

## UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN PIDADA MERAH (*Sonneratia caseolaris* L) PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus* L)

Submitted : 18 Oktober 2021

Edited : 6 Desember 2021

Accepted : 13 Desember 2021

Siti Jubaidah\*, Eka Siswanto Syamsul, Supomo

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia

Email: zubairmalfatih@gmail.com

### ABSTRACT

*The leaves of the red pidada plant (Sonneratia caseolaris L.) are traditionally used by the people of Kalimantan to mix cold powder, treat wounds and have antioxidant properties. The aim was to determine the symptoms of acute toxicity and lethal dose of 50 ethanol extract of red pidada leaf (Sonneratia caseolaris L.) against white mice. Methods: This study used 20 rats which were divided into four groups and given a graded dose of 0.65 g/kgBW, 1.3 g/kgBW, 2.6 g/kgBW, and 5.2 g/kgBW ethanol extract of red pidada leaf with two oral administrations then observed for symptoms of toxicity and the number of deaths in each test animal after 24 hours, then observations were made. body weight for 14 days without treatment. The results showed that the apparent LD50 was: >5.2g/kgBB. Clinical symptoms observed in mice were decreased motor activity at the highest dose and increased grooming frequency. The LD50 of the ethanol extract of red pidada leaves is in the mild toxic category (5-15 g/kgBW).*

**Keywords :** *Sonneratia caseolaris* L, Lethal Dose 50, acute toxicity.

### PENDAHULUAN

Tumbuhan obat yang digunakan oleh suku Dayak di Kalimantan Timur salah satunya adalah tumbuhan pidada merah. Daun pidada merah merupakan tanaman *mangrove* yang diketahui mempunyai khasiat sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit<sup>(1)</sup>. Daun pidada merah di Kalimantan Selatan dimanfaatkan sebagai campuran bedak dingin<sup>(2)</sup>. Daun perepat merah memiliki senyawa antioksidan yang mengandung alkaloid, flavanoid, glikosida, saponin dan fenol<sup>(3)</sup>.

Efektivitas tabir surya dapat dinyatakan dengan *sun protection factor* (SPF), persentase eritema dan persentase transisi pigmentasi (Pratama dan Zulkarnain, 2015). Daun pidada merah atau perepat merah (*Sonneratia caseolaris* L)

adalah salah satu bahan alam yang salah satunya berkhasiat sebagai tabir surya<sup>(4,5)</sup>. Daun pidada merah merupakan tanaman *mangrove* yang diketahui mempunyai khasiat sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit<sup>(1)</sup>.

Penelitian menunjukkan bahwa daun pidada merah mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid dengan kadar sebesar 2,5 % sehingga diduga aktivitas tabir surya tersebut bersumber dari senyawa flavonoid<sup>(4)</sup>. Senyawa fenolik yang terdapat didalam tumbuhan berfungsi melindungi jaringan tanaman terhadap kerusakan akibat radiasi sinar matahari. Senyawa fenolik khususnya golongan flavonoid mempunyai potensi sebagai tabir surya karena adanya gugus kromofor yang mampu menyerap sinar UV sehingga mengurangi intensitasnya pada kulit. Berdasarkan

penelitian Hasanah dkk telah meneliti tentang profil tabir surya daun pidada merah dengan menggunakan pelarut metanol pada konsentrasi 100 ppm sampai 250 ppm dan didapatkan hasil terbaik pada konsentrasi 250 ppm dengan kategori sebagai *Sunblock* yang mampu memberikan perlindungan maksimum terhadap radiasi sinar UV pada kulit<sup>(4)</sup>.

Untuk mengetahui keamanan penggunaan suatu obat, maka diperlukan uji toksisitas. Uji toksisitas dibedakan menjadi uji toksisitas akut, subkronik, dan kronik. Uji toksisitas akut dimaksudkan untuk mendapatkan informasi tentang gejala keracunan, penyebab kematian, urutan proses kematian dan rentang dosis yang mematikan hewan uji (*Lethal dose* 50 atau disingkat LD<sub>50</sub>) suatu bahan. Parameter toksisitas akut yang digunakan untuk melihat keamanan suatu obat dalam pengobatan adalah nilai LD<sub>50</sub><sup>(6)</sup>. Penelitian uji bertujuan untuk mengetahui nilai LD<sub>50</sub> dan potensi ketoksikan akut sehingga dapat diperoleh gambaran keamanan sediaan ekstrak etanol daun pidada merah.

## METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental yaitu percobaan yang bertujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul akibat dari adanya perlakuan tertentu. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah dalam pemilihan hewan uji yaitu mencit. Penelitian yang dilakukan mengenai pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun pidada merah dengan konsentrasi dosis bertingkat I, II, III, dan IV serta tanpa ekstrak sebagai kontrol negatif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda.

### Sampel dan Teknik Sampling

Sampel Yang digunakan adalah daun tua pada tumbuhan pidada merah yang

tumbuh liar di Kecamatan Samboja Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur.

### Alat

Seperangkat alat infus, alat-alat gelas (Pyrex, Iwaki), blender (Miyako), kompor gas (Rinnai), sonde, neraca digital, batang pengaduk, termometer, gunting, cawan porselen, penjepit tabung, tabung reaksi (Pyrex), kertas label, kandang mencit, pinset, dan ayakan mesh 60.

### Bahan

Aquades, simplisia daun pidada merah, mencit putih betina, pangan mencit, koran, aluminium foil, pereaksi mayer, dragendorf, bouchardat, liebermann-burchard (asam anhidrat asetat ((CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O) dan asam sulfat pekat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> P), Sianidin test (magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl P) pekat, amil alkohol (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>OH), besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>) 1%, *n*-heksan, dan asam klorida (HCl) 2N.

### Prosedur Penelitian

#### Pengambilan Sampel dan Determinasi Tumbuhan

Pengambilan sampel, sampel berupa daun tua tumbuhan pidada merah diambil pada sore hari kemudian diproses menjadi simplisia. Determinasi dilakukan di Laboratorium Balai Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) di Samboja Kutai Kartanegara Kalimantan Timur.

### Ekstraksi Sampel

Simplisia dibuat serbuk untuk dilakukan penelitian dengan cara menggunakan alat blender agar lebih mudah dalam penghalusan, kemudian diayak dengan pengayak mesh 60. Ditimbang serbuk sampel sebanyak 200 g, diekstraksi menggunakan metode infundasi, yaitu dimasukkan serbuk sampel kedalam bejana yang terdiri dari dua panci yang ditumpuk,

panci pertama diberi etanol secukupnya kemudian dimasukkan panci kedua. Panci tersebut berisi serbuk sampel dan aquades secukupnya hingga seluruh bahan terendam yaitu sebanyak 900 ml, kemudian dipanaskan dengan suhu 90°C selama 15 menit sambil sesekali diaduk lalu diserkai dengan kain flanel. Ekstrak etanol yang diperoleh diuapkan di *Waterbath*. Dihitung rendemennya.

### **Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak daun pidada merah yang meliputi; pemeriksaan senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid/terpenoid.

#### **Pemeriksaan Alkaloid**

Diambil 3 tabung reaksi, lalu masing-masing dimasukkan 0,5 ml ekstrak. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer, bouchardat, dan dragendorff. Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan. Bila sedikitnya 2 dari 3 pereaksi di atas positif maka sampel mengandung alkaloid.

#### **Pemeriksaan Flavonoid**

Ekstrak diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah.. Bila terbentuk warna kuning, orange atau merah pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

#### **Pemeriksaan Saponin**

Masukkan ekstrak kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml etanol panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang banyak selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin.

#### **Pemeriksaan Tanin**

Ekstrak diencerkan sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida, jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

### **Pemeriksaan Steroid/Terpenoid**

Ekstrak ditambahkan dengan 20 ml *n*-heksan, dikocok kemudian diuapkan dan sisanya ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard. Jika terbentuk warna ungu atau merah yang berubah menjadi biru ungu atau biru kehijauan menunjukkan adanya triterpenoid/steroid bebas.

### **Penentuan Dosis dari Ekstrak**

Dosis ekstrak daun pidada merah dibuat dalam dosis bertingkat I, II, III, dan IV. Larutan stok dibuat dengan membuat ekstrak sebanyak 5 ml, ditimbang 6,4 g ekstrak lalu dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian diaduk sambil ditambahkan sedikit demi sedikit aquades hingga larut dan homogen. Larutan diencerkan sesuai dengan dosis bertingkat yang diperlukan, yaitu pengenceran ke-1 dengan dosis 3,2 g, pengenceran ke-2 dengan dosis 1,6 g dan pengenceran ke-3 dengan dosis 0,08 g. Kelompok kontrol diberi aquades 0,5 ml sebagai perlakuan pembanding.

### **Perlakuan Pada Hewan Uji**

Hewan uji diberi larutan ekstrak etanol secara oral sebanyak 0,5 ml/ 40g berat badan dengan tingkat dosis I, II, III, dan dosis IV serta konsentrasi tanpa ekstrak.

### **Pengamatan**

Pengamatan setelah diberi perlakuan yaitu pengamatan potensi ketoksikan akut, pengamatan ini dilakukan dengan melihat gejala-gejala fisik umum sebagai tanda keracunan yang timbul setelah pemberian larutan ekstrak etanol daun pidada merah yang dibandingkan dengan kontrol. Waktu pengamatan adalah menit ke 5, 10, 15, 30,

60, 120, 180 dan 240 (4 jam). Pengamatan Nilai LD<sub>50</sub> dilakukan terhadap mencit yang mati dan yang masih hidup setiap 24 jam selama 7 hari setelah pemberian ekstrak etanol daun pidada merah.

#### Analisis Data

Metode analisis yang digunakan untuk menentukan nilai LD<sub>50</sub> dan potensi ketoksikan akut dari mencit yang mati dan hidup dari setiap kelompok adalah Metode Grafik Probit, Weil CS dan Metode Farmakope Indonesia III. Data variasi bobot mencit yang diperoleh dari semua kelompok sampel diolah dengan program komputer *microsoft office excel*.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Determinasi Daun pidada merah

Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan oleh Laboratorium Balai Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) di Samboja Kutai Kartanegara Kalimantan Timur bahwa sampel tersebut adalah spesies *Sonneratia caseolaris* L. yang termasuk famili Lythraceae dengan nama lokal "pidada merah"

#### Ekstraksi Daun pidada merah

Ekstrak etanol dibuat dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%, maserat ditampung untuk diuapkan pelarutnya untuk mendapatkan ekstrak etanol.

#### Skrining Fitokimia

Fitokimia atau kimia tumbuhan mempelajari aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah serta fungsi biologinya<sup>(7)</sup>. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol disajikan pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak etanol Daun pidada merah

No.	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil
1.	Alkaloid	Meyer	(-)
		Bouchardat	(-)
		Dragendorff	(+)
2.	Flavonoid	Sianidin test	(+)
3.	Tannin	FeCl <sub>3</sub>	(+)
4.	Saponin	H <sub>2</sub> O	(+)
5.	Steroid	Lieberman-Burchad	(-)
6.	Triterpenoid	Lieberman-Burchad	(-)

Keterangan :

(+) ada metabolit sekunder

(-) tidak ada metabolit sekunder

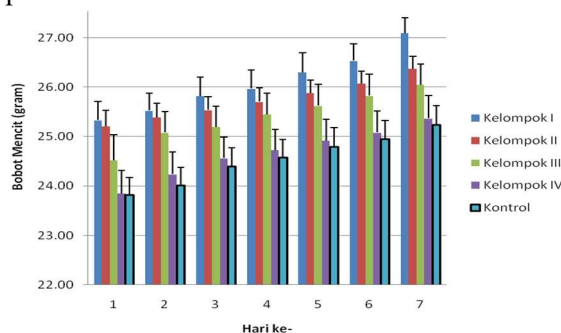
Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel 1, dapat dilihat bahwa pada ekstrak etanol daun pidada merah mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin dan tanin. Metabolit sekunder ini dapat terekstraksi karena bersifat polar sehingga dapat ditarik oleh pelarut etanol, sedangkan Alkaloid, steroid dan triterpenoid tidak bersifat polar sehingga tidak tertarik oleh pelarut etanol yang bersifat polar.

Alkaloid dengan pengujian menggunakan pereaksi mayer dan bouchardat negatif mengandung alkaloid, sedangkan dengan pereaksi dragendorff positif mengandung alkaloid. Zat uji mengandung alkaloid jika dua dari uji tersebut positif sehingga dalam penelitian ini zat uji yaitu ekstrak etanol daun pidada merah tidak mengandung alkaloid<sup>(7)</sup>.

#### Pengujian Nilai LD<sub>50</sub> dan Potensi Ketoksikan

Pada penelitian ini, hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina karena dalam penelitian toksisitas akut yang

menggunakan waktu singkat, tidak dipengaruhi oleh jenis kelamin yang harus memiliki hormon stabil. Hewan uji dibagi 5 kelompok dan ditempatkan dalam 5 kandang yang memiliki luas dan ukuran yang sama. Aklimatisasi selama 14 hari dilakukan dengan tujuan agar semua kelompok menerima keadaan dan situasi yang sama dalam proses penyesuaian terhadap lingkungan. Hari ke-7 sampai hari ke-14 semua hewan uji ditimbang untuk mengetahui kesehatan dengan melihat bobot pada mencit.



**Gambar 1.** Grafik Penimbangan Bobot Mencit

Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan bobot mencit setiap harinya, dengan SEM (*Standart Error of Mean*) yaitu varian bobot mencit dalam 1 kelompok, menunjukkan selisih yang kecil ( $< 0,5$ ) atau tidak jauh berbeda dalam 1 kelompok sehingga disimpulkan bobot mencit termasuk homogen. Kenaikan bobot mencit merupakan salah satu hal yang dapat menunjukkan bahwa mencit tersebut dalam keadaan sehat dan dapat digunakan sebagai hewan percobaan.

Pemilihan dosis yang digunakan diperoleh dari hasil orientasi, yaitu dengan memberikan dosis maksimum yang masih dapat diberikan secara teknis pada hewan uji (16g/kgBB) dengan mengacu pada tabel klasifikasi toksisitas menurut Lu<sup>(8)</sup> atau sekitar 64 kali dosis terapi ekstrak daun pidada merah (250 mg/kgBB) sebagai obat anti inflamasi

pada mencit<sup>(9)</sup>. Pengamatan potensi ketoksikan akut dilakukan dengan melihat adanya gejala umum sebagai tanda keracunan maupun ada tidaknya kematian hewan uji dari masing-masing kelompok perlakuan (data kuantitatif). Pengamatan dilakukan selama 4 jam pada menit ke-5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 dan 240 setelah pemberian ekstrak uji<sup>(10)</sup>.

**Tabel 2.** Gejala-Gejala Keracunan Setelah Pemberian Ekstrak etanol Daun pidada merah

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Sampel (ekor)	Gejala Keracunan
Kontrol	Aquades	5	Tidak ada
I	Dosis 5,2g/kgBB	5	Tidak ada
II	Dosis 2,6g/kgBB	5	Tidak ada
III	Dosis 1,3g/kgBB	5	Tidak ada
IV	Dosis 0,65g/kgBB	5	Tidak ada

Pada pengamatan setelah pemberian ekstrak etanol daun pidada merah, gejala keracunan yang diamati tersebut adalah ciri-ciri yang mempengaruhi perilaku, syaraf otot, syaraf otonom, pernafasan, gastrointestinal, dan kulit. Perlakuan pada kelompok I sampai IV terjadi gejala yang mempengaruhi perilaku (menunduk, menggaruk-garuk dan ketakutan) dan syaraf otot (ekor membengkok), tetapi gejala tersebut juga terjadi pada kelompok kontrol sehingga tidak dapat dikategorikan sebagai gejala tanda keracunan.

Uji LD<sub>50</sub> terhadap ekstrak etanol daun pidada merah dilakukan untuk mengetahui pada dosis berapa ekstrak etanol daun pidada merah dapat memberikan efek toksik. Efek tersebut ditandai dengan adanya kematian pada mencit yang telah diberikan ekstrak etanol daun pidada merah, yang diamati

selama 4 jam untuk mengetahui gejala keracunan dan dilanjutkan pengamatan setiap 24 jam untuk melihat adanya kematian. Kematian dapat terjadi sesudah 24 jam pertama karena proses keracunan dapat berjalan lambat, oleh karena itu pengamatan kematian hewan uji dilakukan selama 7 hari.

**Tabel 3.** Jumlah Kematian Hewan Uji Setelah Pemberian Ekstrak etanol Daun pidada merah.

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Sampel (ekor)	Jumlah Kematian
Kontrol	Aquades	5	0
I	Dosis 5,2g/kgBB	5	0
II	Dosis 2,6g/kgBB	5	0
III	Dosis 1,3g/kgBB	5	0
IV	Dosis 0,65g/kgBB	5	0

Dosis maksimum yang tidak menimbulkan kematian pada hewan uji dinyatakan dengan nilai LD<sub>50</sub> semu. Dosis tertinggi (5,2 g/kgBB) yang telah diberikan tidak menimbulkan kematian maka termasuk dalam kategori toksik ringan. Hal ini sesuai dengan Lu<sup>(8)</sup>, apabila dosis tertinggi yang diberikan lebih besar dari 5-15 g/kgBB tidak menimbulkan kematian maka dikategorikan toksik ringan.

Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol daun pidada merah berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat yang dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan farmasi, karena memiliki manfaat yang besar dan memiliki keamanan tinggi dalam penggunaannya. Menurut Sadhu dkk (2006) Hasil isolasi daun *Sonneratia caseolaris* mengandung senyawa asam lemak, sterol hidrokarbon, dan dua flavonoid yaitu luteolin dan luteolin 7-O- $\beta$  glukosida yang memiliki daya antioksidan yang

tinggi<sup>(11)</sup>. Aktivitas dan fraksi daun Perepat Merah/ sebagai antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak methanol sebesar 21,62 ppm, fraksi n-heksan 82,36 ppm, fraksi etil asetat 13,41 ppm, dan fraksi n-butanol 13,04 ppm tumbuhan ini memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

## SIMPULAN

Gejala-gejala umum sebagai tanda keracunan (perilaku, saraf otot saraf otonom, pernafasan, gastrointestinal dan kulit) tidak timbul pada hewan uji yang diberi ekstrak etanol daun pidada merah. Nilai LD<sub>50</sub> semu (5,2 g/kgBB) dengan potensi ketoksikan kategori toksik ringan (5-15 g/kgBB).

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda atas bantuan fasilitas dan Kementerian Ristek Teknologi/Badan dan Inovasi Nasional atas hibah Penelitian Kompetitif Nasional PKPT Tahun 2021.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Prihanto, A. W. Aktivitas Antibakteri Akar Mangrove *Sonneratia Caseolaris* dan *Penicillium* sp. R1M terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *National Conference on Green Technology*. 2011.
2. Sahromi. *Sonneratia caseolaris*: Jenis Mangrove yang Hidup Di Kebun Raya Bogor. *Prosiding Seminar Nasional*. 11(1). 2011.
3. Varghese, J. K., Belzik. N., Nisha, A. R., Resiya. S., Resmi. S., Silvipriya, K.S. "Pharmacognostical and Phytochemical Studies of a Mangrove (*Sonneratia caseolaris*) From Kochi of Kerala State In India". *Journal of Pharmacy Research*. 3 (11): 2625-2627.

4. Hasanah, S., Ahmad, I., dan Rijai, L. Profil Tabir Surya Ekstrak dan Fraksinasi Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L.) *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 4(1). Hal. 175-180. 2015.
5. Syamsul, E.S, Supomo, Jubaidah, S. Karakterisasi Simplisia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L), *jurnal Kovalen* Vol 6. No.3. 2020.
6. Fanani, R. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (*Eugenia Uniflora* L.) Per Oral pada Tikus Galur Sprague Dawley. *Skripsi*. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2009.
7. Harborne, J.B. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung : ITB Press. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*. 1996.
8. Lu, F.C. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ, Sasaran, dan Penilaian Risiko*. Edisi II. Jakarta: UI. 1995.
9. Semiawan, F., Ahmad, Islamudin dan Masruhim, M.A. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun pidada merah (*Callicarpa longifolia* L.). *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Farmaka Tropis*. Samarinda :UNMUL. 2015.
10. Supriningrum, R. Siti, J dan Sapri. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Akar Tabar Kedayan (*Aristolochia Foveolata* Merr.). *Jurnal Media Sains* VII (2). 2014.
11. Sadhu, S.K., Ahmed, F., Ohtsuki, T., and Ishibashi, M. Flavonoids from *Sonneratia caseolaris*. *Journal of Natural Medicine*. 60: 264-265. 2006.