

ACUTE TOXICITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF PAKIS TANGKUR (*Polypodium Feei* MEET) ROOT FROM TALAGA BODAS MOUNTAIN ON SWISS WEBSTER MICE

Dani Sujana¹, Deden Winda Suwandi², Taofik Rusdiana³, Anas Subarnas³

¹Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Karsa Husada Garut Jl. Subyadinata No. 9, Jayaraga, Tarogong Kidul, Garut.

²Fakultas MIPA Universitas Garut, Jl. Jati no 42B, Tarogong Kaler, Garut.

³Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran Jl. Sumedang Bandung Raya KM 21, Jatinangor.

Corresponding author: Dani Sujana (dani.sujana87@gmail.com)

ARTICLE HISTORY

Received: 15 May 2020

Revised: 20 July 2020

Accepted: 28 July 2020

Abstract

The use of herbal medicinal products has increased from plants because of the availability of materials that are easily obtained. The roots of Pakis Tangkur used by local people for treating various kinds of diseases, such as arthritis, hypertension and as afrodisiaka. According to the United States of Food and Drug Administration (FDA) even though natural products are considered relatively safe by some groups of users, toxicological screening must be carried out for compounds that have the potential for drugs to see and describe the toxic effects so that a Lethal dose (LD₅₀) value is obtained. The acute toxicity test of the LD₅₀ values obtained were more than 5000 mg / kgBB. Due to the highest dose in the study, which is 5000 mg / kgBB, there are no animals that died, so it can be concluded that the extract of the fern root is included in the practical category is not toxic.

Key words: Pakis Tangkur Root Extract, Acute Toxicity

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL AKAR PAKIS TANGKUR (*Polypodium Feei* MEET) DARI GUNUNG TALAGA BODAS PADA MENCIT SWISS WEBSTER

Abstrak

Meningkatnya minat masyarakat terhadap penggunaan bahan alam dari tanaman terjadi karena ketersediaan bahan yang mudah didapat. Cara tersebut terus dilakukan oleh masyarakat, serta diwariskan secara turuntemurun mengingat penggunaannya dianggap relatif aman serta efek samping yang minimal. Bagian akar dari pakis tangkur digunakan oleh masyarakat setempat untuk mengobati berbagai jenis penyakit, antara lain rematik, hipertensi dan sebagai afrodisiaka. Menurut *United States of Food and Drug Administration* (FDA) meskipun bahan alam dianggap relatif aman oleh sebagian kelompok penggunaannya, tetap harus dilakukan skrining toksikologi terhadap senyawa yang berpotensi obat untuk melihat serta menggambarkan efek toksik sehingga diperoleh nilai Dosis letal (LD₅₀). Dari hasil penelitian toksisitas akut ini nilai LD₅₀ yang diperoleh yaitu lebih dari 5000 mg/kgBB. Dikarenakan pada dosis paling tinggi pada penelitian yaitu 5000 mg/kgBB tidak

terdapat hewan yang mati, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak akar pakis tangkur termasuk kedalam kategori praktis tidak toksik.

Kata kunci: Ekstrak Akar Pakis Tangkur, Toksisitas Akut

Pendahuluan

Pengobatan dengan tanaman yang bersumber dari alam telah banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit¹. Terdapat sumber daya alam yang melimpah serta keanekaragaman spesies tanaman yang tumbuh tersebar di Indonesia, sehingga banyak potensi yang dapat digali terkait pengembangan metabolit sekunder dari bahan alam untuk keperluan industri farmasi². Salah satu tanaman asal Indonesia yang berpotensi sebagai bahan obat adalah pakis tangkur.

Pakis tangkur (*Polypodium feei* MEET) tumbuh secara liar Di daerah Gunung Talaga Bodas, Garut, Jawa Barat. Bagian akar dari pakis tangkur oleh masyarakat setempat biasa digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit di antaranya rematik, hipertensi dan berkhasiat sebagai afrodisiaka³. Proantosianidin, *shellegueain A* yang terkandung pada akar tanaman pakis tangkur diduga memiliki aktivitas analgesik-antiinflamasi, antioksidan dan antihipeurisemia⁴.

Meningkatnya minat masyarakat terhadap penggunaan bahan alam dari tanaman terjadi karena ketersediaan bahan yang mudah didapat. Cara tersebut terus dilakukan oleh masyarakat, serta diwariskan secara turun-temurun mengingat penggunaannya dianggap relatif aman serta efek samping yang minimal⁵. Menurut *United States of Food and Drug Administration* (FDA) meskipun bahan alam dianggap relatif aman oleh sebagian kelompok penggunaannya, tetap harus dilakukan skrining toksikologi terhadap senyawa yang berpotensi obat untuk melihat serta menggambarkan efek toksik sehingga diperoleh nilai *Lethal dose* (LD50)⁶.

Pengujian toksisitas akut dilakukan untuk menentukan efek dosis tunggal pada spesies hewan. Dalam pengujian toksisitas akut, bahan diberikan dengan dosis yang berbeda pada hewan coba, dan efeknya diamati selama 14 hari⁷. Selama percobaan, dilakukan pengamatan perubahan berat badan, uji perilaku, gejala-gejala toksik, kematian dan bobot organ⁸.

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan mencit *Swiss Webster* betina, hal tersebut dengan pertimbangan selain melihat efek toksik berupa mortalitas, penurunan berat badan serta efek terhadap organ vital seperti ginjal, limpa, hati, jantung, paru-paru, otak, lambung dan ovarium. Perubahan bobot badan baik sebelum perlakuan selama 5 hari dan sesudah perlakuan dipantau setiap 24 jam selama 14 hari, serta berbagai gejala klinis melalui skrining farmakologi setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol akar pakis tangkur.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : Neraca analitik (Mettler Toledo, AL204 ®), maserator modifikasi botol kaca gelap, corong (Pyrex®), blender (Miyako®), penangas air (Memmert®), pH meter (Metler Toledo®), piknometer (Pyrex®), rotary evaporator (IKA Rotavapor 10®), sonde oral, spuit 1 ml (onemed®), mortar dan stamper, stopwatch (Casio®), cawan porselen (haldenwanger®), tabung reaksi (Pyrex®), batang pengaduk (Iwaki®) serta alat gelas lain yang umum digunakan di laboratorium farmakologi dan bahan alam.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

Akar pakis tangkur, Etanol 96%, aquadestilata, pulvis gummosus (PGS), ammonia 10%, asam klorida 2N, kloroform, pereaksi mayer, pereaksi dragendrof, amil alkohol, serbuk magnesium, larutan gelatin 1%, pereaksi besi (III) klorida, pereaksi vanillin-sulfat (larutan vanillin 10% dalam H₂SO₄ pekat), eter, natrium hidroksida 1 N.

Prosedur Lengkap

Pengumpulan Bahan

Sampel uji yaitu pakis tangkur yang diambil secara lengkap dari hutan sekitar Gunung Talaga Bodas, Garut, Jawa Barat. Selanjutnya dideterminasi di Herbarium Bandungense, Institut Teknologi Bandung.

Persetujuan Etik

Permohonan persetujuan etik dilakukan kepada Komite Etik Penelitian Kesehatan, Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Universitas Padjadjaran.

Pembuatan Ekstrak

Penyiapan dan pengolahan simplisia dimulai dari pemanenan akar pakis tangkur, selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan pengotor yang berukuran kecil maupun besar yang terbawa saat proses pemanenan, setelah itu dilakukan pencucian dengan menggunakan air mengalir sampai bersih untuk membuang pengotor yang tidak terpisahkan pada saat sortasi basah. Setelah bersih, dilakukan perajangan dengan cara diiris melintang supaya akar pakis tangkur kering secara merata pada saat pengeringan. Suhu pengeringan diatur kurang lebih 50^oC pada lemari pengering modifikasi dengan sumber cahaya lampu pijar. Proses pengeringan dilakukan sampai bobot simplisia konstan. Setelah simplisia kering selanjutnya diblender hingga diperoleh serbuk simplisia. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi dengan cara serbuk simplisia akar pakis tangkur direndam dengan etanol 96 % selama 3 x 24 jam pada suhu kamar. Setiap 24 jam pengadukan dilakukan sebanyak dua kali pada waktu yang sama serta dilakukan penggantian pelarut. Ekstrak disaring kemudian dipisahkan dengan ampas. Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya duiapkan dengan penguap vakum putar pada suhu dibawah 70 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya dilakukan penguapan pada *water bath* dengan suhu dibawah 70 °C untuk menghilangkan sisa pelarut sehingga diperoleh ekstrak pekat.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap serbuk simplisia dan ekstrak pekat akar pakis tangkur meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan steroid/triterpenoid.

Penyiapan Suspensi Uji

Pembuatan suspensi dosis 300 mg/kgbb dengan konsentrasi 30 mg/mL yaitu dengan menimbang 300 mg ekstrak kemudian disuspensikan kedalam suspensi PGS 1% sampai 10 mL, dosis 1000 mg/ kgbb dengan konsentrasi 100 mg/mL yaitu dengan menimbang 1 g ekstrak kemudian disuspensikan kedalam suspensi PGS 1% sampai 10 mL, dosis 2000 mg/kgbb dengan konsentrasi 200 mg/mL yaitu dengan menimbang 2 g ekstrak kemudian disuspensikan kedalam suspensi PGS 1% sampai 10 mL, dosis 4000 mg/kgbb dengan konsentrasi 400 mg/mL yaitu dengan menimbang 4 g ekstrak kemudian disuspensikan kedalam suspensi PGS 1% sampai 10 mL, sedangkan dosis 5000 mg/kgbb dengan konsentrasi 500 mg/mL yaitu dengan menimbang 5 g ekstrak kemudian disuspensikan kedalam suspensi PGS 1% sampai 10 mL.

Penyiapan Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih betina (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*. Hewan percobaan ditempatkan dalam kandang plastik yang diberi alas sekam dan berada dalam ruangan dengan suhu 23-25°C, kelembaban 70-85%, serta cahaya diatur 12 jam terang dan 12 jam gelap. Hewan dalam kondisi sehat dan diseleksi secara acak, selanjutnya dibagi ke dalam 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit kemudian ditandai untuk mempermudah identifikasi. Selanjutnya mencit diaklimatisasi selama 5 hari sebelum diberi perlakuan. Diamati perubahan bobot badan setiap hari sampai dengan 5 hari.

Pengujian Toksisitas Akut

Kelompok mencit masing-masing diberi perlakuan yaitu diberikan suspensi ekstrak etanol akar pakis tangkur rute oral dengan volume 0,2 ml/gram berat badan. Berikut pembagian kelompok hewan uji:

Tabel 1. Pengelompokan Hewan Uji Toksisitas Akut

Kelompok hewan uji	Perlakuan
Kontrol normal	Diberi suspensi PGS 1%
Dosis I	Diberi suspensi ekstrak etanol 300 mg/kgBB
Dosis II	Diberi suspensi ekstrak etanol 1000 mg/kgBB
Dosis III	Diberi suspensi ekstrak etanol 2000 mg/kgBB
Dosis IV	Diberi suspensi ekstrak etanol 4000 mg/kgBB
Dosis V	Diberi suspensi ekstrak etanol 5000 mg/kgBB

Hewan uji diobservasi secara individual pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji, dan secara periodik setiap 4 jam selama 24 jam pertama, selanjutnya sehari sekali selama 14 hari baik skiring farmakologi dan perubahan bobot. Pengaruh gejala toksik berupa skrining farmakologi setelah pemberian suspensi ekstrak akar pakis tangkur terhadap mencit betina diamati meliputi efek pada aktivitas motorik diantaranya *straub*, *piloereksi*, *ptosis*, *refleks pineal*, *refleks kornea* dan *lakrimasi*. Sikap tubuh meliputi *retabliment*, *fleksi*, *hafner*, *mortalitas*, *grooming*. Efek saluran pencernaan diantaranya *defekasi*, *urinasi*, *salivasi*, *vokalisasi*. Pernafasan, *tremor*, *kejang*, *writhing*, *katalepsi*, *menggelantung*, *jengukan*.

Setelah 14 hari pengamatan semua hewan uji dikorbankan dengan cara dislokasi leher, kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil organ otak, jantung, paru-paru, hati, limpa, lambung, ginjal, dan uterus, kemudian dilakukan penimbangan bobot organ mencit. Bobot organ dibuat dalam persentase indeks organ dengan cara dibagi dengan bobot badan masing-masing mencit. Data persentase indeks organ mencit yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dan uji lanjut perbandingan berganda *Least Significant Difference* (LSD).

Hasil

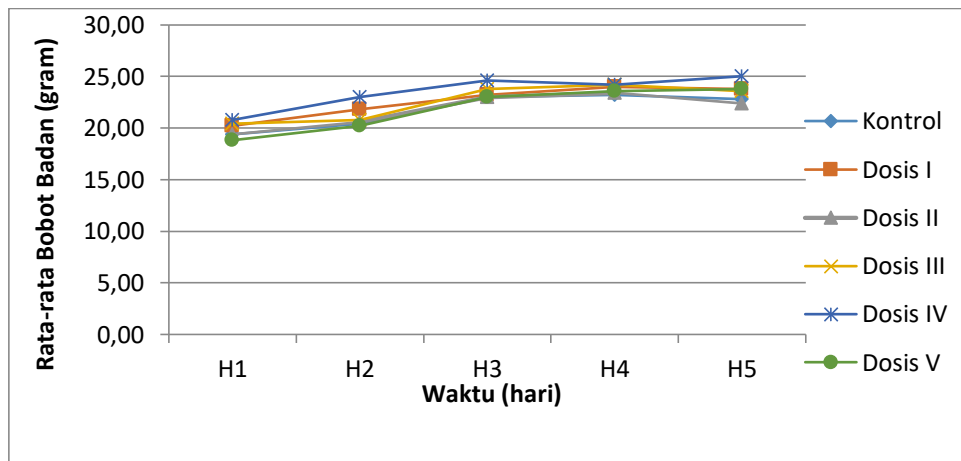
Tabel 2. Rendemen Ekstrak Etanol

Serbuk simplisia	Ekstrak pekat	Rendemen
10 kg	1.960 kg	19,6 %

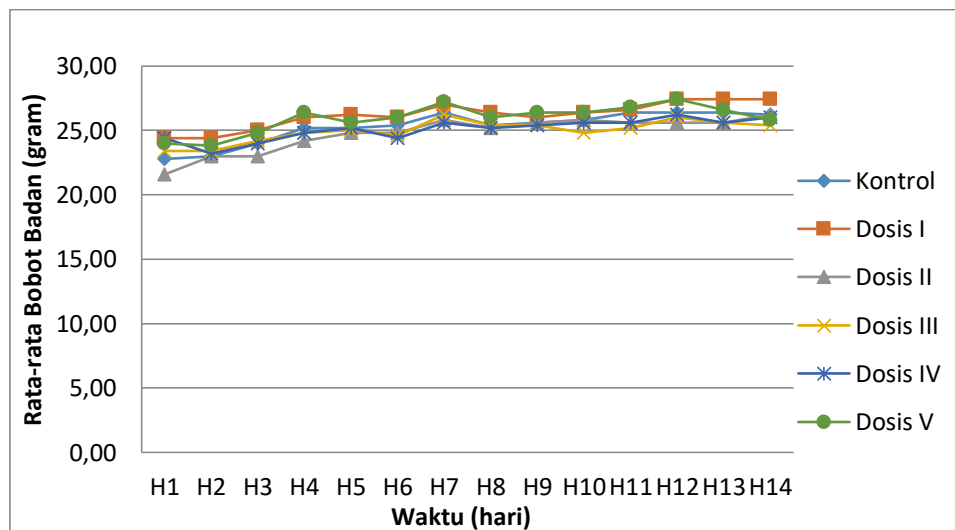
Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Akar Pakis Tangkur

Metabolit Sekunder	Hasil Penapisan	
	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	+
Steroid	-	-
Kuinon	+	+

Keterangan : (+) = (terdeteksi)
 (-) = tidak terdeteksi



Gambar 1. Grafik Rata-Rata Bobot Badan Mencit Selama Aklimatisasi



Gambar 2. Grafik Rata-Rata Bobot Badan Mencit Setelah Pemberian Sediaan

Tabel 3. Hasil Pengamatan Prilaku pada Uji Toksisitas Akut

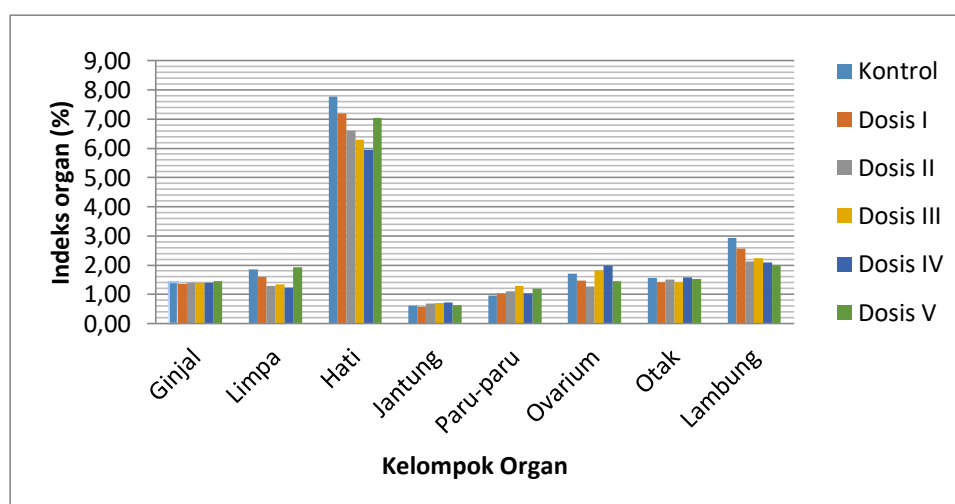
Efek yang diamati		Kontrol					Dosis I					Dosis II				
		0	30	270	510	H14	0	30	270	510	H14	0	30	270	510	H14
Aktivitas Motorik	Normal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Naik (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Turun (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Diam (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Straub (%)		0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
Piloereksi (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ptosis (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0
Refleks pineal (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Refleks kornea (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Lakrimasi (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sikap tubuh	Normal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	TN (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Retabliment (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80
Fleksi (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Hafner (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Mortalitas (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grooming (%)		20	20	0	0	60	20	20	0	0	40	60	20	0	60	60
Defekasi	Normal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	TN (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Urinasi (%)		100	80	20	0	20	20	80	20	40	20	100	100	60	20	20
Salivasi (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vokalisasi (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pernafasan	Cepat (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sesak (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Normal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Tremor (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kejang (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Writhing (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Katalepsi (%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Menggelantung (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	60	100	100
Jengukan (%)		100	100	100	100	100	80	100	100	100	100	100	40	80	40	40

Efek yang diamati	Dosis III					Dosis IV					Dosis V					
	0	30	270	510	H14	0	30	270	510	H14	0	30	270	510	H14	
Aktivitas Motorik	Normal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Naik (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Turun (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Diam (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Straub (%)	0	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	0	0	0
Piloereksi (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ptosis (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Refleks pineal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Refleks kornea (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Lakrimasi (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sikap tubuh	Normal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	TN (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Retabliment (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Fleksi (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Hafner (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Mortalitas (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grooming (%)	20	60	0	0	60	40	20	0	40	0	100	0	0	0	20	
Defekasi	Normal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	TN (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Urinasi (%)	20	0	20	40	20	100	0	20	0	40	0	0	0	20	0	
Salivasi (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Vokalisasi (%)	0	0	0	20	0	0	0	60	0	0	0	0	0	0	0	
Pernafasan	Cepat (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sesak (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Normal (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Tremor (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kejang (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Writhing (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Katalepsi (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Menggelantung (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	100	100	
Jengukan (%)	100	100	100	100	80	100	100	100	40	0	80	80	60	100	0	
Keterangan :		Dosis I = 300 mg/kgBB Dosis II = 1000 mg/kgBB Dosis III = 2000 mg/kgBB Dosis IV = 4000 mg/kgBB Dosis V = 5000 mg/kgBB														

Tabel 4. Indeks organ mencit betina uji toksisitas akut ekstrak akar pakis tangkur

Kelompok	Ginjal	Limpa	Hati	Jantung	Paru-paru	Uterus	Otak	Lambung
Kontrol	1.42±0.19	1.86±0.71	7.77±1.31	0.61±0.09	0.96±0.16	1.71±0.34	1.57±0.25	2.93±0.80
Dosis I	1.37±0.10	1.60±0.40	7.18±0.74	0.58±0.22	1.03±0.28	1.47±0.28	1.41±0.12	2.56±0.34
Dosis II	1.39±0.16	1.29±0.52	6.61±0.83*	0.69±0.19	1.10±0.33	1.27±0.33	1.50±0.18	2.13±0.82*
Dosis III	1.39±0.12	1.35±0.51	6.30±0.66*	0.70±0.24	1.29±0.47	1.81±0.28	1.41±0.17	2.23±0.39
Dosis IV	1.39±0.18	1.24±0.33	5.94±0.42*	0.73±0.05	1.04±0.16	1.99±0.47*	1.58±0.22	2.09±0.45*
Dosis V	1.46±0.16	1.92±0.77	7.05±0.93	0.63±0.09	1.19±0.20	1.46±0.12	1.53±0.10	1.99±0.17*

Keterangan : Dosis I = 300 mg/kgBB
 Dosis II = 1000 mg/kgBB
 Dosis III = 2000 mg/kgBB
 Dosis IV = 4000 mg/kgBB
 Dosis V = 5000 mg/kgBB
 * = hasil berbeda dan bermakna (Sig < 0,05)



Gambar 3. Diagram Batang Rata-Rata Pesentase Indeks Organ Mencit

Pembahasan

Berdasarkan hasil determinasi Nomor: 1152/11.CO2.2/PL/2018 identitas dari sampel merupakan famili *polypodiaceae*, spesies *Selliguea feei bory* dengan sinonim *Polypodium feei* METT dan di Indonesia dikenal dengan nama pakis tangkur. Persetujuan etik pada penelitian ini, telah disetujui dengan Nomor: 1382/UN6.KEP/EC/2018 yang diterbitkan oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan, Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Universitas Padjadjaran.

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, mengingat senyawa target yaitu proantosianidin bersifat termolabil, sebagaimana yang telah dilakukan subarnas (2000), Muchtaridi (2006) dan Kristiani (2013) menggunakan metode yang sama, akan tetapi pada ekstraksi kali ini digunakan etanol 96% sebagai penyari dengan pertimbangan lebih praktis, aman, dan memiliki polaritas yang luas sehingga dapat menarik senyawa nonpolar sampai polar⁹.

Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 2, menunjukkan bahwa senyawa tetap stabil sebelum maupun setelah dilakukan proses ekstraksi yaitu terdeteksi senyawa flavonoid, tannin, saponin dan kuinon dari sampel berupa serbuk dan ekstrak yang diperoleh. Penentuan metode ekstraksi menjadi penting dengan

mempertimbangkan karakteristik fisikokimia dari suatu sampel. Pemilihan pelarut yang sesuai akan mendapatkan hasil ekstrak yang diinginkan sehingga diperoleh senyawa kimia yang stabil selama proses atau tidak terjadi degradasi senyawa yang terkandung didalamnya¹⁰.

Dari hasil pengamatan bobot badan mencit selama 5 hari aklimatisasi, menunjukkan perkembangan dan peningkatan bobot badan dengan profil yang hampir sama pada semua kelompok dosis hewan uji. Selama pengamatan mencit tetap dalam keadaan sehat, namun pada beberapa hari terjadi penurunan berat badan, tetapi penurunan tersebut tidak signifikan. Hal tersebut dikarenakan faktor stress yang dialami oleh hewan uji. Respon terhadap stress ini dapat ditunjukkan dengan perubahan berat badan dan hormonal. Stress pada hewan coba ini dapat disebabkan karena perlakuan, lingkungan serta karena proses pembersihan kandang¹¹. Secara keseluruhan bobot mencit termasuk kategori layak untuk digunakan sebagai subjek penelitian karena variasi rata-rata bobot tidak melebihi 20%¹².

Selama 14 hari pengamatan untuk melihat angka kematian, dilakukan juga terhadap perilaku hewan uji. Dilakukan 5 pengamatan refleksi pada mencit diantaranya ptosis, pineal, korneal, haffner dan fleksi. Efek ptosis diamati secara langsung kelopak mata sekurang-kurangnya 50% menuju terpejam. Untuk refleksi pineal, pengamatan dilakukan dengan cara menggigit bagian belakang telinga mencit. Refleksi korneal, pengamatan dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya refleksi pada mata. Sedangkan refleksi fleksi dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya gerakan refleksi pada kaki. Untuk uji refleksi yang terakhir yaitu haffner, pengamatan visual dengan perlakuan memberi tekanan pada bagian ekor mencit dibagian pangkal dengan pinset, respon berpaling atau mencicit merupakan ciri mencit yang normal. Sikap tubuh diuji dengan cara kecepatan respon membalikan badan seperti semula setelah diterlentangkan. Lakrimasi diamati ada atau tidaknya pengeluaran air mata, dengan indikator basah disekitar mata. Uji gelantung diamati dengan cara mencit digelantungkan pada kawat memanjang horizontal, bila dalam waktu lima detik tidak mampu memanjat kawat maka dianggap terjadi penurunan kemampuan secara fisik dalam mengatur keseimbangan. Jika mencit tidak dapat bergelantung dan terjatuh maka dianggap kehilangan refleksi untuk menggantung. Pada saat pengamatan, fenomena straub terjadi pada kelompok dosis I pada menit 270 sebanyak 20%, sedangkan kelompok dosis IV mulai terjadi pada menit 270 sebanyak 20% sampai dengan menit 510. Efek tersebut ditandai dengan ekor mencit dalam keadaan tegang menyerupai huruf S dan menandakan adanya efek neuroleptik¹³. Penurunan retabliment terjadi pada dosis II dimulai menit 510 sampai hari ke 14 sebanyak 20%, dimana sebelumnya pada menit ke 270 terjadi pula penurunan kemampuan menggantung sebanyak 40 %, hal tersebut menandakan bahwa ada hubungan terjadinya penurunan retabliment dengan kemampuan gelantung. Efek tersebut menandakan adanya pengaruh pada sistem saraf pusat yaitu menurunnya efek retabliment akan menurun pula kemampuan hewan pada saat bergelantung⁸, tetapi pada dosis V terjadinya penurunan efek gelantung sebesar 20% pada menit 270 tidak diiringi dengan terjadinya penurunan retabliment. Grooming terjadi pada semua kelompok uji, dimana kelompok dosis I sebanyak 20% dan III 60% terjadi setelah pemberian ekstrak antara 0 sampai dengan 30 menit pertama, selanjutnya terjadi peningkatan menjadi 40% hari ke 14. Pada dosis II terjadi sebanyak 60 % tetapi pada menit 270 menghilang, selanjutnya efek mencul kembali pada menit ke 510 hingga 14 hari pengamatan sebanyak 60%. Pada dosis IV mulai terjadi pada menit 0 sebanyak 40%, terjadi penurunan pada menit 30 menjadi 20%, selanjutnya meningkat kembali pada menit ke 510 sebanyak 40%. Pada dosis V dimana merupakan dosis paling besar yaitu 5000 mg/kgBB, terjadi efek grooming pada semua hewan uji pada menit 0 dan menghilang 30 menit kemudian, selanjutnya muncul kembali pada hari ke 14 sebanyak 20% dari total kelompok. Efek grooming

dan straub menandakan terjadinya perangsangan sistem saraf pusat yang akan nampak pada mencit karena pengaruh saraf simpatis¹⁴. Sama halnya dengan grooming, urinasi terjadi pada semua kelompok uji. Pengeluaran urin rata-rata terjadi pada menit pertama setelah pemberian ekstrak kecuali kelompok dosis V terjadi pada menit ke 510 sebanyak 20%. Kelompok dosis II merupakan kelompok yang paling banyak menghasilkan urin, dimana seluruh hewan uji pada menit 0 sampai 30 terjadi secara terus menerus. Sama halnya dengan dosis 4, semua hewan uji terjadi urinasi pada menit pertama tetapi berhenti pada menit ke 30, selanjutnya menurun pada menit ke 270 menjadi 20%, selanjutnya terjadi frekuensi urinasi kembali pada menit 510 menjadi 40%. Pada dosis V, urinasi terjadi mulai menit 510 dengan jumlah 20% dari total kelompok dosis tersebut. Efek urinasi pada hewan uji setelah pemberian ekstrak menunjukkan adanya pengaruh terhadap sistem saraf otonom, termasuk efek piloereksi, salivasi dan lakrimasi¹⁵. Vokalisasi secara kuat terjadi pada kelompok dosis III dan IV, dimana pada dosis III terjadi pada menit 510 sebanyak 20% hewan uji. Sedangkan pada dosis IV terjadi pada menit 270 sebanyak 20% dan terhenti dimenit 510. Efek Jengukan terjadi dosis I sebanyak 20% dan meningkat sampai hari ke 14. Pada dosis II seluruh hewan uji terjadi jengukan setelah pemberian ekstrak, kemudian menurun pada menit 30 menjadi 40%, selanjutnya terjadi peningkatan menjadi 80% pada menit 270, dan menurun sampai hari ke 14 menjadi 40%. Pada dosis III jengukan terjadi pada semua hewan uji pada menit awal sampai menit 510, selanjutnya menurun menjadi 80% pada hari ke 14. Pada dosis IV, semua hewan uji jengukan terjadi pada menit awal hingga menit 270, selanjutnya menurun pada menit 510 menjadi 40%. Pada dosis V, jengukan terjadi pada menit awal hingga 30 menit sebanyak 80%, selanjutnya menurun menjadi 60% pada menit 270, dan kembali meningkat pada menit 510 menjadi 100%. Aktivitas dari jengukan yang timbul pada hewan uji menandakan sifat keingintahuan¹⁶.

Setelah 14 hari pengamatan, tidak terdapat satupun hewan uji yang mati pada masing-masing kelompok uji. Selanjutnya hewan uji dikorbankan untuk menentukan nilai indeks organ serta melihat prediksi berupa efek toksik sediaan uji terhadap berbagai organ vital. Dengan menggunakan statistika ANOVA dan uji lanjut perbandingan berganda *Least Significant Difference* (LSD), menunjukkan hasil bahwa terdapat perbedaan bermakna pada organ hati, uterus dan lambung dengan nilai asumsi signifikan ($p \leq 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Nilai indeks organ hati pada kelompok dosis 1000, 2000, dan 4000 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok kontrol masing-masing dengan nilai asumsi signifikan 0,043; 0,012 dan 0,003 ($p \leq 0,05$). Perbedaan yang bermakna terhadap berat organ pada mencit biasanya menunjukkan sifat toksisitas berupa lesi, terutama pada organ hati terjadi perlemakan atau sirosis¹⁷. Diperlukan studi lebih lanjut untuk mengetahui toksisitas dengan skrining biokimia dan histologis terhadap hati, dimana organ ini berperan penting dalam pengaturan proses fisiologis dan juga terlibat dalam detoksifikasi berbagai obat dan xenobiotik¹⁸. Pada organ uterus terdapat perbedaan bermakna yaitu pada dosis 4000 mg/kgBB dibandingkan kelompok kontrol dengan nilai asumsi signifikan 0,024 ($p \leq 0,05$). Organ uterus setelah diberikan dosis 4000 mg/kgbb terjadi pembesaran dibandingkan dengan indeks bobot kelompok kontrol, hal ini disebabkan oleh siklus estrus dari hewan uji sehingga bobot organ uterus menjadi lebih besar¹⁹. Sebagaimana yang dijelaskan Alfiyanti (2016), bahwa bobot uterus dipengaruhi oleh proliferasi yang mengakibatkan inhibisi pelepasan FSH dan LH²⁰. Faktor lain yaitu lemak, lapisan endometrium, dan kelenjar uterus yang mempengaruhi sekret serta kadar hormone yang dihasilkan, dimana hormone estrogen yang berperan penting dalam pengaturan sekret uterus²¹. Bobot uterus dipengaruhi oleh proses proliferasi pada endometrium, dimana ketebalan endometrium yang rendah mengakibatkan penurunan bobot uterus²². Pada Organ lambung terdapat perbedaan bermakna pada dosis 1000, 4000, dan 5000 mg/kgBB dibandingkan kelompok kontrol normal

dengan nilai asumsi signifikan 0,031; 0,026; 0,013 ($p \leq 0,05$) hal tersebut disebabkan karena mekanisme kerja senyawa proantosianidin yang telah terbukti menurut Subarnas (2000) sebagai *inhibitor cyclooxygenase*. Enzim tersebut pada jalur asam arakidonat bertanggungjawab diproduksinya mediator nyeri yaitu prostaglandin²³. Disisi lain prostaglandin merupakan faktor penting sebagai pelindung mukosa lambung dan kehadirannya diharapkan pada kondisi tukak peptik²⁴. Dengan demikian terjadi penghambatan produksi prostaglandin ini berkorelasi dengan terjadinya toksisitas pada lambung ditandai dengan terjadinya peradangan yang mengakibatkan peningkatan bobot organ²⁵. Organ lain yaitu ginjal, limpa, jantung, paru-paru, dan otak tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian toksisitas akut ini nilai LD₅₀ yang diperoleh yaitu lebih dari 5000 mg/kgBB. Pada dosis paling tinggi tidak terdapat hewan uji yang mati, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak akar pakis tangkur termasuk kedalam kategori praktis tidak toksik.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Anas Subarnas, M.Sc., Apt dan Taofik Rusdiana, M.Si., Ph.D., Apt yang telah memberikan motivasi, masukan, dan arahan selama penelitian.

Daftar Pustaka

1. Sujana D, Nurul N H. TR. Aktivitas Antidiabetes dan Kandungan Senyawa Kimia dari Berbagai Bagian Tanaman Alpukat (*Persea americana*) "Jurnal Review." J Med Cendikia [Internet]. 2019;6(Juni):76–81. Available from: <https://doi.org/10.33482/medika.v6i01.104>
2. Sholikhah EN. Indonesian medicinal plants as sources of secondary metabolites for pharmaceutical industry. J Med Sci [Internet]. 2016;48(4):226–39. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Eti_Sholikhah2/publication/312271498_Indonesian_medicinal_plants_as_sources_of_secondary_metabolites_for_pharmaceutical_industry/links/5919ca45aca2722d7cfe6834/Indonesian-medicinal-plants-as-sources-of-secondary-metabo
3. Subarnas A, Wagner H. Analgesic and anti-inflammatory activity of the proanthocyanidin shelleagueain A from *Polypodium feei* METT. Phytomedicine [Internet]. 2000;7(5):401–5. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0944-7113\(00\)80061-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80061-6)
4. Kristiani RD, Rahayu D, Subarnas A. Aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol akar pakis tangkur (*polypodium feei*) pada mencit jantan. Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fis. 2013;15(3):156–9.
5. Makiyah A, Tresnayanti S. Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) pada Tikus Putih Strain Wistar. Maj Kedokt Bandung. 2017;49(3):145–55.
6. Sasmito WA, Wijayanti AD, Fitriana I, Sari PW, Kesehatan F, Universitas M, et al. Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Penguji Toksisitas Akut Obat Herb Pada Mencit Berdasarkan Organ Econ Co-operation Dev. 2017;33(2):234–9.

7. Parasuraman S. Toxicological screening. *J Pharmacol Pharmacother.* 2011;2(2):74–9.
8. Nurfaat DL. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) Terhadap Mencit Swiss Webster. *Indones J Pharm Sci Technol.* 2016;3(2):53–65.
9. Dwi Puspitasari A, Proyogo, Lean Syam. Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura*). *J Ilm Cendekia Eksakta.* 2017;1–8.
10. Do QD, Angkawijaya AE, Tran-Nguyen PL, Huynh LH, Soetaredjo FE, Ismadji S, et al. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *J Food Drug Anal [Internet].* 2014;22(3):296–302. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
11. Foltz CJ, Ullman-Cullere M. Guidelines for Assessing the Health and Condition of Mice. *Lab Anim (NY).* 1999;28(4):28–32.
12. BPOM. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. In: *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo.* 2014.
13. Katrin E, Winarno H, Susanto. The Acute Toxicity of Ethanol Extract from Irradiated Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Which Have Anticancer Activity Ermin. *A Sci J Appl Isot Radiat.* 2011;7(1):41.
14. Usman S, Ibrahim I. Uji Efek Anti Diare Dan Uji Efek Sistem Saraf Otonom (Sso) Infus Daun Tapak Dara (*Catharanthus Roseus* L.) Terhadap Hewan Uji Mencit. *Media Farm.* 2018;14(1):91.
15. Fadilah NN. Uji Toksisitas Akut Selulosa Mikrokrystal Dari Tanaman Rami (*Boehmeria Nivea* L. Gaud) Pada Mencit Galur Swiss Webster. *Pharmacoscript.* 2019;2(1):16–22.
16. Sutjiatmo AB, Sukandar EY, Candra C, Vikasari SN. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Herba Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L) VAHL) Pada Mencit Swiss Webster. *Kartika J Ilm Farm.* 2015;3(2):32–7.
17. Wahlang, B., Beier, JI, Clair, HB, Bellis-Jones, HJ, Falkner, KC, McClain, CJ, & Cave, MC terkait toksik. *Patologi toksikologis*, 41 (2) 343–360. Toxicant-associated Steatohepatitis. *Physiol Behav.* 2018;176(1):139–48. <https://doi.org/10.1177/0192623312468517>.
18. Singh T, Sinha N, Singh A. Biochemical and histopathological effects on liver due to acute oral toxicity of aqueous leaf extract of *Ecliptaalba* on female Swiss albino mice. *Indian J Pharmacol.* 2013;45(1):61–5.
19. Toyin YM, Olakunle AT, Adewunmi AM. Toxicity and Beneficial Effects of Some African Plants on the Reproductive System [Internet]. *Toxicological Survey of African Medicinal Plants.* Elsevier Inc.; 2014. 445–492 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800018-2.00015-7>
20. Alfiyanti A, Sitaswi AJ, Mardiaty SM, Program M, Biologi S, Biologi D, et al. Buletin Anatomi dan Fisiologi Volume 4 Nomor 1 Februari 2019 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap Berat Uterus dan Tebal Endometrium Mencit (*Mus musculus* L.) The Effect of Neem Leaf Ethanol Extract (Azad. 2019;4.
21. Katherine J. Hamilton, Sylvia C. Hewitt, Yukitomo Arao and KSK. Estrogen Hormone Biology. *Physiol Behav.* 2019;176(3):139–48.
22. Steven L. Young. Oestrogen and progesterone action on endometrium: a translational approach to understanding endometrial receptivity. *Bone.* 2013;23(1):1–7.
23. Nørregaard R, Kwon TH, Frøkiær J. Physiology and pathophysiology of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in the kidney. *Kidney Res Clin Pract [Internet].* 2015;34(4):194–200. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.krcp.2015.10.004>
24. Kuna L, Jakab J, Smolic R, Raguz-Lucic N, Vcev A, Smolic M. Peptic Ulcer

Disease: A Brief Review of Conventional Therapy and Herbal Treatment Options.
J Clin Med. 2019;8(2):179.

25. K. H, G. V. Study of gastrointestinal toxicity of selective COX-2 inhibitors in comparison with conventional NSAIDs. Int J Res Med Sci. 2016;4(12):5180–4.