.....	21
3.9 Prosedur Penelitian	21
3.9.1 Ekstraksi Air Pohon Patah Tulang (<i>Euphorbia tirucalli</i> Linn) ...	21
3.9.2 Perlakuan Hewan Coba.....	22
3.9.3 Injeksi Ekstrak Air Pohon Patah Tulang.....	22
3.9.4 Pengamatan Respon Hewan Coba	22
3.10 Alur Penelitian	23
3.11 Analisis Data	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Hasil Penelitian	25
4.2 Analisis Data	29
4.3 Pembahasan	31

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN-LAMPIRAN	39



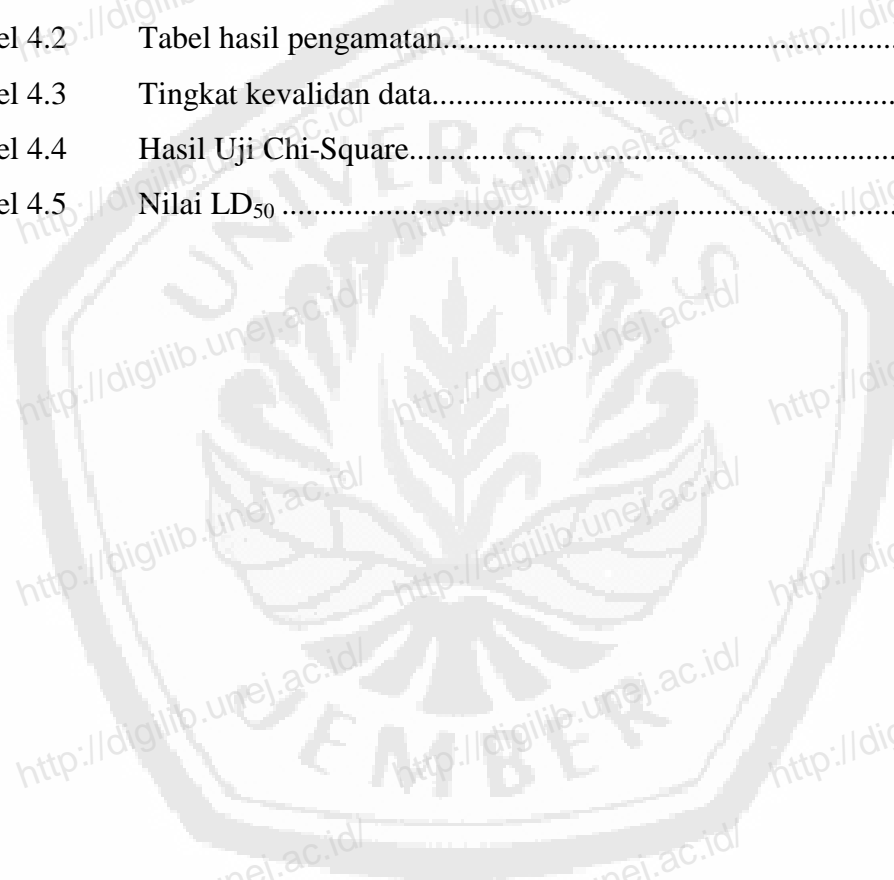
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Pohon Patah Tulang	5
Gambar 2.2 Manfaat <i>Euphorbia tirucalli</i>	8
Gambar 2.3 Kerangka konseptual	15
Gambar 3.1 Rancangan skematis penelitian.....	18
Gambar 4.1 Jumlah kematian mencit yang diinjeksi ekstrak air pohon patah tulang.....	28



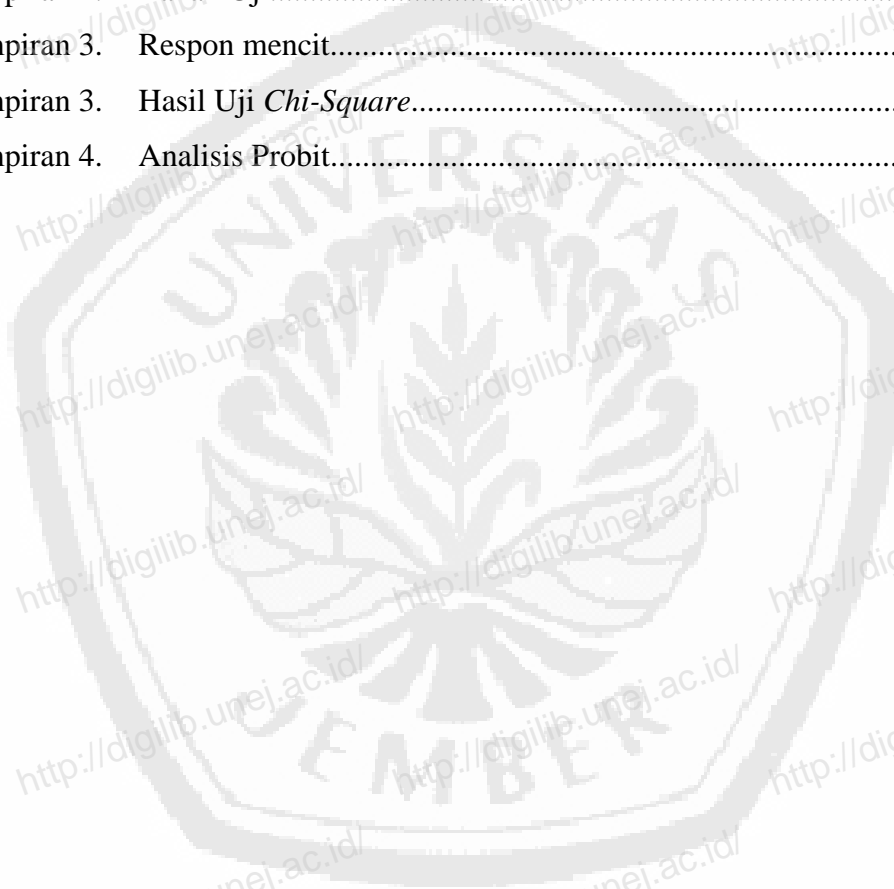
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Potensi toksisitas akut suatu senyawa pada hewan coba..... 14
Tabel 4.1	Tabel hasil pengukuran berat badan mencit..... 26
Tabel 4.2	Tabel hasil pengamatan..... 28
Tabel 4.3	Tingkat kevalidan data..... 29
Tabel 4.4	Hasil Uji Chi-Square..... 30
Tabel 4.5	Nilai LD ₅₀ 31



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Alat Uji	39
Lampiran 2. Bahan Uji.....	41
Lampiran 3. Respon mencit.....	43
Lampiran 3. Hasil Uji <i>Chi-Square</i>	44
Lampiran 4. Analisis Probit.....	46



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) merupakan tanaman perdu yang berasal dari Afrika tropis. Pohon ini menyukai tempat terbuka yang terkena cahaya matahari langsung. Di Indonesia, pohon ini ditanam sebagai tanaman pagar, tanaman hias di pot, atau tumbuh liar. Tanaman ini dapat ditemukan dari dataran rendah sampai 600 m dpl (Absor, 2006).

Pohon patah tulang sudah dimanfaatkan sebagai tanaman obat tradisional. Bagian pohon patah tulang yang digunakan sebagai obat adalah akar, batang kayu, ranting, dan getahnya (Absor, 2006). Di Indonesia, akar pohon patah tulang digunakan untuk terapi nyeri tulang, daunnya untuk mengobati bisul, hemoroid, dan ekstraksi duri, batangnya untuk mengobati penyakit lepra dan lumpuh ekstremitas pasca melahirkan (Duke, 1983), getahnya untuk menyembuhkan penyakit kulit dan patah tulang (Mwin, 2011).

Selain bermanfaat sebagai tanaman obat, pohon patah tulang memiliki efek toksik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa getah susu dan semua bagian tanaman ini beracun. Getahnya sangat mengiritasi kulit dan mata (Apollo, 2006).

Kandungan kimia dari getah pohon patah tulang menyebabkan iritasi jika terjadi kontak dengan kulit, iritasi pada membran mukosa, dan menyebabkan rasa terbakar yang hebat. Jika getahnya tertelan dapat menyebabkan rasa terbakar, iritasi pada perut, mulut, menyebabkan nyeri, diare sampai terjadi kematian (Fuller dan McClintock, 1986). Kasus keracunan pada anak-anak dapat terjadi gejala muntah, diare, tanaman ini juga dapat mengakibatkan reaksi alergi seperti asma, *hay fever*, *distress* nafas, gastroenteritis, dan menyebabkan iritasi seperti dermatitis, ruam sampai rasa terbakar yang hebat. Jika getah tanaman ini kontak dengan mata dapat menyebabkan rasa terbakar, fotofobia, erosi epitel kornea, keratokonjungtivitis

dengan visus menurun, dan kebutaan dalam waktu 8-12 jam (Crowder dan Sexton 1964).

Pada penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak air pada batang, daun dan akar dari pohon patah tulang dapat menyebabkan translokasi kromosom pada sel B yang paling sering adalah kromosom 8 dan juga memodulasi aktivitas dari sel T sehingga terjadi paparan dengan Limfoma Burkitt (Mac Neil, 2003). Selain itu, Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia melarang penggunaan tanaman ini sebagai suplemen makanan karena toksisitasnya yang membahayakan (Sampurno, 2004).

Melihat fenomena ini, pemakaian pohon patah tulang yang berkhasiat sebagai tanaman obat oleh sebagian besar masyarakat, namun mempunyai kandungan toksin di dalamnya. Oleh karena itu, peneliti ingin meneliti LD₅₀ ekstrak air pohon patah tulang terhadap mencit jantan galur Balb-C.

Lethal dose atau LD₅₀ ditetapkan sebagai tanda statistik pada pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan coba (Frank, 1996). Efek yang timbul segera diamati hingga 24 jam setelah pemberian bahan. Pada penelitian sebelumnya didapatkan LD₅₀ dari ekstrak air pohon patah tulang sebesar 3000 mg/KgBB (Prabha et al, 2008).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh ekstrak air pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) terhadap jumlah kematian mencit setelah 24 jam.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

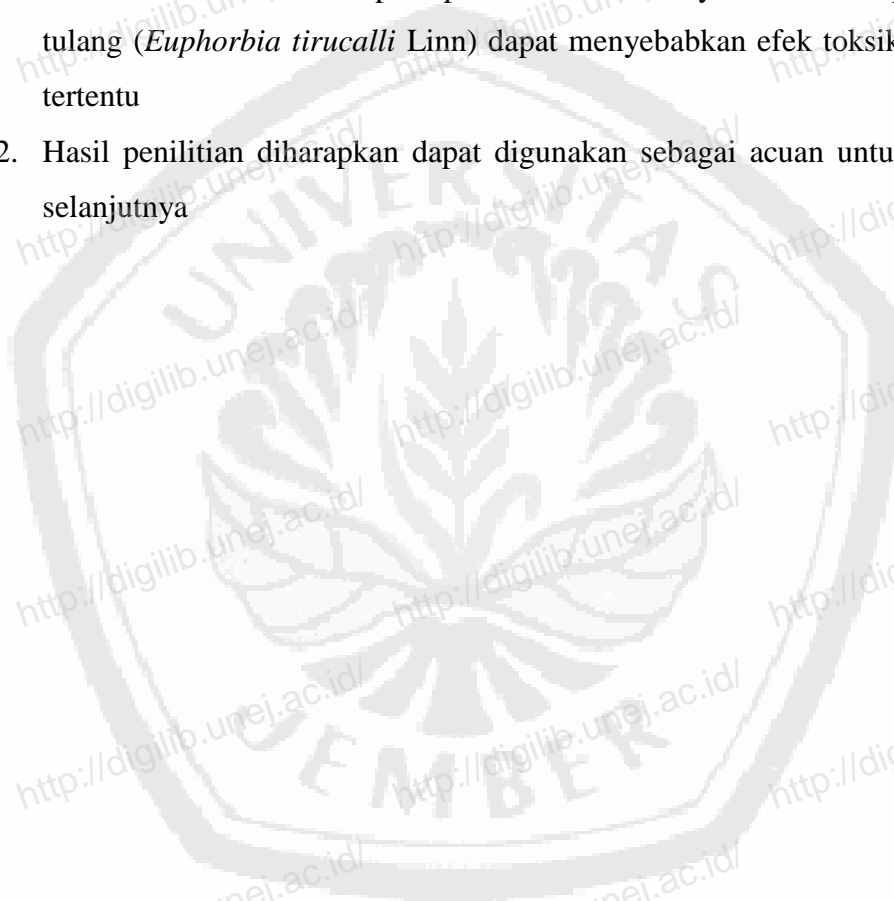
Mengetahui LD₅₀ ekstrak air pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) terhadap mencit jantan galur Balb-C.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui pengaruh ekstrak air pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) terhadap jumlah kematian mencit setelah 24 jam

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada para medis dan masyarakat bahwa pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) dapat menyebabkan efek toksik pada tertentu
2. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pohon Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn)

Pohon patah tulang ditemukan pertama kali oleh Linnaeus pada tahun 1753 di Malabar, India tetapi beberapa sumber menjelaskan bahwa tanaman ini berasal dari Madagaskar. Nama famili Euphorbiaceae dan nama genus *Euphorbia* diambil dari nama ilmuwan abad pertama di Mauritania. Dia percaya bahwa tanaman ini dapat digunakan untuk pengobatan (Voigt, 2007). Tanaman ini dibawa oleh pedagang dan pelaut Portugal yang bepergian ke timur dan berhenti di Mozambique dan dalam penyebarannya diperkirakan membutuhkan waktu yang relatif lama. Nama *tirucalli* diberikan pada tanaman ini karena tempat asal ditemukannya tumbuhan ini, yaitu di Malabar, India (Gildenhuis, 2006). Pohon patah tulang juga dikenal dengan nama *Aveloz* di Brazil, *Pencil tree* di Inggris, *Naked Lady* di Australia, *Kraalnaboom* di Afrika Selatan, *Bali-bali* di Filipina, *Injil* di Arab, *Palito* di Spanyol, *Khia cheen* di Thailand (Orwa *et al*, 2009).

Pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) merupakan tanaman perdu yang berasal dari Afrika tropis. Namun tanaman ini secara luas tersebar pada seluruh daerah tropis dan subtropis. Di Inggris nama tanaman ini adalah finger tree, pencil tree, rubber euphorbia. Di Perancis nama tanaman ini adalah Euphorbe effil T., tirucalli. Sedangkan di Indonesia sebutan nama tanaman ini, antara lain : Susuru (Sunda); kayu urip, pacing tawa, tikel balung (Jawa); Kayu jaliso, kayu lesu, kayu langtolangan, kayu tabar (Madura); Patah tulang (Sumatera), kayu potong (Kangean).

Pohon patah tulang menyukai tempat terbuka yang terkena cahaya matahari langsung. Di Indonesia, pohon ini ditanam sebagai tanaman pagar, tanaman hias di pot, atau tumbuh liar. Tanaman ini dapat ditemukan dari dataran rendah sampai 600 m dpl (Absor, 2006).

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Pohon patah tulang dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Absor, 2006) :

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dikotiledonae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Euphorbia</i>
Spesies	: <i>Euphorbia tirucalli</i> Linn



Gambar 2.1 Pohon Patah Tulang (Absor, 2006)

Pohon patah tulang adalah pohon yang mempunyai banyak cabang dan berbentuk seperti pensil sehingga sering disebut sebagai pohon pensil atau pencil tree (Mwine, 2010), bergetah seperti susu beracun, daunnya jarang dan terdapat pada ujung ranting yang masih muda, kecil-kecil, bentuknya lanset, panjang 7-25 mm, dan cepat rontok, sedangkan bunganya majemuk, tersusun seperti mangkuk, warnanya kuning kehijauan, keluar dari ujung ranting (Absor, 2006) dan memproduksi nektar yang bertujuan untuk menarik kupu-kupu, lebah, dan serangga lain yang berperan untuk polinasi. Bijinya juga dapat dimakan oleh burung karena batangnya yang tidak berduri memberi keuntungan pada burung untuk memakan biji tanaman ini (Voigt, 2007).

Pohon patah tulang mampu bertahan pada cuaca kering karena memiliki luas permukaan yang sangat kecil. Hal ini mencegah kekurangan air dan batangnya yang berwarna hijau sehingga proses fotosintesis lebih optimal. Buahnya bila masak akan pecah dan mengeluarkan biji-bijinya. Buahnya berbentuk kapsul yang terdiri dari tiga bagian dengan diameter 12 mm, berwarna hijau pucat dengan warna merah muda, dan buah ini tertutup rambut halus. Bijinya berbentuk oval dengan diameter 4x3 mm, permukaannya halus dan berwarna coklat gelap dengan garis putih. Bijinya biasanya muncul pada bulan Februari sampai Maret. Meskipun tanaman ini tidak memiliki duri, batangnya mengandung getah dalam jumlah yang besar, getah dapat dengan mudah keluar apabila dibuat insisi atau luka pada batang tersebut. Tanaman ini dapat dengan mudah ditanam dan tumbuh dengan cepat pada iklim hangat, tanaman ini dapat ditanam dengan cara stek atau biji (Voigt, 2007).

Tinggi pohon ini mencapai 3-6 meter. Pohon ini biasanya digunakan sebagai tanaman pagar karena tidak mudah terserang hama dan tahan pada kondisi tropis (Van, 2011). Pohon patah tulang yang mempunyai nama ilmiah *Euphorbia tirucalli* Linn ini merupakan salah satu jenis *Euphorbia*. Seperti halnya dengan *Euphorbia* lainnya, pohon ini biasa digunakan sebagai tanaman obat untuk berbagai penyakit (Mwine, 2010).

2.1.2 Kandungan Kimia

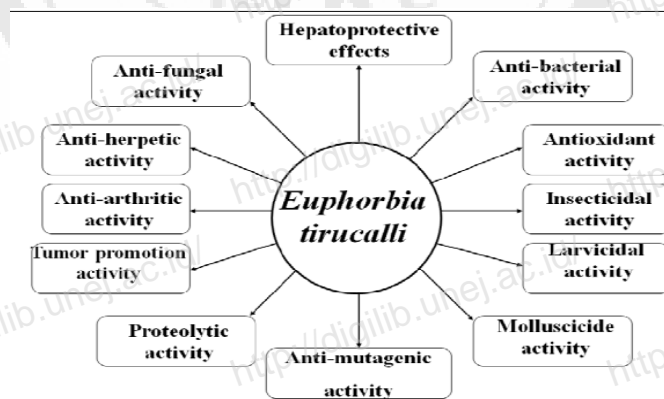
Pohon patah tulang memiliki bau yang lemah, rasa mula-mula tawar, lama kelamaan timbul rasa tebal di lidah (Absor, 2006). Pohon patah tulang mengandung asam sitrat 7,4% dengan beberapa malonat dan asam suksinat (Rosen, 2010). Getahnya bersifat asam, mengandung senyawa euphorbin, taraksasterol, alaktucero, euphol, senyawa damar yang menyebabkan rasa tajam ataupun kerusakan pada selaput lendir, kautschuk (zat karet), dan zat pahit (Absor, 2006). Pada getah segar pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) mengandung senyawa-senyawa seperti air (53,8-79,9%), *4 β -deoxyphorbol ester* dan *4-deoxyingenol* (Rosen, 2010). Getah kering pohon patah tulang mengandung *ketone euphorone* dan *resin* (75,8-82,1%) yang merupakan zat kimia yang paling banyak dikandung oleh getah kering (Khan dan Malik, 1990). Ranting patah tulang mengandung glikosida, sapogenin, asam elagat (Absor, 2006), alkohol, *euforbol*, dan *taraxasterol*, dan *tirucarol* (Costa, 2002), *hentriaconten*, *hentriacontanol*, *steroid antitumor β -sitosterol*, *taraxerin*, *3,3'-di-O-methylellagic acid*, *ellagic acid*, dan fraksi glikosid yang mampu menghidrolisis kamferol dan glukosa (Rosen, 2010).

Glikosida merupakan senyawa yang terbentuk dari kondensasi antara gugus hidroksil pada karbon anomerik monosakarida atau residu monosakarida dengan senyawa kedua yang dapat bukan monosakarida lain (aglikon). Senyawa glikosida ditemukan dalam sejumlah besar obat serta rempah dan dalam unsur-unsur pembentuk jaringan binatang. Senyawa aglikon dapat berupa metanol, gliserol, sterol, fenol, atau basa seperti adenin. Sapogenin merupakan bagian aglikon dari saponin yang diperoleh dengan cara hidrolisis. Sapogenin terdiri struktur terpen atau steroid. Sapogenin ditemukan dalam tanaman dan salah satunya adalah ginseng (Absor, 2006). Saponin adalah golongan senyawa glikosida yang mempunyai struktur steroid dan mempunyai sifat-sifat khas dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan membus bila dikocok. Keberadaan saponin dapat dicirikan dengan rasa yang pahit, pembentuk busa yang stabil pada larutan cair (busa berbentuk sarang lebah pada air) dan mampu membentuk molekul dengan kolesterol (Cheeke, 1999).

Saponin jauh lebih molar daripada saponin karena ikatan glikosidanya (Harborne, 1996).

Resin atau damar adalah suatu campuran yang kompleks dari sekret tumbuh-tumbuhan dan insekta, biasanya berbentuk padat dan amorf dan merupakan hasil terakhir dari metabolisme dan di bentuk diruang-ruang skizogen dan skizolisigen. Banyak penyelidik percaya bahwa resin adalah hasil oksidasi dari terpen-terpen. Secara fisis resin (damar) ini biasanya keras, transparan plastis dan pada pemanasan menjadi lunak atau meleleh. Secara kimiawi resin adalah campuran yang kompleks dari asam-asam resinat, alkoholi-resinat, resinotannol, ester-ester dan resene-resene. Bebas dari zat lemas dan mengandung sedikit oksigen. Karena mengandung zat karbon dalam kadar tinggi, maka kalau dibakar menghasilkan hangus. Juga ada yang menganggap bahwa resin terdiri dari zat-zat terpenoid, yang dengan jalan adisi dengan air menjadi damar dan fitosterin. Sifat larut dalam air, sebagian larut dalam alkohol, larut dalam eter, aseton, petroleum eter, kloroform, minyak terpening dan lain-lain minyak. Asam elagat adalah senyawa fenol alam yang ditemukan dalam bentuk elagitanin pada tanaman. Asam elagat berpotensi sebagai antikanker dan antioksidan (Absor, 2006). Akarnya mengandung *cycloartenol*, *euphorbol*, *hexacosanoate*, *taraxerone*, *tinyatoxin* (James, 2007).

2.1.3 Manfaat



Gambar 2.2 Manfaat *Euphorbia tirucalli* (Lekhya, 2011)

Pohon patah tulang sudah dimanfaatkan sebagai tanaman obat lokal maupun internasional. Bagian pohon patah tulang yang digunakan sebagai obat adalah akar, batang kayu, ranting, dan getahnya (Absor, 2006). Di Indonesia, akar pohon patah tulang digunakan untuk terapi nyeri tulang, daunnya untuk mengobati bisul, hemoroid, dan ekstraksi duri, batangnya untuk mengobati penyakit lepra dan lumpuh ekstremitas pasca melahirkan (Duke, 1983), getahnya untuk menyembuhkan penyakit kulit dan patah tulang (Mwin, 2011). Di Afrika dikatakan bahwa pohon ini berkhasiat untuk menyembuhkan gigitan ular, kutil, impotensi, sifilis, dan untuk mengekstrak parasit kulit. Di Asia yang paling populer adalah untuk mengobati fraktur, hemoroid, kutil, edema, dan ulserasi. Di Brazil, selain untuk mengobati penyakit-penyakit seperti di negara lain, digunakan juga untuk mengobati asma, kanker, kejang, dan lain-lain (Cataluna dan Tarif, 1997; Van 2011). Di Malaysia, akarnya digunakan untuk terapi ulserasi hidung, hemoroid, dan pembengkakan. Di India, pohon patah tulang ini digunakan untuk terapi spleomegali, asma, lepra, keputihan, dispepsia, jaundice, kolik, tumor, dan vesicolithiasis (Kumar, 1999) getahnya digunakan sebagai antisifilis (Mwin, 2011) dan emesis pada dosis besar (Kumar, 1999). Pada dosis kecil, getahnya dapat digunakan untuk mengobati sakit gigi, sakit kepala, rematik, kutil, batuk, neuralgia, gigitan kalajengking (Kumar, 1999). Cabang dan akarnya untuk kolik dan sakit perut (Mwin, 2011). Selain itu, beberapa literatur menyebutkan bahwa pohon ini memiliki efek larvasida (Rauman et al, 2008; Yadav et al, 2002), Anti-jamur (Mohamed et al., 1996), anti-virus (Betancur-Galvis et al, 2002.) dan anti-bakteri (Lirio et al, 1998).

2.1.4 Bahaya

Selain bermanfaat sebagai tanaman obat, pohon patah tulang memiliki efek toksik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa getah susu dan semua bagian tanaman ini beracun. Getahnya sangat mengiritasi kulit dan mata (Apollo, 2006). Selain itu, terdapat pula penelitian yang menunjukkan aktivitas toksik pohon patah tulang pada rahim tikus yang sedang hamil (Osore et al, 1984).

Pada penelitian uji toksisitas ekstrak air getah pohon patah tulang terhadap kematian ikan tawar *Heteropneustes fossilis* didapatkan bahwa terdapat korelasi positif antara angka kematian ikan dan periode paparan. Nilai LC50 untuk ekstrak air getah pohon patah tulang pada berbagai periode paparan adalah 3,450 ml/L selama 24 jam, 2,516 ml/L selama 48 jam, 1,623 ml/L selama 72 jam, dan 1,315 ml/L selama 96 jam (Kumar, 2010). Toksin dari getah pohon patah tulang dapat mengubah susunan asam amino, *asam nukleat*, *glikogen*, *asam piruvat*, *asam laktat*, aktivitas *protease*, *alanin aminotransferase*, *asetilkolinesterase*, *sitokrom oksidase*, dan enzim di hati pada ikan air tawar secara signifikan. Perubahan dari parameter biokimia ini menyebabkan gangguan pada jalan nafas ikan dan menyebabkan krisis energi akibat penekanan pada produksi ATP sehingga ikan akan mati lemas (Tiwari, 2005).

Pada penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak air pada batang, daun dan akar dari pohon patah tulang dapat menyebabkan translokasi kromosom pada sel B yang paling sering adalah kromosom 8 dan juga memodulasi aktivitas dari sel T sehingga terjadi paparan dengan Limfoma Burkitt. Limfoma Burkitt adalah limfoma malignan non Hodgkin yang disebabkan oleh virus *Epstein-Barr*. Virus *Epstein-Barr* adalah anggota dari famili virus herpes yang merupakan salah satu virus yang paling sering menginfeksi 95% manusia dewasa di Amerika Serikat. Setelah infeksi awal virus *Epstein-Barr* akan berada pada masa dorman di dalam sel B. Beberapa virus *Epstein-Barr* carier akan berkembang menjadi limfoma Burkitt atau *nasopharyngeal carcinoma*. Terdapat beberapa bukti klinis limfoma Burkitt yang berhubungan dengan getah dari pohon patah tulang yang dapat mereaktifkan virus *Epstein-Barr* laten dan mencetuskan pertumbuhan secara general. Hal ini diperkuat dengan adanya peningkatan titer antibodi terhadap virus *Epstein-Barr* dan adanya antigen yang mendahului Limfoma Burkitt sehingga memberi efek biologis yang masuk akal antara pohon patah tulang dengan virus *Epstein-Barr*. Distribusi pohon patah tulang yang tidak terkendali berbanding meningkat dengan insiden Limfoma Burkitt di Afrika. Contohnya pohon patah tulang sangat banyak di Kenya dan Tanzania yang memiliki insiden Limfoma Burkitt terbanyak. Selain itu anak-anak di Malawi juga

secara signifikan memiliki insiden lebih besar karena pertumbuhan pohon patah tulang yang sukar dikontrol (Mac Neil, 2003).

Kandungan kimia dari getah pohon patah tulang menyebabkan iritasi jika terjadi kontak dengan kulit, iritasi pada membran mukosa, dan menyebabkan rasa terbakar yang hebat. Jika getahnya tertelan dapat menyebabkan rasa terbakar, iritasi pada perut, mulut, menyebabkan nyeri, diare sampai terjadi kematian (Fuller dan McClintock, 1986).

Kasus keracunan pada anak-anak dapat terjadi gejala muntah, diare, tanaman ini juga dapat mengakibatkan reaksi alergi seperti asma, *hay fever*, *distress* nafas, gastroenteritis, dan menyebabkan iritasi seperti dermatitis, ruam sampai rasa terbakar yang hebat. Jika getah tanaman ini kontak dengan mata dapat menyebabkan rasa terbakar, fotofobia, erosi epitel kornea, keratokonjungtivitis dengan visus menurun, dan kebutaan dalam waktu 8-12 jam (Crowder dan Sexton 1964). Selain itu, Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia melarang penggunaan tanaman ini sebagai suplemen makanan karena toksisitasnya yang membahayakan (Sampurno, 2004).

2.2 Ekstraksi Pohon Patah Tulang

2.2.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Proses awal ekstraksi adalah pembuatan serbuk simplisia kering. Simplisia adalah bahan ilmiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun atau berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni. Setelah itu, dilakukan proses selanjutnya, yaitu proses pembuatan ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia dengan

menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Namun, kebijakan dan peraturan pemerintah berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol, heksakan, toluen, kloroform, aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian.

2.2.2 Metode Ekstrak Air Pohon Patah Tulang

Sampel pohon patah tulang sebanyak 50 gram dimaserasi dengan aquades sebanyak 100 ml selama 10 menit. Kemudian filtrat yang dihasilkan di saring dengan menggunakan kain dua lapis. Lalu filtrat di *sentrifuge* dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Supernatannya disaring dengan menggunakan kertas saring dan di sterilisasi pada suhu 120° C selama 30 menit. Ekstrak di simpan secara aseptik pada botol gelap dengan temperatur 5° C (Mohana, 2008).

2.2.3 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (cara dingin). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukannya penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

2.3 Lethal Dose 50% (LD₅₀)

Lethal Dose 50% adalah suatu besaran yang diturunkan secara statistik, guna menyatakan dosis tunggal sesuatu senyawa yang diperkirakan dapat mematikan atau menimbulkan efek toksik yang berarti pada 50% hewan coba setelah perlakuan. LD₅₀ merupakan tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal.

Beberapa pendapat menyatakan tidak setuju, bahwa LD₅₀ masih dapat digunakan untuk uji toksisitas akut. Namun demikian, ada juga beberapa kalangan yang masih setuju bahwa LD₅₀ masih dapat digunakan untuk uji toksisitas akut dengan pertimbangan antara lain (Loomis, 1987) :

- Jika dilakukan dengan baik, uji toksisitas akut tidak hanya mengukur LD₅₀, tetapi juga memberikan informasi tentang waktu kematian penyebab kematian, gejala-gejala sebelum kematian, organ yang terkena efek, dan kemampuan pemulihan dari efek nonlethal.
- Hasil uji ini dapat digunakan untuk pertimbangan pemilihan desain penelitian subakut.
- Hasil uji ini dapat langsung digunakan sebagai perkiraan risiko suatu senyawa terhadap konsumen atau pasien.
- Uji LD₅₀ tidak membutuhkan waktu yang lama.

Hasil dari uji LD₅₀ yang harus dilaporkan selain jumlah hewan yang mati, juga harus disebutkan durasi pengamatan. Bila pengamatan dilakukan dalam 24 jam setelah perlakuan, maka hasilnya tertulis "LD₅₀ 24 jam". Namun seiring perkembangan, hal ini sudah tidak diperhatikan lagi, karena pada umumnya tes LD₅₀ dilakukan dalam 24 jam pertama sehingga penulisan hasil tes "LD₅₀" saja sudah cukup untuk mewakili tes LD₅₀ yang diamati dalam 24 jam. Bila dibutuhkan, tes ini dapat dilakukan lebih dari 14 hari. Contohnya, pada tricresyl phosphat, akan memberikan pengaruh secara neurogik pada hari 10–14, sehingga bila diamati pada 24 jam pertama tidak akan menemukan hasil yang berarti. Dan apabila demikian maka penulisan hasil harus disertai dengan durasi pengamatan (Loomis, 1987).

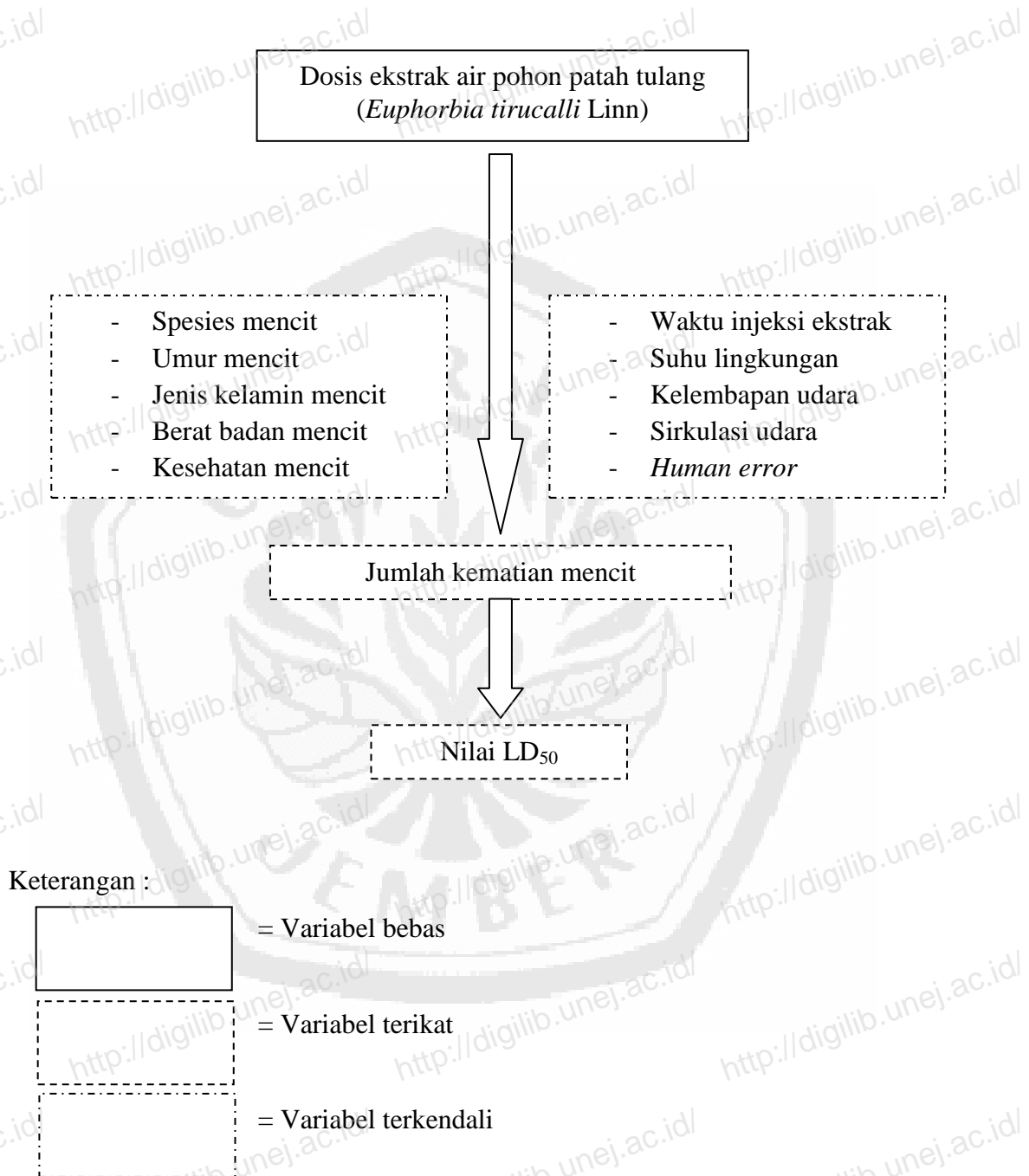
Pada umumnya, semakin kecil nilai LD_{50} , semakin toksik senyawa tersebut. Demikian juga sebaliknya, semakin besar nilai LD_{50} , semakin rendah toksisitasnya. Potensi toksisitas akut suatu senyawa pada hewan coba dibagi menjadi beberapa kelas, adalah sebagai berikut:

Tabel 2.1 Potensi Toksisitas Akut Suatu Senyawa Pada Hewan Coba (Loomis, 1987)

No	Kelas	LD_{50} (mg/KgBB)
1	Luar biasa toksik	1 atau kurang
2	Sangat toksik	1-50
3	Cukup toksik	50 – 500
4	Sedikit toksik	500 – 5000
5	Praktis tidak toksik	5000 – 15000
6	Relatif kurang berbahaya	Lebih dari 15000

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi nilai LD_{50} antara lain spesies, strain, jenis kelamin, umur, berat badan, gender, kesehatan nutrisi, dan isi perut hewan coba. Teknis pemberian juga mempengaruhi hasil, yaitu meliputi waktu pemberian, suhu lingkungan, kelembaban dan sirkulasi udara. Selain itu, kesalahan manusia juga dapat mempengaruhi hasil ini. Oleh karena itu, sebelum melakukan penelitian, kita harus memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ini (Hodgson, 2000).

2.4 Kerangka Konseptual



Gambar 2.3 Kerangka Konseptual

Pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) termasuk tumbuhan tinggi yang mengandung *cycloartenol*, *euphorbol*, *hexacosanoate*, *taraxerone*, *tinyatoxin*, glikosida, sapogenin, asam elagat, alkohol, *euforbol*, *taraxasterol*, *tirucarol*, *hentriaconten*, *hentriacontanol*, *steroid antitumor β -sitosterol*, *taraxerin*, dan *3,3'-O-methylellagic acid*, euphorbin, taraksasterol, alaktucerol, euphol, senyawa damar, kautschuk (zat karet), zat pahit, *4 β -deoxyphorbol ester* dan *4-deoxyingenol*, ketone *euphorone*, dan *resin*.

Pemberian ekstrak air pohon patah tulang dengan berbagai dosis dapat menyebabkan kematian mencit sehingga dapat ditentukan nilai LD₅₀. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi nilai LD₅₀ antara lain spesies, jenis kelamin, umur, berat badan, dan kesehatan mencit serta *human error*.

2.5 Hipotesis Penelitian

Ekstrak air pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) mempengaruhi jumlah kematian mencit. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin banyak pula jumlah mencit yang mati.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan uji secara *in vivo* pada mencit jantan galur Balb-C dengan tujuan mengetahui LD50 ekstrak air pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomolekul Fakultas Kedokteran Universitas Jember selama 3 bulan, yaitu bulan Juli - September 2012.

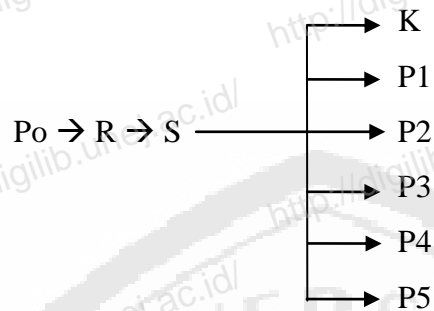
3.3 Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan bahan pada penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu pengumpulan pohon patah tulang, pembuatan simplasia pohon patah tulang, pembuatan ekstrak air pohon patah tulang dengan cara maserasi, dan pengeringan ekstrak dengan menggunakan evaporator. Kemudian dilakukan injeksi intraperitoneal ekstrak air pohon patah tulang pada hewan coba, pengamatan respon hewan coba terhadap ekstrak air pohon patah tulang selama 24 jam, analisis data dengan menggunakan *Chi-Square* dan dilanjutkan dengan menggunakan analisis model probit sehingga dapat ditentukan nilai LD₅₀.

3.4 Rancangan Penelitian

Pada penelitian eksperimen ini, rancangan penelitian yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design*. Rancangan ini dipilih karena merupakan metode yang paling sederhana tetapi cukup baik untuk diterapkan.

Randomisasi sampel dilakukan untuk mengurangi bias dari sampel yang digunakan. Secara sistematis rancangan penelitian digambarkan pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Rancangan Skematis Penelitian

Keterangan :

Po : Populasi mencit

R : Randomisasi

S : Sampel

K : Hewan coba pada kelompok kontrol dengan konsumsi pelet dan aquades serta injeksi aquades 0,5 cc

P1 : Hewan coba pada perlakuan pertama dengan konsumsi pelet dan aquades serta injeksi ekstrak air pohon patah tulang dengan dosis 20 mg

P2 : Hewan coba pada perlakuan kedua dengan konsumsi pelet dan aquades serta injeksi ekstrak air pohon patah tulang dengan dosis 25 mg

P3 : Hewan coba pada perlakuan ketiga dengan konsumsi pelet dan aquades serta injeksi ekstrak air pohon patah tulang dengan dosis 33,33 mg

P4 : Hewan coba pada perlakuan ketiga dengan konsumsi pelet dan aquades serta injeksi ekstrak air pohon patah tulang dengan dosis 50 mg

P5 : Hewan coba pada perlakuan ketiga dengan konsumsi pelet dan aquades serta injeksi ekstrak air pohon patah tulang dengan dosis 100 mg

3.5 Jumlah Sampel

Pada penelitian ini data yang dihasilkan oleh sampel adalah data nominal sehingga penentuan jumlah sampel dikalkulasikan dengan menggunakan uji *Chi-Square*. Jumlah sampel yang dihasilkan adalah 36 sampel yang dibagi dalam enam kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari enam sampel.

Test Family = X^2 test

Statistical test = Goodness – of fit- tests : Contingency tables

Type of power analysis = A priori : Compute required sample size – given , power, and effect size

Input parameters :

effect size w = 0.4

α err prob = 0.36

Power ($1 - \beta$ err prob) = 0.8

Df = 6

Output parameters :

Noncentrality parameter λ = 5.7600000

Critical X^2 = 6.5942915

Total sample size = 36

Actual power = 0.8047363

3.6 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak air pohon patah tulang dan variabel terikatnya adalah jumlah kematian mencit sehingga dapat ditentukan nilai LD₅₀. Sedangkan variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur Balb-C berumur 2-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram dan kondisi fisik sehat serta tidak tampak cacat secara anatomi.

3.7 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah

- a. Ekstrak air pohon patah tulang adalah dahan yang berasal dari tanaman pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) yang muda, berwarna hijau, dan tidak terkena penyakit yang kemudian diekstrak dengan air.
- b. Hewan coba yang dipakai adalah mencit jantan galur Balb-C usia 2-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram.
- c. Injeksi intraperitoneal adalah injeksi di bagian kuadran bawah abdomen untuk memasukkan substansi ke dalam rongga peritoneal (rongga abdomen)
- d. LD₅₀ adalah dosis tunggal suatu bahan yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan uji dalam waktu 24 jam.

3.8 Alat dan Bahan yang Digunakan

3.8.1 Alat

Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak air pohon patah tulang :

1. Timbangan
2. Blender
3. Kertas saring
4. Kain saring
5. Tabung erlenmeyer
6. Aluminium foil
7. Evaporator
8. Freeze drying

Alat yang digunakan untuk pemeliharaan hewan coba :

1. Kandang hewan coba
2. Kawat penutup kandang
3. Botol minuman hewan coba
4. Sekam untuk alas kandang

Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan coba :

- a. Sarung tangan
- b. S spuit injeksi 1cc dan 3cc
- c. Spidol
- d. Stopwatch
- e. Seperangkat alat bedah
- f. Handycam dan kamera

3.8.2 Bahan Uji

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. Batang muda pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn) seberat 950 gram dan diekstraksi dengan air di Laboratorium Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
- b. Mencit jantan galur Balb-C yang diperoleh dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- c. Aquades untuk membuat ekstrak air dan minuman mencit
- d. Pelet turbo untuk makanan mencit

3.9 Prosedur penelitian

3.9.1 Ekstraksi air Pohon Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn)

Sampel didapatkan dari pohon patah tulang yang berada di Universitas Jember. Berat sampel yang didapatkan adalah 2000 gram, kemudian dipotong menjadi dua bagian dan diangin-anginkan selama 2 minggu sehingga menjadi kering. Berat kering yang dihasilkan adalah 215gram. Setelah itu, dilakukan pembuatan simplisia dengan cara dihaluskan dan disaring sehingga menghasilkan simplisia 150 gram.

Simplisia ditambah dengan aquades 300 ml dan didiamkan selama 24 jam pada suhu 24°C. Setelah itu, dilakukan steril selama 1 jam pada suhu 24°C. kemudian disaring dengan menggunakan kain saring dan sentrifuge pada suhu 10°C dengan

kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, lalu disaring kembali dengan menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan endapan dan filtrat I.

Endapan ditambah dengan aquades 300 ml dan didiamkan selama 24 jam pada suhu 24°C. Setelah itu, dilakukan steril selama 1 jam pada suhu 24°C. kemudian disaring dengan menggunakan kain saring dan sentrifuge pada suhu 10°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, lalu disaring kembali dengan menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan endapan dan filtrat II.

Filtrat I dan II masing-masing menghasilkan filtrat yang berjumlah 300 ml. Filtrat I dan II dicampur dan dilakukan evaporasi selama 10 jam sehingga menghasilkan ekstrak kental sebanyak 15 ml. Ekstrak kental dikeringkan dengan menggunakan freeze drying selama seminggu sehingga ekstrak menjadi kering. Ekstrak kering yang dihasilkan sebanyak 10 gram.

3.9.2 Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba dikarantina terlebih dahulu selama 7 hari. Pengkarantinaan ini bertujuan menghilangkan stres akibat transportasi dan mengkondisikan hewan dengan suasana laboratorium. Hewan coba diberi minuman aquades dan makanan pelet turbo serta alas kandang berupa sekam yang diganti tiap 2 hari sekali.

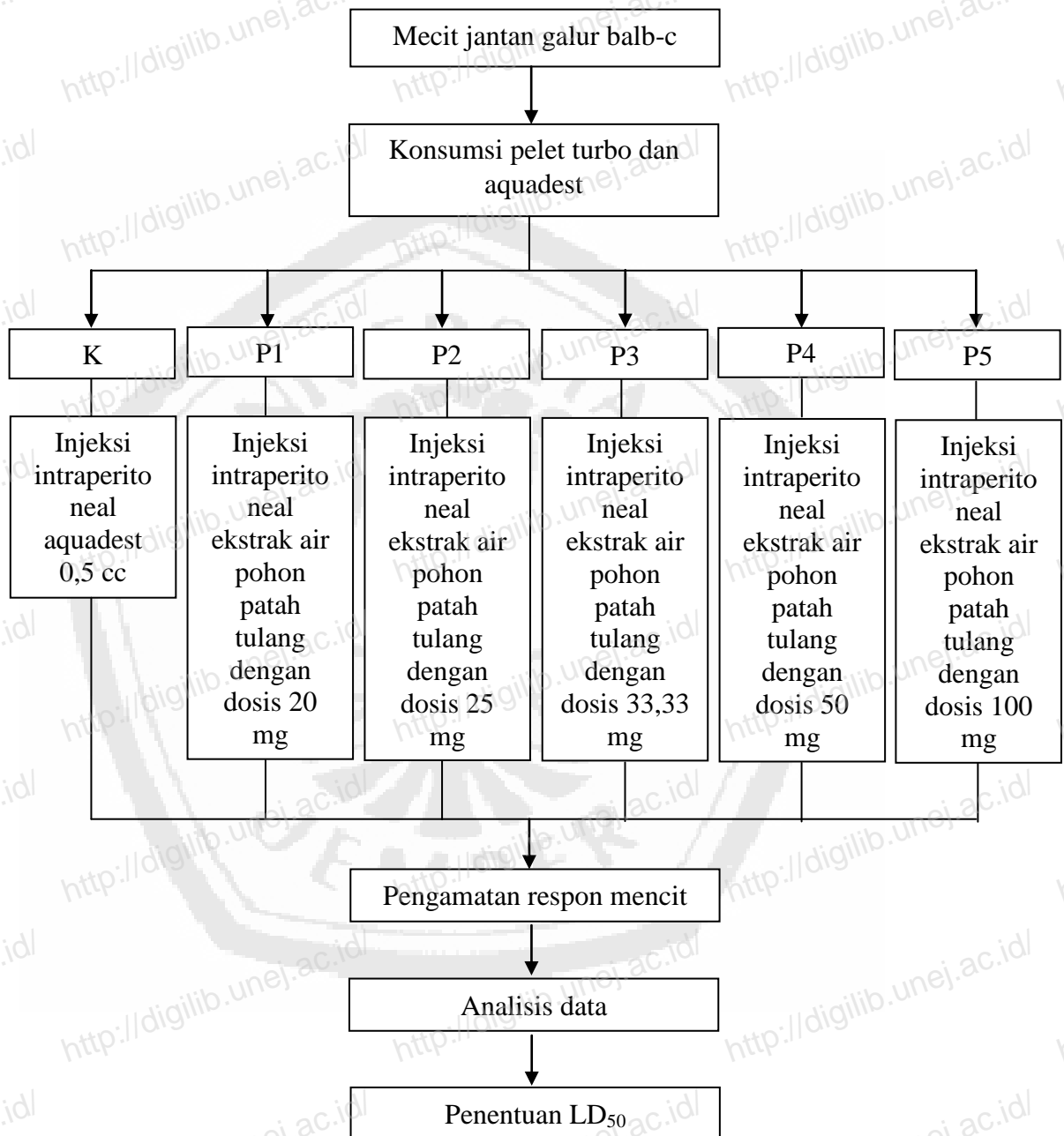
3.9.3 Injeksi Ekstrak Air Pohon Patah Tulang

Injeksi ekstrak air pohon patah tulang dilakukan secara intraperitoneal dengan menggunakan dosis yang berbeda pada masing-masing kelompok. Dosis yang diberikan adalah 20 mg, 25 mg, 33,33 mg, 50 mg, dan 100 mg.

3.9.4 Pengamatan Respon Hewan Coba

Pengamatan dilakukan pada menit-1, menit-5, menit-15, menit-30, jam-1, dan jam-24. Respon hewan coba diamati dengan tujuan mengumpulkan data dan selanjutnya dilakukan analisis data dengan menggunakan *Chi-Square* dan dilanjutkan dengan menggunakan analisis metode probit sehingga dapat ditentukan nilai LD₅₀.

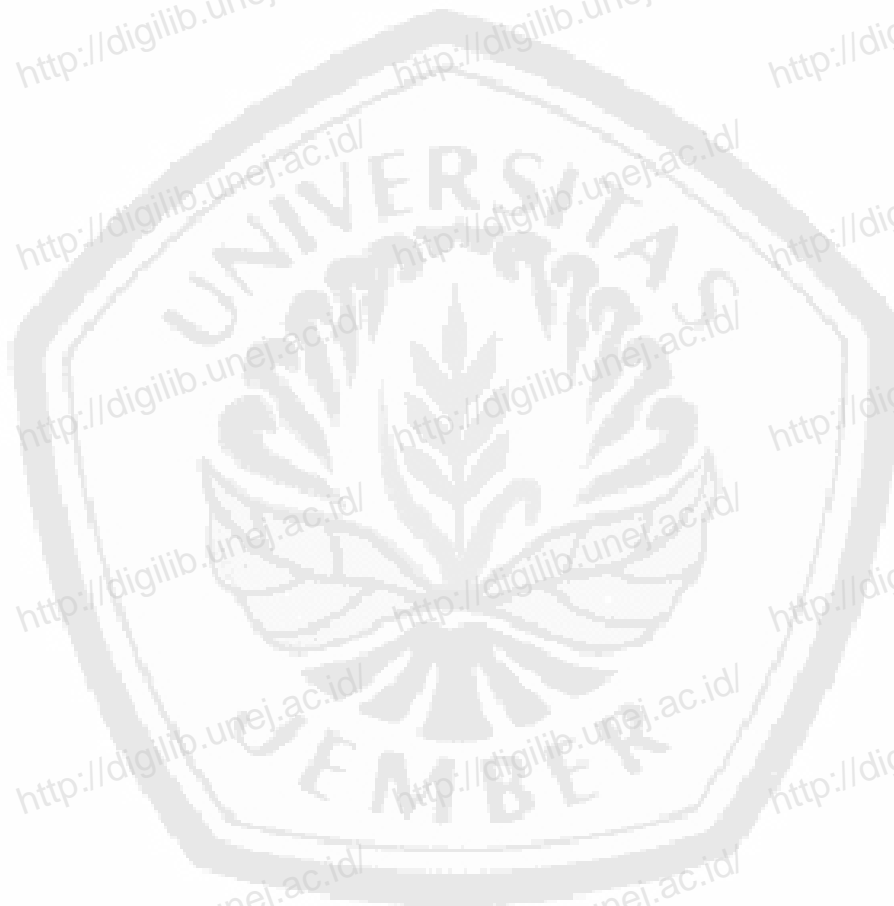
3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

3.11 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah data nominal sehingga menggunakan uji *Chi-Square*. Data yang diperoleh akan dianalisis dengan menggunakan model probit untuk menentukan nilai LD₅₀ ekstrak air pohon patah tulang terhadap mencit jantan galur Balb-C.



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang dilakukan pada 36 ekor mencit jantan galur Balb-C yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram yang dibagi menjadi enam kelompok sehingga masing-masing kelompok terdiri dari enam mencit.

Pada penelitian ini, injeksi ekstrak air pohon patah tulang dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis yang berbeda pada setiap kelompok, yaitu dosis 20 mg, 25 mg, 33,33 mg, 50 mg, dan 100 mg. Sedangkan satu kelompok yang lain merupakan kelompok kontrol yang diinjeksi secara intraperitoneal dengan aquades 0,5 cc.

Sebelum dilakukan perlakuan, masing-masing mencit dilakukan pengukuran berat badan. Pengukuran berat badan mencit dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hasil pengukuran berat badan disajikan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Tabel hasil pengukuran berat badan mencit

Berat mencit	K (gram)	P1 (gram)	P2 (gram)	P3 (gram)	P4 (gram)	P5 (gram)
1	29	28,5	28	28	27	30
2	29	26	26	29	27	26
3	27	28	26	26	30	30
4	27	29	30	30	26	26
5	27	28	26,5	30	26	26
6	29	30	26,5	28	28	28
Rata-rata	28	28,25	27,17	28,5	27,33	27,67

Pengamatan respon mencit dilakukan 24 jam setelah dilakukan injeksi intraperitoneal. Hasil pengamatan masing-masing kelompok adalah sebagai berikut :

a. Kelompok kontrol (K)

Kelompok K adalah kelompok yang mendapatkan perlakuan berupa konsumsi pelet dan aquades secara teratur serta injeksi intraperitoneal aquades sebesar 0,5 cc. Berat rata-rata kelompok K adalah 28 gram. Berdasarkan hasil pengamatan selama 24 jam pasca injeksi aquades pada tanggal 4 September 2012 pukul 15.00 sampai tanggal 5 September 2012 pukul 15.00 tidak ditemukan kematian mencit sama sekali sehingga persentase kematian mencit pada kelompok P1 yaitu 0 %.

b. Kelompok perlakuan 1 (P1)

Kelompok P1 adalah kelompok yang mendapatkan perlakuan berupa konsumsi pelet dan aquades secara teratur serta dosis injeksi intraperitoneal sebesar 20 mg. Berat rata-rata kelompok P1 adalah 28,25 gram. Berdasarkan hasil pengamatan selama 24 jam pasca injeksi ekstrak air pohon patah tulang pada tanggal 30 Juli 2012 pukul 13.10 sampai tanggal 31 Juli 2012 pukul 13.10 tidak ditemukan

kematian mencit sama sekali sehingga persentase kematian mencit pada kelompok P1 yaitu 0 %.

c. Kelompok perlakuan 2 (P2)

Kelompok P2 adalah kelompok yang mendapatkan perlakuan berupa konsumsi pelet dan aquades secara teratur serta dosis injeksi intraperitoneal sebesar 25 mg. Berat rata-rata kelompok P2 adalah 27,17 gram. Berdasarkan hasil pengamatan selama 24 jam setelah injeksi ekstrak air pohon patah tulang pada tanggal 1 Agustus 2012 pukul 16.30 sampai tanggal 2 Agustus 2012 pukul 16.30 tidak ditemukan kematian mencit sama sekali sehingga persentase kematian mencit pada kelompok P2 yaitu 0 %.

d. Kelompok perlakuan 3 (P3)

Kelompok P3 adalah kelompok yang mendapatkan perlakuan berupa konsumsi pelet dan aquades secara teratur serta dosis injeksi intraperitoneal sebesar 33,33 mg. Berat rata-rata kelompok P3 adalah 28,5 gram. Berdasarkan hasil pengamatan selama 24 jam pasca injeksi ekstrak air pohon patah tulang pada tanggal 28 Agustus 2012 pukul 12.35 sampai tanggal 29 Agustus 2012 pukul 12.35 ditemukan kematian mencit sebanyak 1 ekor sehingga persentase kematian mencit pada kelompok P3 yaitu 16,67 %.

e. Kelompok perlakuan 4 (P4)

Kelompok P4 adalah kelompok yang mendapatkan perlakuan berupa konsumsi pelet dan aquades secara teratur serta dosis injeksi intraperitoneal sebesar 50 mg. Berat rata-rata kelompok P4 adalah 27,33 gram. Berdasarkan hasil pengamatan selama 24 jam setelah injeksi ekstrak air pohon patah tulang pada tanggal 25 Juli 2012 pukul 14.35 sampai tanggal 26 Juli 2012 pukul 14.35 ditemukan kematian mencit sebanyak 5 ekor sehingga persentase kematian mencit pada kelompok P4 yaitu 83,33 %.

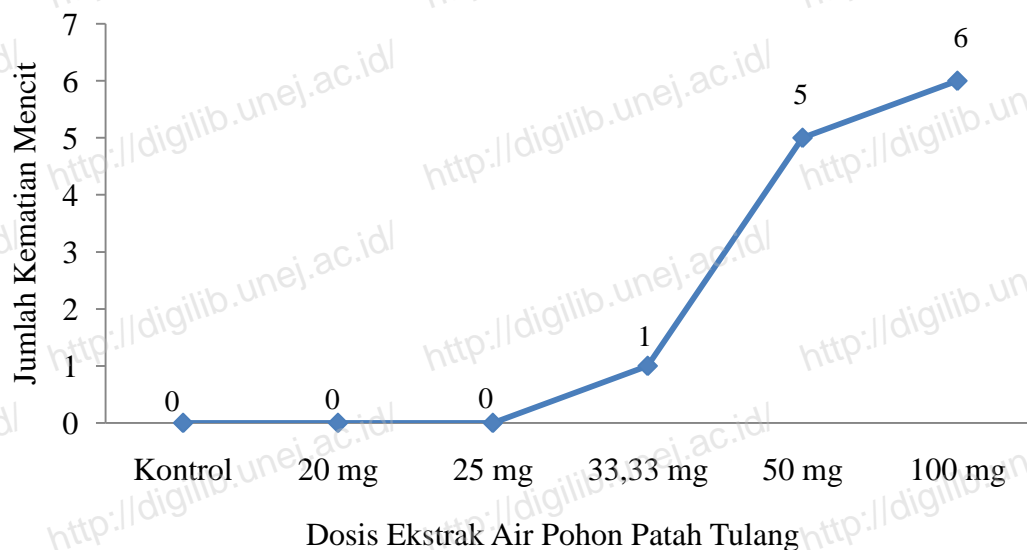
f. Kelompok perlakuan 5 (P5)

Kelompok P5 adalah kelompok yang mendapatkan perlakuan berupa konsumsi pelet dan aquades secara teratur serta dosis injeksi intraperitoneal sebesar

100 mg. Berat rata-rata kelompok P5 adalah 27,67 gram. Berdasarkan hasil pengamatan selama 24 jam pasca injeksi ekstrak air pohon patah tulang pada tanggal 22 Juli 2012 pukul 11.35 sampai tanggal 23 Juli 2012 pukul 11.35 ditemukan kematian mencit sebanyak 6 ekor sehingga persentase kematian mencit pada kelompok P1 yaitu 100 %.

Tabel 4.2 Tabel hasil pengamatan

Mati (24 jam)	K	P1	P2	P3	P4	P5
1	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
2	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya
3	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya
4	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Ya
5	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya
6	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya
% mati	0 %	0 %	0 %	16,67 %	83,33 %	100 %



Gambar 4.1 Jumlah kematian mencit yang diinjeksi ekstrak air pohon patah tulang

4.2 Analisis data

Data hasil penelitian yang telah diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis *Chi-Square* untuk mengetahui pengaruh dari pemberian injeksi ekstrak air pohon patah tulang secara intraperitoneal dalam berbagai dosis terhadap jumlah kematian mencit. Selanjutnya data tersebut dianalisis dengan model probit untuk mengetahui LD_{50} .

Tabel 4.3 Tingkat kevalidan data

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Dosis ekstrak air pohon patah tulang dan respon mencit	30	100.0%	0	.0%	30	100.0%

Terdapat 30 data yang semuanya diproses dan tidak ada data yang hilang (missing cases = 0%) sehingga tingkat kevalidan data ini adalah 100%.

Tabel 4.4 Hasil Uji Chi-Square

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	23.056 ^a	4	.000
Likelihood Ratio	29.567	4	.000
Linear-by-Linear Association	17.935	1	.000
N of Valid Cases	30		

Pada tabel di atas, terlihat bahwa nilai *Chi-Square* adalah 23,056 dan nilai Asympyotic Significance (Asymp. Sig.) adalah 0,000. Data tersebut menunjukkan bahwa adanya hubungan antara dosis ekstrak air pohon patah tulang yang diinjeksikan secara intraperitoneal dengan jumlah kematian mencit. Hal ini dikarenakan signifikansi kurang dari 0,05, maka H_0 ditolak dan H_a diterima. H_0 (hipotesis nol) menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara dosis ekstrak air pohon patah tulang yang diinjeksikan secara intraperitoneal dengan jumlah kematian mencit. Sebaliknya, H_a (hipotesis alternatif) menunjukkan bahwa ada hubungan antara dosis ekstrak air pohon patah tulang yang diinjeksikan secara intraperitoneal dengan jumlah kematian mencit

Setelah diketahui adanya hubungan antara dosis ekstrak air pohon patah tulang dengan jumlah kematian mencit, maka dilanjutkan dengan analisis probit yaitu untuk menentukan nilai LD_{50} ekstrak tersebut.

Tabel 4.5 Nilai LD₅₀

<i>Probability</i>	<i>Dosis Ekstrak Air Pohon Patah Tulang</i>		
	<i>Estimate</i>	<i>Lower Bound</i>	<i>Upper bound</i>
.500	42,062	34,837	52,507

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa LD₅₀ ekstrak air pohon patah tulang adalah 42,062 mg.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang dilakukan pada 36 ekor mencit. Adapun alasan digunakan mencit dalam percobaan ini karena selain hewan-hewan tersebut ekonomis, mudah didapat, dan mudah dirawat, data-data toksikologinya sudah tersedia sehingga memudahkan perbandingan toksisitas zat kimia satu dengan yang lain.

Sebelum dilakukan perlakuan, masing-masing mencit dilakukan pengukuran berat badan. Pengukuran berat badan mencit dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hasil pengukuran berat badan mencit dan rata-ratanya disajikan dalam tabel 4.1. Adapun alasan digunakan mencit yang memiliki berat badan 25-30 gram karena berat badan proporsional untuk mencit usia 2-3 bulan adalah 25-30 gram. Percobaan ini menggunakan mencit usia 2-3 bulan dikarenakan pada usia tersebut mencit berada pada usia matur sehingga baik digunakan sebagai hewan percobaan. Selain itu, percobaan ini juga menggunakan mencit jantan dengan tujuan agar penelitian tidak terganggu oleh pengaruh hormonal pada mencit betina sehingga dapat mempengaruhi parameter yang dihitung.

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, didapatkan bahwa pada kelompok kontrol (K) yang diinjeksi secara intraperitoneal dengan aquades 0,5 cc tidak ditemukan kematian mencit sama sekali. Hal ini terjadi pula pada kelompok perlakuan satu (P1) dan kelompok perlakuan dua (P2) yang masing-masing kelompok diinjeksi secara intraperitoneal ekstrak air pohon patah tulang dengan dosis 20 mg

dan 25 mg. Pada kelompok tiga (P3) mulai terjadi kematian mencit. Injeksi secara intraperitoneal ekstrak air pohon patah tulang dengan dosis 33,33 mg ini mematikan satu ekor mencit dari total mencit di kelompok tersebut, yaitu enam ekor mencit. Pada kelompok perlakuan empat (P4) dilakukan peningkatan dosis, yaitu 50 mg. Hal ini diikuti dengan terjadinya peningkatan jumlah kematian mencit pula, yaitu kematian lima ekor mencit. Sedangkan pada kelompok perlakuan lima (P5) dengan pemberian dosis 100 mg terjadi kematian seluruh mencit dalam kelompok tersebut, yaitu kematian enam ekor mencit. Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh jumlah dosis yang diinjeksikan secara intraperitoneal ekstrak air pohon patah tulang terhadap jumlah kematian mencit. Selain itu, pada kelompok kontrol tidak dihasilkan kematian mencit sama sekali. Hal ini menunjukkan bahwa kematian mencit adalah karena pengaruh ekstrak air pohon patah tulang yang diinjeksikan secara intraperitoneal, bukan dikarenakan trauma yang dihasilkan oleh jarum suntik.

Pada pengamatan juga didapatkan gejala yang sedikit berbeda antar masing-masing kelompok. Pada kelompok yang diinjeksi dengan dosis yang lebih kecil, umumnya pada menit pertama setelah dilakukan injeksi didapatkan peningkatan aktivitas pada mencit. Berbeda pada kelompok yang diinjeksi dengan dosis besar, umumnya pada menit pertama setelah dilakukan injeksi sudah mengalami penurunan aktivitas, mencit sudah melemas mulai dari awal. Walaupun masing-masing kelompok dilakukan pengamatan yang sama, yaitu selama 24 jam namun respon yang dihasilkan berbeda. Hal ini dikarenakan perbedaan jumlah ekstrak air pohon patah tulang yang diinjeksikan, yang berarti bahwa terdapat perbedaan jumlah toksin yang diinjeksikan ke dalam tubuh mencit. Adapun kandungan dari pohon patah tulang adalah glikosida, sapogenin, asam elagat (Absor, 2006), alkohol, *euforbol*, *taraxasterol*, *tirucarol* (Costa, 2002), *hentriaconten*, *hentriacontanol*, *steroid antitumor β -sitosterol*, *taraxerin*, *3,3'-di-O-methylellagic acid*, *ellagic acid*, resin dan fraksi glikosid yang mampu menghidrolisis kamferol dan glukosa (Rosen, 2010).

Sebagian besar kandungan kimia pohon patah tulang termasuk dalam golongan triterpenoid. Triterpenoid memiliki efek fisiologi yang baik dan senyawa ini

merupakan komponen yang aktif di tumbuhan obat yang digunakan untuk penyakit termasuk diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati, dan malaria. Selain itu, senyawa ini mampu bekerja sebagai antifungus maupun insektisida, serta menunjukkan aktivitas antibakteri dan antivirus. Di samping potensi yang menguntungkan tersebut, triterpenoid dapat menyebabkan efek toksik.

Toksin yang dihasilkan sebenarnya merupakan usaha untuk melindungi diri dari bahaya. Seperti pada resin, daya racunnya disebabkan oleh antar aksi dengan subunit ribosom 60S mamalia yang mengakibatkan hidrolisis beberapa ikatan glikosida-N dengan akibat penghambatan sintesis protein. Fungsi dari resin adalah melindungi tumbuhan dari serangan mikroba. Namun, pada dosis tertentu ternyata toksin ini dapat berbahaya. Selain itu sapogenin juga dapat mengakibatkan efek toksik. Sapogenin adalah senyawa aktif permukaan dan dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa. Namun, sapogenin ini dapat pula menghemolisis sel darah merah dan dapat pula menyebabkan keracunan pada hewan. Hal ini biasanya dimanfaatkan nelayan untuk menangkap ikan. Toksin dari getah pohon patah tulang dapat mengubah susunan asam amino, *asam nukleat*, *glikogen*, *asam piruvat*, *asam laktat*, aktivitas *protease*, *alanin aminotransferase*, *asetilkolinesterase*, *sitokrom oksidase*, dan enzim di hati pada ikan air tawar secara signifikan. Perubahan dari parameter biokimia ini menyebabkan gangguan pada jalan nafas ikan dan menyebabkan krisis energi akibat penekanan pada produksi ATP sehingga ikan akan mati lemas (Tiwari, 2005).

Selain triterpenoid, pohon patah tulang juga mengandung euphorbon. Euphorbon merupakan protein yang bersifat sitotoksin, yaitu racun yang memiliki tindakan racun tertentu pada sel-sel dari organ tertentu.

Menurut cara masuknya racun ke dalam tubuh mencit, toksin pohon patah tulang masuk ke dalam tubuh mencit melalui injeksi secara intraperitoneal sehingga toksin masuk ke dalam rongga perut dan terjadi penyerapan yang cepat karena penyerapan langsung ke pembuluh darah usus yang memiliki luas permukaan besar.

Toksin akan menyebar ke seluruh tubuh sehingga dapat menyebabkan efek toksik dan terjadilah kematian.

Kematian mencit pada penelitian ini kemungkinan besar dikarenakan oleh pengaruh ekstrak air pohon patah tulang yang beberapa kandungannya memiliki efek toksik. Namun, penelitian ini tidak dilakukan otopsi dan pemeriksaan secara histopatologik pada mencit yang mati maupun hidup sehingga tidak dapat diketahui bagian organ apa saja yang diserang oleh senyawa toksin tersebut dan apakah tidak terjadi perdarahan pasca injeksi yang dapat menyebabkan kematian mencit. Hal ini dikarenakan pada penelitian ini peneliti hanya ingin mengetahui jumlah kematian mencit setelah diinjeksi secara intraperitoneal, tanpa menentukan parameter lain yang dapat mempengaruhi hasil dari penelitian.

Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa nilai LD_{50} yang didapatkan berbeda dari penelitian sebelumnya. Pada penelitian sebelumnya didapatkan nilai LD_{50} 3000 mg/KgBB sedangkan pada penelitian ini didapatkan nilai LD_{50} 42,062 mg. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain spesies, strain, jenis kelamin, umur, berat badan, gender, kesehatan nutrisi, dan isi perut hewan coba. Teknis pemberian juga mempengaruhi hasil, yaitu meliputi waktu pemberian, suhu lingkungan, kelembaban dan sirkulasi udara. Selain itu, kesalahan manusia juga dapat mempengaruhi hasil ini. Oleh karena itu, sebelum melakukan penelitian, kita harus memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ini (Hodgson, 2000).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

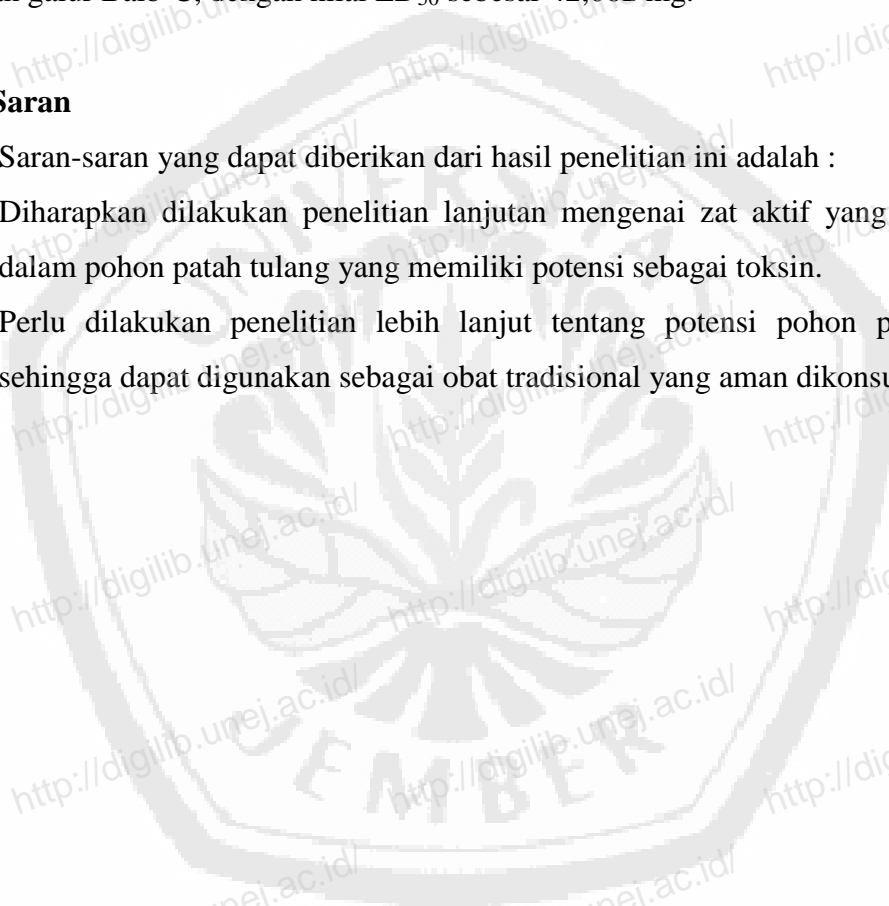
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak air pohon patah tulang (*Euphorbia tirucalli* linn) dapat menyebabkan kematian mencit jantan galur Balb-C, dengan nilai LD₅₀ sebesar 42,062 mg.

5.2 Saran

Saran-saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah :

- a. Diharapkan dilakukan penelitian lanjutan mengenai zat aktif yang terkandung dalam pohon patah tulang yang memiliki potensi sebagai toksin.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi pohon patah tulang sehingga dapat digunakan sebagai obat tradisional yang aman dikonsumsi.



DAFTAR PUSTAKA

- Absor, Ulil. 2006. *Aktivitas Antibakteri Ranting Patah Tulang (Euphorbia tirucalli Linn)*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Apollo, Master et al. 2006. *Eco-Consciousness for Poisonous and Injurious Plants Among Urban Dwellers of Bhubaneswar, Orissa*. India : Post-Graduate Department of Botany, Khallikote Autonomous College, Berhampur 760 001.
- Ariens, E.J, et al. 1994. *Toksikologi Umum, Pengantar*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Betancur-Galvis LA, Morales GE, Forero JE, Roldan J (2002). *Cytotoxic and Antiviral Activities of Colombian Medicinal Plant Extracts Of The Euphorbia Genus*. Mem. Institut. Oswaldo Cruz, 97: 541-546.
- Cataluña P, Rates SMK (1997). *The Traditional Use Of The Latex From Euphorbia tirucalli L (Euphorbiaceae) In The Treatment Of Cancer In South Brazil*. ISHS Acta Hort., 50: 1-14.
- Cheeke PR. 1999. *Actual and Potential Applications of Yucca schidigra and Quilaja saponaria Saponin in Human and Animal Nutrition*.
- Costa AF (2002). *Farmacognosia, Fundação Calouste Gulbenkian*. J. Lisboa, 788-790.
- Crowder, J. I. & Sexton, R. R. 1964. *Keratoconjunctivitis resulting from the sap of candelabra cactus and the pencil tree*. Archive Ophthalmol., 72: 476-484
- Duke JA. 1983. *Handbook of Energy Crops. Purdue University Centre For New Crops And Plant Products*. www.hort.purdue.edu. Accessed on 1 March 2009.
- Erdfelder, E., Faul, F., & Buchner, A. (1996). GPOWER: A general power analysis program. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 28, 1-11.
- Gildenhuis, S. 2006. *The three most abundant tree Euphorbia species of the Transvaal (South Africa)* . Hatfield. 2: 19-14.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan ke-2*. Bandung : Penerbit ITB.
- Hodgson, Ernest. 2000. *A Textbook of Modern Toxicology. 2nd ed*. Singapore: McGraw – hill Book Co. p. 292 – 295.
- James. 2007. *Indigenous multipurpose trees of Tanzania: uses and economic benefits for people*. FAO.
- Jember University Press. 2010. *Pedoman Penulisan Karya Tulis Ilmiah. Edisi Ketiga*. Jember : Badan Penerbit Universitas Jember.

- Joko Sukmono, Rizki, SH. 2009. *Mengatasi Aneka Penyakit Dengan Terapi Herbal*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Khalegian, Ali et all. 2010. *Effect Of Inganen Anticancer Properties On Microtobule Organization*. Iran : Semnan University of medical science.
- Khan AQ, Malik A (1990). *A new macrocyclic diterpene ester from the latex of Euphorbia tirucalli*. J. Nat. Prod., 53: 728-731.
- Kumar, Abhishek. 1999. *Some Potential Plants For Medicine From India*, Ayurvedic medicines, University of Rajasthan, Rajasthan. pp. 1-12.
- Kumar, Abhishek. 2010. *Toxicity of Aqueous extract of Euphorbia irucalli Latex on Catfish (Heteropneustes fossilis)*. India : Gorakhpur University.
- Lekhya Priya, Charles and Kokati Venkata Bhaskara Rao. 2011. *Review On Phytochemical And Pharmacological Profile Of Euphorbia Tirucalli*. School of Bio Science and Technology, VIT University, Vellore-632 014, Tamil Nadu, India. Pharmacologyonline 2: 384-390.
- Lirio LG, Hermano ML, Fontanilla MQ. 1998. *Antibacterial Activity Of Medicinal Plants From The Philippines*. Pharm. Biol., 36: 357-359.
- Loomis TA. 1987. *Essential of toxicology. 3rd ed*. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 198 – 202.
- MacNeil A, Sumba OP, Lutzke ML, Moormann A and Rochford R. 2003. *Activation of the Epstein-Barr virus lytic cycle by the latex of the plant Euphorbia tirucalli*. British Journal of Cancer, 88: 1566-1569.
- Mohamed S, Saka S, Elsharkawy SH, Ali AM, Muid S. 1996. *Antimycotic Screening Of 58 Malaysian Plants Against Plant Pathogens*. Pestic. Sci., 47: 259-264.
- Mohana. 2008. *Antibacterial Evaluation of Some Plant Extracts Against Some Human Pathogenis Bacteria*. Advances in Biological Research 2 (3-4): 49-55.
- Mwin, Julius. 2011. *Euphorbia tirucalli L. (Euphorbiaceae) – The Miracle Tree: Current Status Of Available Knowledge*. Uganda : Uganda Martyrs University.
- Mwine et al. 2010. *Evaluation of Larvicidal Properties Of The Latex Of Euphorbia Tirucalli L. (Euphorbiaceae) Against Larvae Of Anopheles Mosquitoes*. Uganda : Uganda Martyrs University.
- Nurhidayati, Istiana. 2011. *Penggunaan Fast Dalam Pelaporan Surveilans Epidemiologi*. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Oktora Ruma Kumala Sari, Lusia. 2006. *Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat Dan Keamanannya*. Jember : Universitas Jember.

- Orwa, Mutua, Kindt, Jamnadass, & Simons. 2009. *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0*.
- Prabha, M. N. et al. 2008. *Studies On Anti-Inflammatory And Analgesic Activities Of Euphorbia Tirucalli L. Latex*. Int. J. Chem. Sci.: 6(4), 2008, 1781-1787. Department of biotechnology, sahyadri science college, shimoga (k. S.) India national pharmacy college, shimoga (k. S.) India.
- Petrie, Aviva. 1996. *Catatan Kuliah Statistika Kedokteran. Edisi 2*. Jakarta : EGC.
- Rahuman A, Gopalakrishnan G, Vankatesan P, Kannappan G. 2008. *Larvicidal Activity Of Some Euphorbiaceae Plant Extracts Against Aedes Aegypti and Culex Quinquefasciatus (Diptera: Culicidae)*. Parasitol. Res., 102: 867-873.
- Rahuman AA, Venkatesan P, Geetha K, Gopalakrishnan G, Bagavan A, Kamaraj C. 2008. *Mosquito Larvicidal Activity Of Glucanol Acetate, A Tetracyclic Triterpenes Derived From Ficus Racemosa Linn*. Parasitol. Res., 103: 333-339.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan tinggi*. Bandung : Penerbit ITB.
- Rosen J.D. 2010. *A Review of the Nutrition Claims Made by Proponents of Organic Food*.
- Saifudin, A., dkk. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alami*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Sampurno. 2004. *Bahan Yang Dilarang Digunakan Dalam Suplemen Makanan*. Jakarta : Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Tiwari, Sudhanshu and Ajay Singh. 2005. *Biochemical Stress Response in Freshwater fish (Channa punctatus) Induced by Aqueous Extracts of Euphorbia tirucalli Plant*. India : Gorakhpur University.
- Van Damme, Patrick. 2011. *Euphorbia tirucalli L. (Euphorbiaceae) – The Miracle Tree: Current Status Of Available Knowledge*. Belgium : University of Ghent.
- Van Damme PLJ. 2001. *Euphorbia Tirucalli For High Biomass Production*. in: Schlissel A, Pasternak D(Eds) *Combating Desertification With Plants*, Kluwer Academic Publishers, pp. 169-187.
- Voigt, W. and H. Porter. 2007. *Euphorbia tirucalli*. South African National Biodiversity Institute.
- Yadav R, Srivastav K, Ramesh C, Singh A. 2002. *Larvicidal Activity Of Latex And Stem Bark Of Euphorbia Tirucalli Plant On The Mosquito Culex Quinquefasciatus*. J. Comm. Dis., 34: 264-269.

LAMPIRAN 1 : ALAT UJI

Foto 1. Evaporator



Foto 2. Freeze drying



Foto 3. Timbangan



Foto 4. Mikropipet



Foto 5. Spuit 1 cc

LAMPIRAN 2 : BAHAN UJI

Foto 6. Pohon Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn)



Foto 7. Ekstrak Air Pohon Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* Linn)



Foto 8. Aquades



Foto 9. Mencit Jantan Galur Balb-C

LAMPIRAN 3 : RESPON MENCIT

	Menit-1	Menit-5	Menit-10	Menit-15	Menit-30	Jam-1	Jam-24
K	Hiperaktif	Baik	Aktif kembali	Aktif	Aktif	Aktif	Tidak terdapat kematian mencit
P1	Hiperaktif	Hiperaktif	Lemas	Aktif kembali	Aktif	Aktif	Tidak terdapat kematian mencit
P2	Hiperaktif	Hiperaktif	Lemas	Lemas	Aktif kembali	Aktif	Tidak terdapat kematian mencit
P3	Anxiety	Anxiety	Lemas	Malas bergerak	Takikardi	Melemah	Satu mencit mati
P4	Anxiety	Lemas	Malas bergerak	Takikardi	Nafas menjadi cepat	Melemah	Lima mencit mati
P5	Lemas	Malas bergerak	Takikardi	Nafas menjadi cepat	Melemah	Semakin melemah	Enam mencit mati

LAMPIRAN 4 : HASIL UJI *Chi-Square*
Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
DosisEkstrakAirPohonPatahTulang *	30	100.0%	0	.0%	30	100.0%
JumlahKematianMencit						

DosisEkstrakAirPohonPatahTulang * JumlahKematianMencit Crosstabulation

			JumlahKematianMencit		Total
			Hidup	Mati	
DosisEkstrakAirPohonPatahTulang	20.00	Count	6	0	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	20.0%	.0%	20.0%
	25.00	Count	6	0	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	20.0%	.0%	20.0%
	33.33	Count	5	1	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	16.7%	3.3%	20.0%
	50.00	Count	1	5	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	3.3%	16.7%	20.0%
100.00	Count	0	6	6	
	Expected Count	3.6	2.4	6.0	
	% of Total	.0%	20.0%	20.0%	
Total	Count	18	12	30	
	Expected Count	18.0	12.0	30.0	

DosisEkstrakAirPohonPatahTulang * JumlahKematianMencit Crosstabulation

			JumlahKematianMencit		Total
			Hidup	Mati	
DosisEkstrakAirPohonPatahTulang	20.00	Count	6	0	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	20.0%	.0%	20.0%
	25.00	Count	6	0	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	20.0%	.0%	20.0%
	33.33	Count	5	1	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	16.7%	3.3%	20.0%
	50.00	Count	1	5	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	3.3%	16.7%	20.0%
	100.00	Count	0	6	6
		Expected Count	3.6	2.4	6.0
		% of Total	.0%	20.0%	20.0%
	Total	Count	18	12	30
		Expected Count	18.0	12.0	30.0
		% of Total	60.0%	40.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	23.056 ^a	4	.000
Likelihood Ratio	29.567	4	.000
Linear-by-Linear Association	17.935	1	.000
N of Valid Cases	30		

a. 10 cells (100.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.40.

LAMPIRAN 5 : ANALISIS PROBIT

Probit Analysis

Data Information

	N of Cases
Valid	5
Rejected	0
Missing	0
Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group	0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	20	Yes

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a DosisEkstrakAir	.127	.042	2.995	.003	.044	.210
PohonPatahTula ng						
Intercept	-5.332	1.736	-3.071	.002	-7.068	-3.596

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	.201	3	.977 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Cell Counts and Residuals

		DosisEkstrak AirPohonPata hTulang	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	20.000	6	0	.016	-.016	.003
	2	25.000	6	0	.094	-.094	.016
	3	33.000	6	1	.766	.234	.128
	4	50.000	6	5	5.082	-.082	.847
	5	100.000	6	6	6.000	.000	1.000

Confidence Limits

		95% Confidence Limits for DosisEkstrakAirPohonPatahTulang		
Probability		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	23.644	-8.651	31.871
	.020	25.789	-2.701	33.424
	.030	27.149	1.036	34.446
	.040	28.173	3.823	35.239
	.050	29.006	6.072	35.903
	.060	29.714	7.970	36.484
	.070	30.336	9.621	37.006

.080	30.892	11.087	37.486
.090	31.398	12.409	37.934
.100	31.864	13.616	38.356
.150	33.792	18.485	40.233
.200	35.325	22.163	41.917
.250	36.639	25.135	43.543
.300	37.820	27.627	45.182
.350	38.914	29.763	46.873
.400	39.952	31.623	48.645
.450	40.957	33.266	50.516
.500	41.946	34.737	52.503
.550	42.934	36.077	54.622
.600	43.939	37.319	56.893
.650	44.977	38.496	59.348
.700	46.071	39.639	62.032
.750	47.252	40.782	65.020
.800	48.567	41.967	68.434
.850	50.099	43.260	72.502
.900	52.027	44.788	77.720
.910	52.493	45.144	78.993
.920	52.999	45.526	80.381
.930	53.556	45.940	81.913
.940	54.177	46.397	83.629
.950	54.886	46.912	85.594
.960	55.718	47.508	87.910
.970	56.742	48.230	90.769
.980	58.102	49.174	94.585
.990	60.247	50.632	100.628

Probit Transformed Responses

