

Bab VI. Hasil dan Pembahasan

VI.1 Pengujian Toksisitas Akut

VI.1.1 Uji Pendahuluan Toksisitas Akut

Uji pendahuluan dilakukan untuk mencari dosis awal yang sesuai untuk uji utama. Dosis awal pada uji pendahuluan dapat dipilih dari tingkatan *fixed dose*: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg BB sebagai dosis yang diharapkan dapat menimbulkan efek toksik (BPOM, 2014). Maka dosis 300 mg/kg BB dipilih sebagai dosis awal uji pendahuluan, yang diharapkan dapat menimbulkan gejala toksisitas ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik yang berat atau kematian.

Mencit yang telah diaklimatisasi kemudian dipuasakan dan ditimbang untuk perhitungan dosis dan volume pemberian. Ekstrak air buah okra (EABO) diberikan secara peroral dengan interval waktu pengamatan sekurang-kurangnya 24 jam.

Dari hasil yang diperoleh tidak ditemukan kematian pada hewan uji yang diberikan 300 mg/kg BB EABO, maka dosis dinaikan menjadi 2000 mg/kg BB. Setelah 24 jam, pada dosis ini juga tidak ditemukan kematian pada hewan uji, sehingga dosis awal untuk uji utama dipilih dosis 2000 mg/kg BB yang merupakan batas dosis uji pendahuluan dan dosis terbesar dari uji pendahuluan yang tidak menyebabkan kematian pada hewan.

VI.1.2 Uji Toksisitas Akut

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode OECD 420 *Fixed Dose Method*. Dosis awal yang digunakan adalah 2000 mg/kg BB. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit

putih betina galur Swiss-Webster dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 5 ekor pada setiap kelompok uji. Kelima ekor hewan tersebut terdiri atas 1 ekor hewan dari uji pendahuluan dan 4 ekor hewan tambahan.

Pengujian toksisitas akut ekstrak buah okra pada setiap dosis dan semua hewan, diamati sekurang-kurangnya selama 14 hari untuk mengetahui adanya efek tertunda yang mungkin timbul setelah pemberian EABO. Kelompok yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelompok kontrol negatif yang diberikan Na-CMC 0,5%, kelompok dosis 2000, 5000 dan 8000 mg/kg BB. Larutan EABO dibuat dengan melarutkan sejumlah ekstrak dalam 10 mL larutan Na-CMC 0,5%. Setelah diberikan perlakuan, mencit diamati intensif pada 4 jam pertama secara berkala dan 24 jam setelah pemberian ekstrak buah okra, untuk mengetahui adanya kematian dan efek toksik yang timbul.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, tidak terjadi kematian pada hewan uji. Sehingga LD_{50} dari EABO diperkirakan lebih dari 8000 mg/kg BB. Lalu ditemukan adanya tingkah laku *grooming* pada kelompok yang diberikan ekstrak air buah okra. *Grooming* adalah reaksi umum pada mencit bila mengalami alergi atau rasa tidak nyaman terhadap benda asing, yang ditunjukkan dengan perilaku menjilat bulunya dan menggosokkan kaki depannya ke kepala (Puspa, dkk., 2015). Reaksi *grooming* ini ditunjukkan mencit pada menit-menit awal setelah pemberian EABO. Setelah 2-3 menit, mencit berhenti melakukan *grooming*. Hilangnya reaksi tersebut menunjukkan bahwa mencit mampu dengan cepat menyesuaikan diri. Adanya tingkah laku ini

diperkirakan karena ekstrak buah okra menimbulkan rasa tidak nyaman di mulut mencit.

Pada menit ke 20, defekasi kelompok perlakuan meningkat dengan konsistensi keras-lembek. Hal ini terjadi karena buah okra mengandung serat tinggi. Serat buah okra membantu membersihkan usus, membiarkan usus besar untuk beroperasi pada tingkat efektivitas yang lebih tinggi. Selain itu, vitamin A dalam selaput lendir berperan membantu sistem pencernaan berfungsi secara optimal (Georgiadisa, dkk., 2011). Selain *grooming* dan adanya peningkatan defekasi pada kelompok perlakuan, semua hewan uji terlihat sehat, aktif, merespon baik makanan dan minuman yang diberikan, dan tidak ada tanda-tanda toksik dari EABO yang mempengaruhi tingkah laku.

Tabel VI.1 Rata-rata bobot badan mencit selama pemberian ekstrak air buah okra.

Kelompok	Bobot Badan (gram) Pada Hari ke-				
	0	3	7	11	14
Kontrol negatif	24,20±1,48	26,20±1,64	25,80±1,30	25,60±2,50	25,00±3,46
EABO 2 gram/kg BB	25,20±1,09	25,60±0,89	26,80±0,83	27,20±1,30	27,00±0,70
EABO 5 gram/kg BB	25,20±0,83	26,60±0,89	26,80±1,30	26,60±1,14	27,40±1,34
EABO 8 gram/kg BB	25,00±1,00	26,20±0,83	26,80±0,44	27,00±0,71	27,40±0,89

Keterangan :

EABO = Ekstrak Air Buah Okra

* = berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Parameter selanjutnya adalah pengamatan bobot badan. Pemeriksaan bobot badan pada uji toksisitas akut dilakukan karena merupakan indikator yang paling sensitif terhadap kondisi hewan uji. Data yang telah diperoleh kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan

uji ANOVA. Hasil penimbangan bobot rata-rata kelompok perlakuan mengalami kenaikan. Sedangkan pada kelompok kontrol mengalami penurunan bobot. Meskipun terjadi perbedaan bobot antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, hasil statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($P \leq 0,05$) seperti yang ditunjukkan oleh Tabel VI.1. Ini menunjukkan bahwa pemberian EABO tidak menyebabkan efek toksik yang dapat mempengaruhi bobot badan hewan uji.

Tabel VI.2 Rata-rata pengukuran kadar SGPT, SGOT, dan Kreatinin.

Kelompok	Pengukuran Kadar		
	SGPT (U/L)	SGOT (U/L)	Kreatinin (mg/dL)
Kontrol negatif	80,13±10,62	125,13±24,52	0.26±0,07
EABO 2 gram/kg BB	61,48±13,52*	73,80±5,56*	0.25±0.09
EABO 5 gram/kg BB	44,60±7,32*	77,33±10,57*	0.44±0.24
EABO 8 gram/kg BB	57,79±18,39*	92,10±5,14*	0.64±0.41*

Keterangan :

EABO = Ekstrak Air Buah Okra

* = berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT dilakukan untuk mengetahui fungsi hati. Hati terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Hati adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh (Bigoniya, dkk., 2009).

Pengukuran SGPT dilakukan menggunakan alat Fotometer Microlab 300®, dan reagen ProLINE® pada panjang gelombang 340 nm. Hasil pengukuran kadar SGPT menunjukan bahwa kadar SGPT pada semua

kelompok yang diberikan EABO lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Data yang telah diperoleh kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan uji ANOVA. Perbedaan kadar SGPT secara bermakna ($P \leq 0,05$) terjadi pada semua kelompok yang diberikan EABO. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air buah okra tidak menyebabkan efek toksik pada fungsi hati yang dapat menimbulkan kerusakan sel hati (hepatosit).

Enzim SGPT adalah enzim yang dibuat dari sel hati (hepatosit), sehingga enzim SGPT ini lebih spesifik untuk penyakit hati dibandingkan dengan enzim lain. Peningkatan aktivitas SGPT dalam serum menjadi petunjuk yang lebih sensitif ke arah kerusakan hati karena sangat sedikit kondisi selain hati yang berpengaruh pada aktivitas SGPT dalam serum (Widmann, 1995).

Pengukuran SGOT juga dilakukan menggunakan alat Microlab 300, dan reagen ProLINE® pada panjang gelombang 340 nm. Hasil pengukuran kadar SGOT menunjukkan bahwa kadar SGOT pada semua kelompok yang diberikan EABO lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol.

Data yang telah diperoleh kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan uji ANOVA. Perbedaan kadar SGOT secara bermakna ($P \leq 0,05$) terjadi pada semua kelompok yang diberikan EABO.

Kadar SGOT yang lebih rendah menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air buah okra tidak menyebabkan efek toksik yang dapat mempengaruhi fungsi hati.

Apabila terjadi kerusakan sel yang parah, maka akan terjadi kenaikan kadar SGPT dan SGOT secara bersamaan sampai dengan dua kali

lipat bahkan hingga 20-100 kali dari kadar normal (Sri, dkk., 2015). Adapun kadar SGPT dan SGOT hewan uji lebih rendah dibandingkan hewan kontrol, karena buah okra memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Saleh I. Alqasoumi (2012), bahwa kemampuan buah okra yang dapat menurunkan kerusakan hati disebabkan oleh kandungan antioksidan buah okra yang tinggi. Sehingga pemberian ekstrak air buah okra dapat menurunkan kadar enzim SGPT dan SGOT.

Selain fungsi hati, pada penelitian ini juga dilakukan pemeriksaan pada fungsi ginjal. Ginjal sendiri memiliki fungsi membuang hasil metabolisme normal dan senyawa xenobiotik yang tidak dibutuhkan tubuh (Lu, 1995).

Untuk pengujian kadar kreatinin ini dilakukan menggunakan alat Microlab 300 dan reagen ProLINE® pada panjang gelombang 505 nm. Hasil pengukuran kadar kreatinin menunjukkan bahwa kadar kreatinin pada kelompok hewan yang diberikan EABO 5000 dan 8000 mg/kg BB lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Data yang telah diperoleh kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan uji ANOVA. Perbedaan kadar kreatinin secara bermakna ($P \leq 0,05$) terjadi pada kelompok yang diberikan EABO 8000 mg/kg BB. Kenaikan kadar kreatinin dapat mengindikasikan gangguan filtrasi ginjal. Kadar kreatinin digunakan untuk menentukan laju filtrasi glomerulus ginjal serta fungsi ginjal, sehingga konsentrasi plasma kreatinin dapat digunakan sebagai indikator nefrotoksisitas (Derelanko, 2008).

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian EABO memiliki efek toksik terhadap ginjal, karena dapat menaikkan kadar kreatinin sampai 2 kali lipat. Bila terjadi peningkatan dua kali lipat kadar kreatinin, maka mengindikasikan adanya penurunan fungsi ginjal sebesar 50% (Soeparman dkk, 2001).

Tabel VI.3 Rata-rata profil indeks berat organ mencit

Kelompok	Indeks Berat Organ				
	Jantung	Ginjal	Hati	Limpa	Paru-paru
Kontrol negatif	0.62±0.06	1.47±0.21	6.79±1.05	0.96±0.31	1.02±0.14
EABO 2000 mg/kgBB	0.57±0.10	1.64±0.09	6.30±0.37	0.73±0.25	0.90±0.08
EABO 5000 mg/kgBB	0.62±0.07	1.41±0.41	6.21±0.54	1.06±0.24	0.92±0.21
EABO 8000 mg/kgBB	0.71±0.04	1.97±0.10*	6.34±0.48	1.47±0.17*	1.03±0.06

Keterangan :

EABO = Ekstrak Air Buah Okra

* = berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Pada akhir penelitian dilakukan pembedahan dan penimbangan indeks berat organ hewan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian EABO terhadap organ. Adapun organ yang ditimbang terdiri dari ginjal, hati, jantung, limpa, dan paru-paru. Profil indeks berat organ pada hewan uji dapat dilihat pada tabel VI.3.

Secara visual seluruh organ yang diamati tampak normal dan seragam, kecuali ada beberapa organ yang terlihat lebih besar atau kecil jika dibandingkan dengan kontrol. Data hasil penimbangan organ lalu dibandingkan dengan bobot mencit untuk mendapatkan nilai indeks berat organ. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan uji ANOVA, diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada

organ ginjal dan limpa yang mendapatkan EABO dosis 8000 mg/kg BB dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p \leq 0,05$).

Terjadinya pembesaran pada ginjal dan limpa menunjukkan bahwa pemberian EABO memberikan efek toksik pada kedua organ ini. Pada pemeriksaan kadar kreatinin, terjadi kenaikan 2 kali lipat kadar kreatinin hewan yang diberikan 8000 mg/kg BB ekstrak air buah okra dibandingkan dengan hewan kontrol. Sehingga efek toksik dari dosis 8000 mg/kg BB dapat menyebabkan penurunan fungsi ginjal. Selain itu, limpa juga merupakan organ sasaran karena limpa merupakan salah satu organ sistem imun. Berbagai toksikan diketahui dapat menekan fungsi imun (Lalita, dkk., 2012).