

Uji Toksisitas Ekstrak Berbasis Nades dari Daun Kadamba (*Mitragyna Speciosa* Korth) terhadap Mencit (*Mus Musculus*)

Toxicity of Nades-Based Extract from Kadamba Leaf (*Mitragyna Speciosa* Korth) on Mice (*Mus Musculus*)

Fauzan Afandi*, Vita Olivia Siregar, Islamudin Ahmad

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis”,
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email korespondensi: islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Secara tradisional daun kadamba memiliki manfaat untuk mengatasi diare, diabetes, nyeri, rematik, asam urat dan terbukti secara ilmiah mampu sebagai antinosiseptif dan menghambat sel kanker payudara T47D, hingga saat ini para peneliti terus berusaha dalam penemuan dan pengembangan daun kadamba sebagai kandidat obat baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas ekstrak berbasis NADES dari daun kadamba dengan melihat nilai LD₅₀ serta pengaruhnya terhadap berat badan dan tingkah laku mencit. Mencit yang digunakan sebanyak 15 ekor yang terbagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok sebanyak 3 ekor. Ekstrak berbasis NADES dari daun kadamba diberikan secara oral dengan variasi dosis yaitu 4000 mg/KgBB, 8000 mg/KgBB, 16000 mg/KgBB, dan 32000 mg/KgBB serta satu kelompok diberikan pelarut. Masing-masing kelompok diamati dalam rentang waktu 30, 60, 120, 180, dan 240 menit setelah pemberian ekstrak dan pengamatan dilanjutkan selama 14 hari untuk mengamati gejala toksik, perubahan berat badan dan kematian. Berdasarkan hasil penelitian tidak ditemukan kematian pada kelompok pelarut, 4000 mg/KgBB, dan 8000 mg/KgBB. Untuk kelompok dengan dosis 16000 mg/KgBB ditemukan kematian sebanyak 2 ekor mencit dan kelompok dengan dosis 32000 mg/KgBB ditemukan kematian sebanyak 3 ekor mencit, sehingga nilai LD₅₀ yang didapatkan sebesar 14,256 g/KgBB yang termasuk dalam kategori praktis tidak toksik.

Kata Kunci: Toksisitas, Daun Kadamba, *Mus musculus*

Abstract

Traditionally, kadamba leaves have benefits for treating diarrhea, diabetes, pain, rheumatism, gout and have been scientifically proven to be antinociceptive and inhibit T47D breast cancer cells. This study aims to determine the toxicity of NADES-based extract from kadamba leaves by looking at the LD₅₀ value and its effect on body weight and behavior of mice. The 15 mice used were divided into 5 groups with 3 mice in each group. The NADES-based extract from kadamba leaves was given orally with various doses of 4000 mg/KgBB, 8000 mg/KgBB, 16000 mg/KgBB, and 32000 mg/KgBB and one group was given a solvent. Each group was observed for 30, 60, 120, 180, and 240 minutes after administration of the extract and the observations were continued for 14 days to observe toxic symptoms, changes in body weight and death. Based on the results of the study, no deaths were found in the solvent group, 4000 mg/KgBB, and 8000 mg/KgBB. For the group with a dose of 16000 mg/KgBW, 2 mice died and the group with a dose of 32000 mg/KgBW found the death of 3 mice, so the LD₅₀ value obtained was 14.256 g/KgBW which was included in the practically non-toxic category.

Keywords: Toxicity, Kadamba leaf, *Mus musculus*

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v14i1.555>

1 Pendahuluan

Mayoritas penduduk di negara berkembang seperti Indonesia sering memanfaatkan obat tradisional untuk mencegah dan mengobati penyakit, dimana telah terbukti secara empiris maupun dalam uji praklinis, berbeda halnya dengan obat sintetik yang telah terbukti memiliki efek secara klinis, namun dilaporkan memiliki efek samping sehingga diperlukan adanya upaya eksplorasi obat tradisional dari bahan alam sebagai alternatif pengobatan yang diharapkan memiliki efek samping minimum [1-4].

Menurut WHO syarat utama obat harus memenuhi kriteria yang telah ditetapkan antara lain obat harus aman (*safety*), bermutu (*quality*), dan bermanfaat (*efficacy*). Untuk membuktikan keamanan suatu obat dapat dilakukan dengan melakukan uji toksisitas [5,6]. Uji toksisitas merupakan suatu pengujian yang berfungsi untuk mengetahui serta mendeteksi tingkat toksisitas/ketoksikan suatu bahan atau zat uji yang akan digunakan sebagai bahan obat baru. Pengujian toksisitas akan memperoleh hasil yang dapat memberikan informasi mengenai tingkat keamanan suatu bahan atau zat pada biakan biologi tertentu atau menggunakan hewan coba [6].

Daun kadamba (*Mitragyna speciosa*) secara empiris memiliki manfaat sebagai stimulan, antipiretik, antidiabetes, mengatasi diare, mengatasi nyeri, rematik, asam urat, susah tidur, hipertensi, gejala stroke, menambah stamina, batuk, tipes, kolesterol, dan untuk menambah nafsu makan, secara ilmiah daun kadamba juga memiliki aktivitas sebagai antinosiseptif dan mampu menghambat sel kanker payudara T47D. Saat ini para peneliti terus berupaya dalam penemuan dan pengembangan daun kadamba sebagai kandidat obat baru [7-12].

Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) merupakan suatu campuran yang tersusun atas dua komponen senyawa atau lebih, senyawa penyusun NADES tersebar di alam seperti basa dan asam organik, gula protein, alkohol, polialkohol, protein, asam amino, dan gula. NADES terbentuk karena adanya interaksi antarmolekul pada masing-masing senyawa penyusun dalam rasio tertentu [13,14]. NADES diketahui memiliki keunggulan seperti aman, tidak beracun, ramah lingkungan, persiapan yang cenderung sederhana, bahan-bahan yang diperlukan untuk membuat NADES mudah didapatkan, melimpah, harganya murah, dan dapat dimakan [15,16]. NADES memiliki rentang polaritas yang lebar dimana kepolaran

dari NADES dapat lebih tinggi dari pada air atau sama dengan metanol dan NADES terbukti mampu menarik metabolit yang memiliki kepolaran yang rendah hingga menengah baik yang sukar larut dalam air bahkan tidak larut dalam air [15].

Berdasarkan uraian tersebut maka tujuan dalam penelitian ini yaitu untuk mengetahui toksisitas ekstrak berbasis NADES dari daun kadamba dengan melihat nilai LD₅₀ serta pengaruhnya terhadap berat badan dan tingkah laku mencit.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu *microwave*, *box*, tempat minum, jaring penutup, gelas ukur, labu alas bulat, botol kaca, timbangan analitik, sput 1 ml dan sonde, erlenmeyer, *stirrer*, *hot plate*, sendok tanduk, pisau, kertas saring, corong, plastik wrap, *dehydrator*, dan kaca arloji. Bahan yang digunakan yaitu daun kadamba, kolin klorida, sorbitol, dan aquades.

2.2 Preparasi NADES

Penelitian ini menggunakan pelarut NADES dengan kombinasi kolin klorida dan sorbitol dengan perbandingan 1:2 g/g. Kolin klorida dan sorbitol yang digunakan ditimbang berdasarkan rasio yang telah digunakan. Kolin klorida dan sorbitol yang telah ditimbang dimasukkan kedalam gelas ukur kemudian di stirrer hingga jernih diatas *hot plate*. Campuran kolin klorida dan sorbitol yang telah jernih kemudian ditambahkan aquades sejumlah campuran yang didapatkan. Selanjutnya dihomogenkan kemudian pelarut NADES yang didapatkan di masukkan ke dalam botol.

2.3 Ekstraksi

Ditimbang simplisia daun kadamba sebanyak 5 g, kemudian dimasukkan didalam labu alas bulat dan ditambahkan pelarut NADES klorin klorida: sorbitol (1:2) sebanyak 50 ml, selanjutnya dimasukkan kedalam *microwave* selama 10 menit dengan power sebesar 50%, hasil yang didapatkan disaring menggunakan kantong teh, selanjutnya filtrat dibuang dan ekstrak cair yang didapatkan dimasukkan

kedalam *dehydrator* untuk mendapatkan ekstrak kental.

2.4 Pengujian Toksisitas

Hewan coba dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok dosis 4000 mg/KgBB, 8000 mg/KgBB, 16000 mg/KgBB, dan 32000 mg/KgBB dan 1 kelompok diberi pelarut. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 mencit yang memiliki berat badan diantara 20-30 gram. Sebelum perlakuan semua mencit diadaptasi dengan lingkungannya selama 7 hari dan sebelum diberikan pemberian zat uji secara oral, mencit dipuaskan terlebih dahulu selama 10 jam namun tetap diberikan air. Dilanjutkan pemberian ekstrak berbasis NADES dari daun kadamba pada masing-masing kelompok kemudian diamati gejala toksik yang muncul pada waktu ke 30, 60, 120, dan 240 menit dan pengamatan berlanjut selama 14 hari untuk mengamati gejala toksik, berat badan, dan kematian.

3 Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terlihat pada Tabel 1 dimana tidak adanya gejala toksik dan kematian pada kelompok dengan dosis 4000 mg/KgBB dan kelompok pelarut dalam waktu 4 jam setelah pemberian ekstrak uji. Sementara pada kelompok dengan dosis 8000 mg/KgBB mengalami poliuria dan tidak ada kematian pada waktu 4 jam setelah pemberian ekstrak uji. Pada kelompok dengan dosis 16000 mg/KgBB terjadi kematian sebanyak 2 ekor mencit dalam waktu ± 30 menit, namun sebelum mengalami kematian 2 ekor mencit tersebut mengalami gejala toksik seperti piloereksi, tremor, cairan merah berlebih, nyeri, *grooming*, dan kejang selama beberapa detik. Satu mencit yang tersisa tidak mengalami kematian selama 4 jam setelah pemberian ekstrak uji, namun mengalami gejala toksik seperti piloereksi, tremor, cairan merah berlebih, nyeri, dan hiperaktivitas, dan melakukan *grooming* dalam rentang waktu 1 jam. Kelompok dengan dosis 32000 mg/KgBB mengalami tanda gejala toksik seperti tremor, *grooming*, hiperaktivitas, dan kejang serta mengalami kematian pada seluruh jumlah mencit uji dalam waktu ± 30 menit setelah pemberian ekstrak uji.

Pengamatan dilanjutkan selama 14 hari untuk melihat gejala toksik dan kematian pada seluruh kelompok yang disajikan dalam Tabel 2, pada kelompok pelarut dan 4000 mg/KgBB tidak ditemukan gejala toksik dan kematian selama 14 hari. Sementara pada kelompok 8000

mg/KgBB dan 16000 mg/KgBB ditemukan gejala toksik seperti piloereksi dan tremor sehari setelah pemberian ekstrak uji, namun pada hari ketiga hingga 14 hari setelah pemberian tidak ditemukan gejala toksik dan kematian.

Tabel 1 Hasil pengamatan gejala toksik dalam 4 jam.

Perilaku	Sebelum	Pengamatan Gejala Toksik (Menit)				
		30	60	120	180	240
Piloerekси	N	K4	K4	K4	K4	K4
Kejang	N	K4,K5	N	N	N	N
Tremor	N	K4,K5	K4	K4	K4	K4
Cairan merah berlebih	N	K4	K4	K4	K4	K4
Nyeri	N	K4	K4	K4	K4	K4
Grooming	N	K4,K5	K4	N	N	N
Hiperaktivitas	N	K4,K5	K4	K4	K4	K4
Poliuria	N	K3	K3	K3	K3	K3
Mati	N	K4,K5	K4,K5	K4,K5	K4,K5	K4,K5

Tabel 2 Hasil pengamatan gejala toksik dilanjutkan dalam 14 hari.

Perilaku	Pengamatan Gejala Toksik (Hari)						
	2	4	6	8	10	12	14
Piloerekси	K3,K4	N	N	N	N	N	N
Kejang	N	N	N	N	N	N	N
Tremor	K3,K4	N	N	N	N	N	N
Cairan merah berlebih	N	N	N	N	N	N	N
Nyeri	N	N	N	N	N	N	N
Grooming	N	N	N	N	N	N	N
Hiperaktivitas	N	N	N	N	N	N	N
Poliuria	N	N	N	N	N	N	N
Mati	K4,K5	K4,K5	K4,K5	K4,K5	K4,K5	K4,K5	K4,K5

Keterangan:

N = Semua Kelompok Normal

K1 = Kelompok Pelarut (3 ekor mencit)

K2 = Kelompok 4000 mg/KgBB (3 ekor mencit)

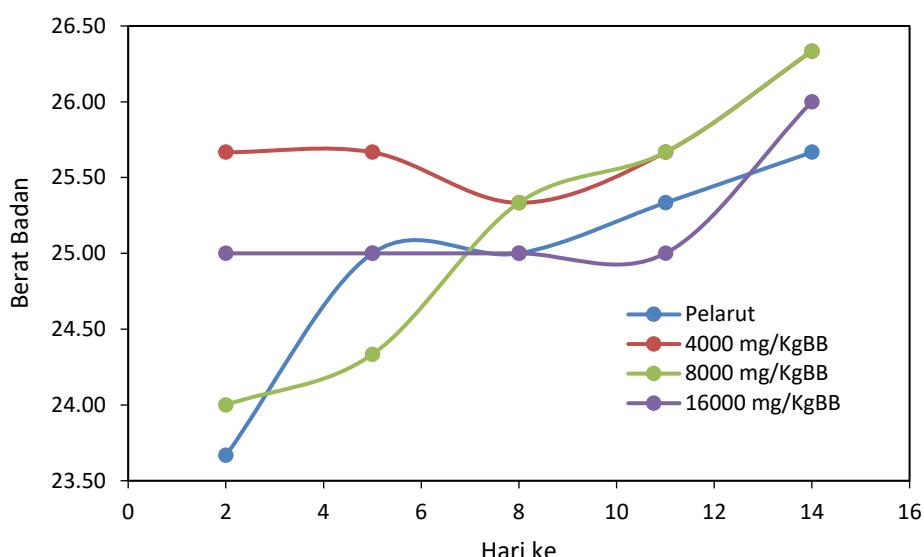
K3 = Kelompok 8000 mg/KgBB (3 ekor mencit)

K4 = Kelompok 16000 mg/KgBB (3 ekor mencit)

K5 = Kelompok 32000 mg/KgBB (3 ekor mencit)

Tabel 3 Hasil rata-rata berat badan mencit.

Kelompok (mg/KgBB)	Pengamatan Hari ke				
	2	5	8	11	14
Pelarut	23.67	25.00	25.00	25.33	25.67
4000	25.67	25.67	25.33	25.67	26.33
8000	24.00	24.33	25.33	25.67	26.33
16000	25.00	25.00	25.00	25.00	26.00



Gambar 1 Grafik perubahan berat badan selama 14 hari

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, tidak terjadinya kematian pada kelompok pelarut, 4000 mg/KgBB, dan 8000 mg/KgBB. Sementara pada kelompok dengan dosis 16000 mg/KgBB terjadi kematian sebanyak 2 ekor mencit. Pada kelompok dengan dosis 32000 mg/KgBB terjadi kematian sebanyak 3 ekor mencit. Sehingga nilai LD₅₀ yang diperoleh yaitu sebesar 14,256 g/KgBB yang termasuk dalam kategori praktis tidak toksik.

Berat badan pada seluruh kelompok diamati setiap hari selama 14 hari, terlihat pada Tabel 3 dan Gambar 1 dimana, terjadi kenaikan berat badan pada kelompok pelarut dalam waktu 5 hari setelah pemberian dan tidak adanya kenaikan berat badan pada hari ke 8, namun kembali mengalami kenaikan hingga hari ke 14, sedangkan pada kelompok 4000 mg/KgBB terjadi penurunan pada hari ke 8 dan mengalami kenaikan hingga hari ke 14. Pada kelompok dengan dosis 8000 mg/KgBB terjadi kenaikan berat badan hingga hari ke 14. Sementara pada kelompok dengan dosis 16000 mg/KgBB hingga hari ke 11 tidak terjadi perubahan berat badan, namun terjadi kenaikan berat badan pada hari ke 14. Perubahan berat badan dapat menggambarkan efek toksik setelah pemberian ekstrak uji, dimana ekstrak uji memiliki efek samping yang bermakna terhadap suatu hewan, jika terjadi penurunan berat badan lebih dari 10 % dari sebelum pengujian [17,18]. Hasil *Wilcoxon test*

terhadap perubahan berat badan sebelum dan sesudah 14 hari, menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna ($p \geq 0,05$), tidak adanya perubahan berat badan sebelum dan sesudah 14 hari menandakan bahwa pemberian ekstrak berbasis NADES dari daun kadamba tidak mempengaruhi berat badan mencit.

4 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil :

1. Nilai LD₅₀ ekstrak berbasis NADES dari daun kadamba sebesar 14,256 g/KgBB yang termasuk dalam kategori praktis tidak toksik.
2. Tidak adanya pengaruh pada perubahan berat badan selama 14 hari

5 Etik

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman dengan nomor 81/KEPK-FFUNMUL/EC/EXE/2021.

6 Kontribusi Penulis

Fauzan Afandi: melakukan penelitian, pengumpulan data, pustaka, dan menyiapkan *draft* manuskrip. Vita Olivia Siregar dan Islamudin Ahmad : Pengarah, pembimbing, dan penyelaras akhir manuskrip.

7 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

8 Daftar Pustaka

- [1] Jugran AK, Rawat S, Devkota HP, Bhatt ID, Rawal RS. Diabetes and plant-derived natural products: From ethnopharmacological approaches to their potential for modern drug discovery and development. *Phyther Res.* 2021;35(1):223-245. doi:10.1002/ptr.6821
- [2] Mustapa MA, Taupik M, Hanapi F. Uji Praklinik Kombinasi Obat Herbal Kopi Pinogu (*Coffea canephora* var *Robusta*) Dan Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Pada Mencit. *Parapemikir J Ilm* 2019;8(2):14-20. <https://repository.ung.ac.id/get/karyailmiah/3900/uji-praklinik-kombinasi-obat-herbal-kopi-pinogu-coffea-canephora-var-robusta-dan-bunga-cengkeh-syzygium-aromaticum-terhadap-penurunan-kadar-asam-urat-pada-mencit.pdf>
- [3] Tran N, Pham B, Le L. Bioactive Compounds in Anti-Diabetic Plants : *Biology (Basel)*. 2020;9(252):1-31.
- [4] Yakubu OE, Imo C, Shaibu C, Akighir J, Ameh DS. Effects of Ethanolic Leaf and Stem-bark Extracts of *Adansonia digitata* in Alloxan-induced Diabetic Wistar Rats. *J Pharmacol Toxicol.* 2019;15(1):1-7. doi:10.3923/jpt.2020.1.7
- [5] WHO. WHO Lists Two Additional COVID-19 Vaccines for Emergency Use and COVAX Roll-Out. WHO.int. Published 2021. Accessed June 10, 2021. <https://www.who.int/news/item/15-02-2021-who-lists-two-additional-covid-19-vaccines-for-emergency-use-and-covax-roll-out>
- [6] Meles DK. *Peran Uji Praklinik Dalam Bidang*; 2010.
- [7] Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Laporan Nasional Riset Khusus Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin dan Tumbuhan Obat Berbasis Komunitas di Indonesia (RISTOJA) Tahun 2015. *Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat*. Published online 2015:69. <http://labdata.litbang.depkes.go.id/riset-badan-litbangkes/menu-riskesnas/menu-rikus/418-rikus-ristoja-2015>
- [8] Ismail I, Wahab S, Sidi H, Das S, Lin LJ, Razali R. Kratom and Future Treatment for the Opioid Addiction and Chronic Pain: Pericolo Benefici? *Curr Drug Targets*. 2017;20(2):166-172. doi:10.2174/1389450118666170425154120
- [9] Veltri C, Grundmann O. Current perspectives on the impact of Kratom use. *Subst Abuse Rehabil.* 2019;Volume 10:23-31. doi:10.2147/sar.s164261
- [10] Luliana S, Islamy MR. Aktivitas Antinosiseptif Fraksi Diklorometana Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Rute Oral Pada Mencit Jantan Swiss. *Pharm Sci Res.* 2018;5(2):58-64. doi:10.7454/psr.v5i2.3895
- [11] Tiaravista AG, Robiyanto R, Luliana S. Aktivitas Antinosiseptif Fraksi N-Heksan Daun Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth.) Melalui Rute Oral Pada Mencit Jantan Swiss. *Farmaka*. 2019;17:40-51.
- [12] Ikhwan D, Harlia, Widiyantoro A. Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Dari Fraksi Etil Asetat Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dan Aktivitasnya Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *J Kim Khatulistiwa*. 2018;7(2):18-24.
- [13] Paulucci VP, Couto RO, Teixeira CCC, Freitas LAP. Optimization of the extraction of curcumin from *Curcuma longa* rhizomes. *Rev Bras Farmacogn.* 2013;23(1):94-100. doi:10.1590/S0102-695X2012005000117
- [14] Choi YH, van Spronsen J, Dai Y, et al. Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? *Plant Physiol.* 2011;156(4):1701-1705. doi:10.1104/pp.111.178426
- [15] Dai Y, van Spronsen J, Witkamp GJ, Verpoorte R, Choi YH. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Anal Chim Acta*. 2013;766:61-68. doi:10.1016/j.aca.2012.12.019
- [16] Vanda H, Dai Y, Wilson EG, Verpoorte R, Choi YH. Green solvents from ionic liquids and deep eutectic solvents to natural deep eutectic solvents. *Comptes Rendus Chim*. 2018;21(6):628-638. doi:10.1016/j.crci.2018.04.002
- [17] Raza M, Al-Shabanah OA, El-Hadiyah TM, Al-Majed AA. Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Sci Pharm.* 2002;70(2):135-145. doi:10.3797/scipharm.aut-02-16
- [18] Jothy SL, Zakaria Z, Chen Y, Lau YL, Latha LY, Sasidharan S. Acute oral toxicity of methanolic seed extract of Cassia fistula in mice. *Molecules*. 2011;16(6):5268-5282. doi:10.3390/molecules16065268