



**Uji Toksisitas Akut Dan Letal Dose (LD50) Ekstrak Etanol Daun Pepolo
(*Bischofia javanica* Blume) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*)**

**Acute Toxicity Test And Lethal Dose (LD50) of Pepolo Leaf Ethanol Extract
(*Bischofia javanica* Blume) on White Mice (*Mus musculus*)**

Ihwan^{*}, Moh. Yusup Asabri, Akhmad Khumaidi

Jurusan Farmasi, FMIPA Universitas Tadulako, Palu – Sulawesi Tengah, 94118

ABSTRACT

Pepolo (*Biscovia javanica* Blume) is a plant widely used as a traditional medicine so it needs to be controlled the safety of its use. The aim of this research was to determine the acute toxicity and the 50 lethal dose as well the toxicity criteria Pepolo's (*B. javanica* Blume) leaves ethanol extract on mice (*Mus musculus*). The extraction was made by maceration method using 96% ethanol pa. This research used pure experimental method on 25 females mice (*M. musculus*) were divided into five groups. Every group received a series of different doses of 1g/kgBW; 2g/kgBW; 4g kgBW; 8g/kgBW and 16g/kgBW of Pepolo leaves ethanol extract with single dose orally observation on the symptoms of toxicity and the number of deaths in each animal was done after 24 hours. The results showed that LD₅₀ of Pepolo (*B. Javanica* Blume) leaves ethanol extract was 3.91 g/kgBW and LD50 range value of Pepolo (*B. javanica* Blume) leaves ethanol extract are 2.6 g/kgBW - 5.7 g/kgBW. Based on the toxicity level, Pepolo (*B. javanica* Blume) leaves ethanol extract can be classified toxic enough (0.5 - 5 g/kgBW).

Keywords: *Biscovia javanica* Blume, Acute Toxicity, Lethal Dose 50.

ABSTRAK

Tumbuhan Pepolo (*Biscovia javanica* Blume) merupakan tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional sehingga perlu dikontrol keamanan penggunaannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut dan lethal dose 50 serta kriteria ketoksikan ekstrak etanol daun Pepolo (*B. javanica* Blume) terhadap mencit putih (*Mus musculus*). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% pa. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni dengan hewan uji mencit putih (*M. musculus*) betina sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi lima kelompok. Tiap kelompok menerima seri dosis yang berbeda yaitu 1g/kgBB; 2g/kgBB; 4g/kgBB; 8g/kgBB dan dosis 16g/kgBB ekstrak etanol daun pepolo dengan sekali pemberian secara oral dan diamati gejala ketoksikan dan jumlah kematian pada tiap hewan uji setelah 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan LD₅₀ ekstrak etanol daun pepolo (*B. Javanica* Blume) adalah 3,91 g/kgBB dan nilai rentang LD₅₀ ekstrak etanol daun pepolo (*B. javanica* Blume) adalah 2,6 g/kgBB – 5,7 g/kgBB. Berdasarkan tabel kategori ketoksikan, ekstrak etanol daun Pepolo (*B. javanica* Blume) termasuk dalam kategori cukup toksik (0,5 - 5g/kgBB).

Kata kunci : *B. javanica* Blume, Toksisitas akut, Lethal Dose 50.

LATAR BELAKANG

Penggunaan obat tradisional dalam upaya mempertahankan kesehatan masyarakat telah lama kita ketahui. Bahkan sampai saat ini menurut perkiraan badan kesehatan dunia (WHO), 80% penduduk dunia masih menggantungkan dirinya pada pengobatan tradisional. Berdasarkan hasil riset kesehatan dasar (2010) hampir setengah (49,5%) penduduk Indonesia usia di atas 15 tahun mengonsumsi obat herbal. Salah satu diantaranya adalah tumbuhan Pepolo (*B. javanica* Blume) yang merupakan tumbuhan yang banyak digunakan dalam pengobatan herbal (Plaza *et al.*, 2014).

Pemanfaatan daun tumbuhan Pepolo sebagai obat tradisional tersebut biasanya berdasarkan pada pengalaman empiris yang diturunkan dari generasi ke generasi, seperti halnya pengalaman empiris penduduk Napu Sulawesi Tengah, menggunakan daun Pepolo sebagai obat tradisional. Dalam penggunaannya sebagai obat harus didukung penelitian dan pengujian keamanan, salah satu pengujian yang dilakukan adalah pengujian toksisitas.

Uji toksisitas akut merupakan salah satu uji pra-klinik. Uji ini dilakukan dengan mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu 24 jam atau dicukupkan hingga 14 hari untuk melihat efek suatu ekstrak yang diberikan dengan menggunakan dosis tunggal

(Harmita dan Maksum, 2008). Tolak ukur yang paling sering untuk menyatakan dosis toksisitas akut ialah dosis letal tengah (LD_{50}). Uji toksisitas memberikan informasi tentang bahaya kesehatan akibat paparan bahan tertentu pada tubuh. Hasil pengujian toksisitas ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam penggunaan tumbuhan Pepolo sebagai obat herbal di masyarakat, untuk menghindari penggunaan berlebihan yang dapat menyebabkan keracunan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Daun Pepolo (*B. javanica* Blume) diperoleh dari pohon Pepolo yang masih segar yang terletak di Desa Minowanga Kecamatan Lore Timur Kabupaten Poso Sulawesi Tengah pada bulan November, asam pikrat (Merck[®]), Na CMC, etanol (Merck[®]), HCl (Merck[®]), Mg (Merck[®]), FeCl₃ (Merck[®]), akuades, makanan dan minuman mencit

Ekstraksi Sampel

Pembuatan ekstrak etanol daun Pepolo (*B. javanica* Blume) dilakukan dengan cara ekstraksi secara maserasi yaitu dengan menambahkan etanol 96% pro-analisis (pa) sebanyak 5 liter ke dalam wadah kaca yang berisi serbuk daun Pepolo (*B. javanica* Blume) sebanyak 500 gram. Serbuk direndam selama 3 x 24 jam dan diaduk setiap 1 x 24 jam. Hasil

maserasi ditampung dalam suatu wadah dengan menggunakan penyaring dan corong (Raaman 2006).

Penapisan Fitokimia

Uji Flavonoid

Ditimbang 0,1 g sampel ditambahkan 0,2 g serbuk Mg, lalu ditambahkan 5 mL asam klorida pekat. Terbentuk warna orange kuning menunjukkan adanya flavonoid

Uji Fenolik

Ditimbang 0,5 g sampel dilarutkan dengan 5 mL air. Kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 5%, Perubahan warna hijau tua menunjukkan adanya senyawa fenolik.

Uji Saponin

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil terus terlihat selama 5 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

Uji Steroid/Terpenoid

Sebanyak 2 g sampel ditambahkan 25 mL etanol lalu dipanaskan dan disaring. Filtrat diuapkan lalu ditambahkan eter. Lapisan eter dipipet dan diuji. Penambahan pereaksi Lieberman Buchard sebanyak 3 tetes menampakkan warna merah/ungu, positif mengandung terpenoid. jika terbentuk warna hijau, maka positif mengandung steroid.

Uji Alkaloid

Dilarutkan 50 mg sampel dengan beberapa 1 mL HCl dan saring, kemudian filtrat diuji dengan menambahkan satu atau dua tetes pereaksi Mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih kekuningan.

Uji Tanin

Ditimbang 0,1 g sampel ditambahkan 10 mL akuades, disaring dan filtratnya ditambahkan reagen FeCl_3 1% sebanyak 5 mL. warna biru tua menunjukkan adanya tannin.

Uji Toksisitas

Pada penelitian ini digunakan sebanyak 25 ekor mencit putih dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yang masing – masing terdiri dari 5 ekor mencit yang ditentukan secara acak. Seri konsentrasi dosis bertingkat yang digunakan berasal dari hasil orientasi dosis yang umum digunakan secara empiris oleh masyarakat yaitu 7 lembar yang setara dengan rendemen dan dosis pada manusia sehingga diperoleh seri konsentrasi dosis bertingkat dengan mengacu pada kelipatan dua sesuai kriteria yang ditetapkan pada metode Thomson dan Weil (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam, 1993). Dari orientasi yang dilakukan diperoleh seri konsentrasi sebagai berikut:

Kelompok Perlakuan 1 :diberi 30mg/30g BB ekstrak Etanol Daun Pepolo.

Kelompok Perlakuan 2 :diberi 60mg/30g BB ekstrak Etanol Daun Pepolo.

Kelompok Perlakuan 3 :diberi 120mg/30gBB ekstrak Etanol Daun Pepolo.

Kelompok Perlakuan 4 :diberi 240mg/30gBB ekstrak Etanol Daun Pepolo.

Kelompok Perlakuan 5 :diberi 480mg/30gBB ekstrak Etanol Daun Pepolo.

Pemberian ekstrak etanol daun Pepolo (*B. javanica* Blume) pada mencit putih dilakukan melalui sonde lambung dengan dosis tunggal.

HASIL

Ekstraksi Sampel

Hasil Proses maserasi simplisia daun Pepolo menggunakan etanol 96% pa diperoleh ekstrak sebanyak 28,34 gram dengan hasil rendemen yaitu 5,66%.

Hasil Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia disajikan pada tabel 1. berikut.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia

No	Golongan Senyawa	Hasil identifikasi
1	Flavonoid	+**
2	Saponin	+**
3	Fenolik	+**
4	Steroid	+**
5	Alkaloid	+**
6	Tanin	+**

Keterangan:

+ = ekstrak bereaksi positif

**= Tampak jelas

Hasil Uji Toksisitas

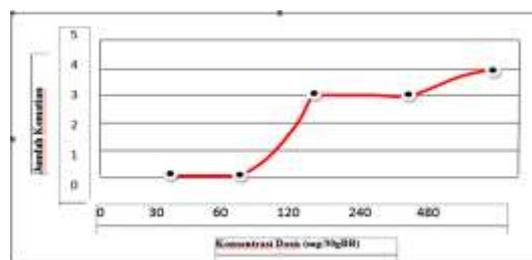
Data dari uji toksisitas ekstrak etanol daun pepolo pada mencit disajikan dalam tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas

No	Kelompok	Jumlah Mencit	Dosis Ekstrak (mg / 30 g BB)	Jumlah Kematian
1	I	5 ekor	30	0
2	II	5 ekor	60	0
3	III	5 ekor	120	3
4	IV	5 ekor	240	3
5	V	5 ekor	480	4

Selanjutnya data hasil pengujian yang diperoleh disajikan dalam bentuk grafik.

Grafik hubungan mortalitas mencit dengan log konsentrasi ekstrak etanol daun pepolo disajikan dalam gambar 1. berikut.



Gambar 1. Hubungan mortalitas mencit dengan log konsentrasi

Nilai LD₅₀ ekstrak etanol daun Pepolo

Berdasarkan jumlah kematian hewan percobaan dari empat tingkat dosis ekstrak etanol daun pepolo menghasilkan empat angka kematian tiap kelompok (r), yaitu 0, 3, 3, 4 dengan asumsi bahwa semua hewan coba mengalami kematian pada dosis lebih besar dari 480 mg/30gBB. Berdasarkan tabel perhitungan LD₅₀ Thomson dan Weil, nilai r tersebut memiliki nilai f sebesar 0,37500 dan δf 0,44304 yang kemudian

digunakan untuk menghitung nilai LD₅₀. Berdasarkan metode Thomson dan Weil diperoleh nilai LD₅₀ ekstrak etanol daun pepolo sebesar 33.728,730 mg/30gBB dengan uraian perhitungan sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\text{Log LD}_{50} &= \text{Log D} + d (f + 1) \\ &= \text{Log } 60 + \text{Log } 2 (0,0000 + 1) \\ &= 1,77 + 0,30 (1) \\ &= 1,77 + 0,30 \\ &= 2,07 \\ \text{LD}_{50} &= \text{Anti log } 2,07 \\ &= 117,48 \text{ mg/30gBB} \\ &= 3,91 \text{ g/kgBB}\end{aligned}$$

Rentang LD₅₀

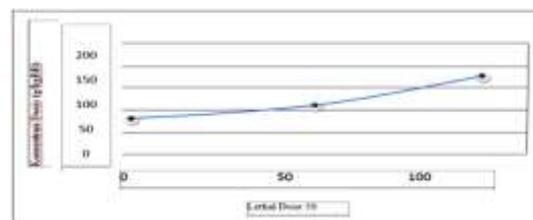
Rentang LD₅₀ dapat dihitung dengan metode Thomson dan Weil. Perhitungan selang rentang LD₅₀ untuk mengetahui kisaran LD₅₀. Perhitungan dapat disajikan sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\text{Log kisaran} &= \text{Log LD}_{50} \pm 2 d \delta f \\ &= 2,07 \pm 2 \log 2 (0,28868) \\ &= 2,07 \pm 0,17 \\ &= 1,9 \text{ g/kgBB} - 2,24 \text{ g/kgBB}\end{aligned}$$

Kisaran LD₅₀

$$\begin{aligned}&= 79,43 \text{ mg/30gBB} - 173 \text{ mg/30gBB} \\ &= 2,6 \text{ g/kgBB} - 5,7 \text{ g/kgBB}\end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut diperoleh nilai kisaran LD₅₀ ekstrak etanol daun pepolo sebesar 2,6 g/kgBB – 5,7 g/kgBB (gambar 2).



Gambar 2. Kisaran LD₅₀ ekstrak etanol daun pepolo

PEMBAHASAN

Uji toksisitas dengan menggunakan metode Thomson dan Weil merupakan uji ketoksikan dengan LD₅₀ sebagai tolak ukur dalam menghitung nilai ketoksikan. Metode ini merupakan metode yang membutuhkan lebih sedikit hewan uji dan memiliki tingkat keakuratan yang tinggi dikarenakan analisis datanya menggunakan daftar data Weil (Supriyono, 2007). LD₅₀ diketahui dengan menghitung jumlah hewan yang mati dalam 24 jam setelah pemaparan dosis bertingkat pada hewan uji yaitu dosis 30, 60, 120, 240, dan 480 mg/30gBB. Semakin besar berat badan hewan semakin besar dosis yang digunakan. Hewan yang tidak sehat dapat memberikan nilai LD₅₀ yang berbeda (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Gejala ketoksikan juga diamati beberapa saat setelah perlakuan dan setelah 24 jam perlakuan. Adapun gejala ketoksikan yang diamati meliputi pengamatan aktivitas motorik, straub, piloereksi, ptosis, midriasis, diuresis, defekasi, Salivasi dan grooming (Putjiastuti dan Nugroho, 2009). Pengamatan gejala ketoksikan menunjukkan bahwa dosis yang

semakin tinggi akan mempengaruhi gejala ketoksikan sebagaimana terlihat dengan semakin meningkatnya dosis menyebabkan peningkatan jumlah hewan uji yang mengalami grooming, salivasi, straub dan piloereksi serta penurunan aktifitas motorik.

Kematian pada hewan uji diduga terjadi karena kadar dosis senyawa yang ditoleransi tubuh terlampau tinggi. Aktifitas toksik metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun pepolo diduga penyebab utama kematian terutama flavonoid. Hal ini didukung dengan hasil uji penapisan fitokimia yang menunjukkan golongan senyawa flavonoid.

Flavonoid termasuk golongan senyawa fenolik. Adanya flavonoid berlebih di dalam lingkungan sel menurut Scheuer (1994) menyebabkan gugus –OH pada flavonoid berikatan dengan protein integral membrane sel. Hal ini menyebabkan terbundungnya transport aktif. Transport aktif yang terhenti menyebabkan pemasukan ion yang tidak terkendali dalam sel yang dapat menjadi penyebab kematian sel.

Dari serangkaian proses uji toksisitas akut dengan metode Thomson dan Weil yang dilakukan diperoleh hasil LD₅₀ ekstrak etanol daun pepolo sebesar 3,91 g/kgBB dan nilai rentang LD₅₀ ekstrak etanol daun pepolo adalah 2,6 g/kgBB – 5,7 g/kgBB. Dari data yang diperoleh

menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepolo bersifat cukup toksik berdasarkan tabel kriteria ketoksikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Prof. Dr. Ramadanil Pitopang, M.Si. atas bantuan dalam identifikasi tanaman Pepolo.

DAFTAR PUSTAKA

- Harmita dan Maksum. (2008). Buku Ajar Analisis Hayati edisi 3, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2010). Riset Kesehatan Dasar. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Plaza. P.R., Kamarus. Z., Sangeta. B., Simanti. D. (2014). A Review on Traditional *Bischofia javanica* Blume. Department Of Pharmaceutical sciences, Dibruharh University. Dibruharh. Assam. India.
- Putjiastuti dan Nugroho, Y.A. (2009). Uji Gelagat dan Uji Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kembang Sungsang (*Gloriosa Superba* L) Pada Hewan coba.
- Raaman. N. (2006). Phytochemical Techniques. New India Publishing Agensi. India.

Schuer. (1994). Classification of Cronik Hepatitis diagnosis. Grading and Staging. Hepatology. 19:1513-1520.

Siswandono dan Soekardjo, B. (1995). Kimia Medisinal. Airlangga University Press.

Supriyono. 2007. Pengujian Lethal Dosis (LD50) Ekstrak Etanol Biji Buah (Lansium domesticum Corr) Pada Mencit Putih (Mus musculus). Fakultas Kedokteran Hewan. IPB. Bogor.

World Health Organization (WHO). (1993). Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine. World Health Organization Manila: Regional Office for Western Pasific.

Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam. (1993). Penapisan Farmakologi Pengujian Fitokimia Dan Pengujian Klinik. Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. Jakarta.