

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) Kalimantan pada Mencit (*Mus musculus*) Swiss

Dhayu Mart Hindrasyah Pandia¹, Akbar Wibriansyah¹, Widya Pratiwi¹,
Akhmad Fajrin Priadinata¹, Wening Sari²

Abstract

¹⁻² Fakultas Kedokteran Universitas
YARSI

Correspondence

Dr. Wening Sari, M. Kes.
Bagian Farmakologi Fakultas
Kedokteran Universitas YARSI
Jl. Letjen Suprpto Cempaka Putih
Jakarta
Telpon/Fax. 021-4244574
Email : wening.sari@yarsi.ac.id

Sarang semut (*Myrmecodia pendans*) is an Indonesian native plant that has been used in folk medicine. Researches showed sarang semut has antioxidant effect, xantinoksidase inhibitor potency, and anticancer activity. The efficacy and safety of this plant should have been proven before used in modern medicine. The objective of this research was to assess the potency of acute toxicity, evaluate toxic clinical symptoms and histopathologic examination. The research was completely randomized design. The treated animal was 20 Swiss male mice divided into 5 groups; 1 control group with administration of 1% NaCMC and 4 experimental groups with dosage administration of ethanol extract of sarang semut were 0,1, 1, 10 and 100g/Kg of body weight respectively. Evaluation of the toxic clinical symptoms and death was done in 24 hours and 14 day for survival mice. The test resulted LD₅₀ of ethanol extract of sarang semut was 3,162g/Kg of body weight. All mice in 10 and 100g/kg of body weight groups were death in one hour administration of extract and showed toxic clinical symptom such as hyperactive and convulsion. Histopathologic examination on kidney of the death mice was showed infiltration of inflammation cells and congestive tubules diffuse. The ethanol extract of sarang semut was a slightly toxic substance for Swiss male mice based on Hodge dan Sterner criteria.

Keywords : *Myrmecodia pendens*, acute toxicity test, LD₅₀

Pendahuluan

Sarang semut (*Myrmecodia pendans*) tumbuh endemis di Kalimantan dan Papua. Secara empiris tanaman ini digunakan untuk membantu pengobatan gangguan jantung, diabetes, wasir, rematik, asam urat, gangguan lambung, prostat, pegal linu, meningkatkan air susu ibu (ASI), melancarkan peredaran darah, dan memulihkan gairah seksual (Heyne, K. 1987).

Penelitian awal menunjukkan bahwa sarang semut mengandung vitamin diantaranya tokoferol dan mineral penting seperti kalsium (Ca), Natrium (Na), Kalium (K), Seng (Zn), Besi (Fe), Fosfor (P) dan Magnesium (Mg). Penelitian telah dilakukan pada famili yang sama dengan sarang semut yaitu Rubiaceae dan tumbuhan dari famili ini terbukti mempunyai potensi antioksidan yang tinggi dengan kandungan fenolik dan flavonoid (Soobrattee, Ma, 2008).

Kajian kandungan antioksidan dan efek sitotoksik sarang semut yang dilakukan Priadinata dkk. (2008), menunjukkan ekstrak etil asetat sarang semut mempunyai efek antioksidan yang ditunjukkan dengan efek peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazi) pada konsentrasi hambat median (IC₅₀) < 1000 ppm. Penelitian lainnya menunjukkan

isolat aktif ekstrak sarang semut dapat menghambat enzim xantinoksidase yang berperan dalam mengubah xantin dan hipoxantin menjadi asam urat (Simanjutak, dkk., 2010). Sementara Soeksmanto dkk., (2010) melaporkan ekstrak air sarang semut dapat menghambat proliferasi sel kanker HeLa dan MCM-B2, dengan fraksi aktif yang mengandung saponin, alkaloid, tannin dan flavonoid.

Potensi sarang semut yang menjanjikan mempunyai peluang untuk digunakan dalam pengobatan modern. Namun tanaman ini harus mempunyai khasiat dan tingkat keamanan yang dapat diprediksikan dengan mudah. Salah satu cara untuk menilai keamanan suatu bahan obat adalah dengan uji toksisitas akut. Uji praklinik ini dirancang untuk mengetahui efek toksik suatu zat yang timbul segera setelah pemberian tunggal atau berulang zat tersebut dalam 24 jam. Efek toksik yang dimaksud adalah semua efek yang menurunkan kemampuan fungsi organ maupun yang mengganggu fungsional atau biokimiawi organisme secara umum. Uji toksisitas akut sering dikaitkan dengan dosis letal tengah (LD₅₀), yakni dosis tunggal suatu zat yang dapat menyebabkan kematian pada 50% hewan coba. Uji ini dapat menunjukkan organ target yang mengalami kerusakan atau efek toksik yang spesifik (Lu, 1995; Walum, 1998).

Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi toksisitas akut ekstrak etanol sarang semut berdasarkan LD50, menilai gejala toksik serta gambaran histopatologi organ lambung, hati dan ginjal. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi bagi penelitian lebih lanjut mengenai keamanan sarang semut.

Bahan dan Metoda Penelitian

Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*) berusia 2-3 bulan dengan berat badan 20-25 gram. Mencit dalam keadaan sehat dan diadaptasikan dengan suasana laboratorium selama 4 hari.

Bahan

Sarang semut yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kalimantan Selatan pada bulan Januari 2010. Sampel dikeringkan dengan cara dijemur kemudian dihaluskan. Sebanyak 1000 gram serbuk di maserasi dengan penyaring etanol 96 % selama 5 hari. Fraksi etanol yang diperoleh dipisahkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Selain itu digunakan juga larutan NaCMC 1% yang akan diberikan pada kelompok kontrol.

Cara Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan hewan uji 20 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri atas 4 ekor.

Kelompok Kontrol: diberi 1 ml larutan NaCMC 1%

Kelompok I : diberi ekstrak etanol sarang semut 0,1g/kgBB

Kelompok II : diberi ekstrak etanol sarang semut 1g/kgBB

Kelompok III : diberi ekstrak etanol sarang semut 10g/kgBB

Kelompok IV : diberi ekstrak etanol sarang semut 100g/kgBB

Bahan uji untuk semua kelompok diberikan secara oral dosis tunggal.

Seluruh kelompok mencit sebelumnya dipuasakan selama 8 jam. Bahan uji diberikan dengan dosis yang sesuai untuk masing-masing kelompok. Pengamatan dilakukan secara intensif dalam 3 jam pertama pemberian bahan uji. Jumlah hewan uji yang mati pada 24 jam pertama dihitung dan dicatat. Hewan Uji yang mati diautopsi untuk diperiksa baik makroskopik maupun mikroskopik. Pengamatan ini dilanjutkan sampai 14 hari meliputi pengamatan fisik dan jumlah hewan yang mati.

Perhitungan LD50

Penetapan LD50 ini dilakukan dengan metode Thompson-Weil dengan tingkat kepercayaan 95%. LD50 dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Log LD50} = \text{Log D} + d(f+1)$$

D = dosis terkecil yang digunakan

d = logaritma kelipatan

f = Faktor dalam tabel R

df = dicari pada tabel R.

Hasil Penelitian

Nilai LD50

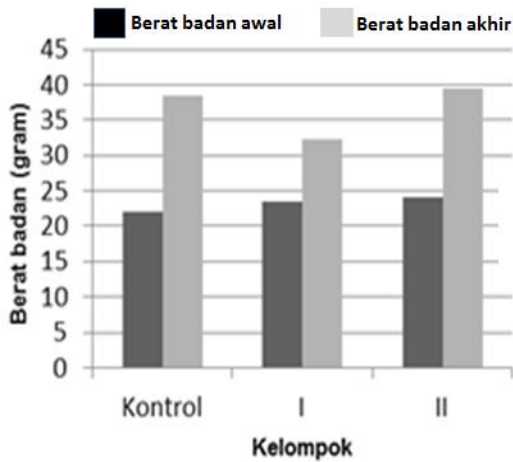
Hasil pengamatan hewan uji menunjukkan terdapat kematian seluruh hewan coba kelompok III dan IV yang masing-masing mendapat dosis tunggal ekstrak etanol sarang semut 10 g/KgBB dan 100 g/KgBB. Kematian terjadi 1 jam setelah ekstrak diberikan. Tidak terdapat kematian pada kelompok lainnya dalam 24 jam pengamatan. Merujuk data tabel 1 diperoleh nilai LD50 sebesar 3,162g/KgBB dengan interval 0.

Tabel 1. Jumlah Kematian pada mencit dalam 24 jam setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol sarang semut

Kelompok	Perlakuan	Ulangan	Jumlah kematian	%	LD ₅₀
Kontrol	Larutan NaCMC 1%	4	0	0	
I	ekstrak etanol sarang semut 0,1 g/kgBB	4	0	0	3,162 g/KgBB ± 0mg/kgBB
II	ekstrak etanol sarang semut 1 g/kgBB	4	0	0	
III	ekstrak etanol sarang semut 10 g/kgBB	4	4	100	
IV	ekstrak etanol sarang semut 100 g/kgBB	4	4	100	

Gejala toksik

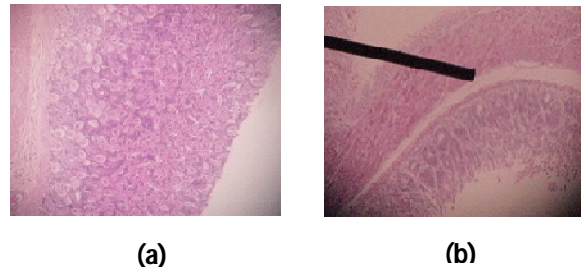
Gejala toksik terlihat pada mencit kelompok III dan IV. Sebelum mencit kedua kelompok tersebut mati, mencit tersebut tampak gelisah, berjalan ke sana sini, dan cenderung mengarah pada tempat air minum. Tiga ekor mencit pada kelompok III dan dua ekor mencit pada kelompok IV masuk ke dalam tempat air minum, mereka terlihat seperti kejang dan kemudian mati. Gejala toksik tidak terlihat pada kelompok kontrol, I dan II. Pengamatan pada ketiga kelompok ini dilakukan selama 14 hari. Selama pengamatan tingkah laku mencit aktif, tidak terdapat kelainan pada mata dan tidak terdapat kerontokan bulu. Nafsu makan mencit baik dan terdapat peningkatan berat badan pada hari ke 14 (gambar 1).



Gambar 1. Distribusi rerata berat badan mencit

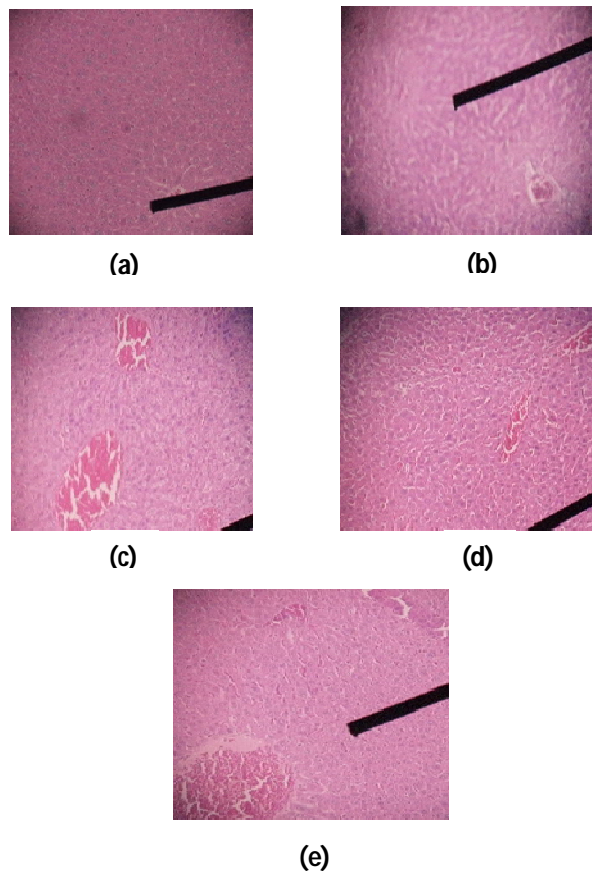
Gambaran Histopatologi

Autopsi dilakukan pada seluruh hewan uji yang mati. Pemeriksaan meliputi pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik terhadap organ lambung, hati dan ginjal. Pemeriksaan histopatologi lambung dilakukan pada mencit yang mati untuk menyingkirkan kemungkinan penyebab kematian karena perforasi lambung pada proses pemberian obat. Tidak terdapat kerusakan maupun tanda perdarahan pada lambung secara makroskopik. Demikian pula secara mikroskopik mukosa lambung terlihat normal (gambar 2).



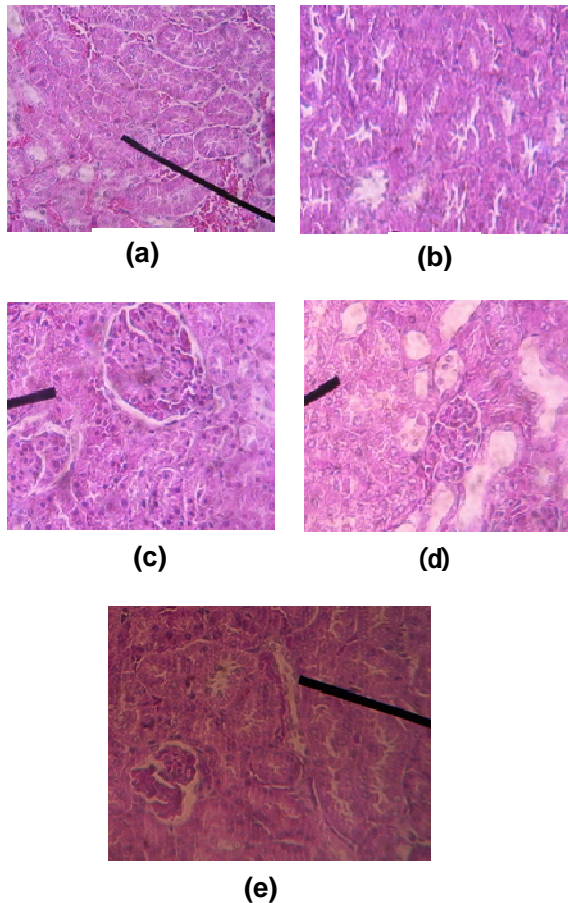
Gambar 2. Gambaran histopatologi lambung kelompok III (a) dan kelompok IV (b). Pembesaran 400x

Pemeriksaan hati tidak menunjukkan adanya kelainan secara makroskopik pada semua kelompok uji. Gambaran histopatologi secara umum sel hati terlihat normal dengan membran dan inti yang utuh. Terdapat infiltrasi sel-sel radang (gambar 3).



Gambar 3. Gambaran histopatologi organ hati kelompok Kontrol (a), kelompok I (b), kelompok II (c), kelompok III (d) dan kelompok IV (e). Pembesaran 100x

Pemeriksaan histopatologi organ ginjal menunjukkan adanya kelainan berupa kongesti tubulus dan infiltrasi sel-sel radang yang bersifat fokal pada mencit kelompok I dan II. Sedangkan pada kelompok III dan IV ginjal mengalami nefropati berat dengan kongesti tubulus dan infiltrasi sel-sel radang yang difus (gambar 4).



Gambar 4. Gambaran histopatologi organ hati kelompok Kontrol (a), kelompok I (b), kelompok II (c), kelompok III (d) dan kelompok IV (e). Pembesaran 100x.

Diskusi

Perbandingan toksisitas antara satu bahan kimia dengan bahan kimia yang lain sulit dilakukan karena masing-masing bahan kimia tersebut dapat memberikan efek toksik yang berbeda. Sehingga untuk membandingkan potensi toksisitas bahan kimia yang berbeda harus diukur efek yang sama. Salah satu caranya adalah dengan mengukur berapa jumlah (dosis) bahan kimia yang dapat menyebabkan kematian.

LD50 digunakan untuk menilai potensi toksisitas jangka pendek suatu bahan (Canadian Centre for Occupational Health and Safety).

Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol sarang semut adalah didapatkan nilai LD50 sebesar 3,162 g/KgBB \pm 0. Menurut klasifikasi toksisitas skala Hodge dan Sterner nilai tersebut masuk kriteria toksik ringan (slightly toxic). Namun klasifikasi tersebut ditujukan untuk hewan uji tikus. Jika dilakukan konversi untuk mencari ekuivalensi dosis LD50 mencit pada tikus, berdasarkan Paget dan Barnes (1964) faktor kali konversi ini adalah 7, maka nilai konversi LD50 pada tikus adalah 22,134 g/KgBB, dan dosis ini masuk dalam kriteria relatif tidak berbahaya (relatively harmless) (Lu, 1995; Canadian Centre for Occupational Health and Safety).

Gejala toksik muncul pada hewan uji kelompok III dan IV berupa tingkah laku gelisah, berjalan ke mari dan kejang sebelum mati. Pengamatan lanjutan selama 14 hari pada hewan uji kelompok kontrol I dan II yang masih hidup tidak ditemukan adanya gejala toksik. Tidak ada perubahan tingkah laku mencit, kelainan mata, atau pun kerontokan bulu. Nafsu makan cukup baik yang ditunjukkan dengan peningkatan berat badan mencit pada ketiga kelompok tersebut.

Pemeriksaan histopatologi organ lambung pada mencit yang mati menunjukkan tidak terdapat kelainan mukosa lambung. Hal ini dapat menyingkirkan kemungkinan penyebab kematian adalah perforasi lambung akibat kesalahan dalam pemberian ekstrak secara sonde. Gambaran histopatologi organ hati menunjukkan adanya infiltrasi sel-sel radang dengan gambaran sel dan inti sel yang normal pada semua kelompok hewan uji. Terdapat kelainan mikroskopik ginjal berupa infiltrasi sel radang dan kongesti tubulus yang difus pada semua hewan uji yang mati.

Uji toksisitas akut pada hewan dapat digunakan untuk meramalkan efek toksik yang dapat timbul jika suatu bahan kimia masuk tubuh manusia dalam jumlah besar. Namun ekstrapolasi data dari hewan ke manusia tidak mudah. Faktor yang harus dipertimbangkan adalah seberapa jauh ambang tidak ada efek toksik, bagaimana manifestasi efek toksik yang timbul serta bagaimana bentuk kurva log-dosis. Selain itu perbedaan spesies dapat memberikan efek toksik yang berbeda karena sensitifitas organ, sel, enzim atau reseptor dapat berbeda pada spesies yang berbeda. Jika efek toksik yang sama muncul pada semua spesies hewan coba yang berbeda, maka efek toksik itu kemungkinan besar akan muncul pada manusia (Walum, 1998; Ngatidjan, 2006).

Penilaian efek toksik yang ditimbulkan oleh suatu bahan kimia tidak mungkin hanya berdasarkan atas LD50, karena LD50 tidak dapat menyajikan informasi tentang mekanisme atau tipe toksisitas, serta kemungkinan toksisitas jangka panjang.

Meskipun demikian penilaian LD50 dapat memberikan kesimpulan secara umum bahwa semakin kecil nilai LD50 maka semakin toksik bahan yang diuji, demikian juga sebaliknya, semakin besar nilai LD50 maka semakin rendah potensi toksik bahan tersebut (Canadian Centre for Occupational Health and Safety; Wisaksono, 2002).

Simpulan

Hasil uji toksisitas akut dengan penentuan LD50 ekstrak etanol sarang semut pada mencit Swiss termasuk dalam kriteria toksik ringan (slightly toxic) menurut klasifikasi toksisitas skala Hodge dan Sterner.

Efek toksik muncul pada mencit kelompok dosis ekstrak etanol 10 g/KgBB dan 100 g/KgBB berupa perubahan tingkah laku gelisah, kejang dan mati, serta gambaran histopatologi organ ginjal berupa infiltrasi sel radang dan kongesti tubulus yang difus.

Ucapan Terima kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Ditjen Dikti Depdiknas R.I yang telah mendanai penelitian ini.

Kepustakaan

- Canadian Centre for Occupational Health and Safety. What is an LD50 and LD50. www.ccohs.ca/ashanswers/chemical/ld50.html?print. Diakses Juni 2011
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia III. Badan Litbang Kehutanan. Jakarta.
- Lu, F.C. 1991. Toksikologi dasar asas, organ, sasaran dan penilaian risiko, diterjemahkan oleh Nugroho, e. Edisi kedua. UI Press. Jakarta
- Ngatidjan. 2006. Metode laboratorium dalam toksikologi. Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran UGM. Yogyakarta
- Priadinata AF., Pandia DMH., Vellyana, G. 2008. Kajian Antioksidan dan Efek Sitotoksik Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). Tidak dipublikasi.
- Simanjuntak P. Fanny, Subroto MA. 2010. Isolasi senyawa aktif dari ekstrak senyawa hipokotil sarang semut (*Myrmecodia pendens*) sebagai penghambat xantioxidase. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 8:1:49-54
- Soeksmanto A., Subroto MA., Wijaya H., Simanjuntak P. 2010. Anticancer activity test for extracts of sarang semut (*Myrmecodia pendens*) to HeLa and MCM-B2 cells. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 13:3:148-151

Soobrattee, Ma. 2008. Assasement of the content of fenolic and antioxidant action of the rubriaceae and sterculiaceae familis of mauritian endemic plants. *Toxicology Invitro*. 22:1:45-56

Walun E. 1998. Acute oral toxicity. *Enviromental Health Perspectives* 106:2:497-502