



**UJI AKTIVITAS INULIN UMBI DAHLIA (*Dahlia* spp. L) TERHADAP
PENINGKATAN ABSORPSI KALSIMUM PADA SERUM DARAH TIKUS
JANTAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Indra Wijayanti
NIM 102210101070

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015



**UJI AKTIVITAS INULIN UMBI DAHLIA (*Dahlia spp. L*) TERHADAP
PENINGKATAN ABSORPSI KALSIMUM PADA SERUM DARAH TIKUS
JANTAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (SI)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Indra Wijayanti
NIM 102210101070

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER

2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang selalu memberikan petunjuk, rahmat, ridho, limpahan kasih-Nya dan semua terbaik untukku.
2. Bapakku Undang, ibuku Husna Irawati tersayang dan kakakku Muhamad Fajar, terimakasih atas segala doa, motivasi, semangat dan pengorbanan yang selalu beliau berikan demi kebaikan dan kesuksesanku.
3. Bapak dan ibu guru SDN 13 Ambulu, SMPN 1 Ambulu, SMAN 1 Ambulu dan para pengajar Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran.
4. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember, semoga skripsi ini dapat menambah wawasan dan dapat bermanfaat.

MOTTO

Meraih kesuksesan perlu kesabaran dan keuletan. Orang yang sukses bukan tidak pernah jatuh, orang yang tidak pernah berpikir darinya kalah, ketika ia terpukul jatuh (gagal) ia bangkit kembali, belajar dari kesalahannya dan bergerak maju menuju inovasi yang lebih baik.

(Abu Al-Ghifrani)

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap (QS. Al-Insyirah: 6-8).

Bila Anda berpikir Anda bisa, maka Anda benar. Bila Anda berpikir Anda tidak bisa, Anda pun benar. Karena itu, ketika seseorang berpikir tidak bisa, maka sesungguhnya dia telah membuang kesempatan untuk menjadi bisa.

(Henry Ford)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Indra Wijayanti

NIM : 102210101070

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “*Uji Aktivitas Inulin Umbi Dahlia (Dahlia spp. L) Terhadap Peningkatan Absorpsi Kalsium Pada Serum Darah Tikus*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Juli 2015

Yang menyatakan,

Indra Wijayanti

NIM 1022210101070

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS INULIN UMBI DAHLIA (*Dahlia* spp. L) TERHADAP
PENINGKATAN ABSORPSI KALSIMUM PADA SERUM DARAH TIKUS
JANTAN**

Oleh

Indra Wijayanti
NIM 102210101070

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Fifteen Aprilia Fajrin, S.Farm.,M.Farm.,Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt

PENGESAHAN

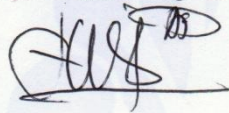
Skripsi berjudul **“Uji Aktivitas Inulin Umbi Dahlia(*Dahlia spp. L*) Terhadap Peningkatan Absorpsi Kalsium Pada Serum Darah Tikus Jantan”** telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari, Tanggal : Senin, 13 Juli 2015

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,



Fifteen Aprila F S. Farm., M. Farm., Apt
NIP. 19820415200604802

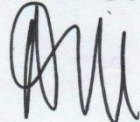
Dosen Pembimbing Anggota,



Yuni Retnaningtyas, S. Si., M. Si., Apt.
NIP. 197806092005012004

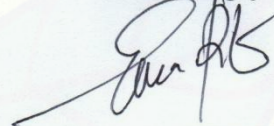
Tim Penguji

Dosen Penguji I,



Lestyo Wulandari, S. Si., M. Farm., Apt
NIP. 197604142002122001

Dosen Penguji II,

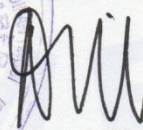


Ema Rachmawati, S. Farm., M. Sc., Apt.
NIP. 198403082008012003



Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Lestyo Wulandari, S. Si., M. Farm., Apt
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Inulin Umbi Dahlia (*Dahlia sp. L*) Terhadap Peningkatan Absorpsi Kalsium Pada Serum Darah Tikus Jantan; Indra Wijayanti, 102210101070; 2015: 54 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Kalsium merupakan mineral yang paling banyak terdapat di dalam tubuh. Peranan kalsium dalam tubuh yaitu membantu pembentukan tulang dan gigi serta berperan dalam proses biologis dalam tubuh. Kadar kalsium dalam plasma darah normal berkisar antara 9,2-10,4 mgd⁻¹. Kekurangan kalsium dalam darah dapat menyebabkan hipokalsemia. Salah satu cara meningkatkan kadar kalsium dalam tubuh yaitu meningkatkan absorpsi kalsium dengan penggunaan inulin. Menurut Kaur dan Gupta (2002), inulin dapat meningkatkan penyerapan kalsium. Salah satu sumber inulin yang ada di Indonesia adalah umbi dahlia. Inulin dari umbi dahlia diperoleh dari proses ekstraksi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas inulin dalam ekstrak umbi dahlia terhadap peningkatan absorpsi kalsium dalam darah serta mengetahui perbedaan aktivitas inulin umbi Dahlia (*Dahlia sp. L*) pada berbagai dosis berbeda. 24 tikus putih jantan yang dikelompokkan ke dalam beberapa kelompok besar yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan variasi dosis inulin ekstrak umbi dahlia. Pengambilan serum darah tikus putih jantan dilakukan pada menit ke-0, menit ke-60, menit ke-150, menit ke-270 dan menit ke-450. Kemudian dilakukan penetapan kadar kalsium dalam serum darah dengan metode AAS dan dilakukan analisis data menggunakan program SPSS *Statistics* 16.0.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya peningkatan absorpsi kalsium serum darah tikus. Puncak peningkatan absorpsi kalsium serum darah terjadi pada

menit ke-60 dan akan menurun pada menit berikutnya, hal ini disebabkan karena kalsium akan diabsorpsi di dalam usus halus setelah 1-2 jam, kemudian akan difiltrasi oleh glomerulus ginjal.

Hasil uji statistik dengan ANOVA, terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan dengan nilai $p=0,008$ dan kelompok yang bermakna yaitu kelompok kontrol normal berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 1, kelompok dosis 2 dan kelompok dosis 3 dengan nilai $p < 0,05$. Kelompok kontrol negatif hanya berbeda bermakna dengan kelompok dosis 1 dengan nilai $p=0,039$. Sedangkan untuk kelompok dosis, peningkatan absorpsi antar kelompok dosis tidak berbeda signifikan. Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa inulin umbi dahlia (*Dahlia* sp. L) memiliki aktivitas meningkatkan kadar kalsium dalam serum darah tikus jantan pada puncak absorpsi kalsium serum darah yang terjadi pada menit ke-60. Namun, aktivitas inulin umbi dahlia (*Dahlia* sp. L) dalam meningkatkan kadar kalsium serum darah pada dosis yang berbeda memberikan hasil tidak berbeda secara signifikan pada menit ke-60

PRAKATA

Segala puji dan syukur dipanjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan nikmat, rahmat dan karunia-Nya yang tidak mungkin akan terhitung sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul *Uji Aktivitas Inulin Umbi Dahlia (Dahlia spp. L) Terhadap Peningkatan Absorpsi Kalsium Pada Serum Darah Tikus*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Skripsi ini tidak mungkin terwujud tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak, yang membantu terselesaikannya skripsi ini.

1. Ibu Lesty Wulandari S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember beserta staf dan karyawan;
2. Ibu Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm.,M.Farm.,Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt selaku dosen pembimbing anggota. Terima kasih atas kesabarannya dalam membimbing, memberikan petunjuk dan memberikan banyak sekali masukan selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini;
3. Ibu Lesty Wulandari S.Si., Apt., M.Farm selaku dosen penguji I dan Ibu Ema Rachmawati, S.Farm.,M.Sc.,Apt. selaku dosen penguji II. Terima kasih atas saran dan kritik yang telah diberikan;
4. Ibu Indah Purnama Sary S.Si., Apt., M.Farm selaku dosen pembimbing akademik. Terimakasih atas berbagai masukan dan saran selama penulis menempuh studi;

5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan kritik kepada penulis;
6. Mbak indri, Mbak Dini, Bu Wayan, dan Mbak Hani, selaku teknisi Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitasserta Kimia Farmasi, atas saran-saran dan bantuannya selama penulis mengerjakan penelitian;
7. Orang tua terhebatku, Bapak Undang dan Ibu Husna Irawati. Terima kasih atas doa, kasih sayang dan pengorbanan yang telah diberikan, semoga Allah selalu melindungi dan memberikan yang terbaik untuk bapak dan ibu;
8. Keluarga besarku, Mas, Tante, Mbak dan Adik. Terima kasih atas doa dan dukungan yang telah diberikan;
9. Rony Firmansyah yang telah memberikan semangat, dukungan, doa kesetiaan dan kasih sayang kepada penulis, semoga Allah SWT selalu menyatukan kita.
10. Sahabat-sahabat yang sangat baik hati Ingerit, Rizky, Rina, Debby, Jessica, Ika, Nizvy, dan Radina. Serta seluruh teman-teman Farmakepo semua. Terima kasih atas persaudaraan, suka, duka dan semua pengalaman yang akan menjadi kenangan tak terlupakan;
11. Teman-teman KKN kelompok 151 desa Grenden kecamatan Puger 2014Yulia, Alindia, Irma, Felix David, dan Aji Kuncoro. Terima kasih atas kebersamaan 45 hari yang tidak terlupakan;
12. Guru-guruku terhormat mulai, SD, SMP, SMA hingga Perguruan Tinggi;

Hanya ucapan terimakasih yang dapat penulis sampaikan atas semua bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga saran dan kritik dari semua pihak diterima dengan senang hati demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, 2015

Penulis

DAFTAR ISI

PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN	iv
JUDUL	v
PENGESAHAN	v
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Masalah	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Tentang Kalsium	5
2.1.1 Fungsi Kalsium	5
2.1.2 Penyakit Yang Dapat Timbul Akibat Kekurangan Kalsium	6
2.1.3 Tinjauan Tentang Homeostatis Kalsium	7
2.1.4 Tinjauan Tentang Absorpsi Kalsium.....	8
2.1.5 Sumber Kalsium.....	9
2.2 Tinjauan Tentang Tanaman Dahlia	10
2.2.1 Deskripsi dan Klasifikasi Tanaman Dahlia	10
2.2.2 Manfaat Tanaman Dahlia	11
2.2.3 Kandungan Kimia Umbi Dahlia.....	12

2.3 Tinjauan Tentang Inulin	12
2.3.1 Deskripsi Inulin	12
2.3.2 Manfaat Inulin	13
2.3.3 Sifat Fisika Kimia Inulin	15
2.4 Tinjauan Umum Tentang Metode Ekstraksi	16
2.4.1 Deskripsi Ekstraksi	16
2.4.2 Ekstraksi Inulin	16
2.5 Tinjauan Tentang Metode Analisis untuk Penetapan Kadar Kalsium Dalam Serum Darah Tikus	17
2.6 Tinjauan Umum tentang Spektrofotometer Serapan Atom	18
2.6.1 Prinsip Spektrofotometer Serapan Atom	18
2.6.2 Gangguan pada Spektrofotometer Serapan Atom	19
2.7 Tinjauan Umum Tentang Analisis Data	19
BAB 3. METODE PENELITIAN	22
3.1 Jenis Penelitian	22
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.3 Rancangan Penelitian	22
3.4 Alat dan Bahan	24
3.4.1 Alat	24
3.4.2 Bahan	24
3.6 Variabel Penelitian	25
3.6.1 Variabel Bebas	25
3.7.2 Penetapan Kadar Inulin Ekstrak Air Umbi Dahlia	26
3.7.3 Pembuatan Sediaan Uji	26
3.7.4 Perlakuan Terhadap Hewan Coba	27
3.7.5 Penyiapan Sampel Darah Tikus	28
3.7.6 Penyiapan Larutan Standart Kalsium	28
3.7.7 Preparasi dan Destruksi Sampel Darah Tikus	28
3.8 Analisis Data	29

3.9 Skema Kerja	30
3.9.1 Skema Pembuatan Ekstrak Air Umbi Dahlia.....	30
3.9.2 Skema Perlakuan.....	31
3.9.3 Skema Penetapan Kadar Kalsium Dalam Serum Darah Tikus.....	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Pembuatan Ekstrak Umbi Dahlia (<i>Dahlia spp.L</i>)	33
4.2 Penetapan Kadar Inulin umbi Dahlia (<i>Dahlia spp. L</i>)	34
4.2.1 Hasil Pembuatan Kurva Baku Standar Inulin.....	35
4.2.2 Hasil Penetapan Kadar Inulin dalam Serbuk Kering Umbi Dahlia (<i>Dahlia spp.L</i>)	35
4.2.2 Penyiapan Sampel Serum Darah.....	38
4.3 Hasil Analisis Kadar Kalsium Serum Darah Tikus	39
BAB 5. KESIMPULAN	33
5.1 Kesimpulan	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi kimia umbi dahlia (% berat kering).....	12
3.2 Formula dari sediaan uji pada masing-masing kelompok perlakuan.....	27
4.1 Kondisi analisis KLT-Densitometri.....	34
4.2 Data area sampel dan kadar	37
4.3 Data kurva kalibrasi larutan standar kalsium dengan AAS.....	40
4.4 Data kadar kalsium serum darah tikus jantan dengan AAS dan persentase peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus jantan.....	42
4.5 Hasil uji T-test	45
4.6 Hasil uji Mann Whitney.....	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi tumbuhan bunga dahlia dan umbi dahlia	11
2.2 Struktur kimia Inulin.....	16
4.1 Ekstrak kering umbi dahlia (<i>Dahlia spp.</i> L)	34
4.2 Hasil noda pada lempeng KLT F ₂₅₄	36
4.3 Kurva kalibrasi larutan standar kalsium dengan AAS.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Jumlah umbi dahlia ungu (<i>Dahlia spp.L</i>) yang digunakan setiap proses ekstraksi adalah 50 gram	55
B. Penetapan kadar inulin	56
B.1 Data area standar inulin	56
B.2 Kurva baku standar inulin	56
B.3 Hasil deteksi standar inulin	56
B.4 Hasil deteksi sampel ekstrak umbi dahlia ungu (<i>Dahlia spp.L</i>).....	57
B.5 Perhitungan penetapan kadar ekstrak umbi dahlia ungu (<i>Dahlia spp.L</i>)	57
C.1 Perhitungan dosis	59
C.2 Perhitungan dosis perlakuan.....	60
C.3 Perhitungan dosis untuk inulin standar	61
D. Cara memperoleh kadar kalsium serum darah	64
D.1 Absorbansi hasil pengukuran kadar kalsium serum darah dengan AAS pada panjang gelombang 422,7 nm (A)	64
D.2 Kadar rata-rata kalsium serum darah tikus jantan dengan AAS	64
D.3 Grafik hubungan antara waktu dengan kadar rata-rata kalsium serum darah tikus jantan putih.....	65

D.4 GrafikPerbandingan Rata-Rata Persentase peningkatan kadar kalsium dalam serum darah tikus jantan	65
E.Perhitungan peningkatan absorpsi kalsium serum darah tikus	66
F.Uji statistik peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus ke-6kelompok.....	67
G. Uji statistik T-test.....	83
H. Dokumentasi Penelitian.....	94

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tubuh kita tersusun atas mineral-mineral yang sangat berperan dalam metabolisme penting di dalam tubuh, seperti pemeliharaan fungsi tubuh baik tingkat sel, jaringan, organ maupun fungsi tubuh secara keseluruhan. Keseimbangan mineral dalam tubuh diperlukan untuk pengaturan kerja enzim, pemeliharaan keseimbangan asam basa, pemeliharaan kepekaan otot dan saraf terhadap rangsangan (Almatsier, 2002). Salah satu mineral yang terdapat di dalam tubuh yaitu kalsium. Kalsium merupakan mineral yang paling banyak terdapat di dalam tubuh, yaitu 1,5-2% dari berat badan orang dewasa atau sekitar 1 kg pada tubuh manusia dengan gizi yang baik (Almatsier, 2002). Dari jumlah ini, 99% berada di dalam jaringan keras, yaitu tulang dan gigi terutama dalam bentuk hidroksiapatit dan hanya 1% ditemukan dalam darah dan sel jaringan lunak (Ilich dan Kerstetter, 2000). Peranan kalsium dalam tubuh dapat dibagi mejadi dua, yaitu membantu pembentukan tulang dan gigi serta berperan dalam proses biologis dalam tubuh. Menurut Ernes (2006), peranan kalsium dalam tubuh yaitu kalsium berguna untuk kontraksi otot, penggumpalan darah, membantu menstabilkan tekanan darah, dan membantu transmisi gelombang listrik pada saraf.

Kadar kalsium dalam plasma darah normal berkisar antara 9,2-10,4 mgdl⁻¹ (Sukandar *et al.*, 2008). Kurang dari 50% kalsium dalam darah dan cairan lainnya berada dalam bentuk ion bebas, sekitar dalam jumlah yang sama terikat pada protein, terutama pada albumin dan globulin serta jumlah yang sangat sedikit merupakan ikatan kompleks dengan asam organik seperti sitrat atau asam anorganik seperti sulfat dan fospat (Widman, 1999). Menurut Sauberlich (1999), kadar kalsium dalam darah dikontrol secara ketat oleh berbagai asupan gizi yang masuk ke dalam tubuh dan

dipertahankan dalam batasan yang sempit. Kontrol dilakukan oleh berbagai faktor antara lain termasuk 1,25-dihidroksikalksiferol, hormon paratiroid, kalsitonin, fosfor, protein dan estrogen. Faktor-faktor yang berperan dalam pengaturan kalsium dalam darah antarlain adalah vitamin D dan hormon paratiroid. Menurut Lee *et al.*, (1996), kekurangan kalsium dalam darah dapat menyebabkan hipokalsemia. Hipokalsemia merupakan tingkat kalsium yang rendah didalam serum, dimana akan terjadi ketika konsentrasi kalsium ion bebas di dalam darah jauh di bawah 4,0 mg/dl (dl = satu dari sepuluh liter). Normal konsentrasi kalsium ion bebas di dalam darah serum adalah 4,0-6,0 mg/dl atau 1,1–1,3 mmol/L (Brody *et a.l.*, 1998). Pada orang dewasa dengan asupan kalsium 600-800 mg/hari, akan mengekskresikan kalsium 100-250 mg/24 jam. Gangguan absorpsi kalsium dalam usus, dan meningkatnya eksresi kalsium di urin menyebabkan penurunan kadar kalsium dalam serum (Broto, 2004). Salah satu cara meningkatkan kadar kalsium dalam tubuh yaitu meningkatkan absorpsi kalsium dengan penggunaan inulin (Kaur dan Gupta, 2002).

Menurut Kaur dan Gupta (2002), inulin dapat meningkatkan penyerapan kalsium. Inulin merupakan polimer dari unit-unit fruktosa yang bersifat larut di dalam air, tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan, tetapi difermentasi oleh mikroflora kolon (usus besar) menjadi asam-asam lemak rantai pendek dan beberapa mikroflora spesifik menghasilkan asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan juga merangsang gerak peristaltik usus sehingga mencegah konstipasi dan meningkatkan penyerapan kalsium (Widowati, 2006). Inulin dapat diperoleh dari bawang merah, bawang putih, asparagus, pisang, gandum, dan barley (Tungland, 2002). Inulin juga dapat diekstraksi dari umbi dahlia (Zaharanti, 2005).

Salah satu sumber inulin yang ada di Indonesia adalah umbi dahlia. Kandungan inulin dalam umbi dahlia pada umumnya adalah 14% (Hariono *et al.*, 2009). Tanaman dahlia tumbuh dengan subur di daerah dataran tinggi dan beriklim sejuk seperti didaerah Batu-Jawa Timur. Nilai komersial tanaman dahlia terletak pada bunga yang digunakan sebagai bunga hias, sedangkan umbi dahlia yang

mengandung inulin masih sangat terbatas dalam pemanfaatannya dan hanya dijadikan limbah yang tidak dimanfaatkan secara maksimal. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sandiya (2014), ekstraksi dan determinasi inulin umbi dahlia ungu (*Dahlia spp L.*) dengan menggunakan metode KLT-Densitometri menghasilkan rendemen sebanyak 7,056 % dan dalam rendementersebut mengandung 86,26% inulin. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa inulin yang berasal dari umbi dahlia sangat berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai senyawa yang dapat meningkatkan absorpsi kalsium dalam darah.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar potensi inulin dalam ekstrak umbi dahlia terhadap peningkatan absorpsi kalsium dalam darah. Penelitian dilakukan pada sejumlah hewan uji tikus putih jantan yang dikelompokkan kedalam beberapa kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan variasi dosis inulin ekstrak umbi dahlia. Penelitian dilakukan menggunakan variasi dosis inulin ekstrak umbi dahlia dengan tujuan memperoleh dosis yang memberikan efek optimal pada peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus putih jantan. Untuk mengetahui pengaruh pemberian inulin ekstrak umbi dahlia terhadap peningkatan absorpsi kalsium dalam tubuh, maka dilakukan dengan cara pengambilan serum darah tikus putih jantan pada menit ke-0, menit ke-60, menit ke-150, menit ke-270 dan menit ke-450. Kemudian dilakukan penetapan kadar kalsium dalam serum darah dengan metode AAS (*Atomic Absorbance Spectrofotometric*). Tahap terakhir yaitu analisis data menggunakan program SPSS *Statistics* 16.0 untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna antara 6 kelompok perlakuan.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian diatas dapat ditarik suatu permasalahan, yaitu :

- 1) Apakah inulin umbi Dahlia (*Dahlia sp. L*) memiliki aktivitas meningkatkan kadar kalsium dalam serum darah tikus jantan?

- 2) Bagaimanakah perbedaan aktivitas inulin umbi Dahlia (*Dahlia* sp. L) dalam meningkatkan kadar kalsium serum darah pada dosis yang berbeda?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

- 1) Menguji aktivitas inulin umbi Dahlia (*Dahlia* sp. L) dalam aktivitas meningkatkan kadar kalsium serum tikus jantan.
- 2) Mengetahui perbedaan aktivitas inulin umbi Dahlia (*Dahlia* sp. L) dalam meningkatkan kadar kalsium serum darah pada berbagai dosis berbeda

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

- 1) Memberikan informasi tentang aktivitas inulin umbi Dahlia (*Dahlia* sp. L) dalam meningkatkan asupan kalsium di dalam tubuh .
- 2) Inulin umbi Dahlia (*Dahlia* sp. L) diharapkan menjadi salah satu alternatif dalam peningkatan asupan kalsium dalam tubuh.

1.5 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

Dahlia yang digunakan berasal dari tanaman yang dibudidayakan di media tanah dengan jenis tanaman adalah dahlia bangkok ungu (*Dahlia spp L.*) yang berumur 5-6 bulan serta didapat dari daerah Batu-Jawa Timur, Pasar Bunga Jalan Cemara Kipas.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Kalsium

Kalsium merupakan zat gizi mikro yang dibutuhkan oleh tubuh dan mineral yang paling banyak terdapat dalam tubuh, yaitu 1,5-2 % dari berat badan orang dewasa atau kurang lebih sebanyak 1 kg. Total kalsium dalam tubuh sekitar 99 % ditemukan dalam jaringan keras yaitu tulang dan gigi terutama dalam bentuk hidroksiapatit, sedangkan sebagian kecil ditemukan dalam plasma dan cairan ekstrasvaskular (Almatsier, 2000). Kalsium didalam tubuh mudah dimobilisasikan ke dalam cairan tubuh dan darah, bila diperlukan untuk diteruskan kepada sel-sel jaringan yang lebih memerlukannya.

Kadar kalsium dalam darah dan cairan sekitar sel harus dikontrol dalam batasan kadar yang sempit untuk mendapatkan fungsi fisiologis yang normal. Fungsi fisiologi dari kalsium penting dalam mempertahankan hidup sehingga tubuh akan melakukan proses demineralisasi tulang untuk memelihara kadar kalsium dalam darah, jika konsumsi kalsium tidak mencukupi. Usaha mempertahankan kadar kalsium darah dalam keadaan normal tergantung pada keseimbangan antara masukan dan pengeluaran kalsium dari aliran darah. Sumber kalsium dari aliran darah adalah diperoleh dengan diet yang mengandung garam kalsium. Kalsium diabsorpsi dari saluran cerna dan pengeluaran kalsium terjadi melalui saluran cerna, ginjal dan tulang (Rachmawati, 2006).

2.1.1 Fungsi Kalsium

Dalam tubuh kalsium memiliki beberapa fungsi yaitu membantu pembentukan tulang dan gigi, dan mengukur proses biologi dalam tubuh. Kebutuhan kalsium terbesar terjadi pada saat pertumbuhan. Menurut Almatsier (2014), Kalsium berfungsi

sebagai katalisator berbagai reaksi biologik, seperti absorpsi vitamin B12, tindakan enzim pemecah lemak, lipase pankreas, ekskresi insulin oleh pankreas, pembentukan dan pemecahan asetilkolin. kalsium juga dapat meningkatkan fungsi transpor membra sel, kemungkinan dengan bertindak sebagai stabilisator membran, dan transmisi ion melalui membran organel sel. Adapun fungsi kalsium yang lain (Djunaedi, 2000), diantaranya adalah :

1. Kalsium berperan dalam proses pembentukan hormon, enzim yang mengatur pencernaan dan metabolisme.
2. Kalsium berfungsi dalam transmisi antar sel-sel saraf otak, pembekuan darah, penyembuhan luka dan kontraksi otot.
3. Kalsium dapat membantu melenturkan otot pembuluh darah sehingga memudahkan lepasnya plak atau endapan yang menempel pada dinding pembuluh darah.
4. Kalsium dapat mengurangi risiko kanker usus besar dengan cara menekan efek iritasi pada usus yang disebabkan oleh asam empedu.
5. Kalsium sebagai nutrisi penting pada wanita menopause dengan kalsium rendah, absorpsinya tidak baik sehingga keseimbangan kalsium negatif.

2.1.2 Penyakit Yang Dapat Timbul Akibat Kekurangan Kalsium

Kekurangan kalsium dalam darah dapat menyebabkan tetani atau kejang. Kepekaan serabut saraf dan pusat saraf terhadap rangsangan meningkat, sehingga terjadi kejang otot misalnya pada kaki (Ambar Wicaksono, 2009).

Selain itu kekurangan kalsium pada massa pertumbuhan menyebabkan gangguan pertumbuhan seperti osteoporosis dan osteomalasia (riketsia) pada orang dewasa dan biasanya terjadi karena kekurangan vitamin D dan ketidakseimbangan konsumsi kalsium terhadap fosfor. Mineralisasi matriks tulang terganggu, sehingga kandungan kalsium didalam tulang menurun (Almatsier, 2002).

2.1.3 Tinjauan Tentang Homeostatis Kalsium

Kadar kalsium dalam plasma darah normal berkisar antara 9,2-10,4 mgdl⁻¹ (Sukandar *et al.*, 2008). Jika kadar kalsium dalam darah meningkat dan melampaui batas maksimum maka akan terjadi hiperkalsimia dan kebalikannya jika kurang akan mengakibatkan hipokalsimia atau rendahnya kadar kalsium dalam darah. Ketika kalsium dalam darah tinggi, maka kalsitonin dapat menurunkan kalsium dan fosfat dalam darah dengan menghambat resorpsi tulang (pemecahan/penghancuran matrix ekstraseluler tulang) oleh osteoklas dan meningkatkan uptake kalsium dan fosfat ke dalam matrix ekstraseluler tulang. Kalsitonin memiliki dua efek pada tulang, tetapi dalam hal ini kedua efek menurunkan kadar kalsium plasma. Pertama dalam jangka pendek kalsitonin menurunkan perpindahan kalsium dari tulang ke dalam plasma. Kedua, dalam jangka panjang kalsitonin menurunkan resorpsi tulang menurunkan kadar fosfat serta mengurangi konsentrasi kalsium plasma (Stephanie, Blundell; 2011).

Kontrol juga dilakukan oleh berbagai faktor lain yang diantaranya termasuk 1,25-dihidroksikolkalsiferol, hormon paratiroid, fosfor, protein dan estrogen. Hormon paratiroid dan vitamin D merupakan faktor utama yang mengendalikan metabolisme kalsium. Keduanya mempunyai mekanisme kerja meningkatkan konsentrasi kalsium serum. Hormon paratiroid terikat dengan reseptor dalam tulang dan ginjal serta dapat mengaktifasi adenilat siklase, sehingga membentuk adenosin monofosfat siklik (AMP siklik) yang kemudian dapat berperan dalam pengaturan enzim intrasel lainnya. Hormon paratiroid berfungsi dalam mempertahankan kadar kalsium dalam darah. Hormon Paratiroid menyediakan mekanisme yang kuat untuk mengatur konsentrasi kalsium lewat pengaturan reabsorpsi usus, ekskresi ginjal dan pertukaran ion-ion antara cairan ekstrasel dan tulang. Naiknya konsentrasi kalsium terutama karena dua hal, yaitu efek PTH yang meningkatkan absorpsi kalsium dan fosfat dari tulang dan efek yang cepat dari hormon paratiroid dalam mengurangi ekskresi kalsium oleh ginjal (Lauralee, 2009). Hormon paratiroid mengatur konsentrasi

kalsium melalui 3 efek yaitu : merangsang resorpsi tulang, meningkatkan secara langsung reabsorpsi kalsium oleh tubulus ginjal, serta meningkatkan absorpsi kalsium di saluran pencernaan.

Vitamin D merangsang absorpsi kalsium melalui langkah-langkah kompleks. Vitamin D meningkatkan absorpsi pada mukosa usus dengan cara merangsang produksi protein pengikat kalsium. Vitamin D yang digunakan untuk meningkatkan absorpsi kalsium dalam usus. Vitamin D diaktivasi menjadi 25 hidroksikalsiferol dan proses ini terjadi di hati. Kemudian 25 hidroksikalsiferol akan diubah lagi menjadi bentuk aktif dari vitamin D yaitu 1,25 hidroksikalsiferol. Proses ini terjadi di tubulus proksimal ginjal dan juga mendapat bantuan langsung dari PTH (Lauralee,2009). Bentuk aktif yaitu 1,25 dihidroksikolekalsiferol berfungsi untuk meningkatkan absorpsi kalsium oleh usus dengan cara meningkatkan pembentukan protein pengikat kalsium di sel epitel usus. Protein pengikat kalsium ini berfungsi di *brush border* untuk mengangkut kalsium ke dalam sitoplasma sel dan selanjutnya kalsium bergerak melalui membran basolateral sel dengan cara difusi terfasilitasi(Lauralee, 2009).

2.1.4 Tinjauan Tentang Absorpsi Kalsium

Dalam keadaan normal sebanyak 30-50% kalsium yang dikonsumsi diabsorpsi di tubuh. Kemampuan absorpsi lebih tinggi pada masa pertumbuhan, dan menurun pada proses menua. Kemampuan absorpsi pada laki-laki lebih tinggi daripada perempuan pada semua golongan usia (Almatsier, 2004). Absorpsi kalsium terutama terjadi dibagian atas usus halus yaitu duodenum dan jejunum bagian proksimal karena keadaannya lebih bersifat asam daripada bagian usus yang lainnya, yang ditingkatkan oleh kerja hormon paratiroid yang sinergis serta metabolit aktif dari vitamin D. Dalam keadaan normal, dari sekitar 1000 mg Ca^{++} yang rata-rata dikonsumsi perhari, hanya sekitar dua pertiga yang diserap di usus halus dan sisanya keluar melalui feses (Sherwood, 2001). Kalsium membutuhkan pH 6 agar dapat berada dalam keadaan terlarut. Absorpsi kalsium dari lumen usus melibatkan 3 proses, yaitu transfer melalui

membran mikrovili dari sel-sel mukosa, transfer melalui sel dan keluar dari sel melewati membran basolateral ke dalam cairan ekstraseluler dan dalam darah. Absorpsi kalsium terutama dilakukan secara aktif dengan menggunakan alat ukur protein pengikat kalsium. Absorpsi pasif terjadi pada permukaan saluran cerna. Banyak faktor mempengaruhi absorpsi kalsium. Kalsium hanya bisa diabsorpsi bila terdapat dalam bentuk larut-air dan tidak mengendap karena unsur makanan lain, seperti oksalat. Adapun faktor-faktor yang meningkatkan absorpsi kalsium yaitu :

1. Vitamin D diubah menjadi bentuk aktif 1,25 dihidroksi vitamin D secara langsung mempengaruhi kemampuan sel usus untuk mengabsorpsi kalsium. Vitamin D mengatur pembentukan kalsium terikat protein yang merupakan pembawa kalsium masuk dalam usus dan melepaskannya ke dalam darah. Adanya vitamin D bentuk aktif dapat meningkatkan absorpsi kalsium sebanyak 10-30 % (Guthrie dan picciano, 1995).
2. Laktosa dapat meningkatkan absorpsi pasif kalsium dengan meningkatkan kelarutan kalsium pada ileum (Gibson, 2005). Pada bayi misalnya laktosa dapat meningkatkan proporsi absorpsi kalsium sebanyak 33%-48% (Guthrie dan picciano, 1995).
3. Kebutuhan kalsium yang tinggi seperti pada masa kehamilan, laktasi, remaja akan meningkatkan absorpsi kalsium sampai 50%. Bila asupan kalsium rendah, tubuh akan beradaptasi dengan mengabsorpsi kalsium dalam jumlah besar dan mengekskresi lebih sedikit (Guthrie dan picciano, 1995).
4. Pottasium bekerja berlawanan dengan sodium. Pottasium membantu absorpsi kalsium dalam tubuh yaitu dengan mengurangi kalsium lewat urin (Guthrie dan picciano, 1995).

2.1.5 Sumber Kalsium

Sumber utama kalsium dalam makanan terdapat pada susu dan hasil olahannya, seperti keju atau yoghurt. Sumber kalsium selain susu juga penting untuk

memenuhi kebutuhan kalsium, baik yang berasal dari hewani atau nabati. Sumber kalsium yang berasal dari hewani, seperti sarden, ikan yang dimakan dengan tulang, termasuk ikan kering merupakan sumber kalsium yang baik. Sumber kalsium yang berasal dari nabati, seperti sereal, kacang-kacangan dan hasil kacang-kacangan, tahu, tempe dan sayuran hijau merupakan sumber kalsium yang baik juga, tetapi bahan makan ini mengandung banyak zat yang menghambat penyerapan kalsium seperti serat, fitat dan oksalat (Almatsier, 2002).

2.2 Tinjauan Tentang Tanaman Dahlia

2.2.1 Deskripsi dan Klasifikasi Tanaman Dahlia

Dahlia adalah tanaman florikultura yang sudah dikenal sejak lama di Indonesia, terutama akan keindahan bunganya yang beraneka ragam. Tanaman ini telah dikenal sejak zaman kolonial Belanda, namun tidak ada literatur yang melaporkan tentang tahun mulai dibudidayakannya dahlia di Indonesia (Hindersah *et al.*, 1999). Spesies dahlia yang ada saat ini adalah *D. pinnata*, *D. variabilis*, *D. coccinea*, *D. juarezi*, dan *Dahlia spp* L (Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaan, 2000). Tanaman dahlia dapat tumbuh dengan baik di daerah yang berketinggian 560-1.400 m di atas permukaan laut dengan kisaran suhu udara 14°-18°C (minimum) dan 19°-30°C (maksimum), serta curah hujan antara 1.900-3.000 mm pertahun. Kondisi ideal untuk pertumbuhan tanaman dahlia adalah pada suhu 10°-15°C pada tempat terbuka dan cukup mendapat sinar matahari. Susunan tanaman dahlia terdiri atas umbi, batang, daun, bunga, buah dan biji. Batangnya tegak, bercabang, dan tidak berbulu. Letak daun-daunnya tersusun bersebelahan, dan memiliki satu sampai tiga buah sirip dengan pinggiran yang bergerigi. Di atas tangkai yang kecil, halus dan panjang, terdapat bunga yang indah dengan warna-warna tertentu (Adam, 1999). Adapun gambar morfologi bunga dan umbi dahlia dapat dilihat pada gambar 2.2.

Klasifikasi botani tanaman umbi dahlia adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Sub Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Asteridae
Family : Compositae (/Asteraceae)
Ordo : Asterales
Genus : *Dahlia*
Spesies : *Dahlia* spp. L.



Gambar 2.1 Morfologi tumbuhan bunga dahlia dan umbi dahlia (Sumber: Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesan, 2000).

2.2.2 Manfaat Tanaman Dahlia

Bunga dahlia kaktus yang berwarna putih selalu diperdagangkan karena merupakan jenis bunga yang banyak dipakai untuk merangkai bunga dukacita. Dahlia adalah tanaman berumbi. Umbi dahlia mengandung hampir 70% pati dalam bentuk

inulin. Inulin murni hasil ekstraksi dari umbi dahlia dimanfaatkan di bidang kedokteran. Jika inulin difermentasi oleh enzim tertentu atau oleh jamur tanah, inulin akan berubah menjadi fruktosa, suatu gula yang banyak digunakan dalam pengawetan makanan atau pembuatan sirup. Karena itu, pemanfaatan inulin dari dahlia melalui biokonversi menjadi gula fruktosa.

2.2.3 Kandungan Kimia Umbi Dahlia

Dari hasil uji fitokimia umbi dahlia terhadap senyawa golongan fenolik dan flavonoid menunjukkan bahwa umbi dahlia yang bunganya berwarna merah (*Dahlia variabilis*) positif mengandung fenolik dan flavonoid (Suryadi, 2007). Kandungan kimia umbi dahlia dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi kimia umbi dahlia (% berat kering)

Komposisi	Kadar (%)
Karbohidrat total	76,80 - 82,80
Inulin	69,50 - 75,48
Gula reduksi	4,40 - 6,60
Serat	3,30 - 5,40
Lemak	0,50 - 1,00
Protein	3,90 - 5,70
Abu	0,2 - 0,40

Sumber : Saryono *et al.*, 1998

2.3 Tinjauan Tentang Inulin

2.3.1 Deskripsi Inulin

Waterhouse dan Chatterton (1993) mendefinisikan inulin sebagai polimer karbohidrat yang mengandung ikatan β (2 \rightarrow 1) fruktosil-fruktosa dengan adanya

glukosa pada ujung rantai. Inulin yang secara umum terdapat dalam tanaman mengandung 2-150 unit fruktosa. Inulin yang paling sederhana adalah 1- ketosa yang hanya mempunyai 2 unit fruktosa dalam 1 unit glukosa. Inulin yang disambungkan dengan glukosa dinyatakan sebagai *lukopiranosil-[D- fruktofuranosil](n-1) Dfruktofuranosida* (yang kemudian disingkat GpyFn atau GFn). Sementara itu, inulin yang tidak mempunyai sambungan glukosa adalah *D-fruktopiranosil-[Dfruktofuranosil](n-1)-D-fruktofuranosida* atau yang disingkat menjadi FpyFn, FFn, atau bahkan Fm, dimana n adalah jumlah fruktosa, sedangkan py adalah singkatan dari piranosil. Bila dihidrolisis, inulin akan menghasilkan oligofruktosa dengan derajat polimerisasi yang kurang atau sama dengan 10 (Meyer D, dan B. Tunland, 2001).

Inulin banyak terdapat dalam umbi dahlia (*Dahlia sp. L*); chicory (*Chicoryum intybus L*); dandelion (*Taraxacum officinale Weber*); Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*); umbi yacon (*Samallanthus sanchifolius*). Inulin dalam jumlah kecil terdapat pada bawang merah, bawang putih, asparagus, pisang, gandum (Kaur dan Gupta, 2002; Asih *et al.*, 2009).

2.3.2 Manfaat Inulin

Inulin memiliki beberapa manfaat didalam tubuh yaitu inulin dapat digunakan sebagai agen bifidogenic yang mampu menjaga pertumbuhan *Bifidobacterium* di usus besar, merangsang sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan jumlah sel darah putih, menstimulasi produksi *T-cell*, mengaktifkan *phagocytosis* dan stimulasi *fibroblast*, meningkatkan aktivitas *lymphocyte*, meningkatkan aktivitas respirasi sel, aktivitas melawan sel-sel tumor dan menghambat sekresi enzim hyaluronidase (Coxam, 2005). *Bifidobacterium* merupakan salah satu probiotik yang akan meningkat aktivitas proliferasinya dengan adanya inulin ataupun oligosakarida. Efek bifidogenik inulin ataupun oligofruktosa saat ini telah diakui. *Bifidobacterium* sendiri merupakan probiotik yang mempunyai manfaat menghambat pertumbuhan bakteri

yang merugikan, merangsang komponen sistem imun, dan menghasilkan produk fermentasi yang bermanfaat. Selain untuk menurunkan lemak dan kalori, efek fiber, dan efek stimulasi *Bifidobacterium*, dari beberapa studi inulin dan oligofruktosa diperkirakan juga mempunyai manfaat dalam hal absorpsi ion kalsium, dan mencegah terjadinya karsinoma kolon (Kaur dan Gupta, 2002). Inulin dapat dimanfaatkan untuk mengurangi kadar bakteri patogen dalam usus, menghilangkan sembelit, mengurangi risiko aterosklerosis dengan mengurangi sintesis trigliserida dan mengurangi konsentrasi trigliserida dan asam lemak pada serum darah (Kaur dan Gupta, 2002).

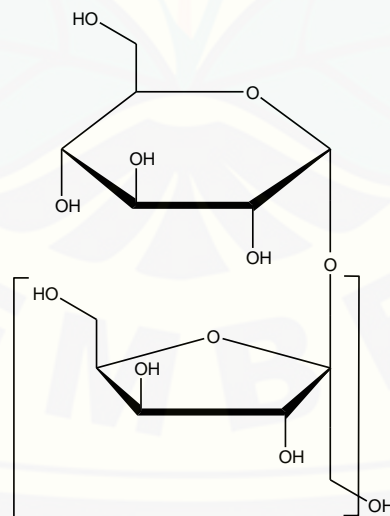
Inulin juga dapat digunakan untuk mengurangi resiko osteoporosis dengan meningkatkan penyerapan mineral, terutama kalsium. Adanya peningkatan penyerapan kalsium dalam tubuh, nutrisi yang membantu membangun dan memelihara struktur gigi dan tulang telah ditunjukkan oleh inulin yang diekstraksi dari akar *chicory*. Inulin *chicory* yang bertindak sebagai serat, meningkatkan asupan kalsium pada jaringan tulang yang mengakibatkan peningkatan kepadatan mineral tulang. Hal ini menunjukkan bahwa inulin memiliki potensi untuk mencegah atau menunda osteoporosis. Peningkatan penyerapan kalsium terjadi karena senyawa prebiotik oligosakarida tidak mengalami pencernaan oleh enzim pencernaan manusia dan adanya fermentasi inulin oleh mikroflora usus di usus besar yang dapat menurunkan pH melalui pembentukan asam lemak rantai pendek dan asam laktat. Semakin rendah pH, dapat meningkatkan kelarutan mineral yang akan meningkatkan penyerapan kalsium (Cashman, 2002). Asam laktat yang dihasilkan juga merangsang gerak peristaltik usus sehingga mencegah konstipasi dan meningkatkan penyerapan kalsium untuk mencegah osteoporosis bagi wanita usia menopause (Widowati, 2005). Senyawa prebiotik oligosakarida mungkin juga memiliki efek trofik pada saluran pencernaan, yang dapat meningkatkan penyerapan kalsium baik dalam usus besar atau seluruh bagian usus (Griffin *et al.*, 2002).

Inulin juga memiliki banyak potensi dalam aplikasi farmasi, sebagai *filler-binder* dalam formulasi tablet, untuk menstabilkan terapi protein, atau untuk

meningkatkan disolusi obat lipofilik. Hidrogel inulin metakrilat telah diteliti untuk pengembangan sistem penghantaran obat ke dalam usus. Inulin digunakan sebagai agen diagnostik untuk mengukur laju filtrasi glomerular. Inulin juga digunakan sebagai suplemen serat makanan non kalori (*Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition, 2009*).

2.3.3 Sifat Fisika Kimia Inulin

Menurut *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition (2009)*, inulin yang memiliki berat molekul 5000 dapat berfungsi sebagai bahan pemanis dan bahan pengikat. Pemerian inulin berupa serbuk putih yang tidak berbau dengan sedikit rasa manis. inulin memiliki titik lebur yaitu 178°C dan inulin inkompatibel dengan agen oksidasi kuat. Kelarutan inulin yaitu larut dalam air panas dan larutan asam dan basa encer serta sedikit larut dalam air dingin dan pelarut organik. Oleh sebab itu, ekstraksi yang dilakukan pada tanaman (umbi dahlia) dilakukan dengan air panas dan pengendapan dilakukan pada saat dingin. Gambar struktur kimia inulin dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Kimia Inulin (Sumber: Rowe, 2009)

2.4 Tinjauan Umum Tentang Metode Ekstraksi

2.4.1 Deskripsi Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan ataupun hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Tiap-tiap bahan mentah obat disebut ekstrak, tidak mengandung hanya satu unsur saja tetapi berbagai unsur, tergantung pada obat yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Allen *et al.*, 2011). Hasil ekstraksi selanjutnya disebut ekstrak, yaitu sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Untuk mendapatkan senyawa yang khas (zat aktif) dalam suatu tumbuhan, diperlukan metode ekstraksi yang cepat dan teliti (Harborne, 1987). Pemilihan metode ekstraksi dan cairan mana yang sebaiknya digunakan tergantung pada sumber bahan alam, kelarutan bahan kandungan serta stabilitasnya (Voight, 1994).

2.4.2 Ekstraksi Inulin

Ekstraksi inulin dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: Umbi dahlia dibersihkan, dikupas, dicuci dan dipotong kecil-kecil, kemudian dicampur dengan air panas pada suhu 90° C menggunakan blender selama 1 jam. Dahlia yang telah dihaluskan kemudian dipanaskan di atas *waterbath* selama ±1 jam sambil diaduk. Selanjutnya disaring, di mana filtrat yang diperoleh diendapkan pada suhu 0° C, -10° C, -20° C, dan -30° C selama 18 jam, di mana suhu yang paling optimum yaitu -20° C. Larutan didinginkan dan dicairkan pada 8° C selama 42 jam. Konsentrat yang diperoleh disentrifugasi pada 1500 rpm, selama 15 menit hingga endapan putih

diperoleh dan dipisahkan. Endapan putih kemudian dikeringkan pada 60° C dan ditumbuk atau dihaluskan sampai diperoleh serbuk putih halus (Teknik A) (Winarti *et al.*, 2011).

Prosedur lain dapat dilakukan dengan cara mengupas dan memotong umbi dahlia hingga bersih, kemudian diblender dengan penambahan aquades 1:2. Kemudian dipanaskan pada suhu 80- 90°C ± 30 menit, setelah dingin disaring dan diambil filtratnya. Filtrat kemudian disimpan dalam *freezer* ± 18 jam, diamkan pada suhu ruang ± 2 jam. Kemudian cairan disentrifus (1500 rpm, 15 menit), akan didapatkan inulin basah (1) tambahkan aquades 1:2 dan panaskan 70°C selama 30 menit, tambahkan karbon aktif 1-2 % b/v, saring dan ukur volume yang didapat. Tambahkan etanol 30% sebanyak 40% dari volume larutan. Cairan didinginkan dalam *freezer* ± 18 jam, cairkan pada suhu ruang, dan sentrifus (1500 rpm, 15 menit), didapat endapan putih inulin (2), keringkan pada suhu 50- 60°C selama 6-7 jam dalam oven (Teknik B) (Widowati, 2005).

2.5 Tinjauan Tentang Metode Analisis untuk Penetapan Kadar Kalsium Dalam Serum Darah Tikus

Menurut Soraya (2012), penentuan kadar kalsium dalam serum darah dengan menggunakan teknik *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AAS) karena pelaksanaan cepat, sensitif, spesifik untuk unsur yang ditentukan, dan dapat digunakan untuk penentuan kadar suatu unsur yang memiliki konsentrasi sangat kecil tanpa harus dipisahkan terlebih dahulu. Penelitian tersebut dilakukan metode destruksi sebelum dilakukan penentuan kadar dengan teknik AAS. Hal ini dilakukan untuk memutuskan ikatan unsur logam dengan komponen lain dalam matriks sehingga unsur tersebut berada dalam keadaan bebas sehingga kandungan matriks atau ion-ion lain tidak mengganggu proses analisis logam dengan teknik AAS.

Sedangkan menurut Ariani (1997), penentuan kadar kalsium dalam plasma darah dapat ditentukan dengan beberapa teknik, seperti teknik pewarnaan dengan

menggunakan alat spektrofotometer dan teknik menggunakan jumlah atom yang diabsorpsi dengan alat yang dikenal dengan *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AAS). Hasil beberapa penelitian membuktikan bahwa teknik penetapan kalsium dengan menggunakan alat AAS lebih akurat, teliti, dan cepat dibandingkan dengan alat spektrofotometer lainnya. Penetapan kadar kalsium menggunakan alat AAS yang dilakukan dengan metode penambahan TCA yang menghasilkan larutan sampel jernih yang dapat dibaca oleh alat AAS tanpa menyumbat alat tersebut.

2.6 Tinjauan Umum tentang Spektrofotometer Serapan Atom

Spektrofotometri serapan atom merupakan metode yang sangat tepat untuk analisis zat pada konsentrasi rendah (Khopkar, 1990). Metode spektrofotometri serapan atom merupakan analisis yang memberikan kadar total unsur logam dalam suatu sampel dan tidak bergantung pada bentuk molekul dari logam dalam sampel tersebut. Cara ini cocok untuk analisis zat pada konsentrasi rendah karena dapat menentukan kadar logam dengan kepekaan yang tinggi (batas deteksi dengan konsentrasi yang sangat kecil, yaitu kurang dari 1ppm), pelaksanaannya relatif sederhana dan interferensi sedikit (Gandjar, 2007 ; Raimon).

2.6.1 Prinsip Spektrofotometer Serapan Atom

Spektrofotometri serapan atom didasarkan pada penyerapan cahaya oleh atom bebas dari suatu unsur pada tingkat energi terendah (*ground state*). Keadaan *ground state* dari sebuah atom adalah keadaan dimana semua elektron yang memiliki unsur tersebut memiliki konfigurasi yang stabil. Saat cahaya diserap oleh atom, satu atau lebih elektron tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Penyerapan energi cahaya ini berlangsung pada panjang gelombang yang spesifik untuk setiap logam dan mengikuti hukum *Lambert-Beer*. Yakni serapan berbanding lurus dengan konsentrasi uap atom dalam nyala (Vandecasteele, 1993 ; Welz, 2005).

2.6.2 Gangguan pada Spektrofotometer Serapan Atom

- a. Gangguan Spektrum merupakan gangguan sinar emisi. Pada bagian atomizer terjadi atom yang tereksitasi dan dapat menghasilkan sinar emisi dengan panjang gelombang yang sama dengan sinar katoda, sehingga tidak dapat dipisahkan oleh monokromator. Hal ini dapat menambah sinar yang ditransmisikan dan akan memperkecil kadar.
- b. Gangguan Fisika merupakan sifat-sifat fisika dari larutan yang diperiksa akan menentukan intensitas emisi larutan zat yang akan diperiksa. Perubahan viskositas larutan dapat mempengaruhi laju penyemprotan ke dalam nyala. Oleh karena itu, sifat-sifat fisika zat yang akan diperiksa dan larutan pembanding harus sama. Sifat ini dapat diperbaiki dengan menggunakan pelarut organik sehingga sensitivitas dapat dinaikkan sampai 3 atau 5 kali bila dibandingkan dengan pelarut air (Harmita, 2006 ; Vandecasteele, 1993).
- c. Gangguan kimia biasanya memperkecil jumlah atom pada level energi terendah (*groundstate*). Dalam nyala, atom dalam bentuk uap dapat berkurang karena terbentuknya senyawa seperti oksida atau klorida, atau karena terbentuknya ion. Dengan menggunakan nyala yang cocok atau dengan menambahkan unsur yang lebih mudah terionisasi dalam jumlah berlebih, gangguan ini dapat dikurangi (Harmita, 2006).

2.7 Tinjauan Umum Tentang Analisis Data

Analisis data meliputi kegiatan mempelajari karakteristik, hubungan, pola atau pengaruh yang sering terdapat pada suatu fenomena atau gejala yang telah dan yang akan terjadi. Ada dua model pengolahan dan analisis statistik untuk penelitian sosial, termasuk untuk penelitian komunikasi, yaitu pengolahan data dengan menggunakan statistik deskriptif dan pengolahan data dengan menggunakan statistik inferensial. Pada penelitian ini dilakukan analisis data dengan menggunakan metode *Statistical Product and Service Solution*

(SPSS). SPSS adalah kependekan dari *Statistical Program for Social Science* merupakan paket program aplikasi komputer untuk menganalisis data statistik. Dengan SPSS kita dapat memakai hampir dari seluruh tipe file data dan menggunakannya untuk untuk membuat laporan berbentuk tabulasi, chart (grafik), plot (diagram) dari berbagai distribusi, statistik deskriptif dan analisis statistik yang kompleks. Sehingga dapat dikatakan SPSS adalah sebuah sistem yang lengkap, menyeluruh, terpadu, dan sangat fleksibel untuk analisis statistik dan manajemen data. Menurut Candiasa (2003), metode analisis SPSS terdapat beberapa macam analisis data yaitu:

1. Analisis data untuk uji persyaratan uji hipotesis sebagai berikut:
 - a. Uji Normalitas data dimaksudkan untuk memperlihatkan bahwa data sampel berasal dari populasi yang berdistribusi normal. Ada beberapa teknik yang dapat digunakan untuk menguji normalitas data, antara lain uji chi-kuadrat, uji lilliefors, dan uji kolmogorov-smirnov. Uji normalitas menghasilkan 3 (tiga) jenis keluaran, yaitu Processing Summary, Descriptives, Tes of Normality, dan Q-Q Plots. Untuk keperluan penelitian umumnya hanya diperlukan keluaran berupa *Test of Normality*.
 - b. Uji homogenitas dimaksudkan untuk memperlihatkan bahwa dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki variansi yang sama. Pada analisis regresi, persyaratan analisis yang dibutuhkan adalah bahwa galat regresi untuk setiap pengelompokan berdasarkan variabel terikatnya memiliki variansi yang sama. Sama seperti uji kenormalan, uji kehomogenan menghasilkan banyak keluaran. Untuk keperluan penelitian umumnya, hanya perlu keluaran *Test of Homogeneity of Variance*.
2. Analisis data untuk uji hipotesis yang salah satunya adalah Analisis varian satu arah yaitu suatu metode untuk menguraikan keragaman total data menjadi komponen-komponen yang mengukur berbagai sumber keragaman dengan

menggunakan *One-Way* ANOVA dengan satu perlakuan. Menurut Ridwan (2008), Anova adalah anonim dari analisis varian terjemahan dari *analysis of variance*, sehingga banyak orang menyebutnya dengan anova. Anova merupakan bagian dari metoda analisis statistika yang tergolong analisis komparatif lebih dari dua rata-rata (Ridwan, 2008). Adapun uji lanjutan dari uji ANOVA jika hasil yang diperoleh pada uji ANOVA adalah H_0 diterima atau terdapat perbedaan antara tiap kelompok maka dilakukan uji Post Hoc untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dan yang tidak berbeda.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

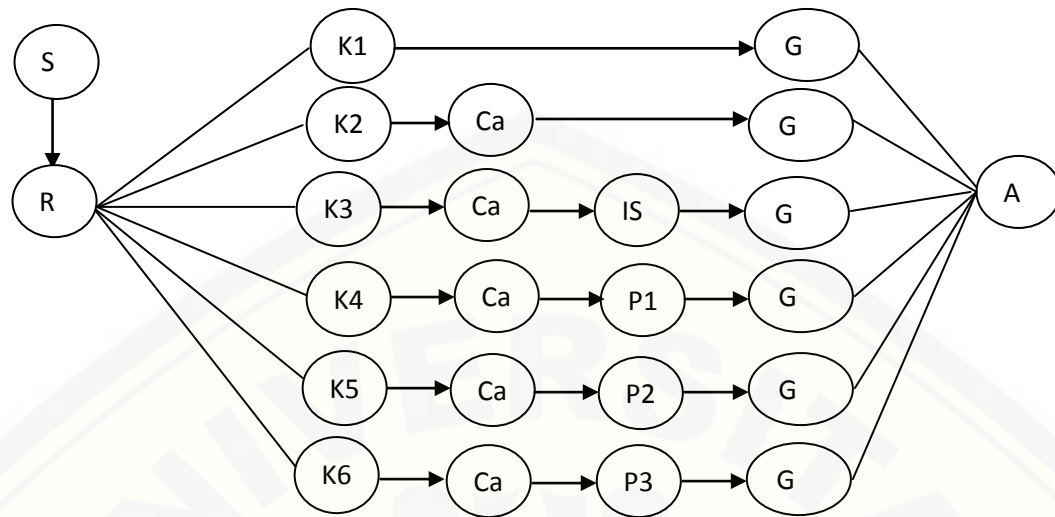
Uji aktivitas inulin umbi dahlia terhadap peningkatan absorpsi kalsium pada serum darah tikus jantan ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh yang timbul akibat perlakuan yang berbeda.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dilakukan mulai bulan Februari 2015 sampai bulan Juli 2015.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan enam perlakuan dan empat kali ulangan pada setiap perlakuan. Setiap kelompok perlakuan diberi kalsium karbonat dengan dosis sama dan inulin dengan dosis yang berbeda. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1 berikut.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Populasi tikus

R : Randomisasi tikus

K1 : Kelompok Kontrol normal

K2 : Kelompok Kontrol negatif

K3 : Kelompok Kontrol positif

K4 : Kelompok uji dosis 1

K5 : Kelompok uji dosis 2

K6 : Kelompok uji dosis 3

IS : Pemberian inulin standart dosis 0,09g/kg BB

Ca : Pemberian suplement kalsium dosis 0,09g/kg BB

P1 : Pemberian inulin dalam ekstrak air umbi dahlia dosis 0,09g/kg BB

P2 : Pemberian inulin dalam ekstrak air umbi dahlia dosis 0,18g/kg BB

P3 : Pemberian inulin dalam ekstrak air umbi dahlia dosis 0,27g/kg BB

G : pengukuran kadarkalsium dengan metode AAS

A : Analisis data dengan uji statistik

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan adalah *scanner* Densitometer *winCATS* Camag, *ultrasonic cleaner*, perangkat komputer dengan program *winCATS*, perangkat komputer dengan program *Design Expert* 9.0.0 dan *SPSS Statistic 16*, *Centrifuge* (Hermle), oven (*Memmert*), *freezer*, lemari pendingin (Arctiko), neraca analitik (*Adventurer Ohaus*), bejana camag (chamber), blender (Phillips), *water bath*, mortir dan stemper, alat gelas, bola pipet, tabung sentrifuge, termometer alkohol dan pipet tetes, sentrifuse, alat injeksi untuk oral, gunting/scalpel, kertas saring, AAS (*Atomic Absorbance Spectrofotometric*) dengan alat Perkin Elmer 3110.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah: umbi dahlia bangkok ungu usia 5-6 bulan (berasal dari kota Batu-Jawa Timur), inulin standar (Sigma-Aldrich), *aquadest*, Aquabides steril WIDA WITM(Unicap), etanol 96% (teknis), etanol 70% (teknis), asam asetat glasial (J.T. Baker), metanol p.a (Sigma-Aldrich), *aniline p.a* (MERCK), *diphenylamine* (MERCK), asam fosfat, dan aseton p.a (MERCK). suplement kalsium (CALK), asam nitrat p.a (MERCK), asam perkrolat p.a (MERCK), TCA 10% (MERCK), CMC (*Carboxy methyl cellulose*) 1%(teknis).

3.5 Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian adalah tikus dengan kriteria: 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan jenis *Sprague dawley* umur 12 minggu dengan berat badan 150-200 g sebagai hewan percobaan. Tikus diberi pakan BR-II dan PP-III (PT.Japfa Comfeed Indonesia). Hewan ditempatkan dalam kandang individu, dan diadaptasikan selama satu minggu. Selama masa adaptasi, hewan coba diberi makan standart sebanyak 10% berat badan (± 20 g) dan air secara *ad libitum*.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis inulin dalam ekstrak umbi dahlia.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian adalah % peningkatan kadar kalsium pada tulang tikus .

3.6.3 Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah jenis kelamin tikus (jantan), jenis tikus (*Sprague dawley*), berat badan tikus (150-200g), umur tikus (12 minggu), cara pemberian, suhu dan tekanan pada proses ekstraksi, frekuensi dan volume pemberian inulin ekstrak umbi dahlia, frekuensi dan volume pemberian inulin standart, frekuensi dan volume pemberian tablet kalsium laktat dan masa pemberian.

3.7 Prosedur Kerja

3.7.1. Ekstraksi Inulin Umbi Dahlia

Ekstraksi inulin dilakukan dengan cara mengupas dan memotong umbi hingga bersih, ditambahkan air panas suhu 90°C (1:20), diblender selama 30 menit sampai 1 jam, kemudian dipanaskan di atas *waterbath* suhu 90°C sambil diaduk selama \pm 1 jam, kemudian disaring dan filtrat didinginkan pada suhu ruang. Filtrat dimasukkan ke dalam *freezer* suhu -20°C selama \pm 18 jam, kemudian dipindahkan dalam lemari pendingin suhu 10°C selama 42 jam. Setelah menjadi cair, disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit, endapan dikeringkan dalam oven suhu 60°C hingga kering (Sandiya, 2014).

3.7.2 Penetapan Kadar Inulin Ekstrak Air Umbi Dahlia

Penentuan kadar serbuk kering inulin hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan KLT Densitometri. Kondisi analisis KLT Densitometri untuk penetapan kadar inulin meliputi pelarut, fase gerak/eluen, waktu pengeringan lempeng setelah eluasi, penampak noda, teknik pewarnaan lempeng, suhu pengovenan setelah pewarnaan, panjang gelombang pengamatan, dan konsentrasi uji analit. Kondisi analisis yang digunakan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Sandiya (2014).

Determinasi inulin dalam ekstrak umbi dahlia diawali dengan pembuatan kurva baku dengan konsentrasi 800 ppm, 1000 ppm, 1600 ppm, 2000 ppm, dan 3000 ppm. Selanjutnya larutan sampel dipreparasi dengan menimbang 45 mg sampel kemudian dilarutkan dengan pelarut. Kemudian larutan standar dan sampel dimasukkan dalam vial dan ditotolkan dalam lempeng KLT Silika Gel F254 untuk dianalisis dengan kondisi analisis (komposisi eluen, penampak noda, teknik pewarnaan, waktu pengeringan lempeng setelah dieluasi, suhu pengeringan setelah diwarnai, panjang gelombang, dan konsentrasi uji) sesuai dengan penelitian sebelumnya (Sandiya, 2014). Noda yang terbentuk *discanning*, dihitung kadar % b/b.

3.7.3 Pembuatan Sediaan Uji

Ekstrak disuspensikan sesuai dosis, menggunakan CMC (*Carboxy methyl cellulose*) 1% sebagai bahan pensuspensi. Serbuk CMC ditaburkan pada mortir berisi aquadest panas bersuhu 70⁰C dengan volume 20 kalinya. Kemudian CMC dibiarkan mengembang selama 10 menit. CMC yang telah mengembang tersebut digerus. Setelah itu ditambahkan sampel dan digerus kembali hingga homogen. Kemudian ditambahkan aquadest perlahan-lahan hingga mencapai volume suspensi yang diinginkan. Suspensi ini sebaiknya dibuat sesaat sebelum percobaan berlangsung agar suspensi terjaga kestabilannya. Pemberian pada hewan coba dilakukan secara oral

dengan *feeding tube*. Adapun formula dari sediaan uji pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 3.2.

Tabel 3.2. Formula dari sediaan uji pada masing-masing kelompok perlakuan

Perlakuan	Formula		
	Kalsium Laktat	Inulin Standar	Inulin dalam ekstrak umbi dahlia
Kelompok Normal	-	-	-
Kontrol Negatif	0,09g/kg BB	-	-
Kontrol Positif	0,09g/kg BB	0,09g/kg BB	-
Kelompok Dosis 1	0,09g/kg BB	-	0,09g/kg BB
Kelompok Dosis 2	0,09g/kg BB	-	0,18g/kg BB
Kelompok Dosis 3	0,09g/kg BB	-	0,27g/kgBB

3.7.4 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

24 ekor tikus jantan *Sprague dawley* umur 12 minggu diadaptasikan selama 2 minggu. Kemudian populasi tikus dibagi menjadi 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus yang dipilih secara random. Masing – masing hewan coba yang sudah diacak ditempatkan dalam kandang individu sesuai perlakuan. Perlakuan meliputi P0 : hewan coba dengan pakan standar; P1 : hewan coba dengan pakan standart dan diberi suplementasi kalsium 0,09g/kg BB; P2 : hewan coba dengan pakan standart dan diberi suplementasi kalsium dengan penambahan inulin standart 0,09g/kg BB; P3: Hewan coba dengan pakan standart dan diberi suplementasi kalsium dengan penambahan inulin 0,09g/kg BB; P4 : Hewan coba dengan pakan standart dan diberi suplementasi kalsium dengan penambahan inulin 0,18g/kg BB; P5: Hewan coba pakan standart dan diberi suplementasi kalsium dengan penambahan inulin 0,27g/kg BB. Suplemen kalsium dan inulin dicampur dengan aquades dan diberikan secara peroral dengan *feeding tube* satu kali dalam satu

hari. Selama percobaan hewan diberi pakan standart sebanyak 10% BB(\pm 20 g)/ekor/hari dan air minum secara *ad libitum*.

3.7.5 Penyiapan Sampel Darah Tikus

Pengambilan darah hewan coba sebanyak 0,5–1ml melalui vena ophthalmikus pada menit ke-0 (sebelum hewan uji diberi sediaan uji), pada menit 60, menit ke-150, menit ke- 270, menit ke-450. Sampel darah yang diambil sebanyak 0,5ml ditambahkan 1ml TCA 10% untuk mengendapkan protein. Larutan divortex hingga homogen, kemudian disentrifuse pada 3000rpm selama 30 menit, diambil bagian serum dengan hati-hati kemudian dimasukkan dalam tabung. Serum tersebut digunakan untuk penentuan kadar kalsium yang dilakukan di Fakultas Farmasi Universitas Jember, dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorbance Spectrofotometric*) dengan alat Perkin Elmer 3110.

3.7.6 Penyiapan Larutan Standart Kalsium

Standart yang digunakan dalam penelitian ini adalah kalsium karbonat. Larutan standart dibuat dari dua larutan induk yaitu 100 ppm dan 200 ppm lalu diencerkan sampai didapat larutan dengan konsentrasi 3;5;10;15;20;25 ppm.

3.7.7 Preparasi dan Destruksi Sampel Darah Tikus

Metode untuk preparasi dan destruksi sampel serum darah merujuk kepada NIOSH 8005(1994) yang telah dimodifikasi. Serum darah dipipet 1 ml kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan asam nitrat pekat 1 ml, lalu dikocok. Tambahkan 1ml asam perklorat pekat, lalu dikocok. Kemudian dipanaskan sampel hingga terlihat bening. Bila sampel masih belum bening, tambahkan asam nitrat pekat dan panaskan kembali. Encerkan larutan sampel dengan pelarut (aquabidest : asam nitrat pekat) kemudian saring dengan kertas saring *Whatman*. Filtrat dipindahkan kedalam labu ukur 25 ml, tambahkan sampai tanda batas labu dengan

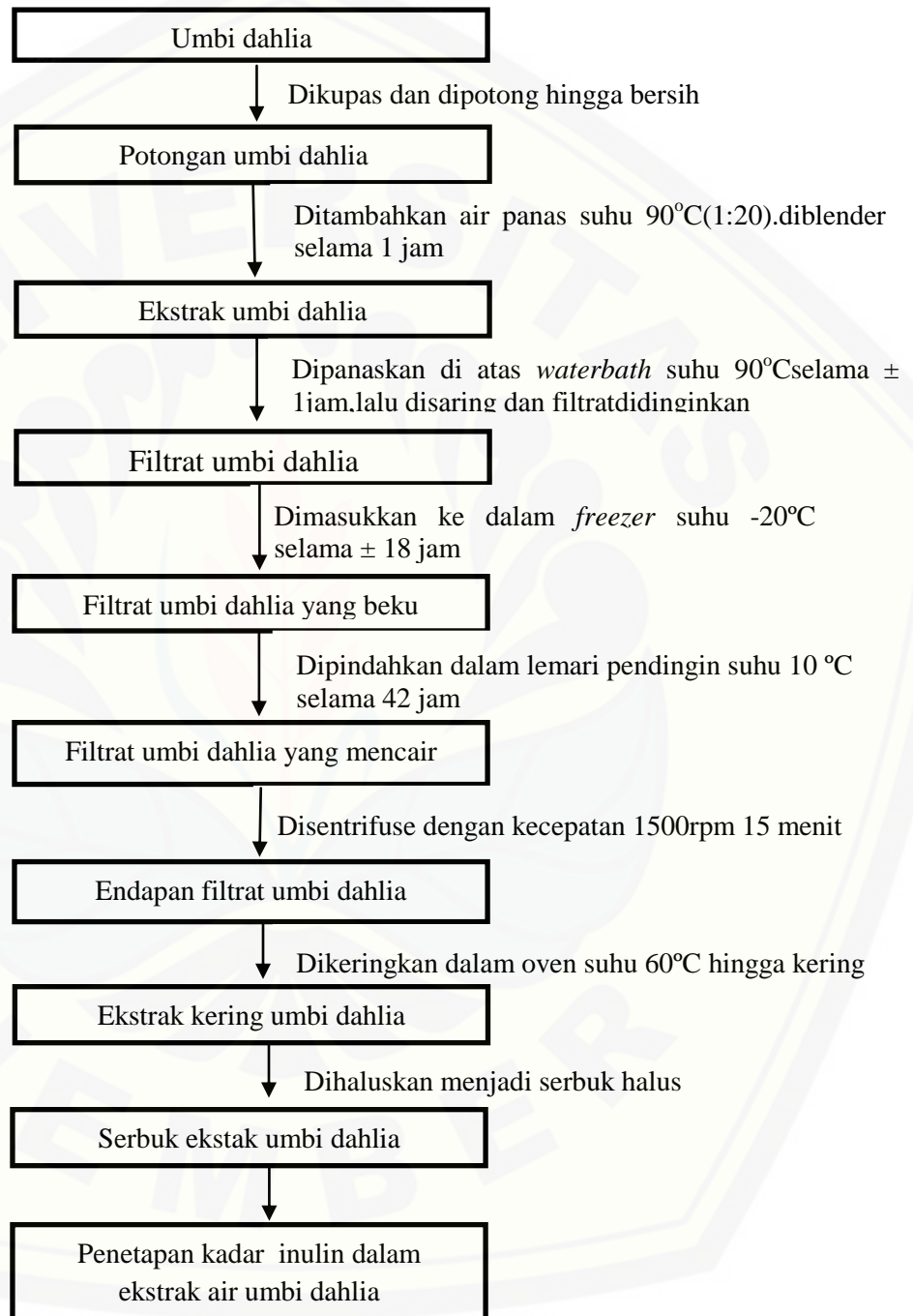
pelarut. Pengukuran kadar kalsium dalam darah dilakukan dengan metode AAS menggunakan seri larutan standart kalsium dengan konsentrasi 3;5;10;15;20;25 ppm pada panjang gelombang 422,7 nm, Arus lampu 5 mA dan selah 0,5 nm dengan nyala yaitu campuran udara tekan dan gas etilena. Hasil pembacaan kemudian dibandingkan dengan kurva standart, sehingga diperoleh kadar kalsium dalam satuan mg/l atau ppm (Aryani, 1997).

3.8 Analisis Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah persentase kadar kalsium dalam serum darah. Analisis data peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah dapat digambarkan dalam grafik hubungan antara waktu dengan kadar rata-rata kalsium dalam serum darah. Sedangkan analisis data yang digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan kadar kalsium dalam serum darah, maka digunakan metode *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) dari ke-6 kelompok perlakuan yang di uji pada tiap menit pengambilan sampel serum darah tikus. Uji homogenitas Shapiro-Wilk untuk melihat normalitas distribusi data. Bila dijumpai nilai $p > 0,05$ maka distribusi normal, maka digunakan Uji *oneway* ANOVA pada taraf kepercayaan 95%, untuk melihat secara umum beda rerata kadar kalsium dalam serum darah tikus semua kelompok yang akan dilanjutkan dengan Uji Post Hoc (Tukey) untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bila terdapat perbedaan bermakna dengan nilai $p < 0,05$ pada Uji *oneway* ANOVA. Apabila dijumpai $p < 0,05$ maka distribusi tidak normal. Uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat beda rerata kadar kalsium dalam serum darah tikus antar kelompok. Apabila nilai $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang bermakna. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* (Besral, 2010).

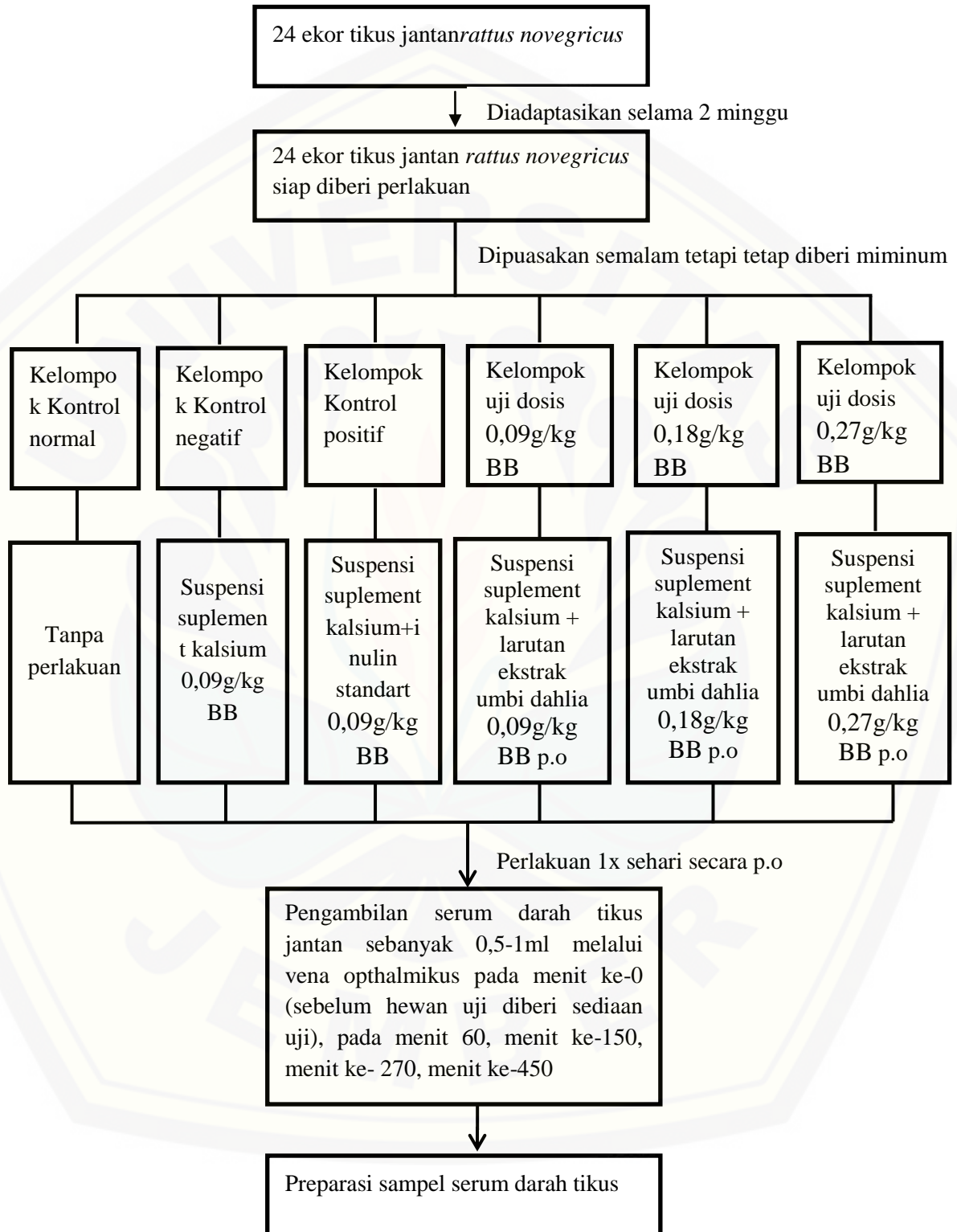
3.9 Skema Kerja

3.9.1 Skema Pembuatan Ekstrak Air Umbi Dahlia



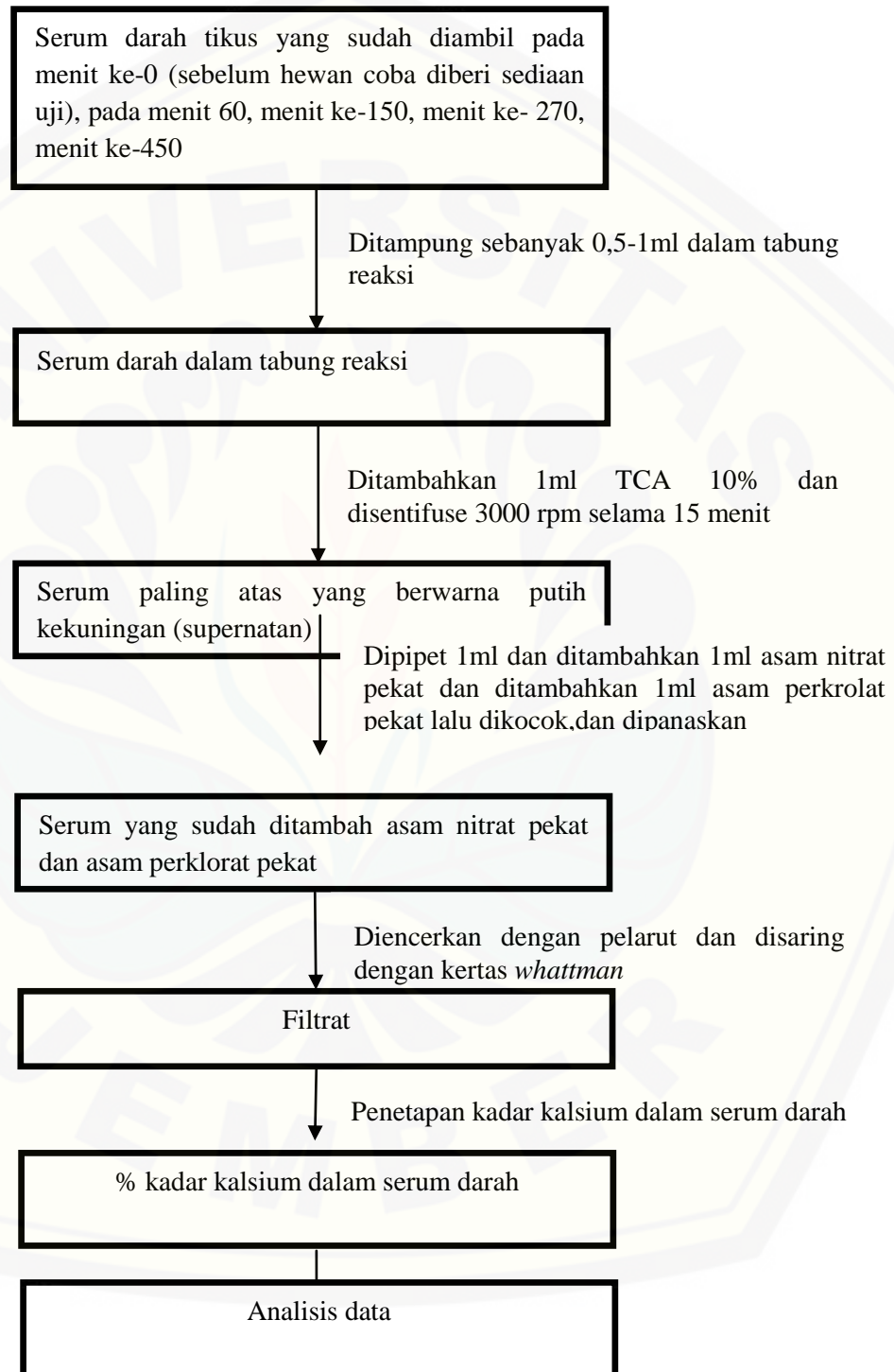
Gambar 3.2 Skema Pembuatan Ekstrak Air Umbi Dahlia

3.9.2 Skema Perlakuan



Gambar 3.3 Skema Perlakuan

3.9.3 Skema Penetapan Kadar Kalsium Dalam Serum Darah Tikus



Gambar 3.4 Skema Penetapan Kadar Kalsium Dalam Serum Darah Tikus

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas inulin umbi dahlia (*Dahliaspp. L*) terhadap peningkatan absorpsi kalsium serum darah tikus jantan. Dahlia ungu (*Dahliaspp. L*). Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi: ekstraksi umbi dahlia, penetapan kadar inulin dari ekstrak, penetapan kadar kalsium dalam serum darah tikus jantan dan analisis data untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan menggunakan *software SPSS Statistics 16.0* dengan tingkat kepercayaan 99%.

4.1 Pembuatan Ekstrak Umbi Dahlia (*Dahlia spp.L*)

Proses ekstraksi umbi dahlia dilakukan dengan pembuatan ekstrak kering umbi dahlia ungu (*Dahlia spp. L*), umbi dahlia yang digunakan merupakan umbi dengan usia tanaman berkisar 4-6 bulan. Teknik yang digunakan berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Sandiya (2014) dengan diperoleh persen rendemen ekstrak inulin sebanyak $12,335\% \pm 0,520$. Perhitungan hasil rendemen yang diperoleh dapat dilihat pada lampiran A.



Gambar 4.1 Ekstrak kering umbi dahlia (*Dahlia spp. L.*)

4.2 Penetapan Kadar Inulin umbi Dahlia (*Dahlia spp. L.*)

Setelah proses ekstraksi umbi dahlia maka dilakukan penetapan kadar inulin umbi dahlia dengan menggunakan metode KLT-Densitometri. Untuk penetapan kadar inulin dilakukan dengan KLT Densitometri dengan menggunakan kondisi analisis berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Sandiya (2014). Kondisi analisis yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kondisi analisis KLT-Densitometri

Kondisi Analisis	Hasil
Pelarut	Aquabides steril : etanol 96% pa (3:1) v/v
Eluen (Fase gerak)	Asam asetat glasial pa : metanol pa : aquabides steril (v/v/v) = 0,5 : 7,5 : 2
Lama pengeringan setelah eluasi	10 menit
Penampak noda	Campuran <i>aniline</i> dalam aseton 1% v/v : <i>diphenylamine</i> dalam aseton 10% b/v : asam fosfat (5 : 5 : 1 v/v/v)
Teknik pewarnaan	Dicelup
Suhu Pengeringan	110° C
Panjang gelombang maksimum (l)	380 nm
Konsentrasi uji	1000 ppm
Fase diam	Lempeng KLT Silika Gel F ₂₅₄

Penetapan kadar inulin dalam umbi dahlia dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahapan tersebut diawali dengan proses pembuatan kurva baku, preparasi sampel eluasi dan penetapan kadar inulin dalam serbuk kering umbi dahlia (*Dahlia spp. L*) sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:

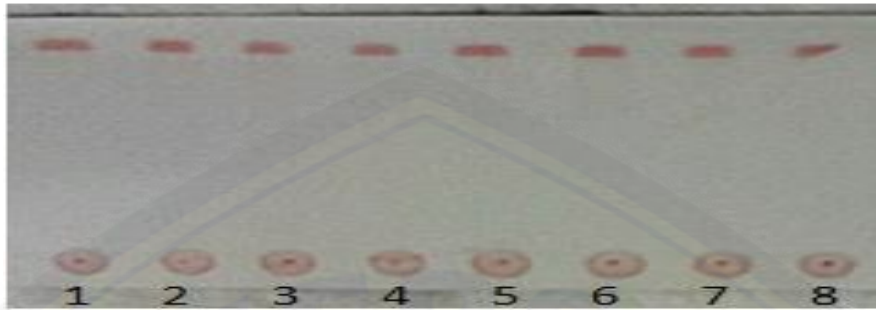
4.2.1 Hasil Pembuatan Kurva Baku Standar Inulin

Pembuatan kurva baku standar inulin dengan membuat larutan standar inulin dibuat 4000ppm dan 6000ppm dengan dilakukan pengenceran sampai diperoleh deret larutan standar dengan konsentrasi 800 ppm, 1000 ppm, 1600 ppm, 2000 ppm, dan 3000 ppm. Hasil dari proses *scanning* pada lempeng yang dianalisis dengan metode KLT Densitometri pada panjang gelombang 380 nm diperoleh data berupa area standart inulin beserta kurva baku standar inulin yang dapat dilihat pada lampiran B.

Berdasarkan data pada lampiran B diperoleh persamaan garis linear yaitu $y = 1,626x + 9418$ dan nilai koefisien korelasi (r) yaitu 0,998. Hal ini menunjukkan hubungan yang proporsional (linier) antara konsentrasi dan area karena nilai koefisien korelasi (r) yang mendekati 1. Menurut Sarwono (2006), jika nilai koefisien korelasi berada pada rentang 0,75-0,99 berarti hubungan korelasi kedua variabel sangat kuat.

4.2.2 Hasil Penetapan Kadar Inulin dalam Serbuk Kering Umbi Dahlia (*Dahlia spp.L*)

Penetapan kadar inulin yang dilakukan dalam penelitian ini berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Sandiya (2014) yaitu dengan penimbangan 45 mg serbuk kering ekstrak umbi dahlia ungu (*Dahlia spp.L*) yang kemudian dilakukan preparasi sampel dan *scanning* sampel dengan menggunakan KLT Densitometer, sehingga diperoleh hasil *scanning* berupa noda yang terbentuk ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil noda pada lempeng KLT F₂₅₄

Keterangan:

1-5 : totolan untuk standar

6-8 : totolan untuk sampel

Lempeng KLT F₂₅₄ pada gambar 4.2 *discanning* dengan menggunakan Densitometer sehingga dihasilkan data area sampel pada totolan ke-6 sampai ke-8 yang digunakan untuk menentukan kadar inulin dalam serbuk kering ekstrak umbi dahlia ungu (*Dahlia spp.L*). Kadar inulin yang didapatkan adalah sebesar $87,680\% \pm 7,94$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar $9,060\%$. Nilai tersebut telah memenuhi persyaratan nilai koefisien korelasi penetapan kadar metabolit yang berasal dari tanaman, yaitu kurang dari 10% (Harmita, 2004). Hasil penetapan kadar inulin dan perhitungannya dalam ekstrak kering umbi dahlia ungu (*Dahlia spp L.*) dapat dilihat Tabel 4.2 dan lampiran B.

Tabel 4.2 Data area sampel dan kadar

Track	Area	Kadar (%) b/b
Sampel replikasi 1	15086,24	96,833
Sampel replikasi 2	14312,51	83,615
Sampel replikasi 3	14252,61	82,592
Rata-rata		87,680
SD		7,94

4.2 Uji Aktivitas Ekstrak Inulin Umbi Dahlia

4.2.1 Pembuatan sediaan uji

Proses pembuatan sediaan uji dengan rancangan formula pada Tabel 2.3. Dosis ekstrak umbi dahlia yang digunakan pada penelitian ini 1-3 gram. Menurut Van Loo *et al.*,(1995), konsumsi inulin rata-rata asupan harian tiap individu dari sumber pangan tersebut berkisar antara 2-10 gram di Eropa, dan antara 1-4 gram di Amerika Serikat. Pemberian inulin sebanyak 10 gram per hari tidak menunjukkan pengaruh yang negatif terhadap kesehatan tubuh. Menurut Havenaar (2000), pemberian dosis di atas 10 gram hingga 20 gram dapat menyebabkan gejala-gejala ringan seperti *flatulence* (kelebihan gas dalam perut), *bloating* (pembengkakan), diare, dan berpotensi menyebabkan alergi. Perhitungan dosis untuk sediaan uji yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada lampiran C. Kalsium yang digunakan dalam penelitian ini adalah kalsium laktat dalam bentuk sediaan tablet karena tablet kalsium laktat merupakan salah satu jenis kalsium organik yang memiliki kadar kalsium yang tinggi dan memiliki tingkat absorpsi yang baik pada sistem pencernaan. Pada penelitian ini digunakan tablet kalsium laktat yang dalam komposisinya terdapat bahan-bahan tambahan yang kurang larut dalam air, sehingga untuk memperbaiki kelarutan dari tablet kalsium laktat maka sediaan dibuat dalam bentuk suspensi. Selain itu, sediaan dibuat dalam bentuk suspensi karena sediaan suspensi menjamin

stabilitas kimia dan memungkinkan terapi dengan cairan, serta sediaan lebih homogen. Sediaan suspensi yang dilakukan dengan bahan pensuspensi yaitu CMC 1% yang merupakan zat yang dapat meningkatkan viskositas digunakan untuk mengurangi laju sedimentasi atau pengendapan perlahan-lahan dari partikel-partikel terdispersi. Dosis yang digunakan pada kontrol positif ini berdasarkan dosis kalsium laktat pada manusia, diambil dosis untuk pasien kekurangan kalsium yaitu 2x sehari 1 tablet dengan kandungan kalsium 500 mg/tablet yang kemudian dikonversikan ke hewan uji tikus.

4.2.2 Penyiapan Sampel Serum Darah

Sampel serum darah disiapkan dari 24 ekor tikus jantan *Sprague dawley* dilakukan pengambilan serum darah. Sampel darah yang ditampung dapat dipisahkan bagian serumnya dengan mengambil darah 0,5 ml yang ditambahkan dengan 4 ml TCA 10% yang berfungsi mengendapkan protein.

Penelitian ini menggunakan sampel serum darah karena kalsium dalam darah berada dalam tiga bentuk yaitu kalsium yang terikat dengan protein terutama albumin, kalsium dalam bentuk kompleks dengan sitrat maupun fosfat serta kalsium dalam bentuk ion bebas (Setyohadi, 2007). Kalsium dalam bentuk ion bebas atau terionisasi banyak terdapat pada bagian serum yang memiliki beberapa fungsi penting untuk sebagian besar fungsi kalsium terhadap sistem saraf, jantung, dan pembentukan tulang, sehingga pada penelitian ini digunakan bagian serum.

Setelah proses pengambilan sampel serum darah tikus maka dilanjutkan proses destruksi sebelum dilakukan proses analisis dengan spektroskopi serapan atom. Hal ini dilakukan untuk meminimalkan gangguan matriks atau ion-ion yang dapat mengganggu proses analisis yang dapat mengakibatkan akurasi hasil analisis menjadi rendah. Metode destruksi yaitu pemutusan ikatan unsur logam dengan komponen lain dalam matriks sehingga unsur tersebut berada dalam keadaan bebas kemudian dilakukan analisis menggunakan AAS. Metode AAS ini dipilih karena

memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan metode analisis kalsium lainnya. Kelebihan AAS yaitu spesifik untuk unsur yang dianalisis, sensitif, pengerjaannya mudah dan cepat, serta dapat digunakan untuk penentuan kadar unsur yang konsentrasinya sangat kecil (Gandjar, 2007).

Metode untuk destruksi sampel darah merujuk kepada NIOS 8005 tahun 1994 yang telah dimodifikasi. Destruksi sampel serum darah dilakukan dengan penambahan asam nitrat dikarenakan dalam keadaan panas asam ini merupakan oksidator kuat yang dapat melarutkan hampir semua logam dan dapat mencegah pengendapan unsur. Pada proses destruksi juga dilakukan penambahan asam pekat yaitu asam perklorat karena asam nitrat tidak cukup kuat untuk mendestruksi matriks-matriks pada sampel serum. Pada proses pengenceran digunakan aquabidest karena kandungan ion logam yang terkandung didalamnya sangat kecil sehingga tidak mempengaruhi akurasi dari hasil analisis.

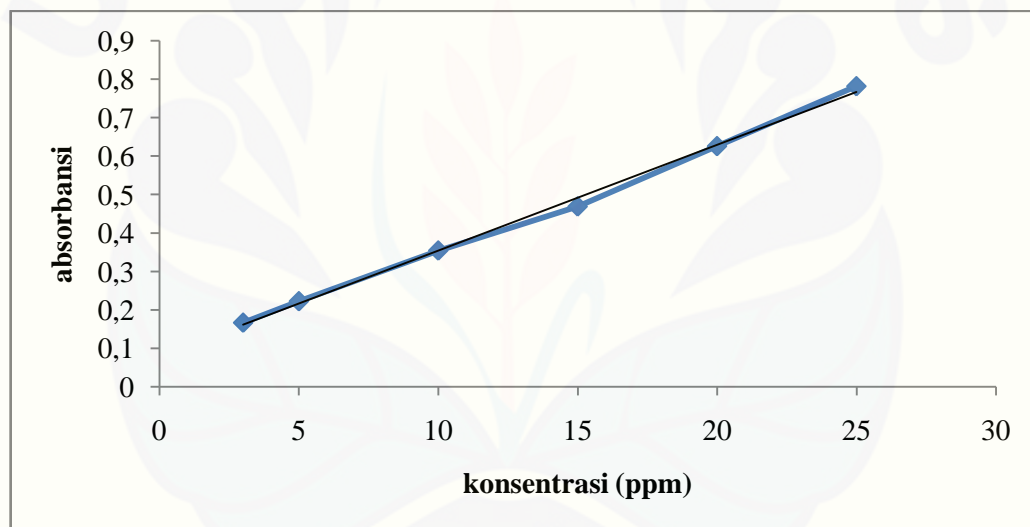
4.3 Hasil Analisis Kadar Kalsium Serum Darah Tikus

Penetapan kadar kalsium serum darah tikus diawali dengan pembuatan larutan standar induk yang dibuat dengan 2 kali penimbangan kalsium karbonat yang bertujuan untuk meminimalkan kesalahan dalam penimbangan. Larutan standar induk yang dibuat 100ppm dan 200ppm dengan dilakukan pengenceran sampai diperoleh deret larutan standar dengan konsentrasi 3ppm, 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm, dan 25 ppm. Kadar kalsium serum darah tikus dapat dianalisis dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi diperoleh dengan membandingkan konsentrasi standar dengan absorbansi pada alat AAS dengan panjang gelombang 422,7 nm. Sehingga, diperoleh hasil data kurva kalibrasi yang dapat dilihat pada tabel 4.3. Berdasarkan kurva tersebut diperoleh persamaan garis linear yaitu $y = 0,027x + 0,078$, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,997. Sehingga kurva kalibrasi dinyatakan linear karena nilai koefisien korelasi mendekati 1. Menurut Sarwono

(2006), jika nilai koefisien korelasi berada pada rentang 0,75-0,99 berarti hubungan korelasi kedua variabel sangat kuat.

Tabel 4.3 Data kurva kalibrasi larutan standar kalsium dengan AAS

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
3	0,1667
5	0,2225
10	0,3543
15	0,4689
20	0,6258
25	0,7816



Gambar 4.3 Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kalsium dengan AAS

Sampel hasil destruksi juga diukur absorbansinya pada panjang gelombang 422,7 nm. Sehingga diperoleh data absorbansi sampel dan konsentrasi kalsium serum darah tikus dari alat AAS yang dapat dilihat pada lampiran D. Konsentrasi yang diperoleh dari alat selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar kalsium serum darah tikus berdasarkan dari preparasi sampel yang dapat dilihat pada lampiran E. Kadar kalsium serum darah tikus masing-masing kelompok yaitu kelompok kontrol

normal diberikan suspensi CMC 1%; kelompok kontrol negatif diberikan suplement kalsium 0,09g/kg bb; kelompok kontrol positif diberikan suplement kalsium 0,09g/kg bb dan suspensi inulin standart 0,09g/kg bb; kelompok dosis 1 diberikan suplement kalsium 0,09g/kg bb dan suspensi ekstrak umbi dahlia dengan dosis 0,09g/kg bb; kelompok dosis 2 diberikan suplement kalsium 0,09g/kg bb dan suspensi ekstrak umbi dahlia dengan dosis 0,18g/kg bb; kelompok dosis 3 diberikan suplement kalsium 0,09g/kg bb dan suspensi ekstrak umbi dahlia dengan dosis 0,27g/kg bbdapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4.1 Kadar kalsium serum darah tikus kelompok kontrol dan presentase peningkatan absorpsi kalsium

Perlakuan	Ulangan tikus (N)	Kadar kalsium serum darah tikus mg/dl		Persentase peningkatan absorpsi kalsium(%)
		t-0	t-60	
Kontrol Normal	1	23.93	8.93	-62,68
	2	16.41	15.44	-5.91
	3	14.49	8.67	-40,17
	4	25.39	25.31	-0,31
	rata-rata ± SD	20.05 ± 5.41	14.59 ± 7.80	27,27 ± 29,46
Kontrol Negatif	1	21.33	14.05	-34,13
	2	10.82	13.69	26,56
	3	11.49	12.14	5,66
	4	22.07	24.93	12,96
	rata-rata ± SD	16.43 ± 6.10	16.20 ± 5.88	2,76 ± 26,07
Kontrol Positif	1	10.92	19.47	78,3
	2	9.16	15.62	70,52
	3	10.01	13.02	30,07
	4	20.33	21.09	3,74
	rata-rata ± SD	12.61 ± 5.20	17.30 ± 3.66	45,66 ± 35,04

Keterangan:

(-) : penurunan kadar

Tabel 4.4.2 Kadar kalsium serum darah tikus kelompok perlakuan

Perlakuan	Ulangan tikus (N)	Kadar kalsium serum darah tikus mg/dl		Persentase peningkatan absorpsi kalsium(%)
		t-0	t-60	
Dosis 1	1	7.55	15.74	108,48
	2	11.04	15.28	38,41
	3	6.03	10.97	81,92
	4	20.27	26.25	29,5
	rata-rata ± SD	11.22 ± 6.39	17.06 ± 6.49	64,58 ± 37,16
Dosis 2	1	16.11	17.71	9,93
	2	9.09	14.02	54,23
	3	12.48	16.15	29,41
	4	21.08	23.57	11,81
	rata-rata ± SD	14.69 ± 5.13	17.86 ± 4.09	26,35 ± 20,56
Dosis 3	1	10.38	11.67	12,43
	2	12.69	15.90	25,3
	3	15.81	16.69	15,57
	4	22.35	25.97	16,2
	rata-rata ± SD	15.31 ± 5.19	17.56 ± 6.03	17,38 ± 5,53

Keterangan:

(-) : penurunan kadar

Berdasarkan Tabel 4.4 menunjukkan kadar kalsium serum darah tikus jantan yang dilakukan pengambilan serum darah pada menit ke-0 dimana tikus jantan belum diberikan perlakuan dan dilanjutkan dengan pengambilan darah pada menit ke-60; menit ke-150; menit ke-270; dan menit ke-450 yang kemudian dilakukan penetapan kadar hingga diperoleh hasil kadar rata-rata kalsium serum darah tikus. Menit ke-0 digunakan sebagai data awal kadar kalsium dalam serum darah sebelum diberikan perlakuan. Setelah diberikan perlakuan pada masing-masing kelompok maka pada menit ke-60 kadar kalsium serum darah mengalami peningkatan dan pada

menit ke-150 dan menit ke-270 kadar kalsium serum darah mulai mengalami penurunan hingga pada menit ke-450. Berdasarkan hasil tersebut dapat terlihat bahwa puncak absorpsi kalsium serum darah terjadi pada menit ke-60 dan akan menurun pada menit berikutnya, hal ini disebabkan karena kalsium akan diabsorpsi di dalam usus halus setelah 1-2 jam, kemudian akan difiltrasi oleh ginjal dan akan dikeluarkan melalui feces dan sebagian kecil melaluiurin, sekitar 200 mg/hari untuk mempertahankan kadar normal dalam tubuh.

Berdasarkan tabel 4.4 dilakukan analisis data dengan uji t-test untuk menguji hipotesa komparatif atau uji perbedaan. Data yang digunakan untuk uji t-test yaitu data kadar kalsium serum darah menit ke-0 dan menit ke-60 masing-masing kelompok. Uji t-test yang digunakan yaitu *paired sample t-test* yang digunakan untuk membandingkan mean dari suatu sampel yang berpasangan (*paired*). Sampel berpasangan adalah sebuah kelompok sampel dengan subyek yang sama namun mengalami dua perlakuan atau pengukuran yang berbeda. Hasil uji t-test berpasangan tersebut pada kolom *sig. (2 tailed)* dapat dilihat pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 uji t-berpasangan

Kelompok	Kontrol normal t-60	Kontrol negatif t-60	Kontrol positif t-60	Dosis 0,09g/kgBB t-60	Dosis 0,18g/kgBB t-60	Dosis 0,27g/kgBB t-60
Kontrol normal t-0						
Kontrol negatif t-0		p=0,022*				
Kontrol positif t-0			p=0,003*			
Dosis 0,09g/kgBB t-0				p=0,007*		
Dosis 0,18g/kgBB t-0					p=0,022*	
Dosis 0,27g/kgBB t-0						p=0,046*

* : nilai $P < 0,05$ (ada perbedaan bermakna)

Berdasarkan Tabel 4.5 hasil pada kelompok kontrol normal tidak berbeda bermakna sedangkan pada masing-masing kelompok yang lain terdapat perbedaan bermakna pada menit ke-0 dan menit ke-60 dengan nilai *significancy*($p < 0,05$) yang dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna sebelum perlakuan dan sesudah diberi perlakuan untuk masing-masing kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian inulin dapat meningkatkan absorpsi kalsium.

Hasil analisis data dengan uji t-berpasangan menunjukkan bahwa adanya peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus setelah diberikan inulin ekstrak umbi dahlia, hal ini dapat dilihat pada menit ke-60 absorpsi kalsium pada kelompok dosis mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol maka peningkatan absorpsi yang terjadi pada kelompok dosis lebih tinggi. Hasil peningkatan absorpsi sebelum diberi perlakuan pada t-0 yang dibandingkan dengan setelah diberikan perlakuan pada menit ke-60 maka penelitian yang dilakukan sesuai dengan teori. Menurut Kaur dan Gupta (2002), inulin dapat meningkatkan penyerapan kalsium, karena tidak dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan, dimana inulin yang masuk melalui mulut langsung menuju lambung dan usus halus tanpa mengalami perubahan yang berarti dan tanpa dimetabolisme. Kalsium diabsorpsi dari saluran pencernaan oleh adanya kombinasi antara transport aktif dan difusi pasif. Transport aktif distimulasi oleh 1,25-dihydroxy vitamin D₃, dan terutama pada duodenum dan jejunum proksimal sedangkan transport pasif terjadi pada permukaan saluran cerna. Menurut Roberfroid (2005) fungsi inulin sebagai prebiotik yang merupakan makanan bagi bakteri *bifidobacteria* dan *lactobacili* yang dapat memproduksi SCFAs (*Short Chain Fatty Acidi*) yang meliputi propionat, butirat dan asetat serta asam organik lain seperti laktat. Mekanisme inulin dalam meningkatkan penyerapan kalsium melalui transport pasif yaitu produksi asam laktat dapat membuat pH usus menjadi asam, kondisi pH yang asam ini dapat membuat ion kalsium menjadi lebih mudah larut sehingga mampu meningkatkan penyerapan kalsium. Sedangkan transport aktif melalui produksi butirat yang mampu merangsang vitamin D untuk meningkatkan produksi protein pengikat kalsium.

Persentase peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah pada tabel 4.4 yang diperoleh dari hasil perhitungan pada lampiran F digunakan untuk analisis data dengan tujuan mengetahui apakah ada perbedaan kadar kalsium serum darah dari ke-6 kelompok data penelitian. Analisis statistik yang digunakan penelitian ini yaitu Uji *Kruskal Wallis* karena pada uji menggunakan *one way ANOVA* terdapat varian data yang tidak sama sehingga tidak memenuhi persyaratan untuk menggunakan uji *one way ANOVA*. Uji *Kruskal Wallis* dengan data persentase peningkatan kadar kalsium serum darah dari ke-6 kelompok dikatakan ada perbedaan yang signifikan apabila nilai $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang bermakna.

Berdasarkan uji statistik *Kruskal Wallis* pada lampiran G, persentase peningkatan kadar kalsium serum darah dari ke-6 kelompok diperoleh nilai $p=0,010$ yang dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Kemudian dilakukan uji lanjutan *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan spesifik antara pasangan perlakuan dalam penelitian. Hasil dari *Mann Whitney* dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil uji *Mann Whitney*

Kelompok	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Dosis 0,09g/kgBB	Dosis 0,18g/kgBB	Dosis 0,27g/kgBB
Kontrol Normal		P=0,080	P=0,021*	P=0,021*	P=0,021*	P=0,031*
Kontrol Negatif			P=0,149	P=0,021*	P=0,248	P=0,773
Kontrol Positif				P=0,386	P=0,386	P=0,248
Dosis 0,09g/kgBB					P=0,083	P=0,21
Dosis 0,18g/kgBB						P=0,564
Dosis 0,27g/kgBB						

* : nilai $P < 0,05$ (ada perbedaan bermakna)

Berdasarkan tabel 4.6 tersebut diperoleh kelompok kontrol normal berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 1, kelompok dosis 2 dan kelompok dosis 3 dengan nilai $p < 0,05$. Kelompok kontrol negatif hanya berbeda bermakna dengan kelompok dosis 1 dengan nilai $p = 0,021$. Berdasarkan Tabel 4.5 hasil analisis statistik *Mann Whitney* pada kelompok dosis, peningkatan absorpsi antar kelompok dosis tidak berbeda signifikan. Hasil tersebut dapat dikarenakan pada penelitian ini penggunaan dosis terkecil yaitu $0,09 \text{ g/kgBB}$ pemberian inulin umbi dahlia sudah memberikan efek yang optimal dalam mencapai fungsi inulin sebagai prebiotik yang dapat meningkatkan absorpsi kalsium jika dibandingkan antara peningkatan padamenit ke-0 dengan menit ke-60 pada tiga varian dosis dengan peningkatan absorpsi terbesar pada dosis $0,09 \text{ g/kgBB}$, sehingga peningkatan pemberian dosis inulin tidak menyebabkan perbedaan aktivitas dalam meningkatkan absorpsi kalsium didalam usus yang signifikan. Hal ini dapat dianalogkan dengan pemberian suatu obat, suatu obat yang diberikan dengan tingkat dosis yang lebih besar belum tentu dapat meningkatkan efektivitas dari obat tersebut karena ketika reseptor telah jenuh berikatan dengan obat maka reseptor tersebut tidak mampu lagi untuk berikatan dengan obat sehingga efeknya akan tetap. efektivitas yang ditimbulkan oleh suatu obat berasal dari ikatan antara obat dengan reseptor sehingga membentuk kompleks obat-reseptor yang dapat menimbulkan respon biologis.

Pemberian inulin pada pasien kekurangan kalsium dapat dilakukan dengan kombinasi antara inulin dengan FOS/GOS untuk memberikan efek yang maksimal dalam mencapai fungsi inulin sebagai prebiotik yang dapat meningkatkan absorpsi kalsium. Hal ini dikarenakan penggunaan FOS/GOS terbukti secara selektif menstimulasi aktivitas/pertumbuhandari bakteri pada usus sehingga ketika dikombinasi dengan inulin maka hasil fermentasi yang dihasilkan berupa asam lemak rantai pendek dan asam laktat semakin banyak sehingga dapat meningkatkan absorpsi kalsium di dalam usus. Menurut Rao (1999), penggunaan inulin dan oligofruktosa pada dosis 4 g/d dapat meningkatkan jumlah *bifidobacteria*. *Bifidobacteria* memiliki

manfaat yang salah satunya yaitu dapat memperbaiki penyerapan mineral terutama mineral kalsium (Azhar, 2009). Menurut Abrams. *et.al*, penggunaan inulin rantai pendek dengan inulin rantai panjang jenis *fructans (ITFs)* dapat meningkatkan absorpsi kalsium dengan dosis 8g/d selama 8 minggu pada masa remaja.

Konsumsi inulin sebagai prebiotik pada tiap-tiap negara sangat bervariasi. Peraturan mengenai standar jumlah prebiotik yang dikonsumsi belum ada karena umumnya konsumsi prebiotik tergantung pada kebiasaan penduduk suatu negara (FAO, 2007). Menurut Alanna (1999), orang Amerika mengkonsumsi jumlah inulin dan oligofruktosa tergantung pada beberapa faktor termasuk kebiasaan makanan yang dikonsumsi, usia, jenis kelamin, ras dan musim. Indonesia memiliki regulasi tentang prebiotik dalam Peraturan Pangan Fungsional yang dikeluarkan oleh BPOM tahun 2005, namun regulasi jumlah asupan prebiotik tidak dijelaskan.

BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Inulin umbi dahlia (*Dahlia* sp. L) memiliki aktivitas meningkatkan kadar kalsium dalam serum darah tikus jantan pada puncak absorpsi kalsium serum darah yang terjadi pada menit ke-60.
2. Aktivitas inulin umbi dahlia (*Dahlia* sp. L) dalam meningkatkan kadar kalsium serum darah pada dosis yang berbeda memberikan hasil tidak berbeda secara signifikan pada menit ke-60.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya diperlukan adanya kombinasi penggunaan inulin dengan FOS atau GOS untuk mencapai efek yang maksimal dalam meningkatkan absorpsi kalsium didalam usus.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrams SA, Griffin IJ, Hawthorne K, Liang L, Gunn S, Darlington G, Ellis K. 2005b. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *British journal of Nutrition*.82:471–6.
- Alanna, J., Moshfegh, James, E., Friday, Joseph, P., Goldman and Jaspreet, K., Chug Ahuja. 1999. Presence of Inulin and Oligofructose in the Diets of Americans. *British journal of Nutrition*.129: 1407S–1411S
- Allen Jr, L. V., Popovich, N. G., dan Ansel, H. C. 2011. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Ninth Edition*. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins.
- Almatsier, S. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia. 132-150. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/21426/4/Chapter%20II.pdf>. Di unduh 8 Februari 2015.
- Almatsier, S. 2002. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Ariani, E. 1997. *Penetapan Kalsium Dalam Plasma Darah dan Serum Darah dengan Teknik AAS*. Bogor: Balai Penelitian Ternak Ciawi.
- Besral. 2010. *Pengolahan dan Analisis Data-1 Menggunakan SPSS*. Depok : Departemen Biostatistika Fakultas Kesehatan Masyarakat UI, 23-30, 58-64.
- Brody, T. The Gale Group Inc., Gale, Detroit. 2002. *Hypocalcemia*. <http://www.healthline.com/galecontent/hypocalcemia>. (14 Februari 2015).
- Broto R. 2004. *Manifestasi Klinis dan Penatalaksanaan Osteoporosis*. DEXA Media No. 2 Vol 17 : 47 – 57.
- Candiasa, I.M. 2003. *Statistik Multivariat Disertai Aplikasi dengan SPSS*, Singaraja: Unit Penerbitan IKIP Negeri Singaraja.
- Cashman, K.D. 2002. Calcium Intake, Calcium Bioavailability And Bone Health. *British journal of Nutrition*.87(2): 169-177.

- Coxam, V. 2005. Inulin-type fructans and bone health: state of the art and perspectives in the management of osteoporosis. *British Journal of Nutrition*.**93** (1): S111–S123.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *1 dari 3 wanita dan 1 dari 3 pria memiliki kecenderungan menderita osteoporosis*. <http://www.depkes.go.id>. diakses 20 November 2014.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. (Edisi IV). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djunaedi, H. 2000. *Kalsium*.Majalah Kedokteran Indonesia.565-569.
- Gandjar, I.G. dan Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Gibson, R.S. 2005. *Principle of Nutritional Assesment Second Edition*.New york : Oxford University Press.
- Griffin, I.J., Davila, P.M. dan Abrams, S.A. 2002. Non-Digestible Oligosaccharides And Calcium Absorption In Girls With Adequate Calcium Intakes. *British journal of Nutrition*.**87**(2): S187-S191.
- Guthrie A, Helen dan Picciano, F.M. 1995. *Human Nutrition*.USA : Mosby- Year Book. Inc.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hariono, M., Akbar, M.F., Sularsih, I., Najihah, L., Purwadi, S. dan Nugrahani, A.W. 2009.Extraction, identification and acetylation of inulin from Dahlia tuber (*dahlia pinata cav.*).*The 9th National Symposium on Polymeric Materials 2009 (NSPM 2009)*.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Pharmaceutical Science and Research*, 1 (3).
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok : Departement Farmasi FMIPA UI.

- Havenaar, R. 2000. Scientific Evidence For Beneficial Effects Of Inulin DP9 On The Intestinal Flora Of Humans. Zeist, The Netherlands: *TNO Nutrition and Food Research*. Report no. V2537.
- Illich J.Z., Jane, E. dan Kerstetter. 2000. Nutrition in Bone Health Revisited a Story Beyond Calcium. *Journal of the Am Cli of Nutr* 2000;19(6): 715-737.
- Kaur, N. dan Gupta A.K. 2002. Applications of Inulin and Oligofructose in Health and Nutrition. *Journal of Bioscience*. 27: 703–714.
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta. Penerbit Universitas Indonesia.
- Lee, C. 1996. *Fluids and Electrolytes A Practical Approach*, 4th ed. FA Davis Company. Philadelphia: 1996, pp: 98-103.
- Meyer, D. dan Tungland, B. 2001. *Inulin- A Pure Soluble Dietary Fiber*. [Serial Online]. <http://www.nutraceuticalsnow.com/issues/back/2001winter/inulin.php> [20 November 2014].
- Mitra, S. 2003. *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, vol.162. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc. 6, 13-16, 230-233.
- Nielsen, S.S. 2010. *Food Analysis, ed. 4*. New York: Springer, 107.
- NIOSH *Manual of Analytical Methods*. 1994. Method 8005, Issue 2. Dalam *NIOSH Manual of Analytical Method (NMAM)* edisi4, 1-6.8 Februari 2015. <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/8005/pdf>.
- Rao, AV. 1999. Dose-response effects of inulin and oligofructose on intestinal bifidogenesis effects. *British journal of Nutrition*. 129:1442S-5S.
- Ridwan. 2008. *Dasar-Dasar Statistika*. Bandung : Alfabeta.
- Roberfroid, M.B. 2005. *Inulin-type furctants; Functional Food Ingredients*. Boca Raton (US): CRC Pr.
- Rowe, R.C., Paul, J.S. dan Marian, E.Q. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Sixth Edition. USA: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.

- Sandiya, A.A. 2014. *Determinasi Inulin Dalam Sampel Ekstrakumbi Dahlia (Dahlia Spp L.) Yang Ditanam Pada Media Tanah Dan Polybag Dengan Metode Kldensitometri*. Skripsi. Jember : Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Saryono, P., Sulistyati., Delita, Z. dan Atria, M. 1998. *Identifikasi Jamur Pendegradasi Inulin pada Rizosfr Umbi Dahlia (Dahlia variabilis)*. *Jurnal natur Indonesia*. 11 (1): 22-27.
- Sauberlich, H.E. 1999. *Laboaratory Tests for the Assessment of Nutritional Status*. 2nd ed. Washington: CRC Press.
- Setiyohadi, B. 2007. Struktur dan metabolisme tulang. Dalam sudoyo, A. W., Setiyohadi, B., Alwi, I., S.K., Marcellus; Setiati, S. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 1098-1101.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia*. Edisi 2. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. p.677-688.
- Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaan, BAPPENAS. 2000. *Tentang Budidaya Pertanian (Dahlia Spp L)*. Jakarta : Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Soraya, I.A. 2012. *Efek Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara (Hedyotis corymbosa(L.) Lamk.) Terhadap Kadar Kalsium Serum Darah Tikus Jantan RA (Rheumatoid Arthritis)*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Sukandar, E.Y., Andrajati, R., Sigit, J.I., Adnyana, I.K., Setiadi, A.A.P. dan Kusnandar. 2008. *Isofarmakoterapi*. Jakarta (ID): PT. ISFI Penerbitan. Hlm 723.
- Vandecasteele C. dan Block, C.B. 1993. *Modern Methods for Trace Element Determination*. Inggris: John Wiley and Sons Ltd. 237.
- Van Loo, J., Coussement, P., De Leenheer, L., Hoebregs, H. dan Smits, G. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35: 525-552.
- Voigh, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi Kelima*. Yogyakarta: UGM Press.

- Welz, B. dan Michael, S. 2005. *Atomic Absorption Spectrometry*. Third Completely Revised Edition. New York: WILEY-VCH. 148.
- WHO. *Assessment of fracture risk and its application to Screening for postmenopausal osteoporosis*. Geneva: World Health organization; 1994. Technical Report Series 843.
- Widmann, F.K. 1989. *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi ke-9, Jakarta: EGC. 17-19.
- Widowati, S. 2005. *Ekstraksi, Karakterisasi, dan Kajian Potensi Prebiotik Inulin Umbi Dahlia (Dahlia pinnata L.)*. Bogor: Seminar Rutin Puslitbang Tanaman Pangan.
- Winarti, S., Harmayani, E. dan Nurismanto, R. 2011. *Extraction of Inulin from Various Yam Tubers (Dioscorea spp.)*. Bangkok: The 12th ASEAN FOOD CONFERENCE BITEC.
- Zaharanti, A. 2005. *Ekstraksi, karakterisasi, serta kajian potensi prebiotik inulin dari umbi dahlia (Dahlia pinnata)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

LAMPIRAN

Lampiran A. Jumlah umbi dahlia ungu (*Dahlia spp.L*) yang digunakan setiap proses ekstraksi adalah 50 gram

No	Bobot umbi (gram)	Bobotrendemen (gram)	Rendemen (%)
1	50	6,2	12,4
2	50	5,95	11,9
3	50	6,47	12,94
	Rata-rata		12,413
	SD		0,52
	CV		4,19

Perhitungan rendemen ekstrak umbi dahlia

Misal:

Sampel umbi yang telah dibersihkan 50 gram.

Rendemen = $\text{Bobot akhir} / \text{Bobot awal} \times 100\%$

$$= 6,2 \text{ g} / 50 \text{ g} \times 100\%$$

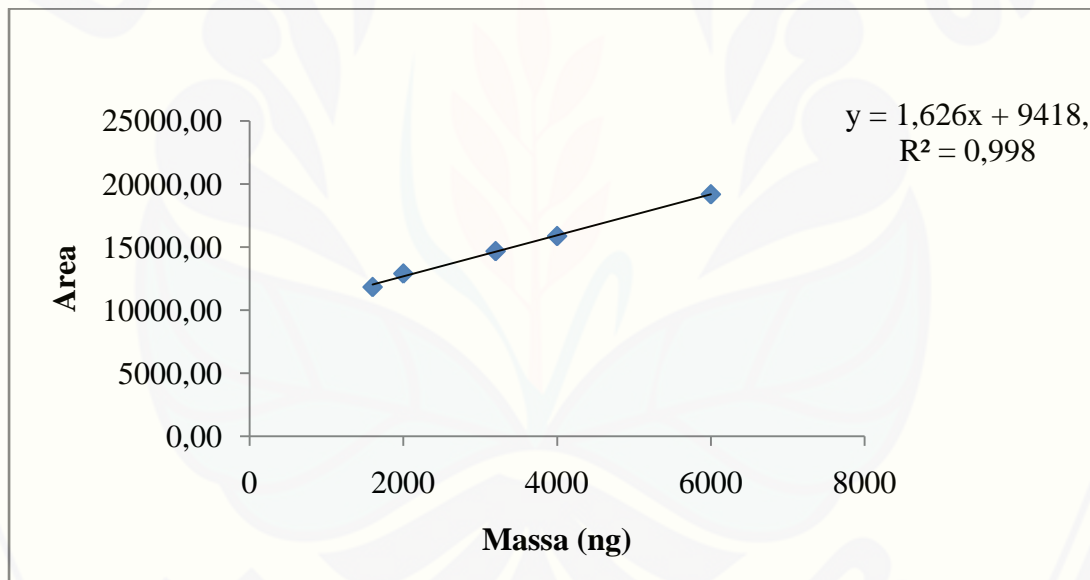
$$= 12,4\%$$

Lampiran B. Penetapan kadar inulin dengan metode KLT Densitometri

B.1 Data area standar inulin

Konsentrasi (ppm)	Massa (ng) (Konsentrasi x 2)	Area
800	1600	11820,84
1000	2000	12888,15
1600	3200	14664,79
2000	4000	15859,3
3000	6000	19170,4

B.2 Kurva baku standar inulin



B.3 Hasil Deteksi Standar Inulin

Track	Vial	Rf	Amount fraction (µg)	Height	Area	Remark
1	1	0,790	1,60	598,590	11820,840	Std Level 1
2	1	0,790	2,00	623,590	12888,150	Std Level 2
3	1	0,800	3,20	620,600	14664,790	Std Level 3
4	1	0,800	4,00	655,850	15859,300	Std Level 4
5	1	0,800	6,00	625,120	19170,400	Std Level 5

B.4 Hasil Deteksi Sampel Ekstrak Umbi Dahlia Ungu (*Dahlia spp.L*)

Track	Vial	Rf	Heigh	Area	Remark	kadar (%) b/b
1	1	0,8	532,91	15086,24	Sampel replikasi 1	96,833
2	1	0,8	519,53	14312,51	Sampel replikasi 2	83,615
3	1	0,8	517,99	14252,61	Sampel replikasi 3	82,592
Rata-rata						87,68
SD						7,94
CV						9,059

B.5 Perhitungan Penetapan Kadar Ekstrak Umbi Dahlia Ungu (*Dahlia spp.L*)

1. Replikasi 1

$$Y = 9418 + 1,626x$$

$$15086,24 = 9418 + 1,626x$$

$$x = 3486 \mu\text{g}$$

$$\text{Konsentrasi analit} = \frac{3486 \mu\text{g}}{2 \mu\text{L}} = 1743 \mu\text{g/mL} = 1743 \mu\text{g/mL}$$

Jumlah analit dalam larutan sampel 25 mL =

$$1743 \mu\text{g/mL} \times 25 \text{ mL} = 43575 \mu\text{g} = 43,57 \text{ mg}$$

Kadar inulin dalam sampel yang ditimbang =

$$\frac{43,57 \text{ mg}}{45 \text{ mg}} \times 100\% = 96,833\%$$

2. Replikasi 2

$$Y = 9418 + 1,626x$$

$$14312,51 = 9418 + 1,626x$$

$$x = 3010 \mu\text{g}$$

$$\text{Konsentrasi analit} = \frac{3010 \mu\text{g}}{2 \mu\text{L}} = 1505 \mu\text{g}/\mu\text{L} = 1505 \mu\text{g}/\text{mL}$$

Jumlah analit dalam larutan sampel 25 mL =

$$1505 \mu\text{g}/\text{mL} \times 2,5 \text{ mL} = 3762,5 \mu\text{g} = 3,7625 \text{ mg}$$

Kadar inulin dalam sampel yang ditimbang =

$$\frac{3,7625 \text{ mg}}{45 \text{ mg}} \times 100\% = 8,3611\%$$

3. Replikasi 3

$$Y = 9418 + 1,626x$$

$$14252,61 = 9418 + 1,626x$$

$$x = 2973 \mu\text{g}$$

$$\text{Konsentrasi analit} = \frac{2973 \mu\text{g}}{2 \mu\text{L}} = 1486,5 \mu\text{g}/\mu\text{L} = 1486,5 \mu\text{g}/\text{mL}$$

Jumlah analit dalam larutan sampel 25 mL =

$$1486,5 \mu\text{g}/\text{mL} \times 25 \text{ mL} = 37162,5 \mu\text{g} = 37,1625 \text{ mg}$$

Kadar inulin dalam sampel yang ditimbang =

$$\frac{37,1625 \text{ mg}}{45 \text{ mg}} \times 100\% = 82,5833\%$$

Lampiran C. Perhitungan dosis**C.1 Perhitungan dosis**

Faktor konversi dosis untuk manusia BB 70kg pada tikus dengan BB 200 gram adalah 0,018 (Paget and Barnes,1964)

Kandungan inulin dalam ekstrak air umbi dahlia dengan KLT Densitometri adalah 87,2443%

- Perlakuan 1 : tanpa inulin
- Perlakuan 2 : dosis 1 gram inulin pada manusia
 - Untuk dosis pada tikus : $0,018 \times 1 \text{ gram/hari} \times 1 \text{ hari} \times 4 \text{ ekor tikus} = 0,072 \text{ gram}$
 - Ekstrak umbi dahlia yang dibutuhkan :
 $0,072 \text{ gram inulin} / 87,2443\% \text{ inulin} \times 100 \text{ gram ekstrak umbi dahlia} = 0,08 \text{ gram ekstrak umbi dahlia}$
- Perlakuan 3 : dosis 2 gram inulin pada manusia
 - Untuk dosis pada tikus : $0,018 \times 2 \text{ gram/hari} \times 1 \text{ hari} \times 4 \text{ ekor tikus} = 0,144 \text{ gram}$
 - Ekstrak umbi dahlia yang dibutuhkan :
 $0,144 \text{ gram inulin} / 87,2443\% \text{ inulin} \times 100 \text{ gram ekstrak umbi dahlia} = 0,16 \text{ gram ekstrak umbi dahlia}$
- Perlakuan 4: dosis 3 gram inulin pada manusia
 - Untuk dosis pada tikus : $0,018 \times 3 \text{ gram/hari} \times 1 \text{ hari} \times 4 \text{ ekor tikus} = 0,216 \text{ gram}$
 - Ekstrak umbi dahlia yang dibutuhkan :
 $0,216 \text{ gram inulin} / 87,2443\% \text{ inulin} \times 100 \text{ gram ekstrak umbi dahlia} = 0,24 \text{ gram ekstrak umbi dahlia}$

Total ekstrak umbi dahlia yang dibutuhkan : $0,08 \text{ gram} + 0,16 \text{ gram} + 0,24 \text{ gram} = 0,48 \text{ gram}$

C.2 Perhitungan dosis perlakuan

➤ Perlakuan 1 : tanpa inulin

• Perlakuan 2 : dosis 1 gram inulin pada manusia

- Dosis pada tikus : $1 \text{ gram inulin/hari} \times 0,018 = 0,018 \text{ gram inulin/ } 200 \text{ gram BB tikus}$

$$(0,018 \text{ gram}/200\text{gram BB} = 0,09 \text{ gram/kg BB})$$

- 1 gram inulin pada manusia dengan BB 70 kg setara dengan 0,018 gram inulin pada tikus dengan BB 200 gram
- Untuk 1 gram/BB disonde 0,01 ml sedangkan untuk 200 gram yang disonde = $200 \text{ gram} \times 0,01\text{ml} = 2 \text{ ml}$
- Volume sediaan yang dibuat :

$$\sum \text{jumlah hewan} \times \text{BB rata- rata hewan} \times \text{volume untuk 1 gram/BB} \times \text{lama perlakuan} \times \sum \text{perlakuan tiap hari}$$

$$4 \text{ ekor} \times 200 \text{ gram} \times 0,01\text{ml} \times 1 \text{ hari} \times 1 \text{ kali/hari} = 8 \text{ ml} \infty \text{ dibuat } 10 \text{ ml}$$

- Untuk 2 ml larutan inulin/hari = 0,021 gram ekstrak dahlia sedangkan untuk 10 ml larutan inulin : $10 \text{ ml}/2\text{ml} \times 0,021 \text{ gram} = 0,105 \text{ gram}$ ekstrak umbi dahlia

• Perlakuan 3 : dosis 2 gram inulin pada manusia

- Dosis pada tikus : $2 \text{ gram inulin/hari} \times 0,018 = 0,036 \text{ gram inulin/ } 200 \text{ gram BB tikus}$

$$(0,036 \text{ gram}/200\text{gram BB} = 0,18 \text{ gram/kg BB})$$

- 2 gram inulin pada manusia dengan BB 70 kg setara dengan 0,036 gram inulin pada tikus dengan BB 200 gram
- Untuk 1 gram/BB disonde 0,01 ml sedangkan untuk 200 gram yang disonde = $200 \text{ gram} \times 0,01\text{ml} = 2 \text{ ml}$
- Volume sediaan yang dibuat :

\sum jumlah hewan x BB rata- rata hewan x volume untuk 1 gram/BB x lama perlakuan x \sum perlakuan tiap hari

4ekor x 200 gram x 0,01 ml x 1 hari x 1 kali/hari = 8 ml ∞ dibuat 10 ml

- Untuk 2 ml larutan inulin/hari = 0,04 gram ekstrak dahlia sedangkan untuk 10 ml larutan inulin : 10 ml/2ml x 0,04 gram = 0,206 gram ekstrak umbi dahlia
- Perlakuan 4 : dosis 3gram inulin pada manusia
 - Dosis pada tikus : 3 gram inulin/hari x 0,018 = 0,045 gram inulin/ 200 gram BB tikus
(0,045gram/200gram BB = 0,225 gram/kg BB)
 - 1 gram inulin pada manusia dengan BB 70 kg setara dengan 0,018 gram inulin pada tikus dengan BB 200 gram
 - Untuk 1 gram/BB disonde 0,01 ml sedangkan untuk 200 gram yang disonde = 200 gram x 0,01ml = 2 ml
 - Volume sediaan yang dibuat :
 \sum jumlah hewan x BB rata- rata hewan x volume untuk 1 gram/BB x lama perlakuan x \sum perlakuan tiap hari
4 ekor x 200 gram x 0,01ml x 1 hari x 1 kali/hari = 8 ml ∞ dibuat 10 ml
 - Untuk 2 ml larutan inulin/hari = 0,06 gram ekstrak umbi dahlia sedangkan untuk 10 ml larutan inulin : 10 ml/2ml x 0,06 gram = 0,309 gram ekstrak umbi dahlia

C.3 Perhitungan dosis untuk inulin standart

- Dosis pada tikus : 1 gram inulin standart/hari x 0,018 = 0.018 gram inulin standart/ 200 gram BB tikus
(0.018 gram/200gram BB = 0,09 gram/kg BB)
- 1 gram inulin standart pada manusia dengan BB 70 kg setara dengan 0,018 gram inulin standart pada tikus dengan BB 200 gram
- Untuk 1 gram/BB disonde 0,01 ml sedangkan untuk 200 gram yang disonde = 200 gram x 0,01ml = 2 ml

- Volume sediaan yang dibuat :

Σ jumlah hewan x BB rata-rata hewan x volume untuk 1 gram/BB x lama perlakuan x Σ perlakuan tiap hari

$$4\text{ekor} \times 200 \text{ gram} \times 0,01 \text{ ml} \times 1 \text{ hari} \times 1 \text{ kali/hari} = 8 \text{ ml} \infty \text{ dibuat } 10 \text{ ml}$$

- Untuk 2 ml larutan inulin/hari = 0,018 gram ekstrak umbi dahlia sedangkan untuk 10 ml larutan inulin : $10 \text{ ml}/2\text{ml} \times 0,018 \text{ gram} = 0,09 \text{ gram}$ inulin standart

3.3 Perhitungan untuk dosis suplement

- Pada manusia kekurangan kalsium yaitu 2x sehari 1 tablet mengandung 500 mg kalsium laktat. Dalam penelitian ini kalsium laktat diberikan 1xsehari sehingga dosis yang digunakan 1g pada manusia.
- Untuk berat 1 tablet yaitu : 560,1 mg
- Dosis yang digunakan untuk tikus : $0,018 \times 1 \text{ gram/hari} \times 1\text{hari} \times 4 \text{ ekor} = 0,072\text{g} = 72 \text{ mg}$
- Kalsium laktat yang dibutuhkan : $72 \text{ mg}/560,1 \text{ mg} = 0,129 \text{ tab}$
- Dosis pada tikus : $1 \text{ gram kalsium laktat/hari} \times 0,018 = 0.018 \text{ gram kalsium laktat} / 200 \text{ gram BB tikus}$

($0.018 \text{ gram}/200\text{gram BB} = 0,09 \text{ gram/kg BB}$)

- 1 gram inulin standart pada manusia dengan BB 70 kg setara dengan 0,018 gram inulin standart pada tikus dengan BB 200 gram
- Untuk 1 gram/BB disonde 0,01 ml sedangkan untuk 200 gram yang disonde = $200 \text{ gram} \times 0,01\text{ml} = 2 \text{ ml}$
- Volume sediaan yang dibuat :

Σ jumlah hewan x BB rata-rata hewan x volume untuk 1 gram/BB x lama perlakuan x Σ perlakuan tiap hari

$$4\text{ekor} \times 200 \text{ gram} \times 0,01 \text{ ml} \times 1 \text{ hari} \times 1 \text{ kali/hari} = 8 \text{ ml} \infty \text{ dibuat } 10 \text{ ml}$$

- Untuk 2 ml larutan inulin/hari = 0,032tablet kalsium laktat sedangkan untuk 10 ml larutan inulin : $10 \text{ ml}/2\text{ml} \times 0,032 \text{ tablet} = 0,16\text{tablet}$ kalsium laktat



Lampiran D. Penetapan kadar kalsium dalam serum darah tikus jantan

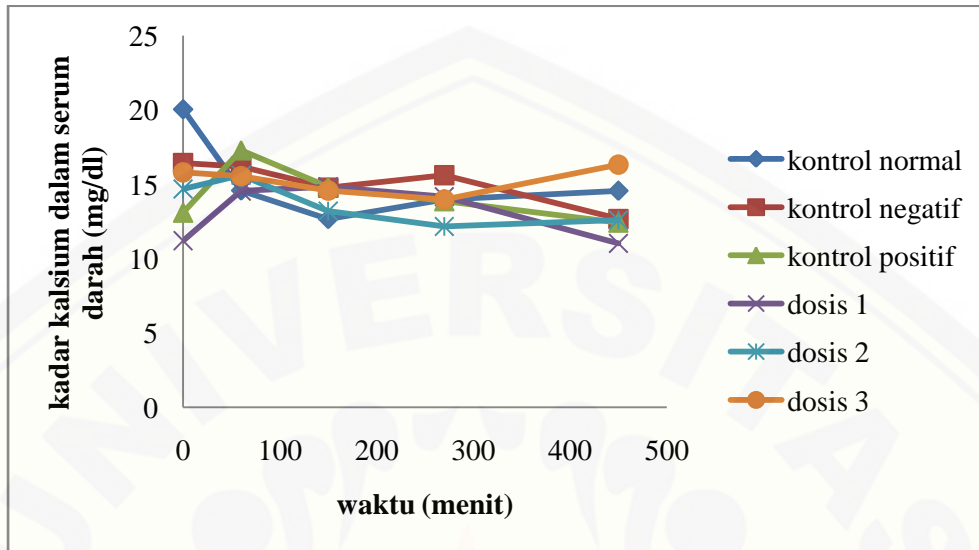
D.1 Absorbansi hasil pengukuran kadar kalsium serum darah dengan AAS pada panjang gelombang 422,7 nm (A)

Perlakuan	Absorbansi hasil pengukuran kadar kalsium darah				
	t-0	t-60	t-150	t-270	t-450
Kontrol Normal	0,3093	0,2397	0,2011	0,2139	0,2259
Kontrol Negatif	0,2218	0,2403	0,2612	0,2585	0,2297
Kontrol Positif	0,1975	0,3273	0,2533	0,2425	0,2285
Dosis 0,09g/kgBB	0,1977	0,2632	0,2646	0,2485	0,2131
Dosis 0,18g/kgBB	0,2136	0,2457	0,2323	0,2211	0,2148
Dosis 0,27g/kgBB	0,2141	0,2245	0,2483	0,2359	0,2784

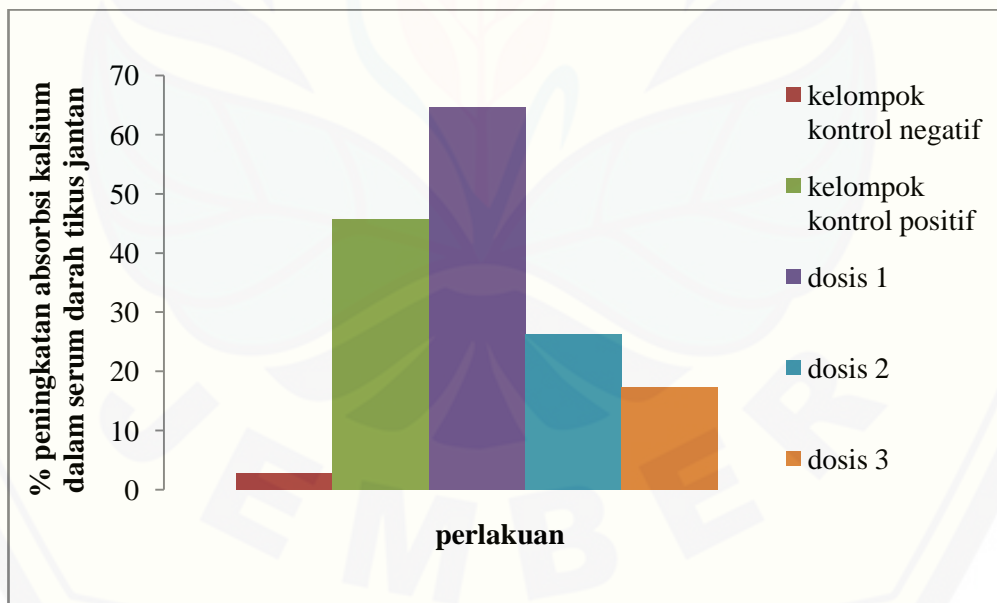
D.2 Kadar rata-rata kalsium serum darah tikus jantan dengan menggunakan AAS

Perlakuan	Kadar kalsium serum darah tikus mg/dl \pm SD				
	t-0(menit)	t-60(menit)	t-150(menit)	t-270(menit)	t-450(menit)
Kontrol Normal	20,05 \pm 5,41	14,59 \pm 7,80	12,67 \pm 7,41	13,99 \pm 7,54	14,57 \pm 7,37
Kontrol Negatif	16,43 \pm 6,10	16,20 \pm 5,88	14,78 \pm 6,41	15,26 \pm 7,58	12,68 \pm 8,41
Kontrol Positif	12,61 \pm 5,20	17,30 \pm 3,66	14,84 \pm 7,65	13,88 \pm 6,89	12,44 \pm 9,05
Dosis 0,09g/kgBB	11,22 \pm 6,39	17,06 \pm 6,49	14,85 \pm 6,67	14,18 \pm 8,00	11,04 \pm 9,33
Dosis 0,18g/kgBB	14,69 \pm 5,13	17,86 \pm 4,09	13,21 \pm 6,75	12,18 \pm 8,25	12,61 \pm 9,82
Dosis 0,27g/kgBB	15,31 \pm 5,19	17,56 \pm 6,03	14,58 \pm 7,95	13,98 \pm 8,02	16,32 \pm 0,64

D. 3. Grafik Hubungan antara Waktu dengan Kadar Rata-Rata Kalsium Serum Darah Tikus Jantan Putih



D. 4. Grafik Perbandingan Rata-Rata Persentase peningkatan kadar kalsium dalam serum darah tikus jantan



Lampiran E. Cara memperoleh kadar kalsium serum darah

Preparasi sampel yaitu serum darah dipipet 1 ml kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan asam nitrat pekat 1 ml, lalu dikocok. Tambahkan 1ml asam perklorat pekat, lalu dikocok. Kemudian dipanaskan sampel hingga terlihat bening. Encerkan larutan sampel dengan pelarut (aquabidest : asam nitrat pekat) kemudian saring dengan kertas saring *Whatman*. Filtrat dipindahkan kedalam labu ukur 25 ml, tambahkan sampai tanda batas labu dengan pelarut. Contoh perhitungan kadar kalsium pada kelompok dosis 1 tikus ke-1 pada menit ke-0:

Konsentrasi rata-rata yang diperoleh dari alat AAS yaitu : 3,0207 $\mu\text{g/ml}$

Kadar kalsium serum darah = 3,0207 $\mu\text{g/ml}$ x 25 ml/1ml

$$= 75,5175 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,0755 \text{ mg/ml}$$

$$= 7,55 \text{ mg/dl}$$

Lampiran F. Perhitungan persentase peningkatan absorpsi kalsium serum darah tikus menit ke-0 dengan menit ke-60

Persentase Peningkatan absorpsi kalsium serum darah = $(\text{Kadar menit ke-60}) - (\text{kadar menit ke-0}) / \text{kadar menit ke-0} \times 100\%$

Misal pada kelompok kontrol positif replikasi 1 = $19,47 \text{ mg/dl} - 10,92 \text{ mg/dl} / 10,92 \text{ mg/dl} \times 100\%$

$$= 78,30\%$$

Lampiran G. Uji statistik peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus ke-6 kelompok

G.1 Uji *Kruskal Wallis* terhadap peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus ke-6 kelompok

- a. Tujuan : untuk menentukan apakah rata-rata dua atau lebih kelompok berbeda nyata
- b. Hipotesis:
 - Ho = prosentase peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus berbeda bermakna.
 - Ha = peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus yang tidak berbeda bermakna.
- c. Kriteria uji :
 - Asymp. Sig. >0,05 berarti Ho ditolak
 - Asymp. Sig. <0,05 berarti Ho diterima
- d. Hasil

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank
persentase_peningkatan	kontrol normal	4	3.00
	kontrol negatif	4	9.50
	kontrol positif	4	16.75
	dosis 1	4	20.75
	dosis 2	4	13.75
	dosis 3	4	11.25
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	persentase_peningkatan
Chi-Square	15.080
Df	5
Asymp. Sig.	.010

- e. Kesimpulan : H_0 diterima, berarti terdapat perbedaan yang bermakna untuk data peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus semua kelompok.

G.2 Uji *Mann Whitney* terhadap peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus ke-6 kelompok

- Tujuan : untuk mengetahui perbedaan spesifik antara pasangan perlakuan dalam penelitian.
- Hipotesis:
 - H_0 = prosentase peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus yang berbeda bermakna.
 - H_a = peningkatan absorpsi kalsium dalam serum darah tikus yang tidak berbeda bermakna.
- Kriteria uji :
 - Sig. (2-tailed) $> 0,05$ berarti H_0 ditolak
 - Sig. (2-tailed) $< 0,05$ berarti H_0 diterima
- Hasil

perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
-----------	---	-----------	--------------

persentase_peningkatan kontrol normal	4	3.00	12.00
kontrol negatif	4	6.00	24.00
Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan kontrol normal	4	2.50	10.00
kontrol positif	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan kontrol normal	4	2.50	10.00
dosis 1	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a
--------------------------------	-------------------

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan kontrol normal	4	2.50	10.00
dosis 2	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
-----------	---	-----------	--------------

persentase_peningkatan	kontrol normal	4	2.50	10.00
	dosis 3	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	kontrol negative	4	3.25	13.00

	kontrol positif	4	5.75	23.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.149
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	kontrol negative	4	2.50	10.00
	dosis 1	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	kontrol negatif	4	3.50	14.00
	dosis 2	4	5.50	22.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155

Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.289
Asymp. Sig. (2-tailed)	.773
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 ^a

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	kontrol positif	4	3.75	15.00
	dosis 1	4	5.25	21.00
	Total	8		

Ranks

perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan kontrol negatif	4	4.25	17.00
dosis 3	4	4.75	19.00
Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan kontrol positif	4	3.75	15.00
dosis 1	4	5.25	21.00
Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan

Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.866
Asymp. Sig. (2-tailed)	.386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^a

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	kontrol positif	4	5.25	21.00
	dosis 2	4	3.75	15.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.866
Asymp. Sig. (2-tailed)	.386

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^a
--------------------------------	-------------------

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	kontrol positif	4	5.50	22.00
	dosis 3	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	dosis 1	4	6.00	24.00
	dosis 2	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	dosis 1	4	6.50	26.00

	dosis 3	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persentase_peningkatan	dosis 2	4	5.00	20.00
	dosis 3	4	4.00	16.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	persentase_peningkatan
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

- e. Kesimpulan : Ho diterima, karena terdapat beberapa pasangan kelompok yang memiliki nilai Sig. <0,05.

Lampiran H. Uji statistik dengan uji t-test yang digunakan yaitu paired sample t-test berpasangan antara menit ke-0 dan menit ke-60 pada masing-masing kelompok.

- Tujuan : untuk membandingkan mean dari suatu sampel yang berpasangan (paired).
- Hipotesis:
 - Ho = absorpsi kalsium dalam serum darah tikus antara menit ke-0 dan menit ke-60 pada masing-masing kelompok yang terdistribusi normal.
 - Ha = absorpsi kalsium dalam serum darah tikus antara menit ke-0 dan menit ke-60 pada masing-masing kelompok yang tidak terdistribusi normal.
- Kriteria uji :
 - Sig. >0,05 berarti Ho ditolak
 - Sig. <0,05 berarti Ho diterima
- Hasil

H.1 Kelompok kontrol normal

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar_t0_normal	.263	4	.	.871	4	.302
kadar_t60_normal	.266	4	.	.858	4	.252

T-Test

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kadar_t0_normal	20.0550	4	5.40781	2.70390
kadar_t60_normal	14.5875	4	7.80433	3.90217

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kadar_t0_normal & kadar_t60_normal	4	.514	.486

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar_t0_normal - kadar_t60_normal	5.46750	6.83729	3.41864	-5.41215	16.34715	1.599	3	.208

H.2. kelompok kontrol negatif

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar_t0_negatif	.291	4	.	.786	4	.079

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar_t0_negatif - trans_t60_negatif	1.24461E1	5.65401	2.82700	3.44932	21.44289	4.403	3	.022

H.3. kelompok kontrol positif

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar_t0_positif	.377	4	.	.755	4	.043
kadar_t60_positif	.223	4	.	.952	4	.727

T-Test

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 trans_t0_positif	3.5010	4	.68147	.34073
kadar_t60_positif	17.3000	4	3.66123	1.83061

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 trans_t0_positif & kadar_t60_positif	4	.753	.247

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 trans_t0_positif - kadar_t60_positif	-1.37990E1	3.18014	1.59007	18.85935	8.73874	-8.678	3	.003

H.4. kelompok dosis 1

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar_t0_dosis1	.261	4	.	.879	4	.332
kadar_t60_dosis1	.331	4	.	.885	4	.360

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar_t0_dosis1	.261	4	.	.879	4	.332
kadar_t60_dosis1	.331	4	.	.885	4	.360

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kadar_t0_dosis1	11.2225	4	6.38592	3.19296
kadar_t60_dosis1	17.0600	4	6.49243	3.24622

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kadar_t0_dosis1 & kadar_t60_dosis1	4	.964	.036

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar_t0_dosis1 - kadar_t60_dosis1	5.83750	1.72357	.86178	8.58008	3.09492	6.774	3	.007

H.5. kelompok dosis 2

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar_t0_dosis2	.167	4	.	.989	4	.952
kadar_t60_dosis2	.265	4	.	.926	4	.568

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kadar_t0_dosis2	14.6900	4	5.13461	2.56730
kadar_t60_dosis2	17.8625	4	4.09456	2.04728

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kadar_t0_dosis2 & kadar_t60_dosis2	4	.976	.024

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar_t0_dosis2 - kadar_t60_dosis2	-3.17250	1.44625	.72312	-5.47380	-.87120	-4.387	3	.022

H.6. kelompok dosis 3

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar_t0_dosis3	.211	4	.	.944	4	.682
kadar_t60_dosis3	.307	4	.	.911	4	.485

T-Test**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kadar_t0_dosis3	15.3075	4	5.19554	2.59777
kadar_t60_dosis3	17.5575	4	6.02585	3.01293

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kadar_t0_dosis3 & kadar_t60_dosis3	4	.981	.019

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kadar_t0_dosis3 - kadar_t60_dosis3	2.2500	1.36589	.68295	-4.42344	-.07656	-3.295	3	.046

- e. kesimpulan : Ho diterima pada kelompok negatif; kelompok positif; kelompok dosis 1; kelompok dosis 2; kelompok dosis 3. Namun pada kelompok kontrol normal Ho ditolak karena nilai sig. (2-tailed) >0,05.

Lampiran I. Dokumentasi Penelitian

I.1 Proses Ekstraksi



Ekstraksi



Water bath



Ekstrak cair



Sentrifuse



Ekstrak Kering

Serbuk ekstrak kering

I.2 Perlakuan Pada Hewan Coba



Pengelompokan hewan uji



Pengambil darah



Penambahan TCA 10%

Sentrifuse



Pengambilan serum
I.3 Analisis Metode AAS



Serum darah + asam nitrat + perklorat



Pemanasan



Pengenceran



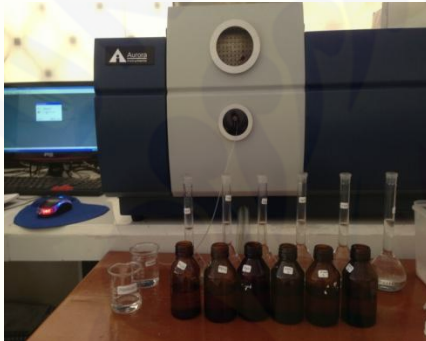
Penyaringan



Sampel serum darah



Standart



Analisis AAS



