

**Uji Dosis Letal 50 (DL50) Ekstrak Etanol Daun Dewa
(*Gynura pseudochina* (Lour). Dc)
pada Tikus Jantan dan Betina Galur Wistar**

Yesi Astri

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Palembang

Abstrak

Penggunaan obat tradisional makin meningkat dan masyarakat beranggapan obat yang berasal dari alam tidak memiliki sifat berbahaya (toksik) meskipun digunakan terus menerus. Penelitian ini bermaksud untuk menguji toksisitas tanaman obat yang sering digunakan yaitu daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour)). Toksisitas oral akut adalah efek samping yang terjadi dalam waktu singkat melalui pemberian tunggal per oral ataupun dengan dosis berulang dalam waktu 24 jam. Dosis letal 50 (DL_{50}) telah digunakan sebagai standar perhitungan toksisitas pada semua bahan kimia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut ekstrak etanol daun dewa dengan menghitung DL_{50} ekstrak etanol daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour). DC) pada tikus galur Wistar. Dosis letal 50 dihitung berdasarkan data kematian hewan coba selama 14 hari. Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan statistik analisis probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DL_{50} ekstrak etanol daun dewa dengan pemberian per oral pada tikus jantan adalah > 30 g/kgBB dan DL_{50} ekstrak etanol daun dewa dengan pemberian per oral pada tikus betina sebesar 29,39 g/kgBB. Pemberian ekstrak etanol daun dewa pada tikus galur Wistar menunjukkan klasifikasi tidak toksik.

Kata kunci : Toksisitas oral akut, *Gynura pseudochina* (Lour). DC, dosis letal 50 (DL_{50}).

Korespondensi= Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang,
Jl. Jend. Ahmad Yani Talang Banten 13 Ulu Palembang Telp. 0711-520045 Fax. 0711-516899
Sumber : Hasil Penelitian Tesis

Pendahuluan

Obat tradisional yang merupakan obat bahan alam telah banyak digunakan dan tercatat keberhasilannya oleh masyarakat. Penelitian obat tradisional telah banyak dilakukan dan terbukti manfaat terapinya.¹ Banyak yang beranggapan bahwa penggunaan obat tradisional relatif lebih aman dibandingkan dengan obat sintetis. Bukan berarti bahwa obat tradisional ini tidak memiliki efek samping dan efek toksik. Kedua efek tersebut mungkin terdapat pada senyawa aktifnya.¹⁻³ Luasnya efek samping yang ditimbulkan oleh obat sintetis menjadikan perlunya dicari alternatif obat baru dengan efektivitas yang sama, dan efek samping yang lebih kecil.

Penelitian dalam bidang obat bahan alam sebenarnya telah banyak dilakukan di Indonesia, namun masih terfokus pada taraf penapisan fitokimia dan farmakologi, yang masih tersimpan di laboratorium sehingga belum digunakan dalam klinis guna pencegahan atau penyembuhan penyakit.⁴ Sesuai dengan perkembangan dan tuntutan zaman, obat tradisional diharapkan dapat berkembang menjadi golongan obat fitofarmaka.

Syarat mutlak suatu obat tradisional dapat diterima sebagai fitofarmaka adalah jaminan akan mutu, khasiat (*efficacy*) dan keamanannya (*safety*).^{2,4} Optimalisasi hasil penelitian obat bahan alam ini membutuhkan kerjasama antara klinisi, farmakolog, toksikolog dan teknologi farmasetika.⁴ Telah banyak dilakukan penelitian terkait dengan

khasiat obat tradisional, namun sampai sejauh ini belum banyak yang meneliti mengenai toksisitasnya.³

Toksisitas suatu zat adalah kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan pada organisme hidup. Pada dasarnya, semua zat, bahan dan sediaan kimia baru yang akan digunakan pada manusia, hewan dan lingkungannya perlu diuji keamanannya, kemungkinan adanya bahaya bagi kesehatan.⁵ Sebagai langkah awal untuk mengetahui potensi toksik suatu zat, maka dilakukan uji toksisitas akut.⁶

Uji toksisitas oral akut adalah uji efek samping yang terjadi dalam waktu singkat, melalui pemberian tunggal per oral ataupun dengan dosis berulang dalam waktu 24 jam.⁶ Data kematian hewan coba yang dinyatakan dengan dosis letal 50 (DL_{50}) merupakan parameter pada uji toksisitas akut.⁵ Dosis letal 50 adalah dosis yang menyebabkan 50% subjek percobaan mengalami kematian pada waktu dan kondisi yang telah ditentukan. Saat ini, DL_{50} telah digunakan sebagai standar perhitungan toksisitas pada semua bahan kimia. Dosis letal dapat dihitung dengan berbagai metode, antara lain Bliss, Litchfield dan Wilcoxon, Finney, Weil, Thompson, Miller dan Tainter. Hasil ini akan mengklasifikasikan suatu tanaman obat menjadi kelompok *supertoxic*, *extremely toxic*, *very toxic*, *moderately toxic*, *slightly toxic* dan *practically nontoxic*.⁷

Tanaman berkhasiat obat sangat banyak, daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour.) DC) merupakan salah satu tanaman obat

yang banyak digunakan. Tanaman obat ini merupakan tanaman yang penting dalam pengobatan tradisional yang terkenal akan manfaatnya.⁸

Manfaat daun dewa yang digunakan oleh masyarakat antara lain untuk bengkak terburuk, tuberkulosis (TB) paru, bronkitis, pertusis, batu ginjal, radang mata, sakit gigi, radang tenggorok, radang sendi, perdarahan kandungan, payudara bengkak, kencing manis, darah tinggi, tidak datang haid, ganglion, kista, tumor, digigit binatang berbisa.⁹ Penapisan fitokimia daun dewa menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, tannin, katekat, saponin, kuersetin, triterpenoid dan steroid.¹⁰ Di antara senyawa kimia pada tanaman obat yang diketahui berpotensi racun antara lain alkaloid, polipeptida, steroid, triterpenoid, oksalat, saponin dan nitrogen.¹¹ Tiga dari senyawa kimia yang berpotensi racun ini terkandung di dalam daun dewa.

Melihat prospek penggunaan daun dewa sebagai alternatif obat baru, dan di sisi lain salah satu senyawa kimia yang diketahui berpotensi racun terkandung di dalam daun dewa, maka perlu dilakukan penelitian untuk menjamin keamanan penggunaannya yaitu dengan melakukan uji toksisitas akut per oral terhadap hewan coba, yaitu tikus jantan dan betina Galur Wistar.

Metode Penelitian

Bahan dan Cara Kerja

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: tikus putih jantan dan

betina galur Wistar sebagai subjek penelitian, ekstrak etanol daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour.) DC) yang telah disiapkan *carboxyl methyl cellulosa* 1% (CMC 1%), akuades dan makanan tikus.

Jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan formula uji hipotesis dua rata-rata, dan didapatkan jumlah hewan coba satu kelompok (n) adalah 6 ekor. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *random allocation*, secara *random block permutation*, yaitu semua subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dimasukkan dalam penelitian secara acak sampai mencukupi jumlah sampel yang dibutuhkan.

Masing-masing hewan coba dikelompokkan menjadi 7 kelompok, kemudian diadaptasikan selama 7 hari di laboratorium. Pada hari ke-8, hewan coba diberikan ekstrak etanol daun dewa dosis tunggal. Kelompok I diberikan larutan CMC 1%, kelompok II diberikan ekstrak etanol daun dewa 1,625 g/kgBB, kelompok III diberikan ekstrak etanol daun dewa 3,25 g/kgBB, kelompok IV diberikan ekstrak etanol daun dewa 7,5 g/kgBB, kelompok V diberikan ekstrak etanol daun dewa 15 g/kgBB, kelompok VI diberikan ekstrak etanol daun dewa 25 g/kgBB, kelompok VII diberikan ekstrak etanol daun dewa 30 g/kgBB. Ekstrak diberikan dalam dosis tunggal.

Perhitungan DL_{50} dihitung berdasarkan data kematian hewan coba selama 14 hari. Bila terdapat hewan coba yang mati,

langsung dilakukan pembedahan. DL_{50} dianalisis secara statistik menggunakan statistik analisis probit, berdasarkan jumlah kematian tikus sampai hari ke-14 untuk masing-masing dosis ekstrak etanol daun dewa dan dilakukan pada batas kepercayaan 95%. Statistik analisis probit digunakan untuk menganalisis respon terhadap dosis, yang umumnya digunakan pada bidang toksikologi untuk menentukan toksisitas bahan kimia terhadap makhluk hidup yang dinyatakan dengan Persamaan seperti berikut:

Persamaan:¹²

$$Y = \alpha + \beta \log x$$

Keterangan :

- Y : variabel terikat (% kematian hewan coba)
 α : konstanta
 β : kemiringan persamaan garis (gradien)
 x : variabel bebas (dosis ekstrak etanol daun dewa)

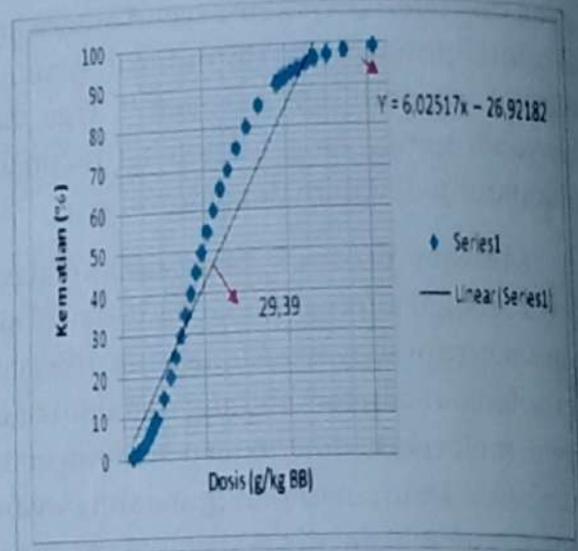
Hasil dan Pembahasan

a. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil yang didapatkan selama 14 hari masa penelitian, kematian pada hewan coba setelah pemberian ekstrak etanol daun dewa per oral ditemukan pada kelompok tikus betina, yaitu sebanyak 1 ekor hewan coba (16,67%) pada kelompok dosis 25 g/kgBB, dan sebanyak 4 ekor hewan coba (66,67%) pada kelompok dosis 30 g/kgBB.

Pada kelompok dosis yang lain tidak ditemukan kematian hewan coba. Kematian hewan coba juga tidak ditemukan pada semua kelompok dosis tikus jantan.

Data yang berupa persentase hewan coba yang mengalami kematian dianalisis dengan menggunakan program statistik probit. Pada kelompok hewan coba jantan, analisis tersebut tidak dapat digunakan, karena tidak ditemukan data kematian satu pun hewan coba. Dengan demikian, nilai DL_{50} ekstrak etanol daun dewa dengan pemberian oral pada tikus jantan dituliskan sebagai > 30 g/kgBB. Sedangkan pada kelompok hewan coba betina, dengan analisis program statistik probit didapatkan nilai DL_{50} ekstrak etanol daun dewa dengan



Gambar 1. DL_{50} Tikus Betina

Pengamatan dan pemeriksaan klinis dilakukan segera setelah pemberian bahan uji. Dilakukan dalam 3-4 jam, dengan interval 0,5-1 jam. Frekuensi dan interval ini dinilai cukup untuk menentukan onset keracunan, dan kematian.

Parameter yang tercantum pada tabel adalah tanda farmakotoksik yang umum pada uji toksisitas akut. Parameter diukur seperti pernapasan, refleks mata, produksi

saliva, tonus otot, kulit dan sebagainya serta jaringan yang terlibat seperti yang tampak pada Tabel 1. dan Tabel 2. Seperti tabel berikut ini.

Tabel 1. Pengamatan Tanda Toksik Tikus Jantan

Tanda Toksik	Kel. 1	Kel. 2	Kel. 3	Kel. 4	Kel. 5	Kel. 6	Kel. 7	Organ/Jaringan/Sistem yang Terlibat
Pernapasan	-	-	-	-	-	-	-	SSP, insufisiensi jantung-paru
Aktivitas Motorik	-	↓	↓	↓	↓	↓	↓	SSP, SSO, sensorik, neuromuskuler
Refleks Mata	-	-	-	-	-	-	-	Sensorik, neuromuskuler
Kardiovaskuler	-	p	p	p	p	p	p	SSO
Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	SSP, SSO, insufisiensi jantung-paru
Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	SSO
Tonus Otot	-	-	-	-	-	-	-	SSO
Gastrointestinal	-	-	-	-	-	-	-	SSO, SSP, motilitas usus, sensorik
Kulit	-	-	-	-	-	-	-	Iritasi, Inflamasi

Tabel 2. Pengamatan Tanda Toksik pada Tikus Betina

Tanda Toksik	Kel. 1	Kel. 2	Kel. 3	Kel. 4	Kel. 5	Kel. 6	Kel. 7	Organ/Jaringan/Sistem yang Terlibat
Pernapasan	-	-	-	-	-	-	-	SSP, insufisiensi jantung-paru
Aktivitas Motorik	-	↓	↓	↓	↓	↓	↓	SSP, SSO, somatomotorik, sensorik, neuromuskuler
Refleks Mata	-	-	-	-	-	-	-	Sensorik, neuromuskuler
Kardiovaskuler	-	p	p	p	p	p	p	SSO
Salivasi	-	-	-	-	-	-	-	SSP, SSO, insufisiensi jantung-paru
Piloereksi	-	-	-	-	-	-	-	SSO
Tonus Otot	-	-	-	-	-	-	-	SSO
Gastrointestinal	-	-	-	-	-	-	d	SSO, SSP, motilitas usus, sensorik
Kulit	-	-	-	-	-	-	-	Iritasi, Inflamasi

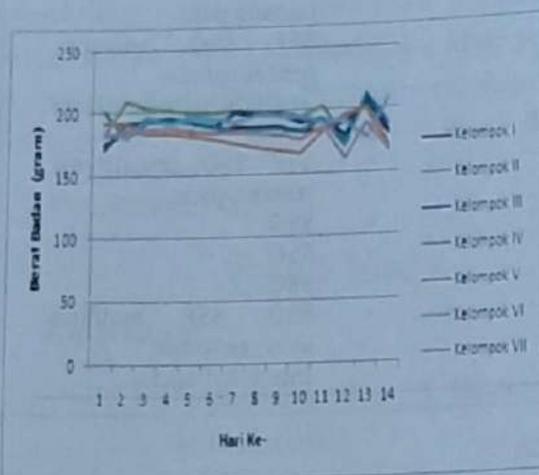
Keterangan :

↓ : penurunan aktivitas motorik

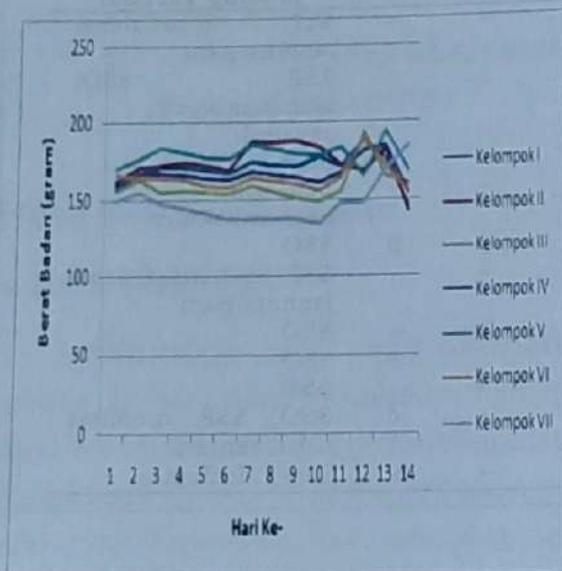
p : ptosis

d : diare

Penelitian ini juga memperlihatkan profil perubahan berat badan hewan coba setiap kelompok selama masa penelitian 14 hari. Dari data yang diperoleh selama penimbangan, dilakukan uji *one sample Kolmogorov Smirnov Test*, dan didapatkan $p > 0,05$, sehingga data memiliki distribusi normal.



Gambar 2. Perubahan Berat Badan Tikus Jantan



Gambar 3. Perubahan Berat Badan Tikus Betina

Hasil uji ANOVA didapatkan nilai $p > 0,05$, maka tidak terdapat perbedaan bermakna rata-rata berat badan antar kelompok dosis, baik pada tikus jantan maupun tikus betina, seperti yang terlihat pada Gambar 2. dan Gambar 3.

b. Pembahasan

Penelitian ini menunjukkan bahwa kematian hewan coba terjadi pada kelompok hewan coba betina, yaitu pada dosis 25 g/kgBB dan 30 g/kgBB. Sedangkan pada kelompok hewan coba jantan tidak terjadi kematian pada semua kelompok dosis.

Pada tahun 1986, OECD merekomendasikan uji toksisitas akut dilakukan pada kelompok hewan coba jantan, karena pada saat itu dianggap tidak ada perbedaan sensitivitas antara jenis kelamin hewan coba. Namun dengan makin berkembangnya survey dan penelitian, terlihat adanya perbedaan sensitivitas antara jenis kelamin jantan dan betina, yaitu hewan coba betina lebih sensitif, yang dipengaruhi oleh faktor hormonal. Hal tersebut juga tampak pada penelitian ini, yaitu perbedaan DL_{50} pada kelompok tikus jantan dan tikus betina. Oleh karena itu, pada panduan uji toksisitas terbaru, OECD merekomendasikan penggunaan kedua jenis kelamin dalam penelitian.⁶

Nilai DL_{50} yang didapatkan pada kelompok tikus jantan, yaitu sebesar > 30 g/kgBB (setara dengan > 336 g/kgBB pada manusia) dan pada tikus betina sebesar 29,39 g/kgBB (setara dengan 329,17 g/kgBB pada manusia). Menurut Hodge dan Sterner, nilai ini merupakan klasifikasi *practically*

nontoxic.⁷ Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kematian yang disebabkan oleh ekstrak etanol daun dewa rendah.

Pengamatan klinis terhadap tanda-tanda toksik memperlihatkan bahwa tikus jantan dan tikus betina mengalami perubahan aktivitas motorik. Perubahan aktivitas motorik dapat berupa peningkatan atau penurunan aktivitas motorik spontan, somnolen, kehilangan kontrol keseimbangan, katalepsi, ataksia, tremor dan fasikulasi. Pada penelitian ini, yang terjadi pada tikus jantan dan betina adalah penurunan aktivitas motorik spontan. Aktivitas motorik ini dipengaruhi oleh sistem saraf pusat.

Tanda toksik terhadap gastrointestinal tampak pada kelompok VII tikus betina, yaitu perubahan konsistensi feses menjadi lebih cair (diare). Konsistensi feses yang menjadi lebih lunak ini dipengaruhi oleh sistem saraf otonom dan motilitas usus.⁶

Pemeriksaan berat badan direkomendasikan pada uji toksisitas akut, karena merupakan indikator yang paling sensitif terhadap kondisi hewan coba bila dilakukan secara teratur dan teliti. Penurunan berat badan yang cepat dan bermakna biasanya merupakan pertanda kesehatan yang buruk, bahkan kematian. Selain itu, penurunan berat badan dapat pula disebabkan oleh kurangnya konsumsi makanan dan minuman, penyakit ataupun tanda toksik spesifik.¹³

Hasil uji statistik pada tikus jantan dan tikus betina tidak menunjukkan perbedaan berat badan yang bermakna. Hal ini

menunjukkan bahwa data berat badan tersebut homogen, dan pemberian ekstrak etanol daun dewa tidak menyebabkan perubahan berat badan yang bermakna terhadap hewan coba.

Simpulan

Berdasarkan hasil perhitungan DL_{50} , pengamatan tanda toksik dan profil perubahan berat badan ekstrak etanol daun dewa pada tikus jantan dan tikus betina galur Wistar, diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun dewa dengan pemberian oral pada tikus jantan dan tikus betina galur Wistar menunjukkan klasifikasi tidak toksik.

Daftar Pustaka:

1. Soemardji, A. 2007. *Etnofarmakologi dalam Pengembangan Obat Bahan Alam. Makalah Simposium Tanaman Obat*. Bandung, disampaikan tanggal 10 Februari 2007.
2. Qawiyyah, A. 2006. *Uji Toksisitas Subkronis Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale Rose. Var sunti Val.) dan Buah Mengkudu (Morinda citrifolia Linn) pada Tikus Galur Wistar*. Tesis. Sekolah Farmasi ITB. Bandung
3. Katno & Pramono, S. 2002. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta
4. Anonim. 2001. *Kelompok Kerja Phyto Medica. Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka : Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*.

- Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. Jakarta.
5. WHO Publications. 2004. *Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method*. Geneva.
 6. DiPasquale, LC & Hayes, AW. 2001. Acute Toxicity and Eye Irritancy. dalam: Wallace Hayes, Taylor & Francis, penyunting. *Principles and Methods of Toxicology*. Edisi ke-4. Philadelphia: Lippincot Williams and Wilkins; hal. 853-75.
 7. Casarett, Louis J. 2001. Origin and Scope of Toxicology. dalam: Casarett, Louis J, penyunting. *Toxicology: the Basic Science of Poisons*. USA: Macmillan Publishing Co.,Inc; 2001. hal. 3-10.
 8. Winarto WP. 2005. *Daun dewa, budi daya dan pemanfaatan untuk obat*. Jakarta. Swadaya.
 9. Dalimarta S. 2005. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid ke-1. Jakarta: Trubus Agriwidya.
 10. Herwindriandita, Kusmardiyani Siti, Nawawi As'ari. 2006. *Telaah tokimia Daun Dewa (Gynura pseudochina (Lour.) DC)*. [Skripsi]. Bandung: Sekolah Farmasi ITB.
 11. Kingsbury, John M. 2001. Phytotoxicology. Dalam: Cassaret, Louis J, penyunting. *Toxicology: the basic science of poisons*. USA: Macmillan Publishing Co.,Inc. hal.591-603.
 12. Galds W. 2001. Statistics for Toxicologist. Dalam: Taylor & Francis, penyunting. *Principles and Methods of Toxicology*. Edisi ke-4. Philadelphia: Lippincot Williams and Wilkins. hal. 873-901.
 13. Wilson Nelson, Hardisty Jerry F, Hayes Johnnie R. 2001. Short-term, Subchronic and Chronic Toxicology Studies. Dalam: Taylor & Francis, penyunting. *Principles and Methods of Toxicology*. Edisi ke-4. Philadelphia: Lippincot Williams and Wilkins. hal. 917-56.