

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Sirih Keraton (*Cissus discolor*) Yang Berpotensi Sebagai Obat Antihipertensi

Siti Rohma ¹⁾ | Kintoko ^{1*)} | Dwi Utami ¹⁾

¹⁾ Pasca Sarjana Farmasi, Fakultas Sains dan teknologi, Universitas Ahmad Dahlan

* Penulis Korespondensi : kintoko.drk@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman yang diketahui memiliki potensi sebagai obat antihipertensi adalah daun sirih Keraton (*C. discolor*). Daun sirih Keraton telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai kondisi, termasuk hipertensi, berkat kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan gambaran tentang tingkat keamanan ekstrak dan juga membantu dalam merancang protokol dosis yang lebih aman untuk uji klinis atau penggunaan dalam produk kesehatan. Penelitian ini menggunakan metode *animal tasing* dengan mengukur nilai LD₅₀ menggunakan 30 tikus wistar jantan sebagai subjek penelitian yang terbagi dalam 5 kelompok perlakuan dengan dosis 500 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih keraton hingga dosis tertinggi tidak menunjukkan gejala toksisitas. Meskipun tidak terdapat tanda-tanda toksisitas pada hewan uji hingga dosis tertinggi hasil penelitian ini dapat dikatakan sebagai toksisitas semu, tetapi hasil ini tetap dapat dijadikan rujukan awal tentang keamanan ekstrak daun sirih keraton ini. Sehingga masih diperlukan penelitian lanjutan untuk menentukan nilai LD₅₀ yang sebenarnya.

Kata kunci: Hipertensi, Daun Sirih Keraton, Toksisitas Akut, LD₅₀.

ABSTRACT

The leaves of Keraton betel (C. discolor) are one plant that has been shown to have potential as an antihypertensive medication. Because keraton betel leaves contain bioactive substances such flavonoids, alkaloids, and saponins, they have been used in traditional medicine to treat a variety of ailments, including hypertension. In addition to helping to create safer dose guidelines for clinical trials or use in medical products, this study attempts to give a general review of the extract's level of safety. 30 male Wistar rats were utilized as research subjects in this study, which employed the animal tasing method to measure the LD50 value. The rats were split into 5 treatment groups and given dosages of 500 mg/kgBW, 2000 mg/kgBW, and 5000 mg/kgBW. According to the study's findings, there were no signs of toxicity from the maximum dose of Keraton betel leaf extract. The study's findings can be regarded as pseudo-toxicity even though test animals showed no symptoms of toxicity up to the highest dosage; yet, they can still be utilized as a starting point for determining the safety of this Keraton betel leaf extract. Therefore, more investigation is still required to ascertain the precise LD50 value.

Keyword: key, words (maximum 5 keywords)

PENDAHULUAN

Hipertensi merupakan salah satu penyakit kardiovaskular yang paling umum di dunia, dengan prevalensi yang terus meningkat seiring bertambahnya usia dan perubahan gaya hidup. Menurut data Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), hipertensi menyebabkan sekitar 9,4 juta kematian setiap tahun dan menjadi faktor risiko utama untuk penyakit jantung, stroke, dan gagal ginjal (WHO, 2021). Pengobatan hipertensi konvensional umumnya menggunakan obat antihipertensi seperti diuretik, penghambat ACE, atau beta-blocker. Meskipun efektif, penggunaan obat-obatan ini sering kali disertai dengan efek samping yang tidak diinginkan, seperti pusing, gangguan elektrolit, dan gangguan fungsi ginjal (Singh et al., 2022). Oleh karena itu, pencarian obat alternatif, terutama dari sumber alami, semakin mendapat perhatian sebagai solusi yang lebih aman dan efektif dalam mengelola hipertensi.

Salah satu tanaman yang diketahui memiliki potensi sebagai obat antihipertensi adalah daun sirih Keraton (*C. discolor*). Daun sirih Keraton telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai kondisi, termasuk hipertensi, berkat kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin, yang memiliki sifat vasorelaksasi dan antiinflamasi (Pratama et al., 2023). Namun, sebelum dapat direkomendasikan sebagai alternatif terapeutik, keamanan ekstrak daun sirih Keraton perlu diuji secara ilmiah, khususnya melalui uji toksisitas akut untuk mengetahui potensi keracunan atau efek samping yang mungkin timbul.

Uji toksisitas akut dengan menggunakan hewan uji tikus Wistar jantan adalah metode standar yang sering digunakan untuk menentukan tingkat LD₅₀, yakni dosis yang menyebabkan kematian pada 50% hewan uji setelah

pemberian dosis tunggal dalam waktu singkat. Tikus Wistar jantan dipilih karena memiliki karakteristik biologis yang serupa dengan manusia, serta respons fisiologis yang lebih dapat diprediksi dan sesuai untuk evaluasi toksisitas (Mullins et al., 2021). Dengan mengetahui nilai LD₅₀, dapat dipastikan sejauh mana suatu ekstrak aman untuk digunakan dalam dosis tertentu tanpa menimbulkan efek berbahaya.

Keuntungan dari metode uji toksisitas akut ini terletak pada kemampuannya untuk memberikan informasi yang cepat dan terukur mengenai efek toksik dari suatu senyawa atau ekstrak. Informasi mengenai LD₅₀ tidak hanya memberikan gambaran tentang tingkat keamanan ekstrak, tetapi juga membantu dalam merancang protokol dosis yang lebih aman untuk uji klinis atau penggunaan dalam produk kesehatan (Gao et al., 2022). Selain itu, uji toksisitas akut juga memungkinkan penilaian terhadap gejala-gejala keracunan awal, seperti perubahan perilaku, penurunan berat badan, atau kerusakan organ vital, yang memberikan panduan lebih lanjut dalam pengembangan produk berbasis ekstrak alami.

Pentingnya penelitian ini terletak pada kontribusinya terhadap pengembangan obat antihipertensi dari sumber alami, yang semakin relevan dalam era modern di mana banyak orang mencari alternatif terapi yang lebih alami dan minim efek samping. Dengan menilai toksisitas ekstrak daun sirih Keraton, studi ini akan memberikan dasar ilmiah yang kuat mengenai keamanan dan potensi terapeutik dari tanaman tersebut, sekaligus membuka jalan untuk pengembangan obat antihipertensi berbasis herbal yang lebih aman dan efektif. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi regulasi penggunaan

ekstrak tanaman di Indonesia, mengingat potensi besar tanaman herbal sebagai sumber obat alternatif.

METODE

Alat

Blender (HB Stainless), Rotary evaporator (Heidolph), Timbangan analitik (Casbee) dan Sonde lambung.

Bahan

Etanol (Merck), Aquades (Bratachem), Simplisia daun sirih keraton (*C. discolor*) (Merapi farma), Tikus putih galur wistar jantan dengan umur 10 minggu dan berat 150-280g (Tikus Lover), Makanan dan minuman tikus (Pelet Rat A11).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Sampel daun sirih keraton (*C. discolor*) diperoleh dari CV. Merapi Pharma sebanyak 500 gram. selanjutnya dilakukan proses ekstraksi (maserasi) menggunakan pelarut etanol 96%. dengan perbandingan 1: 5 selama 3x 24 jam. Hasil maserat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak ditimbang kemudian diletakkan pada tempat yang terlindung dari sinar cahaya matahari (Andhiarto et al 2020).

Perlakuan hewan uji

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus galur wistar jantan, berat 150-280 gram yang diperoleh dari Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Sebelum mendapatkan perlakuan hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari pada kandang dengan pemberian makan dan minum secukupnya. Tikus dipelihara dalam ruang dengan siklus cahaya 12 jam yaitu terang dan gelap. Suhu ruangan dijaga pada 22±1°C sampai 30±1°C dengan

kelembaban ruangan sekitar 35±5% sampai 65±5%. Tikus kemudian dibagi menjadi 6 kelompok secara simpel random masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Pengelompokan tikus dapat dilihat pada **tabel 1**.

Pada uji toksisitas akut LD50 pada tikus putih jantan galur wistar, sebanyak 5 ekor yang diberikan simplisia yang telah dilarutkan kedalam aquadest secara oral menggunakan sonde dengan tingkatan dosis yang berbeda yaitu 4 tikus tingkatan dosis dan 1 tikus kelompok kontrol. Tikus diamati 1 - 4 jam untuk melihat adanya gejala toksik yang tampak. Pengamatan dilakukan kembali pada 24 jam setelah pemberian dosis dan dilakukan pengawasan selama 14 hari dengan menghitung jumlah tikus yang mati pada kelompok percobaan.

Pengamatan Indeks Organ

Pembedahaan dilakukan pada hari ke-15. Tikus yang akan dibedah dipuasakan terlebih dahulu selama delapan jam, kemudian dianestesi dengan cara dimatikan. Tikus dimasukkan kedalam stoples dan dialirkan CO2. Kemudian setelah beberapa saat tikus dipindahkan di atas papan bedah lalu diotopsi. Selanjutnya dilakukan pengamatan indeks organ. Pengamatan parameter indeks organ bertujuan untuk melihat apakah ekstrak etanol **daun sirih keraton** memiliki efek merugikan terhadap organ hewan uji. Indeks organ juga menjadi indikator efek senyawa uji yang dapat dilihat dari perbedaan signifikan antara indeks organ kelompok kontrol dan kelompok uji yang tidak dapat terlihat secara morfologis. Bobot organ relatif dapat diperoleh dengan persamaan (1) (Dewi et al, 2014).

$$\text{Indeks organ} = \frac{\text{berat organ (g)}}{\text{BB hewan coba (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

Table 1. pengelompokan hewan uji berdasarkan dosis perlakuan

Kelompok	Kode	Ekstrak daun sirih keraton 150	Perlakuan
----------	------	--------------------------------	-----------

		mg/KgBB	
Perlakuan dosis rendah	DR1	√	Diberikan dosis 500mg/KgBB
Perlakuan dosis sedang	DS2	√	Diberikan dosis 2000mg/KgBB
Perlakuan dosis tinggi	DT3	√	Diberikan dosis 5000mg/KgBB
Postif	P	√	Diberikan Aquadest
Negatif	N	√	Tanpa perlakuan

DR1 (Dosis Rendah 1), DS2 (Dosis Sedang 2), DT (Dosis Tinggi 3), P (Positif), N (Negatif).

Analisa Data

Perhitungan LD₅₀ digunakan metode Thomson dan Weil, (2011). Perhitungan ini dilakukan menggunakan nilai r-value pada persamaan (2)

$$\text{Log LD50} = \text{Log D} + d (f+1) - 2 d. df \quad (2)$$

Keterangan:

- D : Dosis terkecil yang digunakan,
d : Logaritma kelipatan,
f : Faktor yang diperoleh dari tabel.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil perhitungan yang diperoleh dari maserasi yaitu terdapat ekstrak kental dari simplisia daun sirih keraton yaitu 193,61 gram dengan nilai rendemen yaitu 38,72%. Hasil selanjutnya dilakukan uji fitokimia untuk melihat kandungan kimia dalam ekstrak daun sirih keraton, tetapi uji dilakukan terbatas pada uji flavanoid.

Pengamatan gejala toksik adalah salah satu dari rangkaian pengamatan dalam uji ketoksikan yang mengamati beberapa gejala seperti perilaku, gerakan, kereaktifan terhadap rangsangan dan kematian hewan uji. Pada saat pengamatan tanda-tanda toksisitas, yaitu setelah pemberian dosis ekstrak daun sirih keraton 500mg/KgBB, sedang 2000mg/KgBB, dan 5000mg/KgBB pada tikus putih strain Wistar perkembangan

selama 30 menit pertama tidak menimbulkan gejala toksik (tremor, bulu, kulit, mata). Setelah 4 jam tidak menimbulkan toksik (tremor, bulu, kulit, mata). Pada 24 jam tidak menimbulkan gejala toksik dan tidak memengaruhi jumlah konsumsi pakan. Hari ke 2 tidak menimbulkan gejala toksik. Hari ke 3 tidak menimbulkan gejala toksik, hari ke 4 tidak menimbulkan toksik, hari ke 5-7 tidak menimbulkan gejala toksik, terdapat peningkatan berat badan tikus 3-5 gram. Pada dosis 5000 mg/kg tidak memiliki efek buruk pada respons perilaku hewan uji hingga 14 hari pengamatan. Pengamatan fisik menunjukkan tidak ada tanda-tanda perubahan pada kulit, bulu, mata, selaput lendir, pola perilaku, tremor, air liur, dan diare pada tikus. Data kematian hewan uji tersaji dalam table 2.

Dalam pengujian ini, juga dilakukan pengamatan berat badan terhadap hewan uji yang dilakukan selama 14 hari (Nurfaat,2016). Terdapat peningkatan berat badan hewan uji selama rentang waktu tersebut, bobot rata-rata hewan uji sebelum dan sesudah perlakuan tersaji dalam table 3.

Table 2. Data kematian hewan uji terhadap dosis perlakuan

No	Kelompok	Jumlah tikus	Dosis ekstrak (mg/KgBB)	Jumlah Kematian
1	I	5 ekor	500	0
2	II	5 ekor	2000	0
3	II	5 ekor	5000	0
4	IV	5 ekor	Aquadest	0

Table 3. Data perubahan berat badan hewan uji sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	Rata-rata berat badan hewan uji	
	Sebelum (0 hari) gram	Sesudah (14 hari) gram
1	171.33	172.33
2	168.00	173.67
3	164.67	184.33
4	177.33	190.33
5	179.00	180.00

Penilaian LD50

Hasil pengamatan nilai LD₅₀ pada tikus yang telah diberikan ekstrak etanol daun sirih keraton tidak ada gejala-gejala klinis toksisitas dan tidak terdapat angka kematian pada ketiga tingkatan dosis yang diberikan. Dengan tidak adanya kematian hewan uji, menunjukkan bahwa tidak didapatkannya faktor f yaitu faktor yang diperoleh dari tabel Thomson dan Weil, sehingga nilai LD₅₀ tidak dapat dihitung. Hal ini sesuai dengan kriteria uji toksisitas akut yang dilakukan untuk menilai LD₅₀ bahawa berdasarkan yang diambil para ahli, jika dosis maksimal yang diberikan tidak menimbulkan kematian hewan uji, maka LD₅₀ dinyatakan dengan LD50 semu atau bukan LD₅₀ yang sesungguhnya (Loomis, 1978). Sehingga pada dosis 5000mg/KgBB tidak menimbulkan kematian, maka uji tidak perlu dilanjutkan dengan menggunakan dosis bahan uji yang lebih tinggi (BPOM, 2014).

Penilaian toksisitas berdasarkan berat badan

Dalam uji toksisitas akut, perubahan berat badan hewan coba sering digunakan sebagai indikator untuk menilai efek toksik suatu substansi. Penambahan berat badan yang tidak terganggu selama periode pengujian 14 hari, seperti yang ditemukan dalam penelitian ini, menunjukkan bahwa tidak terjadi stres atau gangguan metabolik yang signifikan yang sering dikaitkan dengan keracunan (Bessems et al., 2020). Sebaliknya, penurunan berat badan atau

ketidakseimbangan dalam pengaturan berat badan sering dianggap sebagai tanda-tanda awal keracunan atau dampak buruk lainnya.

Penambahan berat badan yang teramati pada hewan yang diberi ekstrak daun sirih Keraton, bahkan pada dosis tertinggi, mengindikasikan bahwa bahan aktif dalam ekstrak tersebut tidak mengganggu fungsi fisiologis penting, seperti metabolisme energi dan keseimbangan homeostatis tubuh. Efek ini kemungkinan terkait dengan kandungan senyawa bioaktif dalam daun sirih, seperti flavonoid dan alkaloid, yang memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi yang dapat mendukung keseimbangan metabolik tanpa menyebabkan efek samping berbahaya (Ravichandran et al., 2022).

Penilaian toksisitas berdasarkan indeks organ

Perubahan berat badan dapat disertai dengan pembengkakan atau penyusutan organ (Nirogi, R., et al., 2014 dan Wang, W., 2019). Perbandingan indeks organ antara kelompok dosis 500 mg/kgBB, dosis 2000 mg/KgBB dan dosis 5000 mg/KgBB untuk melihat ada tidaknya perbedaan signifikan setelah pemberian sediaan dengan dosis yang berbeda. Organ-organ yang diamati yaitu hati, ginjal. Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan, pengamatan organ dalam pengujian toksisitas sekurang-kurangnya dilakukan pada 5 organ utama yaitu jantung, paru, hati, limfa, dan ginjal (BPOM, 2014).

Hati dan ginjal merupakan organ yang penting dan sensitif terhadap aksi obat. Hati berperan dalam metabolisme

obat, transportasi, dan pembersihan zat asing. Ginjal merupakan organ utama untuk ekskresi obat-obatan. Zat toksin dapat menyebabkan glomerulonefritis dan degenerasi granular tubulus epitel ginjal

(Corsini et al,2013). Pengamatan dilakukan terhadap berat organ dan indeks organ masing-masing kelompok yang dapat dilihat pada tabel 4.

Table 4. Rata-rata berat badan dan berat organ kelompok dosis 500 mg/kgBB, dosis 2000 mg/KgBB dan 5000 mg/KgBB

Kelompok Dosis	Berat Badan (g)	Indeks Hati (g)	Indeks Ginjal (g)
500 mg/kgBB	±182.8	5.062	0.942
2000 mg/kgBB	±190.4	3.858	0.814
5000 mg/kgBB	±195.8	4.214	0.814

KESIMPULAN

Penelitian ini menguji toksisitas ekstrak daun sirih keraton terhadap 30 tikus Wistar jantan menggunakan perhitungan LD_{50} untuk menginterpretasikan hasilnya. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih keraton tidak menyebabkan kematian atau gejala toksik pada hewan uji, bahkan pada dosis tertinggi (5000 mg/kgBB). Selama 14 hari pengamatan, hewan coba juga mengalami peningkatan berat badan dan tidak ditemukan perubahan signifikan pada organ tubuh setelah dilakukan pembedahan pada hari ke-15. Meskipun demikian, karena tidak ada gejala toksisitas yang terlihat pada dosis tertinggi, hasil ini dapat dianggap sebagai toksisitas semu. Penelitian lebih lanjut dengan dosis yang lebih tinggi atau jangka waktu pengamatan yang lebih lama diperlukan untuk memastikan potensi toksisitas ekstrak daun sirih keraton pada hewan uji.

PERSETUJUAN ETIKA

a. Setelah dilakukan pembahasan dan penilaian, ddengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul “**potensi ekstrak etanol daun sirih keraton (*Cissus discolor*) sebagai antihipertensi secara in silico dan uji ketoksikan akut**” yang menggunakan hewan coba sebagai subjek penelitian yang diajukan oleh **apt. Siti Rohma,**

S.Si dapat di setujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku selama satu tahun setelah di keluarkan.

b. Komite Etik Penelitian Universitas Ahmad Dahlan. Dengan nomor: **012409301.**

DAFTAR PUSTAKA

Andhiarto, Y., Andayani, R., & Ilmiyah, N. H. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) dengan Metode Ekstraksi Perkolasi terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Journal of Pharmacy Science and Technology*,2(1),102. <https://doi.org/10.30649/pst.v2i1.99>

Bessems, E. P. M. 1993. Nitrogen Fixation in the phyllosphere of Gramineae. Doctoral thesis, Wageningen. Centre for Agricultural Publishing and Documentation Pudoc - ISBN 9789022004234.

BPOM. (2014). *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia: Jakarta.

Corsini, A., Bortolini, M. (2013). Drug-induced liver injury: the role of drug metabolism and transport. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 53(5), 463-474.

Dewi MK, Lantika UA dan Ahmad S (2014). Efek ekstrak air daun sirsak (*Annona muricata* L) terhadap distribusi lemak tubuh pada tikus jantan galur Wistar model

obesitas. *Pros SNaPP2014 Sains, Teknol, dan Kesehat.* 81-8.

Gao, Z., et al. (2022). "Application of acute toxicity testing in pharmaceutical and natural products." *Journal of Ethnopharmacology*, 275, 114-129.

Loomis, T, A., (1987). *Essential of Toxicology*. 3rd ed: Philadelphia.

Mullins, J., et al. (2021). "Toxicological studies in rodents: Applications and considerations." *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31(3), 198-206.

Nirogi, R., Goyal, V.K., Jana, S., Pandey, S.K., Gothi, A. (2014). What suits best for organ weight analysis: Review of relationship between organ weight and body/brain weight for rodent toxicity studie. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 5(4), 1525-1532.

Nurfaat, D. L. (2016). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) Terhadap Mencit Swiss webster. *Indonesian Journal of Pharmacheutical Science and Technology*, 3(2), 53-65.

Pratama, A., et al. (2023). "Phytochemical properties and biological activities of Piper betle L. (betel leaf): A review." *Phytochemistry Reviews*, 22(2), 187-201.

Ravichandran et al., 2022 An open label randomized clinical trial of Indomethacin for mild and moderate hospitalised Covid-19 patients. *Journal Scientific Reports* 12:6413

Singh, R., et al. (2022). "Pharmacological management of hypertension: Current approaches and future directions." *Pharmacological Research*, 183, 106383.

Thompson dan Weil CS. 1952. Tables for Convenient Calculation of Median EffectiveDose (LD50 or ED50) And Instructions in Their Use. *Biometrics* 8:249-263

Wang, W., Zhang, J., Zhou, X., Wei, X., Cheng, F., Li, B., dkk. (2019). Acute and

subacute toxicity assessment of Oxyclozanide in wistar rats. *Frontiers in Veterinary Science*. 6(294).

WHO. (2021). "Hypertension." World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>