

**UJI TOKSISITAS AKUT FRAKSI ETIL ASETAT
BATANG DAN DAUN PACAR AIR (*Impatiens balsamina* Linn) TERHADAP
TIKUS PUTIH BETINA GALUR SPRAGUE DAWLEY**

Nia Anzini, Indri Kusharyanti, Siti Nani Nurbaeti

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak

ABSTRACT

Impatiens balsamina Linn has been proven through various studies to have pharmacological benefits. Yet there was no research data regarding the toxicity of these plants. The purpose of this study was to determine the acute toxicity of symptoms that occur after oral administration of ethyl acetate fraction from stems and leaves of *Impatiens balsamina* Linn, determine the LD₅₀ values and toxicity category compounds in the fraction. This study employed OECD (Organization for Economic, Cooperation and Development) 425 method. Parameters observed qualitatively through the observations of the food and drink intakes and change of body everyday weight during a period of 14 days and microscopic examination of liver and kidney. The results of the study showed no symptoms of toxicity arising from qualitative observations. LD₅₀ value of ethyl acetate fraction of stems and leaves of *Impatiens balsamina* Linn was more than 2000 mg/kg body weight, which belongs to moderately toxic. Also, a paired t-test concluded that there was no significant differences occurring among the amount of food and drink intakes and body weight changes before and after treatment. Likewise, based on statistical test using One Way ANOVA showed no significant difference in food intakes and body weight changes in the treatment group and control animals ($p > 0,05$), and no significant difference of daily drinking intakes between control group and treatment group with distilled water ($p > 0,05$). While, there was a significant difference between the control rats and the CMC treatment ($p < 0,05$). Based on the results of the scoring damage to liver and kidney showed the ethyl acetate fraction of stem and leaves of *Impatiens balsamina* Linn histologically caused liver damage, but not for the kidney of the test animals.

Keywords: acute toxicity, ethyl acetate fraction, *Impatiens balsamina* Linn, OECD 425

ABSTRAK

Tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) telah dibuktikan melalui berbagai penelitian memiliki efek farmakologis yang beragam. Namun belum ada data penelitian mengenai ketoksikan tanaman tersebut. Adapun tujuan penelitian ini adalah mengetahui gejala ketoksikan akut yang terjadi pasca pemberian oral fraksi etil asetat batang dan daun pacar air, menentukan nilai LD₅₀ serta mengetahui kategori ketoksikan senyawa. Metode yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada pedoman OECD (*Organization for Economic, Cooperation and Development*) 425. Parameter yang diamati adalah parameter kualitatif gejala ketoksikan, jumlah konsumsi makan, minum dan perubahan bobot badan harian selama 14 hari pengamatan, serta mikroskopik organ hati dan ginjal. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat gejala ketoksikan yang muncul dari pengamatan kualitatif. Nilai LD₅₀ fraksi etil asetat batang dan daun pacar air yaitu >2000 mg/kg BB yang termasuk kategori toksik sedang. Berdasarkan uji beda disimpulkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap jumlah konsumsi makan, minum dan perubahan bobot badan sebelum dan setelah perlakuan. Berdasarkan uji statistik menggunakan One Way

ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap konsumsi makan dan perubahan bobot badan hewan kelompok perlakuan dan kontrol ($p > 0,05$), tidak ada perbedaan yang signifikan pada konsumsi minum harian antara kelompok perlakuan dengan kontrol aquadest ($p > 0,05$) dan terdapat perbedaan signifikan antara tikus kontrol CMC dan perlakuan ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil *scoring* kerusakan hati dan ginjal menunjukkan fraksi etil asetat batang dan daun pacar air secara histologi merusak organ hati, namun tidak menyebabkan kerusakan ginjal hewan uji

Kata kunci: toksisitas akut, fraksi etil asetat, *Impatiens balsamina* Linn, OECD 425

PENDAHULUAN

Pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) berasal dari India, namun tanaman ini juga banyak terdapat di Indonesia. Secara empiris, tanaman pacar air digunakan untuk mengobati penyakit bisul, keputihan, fraktur dan inflamasi, mempermudah persalinan, mengobati kanker saluran pencernaan, nyeri haid, memperlancar haid, radang usus buntu kronis, hipertensi dan berbagai manfaat lainnya (Hariana, 2008). Berdasarkan penelitian, efek farmakologi yang diperoleh dari tanaman pacar air diantaranya adalah antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* serta aktivitas analgesik dan antiinflamasi pada ekstrak daun pacar air, menurunkan berat prostat serta memperbaiki gambaran histologi prostat pada mencit model Benign Prostatic Hyperplasia dengan infusa batang pacar air, menghambat enzim testosterone 5 α -reduktase oleh bagian petal dan batang pacar air dan sebagai antioksidan menggunakan seluruh bagian tanaman pacar air (Adfa, 2008, Soerjono, 2011, Ishiguro, dkk., 2000, Baskar, dkk., 2012, Debashree, 2013, dan Wang, dkk., 2011). Hal ini mengindikasikan bahwa tanaman pacar air berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat tradisional.

Kandungan yang diketahui terdapat pada tanaman pacar air diantaranya adalah naphthoquinone yang terdiri dari lawsone methyl ether, methylene-3,3-bilawsone dan 2-methoxy-1,4-naphthoquinone, stigmasta-7,22-diene-3 β -ol (spinasterol), kaempferol dan quercetin, tanin, flavonoid, steroid dan

saponin (Wang, dkk., 2011, Ding, dkk., 2008, Sakunphueak dan Panichayupakaranant, 2010, Lim, dkk., 2007). Adfa dan Panichayupakaranant berhasil mengisolasi beberapa senyawa dari fraksi etil asetat daun dan kultur akar pacar air yang merupakan senyawa golongan kumarin dan kuinon, yaitu 6-metoksi,7-hidroksi kumarin (skopoletin), 1,4-naftokuinon yang tersubstitusi gugus metoksi dan lawsone (Adfa, 2006; Adfa, 2008; Depkes, 2007). Keaktifan senyawa toksik kumarin sering dimanfaatkan sebagai pestisida. Selain itu senyawa turunan kumarin yaitu dicoumarol dapat menyebabkan perdarahan, paralisis bahkan kematian apabila kandungannya melebihi 10 ppm (Cornel, 2010). Pemberian oral dosis tunggal kumarin telah dibuktikan oleh Lake, yang menyebabkan nekrosis hati dengan dosis berkisar antara 125-500 mg/kg berat badan tikus. Lake juga melaporkan nilai LD₅₀ pemberian oral senyawa kumarin pada berbagai strain tikus, yaitu 290-680 mg/kg berat badan yang tergolong kategori sangat toksik hingga toksik sedang (Lake, 1999). Sementara itu berdasarkan laporan uji toksisitas akut dari Opinion of The Scientific Committee on Cosmetic Product and Non-Food Products Intended for Consumers, nilai LD₅₀ senyawa lawsone (golongan kuinon) pada tikus betina Sprague Dawley (SD) adalah 570 mg/kg berat badan dan tergolong toksik sedang (*Opinion Of The Scientific Committee On Cosmetic Products And Non-Food Products Intended For Consumers*, 2002). Berdasarkan hasil penelitian

tersebut, fraksi etil asetat batang dan daun pacar air memiliki potensi untuk menyebabkan ketoksikan. Oleh karena itu dilakukan uji toksisitas terhadap fraksi tersebut. Salah satu uji ketoksikan yang dapat dilakukan adalah uji toksisitas akut.

Tujuan dari uji toksisitas akut ini adalah untuk menentukan Lethal Dose (LD_{50}). Berdasarkan nilai LD_{50} tersebut ditentukan kategori ketoksikan senyawa dan dilihat parameter gejala ketoksikan yang terjadi. Dengan adanya uji tersebut diharapkan dapat diperoleh batas aman pengonsumsi suatu bahan agar tidak terjadi efek toksik.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, bejana maserasi (wadah kaca), neraca analitik (Precisa TYP 320-9410-003), bulb filler, hot plate (Schott Instrument[®]), oven (Mettler[®]), waterbath (Mettler TYP WNB-14), desikator, rotary evaporator (Heidolph[®]), stetoskop, cawan penguap, sonde oral, peralatan bedah dan mikroskop cahaya (AxioCam[®]).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia batang dan daun pacar air (*Impatiens balsamina* Linn), metanol teknis, etil asetat pro analisis, aquadest, n-heksan pro analisis, reagen skrining fitokimia, Carboxy Methyl Cellulose (CMC) serta bahan histopatologi organ.

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley (SD) sehat. Sampel diperoleh secara random yang memenuhi kriteria inklusi yaitu tikus putih SD betina, tidak hamil, berumur 2-3 bulan, berat badan 120-144 g, sehat dan tidak cacat secara fisik. Sementara itu kriteria eksklusinya adalah tikus yang sakit sebelum perlakuan, mengalami

penurunan bobot badan secara signifikan selama masa adaptasi, hamil dan terdapat kelainan secara fisik.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Simplisia ditimbang dengan perbandingan batang:daun sebesar 2,5:1. Setelah itu, simplisia dimasukkan kedalam bejana maserasi dan ditambahkan metanol 96% sambil sesekali diaduk. Pelarut diganti secara berkala dan maserat disimpan dalam wadah kaca. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dan water bath. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemen ekstrak. Ekstrak kental selanjutnya difraksinasi.

Fraksinasi dilakukan secara berturut-turut menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Lapisan etil asetat dikumpulkan dan di water bath hingga kering. Hasil fraksi yang telah kering kemudian ditimbang dan dihitung rendemen fraksi.

Skrining Fitokimia

1. Uji Tabung

Uji tabung yang dilakukan adalah uji alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, triterpenoid dan steroid, saponin, kuinon dan kumarin (Trease, 2002; Harborne, 1987; Robinson, 1991; Soebagio, 2007; Sawant, 2013).

2. Uji Kromatografi Lapis Tipis

a. Uji Kuinon

Fraksi etil asetat dilarutkan dalam etil asetat pro analisis secukupnya. Selanjutnya larutan ekstrak ditotolkan pada plat KLT. Eluen yang digunakan adalah kloroform, n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 8:1:1. Nilai R_f yang diperoleh dibandingkan dengan R_f standar (Borkowski, 2012).

b. Uji Kumarin

Fraksi etil asetat dilarutkan dalam etil asetat pro analisis secukupnya. Selanjutnya larutan ekstrak ditotolkan pada plat KLT. Eluen yang digunakan

adalah n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 3:1. Ketika dilihat pada UV 366 nm bercak noda tersebut nampak berwarna biru (Borkowski, 2012).

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Tikus diadaptasikan selama 5 hari, kemudian dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok aquadest (1 ekor), kelompok CMC (1 ekor) dan kelompok perlakuan (7 ekor). Kelompok CMC diberikan CMC 1% dan kelompok perlakuan diberikan suspensi fraksi etil asetat dalam CMC 1% dengan dosis 2000 mg/kg BB (dosis limit test). Sebelum perlakuan, hewan uji dipuasakan sepanjang malam, namun tetap diberi minum ad libitum. Setelah dilakukan pemberian pada tiap kelompok percobaan, hewan belum boleh diberikan makan hingga terhitung 4 jam setelah waktu pemberian. Seluruh kelompok hewan uji diamati gejala ketoksikan yang terjadi pada 30 menit, 4 jam setelah perlakuan serta satu kali dalam 24 jam selama 14 hari. Parameter kualitatif yang diamati yaitu perubahan kulit dan bulu (kemerahan dan bengkak), membran mukosa (jaundisme, kemerahan), sistem respirasi (takipnea, bradipnea), mata (ptosis, exophthalmus), sistem saraf autonom (salivasi, diare), sistem sirkulasi (bradikardi, takikardi), pola perilaku (sedasi, agresif), somatomotor (tremor, konvulsi, paralisis dan koma). Selain itu juga dihitung jumlah konsumsi makan dan minum harian serta perubahan bobot badan harian selama 14 hari.

Tikus perlakuan dosis sebanyak 2 ekor digunakan untuk pengamatan tambahan yang akan dibedah pada hari ke-1 dan 7. Tikus pengamatan selama 14 hari (5 ekor) kemudian diterminasi pada hari ke-14 untuk diambil organ hati dan ginjal. Selanjutnya dibuat preparat histologi, diamati kerusakan organ dengan mikroskop dan dilakukan scoring terhadap kerusakan organ tersebut. Pengamatan terhadap organ hati dilakukan terhadap sel hepatosit dengan

parameter degenerasi hidropik, degenerasi lemak dan nekrosis. Scoring derajat kerusakan organ hati dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1	Skor	Penetapan	Derajat
Kerusakan Hati			
Tingkat Kerusakan		Skor	
Tidak ada lesi		0	
Lesi setempat		1	
Lesi di beberapa tempat		2	
Lesi merata		3	

(Sumber: Swaryana, dkk., 2012)

Sementara itu pada organ ginjal diamati 100 tubulus proksimal, dihitung jumlah sel tubulus proksimal yang mengalami kerusakan serta dihitung persen (%) kerusakan sel tubulus tersebut. Parameter yang diamati adalah dilatasi sel tubulus, nekrosis, hilangnya brush border, protein cast dan vakuolisasi sel. Scoring derajat kerusakan ginjal dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2	Skor	Penetapan	Derajat
Kerusakan Ginjal			
Persentase kerusakan	Tingkat kerusakan		
0%	0		
≤ 10%	1		
11% - 25%	2		
26% - 45%	3		
46% - 75%	4		
> 76%	5		

(Sumber: Sadis, dkk., 2007)

Analisis Data

Data sebelum dan sesudah perlakuan diuji dengan *paired t-test* untuk data parametrik dan Mann Whitney untuk data non parametrik. Selanjutnya dilakukan analisis untuk membandingkan kelompok kontrol dan perlakuan menggunakan One way ANOVA dengan *Multiple comparison* LSD untuk data

parametrik dan Kruskall-Wallis dengan pos hoc Wilcoxon untuk data non-parametrik. Data scoring kerusakan hati dan ginjal ditampilkan dalam bentuk grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstrak dan fraksi

Rendemen ekstrak metanol batang dan daun pacar air adalah 13,72%. Hasil penetapan susut pengeringan didapatkan bahwa ekstrak tergolong ekstrak kental dengan persentase susut pengeringan sebesar 25,02%. Rendemen fraksi etil asetat batang dan daun pacar air sebesar 9,08%.

Skrining fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak metanol dan fraksi etil asetat batang dan daun pacar air ditampilkan pada Tabel 3.

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

a. Kuinon

Berdasarkan hasil uji kromatografi terhadap ekstrak metanol dan fraksi etil asetat batang dan daun pacar air, setelah dielusi terdapat noda berwarna merah bata pada plat KLT ketika dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Nilai Rf pada ekstrak metanol adalah sebesar 0,65 sementara pada fraksi etil asetat sebesar 0,65. Berdasarkan literatur, nilai Rf 0,66 menunjukkan senyawa 2-methoxy 1,4-naphtoquinone (Panichayupakaranant, 2001).

b. Kumarin

Berdasarkan hasil uji kromatografi terhadap ekstrak metanol dan fraksi etil asetat batang dan daun pacar air, terdapat noda berwarna kecoklatan pada plat keduanya setelah dielusi. Noda pada plat tersebut berpendar warna biru ketika dilihat pada lampu UV 366 nm (Borkowski, 2012). Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat batang dan daun pacar air terdapat senyawa kumarin.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol dan Fraksi Etil Asetat Batang Daun Pacar Air

Pemeriksaan	Hasil	
	Ekstrak metanol	Fraksi etil asetat
Alkaloid	-	-
Fenol	+	+
Tanin	-	-
Flavonoid	+	+
Triterpenoid	+	+
Saponin	+	-
Kuinon	+	+
Kumarin	+	+

Keterangan : (+) = mengandung golongan senyawa yang dimaksud

(-) = tidak mengandung golongan senyawa yang dimaksud

Penentuan LD₅₀

Berdasarkan hasil uji statistik, diperoleh nilai LD₅₀ fraksi etil asetat batang dan daun pacar air sebesar 2000 mg/kg BB yang tergolong dalam kategori senyawa toksik sedang (*moderately toxic*).

Pengamatan Parameter Kualitatif Terhadap Hewan Uji

Secara umum, selama 30 menit setelah pemberian fraksi tikus terlihat lebih agresif dan detak jantung meningkat. Hal ini diduga disebabkan karena adanya trauma pasca pemberian

secara oral. Sementara itu, parameter lainnya normal. Pada pengamatan 4 jam pertama setelah pemberian fraksi, feses hewan terlihat kehitaman jika dibandingkan dengan sebelum pemberian fraksi (konsistensi feses normal). Hal ini diduga disebabkan hasil metabolisme senyawa yang terdapat dalam fraksi etil asetat batang dan daun pacar air yang dikeluarkan melalui feses dan mempengaruhi intensitas warna feses. Pada pengamatan 24 jam berikutnya, warna feses sudah normal kembali.

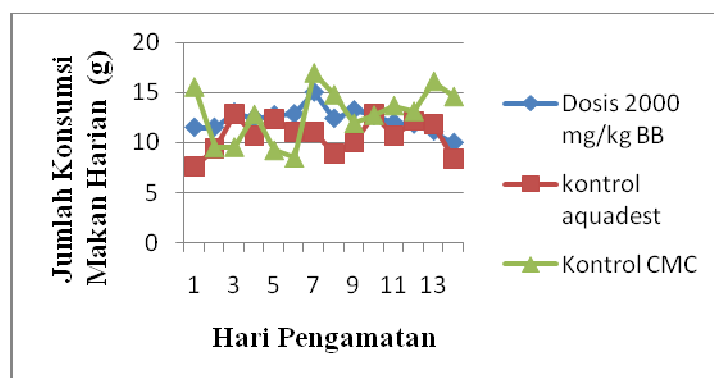
Pengukuran Jumlah Konsumsi Makan

Jumlah konsumsi makan harian dapat dilihat pada Gambar 1. Secara umum pola garis pada grafik antara tikus kontrol dan perlakuan memiliki kesamaan. Selain itu juga dapat dilihat dari posisi titik antara satu hewan dengan hewan lain yang tidak berbeda signifikan. Setelah dilakukan analisis statistik, tidak

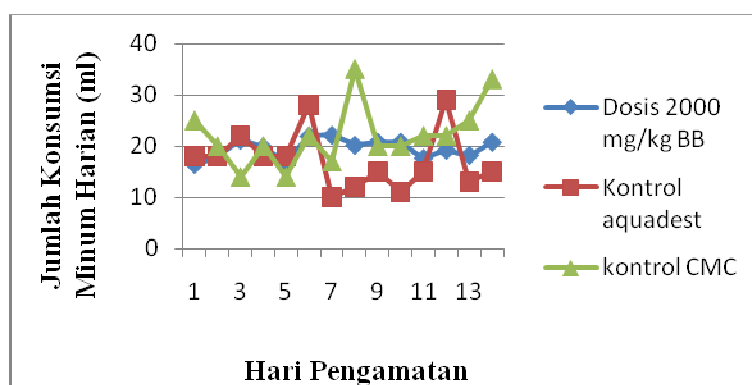
terdapat perbedaan yang signifikan antara tikus perlakuan dan kontrol ($p>0,05$).

Pengukuran Jumlah Konsumsi Minum

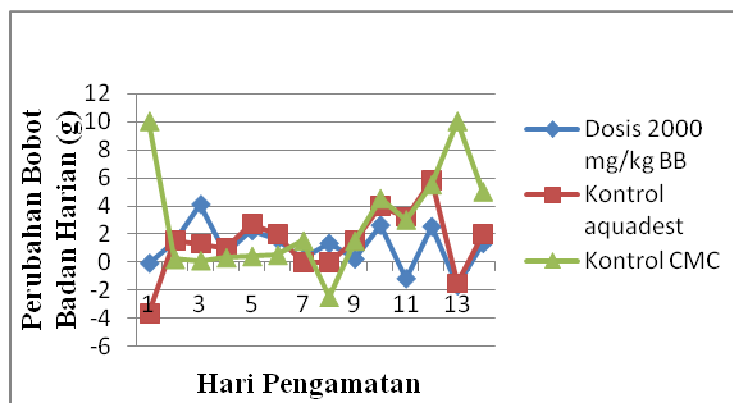
Secara umum tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah konsumsi minum tikus. Setelah dilakukan analisis statistik, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara tikus perlakuan dan kontrol aquadest ($p>0,05$), namun terdapat perbedaan yang signifikan antara tikus kelompok perlakuan dan kontrol CMC ($p<0,05$). Berdasarkan studi literatur, tikus yang hanya diberikan CMC mengalami reabsorpsi air yang rendah di saluran pencernaan serta peningkatan jumlah ekskresi urin sehingga tikus tersebut seringkali mengalami dehidrasi dan mengalami peningkatan jumlah konsumsi minum (Greig, 1999). Jumlah konsumsi minum harian dapat dilihat pada Gambar 2.



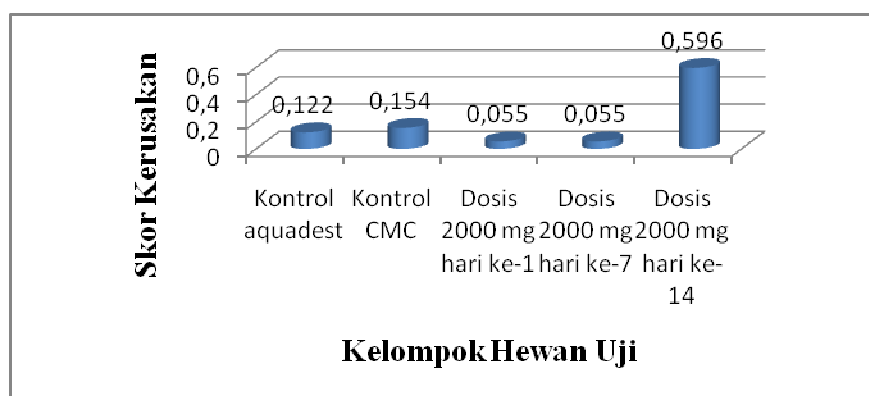
Gambar 1. Jumlah konsumsi makan harian hewan perlakuan dosis 2000 mg/kg BB, kontrol aquadest dan kontrol CMC



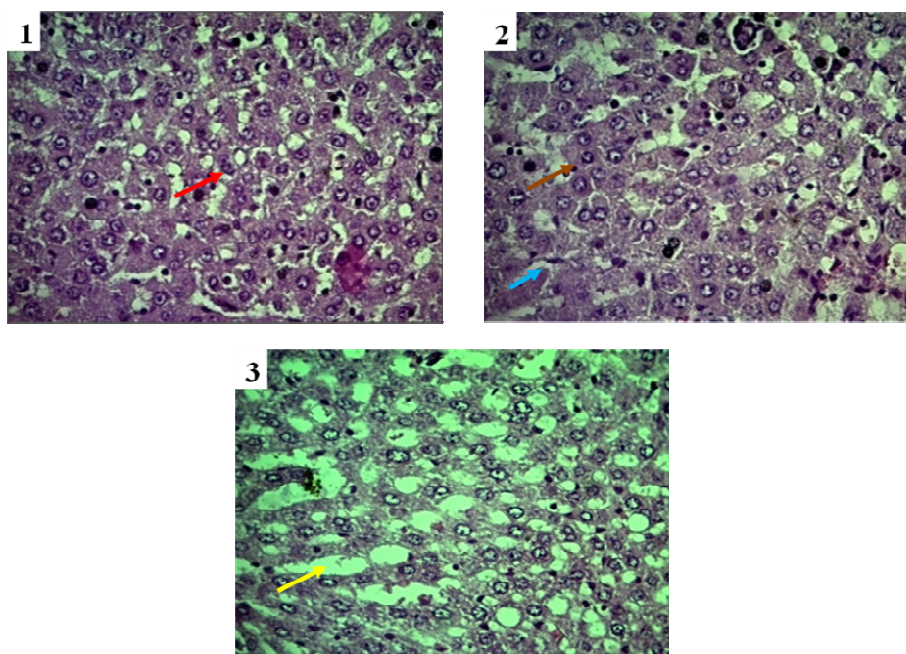
Gambar 2. Jumlah konsumsi minum harian hewan perlakuan dosis 2000 mg/kg BB, kontrol aquadest dan kontrol CMC



Gambar 3. Perubahan bobot badan harian hewan perlakuan dosis 2000 mg/kg BB, kontrol aquadest dan kontrol CMC



Gambar 4. Scoring Kerusakan Hati yang Terjadi pada Tiap Kelompok Hewan Uji



Gambar 5. Gambaran Kerusakan pada Organ Hati Tikus, menggunakan Mikroskop Cahaya Perbesaran 400×: 1. Kontrol aquadest; 2. Kontrol CMC; 3. Tikus perlakuan dosis 2000 mg/kg BB hari ke-1;

▲ = sel hepatosit normal; ▲ = degenerasi hidropik; ▲ = degenerasi lemak; ▲ = Nekrosis.

Pengukuran Perubahan Bobot Badan Harian

Secara umum tidak ada perbedaan yang signifikan antara tikus perlakuan dan kontrol terhadap perubahan bobot badan jika dilihat berdasarkan grafik. Berdasarkan analisis statistik yang telah dilakukan disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol ($p < 0,05$). Perubahan bobot badan dapat dilihat pada gambar 3.

Histopatologi organ hati dan ginjal

Derajat kerusakan hati

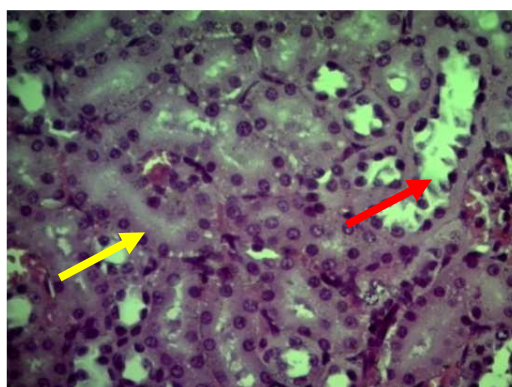
Berdasarkan scoring yang telah dilakukan, kerusakan paling tinggi terdapat pada perlakuan dosis fraksi etil asetat pada hari ke-14. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian fraksi etil asetat batang dan

daun pacar air terhadap histologi hati hewan uji. Scoring kerusakan hati dapat dilihat pada gambar 4, sementara bentuk kerusakan yang terjadi dapat dilihat pada gambar 5.

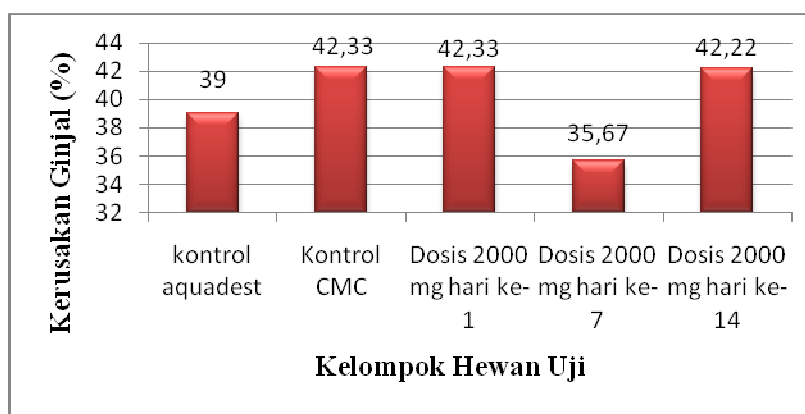
Derajat Kerusakan Ginjal

Pada semua kelompok hewan uji, kerusakan yang terjadi pada tubulus proksimal sebagian besar adalah hilangnya brush border. Gambaran mikroskopik kerusakan ginjal hewan uji dapat dilihat pada gambar 6.

Nilai kerusakan tersebut diplot dalam grafik dan dapat dilihat pada gambar 7. Berdasarkan grafik tersebut terlihat bahwa skor kerusakan diseluruh kelompok perlakuan dosis tidak berbeda signifikan yang menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian fraksi etil asetat batang dan daun pacar air terhadap histologi ginjal hewan.



Gambar 6 Gambaran Kerusakan pada Ginjal Tikus, menggunakan Mikroskop perbesaran 400×.
 ↑ = tubulus proksimal normal; ↑ = hilangnya brush border,



Gambar 7 Grafik Kerusakan Ginjal yang Terjadi pada Tiap Kelompok Hewan

Kerusakan yang terjadi pada tikus kontrol diduga disebabkan oleh beberapa faktor luar yang tidak bisa dikendalikan, seperti kondisi stres, mikroorganisme yang mungkin mencemari pakan dan minum, polutan diudara serta radikal bebas. Radikal bebas dapat bersumber dari dalam tubuh (endogen) dan luar tubuh (eksogen). Kelebihan radikal bebas sering disebut stress oksidatif yang dapat berdampak buruk pada tubuh. Sumber internal radikal bebas dalam tubuh meliputi proses transpor elektron di mitokondria, proses fagositosis yang menghasilkan radikal superoksi (O_2^-), radikal hidroksil ($OH^\cdot$) dan peroksida, oksidasi hemoglobin, penggunaan O_2 yang berlebih oleh enzim sitokrom P_{450} dan reaksi Fenton. Sementara itu, sumber radikal bebas dari luar dapat melalui polutan, peroksida dan fusi homolisis H_2O_2 di lingkungan. Ketika radikal bebas didalam tubuh berada dalam jumlah berlebih dan tidak dapat ditanggulangi dengan antioksidan alami tubuh, maka akan terjadi stress oksidatif (Priyanto, 2010). Salah satu senyawa yang dihasilkan dari reaksi oksidasi sel tubuh adalah radikal hidroperoksil (ROOH).

ROOH yang dihasilkan akan bermigrasi kepermukaan membran sel. ROOH mudah mengalami dekomposisi menghasilkan senyawa malonil dialdehid (MDA) dan senyawa aldehid lainnya yang bersifat merusak membran sel (Priyanto, 2010). Membran sel sangat penting bagi fungsi reseptor. Terjadinya peroksidasi membran lipid mengakibatkan hilangnya fungsi sel secara total dan lebih lanjut menyebabkan kematian pada sel (nekrosis) (Evans, 2000). Sementara itu, senyawa eksogen yang diduga berpengaruh terhadap terjadinya degenerasi hidropik pada sel hepatosit hewan uji adalah kuinon.

Kuinon dapat menerima elektron dari rantai respirasi. Proses ini dapat menghasilkan pembentukan radikal bebas dan merusak mitokondria. Aktivitas kuinon menyebabkan cyanide-resistant

respiration, yaitu kurangnya pasokan oksigen dalam proses respirasi. Contoh senyawa kuinon yang telah terbukti menyebabkan cyanide-resistant respiration adalah cyanide-resistant respiration. Selain itu, senyawa 1,4-naftokuinon dan 2-hidroksi-1,4-naftokuinon dapat menyebabkan penurunan jumlah glutation. Sementara itu, glutation berperan penting dalam detoksifikasi senyawa xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh. Penurunan jumlah glutation ini menyebabkan kematian pada sel hepatosit (Ollinger dan Brunmark, 1991). Gangguan pada organel mitokondria juga menyebabkan gangguan dalam produksi Adenosin Triposphat (ATP). ATP dibutuhkan agar pompa natrium berjalan lancar. Kadar natrium intrasel dipelihara oleh pompa natrium yang energinya bergantung pada ATP. Bila ATP tidak dihasilkan maka natrium tidak terpompa keluar dari sel. Natrium bersifat menarik air sehingga jika air terakumulasi ke dalam sel, akibatnya sel membengkak karena kenaikan isoosmotik air intrasel. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya degenerasi hidropik (Rippey, 1994).

Gangguan fungsi mitokondria yang disebabkan oleh senyawa kuinon diduga juga menyebabkan degenerasi lemak pada hepatosit hewan uji. Fungsi mitokondria dalam mekanisme selular tubuh salah satunya adalah metabolisme lemak. Adanya gangguan pada mitokondria ini menyebabkan sintesis dan sekresi lemak tidak seimbang, akibatnya lemak akan terakumulasi dalam sel parenkim hepar (Wulandari, dkk., 2007). Berdasarkan laporan uji toksisitas akut dari Opinion of The Scientific Committee on Cosmetic Product and Non-Food Products Intended for Consumers (2002), nilai LD_{50} senyawa lawsone (golongan kuinon) pada tikus betina Sprague Dawley adalah 570 mg/kg berat badan dan tergolong toksik.

Selain senyawa kuinon, senyawa kumarin juga diduga menyebabkan

kerusakan secara histologi pada hepatosit tikus. Senyawa kumarin secara *in vivo* terbukti dapat menyebabkan necrosis centrilobular yang parah dan secara klinis meningkatkan marker hepatic injury (sorbitol dehydrogenase/SDH) dan alanin aminotransferase (ALT) terhadap tikus dan mencit. Selain itu, senyawa kumarin juga dapat menyebabkan hepatic hypertrophy (Born, dkk., 2000). Kumarin dapat menyebabkan nekrosis pada hati tikus dan meningkatkan aktivitas transaminase plasma pada mencit strain DBA/2 (Lake, 1999). Ketoksikan yang terjadi akibat kumarin diduga disebabkan metabolitnya yang toksik. Adapun jalur metabolisme utama yang terjadi pada tikus dan rodensia lainnya adalah jalur 3,4-epoksida. Melalui jalur ini dihasilkan O-hidroksifenilasetaldehid (HPA) (Born, 2000). Metabolit tersebut akan terikat secara kovalen dengan protein mikrosomal, menurunkan produksi glutation untuk mendetoksifikasi senyawa xenobiotik dan menghasilkan nekrosis sentrilobular. Pada tikus jantan galur wistar, pemberian oral kumarin dengan dosis 125-500 mg/kg BB dilaporkan terjadi deplesi kelompok sulfhidril non-protein di hati yang merupakan glutation primer. Setelah 24 jam terjadi nekrosis seiring dengan peningkatan plasma transaminase (Lake, 1984). LD₅₀ senyawa kumarin pada berbagai strain tikus dilaporkan sebesar 290-680 mg/kg berat badan yang tergolong kategori sangat toksik hingga toksik (Lake, 1999).

Analisis Kerusakan Ginjal

Gambar 7 menunjukkan bahwa kontrol CMC memiliki tingkat kerusakan yang lebih tinggi dibandingkan kontrol aquadest. Sebuah studi menyatakan bahwa pemberian konsumsi CMC terhadap tikus dapat meningkatkan volume urin, ekskresi sodium dan kalsium (Newberne, dkk., 1988). Hal ini menyebabkan kerja ginjal semakin besar sehingga memungkinkan terjadinya

peningkatan kerusakan ginjal. Sementara itu, kerusakan yang terjadi pada kontrol aquadest dapat disebabkan oleh faktor lain yang tidak dapat dikontrol, seperti kondisi stres hewan uji. Kondisi stres menyebabkan penurunan aliran darah ke ginjal (Baron, 2003). Hal ini mengakibatkan ginjal kekurangan suplai oksigen. Kurangnya jumlah oksigen di ginjal dapat menyebabkan terjadinya hipoksia. Sel tubulus ginjal yang mengalami hipoksia lebih mudah mengalami gangguan fungsi.

Tubulus proksimal dan distal secara intrinsik lebih peka terhadap hipoksia. Hipoksia ginjal menginduksi hilangnya polaritas epitel sepanjang tubulus proksimal dan induksi selektif fragmentasi DNA pada gen growth-response (memicu apoptosis) (Kelly, dkk., 1994). Selain itu, stress oksidatif juga dapat memicu kerusakan pada ginjal melalui produksi ROS. ROS yang berlebihan dapat memicu inflamasi pada jaringan, lipid dan protein yang merupakan komponen utama penyusun sel dalam jaringan. ROS yang meningkat didalam ginjal juga disebabkan oleh aktivitas enzim protease yang memecah protein yang ada pada ginjal. Semakin tinggi aktivitas protease, semakin tinggi pula produksi ROS dalam ginjal (Wati, dkk., 2013).

Selain itu, sepsis yang terjadi pada ginjal juga dapat mengakibatkan kerusakan pada organ tersebut. Sepsis adalah sindrom kompleks yang dihasilkan sebagai respon dari suatu organisme terhadap infeksi melalui pelepasan sitokin, aktivasi jalur pro dan antiinflamasi, koagulasi dan aktivasi endotelial yang selanjutnya menghasilkan disfungsi multiorgan (Chertow, dkk., 2005). Adanya infeksi mikroorganisme diudara mungkin dapat menyebabkan terjadinya sepsis sehingga terjadi kerusakan pada hewan uji. Parameter paparan infeksi mikroorganisme dilingkungan tidak dapat dikontrol.

Kondisi paparan dalam penelitian ini adalah jalur paparan ekstrasvaskuler yakni secara oral, jenis paparan akut dan dosis paparan 2000 mg/kg BB. Melalui jalur paparan secara oral, setelah zat kimia masuk ke saluran pencernaan selanjutnya dilakukan metabolisme oleh hati, lalu didistribusikan ke seluruh tubuh. Proses distribusi ini memungkinkan zat atau metabolit aktifnya sampai pada tempat kerja (reseptor). Zat kimia tersebut akan berinteraksi direseptornya dan dampaknya menimbulkan efek tertentu. Efek toksik akan muncul jika interaksi dari zat kimia atau metabolitnya terjadi secara berlebihan yang disebabkan jumlah yang berlebihan pada reseptor. Pada sisi lain, zat kimia dapat mengalami metabolisme menjadi senyawa non aktif dan dieksresikan yang dapat mengurangi jumlah zat kimia dalam sel sasarannya (Priyanto, 2010). Wujud efek toksik yang tampak berupa perubahan struktural meliputi degenerasi lemak, hidropik dan nekrosis. Sifat efek toksik berupa nekrosis adalah irreversibel, sementara itu degenerasi dapat bersifat *reversibel* maupun *irreversibel*. Namun perlu dilakukan studi lebih lanjut apakah kerusakan yang terjadi hanya bersifat reversibel atau tidak dan mengetahui efek penggunaan jangka panjang terhadap organ hati dan organ lainnya.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah terdapat ketoksikan akut yang ditimbulkan oleh fraksi etil asetat batang dan daun pacar air, terutama pada organ hati. Nilai LD₅₀ fraksi etil tersebut adalah >2000 mg/kg BB yang tergolong kategori toksik sedang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adfa, M., 2006. 6-Metoksi, 7-hidroksi kumarin dari daun pacar air (*Impatiens balsamina* Linn.). *J Gradien*. 2. (2). 183-186.

2. Adfa, M., 2008. Senyawa antibakteri dari daun pacar air (*Impatiens balsamina* Linn). *J Gradien*. 4. (1). 318-322.
3. Baron, W.F., Boulpep, E.L., 2003 *Medical Physiology*. Philadelphia. Saunders.
4. Baskar, N., Devi, P., Jayakar, B., 2012. Evaluation of antioxidant activity of ethanol extract of *Erythrina variegata* and *Impatiens balsamina* on chromium (VI) induced oxidative stress in albino rats. *International Journal of Research in Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 1. (1). 31-34.
5. Borkowski B. Thin layer chromatography in the pharmaceutical analysis. www.intechopen.com. Dalam Szewczyk K, Bogucka A. Analytical methods for isolation, separation and identification of selected furanocoumarins in plant material. 2012. [Dikutip 12 September 2014]: 70-1.
6. Born SL, Caudill D, Smith BJ, et al. In vitro Kinetics of coumarin 3,4-epoxidation: application to species differences in toxicity and carcinogenicity. *Toxicol Scie*. 2000; 58: 23-31.
7. Chertow GM, Burdick E, Honour M, et al: Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol* 16: 3365-3370, 2005.
8. Cornell University Department of Animal Science. Plants poisonous to livestock. 2010. [Dikutip: 20 Desember 2013]. Tersedia dari: <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/kumarin.html>
9. Debashree N, Subhalakshmi A, Rita S, Pfuzza A. Study of analgesic and anti-inflammatory effects of *Impatiens balsamina* leaves in albino rats. *International J Pharma and Bio Sciences*. Apr 2013; 4 (2): 581-7.

10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 381/MENKES/SK/IIK/2007 Tentang Kebijakan Obat Tradisional Nasional. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007
11. Ding ZS, Jiang FS, Chen NP et al. Isolation and identification of an anti-tumor component from leaves of *Impatiens balsamina*. *Molecules*. 2008; 13, ISSN 1420-3049: 220-229.
12. Donatus IA. Toksikologi Dasar. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta. 2001: 27, 35, 37.
13. Evans WJ. Vitamin E, Vitamin C and exercise. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72: 647S-52S.
14. Greig J.B. Sodium carboxymethyl cellulose, enzymatically hydrolysed. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization. 1999.
15. Harborne J.B. Metode fitokimia. Bandung: Penerbit ITB; 1987: 102, 111, 147, 238.
16. Hariana HA. Tumbuhan obat dan khasiatnya seri 2. Cetakan 5. Jakarta: Penebar Swadaya; 2008. Hal 151-2.
17. Ishiguro K, Oku H, Kato T. Testosterone 5 α -reductase inhibitor bisnaphthoquinone derivative from *Impatiens balsamina*. *J Phytotherapy Research* [Internet]. Feb 2000. 14 (1): 54-6. Tersedia dari: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(200002\)14:1%3C54::AID-PTR540%3E3.0.CO;2-Q/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099-1573(200002)14:1%3C54::AID-PTR540%3E3.0.CO;2-Q/abstract)
18. [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(200002\)14:1%3C54::AID-PTR540%3E3.0.CO;2-Q/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099-1573(200002)14:1%3C54::AID-PTR540%3E3.0.CO;2-Q/abstract)
19. Kelly KJ, William JJr, Colvin, et al. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Jan 18; 91(2): 812-6. Tersedia dari : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7904759>.
20. Lake, BG. Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: relevance for human risk assessment. *Food and Chemical Toxicology* [Internet]. Apr 1999; 37(4): 423-53. Tersedia dari: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691599000101>
21. Lake BG. 1984. Investigations into the mechanism of coumarin-induced hepatotoxicity in the rat. *Arch Toxicol*. 1984; 7: 16-29. Tersedia dari : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6595978>.
22. Lim YH, Kim IH, Seo JJ. In vitro activity of kaempferol isolated from the *Impatiens balsamina* alone and in combination with erythromycin or clindamycin against *Propionibacterium acnes*. *J Microbiology*. Okt 2007; 45 (5): hal. 437-77.
23. Lu FC. Basic toxicology: fundamentals, target organs and risk assessment. New York: Informa Healthcare USA. 2009. In <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105003405>.
24. Newberne PM, Conner MW, Estes P. The influence of food additives and related materials on lower bowel structure and function. *Toxicol Pathol* [Internet]. 1988; 16(2): 184-97. Tersedia dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3055228>.
25. Ollinger K, Brunmark A. Effect of hydroxy substituent position on 1,4-naphthoquinone toxicity to rats hepatocytes. *J Bio Chem*. 1991; 32 (15): 21.496-503.
26. Opinion Of The Scientific Committee On Cosmetic Products And Non-Food Products Intended For Consumers. Evaluation and opinion on: Lawsone. European Commission. 2002.

27. Panichayupakaranant P. Naphtoquinone formation in *Impatiens balsamina* cell cultures. *Pharmaceutical Biology*. 2001; 39 (1). 1-4.
28. Priyanto. Toksikologi. Jakarta: Penerbit Leskonfi; 2010. Hal. 8-15,54, 151-2, 155-8.
29. Rippey JJ. General pathology. Witwaesrand University Press. Perth Western Australia. 1194: 19-31.
30. Robinson T. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Penerjemah : Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB; 1991
31. Sadis C, Teske G, Stokman G, et al. Nicotine protect kidney from renal ischemia/reperfusion injury through the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Journal of Plos ONE*. 2007. [Dikutip 16 Januari 2013]: 2 (5).
32. Sakunphueak A, Panichayupakaranant P. Simultaneous determination of three naphthoquinones in the leaves of *Impatiens balsamina* L by Reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Phytochem Anal*. 11 Mei 2010; 21: 444-50.
33. Sawant RS, Godghate AG. Qualitative phytochemical screening of rhizomes of *Curcuma longa* Linn. *International J Sci Envi Tech*. 2013; 2 (4): 634-41.
34. Soebagio B, Rusdiana T, Khairudin. Pembuatan Gel Dengan Aqupec HV-505 dari Ekstrak Umbi Bawang Merah (*Allium cepa*, L.) Sebagai Antioksidan. Seminar Penelitian Dosen. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. 5 Desember 2007: 1-12.
35. Soerjono SB. Efek infusa batang pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) terhadap berat dan gambaran histopatologi prostat mencit model Benign Prostatic Hyperplasia (BPH). 2011.
36. Swaryana, I, I wayan S, Ketut B. Perubahan histopatologi mencit (*Mus musculus*) yang diberikan ekstrak daun *Asgelica keisei*. *Buletin Udayana*; 2012 [Dikutip 14 jan 2014]; 2: 119-125.
37. Trease, G.E. dan Evans, W.C. *Pharmacognosy*. London: Baillier Tindal; 1978: 353, 357.
38. Wang YC, Li WY, Wu DC, Wang JJ, Wu CH, Liao JJ, et al. In Vitro Activity of 2-methoxy-1,4-naphthoquinone and stigmasta-7,22-diene-3 β -ol from *Impatiens balsamina* L. against multiple antibiotic-resistant *Helicobacter pylori*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011: 1-8.
39. Wati IP, Aulanni'am, Mahdi C. aktivitas protease dan gambaran histologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca induksi Cyclosporine-A. *J Kim Stud*. 2013; 1 (2): 257-63.
40. Wulandari T, Harini M, Listyawati S. Pengaruh ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap struktur mikroskop anatomi hepar dan kadar glutamat piruvat transaminase serum mencit (*Mus musculus*) yang terpapar diazinon. *Biotek*. 2007; 4(2): 53-8.