

Uji Toksisitas Subkronis Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Mencit Putih Betina

{Sub-chronic toxicity evaluation of ethyl acetate fraction of fruit rind of “asam kandis” (*Garcinia cowa* Roxb.) against liver and kidney function of female white mice}

Fatma Sri Wahyuni¹, Intan Nedia Putri¹, & Dessy Arisanti²

¹Fakultas Farmasi Universitas Andalas

²Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Keywords:

sub-chronic toxicity;
ethyl acetate fraction;
Garcinia cowa; *cowa*
mangosteen; fruit rind.

ABSTRACT: The sub-chronic toxicity testing of ethyl acetate fraction of fruit rind of “asam kandis” (*Garcinia cowa* Roxb.) to the liver and kidney function has been carried out to female white mice. A total of 18 female white mice aged 2-3 months weighing 20-30 grams are used as test animals. Animals were divided into three groups: one control group and two treatment groups. Groups were given daily ethyl acetate fraction at the doses of 500 and 1000 mg/kg orally for 60 days. Parameters observed were the activity of SGPT and liver weight ratio to observe the liver function; serum creatinine level and kidney weight ratio to determine kidney function. Data of SGPT, serum creatinine and the weight ratio of liver and kidney were analyzed by two-way ANOVA. Results show that the activity of SGPT and serum creatinine level were directly affected by the dose ($p < 0.05$), while the organ weight ratio of liver and kidney were not affected by the dose and duration of administration ($p > 0.05$). The study concluded that the dosage of ethyl acetate fraction of the fruit rind of *G. cowa* had a significant effect on the activity of SGPT and serum creatinine level of female white mice. The duration of administration did not give a significant effect on the increase of serum creatine level as well as the organ weight ratio of liver and kidney of mice.

Kata Kunci:

toksikitas sub kronik;
fraksi etil asetat;
Garcinia cowa; asam
kandis; kulit buah.

ABSTRAK: Pengujian toksisitas subkronis fraksi etil asetat kulit buah asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap fungsi hati dan ginjal mencit putih betina telah dilakukan. Sebanyak 18 ekor mencit putih betina berusia 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram digunakan sebagai hewan uji. Hewan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan yang diberi fraksi etil asetat kulit buah asam kandis dengan dosis 500 dan 1000mg/kgBB sekali sehari secara oral selama 60 hari. Parameter yang diamati yaitu aktivitas SGPT dan rasio berat hati untuk fungsi hati dan aktivitas kreatinin serum dan rasio berat ginjal untuk aktivitas ginjal. Data aktivitas SGPT, kreatinin serum dan rasio berat organ hati dan ginjal dianalisis dengan ANOVA dua arah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas SGPT, Kreatinin serum dipengaruhi secara langsung oleh dosis ($p < 0,05$) dan untuk rasio berat hati dan ginjal tidak dipengaruhi secara langsung oleh dosis dan lama pemberian ($p > 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa dosis pemberian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis memberikan pengaruh yang bermakna terhadap aktivitas SGPT dan kadar kreatinin serum mencit putih betina. Lama pemberian tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap peningkatan kadar kreatinin serum mencit putih betina dan rasio berat hati dan ginjal mencit putih betina.

*Corresponding Author: Fatma Sri Wahyuni (Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumbar 21563). email: fatmasriwahyuni@gmail.com

Article History:

Received: 23 Mar 2017

Published: 21 May 2017

Accepted: 03 May 2017

Available online: 30 May 2017

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar. Hal ini tentu memiliki potensi dalam pengembangan obat herbal yang berbasis pada tumbuhan obat dalam usaha kemandirian di bidang kesehatan. Dewasa ini telah dilakukan penelitian dimana terdapat tumbuhan menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologi yang beraneka ragam. Beberapa senyawa yang telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antikanker, antara lain golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid, xanthon, dan kumarin [1].

Tanaman dari genus *Garcinia* (guttiferae) telah diteliti secara luas secara fitokimia dan biologis [2]. Genus *Garcinia* kaya akan metabolit sekunder terutama triterpen, flavonoid, santon dan *phloroglucinol*. Senyawa-senyawa yang telah diisolasi dilaporkan memiliki berbagai aktivitas farmakologis, seperti aktivitas antikanker, anti-inflamasi, antibakteri, antivirus, antijamur, anti-HIV, antidepresan, dan antioksidan [3].

Garcinia corwa Roxb., atau yang lebih dikenal dengan nama asam kandis, adalah pohon berukuran sedang dengan buah-buahan yang dapat dimakan, telah digunakan masyarakat sebagai obat disentri, antipiretik dan anti-inflamasi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa senyawa santon, benzofenon, dan derivat acylphloroglucinol telah berhasil diisolasi dari *G. corwa* [2,4], dimana senyawa santon sendiri telah dikenal dengan potensi efek sitotoksiknya [5]. Ekstrak etanol kulit buah asam kandis (*Garcinia corwa* Roxb.) diketahui memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D [6]. Fraksi etil asetat kulit buah asam kandis memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa dengan nilai IC_{50} $16,194 \pm 3,5019 \mu\text{g}/\text{mL}$ [7].

Sebagai bahan obat herbal baru dan akan digunakan oleh masyarakat, perlu dilakukan kajian

keamanan terhadap *G. corwa*. Meskipun obat herbal sudah dimanfaatkan sejak lama namun penggunaannya belum sepenuhnya aman, sehingga sangatlah penting mengetahui batas keamanan atau ketoksikannya. Untuk mengevaluasi suatu zat kimia perlu dikenali bahayanya dengan mengumpulkan dan menyusun data toksisitas. Keamanan obat menjadi salah satu faktor terpenting yang perlu diperhatikan dalam pengembangan dan penggunaan obat herbal. Keamanan obat juga menjadi salah satu syarat dalam pelaksanaan uji praklinik obat herbal. Uji yang biasanya dilakukan adalah uji toksisitas yang meliputi uji toksisitas akut, sub akut, sub kronik dan kronik [8]. Data ini digunakan bertujuan untuk menentukan sifat dan tempat efek toksik dan menentukan kadar tanpa efek samping yang sering disebut *no observed adverse effect level* (NOAEL). Salah satu kelebihan penelitian ini adalah kita dapat menggunakan satu atau beberapa dosis yang relatif tinggi yang dapat menginduksi tanda-tanda toksisitas. Tanda-tanda ini akan membantu menunjukkan secara tepat organ sasaran dan efek khusus yang disebabkan oleh dosis [9].

Penelitian tentang keamanan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis pada tingkat toksisitas sub akut telah dilakukan. Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa fraksi etil asetat kulit buah asam kandis aman untuk digunakan karena tidak mempengaruhi kadar SGPT hati dari mencit putih secara langsung setelah pemberian selama 21 hari, namun dipengaruhi secara bermakna terhadap besaran dosis yang diberikan. Kadar kreatinin mencit putih dipengaruhi secara bermakna oleh lama pemberian dan dosis fraksi etil asetat kulit buah asam kandis [10]. Untuk menguji keamanan fraksi lebih lanjut diperlukan pengujian lanjutan akan keamanan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis ini.

Pada penelitian ini dilakukan penelitian lanjutan yang merupakan uji toksisitas sub kronik.

Uji toksisitas subkronis adalah uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu, selama 1 sampai 3 bulan [9]. Pada pengamatan ini yang diperhatikan dalam uji toksisitas sub kronik yaitu fungsi organ seperti hati dan ginjal setelah pemberian fraksi selama 60 hari [11]. Hati merupakan organ yang berperan dalam fungsi metabolisme dan ekskresi toksik dalam tubuh [12]. Jika terjadi gangguan hati ditandai dengan peningkatan aktivitas serum transaminase berupa SGPT (*Serum Glutamic Piruvic Transaminase*) pada serum [13]. Ginjal merupakan organ sasaran utama dari efek toksik karena ginjal menghasilkan urin yang merupakan jalur utama ekskresi toksikan dan mempunyai volume aliran darah yang tinggi [14]. Salah satu indikator terjadi kerusakan ginjal adalah terjadi peningkatan atau penurunan kadar kreatinin dalam tubuh maka interpretasi klinik akan lebih cenderung pada gangguan fungsi ginjal [15].

Pada penelitian ini akan dilakukan penelitian lanjutan uji toksisitas sub kronik fraksi etil asetat kulit buah asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap mencit putih betina. Parameter yang diamati adalah penentuan aktivitas SGPT, kadar kreatinin serum serta perbandingan rasio berat organ hati dan ginjal.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 28 ekor untuk tiap kelompoknya, dan belum pernah mengalami perlakuan terhadap obat. Hewan percobaan dibagi dalam 4 kelompok yang terdiri dari 3 kelompok uji dan 1 kelompok kontrol.

Sebelum digunakan, semua mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan hewan berada pada lingkungan percobaan.

Makanan dan minuman diberikan secukupnya. Mencit yang digunakan adalah mencit yang sehat dan tidak mengalami perubahan berat badan lebih dari 10% dan secara visual menunjukkan perilaku yang normal [16].

Perencanaan Dosis dan Pengelompokan Hewan

Dosis sediaan uji yang diberikan kepada hewan uji ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya. Dosis sediaan uji yang diberikan kepada hewan uji adalah 500 dan 1000 mg/kgBB. Sediaan uji diberikan secara oral dengan frekuensi pemberian 1 kali sehari selama 60 hari [11]. Untuk kontrol hanya diberikan larutan tween 80 5%.

Hewan uji dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor mencit, dimana perlakuan dilakukan selama 60 hari. Cek kreatinin serum, SGPT dilakukan pada hari, ke-31 dan ke-61 serta diambil organ hati dan ginjal untuk menentukan rasio berat organ.

Penyiapan Sediaan Uji

Sediaan uji dibuat dengan melarutkan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis dengan menggunakan Tween 80 5% dan aquadest. Berat ekstrak yang akan dilarutkan ditimbang berdasarkan dosis yang direncanakan Volume sediaan uji yang akan diberikan secara oral ke dalam tubuh mencit adalah 1% dari berat badan. Pengambilan darah mencit dilakukan pada hari ke-31, dan ke 61 (tiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit) dengan cara memotong pembuluh darah dibagian leher [11]. Darah ditampung dengan microtube 1,5 mL, didiamkan selama 15 menit, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk mendapatkan serum. Serum dipisahkan dengan cara dipipet dan digunakan untuk pengujian SGPT, kadar kreatinin serum dan penentuan rasio berat organ hati dan ginjal.

Pemeriksaan Fungsi Hati

Pengujian pengaruh fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap fungsi hati dengan penentuan aktivitas SGPT. Sebanyak 1 mL reagen I ditambahkan ke dalam microtube serum 100 μ L (0,1 mL), kemudian didiamkan 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,25 mL reagen II hingga tercampur homogen. Setelah 1 menit, serapan diukur dengan spektrometer uv-visible pada panjang gelombang 365 nm setiap menit selama 3 menit, kemudian dihitung selisih rata-rata serapan tiap menit. Kenaikan aktivitas SGPT dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas SGPT (U/L)} = \Delta A / \text{menit} \times F$$

Keterangan:

$\Delta A / \text{menit}$: perubahan aktivitas rata-rata per menit
F: faktor 3235 (untuk pengukuran pada panjang gelombang 365 nm)

$$\Delta A / \text{menit} = \frac{(\text{Abs Tes 2} - \text{Abs Tes 1}) - (\text{Abs test 3} - \text{Abs Tes 2})}{2}$$

Pemeriksaan Fungsi Ginjal

Pengujian pengaruh fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap fungsi ginjal dengan penentuan kadar kreatinin serum. Kadar kreatinin serum diukur dengan cara memipet 50 μ L serum ke dalam tabung reaksi. Kemudian 1 mL reagen I ditambahkan ke dalam tabung dan diamkan selama 5 menit. Sebanyak 0,25 mL reagen II dicampurkan dengan baik menggunakan vortex. Pengukuran absorban sampel dilakukan dengan spektrofotometer *uv-visible* pada panjang gelombang 492 nm. Absorban sampel diukur pada menit pertama (As_1) dan pengukuran selanjutnya dilakukan pada menit ketiga (As_2). Kadar kreatinin serum ditentukan dengan rumus:

$$\text{Scr} = \frac{(As_2 - As_1)}{(Ast_2 - Ast_1)} \times 2 \text{ mg/dL}$$

Keterangan:

Scr: Kadar kreatinin dalam serum (mg/dL)

As_1 : Absorban sampel pada menit pertama

As_2 : Absorban sampel yang diukur 2 menit setelah As_1

Ast_1 : Absorban larutan standar kreatinin pada menit pertama

Ast_2 : Absorban larutan standar kreatinin pada 2 menit setelah Ast_1

2 mg/dL: Konsentrasi larutan kreatinin *standard*.

Penentuan Rasio Berat Organ Hati dan Ginjal

Pada hari ke-30 dan ke-60, (tiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit) setelah di lakukan pengambilan darah mencit organ hati dan ginjal di ambil lalu di bersihkan dan di timbang. Selanjutnya di tentukan berat organ relatif terhadap berat masing-masing hewan. Kemudian di dapatkan rasio berat organ dengan rumus:

$$\text{Rasio Berat Badan} = \frac{\text{Berat organ (g)}}{\text{Berat badan mencit (g)}}$$

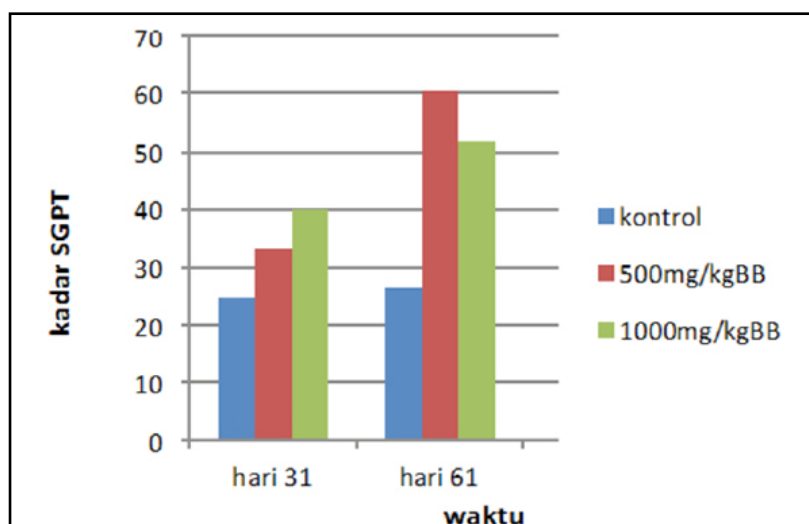
Analisis Data

Data dari hasil penelitian pada aktivitas SGPT, kadar kreatinin dan perbandingan rasio berat organ dianalisa secara statistik dengan metoda analisis variasi (ANOVA) dua arah. Analisa kemudian dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan's *Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok perlakuan.

HASIL DAN DISKUSI

Pengujian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap aktivitas SGPT mencit putih betina

Aktivitas SGPT mencit putih betina dipengaruhi secara bermakna oleh lama pemberian ($p < 0,05$) dan dosis sediaan uji ($p < 0,05$). Aktivitas



Gambar 1. Pengaruh fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap aktivitas SGPT mencit putih jantan

SGPT rata-rata kelompok mencit kontrol dan kelompok yang diberi sediaan uji dengan dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB berturut-turut adalah $25,888 \pm 3,91$, $46,918 \pm 6,56$, $48,733 \pm 5,066$, sedangkan aktivitas SGPT rata-rata pada hari ke 31, dan 61 berturut-turut adalah $32,872 \pm 3,21$, $46,198 \pm 5,71$.

Pengujian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap kadar kreatinin serum mencit putih betina

Kadar kreatinin serum mencit putih Betina tidak dipengaruhi secara bermakna oleh lama pemberian ($p > 0,05$) namun dipengaruhi secara bermakna oleh dosis ($p > 0,05$). Kadar kreatinin rata-rata kelompok mencit kontrol dan kelompok yang diberi sediaan uji dengan dosis 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB berturut-turut adalah $0,5333 \pm 0,843$, $0,640 \pm 0,95$, $0,500 \pm 0,68$. Sedangkan kadar kreatinin rata-rata pada hari ke 31, dan 61 berturut-turut adalah $5,777 \pm 0,84$ dan $5,377 \pm 0,481$.

Pengujian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap rasio berat organ hati mencit putih betina

Rasio berat organ hati dipengaruhi secara bermakna oleh lama pemberian ($p < 0,05$) tetapi

tidak dipengaruhi secara bermakna oleh dosis ($p > 0,05$). Rasio organ hati rata-rata kelompok mencit kontrol dan kelompok yang diberi sediaan uji dengan dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB berturut-turut adalah $0,406 \pm 0,003$, $0,412 \pm 0,002$, $0,034 \pm 0,007$ Sedangkan rasio organ hati rata-rata pada hari 0, $0,036 \pm 0,0015$, $0,043 \pm 0,004$.

Pengujian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap rasio berat organ ginjal mencit putih betina

Rasio berat organ ginjal tidak dipengaruhi secara bermakna oleh lama pemberian ($p > 0,05$) dan tidak dipengaruhi secara bermakna oleh dosis ($p > 0,05$). Sedangkan tidak terdapat pengaruh yang bermakna terhadap interaksi antara lama pemberian dan dosis ($p > 0,05$). Rasio organ ginjal rata-rata kelompok mencit kontrol, dan kelompok yang diberi sediaan uji dengan dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB berturut-turut adalah $0,036 \pm 0,015$, $0,012 \pm 0,001$, $0,015 \pm 0,008$. Sedangkan rasio organ hati rata-rata pada hari ke 31 dan 61 berturut-turut adalah $0,019 \pm 0,08$ dan $0,026 \pm 0,008$.

Penggunaan obat tradisional sebenarnya dapat menimbulkan efek yang tidak diharapkan. Keadaan ini ditimbulkan oleh produk yang mungkin toksik

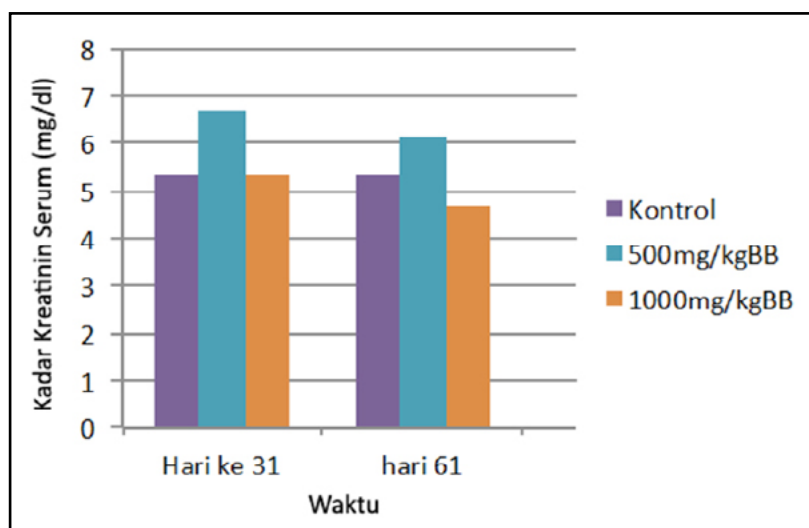
atau telah terkontaminasi. Menurut WHO efek toksik dari suatu senyawa tergantung pada dosis dan durasi pemakaian obat [17]. Pengembangan suatu obat tradisional dari tumbuhan harus terlebih dahulu diuji keamanannya sebelum diajukan sebagai fitofarmaka, karena obat tradisional ini merupakan senyawa asing bagi tubuh, sehingga sangatlah penting mengetahui ketoksikannya [19]. Untuk menilai keamanan tersebut dilakukan serangkaian uji toksisitas.

Salah satu syarat tumbuhan dapat dijadikan sebagai obat herbal adalah diuji tingkat keamanannya terlebih dahulu, diantaranya melalui uji toksisitas akut dan uji toksisitas subkronik. Toksisitas akut (jangka pendek) adalah pemberian bahan kimia ada hewan coba dengan jumlah yang semakin meningkat dalam kurun waktu 14 hari hingga hewan percobaan tersebut mati. Sedangkan toksisitas subkronik adalah pemberian bahan kimia dengan jangka waktu panjang hingga timbulnya efek yang merugikan kesehatan [20].

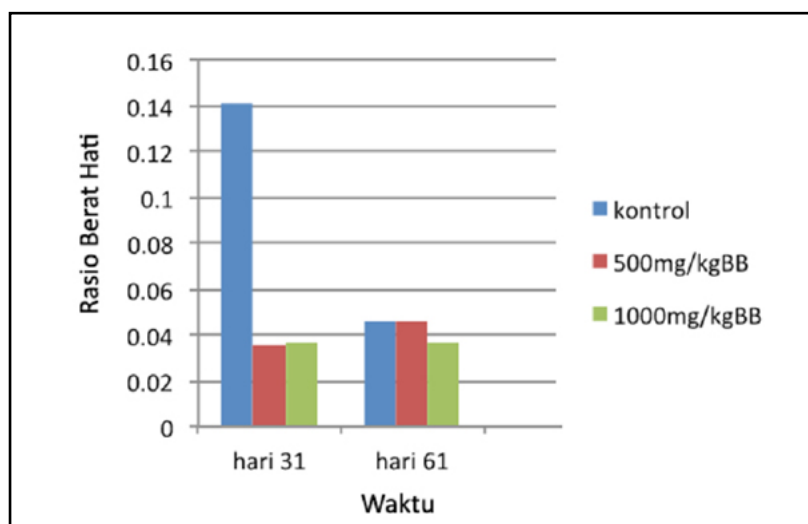
Uji toksisitas sub kronik fraksi etil asetat kulit buah asam kandis ini dilakukan sebagai penelitian lanjutan dari penelitian uji toksisitas sub akut fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap organ

hati dan ginjal mencit putih betina. Uji toksisitas sebelumnya didapatkan bahwa pada beberapa parameter seperti kadar SGPT, kadar kreatinin serum, rasio berat hati dan ginjal dipengaruhi secara bermakna oleh pemberian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis ini [10]. Pada uji subkronis ini akan mengamati dan mengevaluasi keseluruhan efek yang merugikan setelah pemberian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis dalam kurun waktu 2 bulan pada organ hati dan ginjal mencit putih betina [21]. Uji toksisitas subkronik dirancang untuk mengetahui spektrum efek toksik serta hubungan dosis dan toksisitas pada pemberian secara berulang dalam jangka waktu 2 bulan (90 hari) [22].

Sediaan uji yang digunakan adalah fraksi etil asetat dari kulit buah asam kandis (*Garcinia corwa* Roxb). Berdasarkan penelitian sebelumnya telah dilakukan pemeriksaan kandungan metabolit sekunder terhadap kulit buah asam kandis menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid dan fenolik [7]. Fraksi etil asetat kulit buah asam kandis (*Garcinia corwa* Roxb.) memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa dengan nilai IC_{50} $16,194 \pm 3,5019 \mu\text{g/mL}$ [7]. Dengan



Gambar 2. Pengaruh fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap kadar kreatinin serum mencit putih betina



Gambar 3. Hasil penelitian pengaruh fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap rasio berat organ hati mencit putih betina

melihat besarnya IC_{50} yang dimiliki fraksi etil asetat kulit buah asam kandis ini memungkinkan bahwa fraksi ini memiliki potensi sebagai anti kanker.

Pada penelitian ini hewan yang digunakan adalah mencit putih betina. Faktor hormonal yang terdapat pada mencit betina tidak mengganggu parameter yang digunakan pada penelitian sehingga mencit betina dapat digunakan sebagai hewan uji. Mencit juga mempunyai waktu pengujian pendek, hewan mudah didapat, mudah dalam pemeliharaan dan perlakuan, dapat beradaptasi dengan baik terhadap keadaan laboratorium, memerlukan zat uji dalam jumlah kecil dan biaya lebih terjangkau dibandingkan dengan hewan lainnya. Pemberian obat diberikan secara oral karena tidak menyakitkan bagi hewan serta sesuai dengan penggunaan yang biasa dilakukan oleh manusia [14].

Penentuan dosis dalam penelitian ini dilakukan dengan mengikuti penelitian uji toksisitas subakut yang telah dilakukan sebelumnya [10]. Hewan dikelompokkan menjadi empat kelompok uji dengan masing masing dosis kontrol, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB. Adanya kelompok kontrol bertujuan untuk membandingkan hasil kelompok uji sehingga dapat melihat adanya

perbedaan yang nyata antara hewan uji yang diberi perlakuan.

Organ vital yang diamati pada penelitian ini adalah organ hati dan ginjal. Hati merupakan organ vital yang terlibat dalam proses metabolisme tubuh. Hati juga mempunyai peranan penting dalam proses detoksifikasi. Hati dapat mengaktifkan atau menonaktifkan zat zat yang masuk ke dalam tubuh. Ginjal juga merupakan organ yang vital bagi tubuh, oleh sebab itu sering dijadikan parameter pengamatan untuk uji toksisitas suatu obat. Ginjal mempunyai aliran darah yang besar karena berfungsi menjaga homeostatik tubuh dengan cara mengatur keseimbangan elektrolit tubuh, mengatur keseimbangan asam basa, dan mengatur osmolaritas tubuh. Ginjal mengekskresikan zat terlarut dan membuang hasil metabolisme sehingga zat zat yang kiranya tidak berguna bagi tubuh akan dibawa ke ginjal dalam jumlah yang besar.

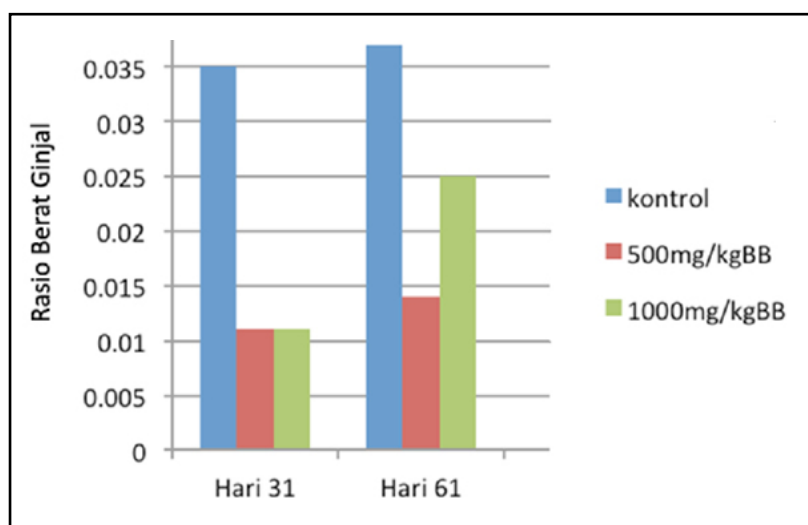
Parameter yang digunakan untuk melihat fungsi hati adalah kadar *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT). SGPT merupakan enzim aminotransferase yang dibuat dalam sel hati (hepatosit) sehingga keberadaannya hanya terdapat pada organ hati. Bila terjadi kerusakan enzim

ini akan keluar dari sel hati dan masuk kedalam sistem peredaran darah. Adanya enzim ini di darah mengindikasikan adanya kerusakan sel-sel hati [23]. Paramater yang digunakan untuk melihat fungsi ginjal dapat berupa peningkatan kadar kreatinin darah. Kreatinin ada 2 yaitu kreatinin serum dan kreatinin klirens. Pada penelitian ini kadar kreatinin serum merupakan metoda spesifik untuk melihat aktifitas organ ginjal. Kreatinin merupakan hasil metabolisme otot, dan diekskresikan secara konstan melalui ginjal. Sehingga kerusakan ginjal, akan berdampak pada kadar kreatinin serum.

Penggunaan dosis pada penelitian ini berubah dari rancangan dosis yang akan digunakan sebelumnya. Sebelumnya dosis yang dirancang adalah kontrol, dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB. Pada perjalanan penelitian diketahui bahwa hewan uji tidak mampu bertahan hidup bila diberikan dosis 2000 mg/kgBB. Dari 20 hewan uji yang disediakan untuk kelompok dosis uji 2000 mg/kgBB. Hanya 3 ekor hewan uji yang dapat bertahan hidup. Hal ini dimungkinkan terjadi karena dosis terlalu tinggi sehingga toksik untuk hewan uji. Pada penelitian

sebelumnya dikatakan bahwa hewan uji mampu bertahan pada dosis 8000 mg/kgBB [10]. Namun kenyataan yang ditemui pada penelitian ini, hewan uji tidak dapat bertahan hidup setelah pemberian berulang dosis 2000 mg/kgBB. Hal ini dapat terjadi karena pada penelitian pendahuluan, dosis tinggi hanya diberikan sekali. Dan pada penelitian ini, dosis yang diberikan memang tidak setinggi dosis saat uji pendahuluan, namun karena pemberian di berikan berulang membuat terjadinya akumulasi pada tubuh hewan uji dan menyebabkan toksik kepada hewan uji.

Pengamatan lain yang terlihat pada penelitian uji toksistas subkronik fraksi etil asetat kulit buah asam kandis ini adalah terjadinya perubahan warna mata pada 1 bagian mata pada hewan uji yang diberi perlakuan dosis 1000 mg/kgBB. Perubahan terjadi di akhir masa hidup hewan uji. Awalnya mata hewan uji akan berubah warna menjadi lebih pucat dan akhirnya tertutup. Terjadinya penurunan fungsi pengelihatan ini kemungkinan disebabkan oleh dosis pemberiaan sediaan uji yang tinggi sehingga berpengaruh kepada mata hewan uji. Penurunan bobot berat badan juga ditemukan pada kelompok ini. Penurunan bobot berat badan



Gambar 4. Hasil penelitian pengaruh fraksi etil asetat kulit buah asam kandis terhadap rasio berat organ hati mencit putih betina

kemungkinan terjadi karena sediaan uji yang terlalu asam sehingga melukai saluran cerna hewan uji dan menyebabkan hewan uji kehilangan nafsu makan.

Bila diamati, hewan uji yang sehat dan dapat bertahan hidup kebanyakan ditemukan pada kelompok yang diberikan sediaan uji sebesar 500 mg/kgBB. Pada kelompok ini berat badan hewan uji tidak menunjukkan penurunan yang signifikan. Dan banyak nya hewan uji yang bertahan hidup lebih banyak daripada hewan uji kelompok dosis 1000 mg/kgBB. Hal ini kemungkinan terjadi karena perbedaan kadar dosis yang diberikan. Hal-hal diluar harapan yang terjadi pada penelitian ini kemungkinan terjadi karena pemilihan dosis yang terlalu besar untuk sediaan uji yang menggunakan fraksi. fraksi berbeda dengan ekstrak, fraksi merupakan bentuk yang sederhana dari ekstrak sehingga sebaiknya pada penggunaan fraksi dosis yang digunakan juga kecil.

Aktivitas SGPT pada organ hati dilihat dengan mereaksikan darah mencit dengan reagen I dan reagen II. Serapan dari kedua reaksi ini akan dilihat dan dibaca serapannya di bawah mikroskop. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis dengan variasi dosis kontrol, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB pengamatan dilakukan pada hari ke 31 dan 61. Parameter yang dilihat untuk mengetahui fungsi hati hewan uji adalah kadar SGPT. Kadar SGPT dapat menggambarkan kerusakan hati yang disebabkan oleh sediaan uji.

Menurut hasil pengolahan statistik hasil yang didapat dari perhitungan kadar SGPT bahwa aktivitas SGPT dipengaruhi secara bermakna oleh dosis juga dipengaruhi secara bermakna oleh lama waktu pemberian. Namun interaksi antar dosis dan lama pemberian tidak mempengaruhi kadar SGPT secara bermakna. Setelah dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Terlihat bahwa terdapat perbedaan

nyata antara letak subset dari kontrol dan dosis 500 mg/kgBB juga 1000 mg/kgBB. Sedangkan untuk dosis 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB tidak terdapat perbedaan bermakna aktivitas rata rata kadar SGPT karena masih terletak pada subset yang sama. Artinya tidak ada pengaruh atau efek yang bermakna yang terjadi akibat pemberian dosis yang berbeda. Terjadinya perbedaan aktivitas rata rata kadar SGPT untuk kelompok kontrol dan kelompok yang diberi sediaan dikarenakan pada dosis kontrol tidak diberikan sediaan uji. Sediaan uji meningkatkan proses metabolisme hati hewan uji sehingga terjadinya kerusakan hati dan sel sel hati mengalami lisis. Enzim GPT yang dimana dalam keadaan normal berada di dalam sel saat terjadinya lisis sel hati akan keluar dan masuk ke dalam sirkulasi darah, sehingga kadar SGPT menjadi tinggi dalam darah. Dengan hasil uji lanjut ini menandakan bahwa dengan bertambahnya dosis yang diberikan memberikan peningkatan SGPT kepada hewan uji.

Menurut penelitian uji toksisitas subakut sebelumnya dikatakan bahwa tidak adanya pengaruh yang berarti terhadap dosis maupun waktu pemberian terhadap kadar SGPT. Setelah dilakukan uji toksisitas subkronik baru diketahui bahwa pemberian sediaan uji secara berulang dapat memberikan peningkatan kadar SGPT kepada hewan uji.

Berdasarkan pengujian statistik dengan uji analisis variasi dua arah dari data pengujian fungsi ginjal diketahui bahwa kadar kreatinin dipengaruhi secara bermakna oleh dosis ($p < 0,05$). Selain itu interaksi antara faktor lama pemberian dan dosis sediaan uji tidak memberikan pengaruh yang bermakna ($p < 0,05$). Setelah dilakukan uji lanjut Duncan's *Multiple Range Test* (DMRT) terhadap faktor dosis memang terjadi perbedaan aktivitas kadar kreatinin serum pada kelompok kontrol dan kelompok dosis.

Pada penelitian ini nilai kreatinin serum yang

diberi ekstrak menunjukkan aktifitas rata rata kreatinin serum yang lebih tinggi dibandingkan dengan aktifitas rata rata kreatinin serum kontrol. Aktifitas rata rata kreatinin serum yang diberikan sediaan uji meningkat mungkin dikarenakan dosis pemberian sediaan uji yang tinggi dan pemberian sediaan uji yang cukup lama sehingga metabolit hasil metabolisme sediaan uji terakumulasi di ginjal dan membuat sel sel epitel nefron terluka. Kreatinin serum seharusnya tidak ditemukan pada darah. Kreatinin serum adalah hasil metabolisme pada otot yang seharusnya dikeluarkan dari luar tubuh. Bila sel sel nefron ginjal rusak kreatinin serum yang seharusnya dibuang akan masuk kembali kedalam tubuh dan ikut dalam aliran darah. Tingginya kadar kreatinin serum pada darah merupakan indikasi bahwa terjadinya penurunan fungsi ginjal pada hewan uji.

Pada penelitian uji toksisitas sub akut yang telah dilaksanakan sebelumnya dikatakan bahwa aktifitas kreatinin serum berhubungan secara nyata dengan dosis dan lamanya pemberian. Namun pada penelitian uji toksisitas subkronik yang telah dilakukan, lamanya pemberian uji tidak berhubungan dengan peningkatan kadar kreatinin serum. Dapat dikatakan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan kepada hewan uji, maka akan meningkatkan kadar kreatinin serum pada hewan uji.

Rasio organ hati juga diamati sebagai parameter pada penelitian ini hal ini dikarenakan karena organ hati merupakan organ yang juga sensitif terhadap paparan toxisan. Dengan menggunakan uji statistik ANOVA diketahui bahwa tidak adanya hubungan antara lama pemberian sediaan uji terhadap rasio berat hati. Begitu juga terhadap faktor dosis dan interaksi antar keduanya. Dapat dikatakan bahwa sediaan uji tidak berpengaruh terhadap peningkatan atau penurunan berat dari organ hati walaupun bila ditinjau dari kadar SGPT, sediaan uji dapat meningkatkan kadar SGPT.

Rasio organ ginjal juga menjadi salah satu parameter pada penelitian ini. Hasil analisa statistik untuk rasio berat ginjal mengatakan bahwa tidak ada hubungan yang berarti antara besaran dosis yang diberikan. Begitu juga terhadap lama pemberian maupun interaksi antara lama pemberian dan besaran dosis. Sedangkan pada penelitian sebelumnya dikatakan bahwa peningkatan rasio berat ginjal dipengaruhi oleh faktor lama pemberian. Perbedaan antara hasil ini kemungkinan karena tidak seragamnya berat badan pada penelitian sebelumnya.

KESIMPULAN

Dosis pemberian fraksi etil asetat kulit buah asam kandis memberikan pengaruh yang bermakna terhadap aktivitas SGPT dan terhadap kadar kreatinin serum mencit putih betina. Lama pemberian tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap peningkatan kadar kreatinin serum mencit putih betina. Lama pemberian dan dosis pemberian tidak memberikan pengaruh bermakna terhadap rasio berat hati dan ginjal mencit putih betina.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan terutama kepada Universitas Andalas yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Klaster Riset Guru Besar No 23/UN.16/HKRGB/LPPM/2016,

DAFTAR PUSTAKA

1. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. (2003). Pneumonia Komuniti: Pedoman Diagnosa dan Penatalaksanaan di Indonesia, Perhimpunan Dokter Paru Indonesia.
2. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2013). Profil Kesehatan Indonesia 2013. Jakarta: Departemen Kesehatan.
3. World Health Organization (WHO). Rational Use of Medicines. 2012 . Diakses dari http://www.who.int/medicines/areas/rational_use/en/

4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2012). Profil Kesehatan Indonesia 2011. Jakarta: Departemen Kesehatan.
5. Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat. (2013). Profil Kesehatan Provinsi Sumatera Barat Tahun 2012. Padang: Dinas Kesehatan.
6. Departemen Kesehatan RI, Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinis. (2005). Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Infeksi Saluran Pernapasan. Jakarta.
7. Bahry, B. (1989). Kesenjangan Peresepan Pada Anak. Prosiding: Kongres Nasional VII Ikatan Farmakologi Indonesia, Yogyakarta Oktober 1989, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.
8. Jukemura, E. M., Burattini, M. N., Pereira, C. A., Braga, A. L., & Medeiros, E. A. (2007). Control of multi-resistant bacteria and ventilator-associated pneumonia: is it possible with changes in antibiotics?. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 11(4), 418-422.
9. Huang, K. T., Tseng, C. C., Fang, W. F., & Lin, M. C. (2010). An early predictor of the outcome of patients with ventilator-associated pneumonia. *Chang Gung Med J*, 33(3), 274-282.
10. Departemen Kesehatan RI. (2009). Pelayanan Kesehatan Anak di Rumah Sakit, Pedoman Bagi Rumah Sakit Rujukan Tingkat Pertama di Kabupaten/Kota, Jakarta.
11. Suharjono, Y.T, Sumarno, Semedi J. (2009). Studi penggunaan antibiotika pada penderita rawat inap pneumonia (penelitian di sub Departemen Anak Rumkital Dr. Ramelan Surabaya). *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 6(3), 142-155.
12. Advisedly, A.T., Berawi, M.M. (2014). Antibiotic Utilization Of Pneumonia In Children of 0-59 Months Old in Puskesmas Kemiling Bandar Lampung Period Januari-October 2013 (Skripsi). Lampung: Faculty of Medicine Lampung University.
13. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). Pedoman Umum Penggunaan Antibiotika. Jakarta: Kementerian Kesehatan.
14. Darmansjah, I. (2008). Penggunaan Antibiotika pada Pasien Anak. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 58(10).
15. Priyanto. (2009). Farmakoterapi dan Terminologi Medis. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi, Jawa Barat.
16. Jawetz, E. (1984). Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan, Edisi 16. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
17. Anonim. (2010). Efek Samping Obat. Yogyakarta: Farmakologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
18. Worokarti. (2005). Peran Farmasis Dalam Pengelolaan Penderita Penyakit Infeksi Untuk Mencegah Timbulnya Resistensi Antimikroba. In: Naskah Lengkap Simposium Penyakit Infeksi dan Problema Resistensi Antimikroba. Surabaya: AMRIN Study Group and Infectious Disease Center dan FKUA RSU Dr. Soetomo. hal.55-69.
19. Ostapchuk, M., Donna, M.R., Richard, H.M.D., (2004). Community-Acquired Pneumoni in Infant and Children, *Journal of The American Academy of Family Physicians*.
20. Nugroho, F., Pri I.U., Ika Y. (2011). Evaluasi Penggunaan Antibiotika Pada Penyakit Pneumonia Di Rumah Sakit Umum Daerah Purbalingga (Skripsi). Purwokerto: Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
21. Kaparang, P.C., Tjitrosantoso, H., & Yamlean, P.V.Y. (2014). Evaluasi Kerasionalan Penggunaan Antibiotika Pada Pengobatan Pneumonia Anak Di Instalasi Rawat Inap RSUP Prof. DR. R. Kandou Manado Periode Januari-Desember 2013. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(3), 247-254.
22. Shargel. (1988). Biofarmasetika dan Farmakokinetik Terapan, Edisi. 2, Penerjemah Fasich dan Siti Syamsiah. Surabaya: Penerbit Universitas Airlangga.
23. Dipiro, J.T., Robert, L.T., Gary, C.Y., R.M., Barbara, G.W., Michael Posey. (2011). *Pharmacotherapy; A Pathophysiology approach*, Eight Ed. Mc GrawHill Companies.