



Accute Toxicity of Extract from Melinjo (*Gnetum gnemon* L) Leaf with Fixed Dose Procedure Method

Ayu Adelia Lestari¹, Herlina^{1*}, Annisa Amriani¹, Dina Permata Wijaya¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, 30802, Indonesia

Submitted 16 February 2020; Revised 28 September 2020; Accepted 22 December 2020; Published 31 Oktober 2022

*Corresponding author: rinaafdil@gmail.com

Abstract

Melinjo leaves has several benefits as antidiabetic, antihyperglycemia, antioxidant and diuretic. In this experiment the acute toxicity test of ethanol extract of melinjo (*Gnetum gnemon* L). leaves on male white rats of wistar strain with fixed dose procedure method. The result of the screening of the phytochemical showed that the leaves of beluntas contained alkaloid, flavonoid, saponin, fenolic, and tanin. Ethanol extract of melinjo leaves was obtained by maceration using ethanol 70%. From the observational study, the dose 2000 mg/kg BW was chosen as starting dose for the main study. Experimental animal subject used in the main study were 10 male white rats of wistar which were divided into 2 group, normal group and treatment group with a dose of 2000 mg/kgBW. The result showed that there were no death or toxicity sign in all experimental animals. During the 14 days observation period, there were no significant changes in body weight of rats either in normal control group and treatment group with a dose of 2000 mg/kg BW ($p > 0.05$). Melinjo leaves had no effect on the macroscopic organs of liver, kidneys and heart of the test animals ($p > 0.05$). The average level of biochemical parameters in the normal group is SGOT 54.13 ± 11.428 U/L, SGPT 47.476 ± 21.655 U/L, creatinine 0.632 ± 0.199 mg/dL, and urea 14.46 ± 2.267 mg/dL, while the 2000 mg/kg BW dose group is SGOT 60.192 ± 14.198 U/L, SGPT 55.968 ± 22.998 U/L, creatinine 0.756 ± 0.204 mg/dL, and urea 16 ± 2.561 mg/dL. It showed that the ethanol extract of melinjo leaves with a dose of 2000 mg/kgBW are the category of practically non-toxic.

Keywords: acute toxicity, fixed dose procedure, *Gnetum gnemon* L., melinjo leaves.

Toksisitas Akut Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L) dengan Metode Fixed Dose Procedure

Abstrak

Daun Melinjo memiliki beberapa khasiat sebagai antidiabetes, antihiperlikemia, antioksidan dan diuretik. Telah dilakukan uji toksisitas akut ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap tikus putih jantan galur Wistar dengan metode fixed dose procedure. Hasil skrining fitokimia daun melinjo mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik dan tanin. Pada uji pendahuluan didapatkan dosis 2000 mg/kg BB sebagai dosis awal untuk uji utama. Hewan uji yang digunakan kelompok normal dan kelompok perlakuan dosis 2000 mg/kg BB. Hasil penelitian menunjukkan tidak terjadi kematian maupun gejala toksik pada semua kelompok perlakuan. Selama 14 hari masa pengamatan, tidak terjadi perubahan bobot tikus yang signifikan baik pada kelompok normal maupun kelompok dosis 2000 mg/kgBB ($p > 0,05$). Daun melinjo tidak berpengaruh terhadap makroskopis hati, ginjal dan jantung hewan uji ($p > 0,05$). Rata-rata kadar parameter biokimia kelompok normal untuk SGOT $54,13 \pm 11,428$ U/L, SGPT $47,476 \pm 21,655$ U/L, kreatinin $0,632 \pm 0,199$ mg/dL, dan urea $14,46 \pm 2,267$ mg/dL, sedangkan kelompok tikus dosis 2000 mg/kgBB untuk SGOT $60,192 \pm 14,198$ U/L, SGPT $55,968 \pm 22,998$ U/L, kreatinin $0,756 \pm 0,204$ mg/dL, dan urea $16 \pm 2,561$ mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dosis 2000 mg/kg BB berada dalam kategori praktis tidak toksik.

Kata Kunci: daun melinjo, fixed dose procedure, *Gnetum gnemon* L., toksisitas akut

1. Pendahuluan

Obat tradisional merupakan bahan atau campuran bahan yang berupa tumbuhan, hewani, mineral, sediaan galenika atau campuran dari bahan tersebut yang sudah dilakukan secara turun-temurun untuk pengobatan serta diterapkan berdasarkan tata cara yang berlaku di masyarakat¹. Obat tradisional lebih mudah diterima oleh masyarakat dikarenakan harganya yang relatif lebih murah dan mudah didapatkan. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional yaitu daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dimana daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, steroid, tannin dan flavonoid².

Berdasarkan penelitian daun melinjo memiliki aktivitas sebagai diuretik dengan $ED_{50} = 1068 \text{ mg/kgBB}^3$, sebagai antidiabetes dengan $ED_{50} = 720,86 \text{ mg/kgBB}^4$, sebagai antihiperlipidemia dengan $ED_{50} = 879,74 \text{ mg/kgBB}^5$. Nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun melinjo $19,50 \text{ mg/L}$ dan kandungan fenolik totalnya $1227,8 \text{ mg/L}$ sehingga daun melinjo memiliki aktivitas sebagai antioksidan⁶. Untuk mengetahui keamanan daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) maka perlu dilakukan uji toksisitas.

Uji toksisitas adalah uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi, dan untuk memperoleh data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Salah satu uji yang bisa dilakukan adalah uji toksisitas akut yaitu uji untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Metode yang digunakan pada uji toksisitas ini adalah Fixed Dose Method. Prinsip dari metode Fixed Dose dengan menggunakan dosis bertingkat 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB . Sebelum dilakukan uji utama dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan dosis yang menimbulkan gejala toksisitas⁷.

Gejala toksisitas dapat diketahui dari pengamatan terhadap makroskopis hati,

ginjal, dan jantung. Organ hati, ginjal, dan jantung cenderung berwarna kecoklatan. Zat yang bersifat toksik dapat mempengaruhi perubahan warna organ hati, ginjal, dan jantung menjadi warna kuning atau hitam. Warna kuning dapat mengindikasikan adanya perlemakan pada organ, sedangkan warna hitam dapat mengindikasikan adanya kematian sel pada organ. Perubahan bentuk dan bobot organ pun dapat mengindikasikan terjadinya kerusakan organ atau gangguan fungsi organ akibat zat toksik⁸.

Penelitian ini tidak hanya mengenai rentang dosis toksik (range LD_{50}) tetapi juga terhadap gejala toksik yang timbul berupa perubahan tingkah laku tikus seperti tremor, salivasi diare, lemas, jalan mundur, dan jalan menggunakan perut⁷. Pengamatan juga dilakukan terhadap makroskopis hati, ginjal, dan jantung (bentuk, bobot, dan warna organ) serta parameter biokimia seperti SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum.

2. Metode

2.1. Bahan

Daun melinjo diperoleh dari daerah Indralaya, Sumatera Selatan. Tanaman ditaksonomi di Departemen Biologi Universitas Sriwijaya dengan No.0043/IPH.06/HM/I/2019. Etanol 70% (PT. Dira Sonita), akuades (PT. Dira Sonita), kertas saring, Na CMC 0,5% (Bratachem), reagen SGOT dan SGPT (Dialab®), reagen penetapan kadar ureum dan kreatinin (Dialab®).

2.2. Prosedur Penelitian

2.3.1. Pembuatan Ekstrak

Daun melinjo sebanyak 2 kg diambil dari daerah Indralaya, Sumatera Selatan. Daun melinjo disortasi basah, dicuci, dirajang, dikeringkan dan dihaluskan menjadi serbuk. Serbuk daun melinjo sebanyak 1 kg direndam dengan 6 L etanol 70% di dalam bejana maserasi yang tertutup rapat pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya selama 2 hari. Penggantian pelarut dilakukan setelah 48 jam dan dilakukan remaserasi dengan 4 L etanol 70% selama 24 jam. Perbandingan

sampel dengan pelarut 1:10. Maserat yang didapat kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 70°C. Untuk ekstrak daun melinjo dilakukan skrining fitokimia.

2.3.2. Uji Pendahuluan

Penelitian telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan RS Umum Pusat Moahmmad Hosein dan Fakultas Kedokteran Unpad dengan nomor persetujuan etik 556/kepkrsmhfkunsri/2019. Pada uji pendahuluan jumlah hewan uji yang digunakan masing-masing 1 ekor untuk tiap tingkatan dosis. Dosis yang digunakan dapat dipilih dari tingkatan fixed dose: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB. Pengujian kali ini dosis awal yang digunakan adalah 5 mg/kgBB⁹. Hewan uji sebagai kelompok normal hanya diberi akuades dan tikus perlakuan diberi sediaan uji dosis tunggal 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB menggunakan oral sonde. Pengamatan dilakukan secara rutin pada 4 jam pertama setelah pemberian dosis selama 24 jam.

Pengamatan ini dilakukan terhadap ada tidaknya kematian ataupun gejala toksik yang muncul dari hewan uji.

2.3.3. Uji Utama

Sebelum diberi perlakuan hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari. Hewan uji dipuasakan selama 14-18 jam, namun diperbolehkan pemberian air minum. Setelah dipuasakan, hewan ditimbang kemudian diberikan sediaan uji dalam dosis tunggal secara oral menggunakan sonde. Pakan boleh diberikan kembali setelah 3-4 jam setelah diberikan perlakuan.

Dosis awal ditentukan dari hasil yang diperoleh pada uji pendahuluan yang telah dilakukan. Pada uji utama ini hewan uji dilebihkan 1 ekor pada tiap kelompok yang bertujuan untuk mencegah kekurangan sampel jika terjadi kematian atau hilangnya hewan uji pada saat penelitian. Sehingga hewan uji yang digunakan pada uji utama sebanyak 5 ekor setiap kelompok.

Apabila pada uji pendahuluan tidak ada kematian pada tingkat dosis 2000 mg/kgBB maka tidak perlu diberikan dosis melampaui

2000 mg/kgBB. Pengamatan secara rutin dilakukan pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji dan secara periodik setiap 4 jam selama 24 jam pertama kemudian sehari sekali selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan meliputi ada tidaknya kematian ataupun gejala toksik yang ditunjukkan oleh hewan uji⁷.

2.3.4. Pengamatan

Hal-hal yang harus diamati dalam periode observasi selama perlakuan yaitu jumlah hewan yang mengalami gejala toksik, seperti perubahan tingkah laku hewan (jalan mundur, jalan menggunakan perut, tremor, diare, salivasi, dan lemas), serta jumlah hewan yang mati selama uji. Berat badan masing-masing hewan uji harus dicatat pada saat sebelum diberikan sediaan uji dan 2 minggu setelahnya. Pada akhir penelitian, hewan yang masih bertahan hidup ditimbang kemudian dikorbankan. Seluruh hewan (termasuk yang mati selama penelitian maupun yang dikorbankan) harus dinekropsi. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap makroskopik organ berupa perubahan bentuk, warna, dan bobot organ (khususnya organ hati, ginjal, dan jantung) dan pengukuran kadar parameter biokimia berupa SGOT, SGPT, kreatinin, dan ureum.

Pada bagian pankreas dilakukan pengamatan histopatologi. Adapun kelompok perlakuan yang digunakan, yaitu kelompok normal, kelompok dosis 720,86 mg/kgBB dan kelompok dosis 2000 mg/kgBB. Selanjutnya, hasil pemeriksaan preparat dilakukan dengan mengamati bentuk morfologi struktur jaringan pankreas tikus.

2.3.5. Analisis Data

Analisis data penelitian diproses dengan aplikasi pengolah data SPSS. Hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas (Normality Test). Untuk mengetahui adanya perbedaan berat badan hewan uji pada saat sebelum dan sesudah perlakuan, data berat badan hewan uji yang diperoleh dianalisis dengan uji T berpasangan (Paired T-test). Untuk data bobot organ, kadar SGOT, SGPT,

Tabel 1: Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Melinjo

Metabolit Sekunder	Hasil
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Tanin	+
Fenolik	+
Steroid	-
Terpenoid	-
Saponin	+

kreatinin, dan kadar ureum dilakukan uji T independen (Independent T-test), analisis ini dilakukan untuk membandingkan 2 kelompok perlakuan yang berbeda.

3. Hasil

3.1. Skrining Fitokimia

Ekstrak kental daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) diperoleh sebanyak 204,9 g. Adapun persen rendemennya yaitu 20,49%. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun melinjo dapat dilihat pada Tabel 1. Daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung metabolit sekunder alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid.

3.2. Uji Pendahuluan

Hasil pengamatan uji pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan tidak ada gejala toksik seperti tremor, salivasi, diare, lemas, jalan mundur, dan jalan menggunakan perut. Apabila tidak ada gejala toksik ataupun kematian pada uji pendahuluan, maka dosis 2000 mg/kgBB ditetapkan sebagai dosis pada uji utama.

3.3. Uji Utama

Hasil pengamatan uji utama dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil pengamatan uji utama sama seperti uji pendahuluan bahwa tidak ada terjadi kematian maupun gejala toksik seperti jalan mundur, jalan dengan perut, tremor, diare, salivasi dan lemas pada hewan uji selama 14 hari masa pengamatan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh sediaan uji terhadap toksisitas.

3.4. Pengamatan Histopatologi Pankreas

Gambaran histopatologi pankreas pulau Langerhans perbesaran 100x dapat dilihat pada gambar 1. Derajat kerusakan pulau langerhans dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kondisi pankreas kelompok normal tidak terjadi kerusakan pada jaringannya atau kondisi pankreas sehat (Gambar a). Hal ini terbukti dengan derajat kerusakannya adalah 0, dimana pada derajat kerusakan 0 menunjukkan bahwa tidak adanya kerusakan pada pulau Langerhans. Pada gambar b (Kelompok dosis 720,86 mg/kgBB) dan c (Kelompok dosis 2000 mg/kgBB) terlihat bahwa kondisi pankreas terdapat kerusakan pada jaringannya.

3.5. Pemeriksaan Parameter Kadar Biokimia

Hasil penetapan kadar SGOT, SGPT, kreatinin, dan urea disajikan pada Tabel 5. Pada tabel 5 dapat dilihat bahwa kadar parameter biokimia SGOT, SGPT kreatinin dan ureum pada kelompok normal masuk kedalam rentang kadar normal. Begitupun pada kelompok tikus dosis 2000 mg/kgBB kadar parameter biokimia SGOT, SGPT, kreatinin dan ureum juga masuk ke dalam rentang kadar normal.

3.6. Pemeriksaan Parameter Kadar Biokimia

Hasil penetapan kadar SGOT, SGPT, kreatinin, dan urea disajikan pada Tabel 5. Pada tabel 5 dapat dilihat bahwa kadar parameter biokimia SGOT, SGPT, kreatinin, dan ureum pada kelompok normal masuk kedalam rentang kadar normal. Begitupun pada kelompok tikus dosis 2000 mg/kgBB kadar parameter biokimia SGOT, SGPT, kreatinin dan ureum juga masuk ke dalam rentang kadar normal.

4. Pembahasan

Persentase rendemen ekstrak menyatakan banyaknya ekstrak senyawa yang dapat tersari dalam pelarut yang digunakan. Besar kecilnya nilai persen rendemen ekstrak yang didapat menunjukkan efektifitas proses ekstraksi. Disamping itu sifat kelarutan dari komponen aktif juga mempengaruhi tingginya nilai rendemen¹¹. Adapun hal yang dapat mempengaruhi nilai persen rendemen ekstrak yaitu durasi proses ekstraksi dan derajat

Tabel 2: Hasil Pengamatan Uji Pendahuluan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus	Jumlah Tikus Mati	Gejala Toksisitas					
				1	2	3	4	5	6
Normal	Akuades	1	0	-	-	-	-	-	-
Dosis 5 mg/kgBB	Dosis 5 mg/kgBB	1	0	-	-	-	-	-	-
Dosis 50 mg/kgBB	Dosis 50 mg/kgBB	1	0	-	-	-	-	-	-
Dosis 300 mg/kgBB	Dosis 300 mg/kgBB	1	0	-	-	-	-	-	-
Dosis 2000 mg/kgBB	Dosis 2000 mg/kgBB	1	0	-	-	-	-	-	-

Keterangan: 1. Jalan mundur, 2. Jalan dengan perut, 3. Tremor, 4. Diare, 5. Salivasi, 6. Lemas;
(-) Tidak menunjukkan gejala

kehalusan simplisia. Semakin lama proses ekstraksi maka semakin tinggi nilai persen rendemen yang diperoleh¹². Semakin tinggi rendemen dari suatu ekstrak maka semakin tinggi juga kandungan zat yang tertarik dari suatu bahan baku¹³.

Prinsip dasar dari skrining fitokimia adalah adanya reaksi pengujian warna dengan suatu reaksi warna. Terjadinya perubahan warna, terbentuk endapan serta terbentuknya busa pada larutan uji menunjukkan hasil positif pada pengujian ini. Uji flavonoid menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna merah pada larutan uji. Identifikasi alkaloid menggunakan pereaksi mayer ditandai dengan terdapatnya endapan putih, pereaksi wagner ditandai adanya endapan coklat dan endapan merah jingga pada pereaksi dragendroff. Uji Saponin menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya busa setinggi 1 cm selama 10

menit setelah dilakukan pengocokkan yang kuat pada larutan uji. Hasil positif dari uji senyawa tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada sampel setelah penambahan pereaksi FeCl_3 ¹⁴. Berdasarkan skrining fitokimia ekstrak daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid².

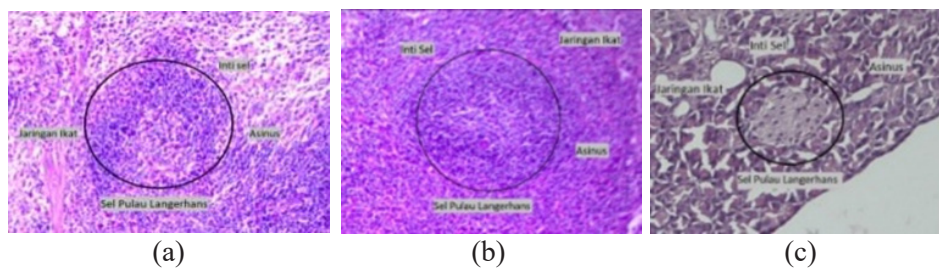
Penurunan maupun kenaikan bobot tubuh yang terjadi pada hewan uji kelompok normal maupun kelompok dosis 2000 mg/kgBB selama penelitian tidak lebih dari 10%, hal tersebut menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh secara signifikan terhadap perubahan bobot hewan selama pengujian. Berat badan tikus adalah salah satu data pendukung guna melihat pengaruh toksisitas¹⁵.

Pengamatan dilakukan dengan interval pengamatan minimal 24 jam pada setiap dosis. Namun setiap setelah pemberian dosis, dilakukan pengamatan pada 4 jam pertama

Tabel 2: Hasil Pengujian Utama

Kelompok	Perlakuan	Tikus yang mati	Gejala Toksisitas					
			1	2	3	4	5	6
Normal	Tikus 1	Akuades	0	-	-	-	-	-
	Tikus 2	Akuades	0	-	-	-	-	-
	Tikus 3	Akuades	0	-	-	-	-	-
	Tikus 4	Akuades	0	-	-	-	-	-
	Tikus 5	Akuades	0	-	-	-	-	-
Dosis 2000mg/kgBB	Tikus 1	Dosis 2000mg/kgBB	0	-	-	-	-	-
	Tikus 2	Dosis 2000mg/kgBB	0	-	-	-	-	-
	Tikus 3	Dosis 2000mg/kgBB	0	-	-	-	-	-
	Tikus 4	Dosis 2000mg/kgBB	0	-	-	-	-	-
	Tikus 5	Dosis 2000mg/kgBB	0	-	-	-	-	-

Keterangan: 1. Jalan mundur, 2. Jalan dengan perut, 3. Tremor, 4. Diare, 5. Salivasi, 6. Lemas;
(-) Tidak menunjukkan gejala



Gambar 1: Gambaran histopatologi pancreas pulau Langerhans perbesaran 100×
Keterangan: (a) Kelompok normal (b) Kelompok dosis 720,86 mg/kgBB(c) Kelompok dosis 2000 mg/KgBB

untuk melihat gejala toksik yang muncul pada hewan uji yang kemudian dilanjutkan dengan pengamatan selama minimal 24 jam pada setiap dosis. Hal ini dikarenakan pada 4 jam pertama obat telah terabsorpsi ke dalam tubuh sehingga telah menimbulkan efek¹⁶.

Pemberian ekstrak dilakukan melalui rute oral. Hal ini memungkinkan terjadinya siklus enterohepatik, setelah terjadi absorpsi pada saluran cerna, maka senyawa akan dibawa oleh vena porta menuju hati. Sekitar 80 % darah yang ada dalam hati berasal dari vena porta, sehingga hati sering menjadi organ sasaran senyawa toksik didalam tubuh¹⁷.

Secara makroskopis terlihat bahwa tidak terjadi abnormalitas pada bobot, bentuk dan warna organ hati, ginjal, dan jantung. Selain itu tidak terjadi gejala toksisitas seperti perubahan warna organ hati, ginjal dan jantung menjadi lebih pucat atau lebih gelap. Warna organ tikus kelompok dosis 2000 mg/kgBB sama dengan tikus kelompok normal, pada organ hati berwarna merah kecoklatan, sedangkan warna organ ginjal berwarna

kecoklatan dan organ jantung berwarna merah tua. Hasil pengukuran diketahui bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada bobot organ hati, ginjal dan jantung antara kelompok normal dan kelompok dosis 2000 mg/kgBB ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) dosis 2000 mg/kgBB tidak berpengaruh terhadap bobot organ hati, ginjal dan jantung.

Organ yang diamati adalah paru-paru, hati, ginjal dan jantung. Rasio berat organ biasanya merupakan petunjuk sangat peka dari efek toksik. Organ-organ ini dapat dirusak berbagai jenis zat kimia yang bekerja secara langsung pada organ sasaran ataupun secara tidak langsung yakni melalui susunan saraf pusat atau pembuluh darah. Jantung mudah mengalami kelainan yang diakibatkan oleh senyawa-senyawa kimia, karena mitokondria yang terdapat di otot jantung dengan jumlah yang relatif besar lebih sering menjadi sasaran kardiotoxikitas¹⁷.

Ekstrak daun melinjo memiliki aktivitas

Tabel 4: Derajat Kerusakan Pulau Langerhans¹⁰

Derajat Kerusakan	Keterangan
0	Tidak ada kerusakan pada pulau langerhans
1	Kerusakan 1/8 pulau langerhans
2	Kerusakan 1/4 pulau langerhans
3	Kerusakan 3/8 pulau langerhans
4	Kerusakan 1/2 pulau langerhans
5	Kerusakan 5/8 pulau langerhans
6	Kerusakan 3/4 pulau langerhans
7	Kerusakan 7/8 pulau langerhans
8	Kerusakan lebih dari 7/8 pulau langerhans

Tabel 5: kadar SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum

Kelompok		Parameter Biokimia			
		SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Kreatinin (mg/dL)	Ureum (mg/d)
Normal	Tikus 1	50,26	41,75	0,86	17,2
	Tikus 2	74,52	86,00	0,61	12,2
	Tikus 3	48,29	36,32	0,44	13,2
	Tikus 4	48,29	36,32	0,44	13,2
	Tikus 5	49,29	36,99	0,81	16,2
	Rata-rata	54,13±11,428	47,476±21,655	0,632±0,199	14,46±2,2
Dosis 2000mg/kgBB	Tikus 1	62,41	52,13	0,89	17,8
	Tikus 2	81,24	93,27	0,61	14,2
	Tikus 3	52,49	45,29	0,77	15,4
	Tikus 4	42,39	31,65	0,44	13,2
	Tikus 5	62,43	57,50	0,97	19,4
	Rata-rata	60,192±14,198	55,968±22,988	0,756±0,204	16±2,561

sebagai antihiperlipidemia dimana dosis 500 mg/kgBB mempunyai efek penurunan kadar lipid sebesar 40,449% sehingga didapatkan ED50 ekstrak etanol daun melinjo sebesar 879,74 mg/KgBB. Pengamatan makroskopis hati didapat hasil dengan dosis 125 mg/KgBB warna hati merah keunguan, tekstur agak keras, dan terdapat balloning sedangkan dengan dosis 250 mg/KgBB dan 500 mg/KgBB hati berwarna merah kecoklatan, tekstur kenyal, dan tidak terdapat balloning seperti hati pada kelompok kontrol normal⁵.

Penelitian sebelumnya, pemberian ekstrak etanol daun melinjo dosis tertinggi 500 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki gambaran pankreas yang telah rusak lebih baik dibandingkan dosis 125 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB, sehingga didapatkan ED50 ekstrak etanol daun melinjo sebagai antihiperlipidemia sebesar 720,86 mg/kgBB

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kondisi pankreas kelompok normal tidak terjadi kerusakan pada jaringannya atau kondisi pankreas sehat (Gambar 1a). Hal ini terbukti dengan derajat kerusakannya adalah 0, dimana pada derajat kerusakan 0 menunjukkan bahwa tidak adanya kerusakan pada pulau Langerhans¹⁸.

Namun, pada gambar 1b kerusakan yang terjadi tidak terlalu parah karena derajat kerusakannya adalah 2 (jumlah kerusakan tidak mencapai ½ dari pulau Langerhans)¹⁸. Berbeda dengan gambar 1c, kerusakan pankreas yang terjadi relatif parah. Hal

ini terbukti dengan derajat kerusakannya mencapai hingga 5 yang dimana kerusakan yang terjadi mencapai 5/8 pulau Langerhans¹⁰.

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol daun melinjo pada dosis 720,86 mg/kgBB tergolong aman digunakan sebagai antidiabetes karena pada dosis tersebut tidak menyebabkan terjadinya kerusakan yang parah pada pankreas. Sedangkan pada dosis 2000 mg/kgBB secara histopatologi terjadinya kerusakan (nekrosis) yang sangat parah

Menurut BPOM ada 4 macam parameter biokimia utama yang harus diperiksa antara lain kadar SGOT, SGPT, kreatinin, dan urea. Rentang normal untuk hewan uji tikus yang berumur ± 3 bulan yaitu untuk kadar parameter biokimia SGOT sebesar 45-90 U/L, kreatinin 0,3-0,8 mg/dl, dan urea 12-18 mg/dl, sedangkan kadar normal SGPT untuk tikus putih yaitu ≤ 134,47 U/L.

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar parameter biokimia antara lain kadar SGOT, SGPT, kreatinin, dan urea. SGOT dan SGPT merupakan parameter biokimia yang dapat menggambarkan kondisi organ hati, sedangkan kreatinin dan urea dapat memberikan gambaran mengenai kondisi organ ginjal²⁰

Peningkatan parameter biokimia SGOT, SGPT, kreatinin dan urea tidak hanya karena pengaruh toksisitas dari pemberian sediaan ekstrak etanol daun melinjo, namun bisa terjadi karena adanya faktor lain yang dapat

mempengaruhi kadar parameter biokimia. Peningkatan kadar SGOT dan SGPT bisa disebabkan banyak hal, namun pada prinsipnya peningkatan terjadi akibat cedera pada sel hati sehingga menyebabkan produksi enzim liver tersebut meningkat²¹.

Kreatinin dan ureum merupakan hasil akhir dari metabolisme protein yang normalnya diekskresikan dalam urin. Peningkatan kadar kreatinin tidak hanya disebabkan oleh pemberian sediaan ekstrak etanol daun melinjo. Kadar protein dalam pakan dapat berpengaruh terhadap peningkatan kadar kreatinin. Hal ini dikarenakan kreatinin merupakan hasil metabolisme dari kreatin dan fosfokreatin yang disintesis di ginjal dengan melibatkan asam amino arginin dan glisin²².

Hasil normalitas menunjukkan bahwa kadar parameter biokimia kreatinin dan ureum terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji T independen (Independent T-Test). Hasil analisis statistik uji T-Independen (Independent T-Test) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada parameter biokimia kreatinin dan ureum.

Sedangkan parameter biokimia SGOT dan SGPT pada uji normalitas menunjukkan data tidak terdistribusi normal. Sedangkan pada hasil analisis statistik Mann-Whitney Test juga menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada parameter biokimia SGOT dan SGPT. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dosis 2000 mg/kgBB tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadar SGOT, SGPT, kreatinin dan ureum pada hewan uji.

5. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa sediaan ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dosis 2000 mg/kgBB berada dalam kategori praktis tidak toksik.

Daftar Pustaka

1. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Peraturan Kepala
2. Kining, E., Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Air Daun Melinjo, Daun Singkong dan Daun Pepaya terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia, 2015.
3. Santoso, I. Uji Aktivitas Diuretik Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*), Skripsi, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia. 2019.
4. Noviarney, H. Uji Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Terinduksi Aloksan dan Histopatologi Pankreas, Skripsi, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia. 2019.
5. Cahya, M.A.D. Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* Linn.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar, Skripsi, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia. 2019.
6. Rafiqi, RR. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Dari Fenolik Total Berbagai Fraksi Dari Ekstrak Metanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.), Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia. 2017.
7. Badan Pengawasan Obat dan Makanan R.I. Lampiran Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor: 7 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vitro. Indonesia: Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik; 2012.
8. Vina, D.A., 'Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa*

- bilimbi L.) terhadap tikus putih jantan galur wistar menggunakan fixed dose method', Skripsi, S.Farm, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia, 2018.
9. Organization for Economic Cooperation and Development. 2001a., OECD guideline for testing of chemicals. Test No. 420: Acute oral toxicity – fixed dose procedure, OECD, Paris, 2001
 10. Permatasari, AA. Pengaruh Pemberian Jus Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Kadar Gula Darah Dan Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan, Skripsi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang, Malang, Indonesia. 2014.
 11. Ningsih, A.W., Hanifa, L., & Hisbiyah. A., Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen Dan Skrining Fitokimia, *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2020; 2(2): 49-57
 12. Wijaya, H., Novitasari, Jubaidah, S. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl), *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 2018;4(1): 79-83.
 13. Budiyanto, A., Potensi Antioksidan, Inhibitor Tirosinase dan Nilai Toksisitas dari Beberapa Spesies Tanaman Mangrove di Indonesia. Bogor: Institute Pertanian Bogor, 2015
 14. Marlina, S.D., Suryanti, V. & Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) Dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi Jurusan Kimia FMIPA UNS, Surakarta*. 2005; 3(1): 26 – 31.
 15. Setiabudi, D.S. & Tukiran. Uji skrining fitokimia ekstrak metanol kulit batang tumbuhan klampok watu (*Szygium litorale*), *Journal of Chemistry*. 2017; 6(3): 157.
 16. Shargel, L & Andrew., *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*, McGraw-Hill Companies, New York, 2012.
 17. Kuncarli, I. & Djunarko, I. Uji toksisitas subkronik infusa daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada tikus: studi terhadap gambaran mikroskopis jantung dan kadar SGOT darah, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 2014; 11(2):86-95.
 18. Dharma, I.G.B.S., Berata, I.K., Suri, S.. Studi Histopatologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Deksametason dan Suplementasi Vitamin E, *Indonesia Medicus Veterinus*, 2015; 4(3): 257-266.
 19. Lu, F.C. & Kacew, S. *Lu's basic toxicology: Fundamentals, target organ and risk assessment*, 4th ed, Taylor and francis, London and New York city. 2002.
 20. Laksmi, M.C., Dada, A. & Damriyasa. 2014, Bioaktivitas ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) terhadap kadar kreatinin dan kadar ureum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*), *Buletin Veteriner Udayana*. 2014; 6(2):147-152.
 21. Capriyanti, H. *Hormon-hormon yang berperan pada proses metabolisme*, Bandung: Dept. Biokimia & Biologi Molekuler FK UI Press.; 2015.
 22. Astrid, A.A., Arthur, E.M. & Maya, F.M. Gambaran Kadar Kreatinin Serum pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik Stadium 5 Non Dialisis, *Jurnal e-Biomedik*, 2016; 4(1): 179. adhesive. *Int J Biol Macromol*. 2019 Jul 1;132:1121-1130.
 23. Wang WH, Lin WS, Shih CH, Chen CY, Kuo SH, Li WL, Lin YS. Functionality of Silk Cocoon (*Bombyx mori* L.) Sericin Extracts Obtained through High-Temperature Hydrothermal Method. *Materials* (Basel). 2021;14(18):5314. doi: 10.3390/ma14185314.