

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : UNIVERSITAS ISLAM MALANG
MT. Haryono No 193 Malang
INDONESIA

Untuk Inovasi dengan Judul : PROSES PEMBUATAN SEDIAAN ANTIHIPERTENSI DARI
DAUN BENALU TEH DAN PRODUK YANG DIHASILKANNYA

Inventor : Dr. Nour Athiroh Abdoes Sjakoer, S.Si., M.Kes.

Tanggal Penerimaan : 03 Desember 2015

Nomor Paten : IDP000055847

Tanggal Pemberian : 14 Januari 2019

Perlindungan Paten untuk inovasi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari inovasi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000055847 B

(18) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 14 Januari 2019

(51) Klasifikasi IPC: A 61K 36/734(2006.01) A 61P 9/12(2006.01)

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
MT. Haryono No 193 Malang
INDONESIA

(21) No. Permohonan Paten : P00201508117

(22) Tanggal Penerimaan: 03 Desember 2015

(77) Nama Inventor
Dr. Nur Aniroh Adoes Sjafoer, S.Si, M.Kes., ID

(30) Data Prioritas
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

(43) Tanggal Pengumuman: 21 Oktober 2015

Pemeriksa Paten : Drs. Said Nark, M.Si

(55) Dokumen Pembeding:
EP1591126A2 (seluruh dokumen)
US201014669A1 (seluruh dokumen)
WO2010013144 A2 (seluruh dokumen)
US6379717 B1 (seluruh dokumen)

Jumlah Klaim : 2

(54) Judul Invensi : PROSES PEMBUATAN SEDIAAN ANTIHIPERTENSI DARI DAUN BENAU, TEH, DAN PRODUK YANG DIHASILKANNYA

(57) Abstrak :

Invensi berkaitan tentang ekstrak daun benau, teh. Guna tanaman benau teh bersifat perasi, semi obiat, dan berparasit pada tanaman teh, serta hidup di daerah tropis. Simbolis hasil ekstrak benau teh diujikan secara *in vivo* pada arteri ekor tikus terpisah (*sciotald organ*) dengan atau tanpa endotel pembuluh darah arteri. Dilanjutkan uji *in vivo* terhadap tikus hipertensi induksi DOCA-garam. Kemudian di lakukan uji toksisitas akut pada mencit dan uji toksisitas sub kronik 28 hari pada tikus. Berdasarkan rangkaian penelitian membuktikan bahwa invensi ekstrak daun benau teh sebagai sediaan antihipertensi melalui partakan pada stress oksidatif dan defungsi endotel.

Deskripsi**PROSES PEMBUATAN SEDIAAN ANTIHIPERTENSI DARI DAUN BENALU TEH
DAN PRODUK YANG DIHASILKANNYA**

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berkaitan dengan proses pembuatan sediaan antihipertensi dari daun benalu teh dan produk yang
10 dihasilkannya. Sediaan antihipertensi ini telah diuji secara *in vitro*, *in vivo*, dan toksisitas.

Latar Belakang Invensi

15 *Saurrula atropurpurea* merupakan benalu yang tumbuh pada batang teh. Benalu ini memiliki potensi sebagai herbal, terutama untuk penyakit kanker. Namun demikian pada penyakit lain misalnya untuk menurunkan tekanan darah tinggi, belum banyak diketahui. Berdasarkan penelusuran paten, penelitian ekstrak
20 kasar daun benalu teh sebagai antihipertensi belum pernah dilaporkan hak paten oleh siapapun sampai penelitian ini diajukan permohonan patennya. Hasil penelusuran yang pernah ada tentang *Saurrula* telah dideklarasikan oleh inventor Kawamura dan Panudji (2005) di European Patent Application, nomor paten EP 1 59
25 1 126 A2. Data terpublikasi pada tanggal 2-11-2005.

EP 1 59 1 126 A2, menjelaskan tentang komposisi obat simplisia atau ekstrak tanaman parasit famili Loranthaceae berkhasiat sebagai pengobatan pada kanker, pereda nyeri, sebagai diuretik, dan memperkuat imunitas. Genus pada famili Loranthaceae
30 yaitu *Saurrula*, *Sandrophthoe*, *Marsipolan*, *Leperthyodes*, *Barringtonia* merupakan tanaman daerah tropis.

Hasil penelusuran ini menjelaskan bahwa famili Loranthaceae berpotensi sebagai antikanker. Pada umumnya benalu berpotensi sebagai anti kanker seperti yang telah dideklarasikan juga oleh

JP H07-2685A bahwa ekstrak *Viscum album* (suatu benalu dari famili *Viscaceae*) mengandung lectin meningkatkan daya imunitas.

JP 2001-502305A membuktikan bahwa ekstrak *Viscum album* sebagai aktivator imunitas, dan JP H11-503453A membuktikan bahwa ekstrak *Viscum album* menurunkan dan bahkan dapat menghilangkan penyakit AIDS dan kanker. Hasil penelusuran tersebut, umumnya benalu dan benalu teh berpotensi sebagai antikanker, belum diperoleh data bahwa benalu teh berpotensi sebagai antihipertensi.

Berdasarkan hasil penelusuran pada Nomor Publikasi EP 1 59 1 126 A2, salah satu khasiat *Loranthaceae* yang mirip dengan inversi yang diajukan yaitu sebagai diuretik (salah satu cara menurunkan tekanan darah), namun tidak dijelaskan secara kongkret bahan yang memperkuat hasil temuan sebagai diuretik. Kelemahan yang didapat pada permohonan paten yang telah dipublikasi dengan nomor EP 1 59 1 126 A2 adalah bahwa spesies tanaman benalu tehnya kurang/tidak spesifik, hanya menunjukkan genus *Scurrula* saja. Pada invensi ini yang diungkapkan lebih umum yaitu pada famili *Loranthaceae* yang dapat terdiri dari beberapa genus.

Publikasi paten EP 1 59 1 126 A2 menjelaskan tentang cara membuat ekstraknya, yaitu 25 gram daun kering, batang, dan bunga dimasukkan ke dalam 2 liter air, kemudian direbus sampai airnya menjadi 1,5 liter. Air rebusan yang dihasilkan dapat digunakan untuk antikanker. Kelemahan yang mungkin didapat, invensi ini menggunakan bunga yang dicampurkan dengan daun kering dan batang. Bunga berbungsi sebagai alat reproduksi pada tanaman. Karena itu dengan diambilnya bunga sebagai bahan baku akan menghambat budidaya tanaman. Dengan demikian sebaiknya bunga tidak digunakan sebagai bahan baku untuk pengobatan sehingga kelangsungan budidaya *Loranthaceae* dapat terus dikembangkan.

Dengan demikian invensi yang diajukan ini merupakan eksplorasi dan lebih jauh hanya memanfaatkan daun dari benalu teh saja. Dari daun tersebut telah dapat diperoleh ekstrak cair yang dapat dimanfaatkan sebagai sediaan antihipertensi.

Uraian Ringkas Invensi

Invensi yang diusulkan ini pada prinsipnya adalah pemanfaatan tanaman tradisional yaitu ekstrak daun benalu teh sebagai sediaan antihipertensi. Ekstraksi dilakukan dengan tahapan melalui proses pencucian, pengeringan, ekstraksi, maserasi, dan evaporasi sehingga diperoleh ekstrak dalam bentuk cair. Selanjutnya, dalam penggunaannya sebagai sediaan antihipertensi, ekstrak cair tersebut akan diberikan label dan disimpan dalam lingkungan yang sesuai. Lebih lanjut ekstrak dimaksud dalam penelitian ini telah dilakukan pengujian atas potensi sebagai antihipertensi baik secara *in vitro*, *in vivo*, dan uji toksisitasnya. Hasil pada uji *in vitro* ekstrak daun benalu teh tersebut adalah dapat menurunkan kontraktilitas pembuluh darah arteri ekor tikus terpisah (*isolated organ*). Sedangkan hasil uji *in vivo* ekstrak daun benalu teh dapat menurunkan tekanan darah melalui perbaikan disfungsi endotel dan stress oksidatif pada hewan coba. Selanjutnya uji toksisitas ekstrak daun benalu teh menunjukkan bahwa tidak diperoleh adanya efek toksik pada hewan coba hipertensi melalui mekanisme Deoxycorticosterone (DOCA)-garam.

Selanjutnya invensi yang diungkapkan disini merupakan suatu proses untuk pembuatan sediaan antihipertensi dari daun benalu teh yang terdiri atas:

- 25 a. Mencuci daun benalu teh hingga bersih dari kotoran-kotoran yang larut dalam air pada air yang mengalir;
- b. Mengeringkan daun benalu teh yang telah bersih dari kotoran tersebut di atas pada pemanas dengan temperatur 40-60°C;
- 30 c. Menghaluskan daun benalu teh yang telah kering hingga menjadi bubuk halus;
- d. Mengekstraksi bubuk halus benalu teh dari poin c. melalui maserasi dengan metanol 70%;
- e. Memisahkan fraksi cairan yang mengandung metanol dan zat aktif dengan fraksi padatnya; dan
- 35

1. Mengevaporasi fraksi cairan yang dihasilkan dari poin e, sehingga diperoleh zat aktif antihipertensi.

Uraian Singkat Gambar

5

Gambar 1 merupakan diagram alir dari percobaan pada uji toksisitas akut pada mencit.

Gambar 2 merupakan diagram alir dari percobaan pada uji toksisitas tikus subkronis.

10

Gambar 3 merupakan grafik histogram dari kadar NDA pada kelompok perlakuan.

Gambar 4 merupakan grafik histogram dari aktivitas SOD pada kelompok perlakuan.

15

Gambar 5 merupakan grafik dari pengaruh benalu teh terhadap kadar SGPT pada tikus jantan subkronis.

Gambar 6 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar SGPT untuk tikus betina subkronis.

20

Gambar 7 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar SGOT untuk tikus jantan subkronis.

Gambar 8 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar SGOT untuk tikus betina subkronis.

25

Gambar 9 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar kreatinin untuk tikus jantan subkronis.

30

Gambar 10 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar kreatinin untuk tikus betina subkronis.

Gambar 11 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar urea untuk tikus jantan subkronis.

Gambar 12 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar urea untuk tikus betina subkronis.

5 Gambar 13 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar BUN untuk tikus jantan subkronis.

Gambar 14 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar BUN untuk tikus betina subkronis.

10 Gambar 15 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar trigliserida untuk tikus jantan subkronis.

15 Gambar 16 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar trigliserida untuk tikus betina subkronis.

Gambar 17 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar kolesterol untuk tikus jantan subkronis.

20 Gambar 18 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar kolesterol untuk tikus betina subkronis.

Gambar 19 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar total protein untuk tikus jantan subkronis.

25 Gambar 20 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar total protein untuk tikus betina subkronis.

30 Gambar 21 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar globulin untuk tikus jantan subkronis.

Gambar 22 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar globulin untuk tikus betina subkronis.

Gambar 23 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar albumin untuk tikus jantan subkronis.

5 Gambar 24 merupakan grafik yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap kadar albumin untuk tikus betina subkronis.

Gambar 25 merupakan gambar hepar (hati) yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh yang dibuat pada invensi ini terhadap tikus jantan kontrol.

10 Gambar 26 merupakan gambar histopatologi hepar (hati) yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh dosis 250 mg/KgBB yang dibuat pada invensi ini terhadap tikus.

Gambar 27 merupakan gambar histopatologi hepar (hati) yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh dosis 500 mg/KgBB yang dibuat pada invensi ini terhadap tikus.

15 Gambar 28 merupakan gambar histopatologi hepar (hati) yang merepresentasikan pengaruh ekstrak benalu teh dosis 1000 mg/KgBB yang dibuat pada invensi ini terhadap tikus.

20 Uraian Lengkap Invensi

Sebagaimana yang telah dikemukakan pada latar belakang invensi bahwa invensi yang diajukan meliputi pemanfaatan daun benalu teh. Determinasi tanaman benalu teh telah dilakukan di

25 Balai Materia Medica Batu. Hasil determinasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpertumbuh)
Super Divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
30 Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Santalales
Famili	: Loranthaceae
Genus	: <i>Scurrula</i>
35 Spesies	: <i>Scurrula atropurpurea</i> (Bl.) Dans

Tanaman ini merupakan kelompok tumbuhan yang bersifat hemiparasit atau setengah parasit. Sebagaimana benalu pada umumnya, tanaman ini dapat hidup dengan cara menumpang pada organisme lain (tanaman inang). Ciri-ciri dari tanaman ini antara lain batangnya menggantung, berkayu, silindris, berbintik-bintik, dan koklat. Sedangkan daunnya tunggal, berhadapan, lonjong, ujung agak meruncing, pangkal membulat, tepi rata, dan memiliki panjang ± 5-9 cm, serta lebar ± 2-4 cm. Disamping itu memiliki majemuk, bentuk payung, terdiri dari 4-6 bunga, di ketiak daun atau di ruas batang, tangkai pendek, kolopak bentuk kerucut terbalik, dengan panjang ± 3 mm, bergigi empat, benang sari panjang 2-3 mm, kepala putik tombol, tabung mahkota panjang 2 mm, dan tajuk mahkota melengkung ke dalam, serta berwarna merah. Memiliki buah kerucut terbalik, panjang ± 3 mm, dan berwarna coklat. Sedangkan bijinya bulat, kecil, dan berwarna hitam. Akarnya menempel pada pohon inang, berfungsi sebagai penhisap, dan warna kuning kecoklatan.

Nama simplisia: *Scurrula atropurpurea* (BL.) Dans herba/herba benalu teh. Kandungan pada daun dan batang: berbagai asam lemak yaitu (2)-9-Octadecenoic acid; (Z,Z)-Octadeca-9-12-dienoic acid; (Z,Z,Z)-Octadeca-9,12,15-trienoic acid; Octadeca-3,10-diynoic acid; (Z)-Octadec-12-ene-8,10-diynoic acid; dan Octadeca-8,10-triynoic acid. Juga mengandung xanthine (theobromine, caffeine); **flavonol glycosides (quercitrin, rutin)**; monoterpene glucoside (carlside B); lignin glycoside (avicularin); dan flavanes yang berupa (+)-catechin; (-) epicatechin; (-)-epicatechin-3-O-gallate; (-)-epigallocatechin-3-O-gallate; (+)-gallocatechin; dan (-)-epigallocatechin (Ananin, 2010; Onashi, et al., 2003; Syamsundayat dan Hutopes, 1991; dan Steenis, 2008).

Adanya senyawa quercitrin dan rutin dalam benalu teh di atas telah banyak diungkapkan sebagai antikanker. Namun demikian penelitian ini memfokuskan pada antihipertensi dalam bentuk ekstrak cair dari daun benalu teh. Potensi antihipertensi

dimaksud juga dimungkinkan salah satunya dipicu oleh adanya kedua senyawa tersebut di atas.

Proses pembuatan sediaan (ekstrak cair) daun benalu teh dalam inovasi ini dilakukan dengan menggunakan beberapa tahapan.

- 5 Dengan bahan awal daun benalu teh, kemudian dilakukan tahap pencucian. Pencucian ini harus dilakukan dengan air bersih dan mengalir. Dengan air bersih akan diharapkan mampu membersihkan debu maupun pengotor pengotor yang dapat dengan mudah terlarut dalam air. Sedangkan air mengalir akan dapat menghilangkan
- 10 otota-biota mikrobiologi maupun debu yang menempel pada daun benalu teh dimaksud.

- Daun yang telah dibersihkan tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan alat pemanas. Temperatur pengeringan diatur berkisar dari 40-60°C. Pada temperatur ini zat-zat aktif yang
- 15 tersimpan di dalamnya tidak akan menguap dan tidak akan berubah baik teroksidasi maupun tereduksi. Dengan demikian diharapkan zat aktif yang akan dihasilkan dalam ekstrak cair akan maksimal. Disamping itu pada kondisi daun yang telah kering akan memudahkan untuk proses penghalusan pada tahap berikutnya.

- 20 Selanjutnya dilakukan penumbukan daun yang telah kering hingga menjadi bubuk halus. Daun yang telah menjadi bubuk halus tersebut akan memperluas permukaannya sehingga zat-zat aktif yang terkandung didalamnya akan lebih mudah untuk diekstraksi. Kemudahan ini akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan zat
- 25 aktif yang optimal.

- Bubuk halus yang dihasilkan dilakukan perendaman dalam metanol 70%. Metanol merupakan salah satu pelarut yang akan melarutkan zat-zat organik yang bersifat polar. Perendaman dilakukan minimal satu malam penuh. Sebaiknya pada saat bubuk
- 30 halus dilarutkan dalam metanol 70% tersebut juga dilakukan pengadukan hingga homogen. Kemudian setelah homogen dididamkan semalam penuh hingga dihasilkan fraksi endapan dan fraksi cairan yang terpisah.

- Dalam perendaman dengan etanol tersebut akan terjadi
- 35 Isolasi senyawa metabolik sekunder dari bubuk daun benalu tek.
- W

Isolasi ini dapat terjadi oleh karena dinding sel dan membran sel bubuk benalu teh pecah akibat pengsedukan dan pelarutan dengan metanol tersebut. Adanya pelarut metanol akan menyebabkan perbedaan tekanan antara bagian dalam sel dan bagian luar sel bubuk daun benalu teh. Pada kondisi demikian senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam metanol dan terjadi ekstraksi sempurna. Pelarut ini dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder dari golongan flavonoid.

Fraksi cairan dan padatan/endapan yang telah terpisah tersebut dilakukan pemisahan sehingga diperoleh fraksi cairan saja yang telah mengandung zat aktif dari daun benalu teh karena telah terlarut dalam pelarut metanol yang digunakan. Fraksi endapan dapat direndam kembali untuk menghasilkan fraksi cair kembali. Pengulangan dapat dilakukan sampai tiga kali atau sesuai dengan kebutuhan.

Untuk menghilangkan pelarut metanol yang terdapat dalam fraksi cairan tersebut dilakukan penguapan atau evaporasi menggunakan sarana evaporator yang sesuai. Pada invensi ini labu evaporasi dengan volumen 1 L. labu evaporasi dipasang pada sarana evaporator. Selanjutnya water bath diisi dengan air sampai penuh. Kemudian semua rangkaian alat evaporasi dipasang juga termasuk rotary evaporator. Pemanas water bath dihubungkan dengan aliran listrik. Adanya air yang panas tersebut akan dapat memisahkan larutan metanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi. Larutan metanol yang terpisah akan mengalir dan ditampung dalam wadah tersendiri, sedangkan zat aktifnya akan tetap berada dalam labu evaporasi. Dalam invensi ini zat aktif yang dihasilkan sekitar ¼ berat kering dari bubuk halus benalu.

Hasil ekstraksi dari invensi ini dapat ditampung dalam wadah yang sesuai dengan kebutuhan dan wadah tersebut harus dapat menjamin stabilitas dari zat aktifnya. Dalam invensi ini hasil ekstraksi yang telah ditampung dalam wadah dapat diberi label dan disimpan dalam kondisi lingkungan tertentu. Kondisi lingkungan yang disukai adalah ditempat pembekuan (freezer).

Produk yang dihasilkan (ekstrak benalu teh dari invensi ini) dilakukan pengujian sebagai berikut:

- 1). Uji toksisitas akut pada Mencit,
- 2). Uji toksisitas subkronik terhadap fungsi hepar (hati) pada tikus jantan dan betina,
- 3). Uji toksisitas subkronik terhadap fungsi kadar lipid serum pada tikus jantan dan betina, dan
- 4). Uji toksisitas subkronik terhadap fungsi ginjal pada tikus jantan dan betina.

Selanjutnya pengujian tersebut akan dijelaskan secara rinci di bawah dengan mengacu pada gambar-gambar yang menyertainya.

Dalam penelitian ini digunakan mencit jantan dan betina sebagai hewan uji. Untuk pengujian toksisitas akut, mencit-mencit tersebut dibagi menjadi empat kelompok perlakuan. Keempat kelompok tersebut adalah sebagai berikut. Kelompok I merupakan kelompok Kontrol yang tidak diberi ekstrak benalu teh. Kelompok II (disebut juga P1) sebagai kelompok yang diberi perlakuan dengan ekstrak benalu teh dosis 250 mg/KgBB. Kelompok III (di sebut juga P2) adalah kelompok perlakuan yang diberi perlakuan dengan ekstrak benalu teh dosis 500 mg/KgBB. Kelompok IV (disebut juga P3) merupakan kelompok yang diberi perlakuan dengan ekstrak benalu teh dosis 1000 mg/KgBB. Perlakuan dengan ekstrak benalu teh dilaksanakan dengan menggunakan cara sonde. Masing-masing perlakuan diulangi 5 (lima) kali. Pengelompokan dan perlakuan ini ditunjukkan dengan Gambar 1.

Hewan lainnya yang digunakan adalah tikus jantan dan tikus betina. Untuk pengujian toksisitas tikus subkronis, tikus-tikus tersebut dibagi menjadi empat kelompok perlakuan. Keempat kelompok tersebut adalah sebagai berikut. Kelompok I merupakan kelompok Kontrol yang tidak diberi ekstrak benalu teh. Kelompok II (disebut juga P1) sebagai kelompok yang diberi perlakuan dengan ekstrak benalu teh dosis 250 mg/KgBB. Kelompok III (di sebut juga P2) adalah kelompok perlakuan yang diberi perlakuan dengan ekstrak benalu teh dosis 500 mg/KgBB. Kelompok IV (disebut juga P3) merupakan kelompok yang diberi perlakuan

dengan ekstrak benalu teh dosis 1000 mg/kgBB. Perlakuan dengan ekstrak benalu teh dilaksanakan dengan menggunakan cara sonde. Masing-masing perlakuan diulangi 5 (lima) kali. Pengelompokan dan perlakuan ini ditunjukkan dengan Gambar 2.

5 1). Uji Toksisitas Akut pada Mencit (*Mus musculus*)

Indikator pengukuran uji toksisitas akut pada Mencit melalui uji kadar MDA (malondialdehid) dan SOD (superdioksida dimutase) pada Mencit. Salah satu yang menyebabkan hipertensi adalah adanya stress oksidatif. Stress ini pada umumnya diindikasikan adanya kadar malondialdehid (MDA). MDA merupakan senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas di dalam sel sehingga dijadikan sebagai salah satu petunjuk terjadinya stres oksidatif akibat radikal bebas (Asni dkk, 2009: 596). Rahardjani (2010: 93) memperkuat pernyataan tersebut dengan menyatakan bahwa mediator Malondialdehid (MDA) merupakan suatu produk akhir peroksidasi lemak yang digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lemak serta dapat menggambarkan derajat stres oksidatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar benalu teh tidak menunjukkan uji toksik pada mencit selama 14 hari. Uji kadar MDA benalu teh pada mencit tidak terjadi perbedaan yang nyata. Kadar MDA serum yang teramati berkisar 454,625-492,750. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Rerata Kadar MDA Serum pada Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Kadar MDA Serum (ng/ml)
	rerata ± SD
K (-)	492.750 ± 19.418 ^{ns}
P I	457.125 ± 30.095 ^{ns}
P II	454.625 ± 19.080 ^{ns}
P III	475.875 ± 37.659 ^{ns}

25 Catatan: Data disajikan dengan rerata ± standar deviasi. ns non signifikan, # secara signifikan berbeda dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (p<0.001); * secara signifikan berbeda dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (p<0.001).

Hasil ANOVA pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada kadar MDA serum tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$), antara K(-) dengan P I, P II, dan P III.

Disamping itu stress oksidatif juga dapat terkait dengan adanya superdioksida dimutase (SOD). Superdioksida dismutase (SOD) yang merupakan antioksidan endogen yang akan mengkatalis reaksi dismutase radikal bebas anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen sehingga anion superoksida (O_2^-) tidak dapat menyerang sel tubuh (Barjanto, 2003). Meningkatnya produksi anion superoksida (O_2^-) dapat dicegah oleh antioksidan alami tubuh berupa superdioksida dismutase, aktivitas SOD akan berdampak terhadap kadar ROS sehingga terjadi stress oksidatif (DepKes RI, 1995). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas SOD serum pada rencit tidak ada perbedaan yang signifikan sebagaimana yang ditunjukkan dalam Tabel 2 dan Gambar 2 yang merupakan histogram pengujian SOD pada kelompok hewan perlakuan.

Tabel 2 Rerata Aktivitas SOD Serum pada Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Aktivitas SOD Serum (ng/ml)
	Rerata \pm SD
K (-)	19.47 \pm 2.072 ^{ns}
P I	17.4 \pm 1.373 ^{ns}
P II	20.53 \pm 3.411 ^{ns}
P III	23.97 \pm 2.528*

Data disajikan dengan rerata \pm standar deviasi. ns non signifikan, \pm secara signifikan berbeda dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0.001$); * secara signifikan berbeda dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($p < 0.001$).

Hasil ANOVA pada tabel 2 menunjukkan bahwa pada aktivitas SOD serum terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$), antara K(-)P I, P II, dengan P III. Grafik terlampir pada gambar 2.

Pada penelitian ini ekstrak kasar benalu teh diekstraksi dengan menggunakan pelarut netral. Ekstrak kasar benalu teh (*Scurrula atropurpurea* Bl. Danser) bersifat sebagai antioksidan.

Flavonoid bersifat polar. Pelarut metanol lebih efektif menghasilkan senyawa flavonoid lebih banyak dibanding dengan pelarut lainnya, seperti etanol dan aseton. Diperkuat pula oleh penelitian Stankovic (2010) yang membuktikan bahwa pelarut metanolik memiliki daya ekstraksi konsentrasi fenolik dan flavonoid serta aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan pelarut lainnya seperti air, acetone, petroleum ether dan acethyl acetate pada *Marrubium perezinum*.

Hasil pembahasan penelitian dari ekstrak metanolik *Sarrnia atropurpurea* (EMSA) terhadap perbaikan stress oksidatif, disfungsi endotel, dan tekanan darah pada tikus hipertensi paparan DOCA-saram dijelaskan berikut ini. Telah diketahui bahwa EMSA mengandung suatu antioksidan yaitu flavonoid. Makhluk hidup mempunyai mekanisme pertahanan yang sangat khusus berupa antioksidan untuk meniadakan efek terhadap stress oksidatif. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat larut dalam air (water soluble) atau larut dalam lemak (lipid soluble), ada yang diproduksi oleh tubuh sendiri dan ada pula yang berasal dari luar tubuh. Sistem antioksidan tubuh berfungsi melindungi sel-sel jaringan dan efek negatif radikal bebas. Antioksidan bertindak mencegah pembentukan radikal bebas atau menangkap radikal bebas, menetaplisnya, dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Ashiroh, et al., 2014).

Berdasarkan hasil penelitian ternyata antioksidan EMSA tidak mempengaruhi kadar MDA dan aktivitas SOD serum pada mencit akut. Hal ini didukung pula penelitian Winarno, (2011). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa tidak ditemukan toksisitas akut pada mencit yang diberi dosis tunggal secara oral dengan ekstrak etil asetat dari benalu teh yang tidak diradiasi dan diradiasi pada dosis 10 kGy. Pada pemberian ekstrak sampai dengan dosis 10 g/kg (setara dengan 17,6 g ekstrak yang diberikan kepada manusia), pertambahan berat badan secara normal teramati pada mencit untuk semua kelompok dosis, tidak ada kematian mencit dalam semua kelompok dosis, dan tidak ada perubahan signifikan ($p > 0,05$) berat organ relatif terhadap berat badan pada semua

organ, yaitu: hati, limpa, ginjal, paru-paru, jantung, testis dan vesikal seminalis (untuk jantan), dan ovarium dan uterus (untuk betina). Prakiraan dosis letal untuk mencit jantan dan betina lebih tinggi dari 10 g/kg berat badan mencit. Diduga bahwa pemberian ekstrak etil asetat dari benalu teh yang tidak diiradiasi dan diiradiasi sampai dosis 10 g/kg berat badan mencit masih aman.

Disamping uji toksisitas akut, produk dari invensi ini juga diujikan secara toksisitas subkronik 28 hari pada tikus jantan dan betina sebagaimana penjelasan berikut ini.

2) Uji Toksisitas Subkronik 28 hari terhadap Fungsi Hepar (Hati) Tikus Jantan dan Betina

Lebih lanjut untuk melihat dampak pemberian ekstrak benalu teh dari invensi ini apakah aman atau tidak terhadap fungsi hati, dilakukan uji SGPT (Serum Glutamate Pyruvate Transaminase). SGPT merupakan suatu enzim yang terdapat di dalam sel hati. Ketika sel hati mengalami kerusakan, akan terjadi pengeluaran enzim SGPT dari dalam sel hati ke sirkulasi darah dan akan terukur melalui pemeriksaan laboratorium. Pada penelitian ini diperoleh bahwa peningkatan fungsi hati menunjukkan tidak ada gangguan yang bermakna dan serius dari tikus yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak dimaksud. Hasil uji SGPT dari invensi ini diperlihatkan dalam Gambar 3 dan Gambar 6 yang menunjukkan pengaruh ekstrak benalu teh dari invensi ini terhadap kadar SGPT pada tikus jantan subkronis dan tikus betina subkronis.

Selain pengujian SGPT yang dilakukan di atas juga tidak kalah penting perlu adanya pengujian SGOT (serum glutamic oxaloacetic transaminase). SGOT merupakan salah satu enzim yang biasanya ditemukan pada hati (liver), jantung, otot, ginjal, hingga otak. Gambar 7 dan 8 dari invensi ini menunjukkan hasil pengujian SGOT terhadap tikus jantan subkronis dan tikus betina subkronis yang diberi perlakuan dengan ekstrak benalu teh. Dari gambar tersebut terlihat adanya pengaruh terhadap fungsi hati akan tetapi peningkatan ini masih dalam toleransi dan tidak bermakna secara serius atas fungsi hati dari binatang uji.

Pengujian lainnya adalah terkait dengan fungsi otot. Fungsi otot ini dapat dilakukan pengujian terhadap kadar kreatinin yang

dihasilkan oleh tikus yang diberi dan tidak diberi perlakuan ekstrak invensi ini. Pengujian kreatinin digunakan untuk menghitung jumlah kreatinin dalam darah. Kreatinin merupakan adalah produk limbah dari kreatin fosfat, yang digunakan dalam proses kontraksi otot. Gambar 9 dan 10 menunjukkan hasil pengujian kreatinin terhadap tikus betina dan tikus jantan subkronis yang diberi perlakuan ekstrak benalu dari invensi ini. Dari gambar tersebut terlihat bahwa tidak ada gangguan yang serius atas kadar kreatinin yang dinastikan.

- 10 Pengujian yang sama juga dilakukan terhadap kadar urea, kadar blood urea nitrogen (BUN), kadar trigliserida, kadar kolesterol, kadar total protein, kadar globulin, dan kadar albumin. Keseluruhan pengujian tersebut menunjukkan hasil bahwa ekstrak benalu teh dari invensi ini tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap fungsi-fungsi organ dalam tikus jantan maupun betina subkronis. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 11 hingga 24 dari invensi ini.

Hasil uji toksisitas daun benalu teh (*Scurrula atropurpurea*) yang dipapar selama 28 hari terhadap fungsi hati tikus yaitu melalui pemeriksaan SGPT tikus jantan (gambar 3), SGPT tikus betina (gambar 6), SGOT tikus jantan (gambar 7), SGOT tikus betina (gambar 8), trigliserida tikus jantan (gambar 15), trigliserida tikus betina (gambar 16), kolesterol tikus jantan (gambar 17), kolesterol tikus betina (gambar 18), total protein tikus jantan (gambar 19), total protein tikus betina (gambar 20), globulin tikus jantan (gambar 21), globulin tikus betina (gambar 22), albumin tikus jantan (gambar 23), albumin tikus betina (gambar 24), uji histopatologi hepar pada tikus kontrol (gambar 25), uji histopatologi hepar pada tikus yang diberi dosis daun benalu teh dosis 250mg/KgBB (gambar 26), uji histopatologi hepar pada tikus yang diberi dosis daun benalu teh dosis 500mg/KgBB (gambar 27), uji histopatologi hepar pada tikus yang diberi dosis daun benalu teh dosis 1000mg/KgBB (gambar 28). Uraian pembahasan bahwa pemeriksaan kadar SGOT menunjukkan peningkatan pada seluruh kelompok. Demikian pula pada kadar SGPT, namun meningkat ringan. Keadaan ini disebabkan karena

tikus mengalami infeksi bakteri *Mycoplasma* yang menyebabkan peningkatan fungsi hati. Infeksi *Mycoplasma* merupakan keadaan yang relative sering terjadi pada tikus percobaan karena rendahnya hygiene dan sanitasi lingkungan dimana tikus
5 dipelihara. Peningkatan fungsi hati ini tidak bertakna sebagai gangguan faal hati yang serius. Karena fungsi hati pada metabolisme protein tidak terganggu, dimana kadar albumin, globulin dan protein total menunjukkan kadar yang normal. Pemberian benalu teh dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000
10 mg/KgBB tidak menyebabkan peningkatan fungsi hati pada tikus sub kronik 28 hari.

3) Uji Toksisitas Subkronik 28 hari terhadap Kadar Lipid Serum Tikus Jantan dan Betina

Seluruh kelompok menunjukkan kadar lipid serum normal, baik
15 kadar trigliserida maupun kolesterol total dalam serum. Dengan demikian pemberian benalu teh dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB tidak menyebabkan peningkatan fungsi hati pada tikus sub kronik 28 hari.

20 4) Uji Toksisitas Subkronik 28 hari terhadap Fungsi Ginjal Tikus Jantan dan Betina

Hasil uji toksisitas daun benalu teh (*Scurrula atropurpurea*) yang dipapar selama 28 hari terhadap fungsi ginjal tikus yaitu melalui pemeriksaan kreatinin tikus jantan (gambar
25 9), kreatinin tikus jantan (gambar 10), urea jantan tikus jantan (gambar 11), urea tikus betina (gambar 12), BUN tikus jantan (gambar 13). Uraian pembahasan bahwa pemeriksaan kadar Ureum menunjukkan peningkatan pada seluruh kelompok. Demikian pula pada kadar BUN, namun meningkat ringan. Keadaan ini, sebagaimana disebutkan sebelumnya disebabkan karena tikus mengalami infeksi bakteri *Mycoplasma* yang menyebabkan peningkatan fungsi ginjal. Peningkatan ureum dan BUN ini tidak bermakna sebagai gangguan
30 faal ginjal yang serius. Pemberian benalu teh dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB tidak menyebabkan peningkatan
35 fungsi ginjal pada tikus sub kronik 28 hari.

Histopatologi dari hati tikus juga dilakukan pengujian dengan perlakuan yang sama seperti pengujian di atas. Hasilnya adalah diperlihatkan dalam Gambar 25 hingga Gambar 28. Merujuk pada gambar 25-28 dari invensi ini dapat dilihat bahwa fungsi hati tikus tidak mengalami kerusakan apapun.

Dengan demikian, berdasarkan keseluruhan pengujian di atas, dapat di simpulkan bahwa ekstrak benalu teh adalah aman sebagai herbal antihipertensi dengan tidak mengganggu fungsi-fungsi organ lainnya pada tikus. Ekstrak benalu teh dari invensi ini aman apabila digunakan pada dosis 250 hingga 200 mg/Kg berat badan.

Klaim

1. Proses pembuatan sediaan antihipertensi dari daun benalu teh yang terdiri atas:
 - 5 a. Mencuci daun benalu teh hingga bersih dari kotoran-kotoran yang larut dalam air pada air yang mengalir;
 - b. Mengeringkan daun benalu teh yang telah bersih dari kotoran tersebut di atas pada pemanas dengan temperatur 40-60°C;
 - 10 c. Menghaluskan daun benalu teh yang telah kering hingga menjadi bubuk halus;
 - d. Mengekstraksi bubuk halus benalu teh dari poin c. melalui maserasi dengan metanol 70%;
 - e. Memisahkan fraksi cairan yang mengandung metanol dan zat aktif dengan fraksi padatnya; dan
 - 15 f. Mengevaporasi fraksi cairan yang dihasilkan dari poin e. sehingga diperoleh zat aktif antihipertensi.

2. Produk yang dihasilkan melalui proses sebagaimana yang
20 diklaim dalam klaim 1.

ABSTRAK**PROSES PEMBUATAN SEDIAAN ANTIHIPERTENSI DARI DAUN BENALU TEH
DAN PRODUK YANG DIHASILKANNYA**

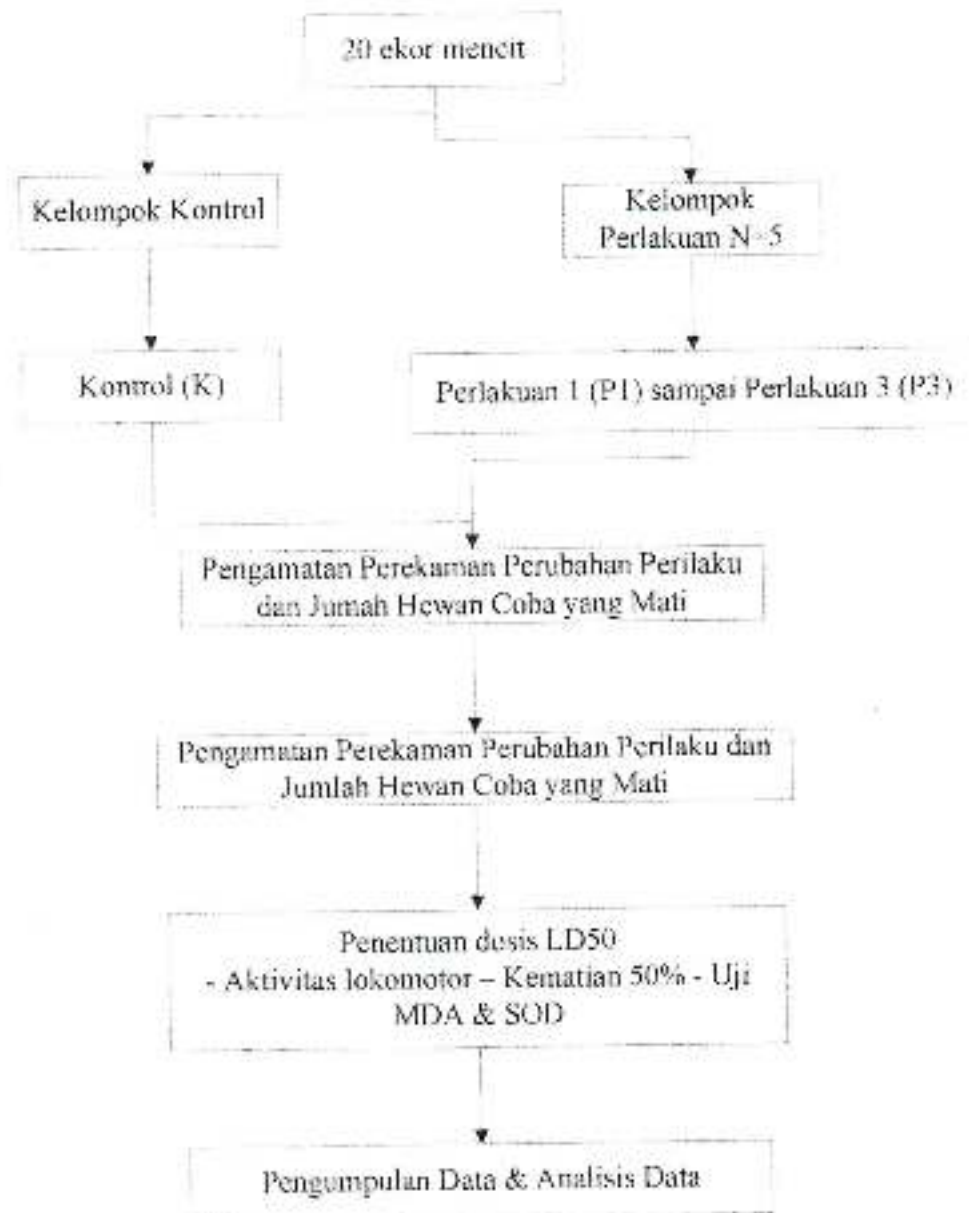
5

Invensi berkaitan tentang ekstrak daun benalu teh. Suatu tanaman benalu teh bersifat parasit semi obligat dan berparasit pada tanaman teh, serta hidup di daerah tropis. Siplisia hasil ekstrak benalu teh diujikan secara *in vitro* pada arteri ekor tikus terpisah (*isolated organ*) dengan atau tanpa endotel pembuluh darah arteri. Dilanjutkan uji *in vivo* terhadap tikus hipertensi induksi DOCA-garam. Kemudian di lakukan uji toksisitas akut pada mencit dan uji toksisitas sub kronik 28 hari pada tikus. Berdasarkan rangkaian analisis penelitian membuktikan bahwa invensi ekstrak daun benalu teh sebagai sediaan antihipertensi melalui perbaikan pada stress oksidatif dan disfungsi endotel.

10

15

W



Gambar 1.

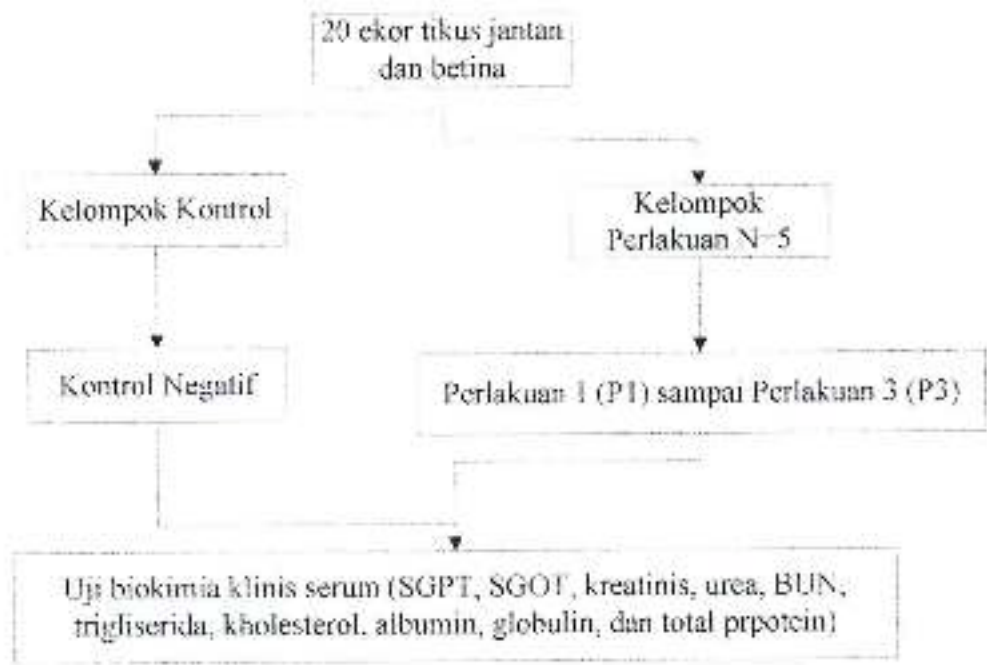
Keterangan:

K : Kelompok kontrol negatif.

P1 : 1000mg/kgBB benalu teh

P2 : 2000mg/kgBB benalu teh

P3 : 4000mg/kgBB benalu teh

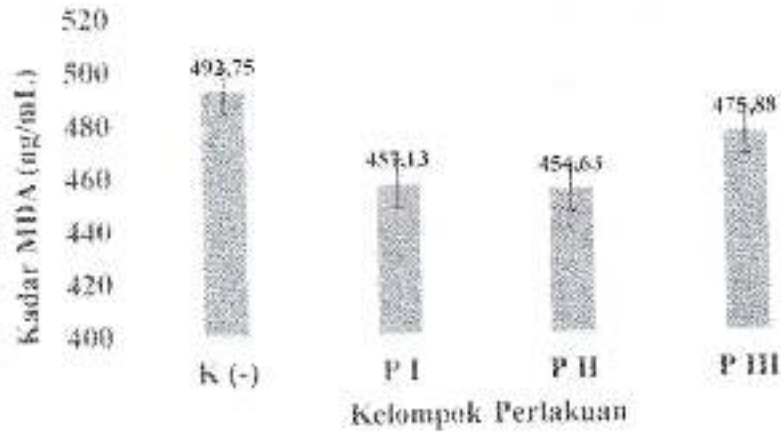


Gambar 2.

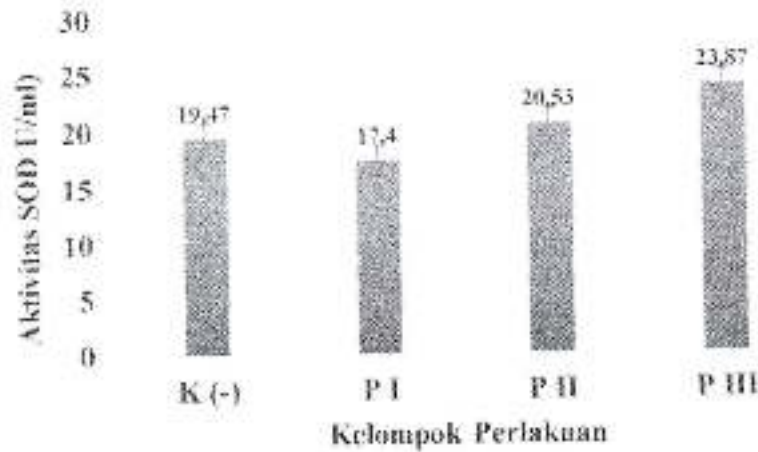
Keterangan:

- K : Kelompok kontrol negatif,
- 3. P1 : 250mg.KgBB benalu teh
- P2 : 500mg.KgBB benalu teh
- P3 : 1000mg.KgBB benalu teh

Handwritten mark



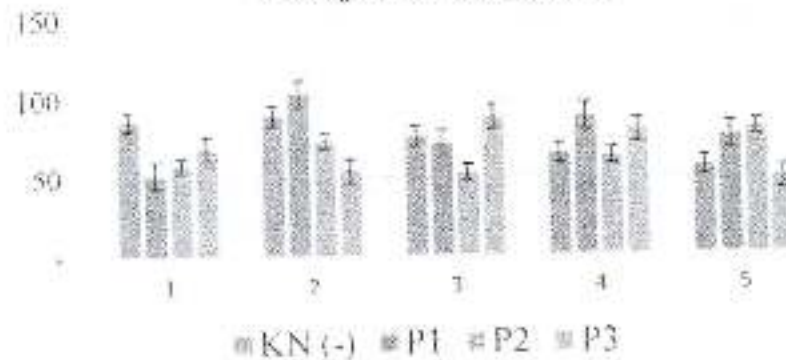
Gambar 3



Gambar 4.

5

Pengaruh BT terhadap kadar SGPT pada tikus jantan sub kronik



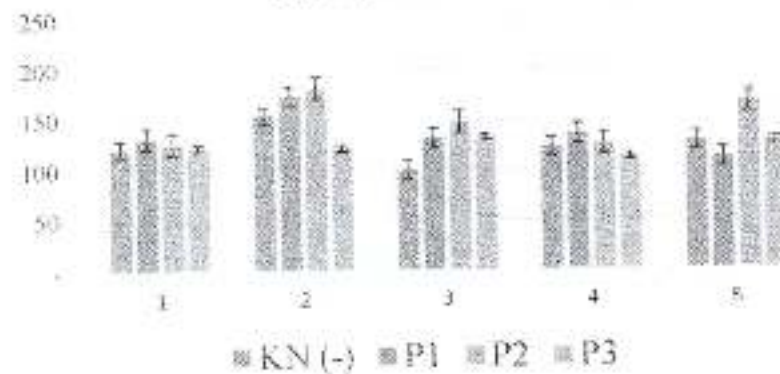
Gambar 5.

Pengaruh BT terhadap kadar SGPT pada
tikus betina sub kronik



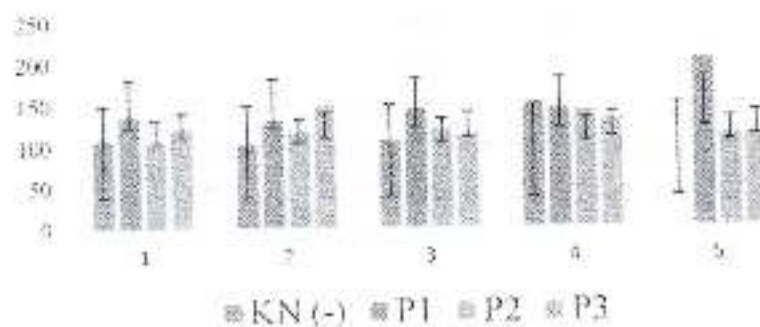
Gambar 6.

Pengaruh BT terhadap kadar SGOT pada
tikus jantan sub kronik



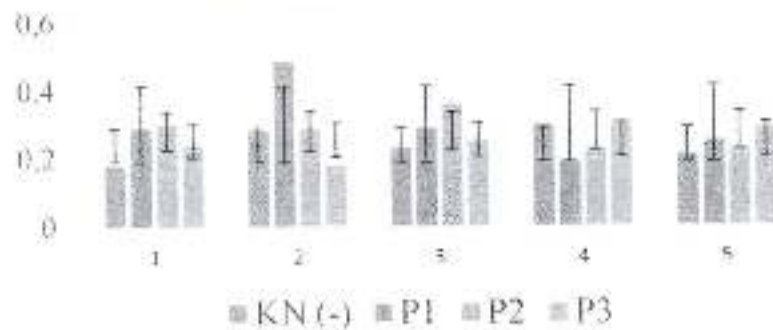
Gambar 7.

Pengaruh BT terhadap kadar SGOT pada
tikus betina sub kronik



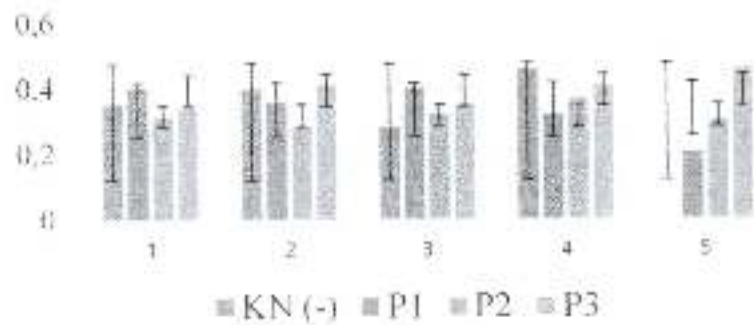
Gambar 8.

Pengaruh BT terhadap kadar Kreatinin pada tikus jantan sub kronik



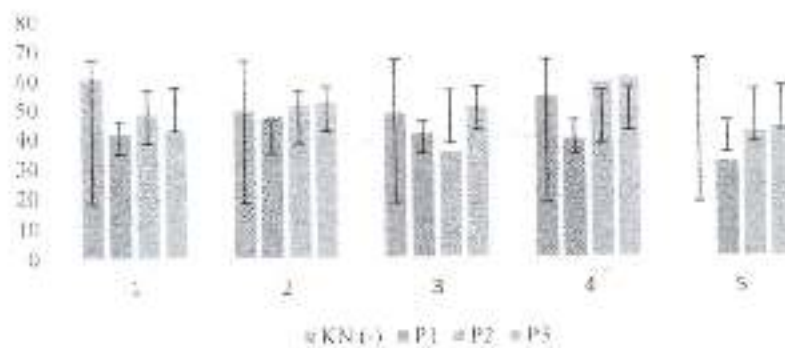
Gambar 9.

Pengaruh BT terhadap kadar Kreatinin pada tikus betina sub kronik



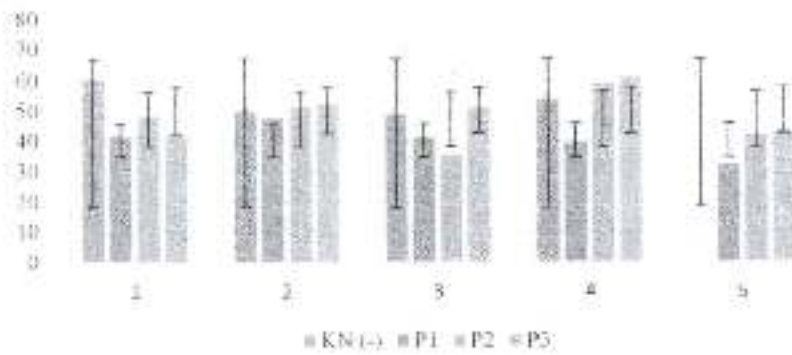
Gambar 10.

Pengaruh BT terhadap kadar urea pada tikus jantan sub kronik



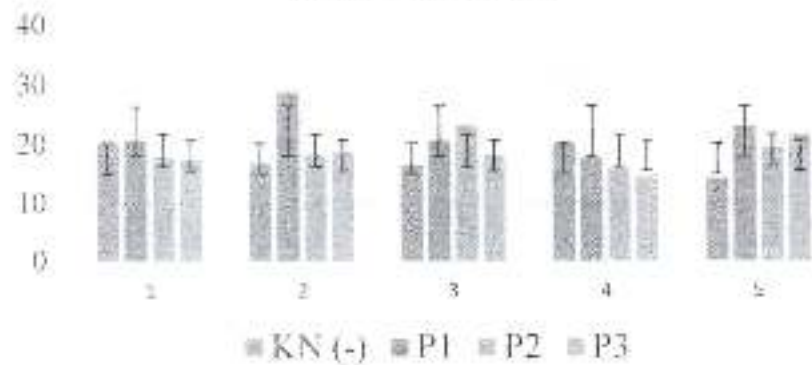
Gambar 11.

Pengaruh BT terhadap kadar urea pada tikus betina sub kronik



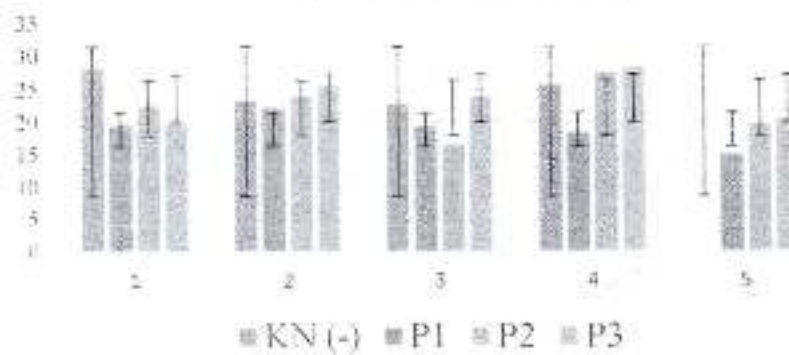
Gambar 12.

Pengaruh BT terhadap kadar BUN pada tikus jantan sub kronik



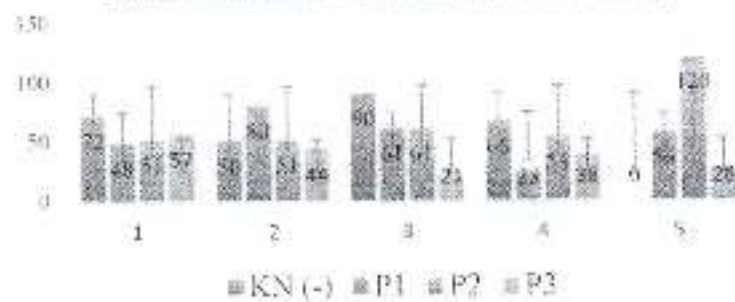
Gambar 13.

Pengaruh BT terhadap kadar BUN pada tikus betina sub kronik



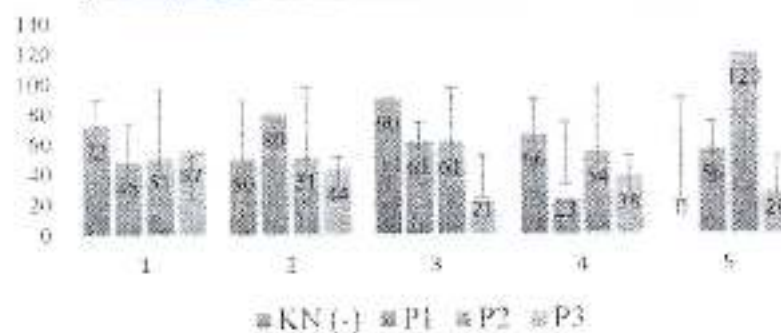
Gambar 14.

Pengaruh BT terhadap kadar TG pada tikus jantan sub kronik



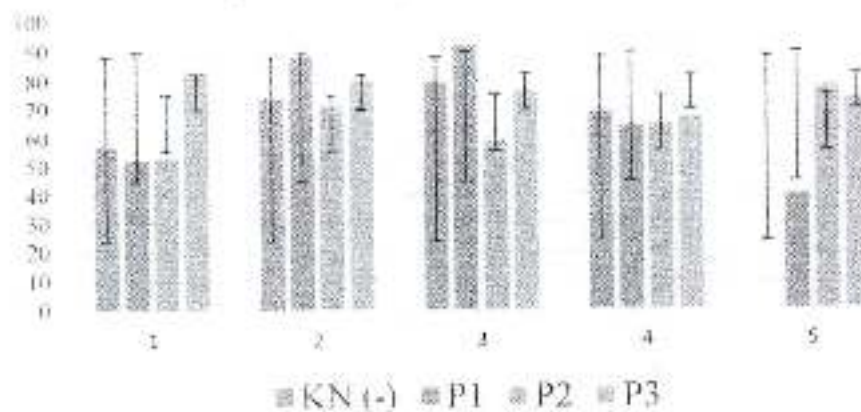
Gambar 15.

Pengaruh BT terhadap kadar TG pada tikus betina sub kronik



Gambar 16.

Pengaruh BT terhadap kadar kolesterol total pada tikus jantan sub kronik



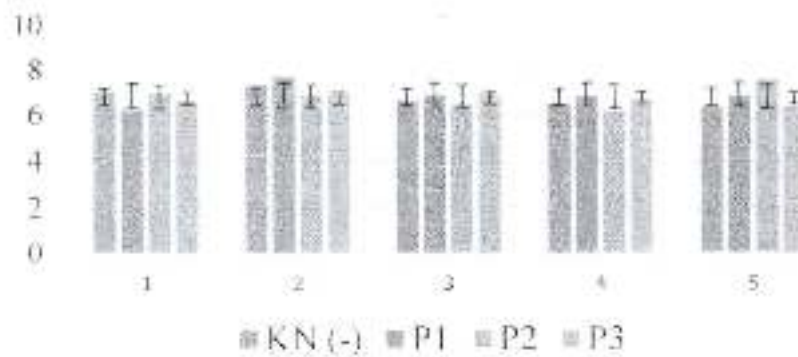
Gambar 17.

Pengaruh BT terhadap kadar kholesterol total pada tikus betina sub kronik



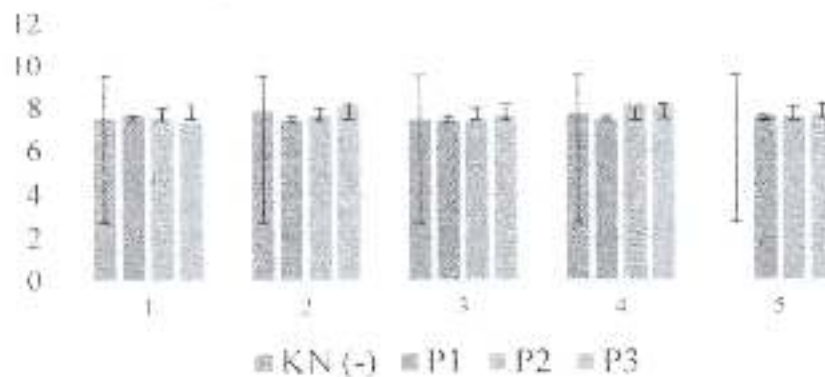
Gambar 18.

Pengaruh BT terhadap kadar Total Protein pada tikus jantan sub kronik



Gambar 19.

Pengaruh BT terhadap kadar Total Protein pada tikus betina sub kronik



Gambar 20.

Pengaruh BT terhadap kadar Globulin pada
tikus jantan sub kronik



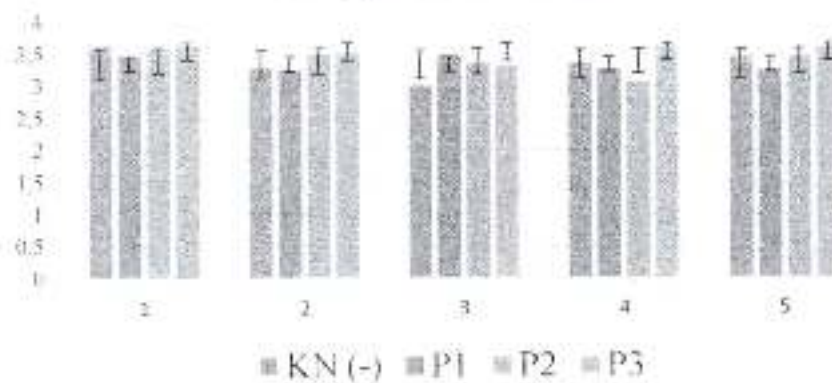
Gambar 21.

Pengaruh BT terhadap kadar Globulin pada
tikus betina sub kronik



Gambar 22.

Pengaruh BT terhadap kadar Albumin pada
tikus jantan sub kronik

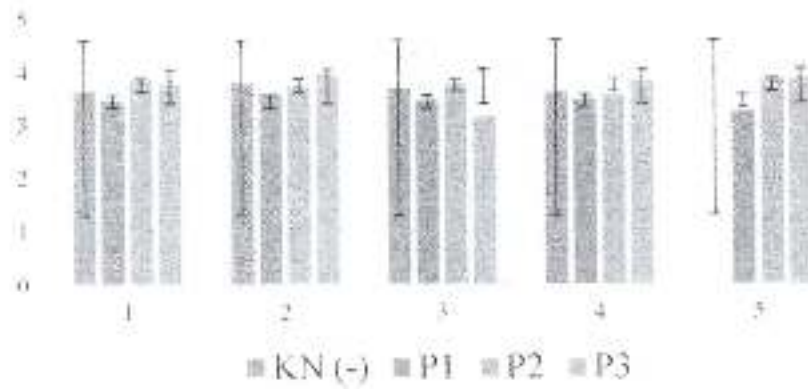


Gambar 23.

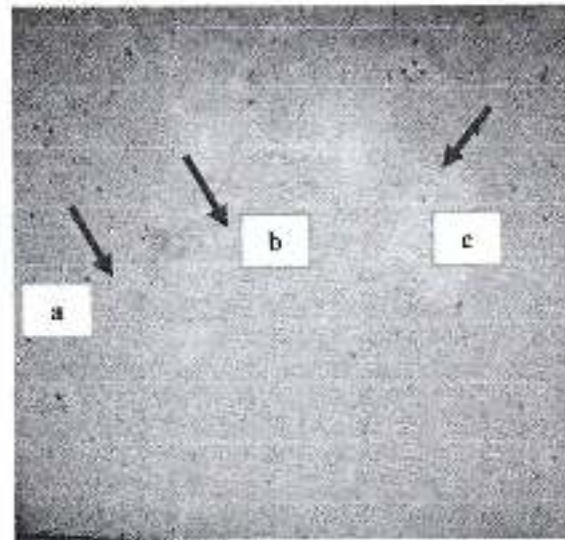
00005947

4

Pengaruh BT terhadap kadar Albumin pada tikus betina sub kronik

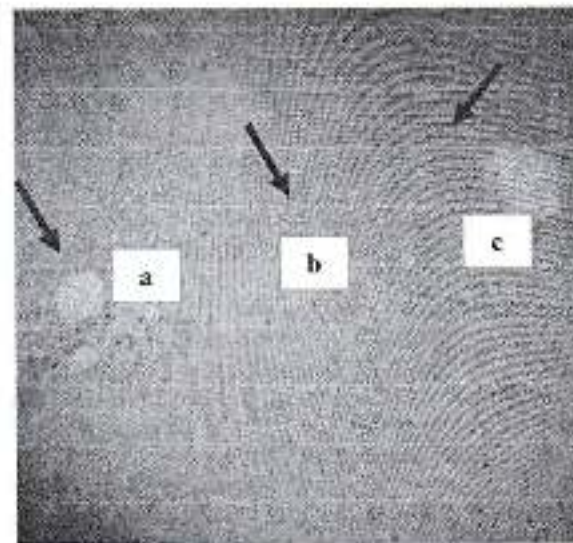


Gambar 24.

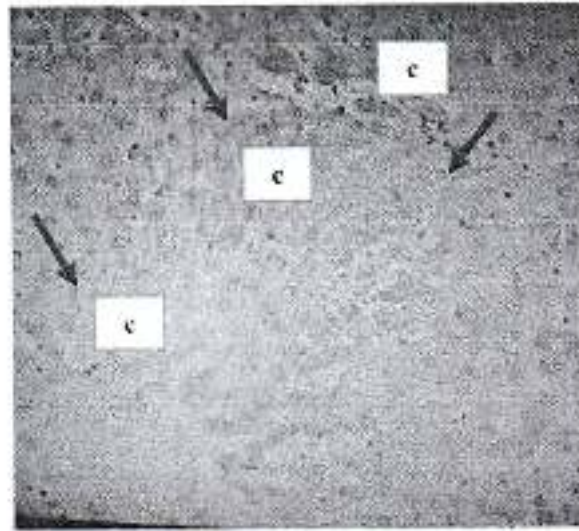


Gambar 25.

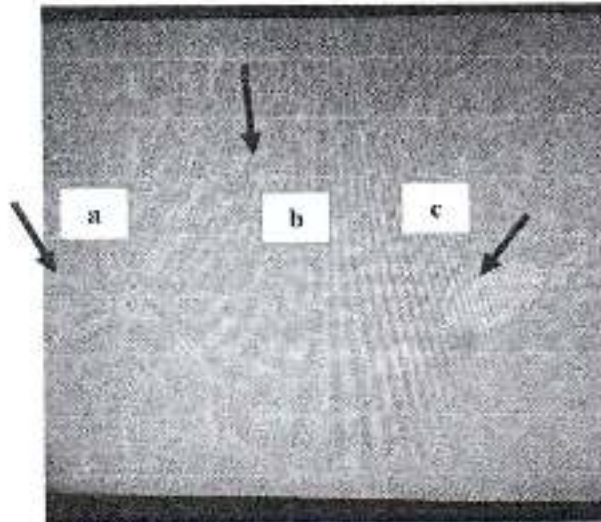
5



Gambar 26.



Gambar 27.



Gambar 28.