

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL KLIKA JAMBU MEDE (*Anacardium occidentale* L.) PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)

Faridha Yenny Nonci, Muh. Rusdi, Isrul Zul Fajrin La Mohan L.

Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

ABSTRACT

Research conducted acute toxicity test of ethanol extract of cashew Klika (*Anacardium occidentale* L.) in male mice (*Mus musculus*). This study aims to determine the ethanol extract LD₅₀ Guava Klika Mede supply all oral and toxic symptoms were observed. This study used 25 male mice were divided into five treatment groups. The first group received 0.5% CMC-Na as the control group II, III, IV and V were given sample Klika cashew (*Anacardium occidentale* L.) with successive doses 40mg/20 gram BB mice, 80mg/20 gram BB mice, 160mg/20 gram BB mice and 320mg/20 gram BB mice. Prior to treatment, the mice were subjected to a prior fasting and received the test substance, in accordance with the calculated dose.

The observations of toxic effects based on changes in the behavior of mice such as excessive salivation diarrhea, urinasi, decreased motor activity, aggressive behavior and respiratory changes with time of the successive observation 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 and 240 minutes. For the determination of LD₅₀ values are based on the number of mice in each group died within 24 hours to 7 days. Analysis of data menentukan toxic effects of the most dominant motion is the effect of the decrease in activity. The results of calculations using the LD₅₀ values obtained Klika Thompson and Weil extract cashew (*Anacardium occidentale* L.) was 4923.45 mg / KgBB so that the level of toxicity in this category Lu "Toxic Medium".

Keywords: *Extract Klika cashew (Anacardium occidentale L.), acute toxicity, LD₅₀, Thompson and Weil method, mice (Mus musculus).*

PENDAHULUAN

Penggunaan bahan alam, terutama yang berasal dari tumbuh-tumbuhan untuk tujuan pencegahan dan pengobatan penyakit telah dikenal sejak zaman dahulu oleh umat manusia. Bahan-bahan alam ini dikenal sebagai obat tradisional. Umumnya khasiat obat-obat tradisional sampai saat ini hanya didasarkan pada pengalaman empiris dan belum teruji secara ilmiah (Mulyono dan Mulyati, 2004: 1).

Menurut WHO (*World Health Organization*) maupun Departemen

Kesehatan, diperlukan penelitian terutama di bidang khasiat dan efeknya antara lain efek farmakokinetik dan toksisitas yang disertai dengan percobaan klinis untuk membenarkan penggunaan obat tradisional tersebut, sehingga penggunaan dapat dipertanggungjawabkan (Santoso, 1983: 544).

Salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah Jambu mede (*Anacardium occidentale* L.). Secara tradisional jambu mede digunakan

oleh masyarakat sebagai obat diabetes mellitus, penghilang nyeri, antiinflamasi, antioksidan, antifungi dan sebagainya. Tanaman ini juga kaya akan kandungan kimia antara lain: tanin, anacardic acid, kardol, ginkgol katekin, flavonol, dan asam galat (Dalimartha, 2005: 80).

Untuk menjamin keamanan penggunaan klika tumbuhan ini dalam pengobatan tradisional perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas akutnya. Toksisitas akut adalah derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi secara singkat (24 jam) setelah pemberian dalam dosis tunggal. Sebagian besar penelitian semacam ini dirancang untuk menentukan dosis letal median (LD_{50}) toksikan. LD_{50} didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan coba (Lu, 1995: 86).

Penentuan nilai LD_{50} diperoleh dengan menggunakan rumus Thompson dan Weil. Metode ini dipilih mempunyai tingkat kepercayaan yang cukup tinggi dan merupakan metode yang sering digunakan karena tidak memerlukan hewan percobaan yang cukup banyak. Metode ini juga menggunakan daftar perhitungan LD_{50} sehingga hasil yang diperoleh lebih akurat.

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas akut dari ekstrak etanol ekstrak jambu mede (*Anacardium occidentale* L) yang dicoba-

kan pada mencit jantan (*Mus musculus*) sehingga diketahui efek toksik setelah pemberian suspensi ekstrak etanol ekstrak jambu mede (*Anacardium occidentale* L) dan penentuan LD_{50} . Sedangkan tujuan dari penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran data sebagai dasar dalam menentukan dosis yang aman untuk menghindari terjadinya efek toksik pada penggunaan jambu mede (*Anacardium occidentale* L) sebagai obat tradisional.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan yang digunakan

Aluminium foil, beker gelas (pyrex), blender (national), cawan porselin, corong, gelas Erlenmeyer (pyrex), hot plate, jarum oral 1 ml, kapas, kertas timbang, kertas saring, kain, penangas, spatula, sendok tanduk, toples, timbangan analitik (kern), rotavapor (kia) dan stopwatch.

Aquadest, simplisia klika jambu mede (*Anacardium occidentale* L), etanol 96%, mencit jantan (*Mus musculus*) dan Na-CMC.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel klika jambu mede (*Anacardium occidentale* L) yang digunakan diambil dari Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel kemudian dipotong-potong dan dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Sampel yang telah kering kemudian

dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 2000 g serbuk kering klika jambu mede (*Anacardium occidentale* L) dimasukkan ke dalam bejana maserasi lalu ditambah etanol 96% hingga seluruh bahan terendam. Wadah ditutup rapat dan dibiarkan selama 2 hari di tempat yang tidak terkena sinar matahari sambil sering diaduk. Setelah 2 hari, ekstrak disaring dan ampas dimaserasi lagi dengan menggunakan pelarut yang baru sampai diperoleh ekstrak akhir yang tidak berwarna. Ekstrak yang diperoleh kemudian dikumpulkan, dipisahkan dengan rotavapor, kemudian diangin-anginkan sampai diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan Larutan Koloidal NaCMC 0,5% b/v

Sebanyak 100 ml aquadest dipanaskan pada suhu 70°C. NaCMC sebanyak 0,5 g dimasukkan sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga terbentuk larutan koloid yang homogen, kemudian volume dicukupkan dengan air panas hingga volume 100 ml.

Rancangan Dosis dan Pembuatan Suspensi Ekstrak

Peringkat dosis diperoleh dari orientasi dengan menggunakan patokan dosis lazim dari klika jambu mede sebesar 15 gram, yang sudah

dikonversikan ke mencit menjadi 39 mg/20 g bb mencit atau dibulatkan menjadi 40 mg/20 g bb mencit. Dosis pemberian ekstrak divariasikan untuk tiap 20 g bobot badan mencit, yaitu 40 mg, 80mg, 160 mg, dan 320 mg. Ekstrak dibuat sediaan suspensi dalam larutan NaCMC 0,5 % b/v. Untuk membuat 40 mg/20 gram BB mencit/ml yang akan dibuat sebanyak 5 ml. Maka sebanyak 200 mg ekstrak disuspensikan ke dalam 5 ml Na-CMC 0,5%. Selanjutnya diaduk homogen. Pembuatan sediaan dengan konsentrasi yang lain dibuat dengan cara yang sama

Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu mencit (*Mus musculus*) yang berbadan sehat sebanyak 30 ekor dengan bobot badan 20-30 gram. Mencit dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok 1 sebagai kontrol, kelompok 2–5 sebagai kelompok perlakuan.

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Hewan dalam satu kelompok ditempatkan bersama dalam satu kandang, dan dipuasakan selama 3–4 jam. Kelompok 1 diberi larutan NaCMC 0,5 % b/v, kelompok 2–4 diberi suspensi ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda-beda menurut kelompok dengan volume 1 ml/30 g bobot badan, dengan dosis yang bersesuaian dengan 40 mg, 80 mg, 160 mg, dan 320 mg tiap 20 g bobot badan mencit.

Pengamatan

Dari setiap kelompok diambil secara acak, efek toksik yang terjadi diamati dibandingkan dengan kontrol. Waktu pengamatan adalah 5 menit, 10 menit, 15 menit, 30 menit, 60 menit, 120 menit, 180 menit dan 240 menit. Jadi total waktu pengamatan adalah 4 jam. Kriteria pengamatan efek toksik meliputi: salivasi berlebih, diare, urinasi, perubahan pernapasan, perilaku agresif dan penurunan aktivitas gerak. Untuk perhitungan nilai LD₅₀ didasarkan pada jumlah mencit yang mati pada setiap kelompok perlakuan selama rentang waktu 7 hari.

Pengumpulan Data

Data efek toksik diambil dari mencit yang memperlihatkan gejala-gejala abnormal setelah pemberian suspensi ekstrak etanol klika jambu mede (*Anacardium occidentale* L) dibandingkan kontrol. Sedangkan data LD₅₀ diambil dari jumlah mencit yang mati dan yang masih hidup pada setiap kelompok kemudian ditabulasi dan dihitung menggunakan rumus Thompson dan weil.

Rumus Thompson dan Weil

$$\text{Log } m = \text{log } D + d (f + 1)$$

m = nilai LD₅₀

D = dosis terkecil yang diberikan

d = log dari kelipatan dosis

f = suatu faktor dalam tabel Weil.

Hasil dan Pembahasan

Hasil yang diperoleh dari proses penyarian menggunakan metode maserasi diperoleh ekstrak kental sebanyak 260 g yang berasal dari 2 kg simplisia klika jambu mede, sehingga menghasilkan per-sen rendamen sebesar 13%. Ekstrak ters-ebut kemudian disuspensikan dengan NaCMC0,5% b/v dan dibuat dalam beberapa variasi dosis yaitu 40mg/20 g bb mencit, 40 mg/20 g bb mencit 160 mg/20 g bb mencit dan 320 mg/20 g bb mencit. Kemudian diberikan pada mencit secara oral.

Pengamatan dilakukan terhadap munculnya gejala efek toksik yang terjadi. Gejala-gejala yang diperlihatkan adalah berupa salivasi berlebih, diare, urinasi, perubahan pernapasan, perilaku agresif dan penurunan aktivitas gerak. Pada kelompok I (kontrol) tidak terlihat efek toksik yang teramati. Pada kelompok I (40mg/20 g BB mencit) sudah mulai nampak gejala toksik berupa perilaku agresif, urinasi dan peningkatan laju pernapasan. Pada kelompok II (80mg/20 g BB mencit) mengalami peningkatan laju pernapasan, diare dan penurunan aktivitas gerak serta terjadi urinasi. Pada kelompok III (160mg/20 g BB mencit) mencit terlihat mengalami penurunan aktivitas gerak, penurunan laju pernapasan, diare dan urinasi. Sedangkan pada kelompok IV mencit mengalami diare, penurunan pernapasan, penurunan aktivitas gerak dan urinasi. Hasil

pengamatan ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka efek yang ditimbulkan juga semakin besar.

Dari hasil uji toksisitas akut yang dimulai dari hari 1 sampai hari ke 7 diperoleh data kematian seperti disajikan pada **tabel 1** (Lampiran).

Kematian mencit dimulai dari dosis 80mg/20 g BB mencit sampai dosis terbesar 320mg/20 g BB mencit. Pada 24 jam pertama terdapat 11 ekor mencit yang mati. Sedangkan untuk sisa mencit lainnya tetap dilakukan pengamatan hingga hari ke 7. Pengamatan yang dilanjutkan sampai pada hari ke 7 tidak ada lagi mencit yang mengalami kematian. Jangka waktu pengamatan harus cukup lama sehingga adanya efek toksik yang terlambat atau tertunda, termasuk kematian tidak terlewat dalam pengamatan.

Berdasarkan kandungan kimia yang terdapat pada klika jambu mede kemungkinan dapat bersifat toksik apabila dalam jumlah berlebih. Sifat toksik ini merupakan salah satu penyebab kematian dari hewan coba. Terdapat berapa mekanisme kerja efek toksik terhadap tubuh, antara lain: interaksi dengan sistem enz-im, inhibisi pada transpor oksigen karena gangguan hemoglobin, interaksi dengan fungsi sel imun, gangguan pada sintesis DNA dan RNA, kerja teratogenik, iritasi kimia langsung pada jaringan, dan toksisitas pada jaringan

Pengujian LD₅₀ bukan satu-satunya pengujian yang digunakan untuk menilai toksisitas suatu bahan obat atau zat. Penelitian ini masih perlu dieksplorasi lebih lanjut dengan penelitian potensi toksisitas untuk tingkat subkronis dan kronis serta rentang dosis yang lebih besar dan variasi dosis yang lebih banyak untuk mengetahui potensi ketoksikan yang sesungguhnya dari ekstrak klika jambu mede untuk memperkuat analisa kera-cunan dan toksisitas suatu zat atau bahan obat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Nilai LD₅₀ yang diperoleh dari hasil pengujian toksisitas akut ekstrak etanol klika jambu mede (*Anacardium occidentale* L.) menggunakan metode Thompson dan Weil yaitu sebesar **4.923,45 mg/KgBB** dan menurut Lu, termasuk dalam kategori "**Toksik Sedang**".
2. Pemberian ekstrak etanol klika jambu mede (*Anacardium occidentale* L.) menimbulkan gejala toksik berupa diare, urinasi, penurunan aktivitas gerak, perilaku agresif dan perubahan pernapasan.

KEPUSTAKAAN

Dalimartha, Setiawan. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 2*. Jakarta: Trubus Agriwidya, 2000.

- Departemen Kesehatan RI. *Cara Pengelolaan Simplisia Yang Baik*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, 1999.
- Dirjen POM. *Sediaan Galenik*. Ed. II. Jakarta: Departemen Kesehatan RI Bhakti Husada, 1986.
- Hilpiani, Devy. *Uji Toksisitas Akut Isolat Katekin Gambir (Uncaria gambier R.) dari Fase Etil Asetat Terhadap Mencit Putih Jantan Secara In Vivo*. Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, 2012. perpus.fkik.uinjkt.ac.id/filedigital/Devy%20Hilpiani.pdf. Diakses tanggal 28 desember 2013.
- Hodgson, Ernest. *A Textbook of Modern Toxicology*. 2nd ed. Singapore: McGraw – hillBook Co, 2010.
- Joy, P. P, dkk. *Medicinal Plant*. India: Kerala Agricultural University, Aromatic and Medicinal Plant Research Station, 1998.
- Kare, C. P. *India medicinal Plant*. India: Springer, 2007.
- Lidyawita Ria dkk., *Daya Antifungi Rebusan Kulit Batang Jambu Mete (Anacardium occidentale L.) Terhadap C. Albicans pada Resin Akrilik Universitas Gadjah Mada*, Yogyakarta, 2014. mot.farmasi.ugm.ac.id/files/908.%20Sudar.pdf. Diakses tanggal 22 desember 2013.
- Loomis TA. *Toksikologi Dasar*. Semarang: IKIP Press, 1978.
- Lu, F.C. *Toksikologi Dasar asas, organ sasaran dan penilain resiko*, diterjemahkan oleh nugroho E., Edisi kedua. UI-Press. Jakarta, 1991.
- Malole MBM dan CSU Pramono. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, 1989.
- Priyanto. *Toksikologi, Mekanisme, Terapi Antidotum dan Penilaian Resiko*. Depok: Leskofi, 2010.
- Radji, M & Harmita. *Buku Ajar Analisis Hayati edisi 3*. Jakarta: EGC, 2006.
- Sibadu, Muhammad subhan A. *Pengaruh Waktu Pemberian Ekstrak Metanol Klika Jambu Mete Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan (Mus musculus)*. Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, 2013.
- Sutriani, Linda. *Penentuan LD₅₀ Ekstrak Metanol Daun Rambutan (Nephelium Lappaceum L) pada mencit (Mus musculus)*. Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, 2009.

Tjay, T.H. dan Kirana R. *Obat-Obat Sederhana Untuk Gangguan Sehari-hari*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo, 2012.

Wientarsih I dan Prasetyo BF. *Diktat Farmasi dan Ilmu Resepsir*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB, 2006.

Wirasuta Made Agus G dan Niruri Rasmaya. *Buku Ajar Toksikologi Umum*. Bali: Jurusan Farmasi Universitas Udayana, 2006.

Vanderlip, Lynn Sharon. *Mice: Everything about History, Care, Nutrition, Handling and Behavior*. China: Barron's Educational Series Inc, 2001.

Voight, Rudolf. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta, 1995.

LAMPIRAN

Tabel 1. Hasil Uji Toksisitas Akut

Kelompok	Jumlah Mencit	Dosis (mg/20 g BB mencit)	Jumlah Kematian
Kontrol	5	0	0
I	5	40	0
II	5	80	2
III	5	160	4
IV	5	320	5

Perhitungan nilai LD₅₀ dengan metode Thompson dan Weil.

Rumus Thompson dan Weil

$$\text{Log } m = \text{log } D + d (f + 1)$$

m = nilai LD₅₀

D = dosis terkecil yang diberikan

d = log dari kelipatan dosis

f = suatu faktor dalam tabel Weil.

Nilai LD₅₀ ekstrak etanol klinka jambu mede

Diketahui:

$$r = 0, 2, 4, 5$$

$$f = 0,30000$$

$$D = 40$$

$$d = \text{log } 2 = 0,301$$

Dijawab:

$$\begin{aligned} \text{Log } m &= \text{log } D + d (f + 1) \\ &= \text{log } 40 + 0,301 (0,30000 + 1) \\ &= 1,602 + 0,0903 + 0,301 \\ &= 1,9933 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Log } m &= \text{antilog } 1,9933 \\ &= 98,469 \text{ mg/20 g bb mencit, atau} \\ &= 4.923,45 \text{ mg/KgBB.} \end{aligned}$$

Jadi, nilai LD₅₀ ekstrak etanol klinka jambu mede (*Anacardium occidentale* L.) adalah sebesar **4.923,45 mg/kgBB** dan menurut Lu, termaksud dalam kategori "**Toksik Sedang**".

Tabel 2. Kriteria gejala toksisitas (Lu, 1995: 92).

Kategori	LD ₅₀
Supertoksik	5 mg/KgBB atau kurang
Amat sangat toksik	5 – 50 mg/Kg
Sangat toksik	50 – 500 mg/Kg
Toksik sedang	0.5 – 5 g/Kg
Toksik ringan	5 – 15 g/Kg
Praktis tidak toksik	>15 g/Kg