

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KEREHAU (*Callicarpa longifolia* Lam.) TERHADAP MENCIT PUTIH

Submitted : 16 Nov 2015

Edited : 15 Des 2015

Accepted : 21 Des 2015

Eka Siswanto Syamsul, Desy Nur Indah Sari, Supomo

Akademi Farmasi Samarinda

Jl. A.Wahab Sjahranie No.226 Samarinda, Kalimantan Timur

Email : eka8382@gmail.com

ABSTRACT

Leaves kerehau (Callicarpa longifolia Lam.) is one of the plants used for the treatment of malaria, ulcers, diarrhea, treatment after delivery, and fever, by drinking boiled water. Report usage and security kerehau leaves are still very few. The purpose of this study to determine the potential for acute toxicity by determining the value of LD₅₀ (Lethal Dose 50) in 4 dose-rise that dose I, II, III, and IV of the ethanol extract of the leaves kerehau against this mice. The Research. Pharmacologically using experimental methods using a completely randomized design pattern is unidirectional in the selection of test animals, They are 25 mice were divided into five groups (5 mice each group), with observed 4 hours to determine the toxic symptoms and continued observation every 24 hours for 7 days to see death. Results from this study show from 4 dose levels, dose group I = 16g / kg, group II = 8g / kg, group III = 4g / kg and group IV = 2g / kg and control = 0.5 ml Na-CMC. Symptoms namely the observation of behavior and neuromuscular but not on observations of the autonomic nervous, respiratory, gastrointestinal, and skin. LD₅₀ value obtained is expressed by the LD₅₀ (16g / kg) were categorized as practically non-toxic (> 15g / kg).

Keywords : *Callicarpa longifolia Lam* , acute toxicity, LD₅₀

PENDAHULUAN

Daun kerehau merupakan salah satu tanaman berkhasiat yang tumbuh di Kalimantan Timur. Berbentuk semak cemara atau pohon kecil, batang dan cabang padat seperti bintang berbulu, daun berkelenjar, mahkota seperti mawar putih atau berwarna gelap, buah berkelenjar merah muda, spesies yang sangat variabel dan polimorfik⁽¹⁾.

Berdasarkan pengalaman empiris masyarakat, daun kerehau memiliki khasiat sebagai obat masuk angin, malaria, ulkus, diare, pengobatan setelah persalinan, demam dengan cara direbus daun dan air secukupnya sampai mendidih kemudian didinginkan dan diminum sebanyak 3 kali sehari, dan sebagai obat bengkak dengan cara ditumbuk dan ditempelkan pada bengkak kemudian dibalut dan ditutup kain penutup agar tumbukan daun dapat menempel pada bengkak. Pengobatan tanpa takaran kemungkinan besar menimbulkan kesalahan dosis karena dosis berada

pada sub terapi atau toksik. Tumbuhan kerehau memiliki metabolit sekunder (tanin, saponin, flavonoid dan alkaloid) yang memiliki aktivitas mengobati atau mengurangi inflamasi⁽²⁾.

Uji toksisitas dibedakan menjadi uji toksisitas akut, subkronik, dan kronik. Uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan *Lethal dose* atau disingkat LD₅₀ suatu zat. Uji toksisitas akut dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang diuji sebanyak satu kali, atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam⁽³⁾. Uji toksisitas akut merupakan uji pra klinik yang bertujuan mengukur derajat efek toksik suatu senyawa dalam waktu tertentu setelah pemberian dosis tunggal. Tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal pada uji toksisitas akut adalah LD₅₀, Tanaman obat harus melalui berbagai proses uji untuk keamanan konsumsinya, salah satunya uji toksisitas akut⁽⁴⁾.

Penentuan LD₅₀ penting untuk menilai potensi ketoksikan akut ekstrak daun kerehau.

Terdapat 3 metode untuk menghitung nilai LD₅₀ yaitu metode probit grafik, Weil C.S dan Farmakope Indonesia III. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kerehau ini dipilih mengingat masih belum adanya informasi ilmiah mengenai potensi toksisitas.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental yaitu percobaan yang bertujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul akibat dari adanya perlakuan tertentu. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah dalam pemilihan hewan uji yaitu mencit. Penelitian yang dilakukan mengenai pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun kerehau dengan konsentrasi dosis I, II, III, dan IV serta tanpa ekstrak sebagai kontrol negatif. Tahapan penelitian meliputi pengambilan sampel, pengolahan sampel, pembuatan ekstrak etanol daun kerehau. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu III Akademi Farmasi Samarinda.

Sample dan Teknik Sampling

Sample yang digunakan adalah daun tua yang tumbuh liar di daerah samboja, kemudian dibersihkan dan diekstraksi dengan menggunakan ekstrak etanol 70% secara maserasi kemudian dipanaskan diatas tangas air sampai terbentuk ekstrak kental. Teknik sampling yang digunakan yaitu *Purposive Sampling* dimana pengambilan sampel berdasarkan pertimbangan tertentu.

Alat dan bahan penelitian

Alat

Seperangkat alat maserasi, *beaker glass* 50, 100, 1000 ml, erlenmeyer 50, 100 ml, sonde/kanulla, neraca analitik, timbangan gram, timbangan hewan, batang pengaduk, gunting, cawan porselen, guting, pinset, spuit injeksi dan jarum ukuran 1 ml, Sarung tangan, stop watch, penangas air, wadah pengamatan.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah air suling, etanol 70%, eter, larutan NaCl 0,9%, Na-CMC, simplisia daun kerehau, mencit putih jantan, pangan mencit, ketam, alumunium foil, pasir, batu-batu, pereaksi mayer, dragendorf, bouchardat, HCl 2 N, Mg, amil alkohol, FeCl₃1%, kloroform dan HCl_(p).

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel dan Determinasi Tumbuhan Daun Kerehau

Sampel diambil di hutan daerah Kecamatan Samboja Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Sampel dideterminasi kemudian diproses menjadi simplisia. Determinasi tumbuhan daun kerehau dilakukan untuk mengetahui bahwa tumbuhan yang diambil merupakan tumbuhan yang dimaksud oleh peneliti. Determinasi dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (F-MIPA) Jurusan Biologi Universitas Mulawarman Samarinda Kalimantan Timur.

Penyiapan Simplisia Daun Kerehau

Dilakukan pengumpulan daun kerehau, kemudian di sortasi basah memisahkan dari kotoran atau benda asing, daun dicuci untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya. Kemudian pengeringan dengan cara diangin-anginkan hingga kering dan selanjutnya simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender.

Ekstraksi Daun Kerehau

Daun kerehau yang telah dihaluskan dilewatkan pada pengayak mesh 60, kemudian ditimbang sebanyak 500 g dan dimasukkan ke dalam bejana maserasi, dimaserasi dengan etanol 70%, diaduk menggunakan maserator. Ekstrak yang diperoleh kemudian diupkan sampai terbentuk ekstrak yang agak kental.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid⁽⁵⁾.

Pembuatan Suspensi Ekstrak

Untuk membuat suspensi daun kerehau (*Callicarpa Longifolia* Lam.) ditimbang 1 g ekstrak lalu dimasukkan kedalam lumpang. Kemudian digerus sambil ditambahkan sedikit demi sedikit larutan koloidal Na-CMC 0,5% b/v hingga homogen. Dimasukkan kedalam gelas ukur dan cukupkan volumenya hingga 10 ml lumpang dibilas, cairan bilasan ditambahkan kedalam gelasukur dan dicukupkan volumenya dengan larutan koloidal Na-CMC 0,5% b/v.

Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit betina sehat, aktivitas gerak lincah, bulunya bersih,

dewasa, umur 2-3 bulan dengan bobot badan mencit 20-30 g.

Penyiapan dan Perlakuan hewan uji

Disiapkan 20 ekor hewan uji. Hewan uji dibagi dalam 5 kelompok, yaitu 4 kelompok diberi perlakuan dan 1 kelompok sebagai kontrol. Tiap kelompok terdiri atas 5 ekor hewan uji.

Kelompok:

Kontrol negatif (Na-CMC 0,5%)

Ekstrak etanol daun kerehau dosis 16g/ Kg BB

Ekstrak etanol daun kerehau dosis 8g/KgBB

Ekstrak etanol daun kerehau dosis 4g/kgBB

Ekstrak etanol daun kerehau dosis 2g/KgBB

Pengujian

Dilakukan pengujian terhadap pengamatan aktivitas mencit secara umum dan uji toksisitas akut.

Pengumpulan Data

Data yang diambil dari mencit memperlihatkan gejala abnormal setelah pemberian ekstrak etanol daun Krehau dibandingkan dengan control. Data LD₅₀ diambil dari jumlah mencit yang mati dan masih hidup pada setiap kelompok.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan di determinasi di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil determinasi diperoleh bahwa sampel merupakan tumbuhan daun kerehau dengan nama *Callicarpa longifolia* lam.

Pembuatan simplisia Daun Kerehau

Daun dikeringkan secara tidak langsung dengan cara ditutup kain hitam yang dikeringkan dibawah sinar matahari, agar tidak terpapar langsung dengan sinar matahari yang dapat merusak zat aktif pada daun. Daun kerehau segar yang digunakan sebanyak 2,8 kg kemudian setelah kering penyusutan menjadi 738 g (rendemen 26,36%). Daun kerehau yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 60 yang bertujuan untuk memperkecil ukuran serbuk dan memperluas permukaan simplisia sehingga proses ekstraksi lebih efektif dan efisien.

Ekstraksi Daun Kerehau

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Sebanyak 500 g serbuk daun kerehau lalu direndam dengan cairan penyari etanol 70% sebanyak 5 L dengan perbandingan 1:10 kemudian diendapkan dan diambil maseratnya. Maserat berupa ekstrak cair ini kemudian dilakukan pemekatan dengan cara ditangas diatas penangas air. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 102 g (rendemen 20,49%). kemudian ekstrak kental digunakan untuk pengujian sesuai dengan jenis perlakuan.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kerehau

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol disajikan pada tabel 1. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel 1, dapat dilihat bahwa pada ekstrak etanol daun kerehau mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan tanin tetapi tidak mengandung golongan alkaloid karena pada pereaksi mayer dan bouchardat menunjukkan hasil negatif.

Pengujian Nilai LD₅₀ dan Potensi Ketoksikan

Pada penelitian ini, pengelompokan hewan uji dilakukan secara acak, bertujuan untuk masing-masing kelompok perlakuan memiliki kesempatan yang sama untuk dijadikan sampel. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok 1 kelompok kontrol ditambah 4 kelompok untuk 4 tingkatan dosis. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit dan ditempatkan dalam 5 kandang yang memiliki luas dan ukuran yang sama. Hewan uji diadaptasikan selama 14 hari dan ditimbang selama 7 hari terakhir sebelum diberi perlakuan untuk mengadaptasikan hewan uji pada lingkungan baru dan untuk mengetahui kesehatan mencit dan dapat digunakan sebagai hewan percobaan. Bobot hewan uji selama 7 hari sebelum perlakuan dapat dilihat pada gambar 1.

Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa masing-masing kelompok memiliki SEM (*Standar Error Mean*) yang tidak begitu besar antar varian, sehingga antar kelompok memiliki berat badan hampir homogen, terjadinya kenaikan bobot mencit setiap harinya sehingga disimpulkan bahwa mencit tersebut dalam keadaan sehat dan dapat digunakan sebagai hewan percobaan.

Sebelum diberi perlakuan hewan uji dipuasakan selama 3 jam sebelum pemejanan, 4

jam saat pengamatan dan 12 jam setelah pengamatan dengan tetap diberi minum secukupnya, hal ini dilakukan agar makanan yang ada di saluran cerna mencit tidak mempengaruhi efek dari ekstrak yang dipejankan pada mencit. Hewan uji dipejankan dengan sediaan uji dalam dosis tunggal secara oral. Dengan mempertimbangkan kemudahan dalam hal pemberian sediaan, maka sediaan uji diberikan dalam bentuk suspensi.

Pemilihan dosis yang digunakan diperoleh dari dosis maksimum yang diberikan secara teknis pada hewan uji mencit (16 g/kgBB) dengan mengacu pada tabel klasifikasi toksisitas menurut Lu (1995) atau sekitar 64 kali dosis terapi ekstrak etanol daun kerehau (250 mg/kgBB) sebagai obat anti inflamasi pada mencit ⁽²⁾.

Hasil pengamatan pada tabel 2 menunjukkan bahwa kelompok kontrol tidak ada perilaku mencit yang menunjukkan gejala toksik, sedangkan pada kelompok I sampai IV menunjukkan gejala-gejala toksik. Gejala tersebut adalah ciri-ciri yang mempengaruhi perilaku (menggaruk-garuk, menunduk dan ketakutan) dan syaraf otot (gemetar dan ekor membengkok), Sedangkan ciri toksik lainnya yang mempengaruhi syaraf otonom, pernafasan, gastrointestinal, dan kulit tidak muncul.

Uji LD₅₀ terhadap ekstrak etanol daun kerehau dilakukan untuk mengetahui pada dosis berapa ekstrak etanol daun kerehau dapat memberikan efek toksik. Efek tersebut ditandai dengan adanya kematian pada mencit yang telah diberikan ekstrak etanol daun kerehau, yang diamati selama 4 jam untuk mengetahui gejala toksik dan dilanjutkan pengamatan setiap 24 jam selama 7 hari untuk melihat adanya kematian.

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan bahwa, pada semua kelompok perlakuan tidak menimbulkan gejala kematian, walaupun kelompok I telah diberikan dosis maksimum (16g/kgBB), jika dosis maksimum tidak menimbulkan kematian pada hewan coba maka nilai LD₅₀ dinyatakan sebagai LD₅₀ semu. Dosis tertinggi (16g/kgBB) yang telah dipejankan tidak menimbulkan kematian maka termasuk dalam kategori praktis tidak toksik (>15g/kgBB), menurut Lu⁽⁶⁾, apabila ketoksikan akut (> 15g/kgBB) maka dikategorikan praktis tidak toksik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kerehau dapat dikembangkan sebagai bahan obat yang diformulasikan dalam bentuk sediaan farmasi, karena daun kerehau memiliki manfaat yang besar dan memiliki keamanan tinggi dalam penggunaannya.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kerehau

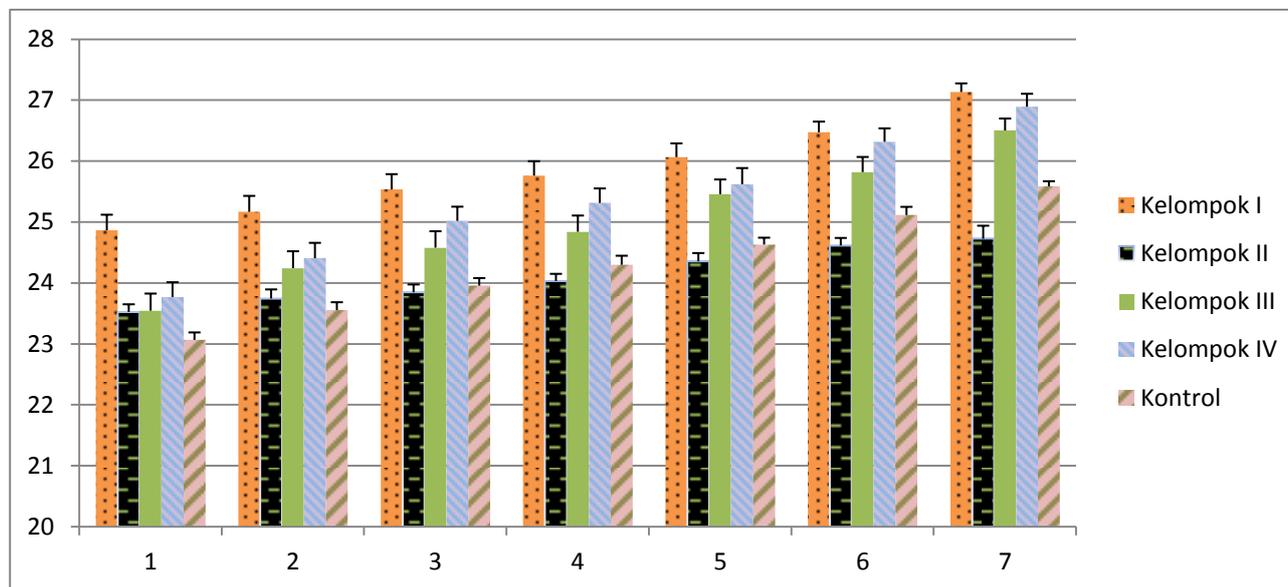
No.	Uji Senyawa	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Ket
1.	Alkaloid	Mayer	Tidak terbentuk endapan putih	(-)
		Bouchardat	Tidak terbentuk endapan	(-)
		Dragendrof	orange	(+)
2.	Flavonoid	Serbuk Mg + HCL	Terbentuk endapan merah bata	(+)
		pekat + amil alkohol	Warna jingga pada amil	
3.	Tannin	FeCl ₃ 1%	alkohol	(+)
4.	Saponin	Air panas + HCL 2 N	Warna hijau kecoklatan	(+)
			Terbentuk busa permanen	

Keterangan : (+) = mengandung golongan senyawa kimia

(-) = tidak mengandung golongan senyawa kimia

Tabel 2. Gejala Toksik Yang Muncul Pada Hewan Uji Setelah Pemejanaan Ekstrak Etanol Daun Kerehau

Kelompok	Gejala Toksik
Kontrol	-
Kelompok I	Perilaku (menggaruk-garuk, menunduk dan ketakutan) Saraf otot (gemetar, ekor membengkok)
Kelompok II	Prilaku (menggaruk-garuk dan ketakutan) Saraf otot (gemetar, ekor membengkok)
Kelompok III	Prilaku (menggaruk-garuk dan ketakutan) Saraf otot (ekor membengkok)
Kelompok IV	Prilaku (menggaruk-garuk) Saraf otot (ekor membengkok)



Gambar 1. Grafik Penimbangan Bobot Mencit

Tabel 3. Jumlah Kematian Hewan Uji Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kerehau

Kelompok	N	Jumlah Mencit Yang Mati	Respon (%)	LD ₅₀ (g/kgBB)
Kontrol	5	0	0	-
Kelompok I	5	0	0	-
Kelompok II	5	0	0	-
Kelompok III	5	0	0	-
Kelompok IV	5	0	0	-

Keterangan :

Kelompok Kontrol = dosis 0 g/kg BB

Kelompok I = dosis 16 g/kg BB

Kelompok II = dosis 8 g/kg BB

Kelompok III = dosis 4 g/kg BB

Kelompok IV = dosis 2 g/kg BB

SIMPULAN

1. Nilai LD₅₀ semu (16g/kgBB), dengan potensi ketoksikan kategori praktis tidak toksik (>15g/kgBB).
2. Ekstrak etanol daun kerehau pada kelompok kontrol tidak ada perilaku mencit yang

menunjukkan gejala toksik, sedangkan pada kelompok I, II, III, dan IV menunjukkan gejala-gejala toksik. Gejala tersebut adalah ciri-ciri yang mempengaruhi perilaku (menggaruk-garuk, menunduk dan ketakutan) dan saraf otot (gemetar dan ekor

membengkok), Sedangkan ciri toksik lainnya yang mempengaruhi syaraf otonom, pernafasan, gastrointestinal, dan kulit tidak muncul.

DAFTAR PUSTAKA

1. Quattrocchi, U. 2012. CRC World Dictionary Of Medicinal And Poisonous Plants: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, And Etymology (5 Volume Set) CMC Pres, P.P 730-731
2. Semiawan, F. Ahmad, I dan Masruhim, M.A. 2015. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia L.*) Jurnal Sains dan Kesehatan. 2015. Vol 1. No 1. p- ISSN:2303-0267, e-ISSN: 2407-6082
3. Harmita dan Radji, M. 2008. Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
4. Nurlaila, Donatus, IA. Sugiyanto, Wahyono, D. Suhardjono, D. Petunjuk Praktikum Toksikologi. 1st ed. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada; 1992. P. 3 – 5, 16 – 30
5. Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
6. Lu, F.C., 1995, Toksikologi Dasar : Asas, Organ, Sasaran, dan Penilaian Risiko. Edisi II. Jakarta: UI Press