

**UJI TOKSISITAS AKUT TEPUNG GLUKOMANAN (*A. muelleri* Blume)
TERHADAP NILAI KALIUM TIKUS WISTAR**

***Acute Toxicity Test Of Glucomannan Flour (*A. muelleri* Blume) Toward
Potassium Of Wistar Rats***

Eka Dessy Natalia^{1*}, Simon Bambang Widjanarko¹, Dian Widya Ningtyas¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: eka.natalia91@ymail.com

ABSTRAK

Porang (*A.muelleri* Blume) merupakan tumbuhan dari golongan araceae yang mengandung serat larut glukomanan cukup tinggi (15–64%) basis kering. Masalah utama yang dihadapi dalam pengembangan tepung porang adalah adanya kalsium oksalat yang menyebabkan rasa gatal dan iritasi saat dikonsumsi serta memicu terbentuknya batu ginjal. Pengujian toksisitas akut diperlukan untuk mengetahui potensi toksik akut dari tepung porang murni (tepung glukomanan). Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor. 30 ekor tikus wistar terdiri atas tikus jantan dan betina dibagi dalam 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol, pemberian tepung glukomanan dosis 40; 400; 4000; 5000 mg/kg BB tikus selama 72 jam. Parameter yang diamati adalah nilai *Lethal Dose* 50 (LD_{50}) dan kalium. Hasil penelitian selama 72 jam menunjukkan pemberian tepung glukomanan tidak menunjukkan potensi toksik akut pada seluruh kelompok, namun berpengaruh nyata terhadap nilai kalium.

Kata kunci: *A. muelleri* Blume, Glukomanan, Kalsium Oksalat, Toksisitas Akut

ABSTRACT

Porang (Amorphophallus muelleri Blume) is a shrub (herbaceous) of Araceae class which contains a quite high content of soluble fiber glucomannan (15-64%) dry basis. The main problem faced in the development of porang flour was the existence of calcium oxalate which causes intense itching, irritation and trigger the formation of kidney stones. Acute toxicity testing was required to determine the acute toxic potential of pure porang flour (glucomannan flour). The research design was Randomized Complete Design (RAL) with one factor. 30 wistar rats were consists of male and female divided into 5 groups, consists of a control group, glucomannan flour 40; 400; 4000; and 5000 mg/kg bw for 72 hours. The observed parameters were Lethal Dose 50 (LD_{50}) and potassium. The results showed that glucomannan flour did not cause acute potential, but significant effect on potassium.

Keywords: *A. muelleri* Blume, Glucomannan, Calcium Oxalate, Acute Toxicity

PENDAHULUAN

Porang (*A. muelleri* Blume) merupakan tumbuhan semak (herba) dari golongan araceae yang banyak tumbuh secara liar hampir di seluruh hutan di Indonesia. Perhutani pada tahun 2013 melaporkan produksi umbi porang khususnya di madiun rata-rata mencapai 8.100 ton per tahun [1]. Umbi porang mengandung serat larut glukomanan cukup tinggi (15–64% basis kering). Glukomanan memiliki kelebihan antara lain untuk meningkatkan fungsi pencernaan dan sistem imun, menurunkan kadar kolesterol dan gula darah, serta membantu menurunkan berat badan.

Masalah utama yang dihadapi dalam pengembangan tepung porang / tepung glukomanan sebagai bahan pangan di Indonesia adalah adanya kalsium oksalat. Umbi porang dan produk turunannya seperti: tepung porang kasar mengandung kadar kalsium oksalat yang cukup tinggi sekitar 2.1 % [2]. Kalsium oksalat pada tepung porang menyebabkan rasa gatal dan iritasi saat dikonsumsi. Efek kronis konsumsi bahan pangan yang mengandung oksalat adalah terjadinya endapan kristal kalsium oksalat dalam ginjal dan membentuk batu ginjal [3]. Hal inilah yang menyebabkan umbi porang atau tepung porang kasar tidak dapat dikonsumsi secara langsung karena dianggap beracun dan berbahaya bagi kesehatan.

Telah banyak penelitian dilakukan terkait dengan proses pemurnian pada tepung porang. Meskipun telah dilakukan proses pemurnian, kemungkinan masih terdapat potensi toksik pada tepung porang murni (tepung glukomanan). Oleh karena itu pengujian toksisitas akut tepung glukomanan penting dilakukan untuk mengetahui potensi toksik akut dengan mengukur nilai *Lethal Dose 50* (LD₅₀) dan nilai kalium hewan coba.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan untuk membuat tepung glukomanan meliputi : tepung porang kasar (TPK) dengan ukuran 120 mesh, akuades, etanol 96% (diencerkan menjadi etanol 40%, etanol 60%, etanol 80%).

Bahan yang digunakan untuk analisis kimia diperoleh dari toko kimia CV. Makmur Sejati meliputi : akuades, alkohol 96%, larutan DNS (Dinitro Salisilat), garam rosell, H₂SO₄ pekat, NaOH, Buffer Asam Format-NaOH, Larutan Glukosa Standart, CaCl₂ 0.5%. indikator methyl red, NH₄OH (1:4), HCl pekat.

Sampel untuk uji *in vivo* adalah tikus putih jenis *Rattus norvegicus* strain wistar jantan dan betina dewasa usia 3 - 4 bulan dengan berat badan 180 - 220 gram dan tepung glukomanan 120 mesh. Bahan yang digunakan untuk pakan tikus adalah jenis *Broiler Crumble 1* (BR1) diperoleh dari Gudang Ternak Sawahan, Malang.

Alat

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan tepung glukomanan meliputi : "Denver Instrument M 310", beaker glass "Pyrex", spatula kaca, *homogenizer* "Velp Scientifica", kertas saring, plastik, oven kering "WTC Binder".

Alat yang digunakan untuk analisis kadar kimia meliputi : timbangan analitik "Denver Instrument M 310", lemari asam, cawan pengabuan, desikator, *beaker glass* "Pyrex", erlenmeyer "Pyrex", labu ukur "Pyrex", pipet ukur, pipet tetes, desikator, spatula besi, hot plate, corong kaca, kertas pH, *homogenizer* "Velp Scientifica", tabung reaksi, spektrofotometer 20D Plus "LaboMed".

Alat yang digunakan untuk uji *in vivo* perawatan tikus meliputi : kandang tikus, tempat makan tikus, tempat minum tikus, serbuk gergaji, sonde, timbangan digital "CAMRY", baskom, spatula, gelas ukur, pinset, gunting, jarum pentul, alas pembedahan.

Desain Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap satu faktor yaitu dosis pemberian tepung glukomanan :

D0 : Tanpa pemberian tepung glukomanan

D1 : Tepung glukomanan dosis 40 mg/kg BB

D2 : Tepung glukomanan dosis 400 mg/kg BB

D3 : Tepung glukomanan dosis 4000 mg/kg BB

D4 : Tepung glukomanan dosis 5000 mg/kg BB

Perbedaan jenis kelamin jantan dan betina dianggap sebagai perlakuan.

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian diawali dengan proses pencucian tepung porang berukuran 120 mesh dengan pelarut etanol bertingkat [4]. Tahapan berikutnya adalah *in vivo*, yaitu pemberian dosis tunggal tepung glukomanan pada dosis yang telah ditetapkan dan diamati selama 72 jam. Pengamatan utama yang dilakukan adalah menentukan nilai LD₅₀ akibat pemberian tepung glukomanan. Tahap berikutnya proses aklimasi/pembedahan untuk memperoleh serum darah tikus yang akan dianalisis. Tahap terakhir adalah proses analisis serum darah menggunakan alat *Random Access Auto Analyser Biosystem A15* untuk mendapatkan nilai kalium pada hewan coba.

Metode Penelitian

Pencucian dengan Etanol Bertingkat [4]

Tepung porang kasar berukuran 120 mesh ditimbang dan dimasukkan ke dalam beaker gelas yang kemudian ditambahkan etanol 40% kedalamnya. Kemudian dilakukan pengadukan dengan *hotplate stirrer* dan *magnetic stirrer* dengan waktu dan kecepatan tertentu. Setelah itu larutan disaring, diambil ampasnya, dan dibuang filtratnya. Kemudian ampas ditambahkan etanol 60% dan kembali dilakukan pengadukan dan penyaringan hingga menggunakan etanol 80%. Ampas hasil pencucian kemudian dikeringkan dalam oven suhu tinggi selama ± 24 jam dan didapatkan tepung porang murni (tepung glukomanan).

Pengujian In Vivo [5]

Tikus yang telah dikelompokkan diadaptasi selama 1 minggu dan diberi pakan standar Broile Crumble 1 (BR1). Pada hari kedelapan tikus diberi tepung glukomanan secara oral (sonde) sesuai dosis yang telah ditentukan. Pemberian tepung glukomanan hanya dilakukan satu kali dan diamati dalam waktu 24 jam setelah pemberian. Jika dalam waktu 24 jam tidak ada hewan coba yang mengalami kematian/mencapai LD₅₀, maka pengamatan dilanjutkan hingga 72 jam. Jika selama perlakuan 72 jam tikus mengalami kematian sebesar 50% (LD₅₀) maka nilai LD₅₀ akan dihitung dan digunakan sebagai acuan untuk menentukan dosis aman penggunaan tepung glukomanan untuk pengujian selanjutnya. Jika setelah perlakuan 72 jam tidak ditemukan adanya kematian pada tikus, maka pengamatan dilanjutkan dengan pengujian profil serum darah tikus untuk menentukan nilai kalium dalam serum darah.

Prosedur Analisis [6]

Pemeriksaan serum darah dilakukan dengan alat *Random Access Auto Analyser Biosystem A15*. Sampel pertama kali dikalibrasi dengan NaCl 0.90 % dalam C.f.a.s (Calibrator for automated system). Kalibrator dilarutkan dengan aquabidest dan dicampur hingga homogen, dibagi dalam cup @200 μ l kemudian disimpan di freezer 2-80C. Selanjutnya ditekan panel "Calibration" dan "Status", pilih parameter yang dikalibrasi, tekan kalibrasi kemudian "Start". Setelah sampel dikalibrasi, dilakukan "Quality Control" dengan Bio-Rad sebagai berikut:

300 μ l Bio-Rad dipipet kedalam cup serum dan diletakkan pada rak kontrol yang telah ditentukan → tekan panel "Quality Control" → tekan panel "Install" → pilih jenis kontrol Bio-Rad → pilih parameter yang akan dikontrol (kalium), aktifkan → tekan panel "Active Test" → tekan "Start" 2 kali. Selanjutnya untuk pemeriksaan kadar serum darah sampel, sampel yang telah diberi kode kemudian diletakkan pada raknya masing-masing dan dilakukan langkah-langkah yang sama seperti langkah pada pengujian serum kontrol. Kemudian secara otomatis alat akan menghitung konsentrasi parameter (kalium) yang diuji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. *Lethal Dose 50 (LD₅₀)*

Lethal Dose 50 (LD₅₀) didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50 % hewan percobaan. Selama pengamatan 72 jam akibat pemberian tepung glukomanan dosis 40-5000 mg/kg bb tidak menunjukkan tercapainya kematian 50% pada hewan coba (LD₅₀). Ringkasan hasil pengamatan tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan *Lethal Dose 50 (LD₅₀)* Setelah 72 Jam

Dosis Tepung Glukomanan (mg/kg BB)	Jumlah Tikus		Jumlah Tikus mati
	Betina	Jantan	
Kontrol	3	3	0
40	3	3	0
400	3	3	0
4000	3	3	0
5000	3	3	0

Tabel 1 menunjukkan tidak ada tikus yang mati pada seluruh kelompok percobaan, sehingga nilai LD₅₀ tidak ditemukan. Hal ini diduga akibat waktu pelaksanaan percobaan yang terlalu pendek (72 jam). Selain itu, diduga tepung glukomanan yang mengandung serat pangan bermanfaat bagi kesehatan dan tidak menyebabkan toksik. Hal ini didukung oleh data gejala toksik yang tercantum pada Tabel 1. Nilai LD₅₀ pada tepung konjak (*A. konjac*) sebesar 5000 mg/kg bb hewan coba (tikus) [7]. Hasil penelitian menunjukkan tepung glukomanan masuk dalam kategori aman atau tidak toksik [8] karena dosis terbesar yang diberikan pada hewan coba lebih dari 2000 mg/kg bb yaitu sebesar 5000 mg/kg bb. Beberapa faktor yang mempengaruhi LD₅₀ antara lain kondisi lingkungan, *strain*, usia, cara pemberian bahan uji serta berat badan hewan coba [9].

2. Kalium

Kalium merupakan kation utama yang terdapat pada cairan intraseluler dalam tubuh. Rerata nilai kalium (K) akibat pemberian tepung glukomanan dosis 40–5000 mg/kg bb berkisar antara 4.40-6.80 mmol/dl. Nilai normal kalium pada tikus adalah sebesar 4.30 - 5.60 mmol/L [10]. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) antara pemberian tepung glukomanan dosis 40-5000 mg/kg dengan nilai kalium. Hasil pengamatan nilai kalium dari serum darah tikus betina dan jantan yang diberi tepung glukomanan (dosis 40-5000 mg/kg bb) setelah 72 jam tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Kalium (mmol/L) dari Serum Darah Tikus Betina dan Jantan yang Diberi Tepung Glukomanan (Dosis 40 – 5000 mg/kg bb) Setelah 72 Jam

Tepung Glukomanan (mg/kg bb)	Rerata Kalium (mmol/L)	
	Betina	Jantan
Kontrol	5.65 ab	4.43 a
40	4.74 a	4.40 a
400	4.82 a	5.60 ab
4000	4.54 a	5.23 ab
5000	6.80 b	6.67 b
Nilai DMRT 5%	2.32 – 2.67	

Keterangan: Data dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha=0.05$)

Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis pemberian tepung glukomanan maka semakin tinggi nilai kalium. Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan nyata antara kelompok kontrol dengan dosis 5000 mg/kg bb. Pemberian tepung glukomanan dosis 5000 mg/kg bb menyebabkan peningkatan nilai kalium yang melebihi nilai normal. Peningkatan nilai kalium diduga terjadi akibat adanya gangguan ekskresi kalium yang disebabkan oleh kristal kalsium oksalat yang menghalangi pembuangan kalium oleh ginjal. Jumlah kalium pada serum darah yang lebih rendah ataupun lebih tinggi dari normal, mengindikasikan adanya permasalahan pada ginjal khususnya pada bagian tubulus dalam mereabsorbi ion tersebut [11].

SIMPULAN

Tidak ditemukan kematian pada hewan coba pada seluruh kelompok akibat pemberian tepung glukomanan dosis 40-5000 mg/kg bb selama perlakuan 72 jam. Hal ini menyebabkan nilai LD₅₀ dari tepung glukomanan tidak dapat ditentukan.

Pemberian tepung glukomanan dosis 40-5000 mg/kg bb tidak mengakibatkan potensi toksik akut pada hewan coba. Namun berpengaruh terhadap nilai kalium pada hewan coba.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Perhutani, 2013. Umbi Porang Jadi Tanaman Unggulan di Madiun. <http://perumperhutani.com/2013/05/umbi-porang-jadi-tanaman-unggulan-di-madiun/> Tanggal akses : 21 / 05 / 2013.
- 2) Widjanarko, S. B., Sutrisno, A., Faridah, A. 2011. Efek Hidrogen Peroksida Terhadap Sifat Fisiko-Kimia Tepung Porang (*Amorphophallus oncophyllus*) dengan Metode Maserasi Dan Ultrasonik. *Jurnal Teknologi Pertanian* 12(3) : 143-152
- 3) Sutrisno, R. 2007. Kenali Zat Anti Gizi (5) Asam Oksalat. <http://geasy.wordpress.com/2007/06/15/kenali-zat-anti-gizi-5-asam-oksalat/> Tanggal akses : 05 / 05 / 2013
- 4) Widjanarko, S.B. 2008. Bahan Pembentuk Gel. (<http://simonbwidjanarko.wordpress.com/2008/06/23/bahan-pembentuk-gel-by-simon-bw/>). Tanggal akses : 05 /09 / 2013
- 5) Nuridayanti, E.F.T. 2011. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Rambut Jagung ditinjau dari nilai LD₅₀ dan Pengaruhnya Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal pada Mencit. Skripsi. Universitas Indonesia. Jakarta
- 6) 'Doloksaribu, B. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Kadar Ureum, Kreatinin, dan Gambaran Histopatologis Ginjal Mencit yang Dipapar Plumbum. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara. Medan
- 7) Kotkoskie, L.A., Weiner, M.L., Freeman, C., Batt, K.J., Jackson, G.C., Hardy, C.J., & Fletcher, M.J. 1992. Acute toxicity studies with konjac flour. *Toxicolo. Letters Suppl.* 281
- 8) OECD, 2002. Acute oral toxicity. Acute oral toxic class method guideline 423 adopted 23.03.1996. In: Eleventh Addendum to the OECD, guidelines for the testing of chemicals, organization for economic co-operation and development. Paris
- 9) Balls, M., James, B., Jacqueline. 1995. Animals and Alternatives in Toxicology. Great Britain at the University Press. Cambridge
- 10) Delaney, J. C. 1996. Exotic Animal Companion Medicine Handbook for Veterinarians. Zoological Education Network
- 11) Yaswir, R. dan Ira, F. 2012. Fisiologi dan Gangguan Keseimbangan Natrium, Kalium dan Klorida Serta Pemeriksaan Laboratorium. *Jurnal Kesehatan Andalas* 1(2)